



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Hematologická onkologie

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.
mdoubek@fnbrno.cz

MUDr. František Folber
ffolber@fnbrno.cz

Doc. MUDr. Andrea Janíková, Ph.D.
ajanikova@fnbrno.cz

MUDr. Anna Panovská
apanovska@fnbrno.cz

MUDr. David Šálek
dsalek@fnbrno.cz

MUDr. Martina Tošková
mtoskova@fnbrno.cz

Interní hematoonkologická klinika Lékařské fakulty
Masarykovy univerzity Brno a Fakultní nemocnice Brno

ISBN 978-80-7305-621-6

1. Úvod

Hematologická onkologie v humánní medicíně zažívá v posledních 10–15 letech závratný pokrok. Objevila se řada nových diagnostických metod, zejména molekulárně genetických, množství nových prognostických faktorů, pokročilo poznání biologie nemocí krve a krvetvorných orgánů a s tím ruku v ruce došlo i k zásadním změnám v terapii těchto nemocí. Objevily se nové inhibitory tyrozinkináz nebo monoklonální protilátky.

Následující kapitoly nemají být vyčerpávajícím přehledem hematoonkologických nemocí. Jsou souhrnem informací o nejčastějších leukemiích a lymfomech, informací určených především motivovaným studentům, kterým naznačují současné možnosti diagnostiky a léčby těchto nemocí.

2. Vyšetření krevního obrazu v humánní medicíně

Vyšetření krevního obrazu je **základním** vyšetřením nejen v hematologické onkologii, ale obecně v hematologii. Toto vyšetření indikují praktičtí lékaři, internisté, chirurgové i lékaři dalších oborů. Jde o jedno ze základních laboratorních vyšetření, které se provádí v rámci preventivních prohlídek. I když jde o časté laboratorní vyšetření, interpretace jeho výsledků nemusí být vždy snadná a má některá svá úskalí.

Krev se vyšetřovanému člověku odebírá nejčastěji z loketní žíly nebo některé žíly na předloktí do zkumavky s antikoagulačním prostředkem. V hematologické laboratoři v současné době analýzy zajišťují **automatické analyzátory**. Analyzátory zjišťují především počty buněčných krevních elementů - červených krvinek, bílých krvinek a krevních destiček. Velmi důležité je ale také zjištění zastoupení jednotlivých typů (populací) bílých krvinek v rámci jejich celkového počtu. Automatické přístroje jsou spolehlivé a přesné a zaručují také srovnatelnost výsledků vyšetření z různých laboratoří a

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

různých analyzátorů. Přece jen **některé analýzy** „automatem“ **nevyhovují kritériu správnosti**.

Na obr. 1 je v jeho horní části výsledek vyšetření krevního obrazu automatickým analyzátozem. V dolní části pak výsledek mikroskopického vyšetření. Z výsledku vyšetření automatem je patrné, že vyšetřovaný člověk má absolutní počet bílých krvinek (leukocytů) v referenčním rozmezí (odshora první červeně zvýrazněný výsledek). Vidíme také, že nemocný má mírnou anémii (nižší koncentraci hemoglobinu, hodnotu hematokritu a středního objemu červené krvinky) a referenční počet krevních destiček (trombocytů). Kdybychom se spokojili jen s těmito výsledky, mohli bychom nález považovat pouze za obraz málo závažné anémie. Přístroj ale provedl i vyšetření diferenciálního rozpočtu leukocytů. Z tohoto rozpočtu je patrné, že nemocný má zvýšenou relativní i absolutní hodnotu monocytů (druhý a třetí zvýrazněný řádek). V tuto chvíli si ale musíme uvědomit, že **automatický analyzátor nemusí některé typy krvinek dobře rozpoznat** a zařadit je. Může některé bílé krvinky **zaměňovat** za jiné. Proto je součástí všech standardních operačních postupů (SOP) v laboratořích **povinnost ověřit netypické výsledky vyšetření krevního obrazu mikroskopickým vyšetřením**, kdy krvinky prohlédne zkušený laborant nebo lékař. Pro takovéto ověřování musí být všude nastaveny jasné postupy (algoritmy). Mikroskopií jsme zjistili, že buňky, které automatický analyzátor považoval za monocyty, jsou ve skutečnosti blasty akutní leukemie (čtvrtý červeně zvýrazněný řádek).

Tento příklad je ukázkou, že vyšetření krevního obrazu se nemůže stát pouhou rutinou. Pokud bychom se spokojili jen s absolutními počty bílých krvinek, příp. s diferenciálním rozpočtem bílých krvinek provedeným přístrojem, nezjistili bychom, že nemocný má závažné krevní onemocnění!

Při hodnocení výsledků vyšetření krevního obrazu se lze setkat i s dalšími možnými chybami. Jednou z nich je **pseudotrombocytopenie**. Jde o nález sníženého počtu krevních destiček, které jsou ale snížené falešně. Vyšetřovaný člověk má jejich počet

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

v referenčním rozmezí (v „normě“). Přístroj ale zjišťuje snížení počtu těchto krvinek proto, že některé protisrážlivé roztoky, do nichž se krev odebírá, např. kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA), mohou vést ke shlukování krevních destiček, kterých pak automatický analyzátor napočítá méně, než jich je ve skutečnosti.

Výsledky vyšetření krevního obrazu může zkreslit i způsob odběru krve (pomalé vytékání krve ze žíly, vytlačování kapilární krve, nebo naopak velmi rychlý odběr krve).

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

VÝSLEDEK VYŠETŘENÍ Z HEMATOLOGIE

Pacient: [REDACTED]

Datum a čas odběru: [REDACTED]

Vyšetření	Hodn. Výsl.	Jedn.	Meze/koment.
Leukocyty	<.>	8.75 x10 ⁹ /l	(4 - 10)
Erytrocyty	<.>	3.80 x10 ¹² /l	(3.8 - 5.4)
Hemoglobin	<L>	115.0 g/l	(120 - 160)
Hematokrit	<L>	0.320 l/l	(0.35 - 0.46)
Střední objem ERY	<L>	83.6 fL	(84 - 96)
Trombocyty	<.>	163.0 x10 ⁹ /l	(150 - 350)
Stř. množství HGB v	<.>	30.2 pg	(28 - 34)
Prům. koncentrace HG	<.>	362.0 g/l	(320 - 370)
Šíře distribuce ERY	<.>	13.5 %	(10 - 15.2)
Střední objem trombo	<L>	7.05 fl	(7.8 - 11)
Trombocytový hematok	<L>	1.15 ml/l	(1.21 - 3.5)
Šíře distribuce trom	<.>	17.00 %	(15.5 - 17.1)
Neutrofilý %	<L>	19.80 %	(50 - 70)
Lymfocyty %	<.>	22.40 %	(20 - 40)
Monocyty %	<H>	57.00 %	(2 - 12)
Eosinofily %	<.>	0.28 %	(0 - 5)
Basofily %	<.>	0.60 %	(0 - 1)
Neutrofilý (absolutn	<L>	1.73 x10 ⁹ /l	(2 - 7)
Lymfocyty (absolutní	<.>	1.96 x10 ⁹ /l	(0.8 - 4)
Monocyty (absolutní	<H>	4.99 x10 ⁹ /l	(0.08 - 1.2)
Eosinofily (absolutn	<.>	0.02 x10 ⁹ /l	(0 - 0.5)
Basofily (absolutní	<.>	0.05 x10 ⁹ /l	(0.01 - 0.1)
Neutrofilý mikroskop	<L>	20.0 %	(50 - 70)
Tyče mikroskopicky	<.>	0.0 %	(0 - 4)
Lymfocyty mikroskopi	<.>	23.0 %	(20 - 40)
Monocyty mikroskopic	<.>	2.0 %	(2 - 12)
Eosinofily mikroskop	<.>	0.0 %	(0 - 5)
Basofily mikroskopic	<.>	0.0 %	(0 - 1)
Metamyelocyty mikros	<H>	1.0 %	(0 - 0)
Myelocyty mikroskopi	<.>	0.0 %	(0 - 0)
Promyelocyty mikrosk	<.>	0.0 %	(0 - 0)
BLASTY mikroskopicky	<H>	54.0 %	(0 - 0)
Prolymfocyty mikrosk	<.>	0.0 %	(0 - 0)
Plazmatické buňky	<.>	0.0 %	(0 - 0)
Nedif. buňky	<.>	0.0 %	(0 - 0)
Nedif. blasty	<.>	0.0 %	(0 - 0)
Normoblasty mikrosko	<.>	5.0 /100 bb	
Hodnocení morfologie	<.>		
Hodnocení morfologie	<.>		hypersegmentace neutrofilů,
Morfologie ERY	<.>		:
Morfologie PLT	<.>		mírná anizo PLT,
KOMENTAR	<.>		Změna oproti předešlému.
Neznámé vyšetření	<.>		NRBC/100WBC :0.00

Obr. 1. Výsledek vyšetření krevního obrazu (blíže viz text).

3. Další vyšetření v humánní hematologické onkologii

Kromě vyšetření **krvního obrazu**, které je a jistě i zůstane základním vyšetřením v hematologii, disponuje hematologie řadou dalších vyšetření, bez nichž by se při stanovování diagnózy hematologických nemocí nemohla obejít. Řada z nich je podrobněji uvedena v následujících kapitolách. Tato kapitola přináší jen jejich stručný přehled a snaží se odpovědět na otázku, co lze od těchto vyšetření očekávat a jak jejich výsledky interpretovat.

Vyšetření krevní srážlivosti (koagulace) je další z vyšetření, bez něhož se nejde obejít. K základnímu panelu koagulačních vyšetření patří vyšetření protrombinového času (slangově „Quicka“ podle objevitele této metody Armanda Quicka, který vypovídá o aktivitě zevní koagulační cesty; výsledek vyšetření se často udává v mezinárodním normalizovaném poměru, INR), vyšetření aktivovaného parciálního tromboplastinového času (APTT), který monitoruje vnitřní cestu koagulace, a vyšetření hladiny fibrinogenu. U nemocných s hematologickými nemocemi tato tři základní vyšetření velmi často nestačí, a proto je nutné je doplnit o vyšetření aktivity antitrombinu, o vyšetření D-dimerů, o testy fibrinolýzy či o vyšetření aktivity jednotlivých faktorů krevního srážení. Méně často se využívají i vyšetření funkce krevních destiček. K vyšetřením krevní srážlivosti patří i vyšetření **vrozené trombofilie**, tedy vrozeného sklonu některých nemocných k nadměrnému krevnímu srážení, k tvorbě trombóz. Do panelu těchto vyšetření patří především vyšetření leidenské mutace koagulačního faktoru V, vyšetření mutace genu pro protrombin, vyšetření aktivity proteinu C a proteinu S (proteiny C a S jsou inhibitory krevního srážení). Tato vyšetření mají význam především u myeloproliferativních nemocí (nemocí se zvýšenou tvorbou buněk kostní dřeně, tj. krvinek a krevních destiček). Další informace o koagulačních vyšetřeních lze najít v hematologických učebnicích.

Pro hematologa, zejména toho, který se věnuje diagnostice a léčbě zhoubných onemocnění krve, je nezbytné **vyšetření kostní dřeně**.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Toto vyšetření lze provést ze vzorku získaného sternální punkcí nebo trepanobiopsií kosti kyčelní.

Sternální punkce („sternálka“) je vyšetření, při kterém se speciální jehlou získává vzorek kostní dřeně z horní části hrudní kosti (obr. 2). Jde o odběr na cytologické vyšetření, na vyšetření buněk kostní dřeně. Sternální punkce je jednoduchý ambulantní výkon, který nevyžaduje kromě lokálního znecitlivění prakticky žádnou přípravu a lze ho provádět i u pacientů s výrazným snížením hodnot krevních destiček a poruchou krevní srážlivosti.



Obr. 2. Sternální punkce. Odběr dřeňové krve speciální jehlou z hrudní kosti. Odběr se provádí v místním znecitlivění. (Foto M. Doubek.)

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Získaný dřevný aspirát (v podstatě krev s kousky tkáně) se analyzuje různými metodami. Základní vyšetření se provádí v hematologické laboratoři z nátěrů na sklíčko a zahrnuje mikroskopické vyšetření vzorku obarveného panoptickým (přehledným) barvením, které zvýrazní rozdíly jednotlivých buněk kostní dřeně. **Mikroskopicky** se analyzuje počet buněk jednotlivých krevních řad včetně jejich vývojových stadií, popisují se jednotlivé buněčné populace, ať už fyziologické, či patologické. Tuto analýzu lze doplnit o cytochemické barvení, které zvýrazní aktivitu některých enzymů, které jsou typické pro určité krevní buňky (např. myeloperoxidáza). Kompletní mikroskopické vyšetření buněk kostní dřeně (počítá se alespoň 500 buněk), jehož výsledkem je „myelogram“, trvá obvykle 24-48 hodin. Součástí výsledkového protokolu je i komentář s interpretací dat.

Ostatní vyšetření, která se provádějí z aspirátu kostní dřeně, zahrnují vyšetření průtokovou cytometrií, vyšetření cytogenetické a vyšetření molekulárně biologické. Tato vyšetření jsou stručně popsána níže.

Odběr vzorku kostní dřeně na histologické vyšetření nelze provést sternální punkcí. K tomuto odběru slouží **trepanobiopsie**, nejčastěji kosti kyčelní („trepanka“). Tento výkon se sice také většinou (u dospělých) provádí jen v místním znecitlivění, ale jde o výkon rozsáhlejší, neboť k odběru vzorku kostní dřeně na histologické vyšetření („válečku“) je třeba použít větší speciální jehlu (obr. 3 a 4). Trepanobiopsii na rozdíl od sternální punkce nelze provádět u nemocných s velmi nízkými hodnotami krevních destiček a s významnou poruchou krevního srážení. Bezpečný počet trombocytů v krvi je před trepanobiopsií nad $40 \times 10^9/l$. Pacient nesmí být v době výkonu léčen protisrážlivými léky (warfarinem, acetylosalicylovou kyselinou). K provedení trepanobiopsie lze zvolit u dospělého člověka v zásadě dvě místa: *spina iliaca anterior superior* nebo *crista iliaca*. Druhý přístup je nejběžnější (obr. 3). Vpich je často přes značně objemné měkké tkáně hýžděové krajiny. Vlastní vpich do kosti musí být také větší než u sternální punkce,

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

neboť „váleček“ kostní dřeně, aby mohl být dobře zhodnocený, musí být aspoň 1–1,5 cm dlouhý.



Obr. 3. Trepanobiopsie kosti kyčelní. Odběr dřeňové krve a vzorku kostní dřeně z lopaty kosti kyčelní. (Foto M. Doubek.)

Kromě dřeňového „válečku“ lze trepanobiopsií odebrat i aspirát kostní dřeně, ze kterého se provádějí stejná vyšetření jako z odběru sternální punkcí. Vyšetření trepanobiopsií kostní dřeně se využívá obecně tam, kde je sternální punkce nedostačující (zejména u nemocných s lymfomy, myelomem, myeloproliferativními nemocemi nebo útlumy kostní dřeně). Výsledky histologického vyšetření kostní dřeně lze očekávat za 7–10 dní.

Periferní krev i aspirát kostní dřeně lze analyzovat **průtokovou cytometrií** (flowcytometrií). Touto metodou provádíme **imunofenotypizaci** buněk. Průtokovým cytometrem zjišťujeme povrchové a cytoplazmatické znaky (antigeny) buněk. Princip

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

metody lze jednoduše popsat takto: Ke vzorku krve jsou přidány protilátky proti znakům bílých krvinek, které chceme zjišťovat.



Obr. 4. Vzorek („váleček“) kostní dřeně odebraný trepanobiopsií. Tento vzorek vyšetřuje histolog. (Foto M. Doubek.)

Protilátky jsou speciálně připravené a označené fluorochromy, látkami, které uvolňují světlo určité vlnové délky, když na ně dopadne laserový paprsek. Projde-li průtokovým cytometrem buňka, na kterou je navázána protilátka s fluorochromem, tzn. tato buňka nese hledaný antigen, přístroj detekuje světlo vyzařované touto protilátkou. Projde-li přístrojem buňka bez hledaného antigenu, pak tato buňka nesvítí. Řada krevních nemocí má charakteristický imunofenotyp (např. chronická lymfocytární leukemie) (obr. 5).

K detekci různých chromozomálních odchylek v krevních buňkách se používají **metody cytogenetické**. Z těchto metod se nejčastěji používá klasická cytogenetika či fluorescenční *in situ* hybridizace. Tato vyšetření jsou nákladná, obvykle cílená,

potřebným materiálem je zpravidla krev nebo aspirát kostní dřeně a trvají několik dní až týdnů.

Metody **molekulární biologie** slouží ke zjištění molekulárně genetických změn v krevních buňkách. Pro řadu krevních nemocí jsou charakteristické molekulárně genetické změny, fúzní geny, mutace genů, které lze použít k potvrzení dané krevní nemoci nebo ke sledování úspěšnosti léčby (sledování minimální zbytkové nemoci).

Moderní hematologie se neobejde bez pomoci **zobrazovacích metod**. K těmto metodám patří klasické rentgenové vyšetření, vyšetření ultrazvukem, počítačovou tomografií, pozitronovou emisní tomografií nebo magnetickou rezonancí.

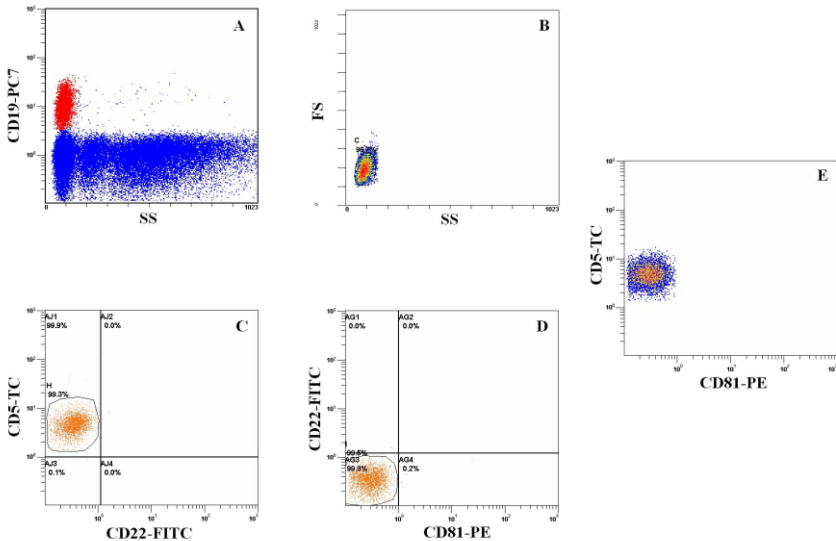
Z klasických **rentgenových vyšetření** má pro hematologa význam především vyšetření hrudníku – snímek plic a srdce, na kterém se mohou objevit útvary v oblasti mezihrudí nebo plicního parenchymu, či snímky skeletu.

Ultrazvuk dnes představuje základní minimálně zatěžující vyšetření především parenchymatózních orgánů dutiny břišní, ale i štítné žlázy a lymfatických uzlin, příp. i dalších útvarů z měkkých tkání v rozmanitých lokalizacích. Ultrazvukového vyšetření lze s velkou výhodou využít jako pomocné metody u periferní lymfadenopatie (zvětšení mízních uzlin). Ultrazvukovým vyšetřením lze odlišit podle typu vaskularizace tkáně lymfadenopatii na podkladě reaktivních změn od lymfadenopatie nádorové. Ultrazvukové vyšetření je zpravidla dostupné na pracovištích prakticky ihned.

Počítačová tomografie (CT), zejména provedená po podání kontrastní látky, patří mezi hlavní metody zejména při určení rozsahu lymfomů. CT vyšetření je v mnoha ohledech zlatým standardem hodnocení jednak klinického stadia lymfomů a jednak léčebné odpovědi u těchto nemocí. Jako každá rentgenová metoda však toto vyšetření představuje radiační zátěž. Vzhledem k vytížení CT přístrojů je obvykle časová dostupnost metody horší než u ultrazvukového vyšetření, obvykle se pohybuje ve dnech až týdnech.

Pozitronová emisní tomografie (PET) nebo **hybridní PET/CT** jsou moderní zobrazovací techniky na principu scintigrafie. Vyšetření se nejčastěji provádí ¹⁸fluordeoxyglukózou, správný název metod by tedy měl být FDG-PET nebo FDG-PET/CT. Kumulace radioizotopu ¹⁸fluordeoxyglukózy je největší ve tkáních s vysokým metabolickým obratem, tedy zejména v nádorové tkáni, příp. v zánětové tkáni. U pacienta bez zjevné infekce zpravidla ložiska aktivity radiofarmaka dobře odpovídají nádorové tkáni. Limitace tohoto vyšetření je především v jeho omezené dostupnosti (pouze několik málo pracovišť v ČR). Na provedení vyšetření se musí obvykle čekat několik týdnů.

Magnetická rezonance (MRI) je pro hematologa často alternativním zobrazovacím vyšetřením k CT. Výhodou metody je nulová radiační zátěž a v některých případech lepší zobrazení patologických nálezů (např. lymfomů mozku, procesů v oblasti páteře či velkých kloubů). Nevýhodou metody jsou její kontraindikace (implantovaný kardiostimulátor, některé kloubní náhrady z feromagnetických kovů, klaustrofobie, neklid pacienta apod.). Termíny na MRI bývají zpravidla hůře dostupné nežli na CT.



Obr. 5. Výsledek z průtokového cytometru. Hledání zbytkové nemoci u pacienta s chronickou lymfocytární leukemií pomocí kombinace protilátek proti znakům CD5, CD19, CD22 a CD81. (A) Zobrazeny jsou všechny leukocyty, gating (výběr) proveden na populaci CD19⁺ buněk s nízkým side scatterem (SS^{low}). (B) CD19 pozitivní buňky vybrané v předchozím kroku jsou zobrazeny na FS/SS (forward scatter/side scatter), zde proveden gating pro přesnější vymezení CD19⁺ populace (FS^{low}SS^{low}). (C) Buňky z předchozích dvou výběrů jsou zobrazeny na dot plot CD5 vs. CD22, zde proveden gating na populaci CD5⁺22^{low+}, čímž je získána populace CD5⁺19⁺22^{low+}, FS^{low}SS^{low}. (D) Buňky z výběrů (A) a (B) jsou zobrazeny na dot plot CD81 vs. CD22, zde je pak proveden gating na populaci CD81^{low+}22^{low+}, čímž je získána populace CD19⁺22^{low+}81^{low+}, FS^{low}SS^{low}. (E) Průnik z výběru (C) a (D) tvoří populaci zbytkové nemoci chronické lymfocytární leukemie imunofenotypu CD5⁺19⁺22^{low+}81^{low+}, FS^{low}SS^{low}.

4. Akutní myeloidní leukemie

Akutní myeloidní leukemie (AML) je charakterizovaná klonální expanzí a akumulací nezralých hematopoetických buněk v kostní dřeni a jejich následným vyplavováním do periferní krve.

Klasifikace AML sa vyvíjela postupně od čistě morfologické a cytochemické charakteristiky myeloblastů (tab. 1) z roku 1976 (**Francouzsko-americko-britská klasifikace, FAB klasifikace**) až po dnes platnou **WHO klasifikaci**, která je používána od roku 2001 a která rozlišuje více jednotek a je doplněná o cytogenetické a molekulárne biologické znaky (tab. 2).

Tab. 1. Francouzsko-americko-britská (FAB) klasifikace akutní myeloidní leukemie

FAB klasifikace	Granule	Auerovy tyče	PAS	MPO	NSE
M0 s minimální diferenciací	+	+	(+)	(+)	-
M1 bez maturace	+	+	-	+	+
M2 s maturací	+	+	-	+	+
M3 promyelocytární	++	++	-	++	+
M4 myelomonocytární	+	(+)	-	+	++
M5 monoblastová	-	-	-	-	++
M6 erytroidní	(+)	-	-	(+)	-
M7 megakaryoblastická	(+)	-	+	-	(+)

Vysvětlivky: PAS – reakce s jodovaným kyselým Schiffovým roztokem (periodic acid Schiff reaction) pro průkaz glykogenu, MPO – myeloperoxidáza, NSE – nespecifická esteráza

Podskupina „**AML s rekurentní genetickou abnormalitou**“ zahrnuje více samostatných jednotek. AML s t(8;21)(q22;q22), *RUNX1/RUNX1T1* a AML s inv(16)(p13.1;q22) nebo s t(16;16)(p13.1;q22), *CBFβ/MYH11*“ je považovaná za AML bez ohledu na počet blastů v kostní dřeni. Byly přidány 2 provizorní jednotky, a to AML s mutovaným *NPM1* a AML s mutovaným

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Tab. 2. WHO klasifikace myeloidní leukemie

Akutní myeloidní leukemie s rekurentní genetickou abnormalitou
AML s t(8;21)(q22;q22), <i>RUNX1/RUNX1T1</i>
AML s inv(16)(p13.1;q22) alebo s t(16;16)(p13.1;q22), <i>CBFβ/MYH11</i>
AML s t(15;17)(q22;q12), <i>PML/RARα</i> a varianty
AML s t(9;11)(p22;q23), <i>MLLT3/MLL</i> a varianty
AML s t(6;9)(p23;q34), <i>DEK/NUP214</i>
AML s inv(3) alebo t(3;3), <i>RPN/EVI1</i>
AML s t(1;22)(p12;q13), <i>RBM15/MKLI</i>
<i>Provizorní položka: AML s mutovaným NPM1</i>
<i>Provizorní položka: AML s mutovaným CEBPA</i>
Akutní myeloidní leukemie s myelodysplazií souvisejícími změnami
AML následující myelodysplastický syndrom nebo myelodysplastický/myeloproliferativní syndrom
AML bez předcházejícího myelodysplastického syndromu
Akutní myeloidní leukemie související s předcházející léčbou
Akutní myeloidní leukemie jinak neurčená
AML s minimální diferenciací
AML bez maturace
AML s maturací
Akutní myelomonocytární leukemie
Akutní monoblastická/monocytární leukemie
Akutní erytroidní leukemie
Akutní megakaryoblastická leukemie
Akutní bazofilická leukemie
Akutní panmyelóza s myelofibrózou (akutní myelofibróza)
Myeloidní sarkom (chlorom)
Myeloidní proliferace související s Downovým syndromem
Tranzientní abnormální myelopoéza
Myeloidní leukemie asociovaná s Downovým syndromem
Akutní leukemie nejasné linie
Akutní nediferencovaná leukemie
Akutní leukemie smíšeného fenotypu s t(9;22)(q34;q11.2), <i>BCR/ABL1</i>
Akutní leukemie smíšeného fenotypu s t(v;11q23), přeskupený <i>MLL</i>
Akutní leukemie smíšeného fenotypu B/myeloidní
Akutní leukemie smíšeného fenotypu T/myeloidní

Vysvětlivky: AML – akutní myeloidní leukemie, inv – inverze, t – translokace

CEBPA. AML s mutací *FLT3* není považovaná za samostatnou jednotku, i když určování této mutace je doporučené WHO pro její prognostický význam.

AML je zařazená do podskupiny „**AML se změnami souvisejícími s myelodysplazií**“ jestliže:

- v anamnéze je údaj o předcházejícím myelodysplastickém (MDS) nebo myelodysplastickém/myeloproliferativním (MDS/MPS) syndromu,
- má cytogenetické změny vyskytující se při MDS,
- $\geq 50\%$ buněk v ≥ 2 myeloidních liniích je dysplastických.

AML je zařazená do podskupiny „**AML související s předcházející léčbou**“, jestliže byla pacientovi v minulosti ordinována cytotoxická terapie (alkylační látky, inhibitory topoizomerázy II, ionizující záření a další).

4.1. Epidemiologie

Incidence AML v Evropě se pohybuje 2-4 nové případy na 100 000 obyvatel za rok. Výskyt onemocnění narůstá s věkem a ve skupině obyvatel nad 65 roků je incidence 15-17/100 000 obyvatel. Medián věku při stanovení diagnózy je 70 roků. AML tvoří 15-20 % leukemií u dětí a až 80 % leukemií dospělých.

4.2. Patofyziologie

Předpokládá se, že patologický proces začíná maligní transformací progenitorové buňky. Dochází k poruše maturace, rychlé proliferaci a ztrátě schopnosti apoptózy. Příčina maligní transformace není známá, jsou však známá některá rizika spojená s vyšší incidencí AML. Jako predisponující faktory se uvádějí ionizující záření, chemické látky (benzen, organická rozpouštědla, syntetická barviva, herbicidy a pesticidy), kouření, léky (cytostatika, hlavně alkylační látky). Genetická dispozice se uvádí ve spojení

s různými genetickými poruchami (např. Downův syndrom, Bloomův syndrom, Fanconio anémie a další).

Množí se důkazy, že mutace *NPM1* a *CEBPA* reprezentují primární genetickou lézi, která poškozuje hematopoetickou diferenciaci. Mutace v genu *FLT3* se nacházejí v různých podtypech AML a jsou považované za mutace řídící proliferační výhody a/nebo zlepšení přežití mutované buňky.

4.3. Klinický obraz, diagnostika a diferenciální diagnostika

Klinický obraz a fyzikální vyšetření

Klinické příznaky jsou způsobené převážně nedostatkem funkčních krvinek v cirkulaci. Jedná se o projevy anemického syndromu (bledost, slabost, únava, dušnost, u starších lidí se může manifestovat i typickými ischemickými bolestmi na hrudi), projevy trombocytopenie (krváčení z nosu, z dásní, petechie, ekchymózy, sufuze, metroragie, hematurie) a zvýšený počet infekcí, často s agresivním průběhem a nereagujících na antibiotika (záněty horních dýchacích cest, tonzilitidy, stomatitidy atd.). Někdy si pacienti stěžují na zvýšené teploty bez prokázaného ohniska infekce.

Přítomné mohou být i neurologické příznaky (při infiltraci CNS), hyperplazie dásní a kožní infiltráty. Projevy leukostáze (dušnost, bolesti na hrudníku, bolesti hlavy, poruchy vědomí a mentálního stavu, priapismus) se vyskytují u pacientů, kteří mají při stanovení diagnózy $\geq 100 \times 10^9/l$ leukocytů. Jedná se o akutní stav, v onkologii vyžadující intenzivní léčbu.

Laboratorní vyšetření

Krevní obraz a diferenciální rozpočet patří k základním vyšetřením u pacientů s AML. Bývá přítomná leukocytóza, výjimečně dosahující až řádově stovky $\times 10^9$, počet leukocytů však může být referenční nebo i snížený. Zastoupení zralých granulocytů je snižené, chybějí mladší vývojová stadia granulocytů (myelocyty a metamyelocyty) - tzv. *hiatus leukaemicus*. Přítomno je $>20\%$

myeloblastů (podle WHO kritérií). V mikroskopicky hodnoceném diferenciálním rozpočtu musí být vyšetřeno minimálně 200 leukocytů. Téměř vždy je přítomná anémie a trombocytopenie.

V **biochemickém vyšetření** bývá zvýšená sérová hladina kyseliny močové a aktivita laktátdehydrogenázy. Může se vyskytnout hypofosfatemie jako následek spotřebování fosfátů leukemickými buňkami.

Cytologické a histologické vyšetření kostní dřeně

Vyšetření kostní dřeně patří k nezbytným vyšetřením u pacientů s podezřením na AML. Kostní dřeň je většinou výrazně hypercelulární se zmnoženou myelopoézou. Myeloblasty tvoří >20 % jaderných buněk a vyšetřeno musí být minimálně 500 buněk. Jádro myeloblastů bývá kulaté nebo oválné, se zářezem či lobulované, chromatin je jemný a většinou je zřetelných více jadérek. Cytoplazma je různě objemná, šedomodrá až silně bazofilní. Mohou být přítomné azurofilní granule nebo Auerovy tyče. Zastoupení zralejších elementů granulopoézy je snižené. Megakaryopoéza a erytropoéza jsou reziduální.

V cytochemickém vyšetření se používá stanovení aktivity myeloperoxidázy (MPO), tuků sudánskou černí B (Sudan black B, SBB) a aktivity nespecifické esterázy (NSE). Detekce MPO přítomná v ≥ 3 % blastů značí myeloidní diferenciaci. SBB, obdobně jako MPO, ukazuje myeloidní diferenciaci, je ale méně specifická. NSE ukazuje difuzní cytoplazmovou aktivitu v monoblastech a monocytech.

Histologické vyšetření kostní dřeně není zařazené do současných diagnostických kritérií AML. Nenahraditelná je však při obtížné aspiraci. Celularita (buněčnost) je vysoká (až 100 %), původní krvetvorba je zastřena nádorovou infiltrací nebo je jen ložisková a nenápadná. Blasty jsou distribuované nepravidelně v různě velkých shlucích až plošných infiltrátech.

Imunofenotypizace

Imunofenotypizace používající 3- nebo 4barevnou průtokovou cytometrii se používá na určení původu blastů nově diagnostikované leukemie (tab. 3). Pro většinu markerů se používá kritérium positivity >20 % leukemických buněk exprimujících daný marker. Průtoková cytometrie by se neměla používat na určování počtu blastů namísto klasického morfologického vyšetření.

Imunofenotypizace se vyžaduje k potvrzení u diagnózy AML s minimální diferenciací, akutní megakaryoblastové leukemie a akutní leukemie smíšeného fenotypu.

Tab. 3. Expres povrchových a cytoplazmatických markerů k diagnostice akutní myeloidní leukemie a akutní leukemie smíšeného fenotypu

Diagnostika akutní myeloidní leukemie	
Prekurzorové stadium	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR
Grynulocytární markery	CD13, CD15, CD16, CD33, CD65, cMPO
Monocytární markery	NSE, CD11c, CD14, CD64, lysozym, CD4, CD11b, CD36, NG2 homologue
Megakaryocytární markery	CD41, CD61, CD42
Erytroidní markery	CD235a
Diagnostika akutní leukemie smíšeného fenotypu	
Myeloidní původ	MPO nebo důkaz monocytární diferenciacie (alespoň dva z následujících: NSE, CD11c, CD14, CD64, lysozym)
B-původ	CD19 (silný) alespoň s jedním z následujících: CD79a, cCD22, CD10, nebo CD19 (slabý) alespoň se dvěma z následujících: CD79a, cCD22, CD10
T-původ	cCD3, nebo povrchový CD3

Vysvětlivky: NSE – nespecifická esteráza, cMPO – cytoplazmatická myeloper-oxidáza

Cytogenetické vyšetření

Konvenční cytogenetika je povinným vyšetřením u pacienta se suspektní akutní leukemií. Chromozomální abnormality jsou detekovatelné asi u 55 % dospělých pacientů s AML. Ve WHO

klasifikaci je popsanych 7 rekurentnich balancovanych translokaci a inverzi. Dalši cytogenetické abnormality spadají do kategorie AML spojené s myelodysplazií. Patří tam komplexní karyotyp (definovaný jako tři nebo více chromozomálních abnormalit), nebalancované změny: -7 nebo del(7q), -5 nebo del(5q), i(17q) nebo t(17q), -13 nebo del(13q), del(11q), del(12p) nebo t(12p), del(9q) a balancované změny: t(11;16), t(3;21), t(1;3), t(2;11), t(5;12), t(5;7), t(5;17), t(5;10) a t(3;5). K potvrzení normálního karyotypu musí být hodnocených minimálně 20 metafází z kostní dřeně. Ke stanovení abnormálního karyotypu může být použita periferní krev. Pokud selže cytogenetická analýza, k detekci genových změn může být použita **fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH)**.

Molekulárně biologické vyšetření

Vzorky kostní dřeně a periferní krve by se měly rutinně odebírat na molekulárně genetické vyšetření. Extrahuje se DNA a RNA, přičemž při nedostatku materiálu by měla mít extrakce RNA přednost, protože je vhodnější na molekulární skrining fúzních genů a mutací asociovaných s AML. Na analýzu se používá polymerázová řetězová reakce v reálném čase (real time polymerase chain reaction, RT-PCR) a standardy byly publikované skupinou BIOMED-1.

Diferenciální diagnostika

Leukocytóza s posunem doleva (leukemoidní reakce) se může vyskytnout u infekčních, zánětových a některých nádorových onemocnění. Typické pro tyto reaktivní změny jsou silná toxická granulace neutrofilů a chybění blastů v periferní krvi a kostní dřeni. Flowcytometrické vyšetření neprokáže klonalitu, ale pouze polyklonální zmnožení leukocytů.

U pacienta s akutní leukemií je nejdůležitější v iniciálním morfologickém vyšetření odlišit AML od akutní lymfoblastické leukemie (ALL) a MDS, protože terapeutické strategie těchto onemocnění jsou velmi rozdílné. Hlavně AML bez diferenciace a s minimální diferenciací se těžko odlišují od ALL jen pomocí

morfologie a cytochemie. V těchto případech je důležité použít monoklonální protilátky, které nám dokáží určit původ blastů (viz odstavec Imunofenotypizace). Na odlišení AML od MDS/MPS většinou stačí stanovit počet blastů v kostní dřeni.

BCR/ABL1 pozitivní akutní leukemie, která se nejčastěji imunofenotypicky prezentuje jako akutní leukemie smíšeného fenotypu, se musí odlišit od blastické fáze chronické myeloidní leukemie.

4.4. Prognostické faktory

Prognostické faktory můžeme rozdělit na ty, které souvisejí s charakteristikou pacienta a jeho celkovým klinickým stavem a ty, které souvisejí s AML.

Prognostické faktory související s charakteristikou pacienta a jeho klinickým stavem

Zvyšující se věk je nepříznivým prognostickým faktorem. I při zvážení všech rizikových faktorů - jako jsou cytogenetika, molekulární genetika, typ AML a performance status, mají starší pacienti horší výsledky než mladší pacienti. Kalendářní věk však nemůže být jediným kritériem nepoužití potencionálně kurativní terapie u starších pacientů. Pozor je třeba dávat na důsledné vyhodnocení komorbidit, k čemuž je možné použít některý ze skórovacích systémů a zadefinování pacientů, kteří nejsou vhodní k léčbě intenzivní chemoterapií.

Prognostické faktory související s AML

K těmto prognostickým faktorům patří počet leukocytů, anamnéza předcházejícího MDS, předcházející cytotoxická terapie a cytogenetické a molekulárně genetické změny v leukemických buňkách v době diagnózy.

Cytogenetické vyšetření

Karyotyp leukemických buněk je nejsilnější prognostický faktor odpovědi na léčbu a přežití. Mladší pacienti se obvykle kategorizují do tří rizikových skupin: (1) **příznivá**, (2) **intermediální** a (3) **nepříznivá** (tab. 4). Komplexní karyotyp, který se vyskytuje asi u 10–12 % pacientů, je asociovaný s velmi špatnými výsledky. Je definovaný jako ≥ 3 chromozomální abnormality při nepřítomnosti t(8;21), inv(16) a nebo t(16;16) a t(15;17). Nejčastější změny v komplexním karyotypu tvoří ztráta 17p a/nebo TP53 mutace, které se vyskytují až u 2/3 případů, a high-level DNA amplifikace. S narůstajícím věkem pacientů s AML roste i počet nepříznivých cytogenetických abnormalit.

Tab. 4. Cytogenetické a molekulární genetické rizikové skupiny AML

Rizikové skupiny	
Příznivá	t(8;21)(q22;q22), <i>RUNX1/RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1;q22), nebo t(16;16)(p13.1;q22), <i>CBFB/MYH11</i> Mutace NPM1 bez FLT3-ITD (normální karyotyp) Mutace CEBPA (normální karyotyp)
Intermediální I	Mutace NPM1 a FLT3-ITD (normální karyotyp) Nemutovaný NPM1 a FLT3-ITD (normální karyotyp) Nemutovaný NPM1 bez FLT3-ITD (normální karyotyp)
Intermediální II	t(9;11)(p22;q23), <i>MLLT3-MLL</i> Cytogenetické abnormality neklasifikovatelné jako příznivé a nepříznivé
Nepříznivá	inv(3)(q21q26.2) nebo t(3;3) (q21q26.2), <i>RPN/EV11</i> t(6;9)(p23;q34), <i>DEK/NUP214</i> t(v;11) (v;q23), přeskupený <i>MLL</i> -5 nebo del(5q); -7; abnl(17p); komplexní karyotyp

Molekulárně genetické vyšetření

Genové mutace a deregulovaná genová exprese nám pomáhají rozřešit genetickou diverzitu u různých podskupin pacientů s AML, a to převážně v heterogenní skupině AML s normálním karyotypem. Prognostický význam mutací *NPM1*, *CEBPA* a *FLT3* ve skupině pacientů s normálním karyotypem byl již dokázán.

Pacienti s normálním karyotypem a *FLT3-ITD* (internal tandem duplication) mají horší výsledky v porovnání s těmi bez *FLT3-ITD*. Též se ukazuje, že záleží více na množství mutované alely než jen na její přítomnosti.

Mutace *NPM1* u AML s normálním karyotypem je asociovaná s vyšším počtem kompletních remisí (CR) a lepším celkovým přežitím (OS). Přibližně 40 % pacientů s mutací *NPM1* má také *FLT3-ITD*. Kategorie „mutovaný *NPM1* bez *FLT3-ITD*“ představuje příznivý prognostický znak s vyššími počty CR a lepším OS, než zjišťujeme u AML s t(8;21) a inv(16).

Normální karyotyp s mutací *CEBPA* je další podskupina asociovaná s příznivější prognózou. Ukazuje se však, že mutace *CEBPA* jsou heterogenní a jen případy s dvojitou mutací mají příznivější výsledky.

U cytogeneticky příznivých AML přítomnost *KIT* mutace představuje nepříznivý dopad na výsledky.

4.5. Monitorace minimální zbytkové nemoci

Mezi výhody monitorace minimální zbytkové nemoci (minimal residual disease, MRD) pomocí PCR a flowcytometrie patří časné stanovení odpovědi na léčbu, vedení postremisní terapie a časná detekce hrozícího relapsu. Kinetika poklesu *RUNX1-RUNX1T1* a *CBFβ-MYH11* koreluje s rizikem relapsu a reprezentuje prognostický faktor nezávislý na ostatních proměnných.

Kvantitativní PCR se vyvíjí také na další fúzní geny, jako je *MLL2-MLL* nebo *DEK-NUP214*. Nejslibnější nový cíl jsou však mutace *NPM1* a t. č. probíhá ověřování jejich klinické prospěšnosti pro monitoraci MRD u AML.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Největší výhodou použití flowcytometrie v monitorování MRD je její možnost využití u všech pacientů.

4.6. Kritéria odpovědi na léčbu

Kritéria odpovědi na léčbu byla publikovaná v roce 2003 a jsou široce používaná kliniky i kooperativními skupinami. Shrnuje je tab. 5.

Tab. 5. Kritéria odpovědi na léčbu AML

Kategorie	Definice
Kompletní remise (CR)	<5% blastů v KD, nepřítomnost blastů s Auerovými tyčemi, nepřítomnost extramedulární choroby, neut $>1,0 \times 10^9/l$, trombo $>100 \times 10^9/l$
CR s neúplnou obnovou (CRi)	kritéria CR s reziduální neutropenií (neut $<1,0 \times 10^9/l$), nebo trombocytopenií (trombo $<100 \times 10^9/l$)
Morfologický leukemia-free stav	<5% blastů v KD, nepřítomnost blastů s Auerovými tyčemi, nepřítomnost extramedulární choroby, není vyžadovaná hematologická obnova
Parciální remise (PR)	hematologická kritéria CR a pokles blastů v KD na 5-25 % a nejméně o 50 %
Cytogenetická remise (CRc)	návrat normálního karyotypu v čase CR (nebo CRi) u případů s abnormálním karyotypem v době diagnózy*
Molekulární remise (CRm)	bez standardní definice, závisí na molekulární genetické změně
Selhání terapie	
- rezistentní nemoc (RD)	nedosažení CR nebo CRi, zahrnuje jen pacienty, kteří přežijí ≥ 7 dní následujících dokončení iniciální léčby, s přítomností perzistentní leukemie při vyšetření krve a/nebo KD
- smrt v aplazii	smrt ≥ 7 dní následujících dokončení iniciální léčby po dobu cytopenie, bez evidence perzistentní leukemie, vyšetření

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

	KD ne starší jak 7 dní
- smrt z nejasné příčiny	smrt před ukončením terapie, nebo ≤ 7 dní následujících dokončení iniciální léčby, bez blastů v periferní krvi, vyšetření KD není k dispozici
Relaps	$\geq 5\%$ blastů v KD nebo znovuobjevení blastů v krvi, nebo rozvoj extramedulárního postižení

Vysvětlivky: KD – kostní dřeň, neut – neutrofilů, trombo – trombocyty, *- musí být vyšetřeny 20 metafázi z kostní dřeně

Určení odpovědi na léčbu po standardní indukční terapii (nejčastěji 3+7) se má provést mezi 21. a 28. dnem od startu terapie. Dřívější určení odpovědi může být vyžadované v rámci některých studií a provádí se 14. až 17. den od startu léčby. Vyšetření kostní dřeně po ukončení terapie se doporučuje každé 3 měsíce první dva roky, potom každých 6 měsíců následující 2-3 roky. Relapsy se nejčastěji vyskytují 1-3 roky po ukončení terapie. Vyšetřování krevního obrazu by mělo být každé 1-3 měsíce první dva roky a následně 3-6 měsíců do 5 roků po ukončení léčby.

4.7. Terapie

Léčba mladších pacientů (18-60 roků)

Standardem pro **indukční terapii** i nadále zůstává režim se 3 dny antracyklinu (buď daunorubicin $45-60 \text{ mg/m}^2$, nebo idarubicin $10-12 \text{ mg/m}^2$, či mitoxantron $10-12 \text{ mg/m}^2$) a 7 dnů cytarabin ($100-200 \text{ mg/m}^2$ kontinuálně i. v.), tzv. **režim 3+7**. Celková remise se dosahuje v 60–80 %.

Žádný další režim nepřinesl benefit ve smyslu zlepšení OS. Více kooperativních skupin studovalo vyšší dávky cytarabinu v porovnání se standardní dávkou a nejenže se nedokázal vyšší počet CR a zlepšení OS, ale byla pozorovaná vyšší toxicita. Pokus zvýšit počet odpovědí přidáním jiné cytotoxické látky (etoposid, thioguanin, fludarabin aj.) skončil neúspěchem. Též senzitivizace leukemických

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

buněk růstovými faktory není doporučovaná v běžné praxi, zůstává stále předmětem výzkumů.

Jedině intenzifikace indukční léčby pomocí vyšší dávky antracyklinu (daunorubicin 90 mg/m^2) v porovnání se standardní dávkou (45 mg/m^2) přinesla vyšší počet CR (57 % vs. 70 %) a lepší OS (15 vs. 23 měsíců) za srovnatelné toxicity.

Čas do zahájení terapie u nově diagnostikované AML hraje též svoji roli. Ke zhoršení OS dochází při zahájení terapie za více jak 5 dní od stanovení diagnózy.

Vyzkoušených bylo více **postremisních léčebných** strategií včetně intenzivní konvenční chemoterapie, udržovací terapie, vysokodávkované chemoterapie nasledované autologní nebo alogenní transplantací krvetvorných buněk (HCST).

Konsolidační terapie vysokodávkovaným cytarabinem (4 cykly HiDAC 3 g/m^2 den 1, 3, 5) v porovnání se standardními dávkami cytarabinu (100 mg/m^2 , den 1-5) zlepšuje celkové přežití mladších pacientů s AML. Benefit intenzifikované dávky cytarabinu v konsolidaci je však rezervovaný jen pro CBF AML [AML s t(8;21) a AML s inv(16)/t(16;16)] a méně významně pro AML s normálním karyotypem. U pacientů s ostatními cytogenetickými abnormalitami není ovlivnění celkového přežití vyšší dávkou cytarabinu v konsolidaci. Konsolidace HiDAC srovnávaná s jinými kombinovanými chemoterapiemi měla obdobný efekt a nebylo dosaženo zlepšení výsledků.

Autologní transplantace krvetvorných buněk se ukazuje být alternativní volbou u pacientů s příznivým a intermediálním cytogenetickým rizikem, ale nemůže být doporučena u pacientů s vysokým rizikem. Výsledky u těchto rizikových skupin jsou stejné, avšak nikoliv lepší než po konsolidaci konvenční chemoterapií.

Alogenní transplanace krvetvorných buněk v postremisní terapii se vyznačuje nejnižším procentem relapsů. Benefity tohoto přístupu jsou vysokodávkovaná chemoterapie a reakce štěpu proti leukemii (graft vs. leukemia, GvL). Limitací je vysoká peritransplantační mortalita. Jednotlivé velké studie neprokázaly jasný pozitivní nebo

naopak negativní vliv alogenní HSCT na celkové přežití u pacientů s AML v první CR (CR1). Metaanalýzy klinických studií ukázaly zlepšení OS při použití aloHSCT v CR1 u AML se středním a vysokým cytogenetickým rizikem. Recentní studie ukazují, že přežití pacientů s AML po alogenní HSCT od plně shodného příbuzného a nepříbuzného dárce je identické.

Léčba starších pacientů (60-74 roků)

Pro pacienty s performance statusem <2 a bez komorbidit je standardní **indukční terapie** (antracyklin 3 dny a cytarabin na 7 dní) často přijatelnou volbou, která vede až k 50 % dosažených celkových remisí a smrt v aplazii a z neurčených příčin se pohybuje pod 15 %. Recentní studie ukazují, že intenzifikované dávky daunorubicinu (90 mg/m^2 na 3 dny) u starších pacientů jsou spojené s vyšším procentem kompletních remisí a lepším přežíváním za srovnatelné toxicity.

Nepříznivá cytogenetika je silný nezávislý prognostický faktor pro nedosažení CR a OS. U této skupiny pacientů se CR pohybuje pod 30 % a OS pod 5 %. Proto i u pacientů v dobrém klinickém stavu a bez závažných komorbidit se doporučuje zvážit použití jen cytoredukční terapie.

Postremisní terapie - četné studie neprokázaly jednoznačný přínos intenzivní konsolidační chemoterapie oproti méně intenzivním režimům. Proto u pacientů bez nepříznivé cytogenetiky v dobrém klinickém stavu a bez závažnějších komorbidit se doporučuje použít opakované cykly středně dávkované konsolidační chemoterapie. Narůstají však důkazy, že pacienti s příznivým genetickým profilem mohou profitovat z eskalace dávek konsolidační terapie.

Léčba pacientů – seniorů (≥ 75 roků)

Pro pacienty nad 75 roků s performance statusem 2-3 a orgánovými dysfunkcemi je potřebné hledat vhodný alternativní režim ke standardní indukci. Je dokázané, že nízkodávkovaný cytarabin je asociovaný s delším přežitím než použití hydroxyurey.

Není však dokázaný benefit u pacientů s nepříznivou cytogenetikou. U pacientů bez závažného orgánového poškození a s příznivou cytogenetikou je možné zvážit režim se středními dávkami cytarabinu.

4.8. Akutní myeloidní leukemie související s předcházející léčbou

AML související s předcházející terapií (t-AML) se vyskytuje jako komplikace po podání cytotoxické a/nebo radiční terapie. Etiologie a specifické faktory však zůstávají nejasné. Identifikované byly dvě hlavní skupiny: první, vznikající za 5-7 roků po terapii alkylačními látkami nebo po radiaci a asociovaná s abnormalitami chromozomu 5q a/alebo 7q, a druhá, objevující se za 2-3 roky po léčbě inhibitory topoizomerázy II a asociovaná s translokací 11q23 (*MLL*) nebo 21q22 (*RUNX1*).

Přežití pacientů s t-AML je špatné ve srovnání s *de novo* vzniklou AML. Špatné výsledky vysvětluje více faktorů, jako je perzistence primárního maligního onemocnění, poškození orgánů předchozí léčbou, poškození hematopoetických buněk a stromatu kostní dřeně, chronická imunoprese, kolonizace patogenními bakteriemi a plísněmi. t-AML je též častěji spojená s nepříznivou cytogenetikou a sama je nezávislý nepříznivý prognostický faktor. V publikovaném přehledu 644 pacientů s t-AML léčených různými variantami standardní AML terapie dosáhlo CR jen 28 % pacientů. Proto při rozhodování o terapii t-AML by se měl vzít v úvahu stav primární malignity, performance status, komplikace předcházející terapie a leukemický karyotyp. U pacientů, kteří mají HLA identického dárce, by se měla zvážit alogenní HSCT.

4.9. Relabovaná akutní myeloidní leukemie

U většiny pacientů, kteří dosáhnou CR, se leukemie vrátí do 3 roků od stanovení diagnózy. Všeobecně je prognóza relabovaných pacientů špatná a léčebné možnosti nedostatečné.

Dlouhodobé přežívání závisí na schopnosti úspěšně navodit remisi a pravděpodobnosti konsolidovat pomocí HSCT. Pacienti s časným relapsem (trvání CR1 <6 měsíců), nepříznivou cytogenetikou a vyšším věkem mají velmi špatné výsledky.

Není definovaný standard reindukční chemoterapie. Cílem je navodit novou remisi (CR2) a preferovaná konsolidační terapie je alogenní HSCT. Bez následné alogenní HSCT je OS nemocných s relabující AML významně horší, zvláště ve skupině se středním a vysokým rizikem (která tvoří 90 % pacientů s relabující AML).

Dárce může být HLA identický sourozenec nebo shodný nepříbuzný dárcce. Pokud není k dispozici, za druhou nejlepší volbu se považuje autologní HSCT. Retrospektivní studie ukazují, že pacienti v CR2 po autologní HSCT mají šanci na dlouhodobé přežití 20–50 %. Výsledky jsou však aplikovatelné jen na selektovanou malou skupinu pacientů.

Pacienti, kteří byli před relapsem alogenně transplantováni, mohou dostat infuzi dárcovských lymfocytů (donor lymphocyte infusion, DLI). Pacientům s pozdním relapsem (>1 rok po alogenní HSCT) může být nabídnuta druhá transplantace.

4.10. Podpůrná péče

Profylaktická antiinfekční terapie

Velmi důležitými součástmi antiinfekční prevence je důsledná hygiena, především umývání ruk pacienta a ošetřujícího personálu.

Antibiotická profylaxe významně snižuje riziko smrti a riziko s infekcí spojené smrti, proto je doporučovaná u pacientů s AML po podání chemoterapie a preferovanou skupinou antibiotik by měly být chinolony.

Invazivní mykotické infekce jsou hlavní příčinou morbidit a mortality pacientů s prolongovanou neutropenií. Aktualizované evropské návody antimykotické profylaxe u hematologických pacientů byly publikované v roce 2010. V primární profylaxi je

doporučený posakonazol, který v randomizovaných studiích snižoval riziko vzniku invazivní mykotické infekce.

Přestože použití **růstových faktorů** urychluje vzestup počtu neutrofilů za 2-5 dní, redukuje používání antibiotik, zkracuje trvání teploty a počet dní hospitalizace a nezpomaluje obnovu trombocytů a nemá škodlivý efekt na stimulaci růstu leukemických buněk, jejich všeobecné použití u AML není doporučováno. V individuálních případech (např. při těžké infekci) však je možné jejich použití zvážit.

Zavedení **transfuze** trombocytů výrazně snížilo mortalitu na krvácení u pacientů s AML. Všeobecně doporučená hranice k aplikaci transfuze je pokles počtu trombocytů pod $10\text{-}20 \times 10^9/\text{l}$. V případě těžké mukozitidy, infekce, febrilní neutropenie a jiných stavů spojených s vyšším rizikem krvácení je vhodné udržovat počet trombocytů na vyšší úrovni.

Je všeobecně uznávané, i když evidence chybí, udržovat hladinu hemoglobinu nad 80g/l.

U pacientů před, během nebo po alogenní HSCT se doporučuje transfundovat přípravky se sníženým počtem leukocytů ke snížení rizika aloimunizace a přenosu cytomegalovirové infekce. Gamma-záření (nejméně 25 Gy) je jediná osvědčená metoda prevence s transfuzí asociované reakce štěpu proti hostiteli (graf versus host disease, GvHD). Ozařované transfuzní přípravky je doporučené používat od startu přípravného režimu do 6 měsíců po alogenní HSCT.

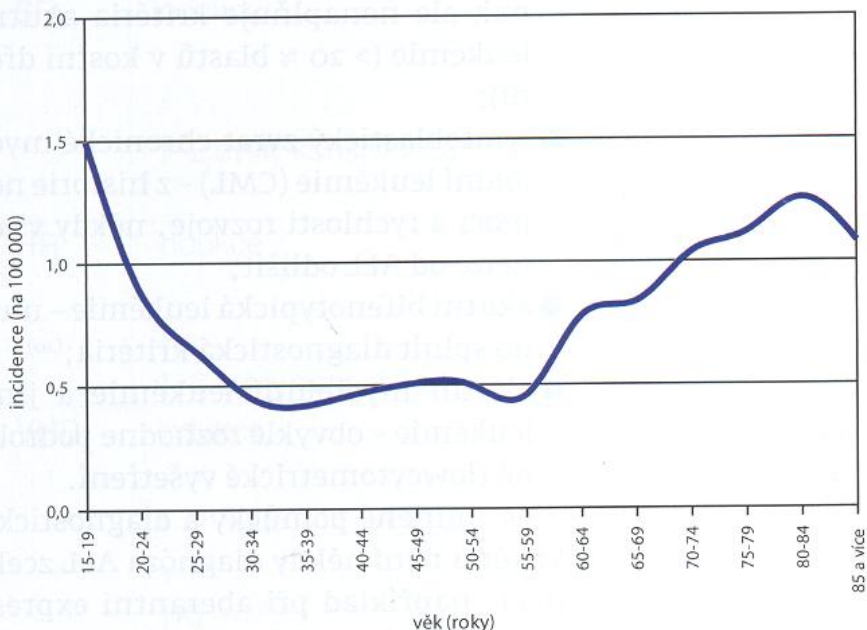
4. 11. Závěr

Poslední desetiletí přineslo významný pokrok k porozumění molekulárně genetického podkladu AML. Toto poznání vedlo k nové kategorizaci AML, rozdělení do prognostických skupin, možnosti sledování MRD, ale bohužel zatím jen velmi omezeně k vývoji nových zásadních léků. V současnosti dostupné léky dosáhly svůj

limit a určitého zlepšení výsledků se dá dosáhnout pomocí „patients risk based“ přístupu.

5. Akutní lymfoblastická leukemie (dospělých)

Akutní lymfoblastická leukemie (ALL) patří mezi maligní lymfoproliferativní onemocnění typické pro dětský věk, avšak s relativně nízkým výskytem i v dospělé populaci. Incidence v ČR činí 1,2 případu na 100 000 obyvatel a tvoří asi 20 % všech akutních leukemií. Věkové rozložení incidence ALL ukazuje obr. 6.



Obr. 6. Věkové rozložení incidence akutní lymfoblastické leukemie.

Jak je z obrázku patrné, výskyt této nemoci klesá v pozdním dětském věku, tedy u adolescentů a mladých dospělých. Druhý

vrchol incidence pak přichází u nemocných nad 50 let. S poměrem 1,4:1 lehce převažují muži nad ženami.

Léčba ALL je poměrně komplikovaná; vyžaduje dodržení dávkové intenzity i časového plánu a spolupráci pacienta, obzvláště zpočátku léčby a v případě transplantace krvetvorby. Je zřejmé, že není ve všech případech snadné všechny tyto podmínky naplnit. Navíc každý odklad a redukce dávek jsou spojené s rizikem relapsu onemocnění. Z výše uvedených důvodů, i z hlediska značné heterogenity ALL dospělých, je obtížné se vyjádřit k “průměrné” prognóze všech pacientů. Jak uvidíme dále, vyskytují se případy s velmi dobrým celkovým přežitím a na druhé straně i s prognózou velmi nepříznivou. Každopádně již nyní můžeme uvést, že celkové přežití v celé skupině dospělých pacientů s ALL se podle údajů v literatuře pohybuje okolo 40 % v intervalu 5 let od stanovení diagnózy.

5.1. Etiopatogeneze

Mimo všeobecně platných kancerogenních faktorů, jako je kouření, expozice chemikáliím a záření, vzniká ALL bez zjevné příčiny. Výjimku tvoří některé dědičné choroby, např. Downův syndrom, Fanconiho anémie a neurofibromatóza, u kterých je incidence ALL vyšší. Druhým případem jsou u nás vzácné lymfomy a leukemie způsobené virem Epsteinova a Barrova (EBV) a lidským T lymfotropním virem typu I (HTLV I), které se vyskytují v Africe a východní Asii.

Akutní lymfoblastická leukemie vzniká maligní transformací kmenové hematopoetické buňky, která nakročí směrem - lymfoidní řada, ale v určité fázi vývoje lymfoblastu se její diferenciaci zastavuje a pokračuje v proliferaci nezralého prekurzoru.

5.2. Diagnostika

Klinické příznaky pacientů bývají většinou značně nespecifické, podobně jako u jiných leukemií. Nejčastější potíží je slabost, únava a dušnost z anémie, kožní a slizniční krvácení při těžké trombocytopenii, recidivující akutní infekty nedobře reagující na antibiotika, bolesti břicha při hepatomegalii nebo splenomegalii a zvětšené lymfatické uzliny (tab. 6). Lékařem prvního kontaktu se tedy stává nejen praktický lékař či internista, ale i pneumolog, kardiolog, chirurg, neurolog, dermatolog či lékař ORL. Rozpoznání příčiny těchto obtíží, zvláště zpočátku, kdy ještě nejsou všechny příznaky rozvinuté, jistě není lehké, nápadný je snad jen rychlý rozvoj a potíže zhoršující se během několika dnů. Může se objevit i postižení jiných orgánů než krve a kostní dřeně - hepatomegalie a splenomegalie, mediastinální tumor (častěji u T-ALL), infiltrace jiných orgánů (břišní častěji u B-ALL) nebo postižení CNS, což může být opět zavádějící. Kožní symptomy jsou zřejmé na obr. 7.

Tab. 6. Výskyt příznaků akutní lymfoblastické leukemie

Lymfadenopatie	57 %
Splenomegalie	56 %
Hepatomegalie	47 %
Infekce, teploty	36 %
Krvácení	33 %
Tumor mediastina	14 %
Infiltrace orgánů	9 %
Infiltrace CNS	7 %



Obr. 7. Postižení kůže u nemocného s relapsem T-akutní lymfoblastické leukemie. (Foto F. Folber.)

Je třeba provést laboratorní vyšetření, minimálně krevní obraz, který i v těchto počátečních fázích nebývá v normě, a časně - nejlépe ihned - odeslat pacienta za specialistou hematologem.

V periferní krvi nacházíme obraz anémie a trombocytopenii různého stupně a větší či menší leukocytózu s nápadnou neutropenií a lymfocytózou, diferenciace leukocytů odhalí lymfoblasty. Není však výjimkou i nález referenčního počtu všech krvinek, až na již zmíněnou lymfocytózu, příp. pancytopenie.

Následuje vyšetření kostní dřeně, které prokáže infiltraci lymfoblasty. Arbitrárním kritériem WHO pro stanovení diagnózy akutní leukemie je pak infiltrace blasty v počtu alespoň 20 %.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Starší morfologické dělení u klasifikace FAB na lymfoblasty typu L1 (malé, uniformní, s velkým poměrem jádro/cytoplazma, bazofilní cytoplazma, nenápadné jádérko), L2 (heterogenní, nepravidelné jádro a heterogenním chromatinem a různými jádérky) a L3 (velké, uniformní, podobné buňkám Burkittova lymfomu) již není používáno, protože je velmi orientační a nemá klinický význam. V cytochemickém vyšetření je reakce PAS (periodic acid Schiff) pozitivní a reakce POX (myeloperoxidáza) negativní.

Přínosnější než morfologie je flowcytometrické vyšetření, které lze provést i z krve a je schopné stanovit velmi rychle (v řádu hodin) konečnou diagnózu. Jeho principem je imunofenotypizace buněk pomocí fluorescenčně značených monoklonálních protilátek, které umožní jednak diagnostikovat ALL a jednak určit, v jakém bodě se zastavila diferenciací lymfoblastů. Znalost fenotypu blastů je dále velmi přínosná pro stanovení prognózy a sledování léčebné odpovědi. Flowcytometrické (imunofenotypizační) dělení ALL ukazuje tab. 7.

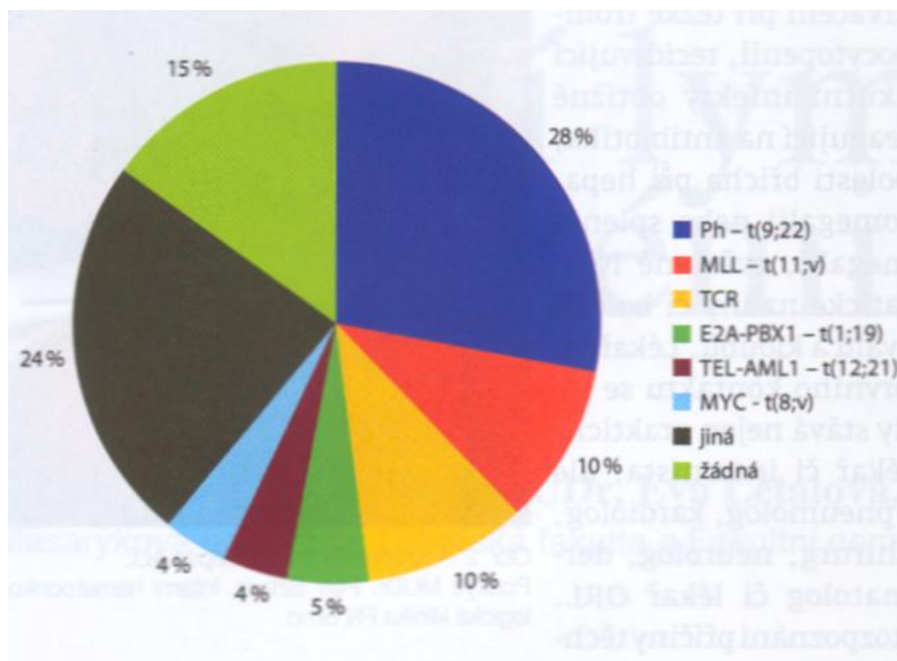
Tab. 7. Imunofenotypizační dělení akutní lymfoblastické leukemie s frekvencí výskytu jednotlivých podtypů nemoci

B-ALL	CD19+ a/nebo CD79+ a/nebo CD22+	76 %
pro-B	nemá jiné znaky	11 %
common-B	CD10+ (CALLA)	51 %
pre-B	cytoplazmatické IgM+	10 %
mature-B	cytoplazmatické nebo povrchové kappa nebo lambda	4 %
T-ALL	cytoplazmatické nebo povrchové CD3+	24 %
pro-T	CD7+	6 %
pre-T	CD2+ a/nebo CD5+ a/nebo CD8+ nebo CD4+	

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

cortical/thymic-T	CD1a+	18 %
mature-T	povrchové CD3+, CD1a-, TCRalfa/beta+ nebo TCR gamma/delta+	

Cytogenetické vyšetření a FISH odhalí asi u tří čtvrtin pacientů patologickou aberaci. Prognostický význam má zejména filadelfský chromozom s translokací t(9;22) a změny týkající se genu MLL na 11. chromozomu; obě jsou nepříznivé. Výskyt cytogenetických aberací u ALL dospělých ukazuje obr. 8.



Obr. 8. Výskyt cytogenetických aberací u akutní lymfoblastické leukemie dospělých.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Na rozdíl od ALL u dětí mají numerické chromozomální aberace (hyperdiploidie, haploidie, hypodiploidie, pseudodiploidie) nižší výskyt a malý prognostický význam.

Metody molekulární genetiky umožňují odhalit výše uvedené translokace s daleko vyšší přesností a citlivostí, opět se ale používají hlavně k detekci fúzního genu *bcr/abl* a patologií genu *MLL*. Neoddiskutovatelným přínosem je pak jejich využití pro monitoraci MRD pomocí specifických přestaveb genů pro gamaglobuliny (IgH) a receptor T-buněk (TCR).

5.3. Rizikové faktory

Uvedená vstupní vyšetření a iniciální odpověď na léčbu pomáhají rozdělit nemocné do tří rizikových skupin podle přítomnosti či nepřítomnosti prognosticky významných faktorů. V případě standardního rizika musí být splněny všechny podmínky, pro vysoké a velmi vysoké stačí jen jedna podmínka. Rizikovou stratifikaci užívanou ve studiích skupiny GMALL ukazuje tab. 8.

Mezi další rizikové faktory patří např. vyšší věk, lymfadenopatie, leukocytóza nad $100 \times 10^9/l$ u T-ALL, procento blastů, aktivita laktátdehydrogenázy (LDH), cytogenetika, infiltrace CNS, nepřítomnost CD40, některé další CD znaky apod. Tyto však nebývají součástí rozhodovacího postupu na začátku léčby nebo jsou sporné.

Tab. 8. Rizikové skupiny akutní lymfoblastické leukemie dospělých

Riziko	B-ALL	T-ALL
Standardní (SR)	vstupní leukocyty $<30 \times 10^9/l$ jiné než pro-B, <i>bcr/abl</i> negativní, <i>MLL/AF4</i> negativní, kompletní remise do 26. dne	thymic-T

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Vysoké (HR)	vstupní leukocyty $>30 \times 10^9/l$ pro-B, MLL/AF4 pozitivní, komplexní karyotyp, kompletní remise po 26. dni	jiné než thymic-T
Velmi vysoké (VHR)	bcr/abl pozitivní	bcr/abl pozitivní

5.4. Diferenciální diagnostika

V úvodu vyšetřování lze jistě zvažovat diferenciální diagnostiku febrilií, lymfadenopatie, hepatosplenomegalie, krvácivých stavů a dalších nespecifických příznaků akutní leukemie. Morfologické, cytochemické a flowcytometrické vyšetření periferní krve a kostní dřeně však diagnózu leukemie stanoví rychle a spolehlivě. Rozpaky přicházejí v případech hraničních stavů mezi podobnými onemocněními, kdy můžeme chtít vyloučit například:

- lymfoblastický lymfom - diagnóza stanovena z histologie infiltrátu, jinak ale nenaplnuje kritéria akutní leukemie (nad 20 % blastů v kostní dřeni),
- lymfoblastický zvrát chronické myeloidní leukemie (CML) - z historie nemoci a rychlosti rozvoje, někdy však nelze od ALL odlišit,
- akutní bifenotypická leukemie - nutno splnit diagnostická kritéria,
- akutní myeloidní leukemie a jiné leukemie - obvykle rozhodne podrobné flowcytometrické vyšetření.

Přes zmíněné pomůcky a diagnostická kritéria není někdy diagnóza ALL zcela jistá, například při aberantní expresi myeloidních znaků nebo při podezření na CML, a pak nezbyvá než se spolehnout na vlastní intuici nebo kolektivní názor kolegů.

5.5. Terapie

Hlavní součástí léčby ALL je chemoterapie. Léčebné protokoly se liší podle jednotlivých pracovních skupin, ale základní schéma je společné: indukční chemoterapie, následovaná několika cykly chemoterapie konsolidační (intenzifikační) a zakončení udržovací léčbou, autologní nebo alogenní transplantací krvetvorby. Celý léčebný proces je velmi dlouhý, úvodní indukční chemoterapie trvá až dva měsíce a klade tedy velké nároky na spolupráci pacienta s lékařským i ošetrovatelským personálem a na jejich psychiku, zvláště při nastalých komplikacích, které vedou k jejímu dalšímu prodlužování.

V léčbě se užívají v kombinaci cytostatika obvyklá pro lymfoidní malignity: alkylační látky (cyklofosamid), antracykliny (doxorubicin, daunorubicin, idarubicin), alkaloidy (vinkristin, vindesin, etoposid), purinová analoga (cytarabin, fludarabin, 6-merkaptopurin, thioguanin), antimetabolity (metotrexát) a kortikosteroidy (prednison, dexametazon). Vlastní léčbu v některých protokolech nebo klinických situacích předchází ještě prefáze s kortikosteroidy a cytostatiky v nižších dávkách za účelem částečné cytoredukce a prevence syndromu z rozpadu nádoru (viz dále).

Specifickým lékem pro ALL je enzym asparagináza, který vyvolává depleci asparaginu. Princip účinku je založen na předpokladu, že leukemické buňky mají velmi nízkou aktivitu asparaginsyntázy a nejsou si tedy schopné tento enzym syntetizovat.

Pro pacienty s pozitivitou bcr/abl, tedy skupinu velmi vysokého rizika, je indikováno podávání tyrozinkinázového inhibitoru (TKI; imatinib, případně dasatinib, zkouší se i nilotinib), a to kontinuálně od zjištění positivity současně s chemoterapií až do alogenní transplantace krvetvorby. Po transplantaci je podávání TKI omezeno na klinické studie nebo pro případ relapsu či positivity MRD.

Monoklonální protilátka rituximab se též dostává do portfolia léčby ALL, a to v kombinaci s chemoterapií v případě přítomnosti antigenu CD20 na povrchu lymfoblastů.

Vzhledem k určitému riziku infiltrace CNS a omezenému průniku většiny cytostatik do mozkomíšního moku je součástí léčebných protokolů také profylaktická intrathékální aplikace cytostatik (např. metotrexátu, cytarabinu a dexametazonu, k dispozici je i liposomální cytarabin) a profylaktická radioterapie neurokrania v dávce okolo 24 Gy.

Mimo profylaktického ozáření hlavy je možno provádět i terapeutickou radioterapii mediastina dávkou 24 až 36 Gy v případě ložiskového postižení mediastina, nejčastěji u T-ALL nebo lymfoblastického lymfomu.

Udržovací léčbu (maintenance) po konsolidační chemoterapii nebo po autologní transplantaci tvoří většinou metotrexát a 6-merkaptopurin podávané perorálně v nízké dávce po dobu 1-2 roků.

Alogenní transplantace krvetvorných buněk je metodou volby pro pacienty vysokého (HR) a velmi vysokého rizika (VHR) nebo při nedostatečné léčebné odpovědi. Zdrojem krvetvorných buněk může být HLA shodný sourozenec i nepříbuzný dárc. Z myeloablativních režimů je nejčastěji používána kombinace cyklofosfamidu a TBI (celotělové ozáření v dávce 10-12 Gy) nebo etoposidu a TBI, lze však podat i nemyeloablativní přípravný režim, např. FLAMSA-RIC-TBI/Cy: fludarabin, cytarabin, ATG (antithymocytární globulin), cyklofosfamid a 4 Gy TBI nebo fludarabin a busulfan. Imunosupresivní léčba k prevenci GvHD se liší podle jednotlivých režimů, je to např. cyklosporin A, mykofenolát mofetil, metotrexát, ATG nebo kortikosteroidy.

Autologní transplantace má indikace výrazně užší a její pozice v léčbě ALL je spojena s určitými kontroverzemi, kdy některé pracovní skupiny tuto léčebnou alternativu neuznávají. Podle závěrů jiných studií je indikována u pacientů se standardním (SR) a vysokým rizikem (HR) při negativitě MRD jako alternativa časově náročnější konsolidační léčby nebo jako alternativa rizikovější alogenní transplantace nebo při nenalezení vhodného dárce. Zdrojem krvetvorných buněk může být jak kostní dřev, tak kmenové buňky získané z periferní krve po mobilizaci chemoterapií a leukocytárními

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

růstovými faktory, výsledky se neliší. Dříve diskutované promývání a pročišťování (purging) odebraných buněk *in vitro* se neukázalo jako přínosné. Vhodným přípravným režimem je opět cyklofosamid a TBI v dávce 10-12 Gy, některé pracovní skupiny však užívají také etoposid a TBI nebo melfalan a TBI. Autologní transplantaci by měla vždy následovat maintenance kombinací několika cytostatik, nejčastěji 6-merkaptopurinu a metotrexátu, nebo i s vinkristinem a prednisonem, která by měla trvat alespoň jeden až dva roky.

Obecné doporučení pro léčbu první linie v ideální situaci shrnuje tab. 9.

Tab. 9. Obecná doporučení léčby akutní lymfoblastické leukemie dospělých

Riziko	Úvodní léčba	MRD po úvodní léčbě	Další léčba	Udržovací léčba (maintenance)
SR	indukce + 1-2 cykly konsolidace	negativní	další cykly konsolidace, autologní transplantace	ano
		pozitivní	alogenní transplantace, klinická studie další cykly konsolidace	po samotné konsolidační léčbě
HR	indukce + 1-2 cykly konsolidace	negativní	alogenní transplantace, autologní transplantace	po autologní transplantaci
		pozitivní	alogenní transplantace, klinická studie	ano

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

VHR	indukce + 1-2 cykly konsolidace + TKI	negativní	alogenní transplantace, autologní transplantace?	ne
		pozitivní	alogenní transplantace, klinická studie	TKI?

Vysvětlivky: SR = standardní riziko, HR = vysoké riziko, VHR = velmi vysoké riziko, MRD = minimální zbytková nemoc, TKI = tyrozinkinázový inhibitor

5.6. Komplikace a podpůrná léčba

Syndrom nádorového rozpadu (tumor lysis syndrome) patří mezi nejzávažnější komplikace v úvodu léčby, zvláště u nemocných s velkou masou tumoru (lze odhadnout podle leukocytózy, aktivity LDH a kyseliny močové, lymfadenopatie, organomegalie příp. extramedulárního postižení), kterým je podána hned zpočátku intenzivní protinádorová léčba (vysoké dávky kortikosteroidů a cytostatik). V těchto případech hrozí metabolický rozvrat s hyperkalemií, hyperfosfatemí, hypokalcemií, metabolickou acidózou, hyperurikemií, selháním ledvin a koagulopatií. Proto by takto rizikovní pacienti měli být v úvodu své léčby hospitalizováni na jednotce intenzivní péče, kde je zajištěna adekvátní podpůrná léčba - centrální žilní vstup, monitorace vnitřního prostředí, krevního obrazu a koagulace 2-3x denně, intenzivní hydratace, forsírovaná diuréza a alkalizace, podání alopurinolu, příp. i rasburikázy a užití kontinuálních eliminačních technik (CVVH). Teprve při zabezpečení těchto opatření může být zahájena protinádorová léčba nízkými dávkami kortikosteroidů s jejich postupným navyšováním a až po několika dnech, s ohledem na vývoj stavu může zahájena terapie podle léčebného protokolu.

Infekční komplikace v důsledku imunosuprese, neutropenie a kortikosteroidů provázejí přibližně 30 % cyklů chemoterapie, nebývají však zpravidla život ohrožující a odezní po podání

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

širokospektré empirické antibiotické, antivirotické či antimykotické léčby. Většina protokolů obsahuje doporučení k profylaxi závažných infekcí, jedná se o prevenci pneumocystové pneumonie (kotrimoxazol), herpesvirových infekcí (acyklovir a pravidelná monitorace cytomegaloviru (CMV) pomocí PCR a mykotických infekcí (flukonazol, itrakonazol či amfotericin B a sledování galaktomannanu a glukanu). Neutropenii je možno zkrátit přidáním leukocytárních růstových faktorů (faktoru stimulujícího kolonie granulocytů, G-CSF), což vede nejen k lepší adherenci k léčebnému protokolu a snížení rizika infekcí, ale i ke zvýšení pravděpodobnosti dosažení kompletní remise, prodloužení celkového přežití a dokonce ke snížení rizika relapsu. Přitom se není třeba bát závažných nežádoucích účinků G-CSF, jako je toxické působení na zdravé kmenové buňky nebo stimulace proliferace blastů. V neposlední řadě přispívá ke snížení rizika infekcí i zkrácení délky kortikoterapie v novějších protokolech.

Po vyšších dávkách metotrexátu lze očekávat mukozitidu gastrointestinálního traktu, nejčastěji stomatitidu nebo postcystostatickou kolitidu, které si někdy vynutí i přechodné podávání parenterální výživy. Adekvátní podpurná opatření (alkalizace a leukovorin rescue, léčba infekce, podpora G-CSF, dostatečná nutrice a hydratace, analgetika, lokální léčba) umožní výskyt této pro pacienta velmi nepříjemné komplikace snížit nebo alespoň zkrátit její trvání.

Podání asparaginázy doprovází hepatotoxicita (elevace bilirubinu a transferáz, časté ranní hypoglykemie), pankreatopatie (zvýšení amylázy), koagulopatie s rizikem krvácivých (prodloužení INR a APTT) i trombotických komplikací (pokles fibrinogenu a antitrombinu), neurotoxicita (různé stupně poruchy vědomí až po kóma) a alergické reakce (kožní vyrážka až anafylaktický šok). Přestože tyto komplikace nejčastěji vůbec nenastanou nebo odezní v řádu několika dnů nebo málo týdnů, vyžadují velkou pozornost, pravidelnou monitoraci a rychlý zásah (hepatoprotektiva, parenterální výživa, vysazení hepatotoxických léků, transfuze

plazmy, substituce koagulačních faktorů a další podpůrná léčba), jelikož mohou, při nedostatečné intervenci nebo v kombinaci s infekcí, potenciálně ohrozit život pacienta.

Hepatopatie může provázet také léčbu vinkristinem, 6-merkaptopurinem, metotrexátem nebo imatinibem. Nebývá však tak závažná jako po asparagináze a s přiměřenou léčbou postupně odezní.

Z komplikací po transplantaci krvetvorných buněk zmiňme alespoň oportunní infekce (pneumocystová pneumonie, mykotické plicní i mimoplicní infekce, reaktivace CMV, EBV, HHV6 nebo BKV), akutní a chronickou formu GvHD nebo venookluzivní nemoc jater. Jejich podrobný popis však již přesahuje rámec tohoto sdělení a zájemce odkazujeme na citované publikace.

5.7. Některé zvláštní podskupiny akutní lymfoblastické leukemie

Adolescenti a mladí dospělí profitují z intenzivní léčby, obdobně jako pro ALL u dětí. V současné době je však již většina léčebných protokolů pro dospělé natolik inspirována pediatrickými protokoly a intenzita léčby tak vysoká, že ji není možno příliš zvyšovat. V hraničních případech (věk 15-20 let) je jistě na zvážení konzultace s centry dětské onkologie.

Starší pacienti naopak oplývají mnohými komorbiditami a stavy, které znemožňují intenzivní léčbu, jako je např. transplantace krvetvorby a vysoké dávky cytostatik a asparaginázy. Navíc často mají prognosticky horší varianty onemocnění (Ph⁺ ALL, další nepříznivé cytogenetické abnormality). Léčbu je pak v těchto případech nutno považovat za paliativní, s vysokým rizikem relapsu a nezajišťující dlouhé přežití bez známek leukemie.

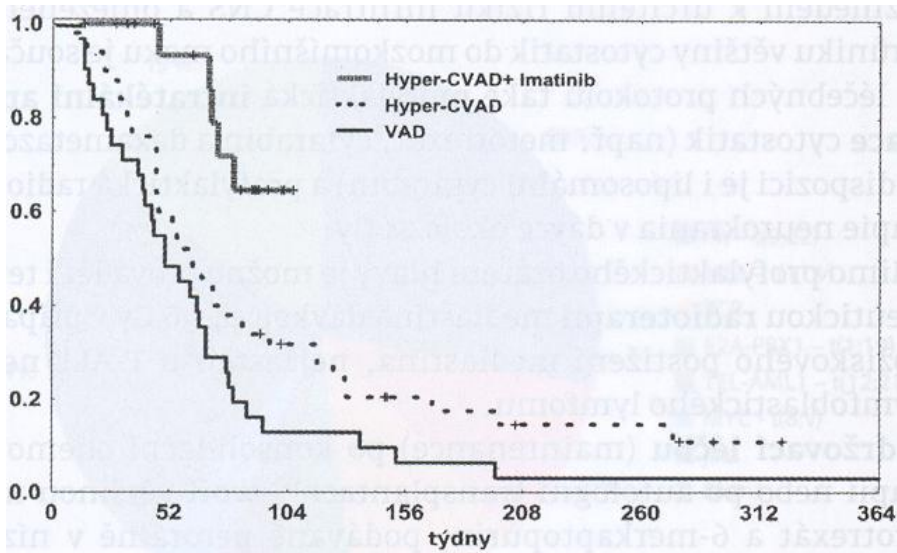
Mediastinální infiltrace se vyskytuje často u T-lymfoblastického lymfomu (T-LBL) a asi ve 14 % případů ALL. Lymfoblastický lymfom patří mezi vysoce agresivní non-hodgkinské lymfomy, jeho léčba spočívá v terapii obdobné jako u ALL standardního rizika, ke které navíc přibývá radioterapie mediastina po indukční

chemoterapii, prognóza je dobrá a dlouhodobé přežití se pohybuje okolo 50 %. ALL s infiltrací mediastina je léčena standardně, přibývá pouze radioterapie mediastina, prognóza není příliš ovlivněna a vyplývá ze základní charakteristiky ALL.

Infiltrace CNS se prokáže asi v 7 % případů ALL pomocí cytologie nebo flowcytometrie při vstupním vyšetření mozkomíšního moku. Léčba spočívá v intrathékální aplikaci cytostatik (metotrexátu, cytarabinu, dexametazonu) v kratších intervalech a déle než při profylaxi. Prognóza onemocnění s infiltrací CNS je nepříznivá, 5leté celkové přežití nedosahuje ani 30 %.

Pozitivita filadelfského chromozomu (Ph+) nebo fúzního genu *bcr/abl* bývá nalezena asi u 20 % všech ALL, její incidence však narůstá s věkem - nad 50 let je pozitivní u více než 50 % pacientů.

Tento podtyp ALL patří do skupiny velmi vysokého rizika (VHR). K chemoterapii je přidán tyrozinkinázový inhibitor (TKI), který však slouží pouze jako most k alogenní transplantaci, protože jedině tak je možno zlepšit celkové přežití na cca 50 %. Postavení TKI v udržovací terapii po transplantaci není zatím vyjasněno, jistě je ale TKI indikován při pozitivitě MRD. Není-li možno z důvodu nepřítomnosti dárce či nedobrého stavu pacienta provést alogenní transplantaci, lze zkusit při negativitě MRD transplantaci autologní nebo samotnou chemoterapii či jen kortikosteroidy, ale celkové přežití pak klesá pod 20 %.



Obr. 9. Přežití nemocných s Ph+ ALL podle terapie.

Zralá B-ALL je podle nové WHO klasifikace vlastně Burkittovým lymfomem (BL) s postižením kostní dřeně a leukemizací. Výskyt je asi 1-2 % ze všech lymfomů, častá je masivní nebo i extranodální infiltrace v dutině břišní, diagnostika spočívá v histologii lymfatické uzliny a kostní dřeně a průtokové cytometrii. Léčba probíhá podobně jako u BL, některé pracovní skupiny mají vlastní protokoly zase podobné léčbě ALL. Prognóza zralé B-ALL je dobrá, přežití nad 75 % nemocných.

5.8. Sledování

Během léčby probíhá sledování léčebné odpovědi vyšetřením periferní krve a kostní dřeně v důležitých časových bodech podle jednotlivých protokolů, obvykle po restituci krvetvorby po každém

cyklu chemoterapie. Po ukončení léčby jsou pak pacienti sledováni v pravidelných intervalech několika měsíců, později let.

Ke sledování MRD je možno použít flowcytometrii k detekci CD znaků typických pro ALL, PCR k detekci specifických přestaveb genu pro IgH a TCR nebo fúzního genu bcr/abl. Senzitivita všech těchto metod je 10^{-4} až 10^{-6} , hladina MRD nižší než 10^{-4} je pak považována za negativní. V různých klinických studiích byl prokázán prognosticky příznivý vliv negativity MRD po indukci, v 22. týdnu léčby, před transplantací i po ní.

5.9. Relaps

Relaps onemocnění postihne bohužel téměř polovinu pacientů s ALL. Pokud je v období sledování po ukončení léčby diagnostikován molekulární relaps, je v naprosté většině případů následován i relapsem hematologickým.

Cílem léčby relapsu je pokus o dosažení druhé kompletní remise (CR2) pomocí záchranné chemoterapie a následné alogenní transplantace. Možné scénáře a doporučení léčby druhé linie u dospělých shrnuje tab. 10.

Tab. 10. Doporučení léčby 2. linie u akutní lymfoblastické leukemie

Molekulární relaps	klinická studie, sledování
Hematologický relaps	klinická studie, záchranná chemoterapie + alogenní transplantace
Relaps po autologní transplantaci	klinická studie, záchranná chemoterapie + alogenní transplantace
Relaps po alogenní transplantaci	klinická studie, redukce imunosuprese,

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

	podání DLI, retransplantace
bcr/abl pozitivita	klinická studie, TKI 2. generace
Špatný stav pacienta	paliativní léčba

Vysvětlivky: DLI = infuze dárcovských lymfocytů, TKI = tyrozinkinázový inhibitor

Každopádně pravděpodobnost navození CR2 je daleko nižší a výsledky léčby mnohem horší. Prognóza pacientů s relabovanou ALL je tudíž velmi špatná, pětileté celkové přežití je nižší než 10 %.

5.10. Prognóza

Prognóza onemocnění akutní lymfoblastickou leukémií je velmi variabilní a závisí na výše uvedených rizikových faktorech, komorbiditách, možnosti podat indikovanou léčbu a komplikacích této léčby. Pětileté celkové přežití v celé skupině pacientů je asi 40 %. Výsledky léčby pacientů v různých skupinách shrnuje tab. 11.

Tab. 11. Prognóza nemocných s akutní lymfoblastickou leukémií podle rizikových skupin

Riziko	Kompletní remise (%)		Pětileté přežití (%)	
	Všichni	Do 55 let	Všichni	Do 55 let
SR	80	93	56	64
HR	78	88	36	50
VHR	77	86	18	42

Vysvětlivky: SR = standardní riziko, HR = vysoké riziko, VHR = velmi vysoké riziko

5.11. Budoucnost

Velké pracovní skupiny průběžně aktualizují svoje protokoly a neustále zlepšují léčebné výsledky, které se v mnoha případech již značně přibližují příznivým výsledkům léčby ALL u dětí.

Z množství nových nadějných léků zmiňme alespoň modifikovaná purinová analoga - nelarabin, clofarabin a forodesin a bispecifickou monoklonální protilátku (BiTE) antiCD3-antiCD19 (blinatumomab), které jsou však vyhrazeny k použití v případě relabujícího onemocnění, nedostatečné léčebné odpovědi nebo v rámci klinických studií. V časnějších fázích klinických studií nebo v preklinickém testování jsou inhibitory tyrozin kinázy a dalších kináz třetí generace a inhibitory signální dráhy Notch.

Dosud ne zcela vyřešenými otázkami zůstává eskalace léčby u MRD pozitivních pacientů, udržovací léčba po alogenní transplantaci a léčba pacientů neschopných transplantace krvetvorby.

5.12. Závěr

Akutní lymfoblastická leukemie dospělých je relativně vzácné agresivní lymfoproliferativní onemocnění, které má velmi variabilní prognózu. Léčba je náročná, často vyžaduje transplantaci krvetvorných buněk a přináší trvalé vyléčení pouze asi u třetiny pacientů.

6. Chronická myeloidní leukemie

Chronická myeloidní leukemie je získané klonální onemocnění vyvolávající proliferaci myeloidních prekurzorů v kostní dřeni.

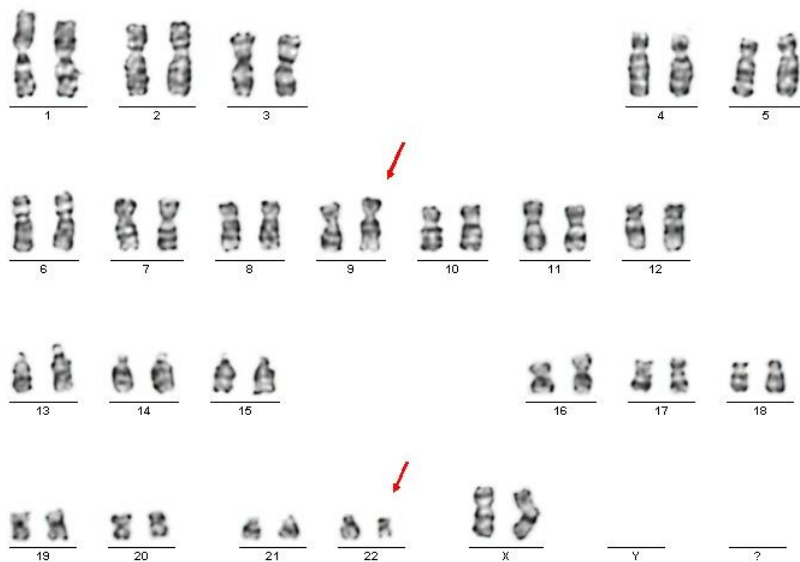
6.1. Epidemiologie

Údaje o celkové incidenci se v literatuře velmi různí a pohybují se od 0,6 do 2,0 nových případů na 100 000 obyvatel za rok. Výskyt onemocnění narůstá s věkem a věkový medián při stanovení diagnózy je v šesté dekádě. V dětství je vzácné. Onemocnění se častěji vyskytuje u mužů než u žen (1,4:1).

6.2. Patofyziologie

Chronická myeloidní leukemie je prvním nádorovým onemocněním, jehož vznik byl dán do souvislosti se specifickou chromozomální změnou – reciproční translokací mezi dlouhými rameny chromozomu 9 a 22 $t(9;22)(q34;q11)$. Výsledkem je zkrácený chromozom 22, známý také jako Philadelphia (filadelfský, Ph) chromozom (obr. 10). Dochází tak k fúzi genu *BCR* a genu *ABL*. U CML se v převážné míře vyskytují zlomy v oblasti major genu *BCR-ABL*: b2a2 (e13a2) a b3a2 (e14a2). Minimum pacientů má zlom v oblasti minor genu *BCR* (e1a2), který je typický i pro některé případy akutní lymfoblastické leukemie, anebo zlom v oblasti mikrogenu *BCR* (e19a2). Chimerický protein Bcr-Abl má silnou tyrozinkinázovou aktivitu. Nevyžaduje aktivaci dalšími buněčnými proteiny a sám neregulovaně aktivuje kaskádu proteinů, které kontrolují buněčný cyklus, a urychluje dělení buňky. Kromě toho inhibuje opravu DNA, což způsobuje genomovou instabilitu. Bylo jednoznačně prokázáno, že protein Bcr-Abl hraje zásadní úlohu v patogenezi CML.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně



Obr. 10. Karyotyp 46, XX, t(9;22). (Uveřejněno s laskavým svolením MVDr. Vaňkové a RNDr. Oltové, Interní hematoonkologická klinika LF MU a FN Brno.)

6.3. Klinický obraz, diagnostika a diferenciální diagnostika

Klinický obraz

Až u 30 % pacientů se onemocnění zjistí náhodně při vyšetření krevního obrazu, přičemž vyšetřovaní jsou zcela bez fyzických těžkostí. U ostatních jsou subjektivní počáteční příznaky velmi nespecifické. Jedná se o zvýšenou únavu, nevykonnost, noční pocení a ztrátu hmotnosti. Někteří pacienti si stěžují na pocit plnosti po jídle, nechutenství, bolest v levém hypochondriu. S postupnou progresí CML se symptomy zhoršují. Objevuje se dušnost, tachypnoe, tachykardie, cyanóza, hučení v uších, závratě, hemoragie na očním pozadí, edém papily, priapismus (u méně než 2 % mužů s CML),

krvácivé nebo trombotické komplikace. Tyto příznaky, související s extrémní leukocytózou, jsou však v současnosti vzácné.

Fyzikální vyšetření

V časných fázích je fyzikální vyšetření většinou bez patologického nálezu. U méně než čtvrtiny pacientů je přítomná mírná splenomegalie. V pokročilejších fázích může být přítomná extrémní splenomegalie, spolu s hepatomegalií, krvácivými projevy na kůži a sliznicích, anemický vzhled. U mužů se CML může vzácně manifestovat priapismem.

Laboratorní vyšetření

Krevní obraz a diferenciální rozpočet patří k základním vyšetřením u CML. Počet leukocytů je zvýšený, dosahuje hodnot $20\text{--}500 \times 10^9/l$. V rozpočtu je zmnožení neutrofilních granulocytů, přítomné jsou jejich nezralé formy (metamyelocyty, myelocyty, promyelocyty, myeloblasty). Pravidelným nálezem je zvýšený počet bazofilních a eozinofilních granulocytů a jejich nezralých forem.

Hemoglobin bývá referenční, u malé části pacientů je hemoglobin snížený (normochromní normocytární nebo makrocytární anémie). Počet trombocytů bývá na horní hranici referenčního rozmezí nebo mírně zvýšený ($400\text{--}1\,000 \times 10^9/l$, vzácně bývá až k $2\,000 \times 10^9/l$).

Biochemické vyšetření bývá bez větších pozoruhodností, zvýšená bývá sérová hladina kyseliny močové a aktivita laktátdehydrogenázy, která koreluje s aktivitou nemoci. Pseudohyperkalemie se vyskytuje při nadměrném uvolnění draslíku z buněk především při delším intervalu mezi odběrem a zpracováním vzorku.

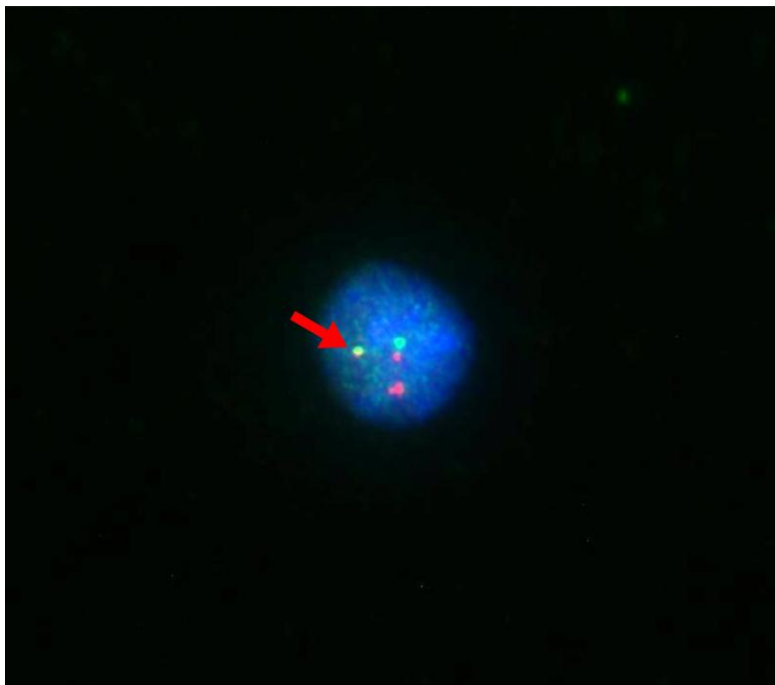
Cytologické a histologické vyšetření kostní dřene je pro diagnostiku CML nevyhnutelné. Buněčnost kostní dřene v **chronické fázi CML** je zvýšená (95–100 %). Erytropoéza je redukována, její podíl v rozpočtu je pod 5 %. Je přítomná hyperplazie myeloidní řady, zvýšený počet neutrofilních, eozinofilních a bazofilních granulocytů, včetně jejich prekurzorů. Zastoupení myeloblastů je do 10 % podle WHO kritérií a do 15 % podle European LeukemiaNet (ELN)

kritérií. Poměr myeloidní a erytroidní řady je vyšší než 10:1. Zvýšená je i megakaryopoéza. Megakaryocyty jsou malé a hypolobulované. Můžeme se setkat s nálezem pseudo-Gaucherových buněk a modrých (sea-blue) histiocytů, které obsahují zbytky buněk a lipidové inkluze z buněčných membrán granulocytů, jako důsledek insuficience enzymatického systému degradujícího glukocerebrosidy při zvýšeném buněčném obratu. Může být přítomný různý stupeň fibrózy kostní dřeně. V **akcelerované fázi** přibývá myeloblastů (10-19 % podle WHO kritérií, 15-30 % podle ELN kritérií), objevují se dysplastické změny a narůstá fibróza dřeně.

V **blastické krizi** je přítomná blastická infiltrace. Nejčastěji (cca v 70 %) se jedná o myeloblastický zvrát (myeloblasty >20 %, resp. 30 %), ale asi 25 % případů tvoří B-lymfoblastický zvrát a popsané byly i případy T-lymfoblastického zvrátu. Vzácně mohou být přítomné i dvě odlišné populace blastů – myeloidní a lymfoidní.

Histologické vyšetření kostní dřeně není zařazené do současných diagnostických kritérií CML. Nenahraditelné je však při obtížné aspiraci (např. při fibróze). Histologický obraz CML je variabilní a umožňuje rozlišení do tří subtypů: (1) granulocytárního, (2) bohatého na megakaryocyty a (3) myelofibrotického.

Základním vyšetřením k detekci Ph chromozomu je klasické **cytogenetické vyšetření**. Hematopoetické buňky kostní dřeně jsou kultivované *in vitro* a následně je proces delení buněk zastaven v metafázi buněčného cyklu. Buněčná suspenze je nanesená na sklíčka a barvená speciálním pruhovacím barvením, např. G-pruhováním, které vytvoří na chromozomech světlé a tmavé pruhy. Toto charakteristické pruhování umožňuje přesně sestavit karyotyp. Pro správnou interpretaci by mělo být hodnoceno nejméně 20 metafáz ve světelném mikroskopu. Fúze genu *BCR-ABL* může být potvrzená **fluorescenční *in situ* hybridizací (FISH)**, která používá specifické, fluorescenčně značené DNA sondy (obr. 11).



Obr. 11. Jádru s *BCR/ABL* pozitivním fúzním genem, vyšetření fluorescenční *in situ* hybridizací. (Uveřejněno s laskavým svolením RNDr. Vranové, Ph.D., Oddělení lékařské genetiky, FN Brno a RNDr. Oltové, Interní hematologická klinika LF MU a FN Brno.)

U některých pacientů se mohou vyskytovat přidatné cytogenetické změny v Ph pozitivních a Ph negativních buňkách (tzn. další chromozomové změny kromě t(9;22)). Ve vysokém procentu jsou přítomné u pacientů v blastické fázi CML. Předpokládá se, že pacienti s přidatnými chromozomálními změnami představují skupinu s horší prognózou.

Cytogenetické vyšetření má nezastupitelné postavení nejen v diagnostice, ale i hodnocení klinické odpovědi pacientů s CML.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

V tab. 12 je klasifikace cytogenetické odpovědi podle European LeukemiaNet (ELN).

Z **molekulárně biologických metod** se používá na detekci translokace t(9;22) polymerázová řetězová reakce (real time polymerase chain reaction, RT-PCR), která je jednoduchá, přesná a dostatečně citlivá. Citlivost v praxi je však velmi nejednotná a kolísá podle množství a kvality vzorku, účinnosti reverzní transkripce a použité metody a odhaduje se na 10^{-4} až 10^{-5} . Návody na sjednocení metody byly publikované v roce 2006. Definice molekulární odpovědi podle ELN 2009 je v tab. 12.

Tab. 12. Definice hematologické, cytogenetické a molekulární odpovědi podle ELN guidelines 2009

Hematologická odpověď	
Kompletní (CHR)	leukocyty $<10 \times 10^9/l$, trombocyty $<450 \times 10^9/l$, bazofily $<5\%$, nepřítomnost myelocytů, promyelocytů a myeloblastů v dif. rozpočtu, nehmatná slezina
Cytogenetická odpověď	% Ph pozitivních metafáz
Kompletní (CCgR)	0
Parciální (PCgR)	1–35
Malá	36–65
Minimální	66–95
Žádná	96–100
Molekulární odpověď	
Kompletní (CMoIR)	nedetekovatelný <i>BCR-ABL</i> mRNA transkript metodou real-time PCR a/nebo negativní nested PCR ve 2 následujících vzorcích přiměřené kvality (citlivost $>10^4$)
Velká (MMoIR)	poměr <i>BCR-ABL</i> k <i>ABL</i> (nebo k jinému referenčnímu genu) $\leq 0,1\%$ mezinárodní škály

Diferenciální diagnostika

Leukocytóza s posunem doleva (leukemoidná reakce) se může vyskytnout u infekčních, zánětových a některých nádorových

onemocnění. Typické pro tyto reaktivní změny je silná toxická granulace neutrofilů, chybí bazofilie a eozinofilie.

Odlišení CML od jiných chronických myeloproliferativních onemocnění, se kterými má mnoho společných charakteristik (leukocytóza s přítomností nezralých granulocytů, trombocytóza, splenomegalie, fibróza kostní dřeně) stojí na cytogenetickém nebo molekulárně genetickém vyšetření (důkaz Ph chromozomu nebo fúzního genu *BCR-ABL*).

Odlišení Ph pozitivní akutní lymfoblastické leukemie od CML diagnostikované v blastické fázi nemusí být jednoduché. V anamnéze zpravidla chybí údaj o CML a fúzní gen *BCR-ABL* je typu minor.

6.4. Průběh a prognóza

Léčbou nekontrolovatelná CML probíhá u většiny pacientů ve třech stádiích - **chronická fáze, akcelerovaná fáze, blastický zvrát**. Jednotná definice stadií CML neexistuje a nejčastěji se používají definice podle WHO a ELN (tab. 13). Do chronické fáze se klasifikují nemocní, kteří nespĺňují žádné z kritérií pro akcelerovanou fázi nebo blastický zvrát CML.

Chronická fáze CML je nejdělsí a nejlépe ovlivnitelná léčbou. Na průběh onemocnění působí řada faktorů, ale zásadní význam pro prognózu má způsob léčby a léčebná odpověď. V klinické praxi se používají 2 prognostické indexy, které rozdělují pacienty s CML do skupin s nízkým, středním a vysokým rizikem. **Sokalův index** byl vytvořený na základě multivarianční analýzy klinických charakteristik více jak 800 pacientů s CML léčených konvenční chemoterapií. **Hasfodův index** (nebo Euro index) byl vytvořený v ěře interferonu a jeho podkladem byla retrospektivní metaanalýza 1 303 pacientů s CML. Oba indexy se dají lehce vypočítat na stránce European LeukemiaNet: http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/cml_score/. Převratně zlepšení prognózy způsobil imatinib (IMA), který se začal využívat v roce 1998. Významným prognostickým faktorem je kvalita léčebné odpovědi (měřená

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

cytogeneticky a molekulárně biologicky) a doba léčby potřebná k jejímu dosažení. Horší prognózu mají též pacienti s mutací *ABL*, která souvisí s rezistencí na tyrozinkinázové inhibitory (TKI).

Medián trvání **akcelerované fáze** se udává mezi jedním a dvěma roky. Pacienti odpovídají na léčbu imatinibem, ale s délkou léčby narůstá počet pacientů s rezistencí na imatinib. Většina pacientů v **blastické fázi** je rezistentní na imatinib a TKI 2. generace dávají pacientům šanci na převedení alogenní transplantace krvetvorby (hematologic stem cell transplantation, HSCT).

Tab. 13. Přehled definicí akcelerované a blastické fáze CML podle WHO a ELN. Pacient je v příslušné fázi, pokud splňuje alespoň 1 kritérium

	WHO	ELN
Akcelerovaná fáze CML		
Blasty v periférii	10-19 %	15-29 %
Blasty + promyelocyty v krvi	NA	≥ 30 %
Bazofily v krvi	≥20 %	≥20 %
Počet trombocytů ($\times 10^9/l$)	<100 ^a >1000 ^b	<100 ^a
Přidatné cytogenetické abnormality	ano	NA
Blastická fáze CML		
Blasty (v dřeni nebo periférii)	≥20 %	≥30 %
Extramedulární blastická infiltrace	ano	ano
Jiné	ložiska blastů v biopsiátu KD	

Vysvětlivky: WHO – World Health Organisation, ELN – European LeukemiaNet, KD – kostní dřev, NA – nehodnotitelné, ^a – nezávislé na léčbě, ^b – neovlivnitelná léčbou

6.5. Terapie

Historie léčby

První zmínku o leukemii podali Rudolph Virchow z Berlína a John Bennet z Edinburghu v roce 1845. Éra chemoterapie začala v 19. století, když se podařilo snížit počet leukocytů u pacienta s CML Fowlerovým roztokem, který obsahoval arsen. Ve 20. století se CML léčila ionizujícím zářením. V roce 1953 sa poprvé použil busulfan a stal sa tak na tři desetiročí standardní terapií. Léčba interferonem ve 20. století prodloužila přežití nemocných na 55-89 měsíců a v 80. a 90. letech se stal novou standardní terapií u pacientů v chronické fázi. V 90. letech se do popředí dostala alogenní transplantace krvetvorných buněk a CML byla nejčastější indikací k transplantaci.

Převratnou změnu léčby přinesly tyrozinkinázové inhibitory. První TKI – **imatinib** - byl poprvé použitý v klinické studii v roce 1998 a jeho účinnost byla potvrzená dalšími studiemi. Od roku 2002 sa stal součástí léčby CML ve 2. linii po selhání interferonu. Klinické studie s TKI 2. generace – **dasatinibem** a **nilotinibem** – dokázaly jejich bezpečnost a účinnost i u pacientů rezistentních na imatinib a v současnosti se používají rutinně v léčbě CML.

Imatinib

Imatinib-mesylát je derivát fenylaminopyrimidinu. Působí jako selektivní kompetitivní inhibitor tyrozinových kináz Abl, Bcr-Abl, c-Kit, Arg, PDGRF α a PDGFR β . Vede k apoptóze leukemických buněk i k inhibici jejich proliferace. Po perorálním podání se rychle vstřebává a biologická dostupnost je 97 %. Je téměř kompletně vázaný na bíkoviny krevní plazmy, převážně na albumin. Je metabolizovaný v játrech cytochromovým systémem P450 (převážně izoenzymem CYP3A4). Vylučuje se v podobě metabolitů stolicí a močí. Studie nepotvrdily významný vliv hmotnosti, povrchu těla, věku či pohlaví na farmakokinetiku, ale dokázaly existenci významných interindividuálních rozdílů. Nežádoucí účinky jsou

dobře snášené a nejčasteji se vyskytují dyspeptické těžkosti, retence tekutin, bolesti svalů, křeče a alergické reakce.

Mezinárodní randomizovaná studie IRIS (interferon a low-dose cytarabin vs. imatinib 400 mg) publikovaná v roce 2003 prokázala vyšší procenta dosažených kompletních hematologických, cytogenetických i molekulárních remisí ve skupině pacientů léčených IMA. Aktualizace studie v 7. roce potvrdila u pacientů léčených IMA kumulativní kompletní cytogenetickou odpověď (CCgR) v 82 %, přežití bez progresu v 93 % a celkové přežití v 88 %. V 7. roce pokračovalo v léčbě IMA 60 % pacientů. Na základě studie IRIS se IMA v dávce 400 mg na den stal 1. linií léčby CML v chronické fázi. Zvýšení iniciální dávky IMA na 800 mg sice urychlí nástup cytogenetické a molekulární odpovědi, ale počet dosažených cytogenetických a molekulárních remisí ve 12. měsíci není statisticky významný a navíc je doprovázený zvýšenou toxicitou.

Dasatinib

Dasatinib (DASA) je derivát thiazolkarboxamidu. Působí jako selektivní kompetitivní inhibitor tyrozinové kinázy Abl, Bcr-Abl, c-Kit, PDGFR α , kináz rodiny Src a současně jako inhibitor kinázy ephrinového receptoru (EPH). Dasatinib interaguje s Bcr-Abl v inaktivní i v aktivní konformaci enzymu, důsledkem čeho je jeho účinnost i u většiny mutovaných forem Bcr-Abl, které jsou k imatinibu rezistentní. Výjimkou je mutace kinázové domény *BCR-ABL1* T315I. *In vitro* je 325x účinnější než IMA. Po perorálním podání se rychle vstřebává a z 90 % je vázaný na bílkoviny. Metabolizuje se v játrech systémem izoenzymů P450 a vylučuje se stolicí. Prostupuje do CNS. K nežádoucím účinkům patří myelosuprese (nejčastěji přechodná), gastrointestinální intolerance, alergické reakce a retence tekutin (otoky, pleurální a perikardiální efuze).

Dasatinib byl v roce 2006 schválený pro léčbu CML v chronické, akcelerované i blastické fázi při rezistenci nebo intoleranci IMA. Prospektivní randomizovaná studie identifikovala, že dávkování 100

mg 1x denně je stejně efektivní a lépe tolerované než jiné navrhované dávkování. Pacienti v CP netolerující IMA dosáhli MCgR v 76 % a CCgR v 75 %. Medián do dosažení MCgR byl 2,8 měsíce. Pacienti v CP rezistentní na IMA dosáhli MCgR v 51 % a CCgR ve 40 %. Medián do dosažení MCgR byl 5,5 měsíce. Přerušeni užívání dasatinibu 100 mg 1x denně se ve studii pohybovalo kolem 4 % a při dávce 2x70 mg 13 %. V multicentrické randomizované studii u nově diagnostikovaných dosud neléčených pacientů v CP dosáhl DASA 100 mg v porovnání s IMA 400 mg ve 12měsíčním sledování CCgR v 77 % vs. 66 % a MMolR 46 % vs. 28 %.

Nilotinib

Nilotinib (NILO) je derivátem aminopyrimidinu. Účinkuje jako selektivní kompetitivní inhibitor tyrozinové kinázy Bcr-Abl, PDGFR, c-Kit, CSF-1R a DDR. Není účinný u mutace *BCR-ABL1* T315I. Po perorálním užití se rychle vstřebává a z 98 % se váže na bílkoviny. Je substrátem i inhibitorem izoenzymu cytochromu P450 CYP3A4. Vylučuje se stolicí. Mezi nežádoucí účinky patří myelosuprese, kožní alergické reakce, bolesti hlavy, elevace pankreatických enzymů a prodloužení QTc intervalu na EKG.

Nilotinib v dávce 400 mg 2x denně byl schválený v roce 2007 pro léčbu CML v chronické nebo akcelerované fázi při rezistenci nebo intoleranci IMA. U 194 pacientů v CP s rezistencí na IMA bylo dosažené MCgR ve 48 % a CCgR ve 30 %, u pacientů netolerujících IMA ve 47 % a 35 %. Jednoroční celkové přežití bylo 95 %. Přerušeni léčby pro nežádoucí účinky bylo nutné u 15 % pacientů. V multicentrické randomizované studii u nově diagnostikovaných dosud neléčených pacientů v CP dosáhl NILO v dávce 300 mg 2x denně a NILO 400 mg 2x denně v porovnání s IMA 400 mg denně v 18měsíčním sledování CCgR v 85 % a 82 % vs. 74 % a MMolR 66 % a 62 % vs. 40 %.

Rezistence na léčbu TKI

Výskyt rezistence k IMA závisí především na fázi CML a na délce trvání onemocnění. Pravděpodobnost rozvoje rezistence v akcelerované fázi je 70 % a v blastickém zvratu až 90 %. Nejčastěji se vyskytuje ve 2. a 3. roku terapie. Byly definované 2 úrovně rezistence na léčbu IMA – **suboptimální odpověď** a **selhání léčby** a jejich kritéria jsou v tab. 14.

Tab. 14. Definice nedostatečné odpovědi a selhání léčby při terapii imatinibem v chronické fázi CML podle ELN guidelines

Časový úsek	Suboptimální odpověď	Selhání léčby	Varovné známky
Diagnóza	NA	NA	přidatné cytogenetické abnormality v Ph+ klonu
Po 3 měsících	nedosažení CgR	méně než CHR	NA
Po 6 měsících	méně než PCgR	nedosažení CgR	NA
Po 12 měsících	PCgR	méně než PCgR	méně než MMR
Po 18 měsících	méně než MMR	méně než CCgR	NA
Kdykoliv	ztráta MMolR, mutace <i>BCR-ABL1</i> kinázové domény	ztráta CHR, ztráta CCgR, mutace <i>BCR-ABL1</i> kinázové domény, přidatné cytogenetické abnormality v Ph+ klonu	zvyšování množství transkriptu, přidatné cytogenetické abnormality v Ph+ klonu

Vysvětlivky: NA - nehodnotitelné, CHR – kompletní hematologická remise, CgR – cytogenetická remise, PCgR – parciální cytogenetická remise, MMolR – velká molekulární odpověď

Při primární rezistenci mají význam faktory ovlivňující farmakokinetiku léku (nedostatečná absorpce z GIT, nízká plazmatická hladina IMA, aktivita transportních systémů hOCT-1 a MDR-1, polymorfismus CYP3A4, lékové interakce) – i když údaje jsou často rozporuplné. Při sekundární rezistenci se na ztrátě

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

odpovědi podílejí mutace *BCR-ABL1* vedoucí ke změně vazebného místa pro IMA, amplifikační mechanismy a přídatné cytogenetické abnormality leukemického klonu. Za nejvýznamnější se považují právě mutace *BCR-ABL1*, při kterých dochází ke konformačním změnám enzymu s alterací vazebného místa pro IMA. Vazba léku přestává být optimální nebo je úplně znemožněná a dochází k expanzi mutovaného klonu. V současnosti je známých více jak 70 mutací. Zjištění mutace se musí posuzovat individuálně s ohledem na typ mutace, vývoj cytogenetické a molekulární odpovědi a klinický stav pacienta.

TKI 2. generace jsou v současnosti hlavní alternativou při selhání terapie imatinibem. Rezistence k nim je však méně prozkoumaná. Za hlavní příčinu rezistence se považují mutace *BCR-ABL1*. U dasatinibu pravděpodobně nemají žádný význam transportní enzymy, neboť podle dostupných poznatků prochází do buněk prostou difuzí. Hodnocení odpovědi na TKI 2. generace po selhání léčby IMA podle ELN 2009 je v tab. 15.

Tab. 15. Hodnocení odpovědi na léčbu TKI 2. generace (dasatinib, nilotinib) v čase podle ELN guidelines

Časový úsek	Suboptimální odpověď	Selhání léčby	Varovné známky
Vstup	NA	NA	hematologická rezistence na IMA, přídatné cytogenetické abnormality v Ph+ klonu, mutace <i>BCR-ABL1</i> kinázové domény
Po 3 měsících	malá CgR	nedosažení CgR, nové mutace	minimální CgR
Po 6 měsících	PCgR	minimální CgR, nové mutace	malá CgR
Po 12 měsících	méně než MMolR	méně než PCgR, nové mutace	

Vysvětlivky: NA – nehodnotitelné, CgR – cytogenetická odpověď, PCgR – parciální cytogenetická odpověď, MMolR – velká molekulární odpověď

Alogenní transplantace krvetvorných buněk

Alogenní HSCT v 1. linii léčby nadále zůstává jako jediná potencionálně kurativní metoda. Přesto počet pacientů transplantovaných z této indikace každoročně klesá. Relativně vysoká morbidita a mortalita spojená s výkonem v porovnání s vysokou účinností a výbornou tolerancí IMA ji odsunula v chronické fázi CML z 1. linie léčby u dospělých i dětí. Retrospektivní analýza přežití potvrdila výrazně lepší 5roční přežití pacientů v CP léčených IMA v porovnání s těmi, kteří podstoupili alogenní HSCT (93 % vs. 59 %). Proto se alogenní HSCT v současné době indikuje spíše výjimečně a přísně individuálně, po zvážení prognózy CML a rizik spojených s výkonem (EBMT skóre), a to převážně u pacientů v blastické fázi CML a při rezistenci na TKI (mutace T315I).

6.6. Současná doporučení léčby a monitorování

Cílem terapie je zabránit progresi nemoci do pokročilejších stadií a pacientům maximálně prodloužit kvalitní život. Rozdílné spektrum toxicity jednotlivých tyrozinkinázových inhibitorů umožňuje pro každého pacienta zvolit vhodný preparát s vysokou účinností. V roce 2006 byla panelem expertů vypracovaná a publikovaná doporučení organizace European LeukemiaNet, která se rychle ujala v klinické praxi a přispěla ke sjednocení léčebných postupů. Pacienti jsou v jednotlivých časových bodech rozdělení na ty, kteří odpovídají optimálně na léčbu a ostatní, kteří odpovídají suboptimálně, nebo u nich léčba selhala. V roce 2009 byla doporučení aktualizována na základě nových poznatků z léčby TKI 2. generace. Přehled doporučení je v tab. 16.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Tab. 16. Přehled terapeutických doporučení v jednotlivých fázích CML podle ELN guidelines

Chronická fáze CML		
1. linie	všichni pacienti	imatinib 400 mg denně
2. linie	toxická a intolerance IMA	dasatinib nebo nilotinib
	suboptimální odpověď IMA	imatinib ve stejné nebo vyšší dávce, dasatinib nebo nilotinib
	selhání IMA	dasatinib nebo nilotinib, alogenní HSCT při progresi do AF/BF, při mutaci T315I
3. linie	suboptimální odpověď DASA nebo NILO	pokračovat DASA nebo NILO, zvážit alogenní HSCT
	selhání DASA nebo NILO	alogenní HSCT
Akcelerovaná fáze CML		
1. linie	neléčení IMA	imatinib 600-800 mg denně, nebo DASA či NILO, při rezistenci na TKI alogenní HSCT
2. linie	léčení IMA	DASA nebo NILO, při rezistenci na TKI alogenní HSCT
Blastická fáze CML		
Lymfoblastický zvrát	kombinace TKI a léčby jako u ALL, alogenní HSCT v remisi	
Myeloblastický zvrát	kombinace TKI a léčby jako u AML, alogenní HSCT v remisi	

Vysvětlivky: TKI – tyrozinkinázové inhibitory, ALL – akutní lymfoblastická leukemie, AML – akutní myeloidní leukemie, HSCT – transplantace krvetvorných buněk, IMA – imatinib, NILO – nilotinib, DASA – dasatinib, AF – akcelerovaná fáze, BF – blastická fáze

Léčba chronické fáze

Standardní terapií chronické fáze CML je imatinib v dávce 400 mg denně. Monitorování léčby probíhá v 3měsíčních intervalech a hodnotí se hematologická (krevní obraz a fyzikální nález), cytogenetická (% Ph pozitivních mitóz) a molekulárně genetická odpověď (% transkriptu *BCR-ABL1* v mezinárodní stupnici) – tab.

17. Klíčové časové body jsou 3., 6., 12. a 18. měsíc terapie IMA a kdykoliv při známkách suboptimální odpovědi nebo selhání terapie. Pacienti s optimální odpovědí pokračují v léčbě dlouhodobě a ukončení léčby IMA se nedoporučuje ani při dosažení kompletní molekulární odpovědi.

Při suboptimální odpovědi nebo selhání léčby je třeba pátrat po příčině. Může se jednat o nedodržování správného dávkování nebo lékové interakce a v rozhodování nám může pomoci stanovení hladiny IMA v krevní plazmě. Typ rezistence může objasnit cytogenetické vyšetření a mutační analýza. Při volbě TKI 2. generace se doporučuje ohled na komorbiditu pacienta. U pacientů s diabetem nebo po překonané pankreatitidě se dává přednost DASA a při hypertenzi a plicních onemocněních NILO.

Tab. 17 Monitoring odpovědi na terapii imatinibem podle ELN guidelines

Odpověď	Monitoring
Hematologická	při diagnóze a potom každých 15 dní do CHR, po jejím dosažení každé 3 měsíce nebo podle potřeby
Cytogenetická	při diagnóze, potom ve 3., v 6. měsíci a dále každých 6 měsíců do CCgR, po jejím dosažení 1x ročně, vždy při podezření na selhání terapie a při nevysvětlitelné leukopenii, anémii a trombocytopenii
Molekulární	každé 3 měsíce do MMolR, potom každých 6 měsíců
Mutační analýza	v případě suboptimální odpovědi nebo selhání terapie, před změnou za jiný TKI nebo jinou terapii

Vysvětlivky: CHR – kompletní hematologická odpověď, CCgR – kompletní cytogenetická odpověď, MMolR – velká molekulární odpověď

Léčba akcelerované a blastické fáze

U pacientů diagnostikovaných v akcelerované fázi se zahajuje terapie IMA v dávce 600–800 mg denně. Pacienti, u kterých došlo k progresi do akcelerované fáze po dobu terapie IMA, jsou indikováni k terapii DASA nebo NILO.

U pacientů v blastickém zvratu nevede monoterapie TKI k úspěšné kontrole nemoci. Proto se používají v kombinaci

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

s chemoterapií. Riziko relapsu je však vysoké a redukovat ho může jen alogenní HSCT provedená po dosažení remise. Doporučení vyhledávání dárce a načasování alogenní HSCT podle ELN guidelines jsou v tab. 18.

Terapie vyššími dávkami IMA je spojená s vyšším výskytem nežádoucích účinků a zvýšenou hematologickou toxicitou, ke které přispívá i nižší rezerva normální krevtvorby.

Tab. 18. Doporučení pro alogenní transplantaci krevtvorných buněk podle ELN guidelines

Vyhledávání příbuzného dárce	Pacienti
Při diagnóze CML	CML diagnostikovaná v AF a BF, pacienti s varovnými známkami, věk <20 roků
Kdykoliv při selhání IMA	U všech pacientů
Vyhledávání nepříbuzného dárce (pokud nebyl nalezen příbuzný dárce)	Pacienti
Při diagnóze CML	CML diagnostikovaná v AF a BF
Kdykoliv při selhání IMA	Progrese s AF/BF, mutace T315I, hematologická rezistence na IMA
Během léčby TKI 2. generace	Suboptimální odpověď a EBMT skóre 0-2
Provedení alogenní HSCT	Pacienti
Při diagnóze CML	CML diagnostikovaná v AF a BF, před HSCT se doporučují TKI
Kdykoliv při selhání IMA	Progrese s AF/BF, mutace T315I, před HSCT se doporučují TKI 2. generace
Během léčby TKI 2. generace	U všech pacientů
Vyhledávání příbuzného dárce	Pacienti
Při diagnóze CML	CML diagnostikovaná v AF a BF, pacienti s varovnými známkami, věk <20 roků
Kdykoliv při selhání IMA	U všech pacientů
Vyhledávání nepříbuzného dárce (pokud nebyl nalezen příbuzný dárce)	Pacienti
Při diagnóze CML	CML diagnostikovaná v AF a BF

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Kdykoliv při selhání IMA	Progrese s AF/BF, mutace T315I, hematologická rezistence na IMA
Během léčby TKI 2. generace	Suboptimální odpověď a EBMT skóre 0-2
Provedení alogenní HSCT	Pacienti
Při diagnóze CML	CML diagnostikovaná v AF a BF, před HSCT se doporučují TKI
Kdykoliv při selhání IMA	Progrese s AF/BF, mutace T315I, před HSCT se doporučují TKI 2. generace
Během léčby TKI 2. generace	U všech pacientů

Vysvětlivky: AF – akcelerovaná fáze, BF – blastická fáze, HSCT - transplantace krvetvorných buněk

6.7. Závěr

Tyrozinkinázové inhibitory způsobili převrat v léčbě CML, významně prodloužily přežití a zlepšily kvalitu života pacientů s CML. Současné poznatky o rezistenci a pokrok v laboratorních metodách umožňují včas odhalit pacienty nereagující na léčbu 1. linie a zvolit individuálně nejlepší alternativní terapii.

7. Chronická lymfocytární leukemie

Chronická lymfocytární leukemie (CLL) patří mezi nízké agresivní lymfoproliferativní onemocnění, jehož podstatou je klonální proliferace malých B-lymfocytů s typickým imunofenotypem v periferní krvi, kostní dřeni, lymfatických uzlinách, játrech, slezině či jiných orgánech. Při absenci orgánového postižení je pro stanovení diagnózy nutná přítomnost více jak $5 \times 10^9/l$ monoklonálních lymfocytů koexprimujících CD5 a CD23 v periferní krvi. Poslední doporučení International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia - sponsored Working Group (IWCLL-WG) z roku 2008 připouštějí diagnózu CLL i v případech periferní cytopenie

a lymfopenie, pokud jsou způsobeny masivní infiltrací kostní dřeně při základním onemocnění.

Pokud počet monoklonálních B-lymfocytů v periferní krvi nedosahuje arbitrární hranice $5 \times 10^9/l$, uvažujeme o dalších 2 nozologických jednotkách. V případě izolované lymfocytózy s typickým fenotypem CD5+ a CD23+ hovoříme o **monoklonální B-lymfocytóze**. Pokud je současně přítomno i orgánové postižení (zejména lymfadenopatie, organomegalie) jedná se o lymfom z malých lymfocytů (SLL).

7.1. Epidemiologie

Podle údajů National Cancer Institute (NCI) je CLL nejčastější leukemií v západním světě, kde tvoří téměř 30 % všech diagnostikovaných leukemií. V severských zemích činí dokonce 35-40 % všech leukemií, naopak ve východní Asii její podíl klesá na pouhých 3-5 %. Odhaduje se, že v roce 2009 v USA přibylo 15 490 nových případů CLL a současně 4 390 osob na tuto nemoc zemřelo. Podle výše uvedených údajů by incidence CLL v USA pro rok 2009 činila 5,04 případů na 100 000 obyvatel. Podle starších údajů, publikovaných v roce 1999, byla incidence CLL u bělošské populace v USA 3,35-3,69 u mužů a 1,61-1,92 u žen. V Evropě byla incidence u mužů 2,2-3,36 a u žen 0,9-1,52, v Oceánii pak u mužů 2,81-2,96 a 1,41-1,53 u žen. Naopak nejnižší incidenci udávají v jižní, jihovýchodní a východní Asii, kde se incidence pohybovala u mužů mezi 0,14-0,58 a u žen v rozmezí 0,05-0,3. CLL je onemocnění starších lidí. V letech 1975 až 2005 činil průměrný věk pacienta v době stanovení diagnózy 72 let. Předpokládá se, že až 3,5 % dospělých a 8 % dospělých ve věku nad 70 let může mít klinicky němé onemocnění nebo výše zmiňovanou monoklonální B-lymfocytózu.

V roce 2008, ve spolupráci s hematology Jihomoravského kraje, proběhla dotazníková studie, jejímž cílem bylo zmapovat aktuální epidemiologickou situaci CLL a současně diagnostické a léčebné

preferance hematologických pracovišť v tomto kraji. Bylo zjištěno, že na území Jihomoravského kraje k 31. srpnu 2008 žilo 540 pacientů s diagnózou CLL, 306 mužů a 234 žen. Poměr muži:ženy činil 1,4:1. Medián věku pacienta v době stanovení diagnózy činil 65 let. Incidence CLL v roce 2006 byla 5,8 případů na 100 000 obyvatel, v roce 2007 pak 6,2 případů na 100 000 obyvatel. Zjištěná incidence byla vyšší, než udávaly analýzy z 90. let minulého století. Vysvětlením je pravděpodobně stále se zpřesňující diagnostika CLL, kdy v současnosti zachytíme i případy CLL, které v minulosti zůstávaly opomenuty.

7.2. Etiopatogeneze

V poslední době dochází k významnému posunu v diagnostice a léčbě pacientů s CLL. Hlubší pochopení patogeneze CLL však i přes intenzivní výzkum v této oblasti stále chybí. Původ CLL buněk je odvozován od různých vývojových stadií B-lymfocytů. Imunitní odpověď „zdravého“ B-lymfocytu je založena na rozpoznání antigenu receptorem (BCR). Po navázání antigenu na BCR je B-lymfocyt aktivován, dochází k jeho klonální expanzi a přeměně na plazmatický B-lymfocyt produkující imunoglobuliny. Každý BCR má své specifické vazebné místo (tzv. variabilní část), které se utváří V(D)J rekombinací příslušných subgenů. Tyto subgeny se narodí od ostatních genů nedědí, ale utváří se až během zrání B-lymfocytu v kostní dřeni. Po setkání B-lymfocytu s antigenem v sekundárních lymfatických orgánech pak dochází k somatické hypermutaci BCR (bodové mutaci v subgenech), jejímž cílem je zvýšit afinitu protilátky k tomuto antigenu. Pomocí mutační analýzy variabilní části imunoglobulinového řetězce (IgVH) můžeme CLL pacienty rozdělit do 2 zhruba stejně velikých skupin: (1) na ty, u nichž došlo k somatické hypermutaci, mají mutovaný IgVH gen, a (2) na ty, jejichž CLL buňky nesou IgVH gen nemutovaný. Studiemi z posledních let bylo dokázáno, že i skupina buněk s nemutovaným IgVH genem prošla antigenní stimulací. Předpokládá se, že kromě

antigenní stimulace hraje v patogenezi CLL důležitou roli také narušení apoptotických drah a vliv mikroprostředí.

7.3. Příznaky

Diagnóza CLL je až u 70 % pacientů stanovena náhodně v asymptomatickém období, kdy jediným příznakem CLL je lymfocytóza v periferní krvi. Nejčastěji k tomu dochází při vyšetření krevního obrazu v rámci preventivní prohlídky či předoperačního vyšetření. Příznaky onemocnění jsou shodné s obecnou symptomatologií maligních lymfomů.

Lymfadenopatie

Pro CLL je typická generalizovaná lymfadenopatie, která na počátku onemocnění nebývá nijak výrazná. Nejčastěji nacházíme zvětšené lymfatické uzliny v oblasti krku, nadklíčku, axil a třísel. Masivní mediastinální či retroperitoneální lymfadenopatie není u počátečních stadií častá. Díky rutinnímu využívání zobrazovacích metod jsou však mírně zvětšené uzliny detekovatelné u většiny pacientů i v těchto lokalitách. Pokud dojde v průběhu onemocnění k rychlému a výraznému zvětšení uzlin v jedné oblasti, je vždy nutno myslet na transformaci onemocnění do high-grade lymfoproliferace - tzv. **Richterův syndrom**.

Splenomegalie a hepatomegalie

Alespoň mírně zvětšenou slezinu nacházíme v době diagnózy u více jak 50 % pacientů, hepatomegalie je méně častá. Výrazná splenomegalie může pacientům působit zažívací obtíže, bolesti břicha a v případě rozvinutého hypersplenismu se může podílet na prohloubení anémie a trombocytopenie.

B-symptomy

Jako B-symptomy označujeme celkové klinické příznaky, které se typicky objevují u pacientů s maligními lymfoproliferacemi. Jsou způsobeny cytokiny produkovanými nádorovými buňkami. Mezi B-symptomatologií řadíme neinfekční teploty nad 38 °C, zvýšené noční pocení vyžadující výměnu prádla během spánku a úbytek hmotnosti, který dosáhl více jak 10 % za posledních 6 měsíců. Tyto příznaky se pravidelně objevují či zesilují při progresi CLL do pokročilejších stadií.

Anémie a trombocytopenie

Etiologie anémie a trombocytopenie u pacientů s CLL může být dvojitá. Jedná se buď o projev pokročilého onemocnění – potom bývají způsobeny cytokiny a mechanickým útlakem kostní dřeně nádorovými buňkami. Ve druhém případě se jedná o autoimunitní hemolýzu/autoimunitní trombocytopenii, která je způsobena přítomností reagujících protilátek proti erytrocytům či trombocytům.

7.4. Diagnóza

Pro stanovení diagnózy CLL je v současnosti vyžadována přítomnost více jak $5 \times 10^9/l$ klonálních B-lymfocytů v periferní krvi. Rozhodujícím vyšetřením pro potvrzení klonality a fenotypu B-lymfocytů je pak průtoková cytometrie. Podle doporučení IWCLL-WG z roku 2008 není pro stanovení diagnózy CLL nutné vstupní vyšetření kostní dřeně. Toto vyšetření získává na významu zejména v dalších fázích onemocnění při hodnocení odpovědi na terapii či při diferenciální diagnostice cytopenií.

Morfologie

V nátěrech periferní krve u typické formy CLL nacházíme uniformní zralé lymfocyty, s kulatým či oválným jádrem, hutným, kondenzovaným chromatinem. Jádérka nejsou patrná. Cytoplazma tvoří úzký lem, který je lehce asymetrický, slabě bazofilní, většinou

agranulární a jen vzácně obsahuje inkluze či vakuoly. Tyto nádorové lymfocyty jsou velmi fragilní, v nátěru proto nacházíme velké množství jaderných stínů a rozpadajících se buněk, které jsou označovány jako Gumprechtovy stíny. Pokud jsou v nátěru přítomny prolymfocyty, neměl by jejich podíl přesahovat 10 %. Dosáhne-li počet prolymfocytů 55 %, hovoříme již o B-prolymfocytární leukemii, což je lymfoproliferativní onemocnění s agresivnějším chováním.

Průtoková cytometrie

K charakteristickému fenotypu CLL buněk patří exprese povrchových antigenů B-buněk CD19, CD20 a CD23, koexprese T buněčného antigenu CD5 a současně nízká exprese znaku CD79b. Klonalita buněk je vyjádřena expresí lehkých řetězců buď kappa, nebo lambda. Povrchový imunoglobulin (sIg) je exprimován s nízkou intenzitou, což je označováno zkratkou „dim“. Do diagnostického panelu jsou dnes zahrnovány také znaky CD20 a CD52 s ohledem na využívání monoklonálních protilátek anti-CD20 (rituximab) a anti-CD52 (alemtuzumab) v léčebných režimech pro CLL. Typický imunofenotyp buněk CLL lze tedy vyjádřit následovně: $CD5+19+20^{dim+}52+23+79b^{-/dim+}$.

Flowcytometrie hraje významnou úlohu také v diferenciální diagnostice CLL od ostatních lymfoidních malignit. U leukemizujícího lymfomu z pláštěvých buněk (mantle cell lymphoma, MCL) nacházíme v periferní krvi také populaci $CD5+$ a $CD19+$ buněk. Obdobně jako CLL postihuje starší populaci, jde však o lymfom agresivnějšího typu s podstatně horší prognózou, odlišení těchto diagnóz je tedy zásadní. Hlavním rozdílem je negativita antigenu CD23 u MCL, dále zvýšená intenzita exprese CD20 ve srovnání s CLL. MCL populace navíc nese znaky CD22, CD79b, FMC-7 a silně exprimuje sIg. Další chronické B-lymfoproliferace exprimují znaky CD19 a CD20, ale naopak nenesou znak CD5. Jedná se zejména o folikulární lymfom, vlasatobuněčnou leukemii a lymfoplazmocytní lymfom.

V dnešní době je průtoková cytometrie využívána nejen v rámci diagnostiky CLL, ale také při vyšetřování prognostických faktorů (viz další text) a při hodnocení MRD. Až u 25 % pacientů, u kterých je podle posledních IWCLL-WG kritérií definována kompletní remise onemocnění, detekujeme pomocí multiparametrické flowcytometrie MRD. Předpokládá se, že přítomnost MRD po podané terapii snižuje celkové přežití pacientů. Citlivost flowcytometrické detekce je jedna maligní buňka na 10^4 - 10^5 leukocytů. Ke zhodnocení MRD používáme čtyřbarevnou průtokovou cytometrii standardizovanou podle Rawstronova protokolu. Tato metodika využívající tři kombinace antigenů – CD5/19/22/81, CD5/19/43/79b a CD5/19/20/38 – je aplikovatelná na všechny typy léčebných režimů a detekuje CLL buňky s citlivostí do 0,01 % leukocytů.

7.5. Prognostické faktory

CLL je onemocnění s velmi heterogenním průběhem. Přestože medián celkového přežití (overall survival, OS) pacientů je přibližně 10 let, individuální prognóza pacienta s CLL se výrazně liší. Zatímco u některých nemocných si CLL zachovává indolentní charakter a nezkracuje předpokládanou délku života pacienta, u jiných se chová velmi agresivně, rychle progreduje a přežití pacienta od stanovení diagnózy je 2-3 roky. Vzhledem k tomu, že většina pacientů je dnes diagnostikována v časném stadiu CLL, jsou vyvíjeny snahy o predikci dalšího vývoje onemocnění - tedy o stanovení prognózy. Rizikové faktory u pacientů s CLL lze rozdělit na dvě základní skupiny, a to (1) na klasické a (2) tzv. nové prognostické faktory.

Klasické prognostické faktory

Mezi klasické prognostické faktory řadíme zejména stanovení klinického stadia CLL a zdvojojovací čas lymfocytů. Další klasické markery, které ovlivňují prognózu, jsou morfologie CLL buněk

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

v periferní krvi, typ CLL infiltrace v kostní dřeni a samozřejmě také věk, pohlaví a performance status pacienta v době diagnózy.

Klinický staging

Pro stanovení klinického stadia onemocnění jsou v běžné praxi i v rámci klinických studií používány dva základní stážovací systémy – **klasifikace podle Raie** a **klasifikace podle Bineta**. Použití těchto klasifikací je levné, jednoduché a nevyžaduje provedení speciálních zobrazovacích vyšetření jako je ultrasonografie, počítačová tomografie či magnetická rezonance. Originální klasifikace podle Raie byla v nedávné době modifikována a z původních 5 prognostických skupin zůstaly pouze tři. Modifikovaný „Rai“ tedy, stejně jako „Binet“, definuje 3 prognostické skupiny pacientů s nízkým, středním a vysokým rizikem. U jednotlivých skupin se výrazně liší medián OS (tab. 19). Staging podle Bineta je založen na počtu postižených uzlinových oblastí, který je definován přítomností zvětšených lymfatických uzlin nad 1cm v průměru nebo organomegalií a dále přítomností anémie či trombocytopenie. Bylo definováno 5 základních oblastí pro staging CLL: (1) Hlava a krk včetně Waldayerova okruhu. (2) Axily – postižení obou axil se počítá jako 1 oblast. (3) Třísla a povrchová femorální oblast – postižení obou třísel se počítá jako 1 oblast. (4) Hmatná slezina. (5) Hmatná játra (tab. 20).

Tab. 19. Klinické stadium CLL - modifikovaná klasifikace podle Raie

Modifikovaný systém podle Raie		Původní Rai	Medián OS (měsíce)
Nízké riziko (LR)	pouze lymfocytóza	0	>150

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Střední riziko (IR)	lymfocytóza, lymfadenopatie / splenomegalie / hepatomegalie	I-II	101 (I) 71 (II)
Vysoké riziko (HR)	Hb <110 g/l a/nebo trombo <100x10 ⁹ /l	III-IV	19

Vysvětlivky: Hb – hemoglobin, trombo - trombocyty

Tab. 20. Klinické stadium CLL – klasifikace podle Bineta

Systém podle Bineta			Medián OS (měsíce)
A	Hb ≥100g/l a trombo ≥100x10 ⁹ /l	0-2 postižené oblasti	nedosažen
B	Hb ≥ 100g/l a trombo ≥100x10 ⁹ /l	3 a více oblastí	84
C	Hb <10 g/l a/nebo trombo <100x10 ⁹ /l	libovolný počet	24

Vysvětlivky: Hb – hemoglobin, trombo – trombocyty

Zdvojovací čas lymfocytů

Zdvojovací čas lymfocytů (lymphocyte doubling time, LDT) je doba, za kterou dojde k zdvojnásobení počtu lymfocytů v periferní krvi. LDT kratší než 12 měsíců je obecně spojen s horší prognózou. Dynamika nárůstu lymfocytů je dlouhodobě užívána také při indikaci k zahájení terapie. Pokud je LDT kratší jak 6 měsíců nebo dochází k nárůstu lymfocytů o 50 % za dobu kratší jak 2 měsíce, je nutno s ohledem na další parametry zvažovat zahájení terapie. Zejména u pacientů s mírnou lymfocytózou je nutno myslet i na jiné, a někdy přechodné, příčiny nárůstu lymfocytózy.

Nové prognostické faktory

V posledních letech došlo k velkému pokroku v oblasti molekulárně genetické a cytogenetické diagnostiky CLL. Byly definovány specifické chromozomální aberace, genové mutace a další markery, které v některých případech významně ovlivňují prognózu pacienta a další terapeutický postup. Vyšetřování některých z nich je dnes již běžnou součástí každodenní hematologické praxe.

Cytogenetické vyšetření

CLL se vyznačuje přítomností klonálních aberací v patologických B-lymfocytech. Tyto změny jsou klasickými cytogenetickými metodami obtížně detekovatelné pro nízkou mitotickou aktivitu CLL buněk. Rozvoj molekulárně cytogenetických metod v 90. letech 20. století, zejména fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), komparativní genomové hybridizace (CGH) a kultivačních metod, umožnil detekovat cytogenetické abnormality až u 90 % pacientů s CLL.

V roce 2000 Döhner a kol. publikovali práci, v níž definovali na základě FISH 5 základních prognostických skupin, které se zásadně liší mediánem OS. Delece dlouhých ramének chromozomu 13 (**delece 13q14**) je vůbec nejčastější chromozomální změnou, která se vyskytuje u pacientů s CLL s frekvencí 40-60 %. Tato aberace je většinou spojena se stabilním klinickým průběhem a mutovaným IgVH genem, medián OS pacientů činí 32 měsíců. Nejčastější klonální numerickou abnormalitou u CLL je trisomie 12. chromozomu (**trisomie 12**) vyskytující se u 10-25 % pacientů. Přestože jde o první rekurentní aberaci detekovanou u CLL, její prognostický význam zůstává stále nejasný. Je obvykle spojována s atypickou morfologií B-lymfocytů a vyšším počtem prolymfocytů v periferní krvi, i když jiné práce tato tvrzení nepotvrdily. Medián OS pacientů s trisomií 12 je 114 měsíců. U 10-20 % pacientů s CLL je detekována delece dlouhého raménka chromozomu 11, nejčastěji v lokusu 22 a 23 (**delece 11q22-q23**). Tato cytogenetická

abnormalita bývá spojena s agresivním průběhem onemocnění u mladších pacientů, častá je přítomnost výrazného uzlinového syndromu. Medián OS pacientů s delecí 11q22-q23 je 79 měsíců. Ve spojitosti s touto aberací je studován gen ATM nacházející se na 11q22.3-q23.1. Bylo prokázáno, že se protein genu ATM účastní detekce poruchy DNA nad proteinem p53 a jeho defekty tak mohou vést k narušení p53-dependentní apoptotické dráhy, což souvisí s krátkým trváním odpovědi na léčbu alkylačními i purinovými analogy a špatnou prognózou. Nejméně častou, avšak současně prognosticky nejzávažnější chromozomální aberací u pacientů s CLL, je delece krátkého raménka chromozomu 17 (**delece 17p13**), která je detekovatelná u 10-15 % pacientů. Recentní práce prokázaly, že nejen delece 17p13, ale i samotná mutace TP53 bez přítomnosti delece má stejnou negativní prognostickou hodnotu. Vzhledem k inaktivaci p53-dependentní dráhy jsou tito pacienti většinou rezistentní na terapii purinovými analogy a alkylačními látkami, mohou však odpovídat na léčbu alemtuzumabem. Medián OS pacientů s delecí 17p.13 je 32 měsíců. Absenci chromozomální aberace označujeme jako **normální karyotyp**, medián OS těchto pacientů činí 110 měsíců.

Mutační stav IgVH

Významným posunem, nejen na úrovni studia etiopatogeneze CLL, ale i v rámci stanovení prognózy onemocnění, bylo zjištění, že asi u poloviny pacientů s CLL je přítomna somatická hypermutace ve varibilní části řetězce genu pro IgVH. Dříve se totiž předpokládalo, že buňky CLL odpovídají B-lymfocytům, které neprošly germinálním centrem lymfatického folikulu. V roce 1999 dvě na sobě nezávisle publikované práce Hamblina a Chiorazziho skupiny prokázaly, že nemutovaný typ IgVH je častěji spojen s nepříznivými cytogenetickými abnormalitami, agresivním průběhem onemocnění a horší prognózou. Jako nemutovaný označujeme IgVH gen s více jak 98% sekvenční homologií s genem zárodečné linie, tato hranice byla stanovena arbitrárně. V posledních letech byla potvrzena také

korelace mezi využitím subgenu VH3.21 a nepříznivou prognózou pacienta, nezávisle na mutačním stavu IgVH.

ZAP-70 a CD38

Zeta asociovaný protein (ZAP-70) je tyrozinkináza, jejíž přítomnost byla dlouho považována za specifickou pro T-lymfocyty a NK-buňky. Později bylo zjištěno, že je v menší míře exprimována i na různých vývojových stádiích B-lymfocytů. Při studiu CLL byla popsána exprese ZAP-70 také v nádorových B-lymfocytech a její vyšší hladina byla asociována častěji s nemutovaným IgVH a agresivnějším průběhem onemocnění. Míru exprese ZAP-70 na CLL buňkách stanovujeme flowcytometricky z periferní krve, přičemž cut-off (práh) pozitivita ZAP-70 činí 20 %.

Druhým prognostickým markerem, který stanovujeme pomocí průtokové cytometrie, je transmembránový glykoprotein CD38. Jeho cut-off se ustálil na 30 %. Tento povrchový antigen je důležitý při signalizaci BCR-receptoru a kooperuje se ZAP-70, což odpovídá horší prognóze pacientů s CD38+/ZAP-70+, která byla potvrzena v několika studiích. Oba znaky byly intenzivně studovány zejména v době, kdy stanovování mutačního stavu bylo náročné a pátralo se po zástupných, snadno vyšetřitelných markerech, které by korelovaly s mutačním stavem IgVH. Expres ZAP-70 a CD38 na CLL buňkách se však s vývojem onemocnění mění a u obou markerů je jistá diskordance mezi jejich pozitivitou a nemutovaným IgVH. Lze tedy říci, že v dnešní době, kdy vyšetření mutačního stavu IgVH je dostupným a standardizovaným vyšetřením, ZAP-70 a CD 38 považujeme za potvrzené, avšak přídatné, prognostické faktory při určování prognózy konkrétního pacienta.

Sérové markery

V séru CLL pacientů bylo nalezeno několik markerů, jejichž zvýšená hladina bývá spojena s agresivním průběhem onemocnění a horší prognózou. Hranice, nad které považujeme tyto markery za elevované, se však různí. Mezi tyto ukazatele řadíme beta₂-

mikroglobulin, protein spojený s alfa-řetězcem komplexu HLA antigenu I. třídy. Jeho zvýšená hladina je obvykle asociována s pokročilým onemocněním, lymfadenopatií a vyšší expresí ZAP-70 a CD38. Také zvýšená aktivita LDH je častěji detekována u pacientů s progredujícím onemocněním a ZAP-70+/CD38+. Rychlý a výrazný nárůst aktivity LDH může značit transformaci CLL do high-grade lymfomu. Mezi významnější sérové markery patří také thymidinkináza (TK), enzym podílející se na syntéze DNA. Její aktivita je opět zvýšena u pacientů s pokročilejším onemocněním.

V neposlední řadě je nutno připomenout, že stejně jako u jiných maligních onemocnění, i u CLL je významným prognostickým faktorem odpověď na podanou terapii. V případě CLL mají horší prognózu ti pacienti, kteří jsou rezistentní na terapii fludarabinovým režimem, nebo časně po ní relabují.

7.6. Terapie

V obecné praxi platí, že pacienti s časným stadiem onemocnění (Rai 0, Binet A) jsou pravidelně sledováni a nevyžadují terapii. Zatím žádná klinická studie neprokázala výhodu časného zahájení léčby u asymptomatických pacientů. Naopak Dighiero a kol. zaznamenali zvýšený výskyt duplicitních karcinomů u pacientů s časným stadiem CLL, kteří byly léčeni chlorambucilem, ve srovnání s pacienty bez terapie. I někteří pacienti se středním (Rai I a II, Binet B) a vysokým rizikem (Rai III a IV, Binet C) mohou určitou dobu profitovat pouze z observace, tato skupina však brzy dospěje k zahájení terapie.

Léčbu u pacientů s CLL indikujeme vždy, pokud je přítomen alespoň jeden z následujících příznaků aktivity onemocnění: (1) Progresivní selhání kostní dřeně manifestující se rozvojem či zhoršováním anémie nebo trombocytopenie. (2) Masivní (tj. >6 cm pod levým žeberním obloukem) nebo progredující a symptomatická splenomegalie. (3) Masivní (tj. >10 cm v nejdelším průměru) nebo progredující a symptomatická lymfadenopatie. (4) Progredující

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

lymfocytóza s nárůstem více jak 50 % za 2 měsíce nebo LDT méně jak 6 měsíců. LDT by však neměl být jediným kritériem pro zahájení a načasování terapie, vždy je nutno zvážit také jiné příčiny vzestupu lymfocytózy (např. infekce). (5) Autoimunitní anémie a/nebo trombocytopenie špatně odpovídající na terapii kortikosteroidy či jinou standardní léčbu. (6) Přítomnost alespoň jednoho z B-příznaků.

Hypogamaglobulinemie ani monoklonální gamapatie nejsou samy o sobě důvodem k zahájení terapie. Léčba CLL se stále vyvíjí. Zatímco před několika lety byla léčba pacientů zaměřena zejména na potlačení symptomů a stabilizaci onemocnění, dnes s využitím kombinované chemoimunoterapie jsme schopni navodit až několikaletou kompletní remisi onemocnění. Intenzivní myelotoxická léčba je vhodná zejména pro fyzicky zdatné pacienty. CLL je však onemocněním převážně starší populace a je vždy nutno zvážit, zda benefit intenzivní terapie převažuje nad jejími riziky. Hovoříme o léčbě „šité na míru“ pacientovi.

Léčebnou odpověď hodnotíme nejdříve za 3 měsíce po ukončení terapie. Stanovujeme ji na základě vyšetření fyzikálního, periferní krve a podle zvážení i odběru kostní dřeně. Provedení CT vyšetření není s výjimkou klinických studií požadováno (tab. 21).

Tab. 21. Hodnocení léčebné odpovědi u chronické lymfocytární leukemie

	CR	PR	PD
skupina A (nádorová masa)			
Lymfadenopatie	pod 1,5 cm	zmenšení o ≥ 50 %	zvětšení o ≥ 50 %
Hepatomegalie	nepřítomna	zmenšení o ≥ 50 %	zvětšení o ≥ 50 %
Splenomegalie	nepřítomna	zmenšení o ≥ 50 %	zvětšení o ≥ 50 %

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Lymfocytóza	$<4,0 \times 10^9/l$	pokles o ≥ 50 %	vzestup o ≥ 50 %
Kostní dřeň	normocelulární <30 % lymfocytů žádné noduly	redukce infiltrace o 50 % nebo lymfoidní noduly	nezáleží
skupina B (hematopoetický systém)			
Trombocyty	$>100 \times 10^9/l$	$>100 \times 10^9/l$ nebo vzestup o ≥ 50 %	pokles o ≥ 50 %
Hemoglobin	>110 g/l	>110 g/l nebo vzestup o ≥ 50 %	pokles o >20 g/l
Neutrofilly	$>1,5 \times 10^9/l$	$>1,5 \times 10^9/l$ nebo vzestup o >50 %	nezáleží

Vysvětlivky: CR – kompletní remise, PR – parciální remise, PD – progresse onemocnění

Chemoterapie

Alkylační cytostatika a kombinované režimy založené na alkylačních látkách

Chlorambucil (Clb), jedno z nejstarších cytostatik vůbec, platil dlouhou dobu za zlatý standard v léčbě pacientů s CLL. Díky své nízké toxicitě, ceně a perorálnímu užívání stále patří k lékům volby u starších komorbidních pacientů. Hlavní nevýhodou Clb je nízké procento dosažených kompletních remisí (CR) (0-5 %), celková odpověď (overall response, OR) na terapii se pohybuje mezi 30-70 %. Mezi nežádoucí účinky Clb patří zejména zažívací potíže a protrahované cytopenie, jsou popisovány i případy vývoje myelodysplazie či sekundární akutní leukemie. Clb je užíván v různých dávkovacích schématech jak v monoterapii, tak v kombinaci s kortikosteroidy. V současnosti probíhají studie, které hodnotí efekt kombinové terapie Clb s monoklonální protilátkou anti-CD20.

Stále významnějším alkylačním cytostatikem v léčbě CLL je **bendamustín** (Bend). Tato látka, mající ve své struktuře benzimidazolový kruh, byla objevena před 40 lety v tehdejší NDR. Pro léčbu CLL byla americkou Food and Drug administration (FDA) schválena v roce 2008, od května 2010 je možné Bend užívat v léčbě CLL pacientů i v Evropě. Oba tyto souhlasy byly vydány na základě výsledků klinické studie fáze III, v níž byla hodnocena účinnost Bend vs. Clb v monoterapii. OR a doba do progresse (progression-free survival, PFS) u pacientů léčených Bend činila 68 % a 22 měsíců ve srovnání s 30 % a 9 měsíci ve větvi s Clb. I Bend je v současnosti zvažován zejména v kombinační terapii s monoklonální protilátkou.

Třetím alkylačním cytostatikem užívaným v terapii CLL je **cyklofosamid** (CFA), který je však v současnosti podáván výhradně v kombinované léčbě, nejčastěji spolu s purinovým analogem a anti-CD20 monoklonální protilátkou.

Dodnes jsou používány v léčbě CLL dva klasické kombinované režimy založené na alkylačních látkách. Jedná se o režim **CHOP** (CFA, doxorubicin, vinkristin, prednison) a **COP** (CFA, vinkristin, prednison). V kombinaci s monoklonální protilátkou anti-CD20 (režim **R-CHOP**) jsou dnes podávány v dalších liniích léčby, zejména u pacientů s imunitními cytopeniemi. Režim R-CHOP je také lékem volby u pacientů s Richterovým syndromem.

Purinová analoga

Mezi purinová analoga řadíme fludarabin, kladribin a pentostatin. Nejvíce je využíván **fludarabin** (Flud), který je v monoterapii, ve srovnání s Clb, schopen navodit vysoký počet OR (63-89 %, z toho 7-40 % CR). Flud lze podávat intravenózně i v perorální formě. K jeho nevýhodám patří zvýšené riziko rozvoje autoimunitní hemolytické anémie (AIHA) a vyšší toxicita ve srovnání s Clb, což nepřináší benefit starším pacientů, pro které by jinak monoterapie v perorální formě byla vhodná. Flud je v dnešní době významnou

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

součástí kombinačních režimů s monoklonální protilátkou anti-CD20.

Kladribin je purinový analog, který má v monoterapii srovnatelný efekt s Flud. V ČR je spíše využíván v léčbě vlasatobuněčné leukemie. **Pentostatin** je nejméně myelotoxické cytostatikum z této skupiny, v ČR však zatím není registrován.

Kortikosteroidy a kombinované režimy s glukokortikoidy

Kortikosteroidy (KS) jsou u CLL používány zejména v léčbě sekundárních imunitních cytopenií (v monoterapii či kombinaci), jejich pulzní podávání je účinné i v pokročilých stádiích onemocnění, kdy vedou k patrné regresi splenomegalie a lymfadenopatie. Monoterapie má však pouze krátkodobý efekt a jejich podávání je spojeno s množstvím nežádoucích účinků. Účinek KS je nezávislý na apoptotické dráze spojené s funkčním proteinem p53, která bývá defektní v pokročilých stádiích CLL. Je proto intenzivně zkoumán efekt kombinovaných režimů obsahujících KS (dexametazon, metylprednisolon) a monoklonální protilátku anti-CD20 právě u těchto pacientů. Bowen a kol. u 14 výrazně předléčených pacientů použili vysokodávkovaný metylprednisolon ($1\ 000\ \text{mg}/\text{m}^2$, den 1-5) v kombinaci s rituximabem ($375\ \text{mg}/\text{m}^2$, den 1, opakování za 28 dní). Léčebná odpověď byla významná (93 %), 2 pacienti dosáhli CR. Problémem však byla krátká PFS (7 měsíců) a závažná infekční toxicita přes podávanou kombinovanou profylaxi (u 6 ze 14 pacientů). U rezistentních pacientů mohou být tyto režimy použity jako záchranná léčba, PFS je však krátká a pacienti brzy opět relabují, nebo je lze využít jako první fázi – debulking – před navazující terapií, zejména alogenní transplantací.

Monoklonální protilátky a chemoimunoterapie

Monoklonální protilátky představují novou skupinu protinádorových preparátů, které jsou schopny působit cíleně na nádorovou buňku a samostatně nebo v kombinaci s chemoterapeutiky způsobit její zánik. Účinkují hned několika

mechanismy: navozují cytolyzu prostřednictvím aktivace komplementu, aktivují cytotoxicitu závislou na protilátce a současně přímo indukují apoptózu.

Alemtuzumab (Alem), rekombinantní plně humanizovaná protilátka anti-CD52, byla vyvinuta v laboratořích v Cambridge v 80. letech 20. stol. Vzhledem k tomu, že antigen CD52 je hojně přítomen na povrchu B- i T-lymfocytů, způsobuje Alem výraznou depleci jak patologických, tak fyziologických lymfocytů. To je hlavní příčinou zvýšeného počtu oportunních infekčních komplikací u pacientů léčených touto protilátkou. Alem je v současnosti podáván subkutánně 3x týdně po dobu 12 týdnů, s pozvolnou eskalací dávky (3 mg - 10 mg - 30 mg) během prvního týdne. S ohledem na výsledky prvních prací dnes Alem podáváme s premedikací (antipyretika, antihistaminika, kortikosteroidy) a kombinovanou antiinfekční profylaxí kotrimoxazolem, antivirotiky, u rizikových pacientů i antimykotiky. Keating a kol. v roce 2002 publikovali výsledky sěžejní studie, hodnotící efekt Alem vs. Flud u 93 předléčených pacientů. Léčebné odpovědi dosáhlo 33 % pacientů, 2 % z nich pak CR. Pravděpodobnost léčebné odpovědi byla nepřímo úměrná počáteční velikosti lymfadenopatie. Poprvé byla popsána reaktivace CMV infekce u pacientů léčených Alem (7 pacientů). V roce 2007 Hilmenova skupina publikovala výsledky klinické studie fáze III, která srovnávala účinnost monoterapie Alem vs. Clb u pacientů v primoléčbě. Výsledky prokázaly výrazně vyšší podíl léčebných odpovědí ve skupině s protilátkou (OR 83 % vs. 56 %, CR 24 % vs. 2 %). U 52 % pacientů léčených Alem byla opět zaznamenána reaktivace CMV infekce, u 16 % se rozvinula symptomatická CMV infekce.

Vzhledem k tomu, že účinek Alem je nezávislý na p53-dependentní apoptotické dráze, je lékem volby (zejména v 2. linii) u pacientů s delecí 17p13/mutací TP53. Je podáván zejména v monoterapii, testována je účinnost a toxicita jeho kombinace s cytostatiky.

Rituximab (Ritux) je chimerická IgG protilátka proti antigenu CD20. Antigen CD20 se nachází na povrchu B-lymfocytů od pre-B-stadia až po zralé B-lymfocyty vyjma plazmocytů. Hustota antigenu CD20 na povrchu buněk se u jednotlivých lymfoidních malignit různí, u CLL buněk se nachází v poměrně malém množství. Ritux je podáván intravenózně, s premedikací (antipyretika, antihistaminika, kortikosteroidy) vzhledem k častému výskytu alergických reakcí různé intenzity. Ritux je v současnosti nejčastěji používán v kombinační terapii (blíže chemoimunoterapie), v monoterapii má význam zejména v léčbě imunitních cytopenií, ale také u pacientů netolerujících myelotoxickou terapii.

Výsledky klinických studií o Ritux v kombinaci s chemoterapií u CD20+ Nehodgkinových lymfomů (NHL) prokázaly zvýšený počet léčebných odpovědí a jejich trvání, a současně tato léčba nevedla k významnému zvýšení toxicity. Tento fakt zaměřil pozornost vědců na účinnost **chemoimunoterapie** i u pacientů s CLL. V roce 2010 Wierda a kol. publikovali výsledky léčby **režimem FCR** (Flud, CFA, Ritux) u 177 relabovaných pacientů s CLL. Bylo dosaženo 73 % OR, z toho 25 % CR. U pacientů vedených jako fludarabin-refrakterní činila OR 58 %, CR byla jen 6 %. V této studii byla použita dávka rituximabu 500 mg/m^2 , která se stala vzorovou pro studie následující. Přednost režimu FCR před kombinací FC u nemocných s relabovanou CLL definitivně potvrdila mezinárodní randomizovaná studie fáze III – REACH. Prvními, kteří se rozhodli zhodnotit efekt FCR vs. FC u pacientů v primoléčbě, byli Keating a jeho spolupracovníci. Výsledky byly excelentní, OR činila 95 %, z toho u 75 % pacientů dosáhlo CR. Tyto velmi příznivé výsledky však mohly být ovlivněny způsobem výběru pacientů do klinické studie fáze II a také vyšším podílem nemocných v počátečním stadiu onemocnění (77 %). V prosinci 2008 byly zveřejněny první výsledky randomizované multicentrické studie CLL8, která srovnávala účinnost a komplikace léčby režimem FCR vs. FC u pacientů s neléčenou CLL. Zařazeno bylo 817 pacientů s pokročilou CLL (64 % Binet B, 32 % Binet C). Ve větvi FCR byla celková odpověď 95 % (vs. 88 %

u FC), počet CR pak činil 52 % (vs. 27 % u FC). Již při mediánu sledování pacientů 26 měsíců bylo patrné prodloužení PFS ve větvi FCR (77 % vs. 62 %). Parametry toxicity byly srovnatelné v obou ramenech. Na základě výsledků výše uvedených prací byla kombinace FCR doporučena jako léčba volby v první linii u pacientů s CLL, kteří nemají kontraindikaci podání fludarabinového režimu.

V poslední době je intenzivně studována plně humanizovaná anti-CD20 monoklonální protilátka **ofatumumab** (Ofa). V preklinických studiích Ofa prokázal velmi dobrý efekt u pacientů, kteří byli rezistentní na léčbu Ritux, a to s poměrně s nízkou toxicitou. Ofa je účinný u CLL buněk s nízkou expresí CD20 pravděpodobně kvůli jeho pevné vazbě na jiný epitop CD20 molekuly, než je tomu u rituximabu. Jeho efekt je nyní hodnocen v rámci klinických studií jak v monoterapii, tak v kombinaci s chemoterapií.

Lumiliximab je chimérická anti-CD23 protilátka, jejíž konstantní část je lidská a variabilní pochází z makaka. V současnosti je zkoumán její efekt v kombinační terapii s cytostatiky i dalšími monoklonálními protilátkami, zejména s režimem FCR.

Transplantace

Autologní transplantace je v současnosti, podle doporučení European Bone Marrow Transplant (EBMT), považována za experimentální metodu, kterou je možné provádět v rámci klinických studií. Naopak **alogenní transplantace** (aloSCT) je dnes jedinou potenciálně kurativní metodou v léčbě CLL. Narozdíl od podání chemoterapie nabízí jedinečnou imunologicky zprostředkovanou dlouhodobou kontrolu onemocnění pomocí tzv. reakce štěpu proti leukemii (GvL). AloSCT je však stále zatížena vysokou morbiditou a mortalitou, proto je stále snaha o snížení toxicity přípravných režimů a lepší prevenci reakce štěpu proti hostiteli. Recentní práce dokazují, že snížení intenzity přípravného režimu může redukovat peritransplantační mortalitu a morbiditu, aniž by narušovalo GvL efekt. Hovoříme o tzv. přípravných režimech redukované intenzity (RIC). AloSCT je jako standardní terapie podle EBMT doporučena u

těchto rizikových skupin pacientů: (1) bez odpovědi na léčbu nebo časný relaps <12 měsíců po léčbě purinovými analogy, (2) relaps <24 měsíců po kombinaci s purinovými analogy nebo autologní transplantaci, (3) přítomnost mutace *TP53* či *del17p13* spolu s indikací k zahájení terapie.

7.7. Závěr

V posledních letech dochází k výraznému pokroku v pochopení a v léčbě CLL. Nové markery pomáhají lépe indikovat terapii u jednotlivých pacientů a současně dochází k neustálému zkoumání nových preparátů a léčebných kombinací pro tyto nemocné. Díky těmto snahám jsme dnes svědky prodlužování PFS a OS pacientů s CLL a co je zásadní, i zlepšení kvality jejich života.

8. Folikulární lymfom a další indolentní B-lymfomy

B-indolentní lymfomy (nízce agresivní lymfomy) představují relativně heterogenní skupinu onemocnění, zahrnující jednotky s odlišným biologickým chováním a různou odezvou na léčbu. Indolentní typy B Nehodgkinových lymfomů (B-NHL) mají globálně dobrou prognózu a medián jejich přežití se pohybuje kolem 10 let. U asymptomatických nemocných se často uplatňuje strategie pečlivého sledování („watch and wait“) a léčba je obvykle zahájena až při zjevné progresi a klinických symptomech nemoci. Ačkoliv většina pacientů má zpravidla onemocnění pomalu rostoucí a s nízkou agresivitou, u některých nemocných nemoc rychle progreduje a má agresivní charakter. Skupina B-indolentních lymfomů zahrnuje především nejmohutněji zastoupený folikulární lymfom, který představuje zhruba 20-25 % všech Nehodgkinových lymfomů. Tzv. non-folikulární lymfomy jsou následující jednotky: malobuněčný lymfom/chronická lymfatická leukemie (SLL/CLL) a lymfomy marginální zóny (MZL).

Následující text je věnován poměrně detailnímu přehledu zejména diagnostiky a terapie folikulárního lymfomu a dále lymfomům marginální zóny.

8.1. Folikulární lymfom

Definice a morfologie

Folikulární lymfom (FL) je morfologicky charakterizován smíšenou populací malých a středně velkých lymfocytů (centrocytů a centroblastů), které vykazují znaky typické pro folikulární původ buněk (bcl-2 a CD10). Na buňkách jsou vyjádřeny typické znaky B-buněk: CD19, CD20, CD22, CD79a a obvykle i některý z povrchových imunoglobulinů, avšak není přítomen znak CD5. Kategorie folikulární lymfom je určena gradingem (tzn. počtem centroblastů na zorné pole) a poměrem folikulárního k difuznímu uspořádání. Na základě histologického vyšetření se odlišují folikulární lymfomy nízkého (1-2) a vyššího (3) gradu.

Klinický obraz

Výskyt FL kulminuje kolem 55. až 60. roku věku, poměr žen a mužů je 1,7 : 1. Medián přežití FL jako celku se uvádí kolem 18 let. Klinický průběh může však být individuálně značně variabilní a asi 20 % nemocných zemírá v důsledku FL do 2-3 let od stanovení diagnózy. Onemocnění se zpravidla manifestuje nebolestivou lymfadenopatií, často generalizuje a obvykle dlouho nepůsobí žádné obtíže. FL je velmi chemo- i radiosenzitivní nádor, ale opakované relapsy jsou pravidlem. Na druhou stranu ne zcela výjimečným jevem jsou spontánní remise nemoci. Ve svém průběhu asi třetina až čtvrtina folikulárních lymfomů transformuje do agresivního lymfomu. Naprostá většina nemocných umírá v důsledku progresu lymfomu nebo na infekční komplikace způsobené toxicitou léčby. Ve snaze identifikovat pacienty s nepříznivým průběhem nemoci byl u folikulárního lymfomu, stejně jako u mnoha dalších lymfoproliferací, vytvořen prognostický systém. Index FLIPI (Follicular Lymphoma

International Prognostic Index) je postaven na pěti „rizikových“ proměnných: věk, hladina hemoglobinu, aktivita laktátdehydrogenázy, klinické stadium a počet postižených uzlinových lokalit. FLIPI byl původně definován pro stratifikaci pacientů před „érou rituximabu“, nicméně jeho platnost byla validována i ve studiích s rituximabem. Index FLIPI je hojně využíván, avšak bez přímého vlivu na léčbu. I když podle FLIPI zhruba třetina pacientů s nízkým rizikem má 10leté přežití 71 %, které je naopak u třetiny pacientů s vysokým rizikem 36 %, diskriminační hodnota indexu je přece jen poněkud omezená. Naprostá většina pacientů (70–85 %) totiž „padne“ do skupiny nízkého až středního rizika. Nověji byla publikována aktualizovaná verze tzv. FLIPI-2, která definuje jako negativní prognostické parametry: hladinu beta₂-mikroglobulinu vyšší než horní hranice normy, největší průměr patologické uzliny či infiltrátu nad 6 cm, infiltraci kostní dřeně, anémii s hemoglobinem pod 120g/l a věk nad 60 let.

Terapie

Obecné principy terapie folikulárních lymfomů

Typ léčebné strategie je dán rozsahem nemoci neboli stagingem a histologickým gradem. Staging nemoci je určován na základě upraveného Ann-Arbor stážovacího systému s klasickým rozdělením do čtyř stadií (I-IV) a kategorií A a B, přičemž kategorie A znamená nepřítomnost celkových tzv. B-symptomů, kategorie B jejich manifestaci (B-symptomy zahrnují noční pocení, úbytek tělesné hmotnosti a zvýšené teploty).

U lokalizovaných málo pokročilých stadií, tedy stadií IA-IIA (asi 10-20 % všech nemocných), lze dosáhnout vyléčení radioterapií. U pokročilého asymptomatického folikulárního lymfomu lze aplikovat taktiku pečlivého sledování („watch and wait“) a v případě symptomů či progresu je standardní léčbou volby imunochemoterapie (rituximab + chemoterapie). Systémová léčba vede rychle k vymizení příznaků lymfomu u většiny pacientů, avšak

stále bez naděje na trvalé vyléčení, relapsy jsou pravidlem. Jedinou kurativní léčbou, která je však aplikovatelná pouze u vybrané skupiny nemocných, je alogenní transplantace kostní dřeně.

Prakticky důležité je odlišení FL gradu 1-2 (nízce agresivních) od gradu 3. Biologie folikulárního lymfomu gradu 3 není přesně objasněna, avšak tento typ se chová poněkud agresivněji než gradus 1 nebo 2. I když není žádné specifické doporučení pro léčbu folikulární lymfomu gradu 3, panuje konsensus, že zejména typ 3b má být léčen podle pravidel pro difuzní velkobuněčné B-lymfomy (DLBCL), strategie „watch and wait“ zde není vhodná.

Primární léčba - lokalizovaná choroba (stadia I-IIA)

Folikulární lymfom je velmi radiosenzitivní onemocnění, určitou část pacientů s lokalizovaným onemocněním (stadia I a IIA) lze vyléčit pouhou radioterapií. Standardním přístupem je u folikulárního lymfomu technika „involved field“ (IF) radioterapie s celkovou dávkou na ozařované pole 30–35 Gy rozdělenou do frakcí po 2 Gy (což je obvyklá denní dávka). Dosažení lokální kontroly choroby se pohybuje nad 95 %. Folikulární lymfom je však v principu systémové onemocnění, a tak dochází po IF radioterapii k relapsům mimo ozařované oblasti u více než 50 % pacientů v průběhu 5-15 let.

Primární léčba - pokročilá choroba s malou masou tumoru (stadia IIIA-IVA)

Vzhledem k rekurentní povaze a faktické nevléčitelnosti pokročilého folikulárního lymfomu, je u pacientů stadia IIIA až IVA s tzv. malou masou nádoru, kteří nemají žádné subjektivní ani objektivní známky poškození funkcí orgánů, legitimní přístup pečlivého sledování. 10leté přežití iničiálně neléčených pacientů může být kolem 70 % a až s 23 % spontánních regresí. Podle publikovaných údajů lze u vybraných pacientů s pokročilým onemocněním vyčkat se zahájením léčby až do evidentní progresy choroby, aniž by pacienti byli vystaveni riziku zkrácení přežití.

Primární léčba – pokročilá choroba s velkou nádorovou masou (stadia IIB-IVB)

Indikace k okamžitému zahájení protinádorové systémové léčby je dána u folikulárního lymfomu naplněním jednoho nebo více následujících kritérií:

- B-symptomy (horečka, hubnutí, pocení),
- zhoršení funkce orgánů na podkladě infiltrace či útlaku lymfomem,
- signifikantní splenomegalie, výpotky,
- cirkulující lymfomové buňky v signifikantním množství,
- lymfadenopatie velkých rozměrů (>10cm), „bulky disease“,
- zhoršení fyzické (i psychické) výkonnosti v důsledku onemocnění,
- zřetelná progrese nebo transformace,
- pacient sám od sebe vyžaduje léčbu, i když nejsou splněna výše uvedená kritéria.

Lze říci, že standardem v léčbě symptomatických nemocných s pokročilým folikulárním lymfomem je kombinace rituximabu (R) s chemoterapií (imunochemoterapie), názory na konkrétní kombinaci se však liší. Studie s různými typy chemoimunoterapie (RCHOP = R + cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin, prednison, RCVP = R + cyklofosfamid, vinkristin, prednison, RMCV = R + mitoxantron, chlorambucil, prednison) prokázaly výrazný vliv nejen na prodloužení doby do progrese, ale i na celkové přežití nemocných. *In vitro* byl kromě toho pozorován významný synergismus mezi rituximabem a antracykliny a také mezi rituximabem a fludarabinem. Nejčastěji podávaným režimem v primární terapii FL je R-CHOP u zhruba 60–70 % pacientů, dále R-CVP kolem 20 % a fludarabinové režimy s rituximabem asi u 10 % nemocných. Aktuálně jsou k dispozici pouze skromná srovnání účinnosti různých kombinací chemoterapie s rituximabem. Podle výsledků jedné prospektivní randomizované studie R ± FM (fludarabin, mitoxantron) vs. R ±

CHOP byla lepší léčebná odpověď dosažena po R ± FM, avšak bez zásadního vlivu na dobu do progresu a celkové přežití. Fludarabinové režimy jsou zatíženy rizikem závažných toxických účinků v podobě sekundárních myelodysplazií a problémy s mobilizací periferních kmenových buněk. Klinický význam antracyklinů v léčbě folikulárního lymfomu není jednoznačně definován, avšak podle ojedinělých retrospektivních prací z éry před rituximabem se zdá, že antracykliny mohou být v léčbě FL zásadní. V ČR, podle aktuálního doporučení Kooperativní lymfomové skupiny, by pacienti měli být léčeni v primární linii kombinací 6 cyklů RCHOP + 2 cykly rituximabu v monoterapii.

Obecné zásady léčby rekurentního folikulárního lymfomu

V současné době neexistuje žádné univerzální doporučení léčby rekurentního FL. Léčebných možností se nabízí celá řada a indikace daného typu léčby je značně individuální. Je žádoucí se vždy pokusit o histologickou verifikaci, neboť s časem vzrůstá pravděpodobnost transformace do agresivního lymfomu. V rebiopsii je také nutno ověřit, zda nejde o CD20 negativní relaps, jehož incidence zvolna narůstá s používáním rituximabu.

Velmi zhruba lze říci, že pokud dojde k pozdnímu relapsu (tzn. za více než 12 měsíců od ukončení léčby) při zachování indolentního charakteru FL, lze užít chemoterapii v kombinaci s rituximabem (např. fludarabinový režim s rituximabem, ale i R-CHOP nebo R-CVP). Časný relaps znamená agresivně se chovající onemocnění vyžadující agresivnější léčbu. Dále je třeba zvážit, zda se nevyvinula rezistence na rituximab, která je zpravidla definována jako progresu při léčbě obsahující rituximab, časný relaps nebo progresu do 6 měsíců od ukončení léčby s rituximabem (včetně chemoterapie) nebo jako progresu/relaps na udržovací terapii rituximabem. U onemocnění rituximab-refrakterního, časně relabujícího a agresivně se chovajícího FL přichází do úvahy několik možností: radioimunoterapie (RIT), vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací periferních kmenových buněk a pro mladší

pacienti, kteří mají vhodného dárce, je na zvážení alogenní transplantace kmenových krvetvorných buněk.

Udržovací léčba rituximabem („rituximab maintenance“)

Tato léčba je indikována po jakékoliv „indukční“ léčbě (od radioterapie až po radioimunoterapii a vysokodávkovanou chemoterapii), podmínkou je pouze dosažení alespoň parciální remise. Význam udržovací léčby rituximabem u FL hodnotilo několik větších prospektivních randomizovaných studií. Dávkovací schémata udržovací terapie rituximabem byla různá v různých studiích: od jednotlivé dávky 375 mg/m^2 podávané á 2 měsíce až po dávku $4 \times 375 \text{ mg/m}^2$ podávané á 6 měsíců po dobu 2 let. Navzdory tomu byl ve všech studiích patrný významný přínos udržovací léčby bez ohledu na předléčenost, typ podané indukce a dávkovací schéma. Ve dvou studiích byl také prokázán i pozitivní vliv udržovací léčby na celkové přežití. V klinické praxi v ČR je aktuálně dostupná udržovací léčba rituximabem pro rekurentní FL v dávkovacím schématu $1 \times 375 \text{ mg/m}^2$ á 3 měsíce po dobu 2 let.

Radioimunoterapie (RIT)

Radioimunoterapie využívá specifitu radioaktivně označené monoklonální protilátky s cytotoxickým efektem cílené radiace. V ČR (tak jako v celé Evropě) je dostupný jeden ze dvou dosud schválených léků tohoto typu: yttrium-90 (^{90}Y) ibritumomab-tiuxetan (Zevalin[®]; Bayer Schering Pharma). Zevalin[®] sestává z myší anti-CD20 monoklonální protilátky ibritumomabu, na kterou se kovalentně váže tiuxetan, chelátor radioizotopu yttria.

Ve studii fáze I/II byla u podskupiny pacientů s nízcí maligními lymfomy celková odpověď na léčbu 82 % a s dosažením 26 % kompletních remisí. Celková léčebná odpověď byla u pacientů s rekurentním folikulárním lymfomem značně vyšší po léčbě ^{90}Y ibritumomab-tiuxetanem ve srovnání s léčbou rituximabem (80 % vs. 56 %) a počet kompletních remisí byl takřka dvojnásobný (30 % vs. 16 %). Kvalita a trvání léčebné odpovědi po ^{90}Y ibritumomab-

tiuxetanu byly vyšší u méně předlěčených pacientů v časnější fázi onemocnění.

Na základě výsledků studií je ^{90}Y ibritumomab-tiuxetan aktuálně indikován pro léčbu pacientů s relabujícím nízcí maligním, folikulárním, nebo transformovaným B-lymfomem se zachovaným receptorem CD20 včetně pacientů refrakterních na rituximab. Podání léku je kontraindikováno u pacientů s mikroskopickou infiltrací kostní dřene více než 25 %, absolutním počtem neutrofilů $<1,5 \times 10^9/l$ a trombocytopenií $<100 \times 10^9/l$. Podání ^{90}Y ibritumomab-tiuxetanu je nutno pečlivě zvážit u pacientů předlěčených fludarabinem, vysokodávkovanou léčbou a u pacientů masivně ozářených (velkým ozařovacím polem nebo opakovaně ozařovaných).

Následná léčba po radioimunoterapii s ^{90}Y ibritumomab-tiuxetanem je možná a zahrnuje chemoterapii/chemoimunoterapii, udržovací léčbu rituximabem, léčbu jinou monoklonální protilátkou, transplantační léčbu i lokální radioterapii.

Vysokodávkovaná chemoterapie s transplantací krvetvorných buněk

V léčbě FL neexistuje žádný jednotný názor na postavení vysokodávkované chemoterapie s autologní podporou kmenovými buňkami. Podáním vysokodávkované chemoterapie s autologní podporou lze dosáhnout, podle retrospektivní analýzy pacientů s rekurentním FL, dlouhodobé remise (48 % pacientů bez progresu po 12 letech sledování), přičemž nejlepších výsledků bylo dosaženo u pacientů ve druhé remisi. Obdobné výsledky byly pozorovány i v prospektivních studiích. Uvedená data pocházejí však z doby před zavedením rituximabu. Tyto výsledky ukazují, že vysokodávkovaná léčba může skýtat pro určitou část pacientů i kurativní potenciál. Na druhé straně je tento typ léčby zatížen závažnými nežádoucími následky včetně sekundárního myelodysplastického syndromu s přechodem do akutní leukemie.

Alogenní transplantace krvetvorných buněk

Alogenní transplantace kostní dřeně od příbuzného či nepříbuzného dárce představuje jedinou potenciálně kurativní metodu léčby FL. Je však zatížena relativně vysokým počtem závažných komplikací. Úspěšnost tohoto typu terapie je dána jednak typem přípravného režimu, jednak graft vs. lymphoma efektem, jehož význam je v případě nízce maligních lymfomů doložen výsledky studií. Principiálně jsou možné dva typy alogenní transplantace krvetvorné tkáně podle typu přípravného režimu: myeloablativní a režim s redukovanou intenzitou. Retrospektivní analýza alogenních transplantací kostní dřeně po myeloablativní přípravě 113 pacientů s pokročilým nízce maligním lymfomem ukázala vysokou úroveň dlouhodobých remisí i celkové přežití. Lepších léčebných výsledků bylo dosaženo u pacientů mladších 40 let, v dobré kondici a s chemosenzitivním onemocněním. Režimy s redukovanou intenzitou postavené na lymfo-imunotoxickém účinku fludarabinu s alkylačními látkami typu cyklofosfamidu, melfalanu apod. mají výrazně nižší toxicitu. Efektivita nemyeloablativního režimu fludarabin/cyklofosfamid s alogenní transplantací kmenových buněk byla doložena v jedné studii, kde pravděpodobnost 2letého přežití bez progresu byla 84 %. Alogenní přístup lze především doporučit při opakovaném relapsu folikulárního lymfomu u pacientů ve velmi dobrém stavu a mladších 50 let.

8.2. Primárně kožní lymfom folikulárního centra

Uvedená jednotka nyní stojí mimo kategorii „klasického“ folikulárního lymfomu. Jedná se o lymfom z buněk folikulárního centra obsahujícího centrocyty a variabilní množství centroblastů, který je zpravidla lokalizován v kůži trupu a hlavy. Nádorové buňky exprimují CD20, CD79a, ale bývají Ig-negativní, pravidlem bývá exprese bcl-6, naopak exprese bcl-2 stejně jako průkaz translokace bcl2/IgH obvykle chybí. Prognóza tohoto lymfomu je velmi dobrá,

léčba je především lokální (radioterapie), jen zcela výjimečně při progresi systémová.

8.3. Lymfomy marginální zóny

Skupina lymfomů marginální zóny (marginal zone lymphoma, MZL) představuje nízké maligní B-lymfomy, které se často vyvíjejí extranodálně (v gastrointestinálním traktu, kůži, bronších apod.) a jsou potom nazývány jako MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymfomy nebo se vyvíjejí primárně v lymfatických uzlinách a zde se jim říká nodální MZL. Třetím typem MZL je tzv. splenický MZL (současný název podle WHO 2008 je splenický difuzní malobuněčný B-lymfom červené pulpy) s přítomností vilózních lymfocytů nebo bez nich, který je lokalizován ve slezině.

8.4. Extranodální lymfomy marginální zóny z lymfoidní tkáně asociované s mukózou (MALT-lymfomy)

Definice

Jedná se o extranodální lymfomy složené z morfologicky heterogenní směsi malých B-lymfocytů z marginální zóny („centrocyt-like“ buňky), monocytoidních elementů, imunoblastů a centroblastů. U části případů mohou být přítomné buňky s plazmacelulární diferenciací. Infiltráty jsou patrné v marginální zóně reaktivně změněných folikulů, které expandují do interfolikulárních prostor. V epiteliálních tkáních tvoří MALT-lymfomy lymfoepiteliální léze. Nádorové buňky exprimují na povrchu typicky IgM, jsou CD20+, CD79a+, CD5-, CD10-, CD23-, CD43+/- a CD11c+/- . Dále bývají vyjádřeny antigeny asociované s marginální zónou CD21 a CD35 (což jsou současně antigeny sítě folikulárních dendritických buněk). Chromozomální přestavba spojovaná s MALTomy je t(11;18) (q21; q21), jejímž výsledkem je produkce fúzního proteinu (API2/MALT1).

Klinický obraz

MALT-lymfomy patří k nejčtenější skupině MZL a tvoří zhruba 70 % případů, přičemž ze všech NHL je to asi 7 % a současně představují asi 50 % všech primárních gastrických lymfomů. Naopak asi 50 % MALT-lymfomů se vyskytuje v gastrointestinálním traktu a asi 34 % je lokalizováno v žaludku. Typicky se vyskytuje kolem 60. roku věku s lehkou převahou u žen. Prognostické faktory identifikované ve studiích jsou: zvýšení sérové hladiny beta₂-mikroglobulinu, mužské pohlaví a přítomnost B-symptomů nebo postižení uzlin, snížení hladiny hemoglobinu, zvýšení aktivity LDH, špatný celkový stav. Celkové přežití pacientů s MALT-lymfomem se pohybuje podle počtu rizikových faktorů mezi 96–55 % a doba do progresu (v 5 letech) je zhruba 80–44 %. Vzhledem k extranodálnímu postižení je zde velmi obtížně aplikovatelný stážovací systém podle Ann Arbor. Podle různých analýz se zdá, že i pacienti s diseminovaným postižením (stadium IV podle Ann Arbor), ale bez infiltrace kostní dřeně či uzlin mají výrazně lepší prognózu. Pacienti s postižením dřeně a uzlin naopak mají onemocnění charakterem spíše podobné folikulárnímu lymfomu.

Etiologie

Vznik MALT-lymfomů je dáván do souvislosti s antigenní stimulací některými mikroby jako například *Helicobacter pylori*. Význam tohoto mikroba byl klinicky potvrzen navozením remise MALT-lymfomu po léčbě antibiotiky a eradikaci *H. pylori*. Jiné druhy bakterií (*Chlamydia psittaci*, *Campylobacter jejuni*, *Borrelia burgdorferi*) se mohou uplatnit při vzniku MALT-lymfomu oka, tenkého střeva či kůže. V etiopatogenezi MALT-lymfomů se mohou uplatnit také některá autoimunitní onemocnění jako Sjögrenův syndrom a Hashimotova tyreoiditida (MALT-lymfomy slinné žlázy nebo štítnice).

Léčba

Zhruba 75 % lokalizovaných MALT-lymfomů žaludku může být úspěšně léčeno antibiotiky, která eliminují bakteriální infekci. Přibližně 60–70 % pacientů dosáhne touto léčbou dlouhodobé remise bez nutnosti další léčby po několik dalších let. Pacienti s infiltrovanými uzlinami (zachycenými endosonograficky) a s translokací t(11;18) reagují na léčbu antibiotiky výrazně hůře. Pacienti s rekurentním nebo rezistentním MALT-lymfomem žaludku mohou být úspěšně léčeni monoterapií rituximabem s dosažením 77 % léčebných odpovědí.

8.5. Nodální lymfom marginální zóny

Definice

Jde o primární nodální B-neoplazii, která se morfoloicky podobá extranodálnímu lymfomu marginální zóny nebo splenickému lymfomu, ale bez prokazatelného extranodálního postižení nebo bez infiltrace sleziny. Imunofenotyp zahrnuje pan-B-markery s koexpresí CD43 (v 50 % případů) a bcl2, naopak chybí exprese CD5, CD23, CD10, bcl6 a cyklinu D1.

Klinický obraz a terapie

Nodální MZL je vzácné onemocnění, které tvoří pouze asi 10 % všech MZL a současně méně než 2 % všech lymfoidních neoplazií. Medián výskytu je kolem 60. roku věku, klinicky se tento podtyp chová poněkud agresivněji než jiné MZL. Obvykle se projevuje jako generalizovaná lymfadenopatie, kostní dřevň bývá postižena zhruba u poloviny nemocných. Příčina nemoci je nejasná, asi u 20 % pacientů je současně identifikována infekce virem hepatitidy C.

V léčbě se uplatňuje monoterapie rituximabem, chemoterapie (CHOP = cyklofosamid, doxorubicin, vinkristin, prednison) nebo i chemoimunoterapie.

8.6. Splenický difuzní B-lymfom z malých buněk červené pulpy (splenický lymfom marginální zóny)

Definice

Splenický MZL je ne příliš obvyklý lymfom (<1 % non-hodgkinských lymfomů a asi 20 % všech MZL), který je charakteristický difuzní infiltrací červené pulpy sleziny monomorfní populací malých B-lymfocytů. Onemocnění postihuje také sinusy kostní dřeně a periferní krev obvykle buňkami vilózního charakteru. Diagnóza je zpravidla stanovena z histologie sleziny a na základě přítomnosti vilózních lymfocytů v krvi. Jde o prozatímní (provizorní jednotku), která vyžaduje další, především molekulární studie, aby mohly být zřetelně definovány diagnostické parametry.

Klinický obraz

Splenický difuzní B-lymfom z malých buněk červené pulpy je leukemizující neoplazie, vyskytující se zpravidla kolem 70. roku věku. Pacienti mívají masivní splenomegalii a relativně malou lymfocytózu, postižení uzlin bývá vzácné. Někteří pacienti mají trombocytopenii, anémii a část nemocných má i monoklonální protein. Většina pacientů je asymptomatických a B-symptomy téměř nebývají. Malá část nemocných mívá v době stanovení diagnózy kožní infiltráty vzhledu erytému nebo svědivého papilózního exantému.

Splenický lymfom zůstává obvykle indolentní a pacienti léta nevyžadují léčbu. Asi u třetiny pacientů se lymfom vyvíjí agresivně a pacienti zmirají do 4 let od stanovení diagnózy. Pětileté přežití se pohybuje kolem 80 %, jako negativní prognostické faktory byly identifikovány anémie, hypoalbuminémie a zvýšení aktivity LDH.

Terapie

Standardem léčby první linie zůstává prozatím splenektomie, po níž zpravidla dojde k úpravě cytopenie a ústupu infiltrace krve a dřeně. Přibývá však důkazů o velmi dobré účinnosti rituximabu,

který lze podat úspěšně i u pacientů často neschopných splenektomie a je možné, že imunoterapie splenektomii v první linii léčby zcela nahradí. Po podání rituximabu v dávce 375 mg/m²/týden po dobu 6 týdnů bylo pozorováno dosažení léčebné odpovědi v 88 %. Je možné také podat rituximab s chemoterapií, přičemž fludarabinové režimy se jeví jako účinnější.

Také některé případy splenického lymfomu mohou být asociovány s infekcí virem hepatitidy C (HCV). HCV by měla být při diagnóze splenického lymfomu podpořena titry protilátek antiHCV a také prokázána HCV RNA. Léčebnou odpověď lze v těchto případech očekávat již po antivirotické léčbě interferonem a ribavirinem.

9. Difuzní velkobuněčný B-lymfom

Difuzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL) představuje nejčastější typ maligních NHL. Řadí se mezi lymfomy agresivní, tedy rychle rostoucí a bez adekvátní léčby vedoucí v relativně krátké době ke smrti pacienta. Na druhou stranu je v současnosti možné kombinovanou chemoimunoterapií dosáhnout vyléčení u podstatné části nemocných.

Následující přehled se podrobně věnuje klasifikaci a charakteristikám jednotlivých subtypů DLBCL, současným standardům vstupního vyšetření, prognostickým faktorům a v neposlední řadě i léčbě tohoto specifického hematoonkologického onemocnění.

9.1. Definice a klasifikace

Difuzní velkobuněčný B-lymfom je podle nejnovější klasifikace WHO týkající se maligní hematopoetické či lymfoidní tkáně z roku 2008 definován jako zralá neoplazie z difuzně infiltrujících velkých B-lymfocytů, jejichž buněčná jádra jsou nejméně dvakrát větší než u

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

fyziologických lymfocytů nebo minimálně stejně velká jako jádra normálních mikrofágů.

Pod obecným pojmem difuzní velkobuněčný B-lymfom se podle WHO 2008 rozumí morfologicky, molekulárně geneticky i klinicky heterogenní soubor různých nozologických jednotek (tab. 22) Nejpočetnější podskupinou je difuzní velkobuněčný B-lymfom, blíže nespecifikovaný. Jedná se vlastně o DLBCL v užším smyslu slova, jak je znám z předchozích klasifikací. *Per exclusionem* sem spadají všechny případy nesplňující kritéria pro zvlášť definované specifické kategorie, mezi něž patří DLBCL bohatý na T-buňky/histiocyty, primární DLBCL centrální nervové soustavy, primární kožní DLBCL takzvaného „leg“ typu, charakteristický postižením dolních končetin a EBV pozitivní DLBCL starších pacientů (nad 50 let bez známého imunodeficitu).

Tab. 22. Klasifikace difuzních velkobuněčných B-lymfomů podle WHO 2008

Difuzní velkobuněčný B-lymfom, blíže nespecifikovaný	
Hlavní morfologická varianta	centroblastická
	imunoblastická
	anaplastická
Molekulární podskupina	z buněk germinálního centra (GCB-like)
	z aktivovaných B-buněk (ABC-like)
Imunohistochemická podskupina	z buněk germinálního centra (GCB)
	z buněk mimo germinální centra (non-GCB)
	CD5 pozitivní DLBCL
Zvlášť vyčleněné subtypy DLBCL	
DLBCL bohatý na T-buňky/histiocyty	
Primární DLBCL centrální nervové soustavy	
Primární kožní DLBCL „leg“ typu	
EBV pozitivní DLBCL starších dospělých	
Ostatní velkobuněčné B-lymfomy	
Primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom	
Intravaskulární velkobuněčný B-lymfom	

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

DLBCL asociovaný s chronickým zánětem
Lymfomatoidní granulomatóza
ALK pozitivní DLBCL
Plazmablastický lymfom
Primární exsudativní lymfom (projevující se výpotky)
Velkobuněčný B-lymfom vznikající u multicentrické Castlemanovy choroby asociované s infekcí HHV-8
Hraniční jednotky, blíže neklasifikovatelné
B-lymfom na pomezí mezi DLBCL a Burkittovým lymfomem
B-lymfom na pomezí mezi DLBCL a klasickým Hodgkinovým lymfomem

Vysvětlivky: ALK – anaplastická lymfomová kináza, HHV - human herpes virus

Mezi ostatní dnes samostatně uváděné velkobuněčné B-lymfomy se řadí jednak relativně častý primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom (PMBL), jednak několik dalších raritních nozologických jednotek - intravaskulární velkobuněčný B-lymfom, DLBCL asociovaný s chronickým zánětem, lymfomatoidní granulomatóza, ALK (anaplastická lymfomová kináza) pozitivní DLBCL, plazmablastický lymfom, primární lymfom projevující se výpotky a velkobuněčný B-lymfom vznikající na podkladě multicentrické Castlemanovy nemoci asociované s infekcí lidským herpetickým virem HHV-8.

9.2. Stanovení diagnózy a rozsahu postižení

Základem pro precizní diagnostiku lymfomů je chirurgický odběr reprezentativního vzorku uzliny či postiženého orgánu. Punkční biopsie je ve většině případů pro určení přesného typu lymfomu nedostatečná a měla by být užitá pouze jako krajní řešení, např. v případě technické nemožnosti standardní biopsie či v případě nebezpečí z prodlení. Výhodnější než klasická fixace ve formalinu je odběr nativního vzorku s následným zamražením, které je šetrnější pro imunohistochemickou analýzu a umožňuje i molekulárně genetické a flowcytometrické vyšetření.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

V rámci vstupních odběrů se provádí vyšetření krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů, kompletní biochemické vyšetření včetně hodnoty aktivity LDH, koncentrace kyseliny močové, C-reaktivního proteinu, beta₂-mikroglobulinu, dále imunofixace séra, příp. i moči k vyloučení přítomnosti paraproteinu, a konečně sérologie CMV, EBV, hepatitid B, C a HIV1, 2.

Pro určení klinického stadia je standardem provedení kontrastního CT hrudníku a břicha s malou pávní. CT krku se provádí pouze v případě podezření na postižení v této oblasti, dostatečná může být i sonografie krku. Obligatorně se provádí vyšetření kostní dřeně, nejlépe trepanobiopsií z lopaty kosti kyčelní a odběrem reprezentativních vzorků na zhodnocení histologické, cytomorfologické a ideálně i imunofenotypizační a molekulární genetické. Další fakultativní specializovaná vyšetření jsou indikována konkrétně podle místa postižení, např. ORL vyšetření, scintigrafie skeletu, magnetická rezonance či CT mozku, paranazálních dutin, páteře, dále endoskopická vyšetření GIT, např. gastro-, kolonoskopie nebo endosonografie. V případě podezření na CNS postižení je mimo výše zmíněné zobrazovací metody indikována i lumbální punkce s odběrem mozkomíšního moku na analýzu cytologickou, biochemickou a příp. i flowcytometrickou. Pacientům, u nichž zvažujeme podání antracyklinů, je nutné vzhledem k možné kardiotoxicitě léčby provést vstupní echokardiografii ke zhodnocení srdeční funkce (určení ejekční frakce levé komory).

Pozitronová emisní tomografie (PET) pomocí ¹⁸F radioaktivně značené glukózy (FDG-PET) je vzhledem k pravidelné aviditě DLBCL v rámci stagingu rovněž obecně doporučena. Nicméně vzhledem k tomu, že se jedná o agresivní lymfom mnohdy s nutností urychleného zahájení léčby, není provedení vstupní PET všem pacientům s DLBCL v podmínkách současné klinické praxe reálné. Indikace ke stagingovému PET vyšetření by tedy měly být zvažovány spíše individuálně – např. u nejasných CT nálezů či extranodálního postižení, a zejména tam, kde by upřesnění

klinického stadia pomocí PET mohlo změnit léčebný postup. Přínos PET dnes spočívá hlavně v hodnocení léčebné odpovědi podle revidovaných Chesonových kritérií z roku 2007, což může potvrdit u PET avidních lymfomů dosažení kompletní remise i v případech přetrvávajícího rezidua na CT. Experimentálním postupem zatím zůstává případná úprava léčebného plánu na základě výsledku časné (interim) PET v průběhu indukční léčby.

9.3. Prognostické rizikové faktory

Základním rizikovým ukazatelem u difuzních agresivních lymfomů zůstává od roku 1993, kdy byl publikován v práci Margaret Shipp a kol., tzv. Mezinárodní prognostický index (**International Prognostic Index, IPI**), resp. jeho varianta pro mladší pacienty do 60 let věku (age-adjusted IPI, aaIPI). Parametry zahrnuté v tomto jednoduchém skórovacím systému odrážejí jak stav pacienta (věk, performance status), tak i pokročilost vlastního nádoru (klinické stadium, aktivita LDH a počet postižených extranodálních lokalit). Pacienty s DLBCL lze tak již v době stanovení diagnózy rozdělit podle počtu jednotlivých negativních faktorů na skupiny s nízkým, nižším středním, vyšším středním a vysokým rizikem (low, low-intermediate, high-intermediate a high risk, tab. 23 a 24) a se signifikantně se lišícím celkovým přežitím (tab. 25).

Tab. 23. Faktory určující prognózu podle IPI a age-adjusted IPI

Negativní prognostické faktory podle IPI	Negativní prognostické faktory podle aaIPI
Klinické stadium Ann Arbor III nebo IV	Klinické stadium Ann Arbor III nebo IV
Performance status ECOG 2 a výše	Performance status ECOG 2 a výše
LDH nad normu	LDH nad normu
Věk nad 60 let	
Více než 1 extranodální lokalita	

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

Tab. 24. Rozdělení do jednotlivých prognostických skupin podle IPI a age-adjusted IPI

Prognostické skupiny podle IPI		Prognostické skupiny podle aaIPI	
Nízké riziko	0-1 faktor	Nízké riziko	0 rizikových faktorů
Nižší střední riziko	2 rizikové faktory	Nižší střední riziko	1 rizikový faktor
Vyšší střední riziko	3 rizikové faktory	Vyšší střední riziko	2 rizikové faktory
Vysoké riziko	4-5 faktorů	Vysoké riziko	3 rizikové faktory

Tab. 25. Celkové přežití podle IPI a age-adjusted IPI

Riziková skupina	5leté celkové přežití (OS)	
	bez rozdílu věku (IPI) (%)	věk ≤60 let (aaIPI) (%)
Nízké riziko	73	83
Nižší střední riziko	51	69
Vyšší střední riziko	43	46
Vysoké riziko	26	32

Index IPI vznikl ještě v éře před zavedením monoklonálních protilátek do léčby lymfomů. Logicky se tedy objevují práce snažící se ověřit platnost tohoto prognostického modelu i v současných podmínkách, kdy rituximab tvoří standardní součást indukčních režimů u CD20 pozitivních NHL, mezi něž DLBCL patří. Laurie Sehn prezentovala v roce 2007 tzv. revidovaný IPI (R-IPI) odvozený z retrospektivní analýzy dat 365 pacientů s DLBCL (zahrnuto i 36 případů primárního mediastinálního B-lymfomu) z Britské Kolumbie, léčených homogenně imunochemoterapií R-CHOP. Podle této analýzy došlo vlivem přidavku rituximabu k ovlivnění původního IPI modelu tak, že se nově překrývají křivky přežití skupiny nízkého rizika s nižším středním rizikem a vyššího středního s vysokým rizikem. Celá hodnocená skupina pacientů je tak rozčleněna na pouhé 2 prognostické kategorie (4leté přežití 81-82 % vs. 49-59 %). Pokud je však hodnoceno přežití podle počtu jednotlivých rizikových faktorů (0 až 5), dojde k redistribuci křivek

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

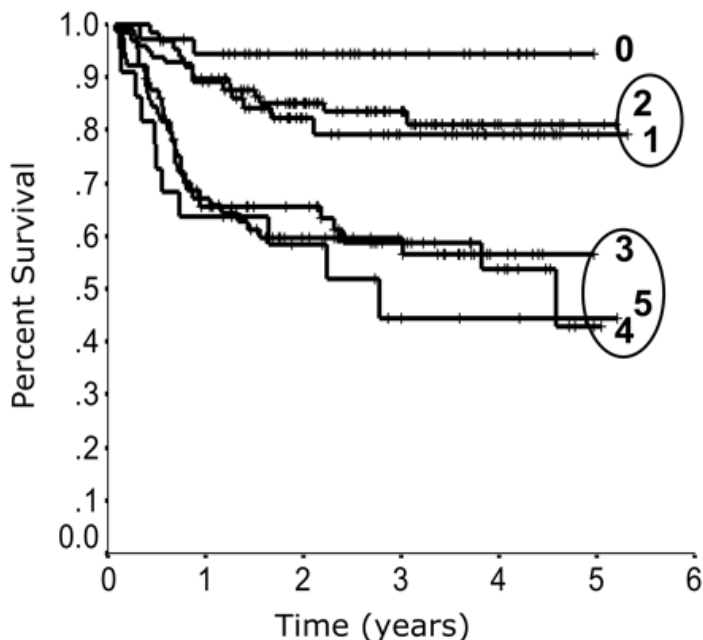
OS i PFS a lze pak odlišit skupinu s velmi dobrou prognózou (žádný negativní rizikový faktor), dobrou prognózou (1-2 faktory) a špatnou prognózou (3-5 faktorů) (tab. 26 a obr. 12). Toto nové rozčlenění původních rizikových faktorů do 3 prognosticky odlišných skupin bylo nazváno R-IPI.

Limitací jak IPI v éře rituximabu, tak R-IPI zůstává fakt, že ani jeden z modelů nedokáže odlišit pacienty s velmi špatnou prognózou (přežití pod 50 %), tedy ty, kteří by mohli nejvíce profitovat z případných nových léků či postupů. Tato nedokonalost se odráží i v distribuci hodnocené populace podle R-IPI, kdy téměř celá polovina případů (45 %) spadá do skupiny se špatnou prognózou.

Tab. 26. Celkové přežití a přežití bez progresu podle revidovaného IPI (R-IPI)

Kategorie R-IPI	Podíl pacientů (%)	4leté PFS (%)	4leté OS (%)
Velmi dobrá prognóza	10	94	94
Dobrá prognóza	45	80	79
Špatná prognóza	45	53	55

Vysvětlivky: PFS – přežití bez progresu, OS – celkové přežití

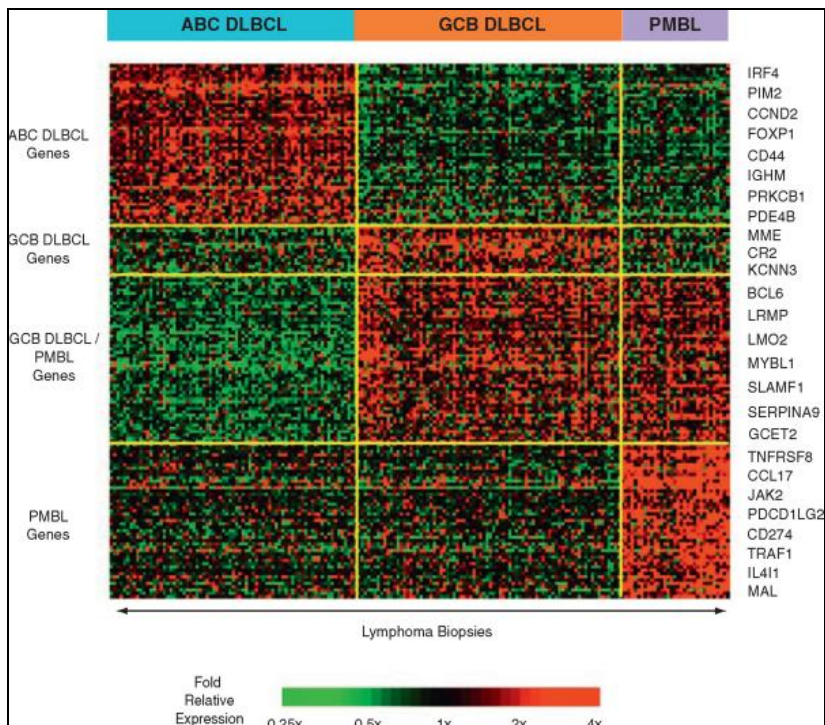


Obr. 12. Přežití bez progrese (PFS) u pacientů s DLBCL léčených režimem R-CHOP se stratifikací podle počtu rizikových faktorů IPI indexu. Vzhledem ke splývání křivek přežití skupin pacientů s 1 a 2 rizikovými faktory a dále s 3 až 5 rizikovými faktory můžeme rozlišit 3 prognostické skupiny – s velmi dobrou, dobrou a špatnou prognózou.

I když s postupně prohlubujícími se znalostmi o patogenezi agresivních lymfomů dochází k rozpoznávání a vyčleňování samostatných klinicko-patologických jednotek, stále je pod širší diagnózou DLBCL zahrnuta heterogenní směsice různých velkobuněčných B-lymfomů s celou škálou molekulárních a genetických abnormalit, což se nutně odráží i v odlišné prognóze jednotlivých nemocných. Pomocí metody cDNA microarray („DNA čipy“) umožňující stanovit profil genové exprese (gene expression

profiling) lze například rozlišit minimálně 3 velké základní podskupiny DLBCL - tzv. GCB-like (germinal centre B-cell-like) subtyp z B-lymfocytů germinálního centra s lepší prognózou a ABC-like (activated B-cell-like) subtyp s horší prognózou, typ 3 odpovídá primárnímu mediastinálnímu B-lymfomu (obr. 13). Celkové přežití v 5 letech je ve skupině GCB-like 59 % ve srovnání s pouhými 30 % u ABC-like DLBCL. Obdobně vychází celkové přežití lépe u GCB-like typu DLBCL stanovenému imunofenotypizačně - 5leté OS 76 % ve srovnání s pouhými 34 % ve skupině non-GCB. Je zde však nutné zdůraznit, že prognostické dělení na GCB-like a ABC-like, příp. non-GCB subtypy DLBCL není v běžné praxi dostupné a reprodukovatelné, a proto zatím nemá praktický dopad a neovlivňuje výběr léčebné strategie. Bližší podrobnosti o tomto moderním způsobu stanovení rizika vycházejícího na rozdíl od IPI z přímých biologických charakteristik vlastního nádoru jsou uvedeny v kapitole o cytogenetice DLBCL NOS.

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně



Obr. 13. Profil genové exprese pomocí cDNA mikroarray (DNA čip) odlišující 3 hlavní molekulárně genetické podskupiny DLBCL – ABC-like, GCB-like a primární mediastinální B-lymfom (PMBL). Každý jednotlivý sloupek představuje expresi genů jednoho bioptického vzorku DLBCL a každý řádek odpovídá expresi jednoho genu. Míra relativní exprese je vyjádřena barevnou škálou (zelená negativní, červená pozitivní).

9.4. Přehled hlavních subtypů

Difuzní velkobuněčný B-lymfom, blíže nespecifikovaný (diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified, DLBCL NOS)

Epidemiologie

Tento nejčastější typ DLBCL zahrnuje jinak nezařaditelné případy difuzních velkobuněčných B-lymfomů. Tvoří přibližně 25-30 % všech NHL, v ČR o něco více – přibližně 40 % (údaje z databáze Kooperativní lymfomové skupiny). Jedná se o onemocnění spíše starších lidí, s vrcholem výskytu po 60. roku věku, nicméně DLBCL může postihovat všechny věkové kategorie včetně dětí. O něco častěji se vyskytuje u mužů než u žen.

Příčiny vzniku DLBCL nejsou známy. Významným rizikovým faktorem je však imunodeficitní stav, často ve spojení s EBV pozitivitou. DLBCL NOS vzniká nejčastěji *de novo*, další možností je vznik **transformací** z lymfoproliferace nižšího stupně malignity, např. z chronické lymfatické leukemie (tzv. Richterův syndrom), folikulárního lymfomu, lymfomů marginální zóny nebo nodulárního Hodgkinova lymfomu s lymfocytární predominancí (NLPHL).

Klinické projevy

Onemocnění se nejčastěji manifestuje rychle rostoucí nádorovou masou, nejčastěji s limitovaným (stadium I či II až u poloviny nemocných) postižením nodálních či extranodálních lokalit, často i s tzv. **bulky** postižením (nádorová masa nad 10 cm). Symptomy pak závisí na velikosti tumoru a jeho lokalizaci, příp. na poruše funkce postiženého extranodálního orgánu. Prvním projevem mohou být i tzv. **B-příznaky** (nevysvětlitelná ztráta hmotnosti nad 10 % původní hodnoty během 6 měsíců či za kratší dobu, dále nejasné teploty nad 38 °C či nadměrné, obzvláště noční pocení), nacházené přibližně u 40 % pacientů.

Primárně extranodální postižení je popisováno až u 40 % případů. Mezi nejčastější lokality patří gastrointestinální trakt (hlavně žaludek

a ileocékální oblast), postižen však může být prakticky jakýkoliv orgán (např. kosti, varlata, ORL oblast, slezina, ledviny, štítná žláza, slinné žlázy, játra, nadledviny a další). Infiltrace kostní dřeně je na rozdíl od indolentních lymfomů spíše výjimkou, popisuje se pouze u 10-25 % případů. Část navíc připadá na vrub infiltrace malobuněčným lymfomem nižšího stupně malignity (tzv. **diskordantní typ** postižení), svědčící pro možnost vzniku daného DLBCL výše zmíněnou transformací. **Konkordantní** velkobuněčná infiltrace znamená velmi špatnou prognózu, 5leté přežití se udává pouze kolem 10 %.

Morfologie a cytogenetika

Při histologickém vyšetření je architektura postižené uzliny či orgánu většinou zcela setřena difuzní proliferací velkých lymfoidních buněk. Cytomorfologicky se tradičně rozlišují tři základní varianty – **centroblastická** (středně velké až velké lymfoidní buňky s oválným či kulatým jádrem obsahujícím dvě až čtyři jadérka), **imunoblastická** (přes 90 % buněk tvoří imunoblasty s centrálně umístěným jádrem a bazofilní cytoplazmou, častá je i plazmocytoïdní diferenciaci) a konečně varianta **anaplastická** (velké až obrovské kulaté či oválné buňky s pleomorfním až bizarním jádrem), přičemž všechny typy mohou obsahovat větší či menší příměs T-lymfocytů či histiocytů.

Imunofenotypizačně maligní buňky exprimují s různou denzitou pan-B-antigeny CD19, CD20, CD22, CD79a. Ve většině případů je prokazatelný i povrchový či cytoplazmatický imunoglobulin (nejčastěji IgM či IgG). Znak CD30 často nacházíme u anaplastické varianty. Dalšími exprimovanými znaky mohou být CD5 (cca 10 % případů), CD10 (30-60 %), BCL6 (60-90 %). Míra proliferace stanovená pomocí indexu Ki-67 bývá vysoká (většinou nad 40 %, nezřídka až přes 90 %) a odpovídá tak agresivnímu biologickému chování a rychlému růstu DLBCL.

Jak již bylo zmíněno v kapitole o prognóze DLBCL, lze imunohistologicky pomocí analýzy exprese antigenů CD10, BCL6 a

MUM1 rozlišit tzv. **germinal centre B-cell-like** (GCB) a **non-germinal centre-like** (non-GCB) subtyp DLBCL. GCB typ vzniká z lymfocytů germinálních center a je charakterizován buď expresí CD10 u více než 30 % buněk, nebo v případě negativity CD10 pozitivitou bcl-6 s negativním MUM1. U non-GCB DLBCL se předpokládá malignizace aktivované B-buňky v postgerminální fázi vývoje fyziologického lymfocytu a patří sem lymfomy s fenotypem neodpovídajícím GCB typu.

Rozdělení DLBCL na tři velké podskupiny je možné i pomocí určení profilu genové exprese. Tzv. **GCB-like** typ tvoří přibližně 45-50 % případů a exprese genů odpovídá B-lymfocytům germinálního centra (přestavby v oblasti BCL2, resp. translokace 14;18), zatímco profil druhé velké skupiny nazvané **ABC-like** je podobný *in vitro* mitogenně aktivovaným B-lymfocytům. Takzvanému **typu 3** DLBCL odpovídá primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom a dále sem spadají všechny ostatní případy, genovým profilem netypické pro GCB či ABC-like subtyp.

Při molekulárně genetickém vyšetření je detekovatelná klonální přestavba genů pro těžký a lehký řetězec imunoglobulinu, s přítomnými somatickými hypermutacemi. Nejčastější chromozomální aberací nacházenou až u 30 % DLBCL je postižení genu BCL6 na dlouhém raménku 3. chromozomu (typicky u ABC-like subtypu). Translokace t(14;18) postihující gen BCL2 se vyskytuje u 20-30 % DLBCL (typicky GCB subtyp). Případy se zlomy v oblasti genu cMYC (do 10 %) na 8. chromozomu jsou charakteristické vysokou proliferací a mohou tak klinicky i morfologicky připomínat Burkittův lymfom. Podle WHO klasifikace 2008 by tak měly spadat do kategorie neklasifikovatelného B-lymfomu s intermediárními rysy mezi DLBCL a Burkittovým lymfomem.

Difuzní velkobuněčný B-lymfom bohatý na T-buňky/histiocyty (T cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma, THRLBCL)

Tento subtyp DLBCL je charakterizován výskytem ojedinělých velkých atypických nádorových B-buněk na pozadí četných CD4+ a CD8+ T-lymfocytů a příp. i histiocytů. Neoplastické buňky exprimují běžné B-lymfocytární antigeny se silnou pozitivitou BCL6 a klasicky negativitou CD15 a CD30. Při histologické diagnostice může činit potíže odlišení od nodulárního Hodgkinova lymfomu s lymfocytární predominancí (NLPHL).

THRLBCL tvoří méně než 10 % všech DLBCL a postihuje nejčastěji jedince do 60 let, tedy mladšího či středního věku. Typicky se manifestuje non-bulky lymfadenopatií, která bývá často generalizovaná, časté je i postižení kostní dřeně, sleziny nebo jater. Klinické stadium III nebo IV tak nacházíme až u dvou třetin pacientů, mezi kterými v poměru 3:1 převažují muži nad ženami. Většina nemocných má silně vyjádřenou systémovou B-symptomatologii, kterou se často ohlašuje i relaps onemocnění.

Klinicky se lymfom chová ve většině případů agresivně. Až polovina pacientů spadá do kategorie vyššího středního až vysokého rizika podle IPI (IPI 3-5), prognóza je tak nepříznivá a selhání léčby bývá žel časté.

Primární difuzní velkobuněčný B-lymfom centrálního nervového systému (primary diffuse large B-cell lymphoma of the CNS, PCNSL)

Primární DLBCL centrální nervové soustavy zahrnuje všechny velkobuněčné B-lymfomy postihující intracerebrální nebo intraokulární struktury. Již z definice jsou z této kategorie vyloučeny lymfomy s dalším systémovým postižením (u kterých se předpokládá spíše sekundární diseminace do CNS) a lymfomy spojené s imunodeficitním stavem. Nepatří sem ani lymfomy postihující

tvrdou plenu mozkovou. Nádorové lymfocyty jsou CD20+, ve většině případů i BCL6+ a MUM1+.

PCNSL je poměrně vzácné onemocnění, tvoří pouze 2-3 % všech tumorů CNS a necelé 1% všech NHL. Klinické projevy záleží na místě postižení. Kolem 60 % PCNSL je lokalizováno supratentoriálně, 20 % intraokulárně. Většinou se jedná o solitární intraparenchymovou lézi, multifokální postižení nacházíme přibližně u 25–30 % případů. Leptomeningeální infiltrace je uváděna u 5 % PCNSL.

Stanovení diagnózy PCNSL by se mělo opírat o histologické vyšetření vzorku tumoru ze stereotaktické biopsie, nejen o nepřímé důkazy (nálezy zobrazovacích metod - CT či v lepším případě MRI, nebo případná velikostní regrese tumoru po kortikosteroidech podaných v antiedematózní indikaci). Mezi základní vyšetření u PCNSL patří lumbální punkce s biochemickým, cytologickým a příp. i flowcytometrickým vyšetřením mozkomíšního moku k vyloučení leptomeningeální infiltrace.

Základem chemoterapeutických režimů u PCNSL je vysokodávkovaný metotrexát, příp. jiná do CNS dobře pronikající cytostatika (cytarabin či prokarbazin). Nezastupitelnou roli u reziduálních nálezů či u chemorezistentních případů zde má i radioterapie. Prognóza PCNSL je horší než u DLBCL NOS, dlouhodobě přežívá pouze okolo 50 % nemocných. Obávanou komplikací je i rozvoj demence v důsledku pozdní toxicity léčby, především kombinace chemo- a radioterapie.

Primární kožní DLBCL, „leg type“ (primary cutaneous DLBCL, leg type)

Tento typ DLBCL tvoří přibližně 20 % všech primárně kožních B-lymfomů. Jedná se o lymfom vyskytující se především u starších pacientů nad 60 let, s převahou žen nad muži v poměru 3-4:1. Jak vyplývá z anglického názvu, lymfom typicky postihuje kůži jedné či obou dolních končetin, kde tvoří většinou vícečetná zarudlá plastická

ložiska. V pozdějších fázích nemoci dochází k šíření i do jiných lokalit mimo kůži. Klinicky se lymfom chová agresivně, 5leté přežití se uvádí kolem 50 %.

EBV pozitivní DLBCL starších dospělých (EBV positive DLBCL of the elderly)

Jedná se o agresivní B-lymfoproliferaci spojenou s EBV pozitivitou u starších pacientů většinou nad 50 let. Podmínkou je absence známého imunodeficitního stavu a vyloučení infekční mononukleózy či jiných EBV pozitivních lymfoproliferací (EBV + DLBCL, plazmablastický lymfom, primární exsudativní lymfom, lymfomatoidní granulomatóza či DLBCL spojený s chronickým zánětem).

Předpokládaný fyziologický prekurzor je zralý B-lymfocyt s nádorovou transformací způsobenou EBV a umožněnou přirozenou deteriorací imunity v průběhu procesu stárnutí. V našich podmínkách se jedná o raritní onemocnění, prevalence v západních zemích není ani přesně známa. V asijských státech však tvoří kolem 8-10 % všech případů DLBCL.

U většiny pacientů (70 %) se nachází mimouzlinové postižení, nejčastěji infiltrace kůže, plic či žaludku. Klinický průběh je agresivní, léčebné možnosti jsou navíc limitovány maximem výskytu v 7. a 8. dekádě života. Dva roky tak přežívá pouhá polovina pacientů.

Primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom (primary mediastinal large B-cell lymphoma, PMBL)

Přestože se podle současné WHO nomenklatury jedná o samostatně stojící jednotku, PMBL byl až donedávna řazen do skupiny difuzních velkobuněčných B-lymfomů. I ve většině klinických studií týkajících se DLBCL byl mediastinální B-lymfom běžně zahrnut, proto se nelze v tomto přehledu o mediastinálním B-

lymfomu nezmínit. Až moderní molekulárně genetické metody definitivně potvrdily, že se jedná o lymfom se zcela odlišným profilem genové exprese, než má DLBCL, a pomohly tak k jeho vyčlenění.

Tento typ lymfomu představuje asi 2-4 % všech NHL. Vyskytuje se častěji u žen než u mužů (poměr 2:1), typicky v mladším věku s mediánem kolem 35 let. Manifestuje se až u 75 % případů „bulky“ masou v předním horním mediastinu, odrážející tak předpokládaný vznik z B-lymfocytů thymu. Tato lokalizace má za následek častý syndrom horní duté žíly či jiné lokální komplikace plynoucí z infiltrativního růstu či útlaku okolních orgánů (např. pleurální či perikardiální výpotek, trombózy velkých žil). PMBL může také *per continuitatem* prorůstat přes stěnu hrudní či invadovat do přilehlé plicе. Z extrathorakálních nodálních lokalit mohou být postiženy uzliny v nadklíčcích či na krku. Pokročilejší stadia se projevují častou diseminací do vzdálených extranodálních orgánů (např. ledvin, nadledvin, CNS, játer).

Při histologickém vyšetření je pro PMBL charakteristická přítomnost úsekovité fibrózy. Nádorové buňky jsou středně velké až velké, s abundantní světlou cytoplazmou, většinou s kulatým či oválným jádrem. V případě větších nepravidelností jader mohou buňky PMBL i vzhledem k možné CD30 pozitivitě připomínat RS (Reedové-Sternbergovy) buňky a vzbuzovat tak podezření na Hodgkinův lymfom.

Prognóza PMBL je srovnatelná s DLBCL, ne-li lepší - zejména u pacientů s chorobou limitovanou na oblast hrudníku, i když třeba lokálně pokročilou. Při retrospektivní analýze 153 pacientů s PMBL z Britské Kolumbie bylo celkové přežití v 5 letech 75 % (pacienti léčeni R-CHOP 81 %), přežití bez progresu (PFS) 69 %, u PFS se navíc po 2 letech v křivce přežití nachází dlouhodobé plateau. I při diagnostice PMBL a odlišení od DLBCL molekulárně geneticky pomocí rozdílného profilu genové exprese lze z těchto 2 skupin pozorovat lepší prognózu u PMBL (OS v 5 letech 64 % u PMBL vs. 46 % u DLBCL).

9.5. Terapie

Difuzní velkobuněčný B-lymfom je potenciálně kurabilní onemocnění, obvykle s rychlým a agresivním růstem. Strategie „watch-and-wait“, často používaná u indolentních lymfomů, zde proto nemá místo, léčba by naopak měla být zahájena co nejdříve. Limitovaný rozsah nemoci znamená většinou nízké riziko podle aaIPI a výrazně lepší prognózu (při malé nádorové masě lze předpokládat častěji referenční aktivitu LDH, nízké klinické stadium a dobrý stav pacienta).

Vstupní stav některých pacientů může v úvodu léčby vyžadovat podání tzv. **prefáze**, nejčastěji ve formě pulzních kortikosteroidů. Obvykle se jedná o nemocné s velkou masou tumoru, u nichž by po aplikaci chemoterapie mohl hrozit syndrom nádorového rozpadu (tumor lysis syndrome), event. jejich horší klinický stav neumožňuje ihned agresivnější cytostatickou léčbu.

Terapie 1. linie

„Zlatým“ standardem terapie agresivních lymfomů byl po dlouhá léta antracyklinový režim CHOP (cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin, prednison, podávané v 3týdenních cyklech). Ve studii severoamerických onkologických skupin SWOG a ECOG z roku 1993 byl CHOP srovnáván s intenzivnějšími režimy M-BACOD, ProMACE-CytaBOM a MACOP-B, které se zdály v léčbě DLBCL podle výsledků studií fáze II účinnější. Při přímém randomizovaném srovnání byla však jejich účinnost prakticky stejná s 5letým přežitím kolem 45 %. Kombinace CHOP vyšla z tohoto srovnání nejlépe, protože při shodné účinnosti byla levnější, jednodušší na aplikaci a navíc s nejmenším výskytem nežádoucích účinků. Na základě této studie tak CHOP zůstal od svého zavedení v polovině 70. let nadále celosvětově nejpoužívanější kombinací v léčbě agresivních velkobuněčných lymfomů.

V následující dekádě žádný zásadní pokrok v terapii DLBCL nenastal, zkoušely se sice různé kombinované cytostatické režimy,

obecně intenzivnější (např. francouzský ACVBP), nicméně případně lepší výsledky byly vykoupeny i vyšší toxicitou, limitující navíc použití u starších pacientů. Zlom nastal až se zavedením **monoklonálních protilátek**. Mezi nejdéle používané a nejrozšířenější patří monoklonální protilátka **rituximab**, zaměřená proti povrchovému antigenu CD20. Tento fosfoprotein fungující zřejmě jako kalciový kanál se nachází v buněčné membráně prakticky všech vývojových fází B-lymfocytů (mimo nejmladší prekurzory, exprese se ztrácí i v konečném stadiu vývoje B-buněk, tedy na plazmatických buňkách). U DLBCL jakožto zralé B-lymfoproliferace je nalézána pravidelná a silná pozitivita antigenu CD20.

Průlomovou prací prokazující přínos rituximabu byla studie LNH-98.5 francouzské skupiny GELA, publikovaná v roce 2002, porovnávající 8 cyklů CHOP s 8 cykly rituximabu podávaného společně s CHOP (R-CHOP) u 399 starších pacientů (60-80 let) s nově diagnostikovaným DLBCL. Pacienti léčení R-CHOP dosáhli jak většího procenta kompletních remisí (76 % vs. 63 %), tak i signifikantně lepšího přežití ve 2 letech (70 % vs. 57 %), při podobném procentu nežádoucích účinků. Aktuálně publikovaný update této studie prokazuje signifikantně lepší výsledky imunochemoterapie i v dlouhodobém horizontu - v 10 letech celkové přežití (OS) 43,5 % u R-CHOP vs. 27,6 % u CHOP a přežití bez progresu (PFS) 36,5 % u R-CHOP vs. 20 % v rameni CHOP. Medián celkového přežití se prodloužil téměř o 5 let (8,4 roku u R-CHOP ve srovnání s pouhými 3,5 lety u CHOP). Lepších výsledků s imunochemoterapií bylo navíc dosaženo jak u pacientů s nízkým rizikem (aaIPI 0-1), tak s rizikem vysokým (aaIPI 2-3).

Studie RICOVER-60 německé pracovní skupiny pro agresivní lymfomy srovnávala u 1 222 pacientů ve věku 61–80 let účinnost 6 nebo 8 cyklů časově intenzifikovaného režimu CHOP-14 (podávaného v 14denních intervalech) s nebo bez rituximabu, tedy ve 4 léčebných ramenech. Nejlépe z tohoto randomizovaného srovnání vyšlo 6 cyklů R-CHOP-14, tedy opět režim kombinovaný

s imunoterapií (3leté OS 78 % vs. 67 % u 6x CHOP-14). Dalším důležitým výstupem této studie je fakt, že navýšení počtu cyklů z 6 na 8 se již neprojevovalo ve zlepšení přežití, naopak OS paradoxně v důsledku zvýšení toxicity pokleslo (3leté OS 72 % u 8x R-CHOP-14 vs. 78 % u 6x R-CHOP-14).

Co se týče mladších pacientů pod 60 let, tak přínos rituximabu u skupiny s nízkým rizikem (IPI 0-1) jednoznačně prokázala studie MInT (MabThera International Trial), srovnávající 6 cyklů CHOP-like chemoterapie s 6 cykly R-CHOP u celkem 824 pacientů s DLBCL klinického stadia II-IV nebo I bulky. Kombinovaná imunochemoterapie znamenala zlepšení celkového přežití o 9 % ve 3 letech (93 % vs. 84 %). Ve studii bylo zahrnuto i 87 případů primárního mediastinálního B-lymfomu. I u této skupiny pacientů byl rovněž při subanalýze potvrzen pozitivní efekt rituximabu, když se zvýšil počet celkových remisí z 54 % na 87 %, 3leté přežití bez události z 52 % na 78 % a 3leté celkové přežití ze 78 % na 89 %.

Nezávislé potvrzení těchto výsledků přinesla i retrospektivní analýza 292 pacientů s DLBCL z Britské Kolumbie. Přežití 140 pacientů léčených před rokem 2001 pouze chemoterapií CHOP nebo CHOP-like zde bylo srovnáno se 152 pacienty léčenými kombinací R-CHOP. Podle této práce se v éře rituximabu celkové přežití OS i přežití bez progresu PFS signifikantně zvýšilo (2leté PFS z 51 na 69 %, 2leté OS z 52 na 78 %), a to bez rozdílu věku (u starších i mladších pod 60 let).

Poslední zatím nezmiňovanou skupinou pacientů s DLBCL a zároveň největší terapeutickou výzvou jsou mladší nemocní s vyšším či vysokým rizikem (aaIPI 2-3). U této prognosticky nepříznivé kategorie dlouhodobě přežívá i při kombinované chemoimunoterapii pouze okolo poloviny pacientů a bohužel v současné době pro tuto skupinu neexistuje doporučený ideální léčebný postup. Zkouší se různé strategie se snahou překonat rezistenci nádorových buněk a eliminovat případnou reziduální nemoc, např. pomocí intenzifikace indukční léčby, která je možná jak zvýšením dávek cytostatik (**dose-intense** režimy), tak zkrácením intervalů mezi jednotlivými cykly

(**dose-dense** režimy, např. již zmíněný R-CHOP-14). Další možností je konsolidace dosažené remise podáním vysokodávkované chemoterapie s autologní transplantací periferních kmenových buněk krvetvorby (ASCT), ať již v kombinaci se standardní, či intenzivní indukční léčbou.

Vzhledem k těmto nejasnostem by mladší pacienti s vysokým rizikem měli být léčeni - pokud je to možné - v rámci kontrolovaných klinických studií, které jediné mohou přispět k porovnání jednotlivých léčebných přístupů a definování standardu léčby i u této kategorie nemocných s DLBCL. V ČR např. aktuálně probíhá randomizovaná akademická studie Kooperativní lymfomové skupiny (KLS) fáze III s názvem PET-RIMCEB, jejíž koncept je založen na podání intenzivní indukce (3 cykly R-CHOP s eskalací dávek, tzv. R-megaCHOP) a časným FDG-PET restagingem určujícím další léčbu (u PET časně negativních deescalace na standardní R-CHOP s nebo bez ASCT, u pacientů s přetrvávající PET pozitivitou platinový salvage režim s autologní transplantací). Studie PET-RIMCEB navazuje na předchozí studie fáze II organizované KLS, které u stejné cílové skupiny nemocných hodnotily účinnost a toxicitu intenzivních indukčních postupů zahrnujících paušálně ASCT v první linii.

Součástí léčby lymfomů s lokalizovaným postižením (klinické stadium I, event. II non-bulky) byla v minulosti i radioterapie, zprvu samotná, posléze v kombinaci s chemoterapií. Nicméně dosud publikované randomizované studie neprokázaly jednoznačný přínos adjuvantního ozáření postižené oblasti. Jako příklad lze uvést studii LNH 93-4 francouzské skupiny GELA, která srovnávala primární léčbu 4 cykly CHOP se 4 cykly CHOP zakončenými radioterapií involved field (IF) 40 Gy u celkem 562 starších pacientů (nad 60 let) s limitovaným stadiem DLBCL. S mediánem sledování přes 6 let se celkové přežití v obou ramenech statisticky neliší (72 % a 68 %, $p = 0,6$). Radioterapie navíc sebou přináší i možné dlouhodobé nežádoucí účinky v důsledku ozáření sousedících orgánů (např. plicní fibróza). V současnosti je tedy standardní léčbou i u této

skupiny nemocných 6 cyklů imunochemoterapie R-CHOP. Role radioterapie dnes spočívá hlavně v adjuvantním ozáření PET pozitivních či hraničních reziduálních nálezů a také v indikacích paliativních. Na individuálním zvážení přínosu a možných nežádoucích účinků je radioterapie na původní „bulky“ postižení.

Souhrnně lze tedy říct, že léčebná strategie s kurativním záměrem by měla u DLBCL vycházet ze zhodnocení rizika podle aaIPI a věku pacienta (vždy individuálně s přihlédnutím k věku biologickému). Podle této základní rozvahy můžeme nemocné orientačně rozdělit do 3 hlavních skupin – (1) mladší pacienti pod 65 let s nízkým rizikem (aaIPI 0-1, standard 6x CHOP-21 + 8x rituximab), (2) mladší vysoce rizikovní pacienti s aaIPI 2-3 (klinické studie s intenzivní indukci, příp. s autologní transplantací, jinak 6-8x CHOP-14 s 8 cykly rituximabu) a konečně (3) starší pacienti nad 65 let (standard léčby 6-8x CHOP-14 či CHOP-21 podle celkového stavu a IPI skóre, vždy s 8 cykly rituximabu). U velmi starých pacientů (přibližně nad 80 let) či nemocných ve špatném klinickém stavu lze zkusit podat pouze režim R-COP bez doxorubicinu. U kardiaků s kontraindikací antracyklinů je alternativou k R-CHOP režim R-CEOP, v němž je doxorubicin nahrazen pro myokard netoxickým etoposidem.

Profylaxe sekundárního CNS postižení

Specifickým problémem primární léčby u pacientů s agresivními lymfomy je otázka profylaxe relapsů v CNS. I přes výrazné zlepšení léčebných výsledků v posledním desetiletí totiž stále přibližně 2-7 % pacientů zrelabuje v CNS, což bývá v naprosté většině případů fatální, medián přežití po této události se pohybuje kolem 3-4 měsíců. Postižení může být buď leptomeningeální, nebo parenchymové. CNS relaps se u dvou třetin případů manifestuje do jednoho roku od ukončení primární léčby, s mediánem 7 měsíců, podle jiných údajů dokonce až u 80 % do půl roku od ukončení indukce. Vzhledem k této relativně krátké době lze předpokládat, že latentní CNS infiltrace může být přítomná buď již v době před indukční léčbou, nebo že se může objevit v jejím průběhu. Logicky

se tedy nabízí možnost určitého profylaktického léčebného zásahu s cílem snížit incidenci sekundárního CNS postižení.

Tato závažná komplikace však postihne nakonec relativně omezenou skupinu nemocných, proto není CNS profylaxe indikovaná u všech pacientů s DLBCL, ale pouze u vybraných rizikových jedinců. Ve výčtu faktorů zvyšujících míru rizika pozdějšího CNS relapsu nepanuje všeobecná shoda. Podle různých prací mezi hlavní nezávislé rizikové ukazatele patří vstupní elevace aktivity LDH nad dvojnásobek normy, vyšší klinické stadium III-IV, vyšší IPI (3-5), více než jedno extranodální postižení, konkordantní infiltrace kostní dřeně a postižení varlat a ledvin. Podle jiných autorů k nim patří i infiltrace paranazálních dutin, orbit a „bulky“ postižení v retroperitoneu. U pacientů s těmito rizikovými faktory by se proto v rámci stagingových vyšetření mělo zvážit provedení lumbální punkce s podrobným vyšetřením mozkomíšního moku.

Co se týče vlastní CNS profylaxe, ani zde nepanuje shoda nad její ideální formou. Nejčastěji se používá intrathékální aplikace metotrexátu, event. v kombinaci s cytarabinem a kortikosteroidy. Role intrathékální aplikace u DLBCL je však kontroverzní vzhledem k omezené distribuci metotrexátu v likvoru, neúčinnosti na hlubší parenchymové postižení a možné zvýšení toxicity léčby. Zlepšení by snad mohlo přinést užití prolongovaně působícího lipozomálního cytarabinu (zatím není běžně k dispozici). Druhou variantou, a snad i účinnější, je systémová intravenózní aplikace cytostatik s dobrým průnikem přes hematoencefalickou bariéru, tedy v praxi nejčastěji podání vysokodávkovaného metotrexátu.

Léčba relabovaného onemocnění

Principy léčby relapsu, progrese nebo rezistence na primární léčbu spočívají v podání záchranného režimu založeného na platinových derivátech (karboplatina či cisplatina, např. režimy ICE, DHAP či ESHAP). Pokud je to možné a pro pacienta s přijatelným rizikem, je doporučováno provedení rebiopsie, obzvláště to platí v případech suspektního relapsu s delším časovým odstupem od ukončení

primární léčby (nad 12 měsíců) či u PET pozitivních nálezů v místech mimo původní postižení. Při rebiopsii se rovněž potvrdí, zda lymfom nadále zůstává CD20 pozitivní. V některých případech totiž může po primární imunochemoterapii dojít k negativizaci CD20 při down-regulaci exprese tohoto povrchového antigenu. U CD20 pozitivních relapsů je indikováno opětovné podání rituximabu v kombinaci se záchrannou chemoterapií. U všech těchto dávkově intenzivních režimů je samozřejmostí primární podpora **granulocytárními růstovými faktory (G-CSF)**.

U mladších pacientů do 65 let věku (opět s přihlédnutím k celkovému stavu a biologickému věku) je v případě dobré léčebné odpovědi po 3-4 cyklech záchranného platinového režimu (dosažení minimálně parciální remise) standardním postupem konsolidace vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací krvetvorných buněk, samozřejmě v případě, že ASCT neproběhla již v rámci primární léčby. Relaps u starších nemocných či u mladších v horším klinickém stavu, pro které by platinový režim byl příliš toxický, lze léčit méně intenzivními režimy s etoposidem (např. R-MINE). U rezistentního nebo opakovaně relabujícího DLBCL u mladších pacientů s vhodným dárcem připadá v úvahu alogenní transplantace, u pacientů nevhodných k transplantaci příp. léčba 3. linie s režimem obsahujícím gemcitabin (např. GFOX, tedy gemcitabin a oxaliplatin) nebo zařazení do klinických studií s novými léky (např. lenalidomid).

V paliativní léčbě se nejčastěji využívá podání pulzních kortikosteroidů (dexametazonu či metylprednisolonu) či perorálních cytostatik (etoposidu, chlorambucilu). Jak již bylo výše zmíněno, lze v této indikaci použít i radioterapii IF (involved field) cíleně na ložiska působící potíže (např. při útlaku okolních orgánů, infiltraci skeletu apod.). Při lokalizovaném relapsu může mít radioterapie teoreticky i kurativní potenciál.

Dispenzarizace

Po ukončení primární léčby následuje restaging, tedy přešetření stavu nemoci a zhodnocení léčebné odpovědi. V případě dosažení kompletní remise jsou pacienti první rok kontrolováni ambulantně každé 3 měsíce a dále po půl roce většinou do 5 let od chemoterapie. V dispenzarizaci hematologa či onkologa zůstávají i poté s kontrolami jednou ročně vzhledem k možným pozdním nežádoucím účinkům (např. možnost sekundární hematologické či jiné malignity nebo rozvoj srdečního selhávání v důsledku pozdní kardiotoxicity antracyklinů).

9.6. Závěr

Terapie DLBCL i dalších lymfoproliferací zaznamenala v posledním desetiletí významné pokroky. Postupující poznání patogeneze a molekulárně genetického pozadí DLBCL povede jak k dalšímu zpřesňování klasifikace této dosud heterogenní skupiny lymfomů, tak se jistě objeví nové léky cíleně ovlivňující konkrétní metabolické dráhy či proteiny zavzaté v procesu malignizace u daného typu lymfoproliferace. Tato biologická léčba by mohla přinést ústup od klasických cytostatik a tím pádem i snížení nežádoucích účinků léčby. Dalších pokroků bylo dosaženo i v diagnostice a ve funkčních zobrazovacích metodách, které postupně dovolují individualizovat léčbu a přizpůsobit ji na míru jednotlivému nemocnému. Přestože již nyní umíme současnými postupy vyléčit podstatnou část nemocných s DLBCL, ve světle výše zmíněného můžeme optimisticky doufat, že podíl vyléčených bude v budoucnosti dále narůstat.

10. Literatura

- Adam, Z. Doubek, M. (Eds.): Histiocytóza z Langerhansových buněk a další vzácná hematologická onemocnění. Vnitř Lék (Suppl. 2) 2010, 194 s.
- Adam, Z., Krejčí, M., Vorlíček, J. (Eds.): Speciální onkologie. Příznaky, diagnostika a léčba maligních chorob. Galén, Praha 2010, 418 s.
- Adam, Z., Vorlíček, J. (Eds.): Hematologie pro praktické lékaře. Galén, Praha 2007, 314 s.
- Bowen, D.A., Call, T.G., Jenkins, G.D., a kol.: Methylprednisolone-rituximab is an effective salvage therapy for patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia including those with unfavorable cytogenetic features. *Leuk Lymphoma*, 2007, 48(12), p. 2412-2417.
- Dighiero, G., Maloum, K., Desablens, B., a kol.: Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*, 1998, 338, 1506-1514.
- Doubek, M. (Ed.): Focus - Hematoonkologie. Tematické číslo Postgraduální medicíny. *Postgrad. Med.* 13, 2011, s. 277-345.
- Doubek, M. (Ed.): Chronická lymfocytární leukemie. *Transf. Hematol. dnes* 16 (Suppl. 1), 2010, 120 s.
- Doubek, M., Mayer, J. (Eds.): Postupy diagnostiky a léčby leukemií a jejich infekčních komplikací u dospělých pacientů. Doporučení České leukemické skupiny – pro život (CELL). Česká leukemická skupina - pro život, Brno 2011, 150 s.
- Döhner, H., Stilgenbauer, S., Benner, A., a kol.: Genomic aberrations and Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Medicine*, 2000, 343, p. 1910-1916.
- Faber, E. (Ed.): Základy hematologické diagnostiky. Univerzita Palackého, Olomouc 2012, 264 s.
- Janíková, A., Doubek, M.: Hematologické kazuistiky nejen pro hematology, aneb jak nepřehlédnout leukemii v každodenní praxi. Mladá fronta, Praha 2011, 128 s.

- Keating, M.J., Flinn, I., Jain, V., a kol.: Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood*, 2002, 99, 3554-3561.
- Souček, M. (Ed.): *Vnitřní lékařství*. 1. díl. Grada, Praha 2011, 856 s.
- Wierda, W., O'Brien, S., Wen, S., a kol.: Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23, 4070-4078.

Obsah

1. Úvod.....	2
2. Vyšetření krevního obrazu v humánní medicíně	2
3. Další vyšetření v humánní hematologické onkologii	6
4. Akutní myeloidní leukemie	14
4.1. Epidemiologie	16
4.2. Patofyziologie	16
4.3. Klinický obraz, diagnostika a diferenciální diagnostika	17
4.4. Prognostické faktory	21
4.5. Monitorace minimální zbytkové nemoci	23
4.6. Kritéria odpovědi na léčbu	24
4.7. Terapie	25
4.8. Akutní myeloidní leukemie související s předcházející léčbou	28
4.9. Relabovaná akutní myeloidní leukemie	28
4.10. Podpůrná péče	29
4. 11. Závěr	30
5. Akutní lymfoblastická leukemie (dospělých)	31
5.1. Etiopatogeneze	32
5.2. Diagnostika	33
5.3. Rizikové faktory	37
5.4. Diferenciální diagnostika	38
5.5. Terapie	39
5.6. Komplikace a podpůrná léčba	42
5.7. Některé zvláštní podskupiny akutní lymfoblastické leukemie	44
5.8. Sledování	46
5.9. Relaps	47
5.10. Prognóza	48
5.11. Budoucnost	49
5.12. Závěr	49
6. Chronická myeloidní leukemie	49
6.1. Epidemiologie	50

Leukemie a lymfomy v humánní medicíně

6.2. Patofyziologie	50
6.3. Klinický obraz, diagnostika a diferenciální diagnostika	51
6.4. Průběh a prognóza	56
6.5. Terapie	58
6.6. Současné doporučení léčby a monitorování	63
6.7. Závěr	67
7. Chronická lymfocytární leukemie	67
7.1. Epidemiologie	68
7.2. Etiopatogeneze	69
7.3. Příznaky	70
7.4. Diagnóza	71
7.5. Prognostické faktory	73
7.6. Terapie	79
7.7. Závěr	87
8. Folikulární lymfom a další indolentní B-lymfomy	87
8.1. Folikulární lymfom	88
8.2. Primárně kožní lymfom folikulárního centra	95
8.3. Lymfomy marginální zóny	96
8.4. Extranodální lymfomy marginální zóny z lymfoidní tkáně asociované s mukózou (MALT-lymfomy)	96
8.5. Nodální lymfom marginální zóny	98
8.6. Splenický difuzní B-lymfom z malých buněk červené pulpy (splenický lymfom marginální zóny).....	99
9. Difuzní velkobuněčný B-lymfom	100
9.1. Definice a klasifikace	100
9.2. Stanovení diagnózy a rozsahu postižení	102
9.3. Prognostické rizikové faktory	104
9.4. Přehled hlavních subtypů	110
9.5. Terapie.....	117
9.6. Závěr	124
10. Literatura	125

ISBN 978-80-7305-621-6