

# KLINICKÁ ONKOLOGIE

## Chronická lymfocytární leukemie a maligní lymfomy

Smolej L., Doubek M., Trněný M. et al



# Zydelig<sup>®</sup>

(idelalisib) 150mg tablety



## První perorální inhibitor PI3Kδ pro léčbu CLL a FL<sup>1,2</sup>

### Zkrácená informace o léčivém přípravku. Zydelig 100 mg potahované tablety, Zydelig 150 mg potahované tablety

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky. Podrobnosti o hlášení nežádoucích účinků viz plná verze SPC.

**Název:** Zydelig 100 mg potahované tablety, Zydelig 150 mg potahované tablety. **Složení:** 1 potahovaná tableta obsahuje idelalisibum 100 mg nebo 150 mg. **Indikace:** Léčba dospělých dospělých pacientů s chronickou lymfatickou leukémií (CLL), kteří podstoupili alespoň jednu předchozí léčbu nebo jako léčba první linie při výskytu delece 17p nebo mutace TP53 u pacientů nevhodných pro chemoimunoterapii. V monoterapii k léčbě dospělých pacientů s folikulárním lymfomem (FL), který je refrakterní na dvě předchozí linie léčby. **Dávkování:** Terapii má zahájit lékař se zkušenostmi s protinádorovou léčbou. Doporučená dávka je 150 mg perorálně, dvakrát denně. V léčbě je třeba pokračovat až do progresu onemocnění nebo nepřijatelné toxicity. Případné úpravy dávkování viz plná verze SPC. **Porucha funkce ledvin nebo jater:** Úprava dávkování není nutná. **Pediatrická populace:** Bezpečnost a účinnost nebyla stanovena. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivé látky nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Po dobu prvních 3 měsíců léčby je nutné u všech pacientů každé 2 týdny sledovat hladiny ALT, AST a celkového bilirubinu, poté se mají tyto hodnoty sledovat podle klinické indikace. Případy těžké kolitidy související s lékem se vyskytovaly relativně pozdě (v řádu měsíců) po zahájení léčby, někdy s rychlým zhoršením, ustoupily však do několika týdnů po přerušení podávání léku a dodatečné symptomatické léčbě. V klinických studiích s idelalisibem byly hlášeny případy pneumonitidy. Pacienti, u nichž se objeví závažné plicní příhody, které nereagují na konvenční antibakteriální léčbu, se mají vyšetřit na léky indukovanou pneumonitidu. U pacientů s poruchou funkce jater se doporučuje intenzivnější sledování nežádoucích účinků, protože se u této populace očekává zvýšená expozice, a to zvláště u pacientů se závažnou poruchou funkce jater. Při podávání přípravku Zydelig pacientům s aktivní hepatitidou je třeba postupovat opatrně. **Přípravek Zydelig obsahuje azobarvivo oranžovou žlut (E110),** které může způsobovat alergické reakce. **Interakce:** Souběžné podávání se nedoporučuje: se středně silnými nebo silnými induktory CYP3A, alfuzosin, amiodaron, chinidin, kvetiapin, pimozid, ergotamin, dihydroergotamin, cisaprid, lovastatin, simvastatin, salmeterol, sildenafil, midazolam (perorální), triazolam. Další možné interakce viz plná verze SPC. **Fertilita, těhotenství a kojení:** Na základě zjištění u zvířat může idelalisib způsobit poškození plodu. Ženy by se měly během užívání přípravku Zydelig a do 1 měsíce po ukončení léčby vyhnout otěhotnění. Ženy ve fertilním věku proto musí během léčby idelalisibem a ještě 1 měsíc po ukončení terapie používat vysoce účinnou antikoncepci. Kojení má být během léčby přípravkem Zydelig přerušeno. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Přípravek Zydelig nemá žádný nebo má zanedbatelný vliv na schopnost řídit nebo obsluhovat stroje. **Hlavní nežádoucí účinky:** velmi časté: infekce, neutropenie, průjem/kolitida, zvýšené hladiny transamináz, vyrážka, pyrexie, zvýšené hladiny triglyceridů; časté: pneumonitida. **Předávkování:** V případě předávkování musí být pacient sledován, zda nevykazuje známky toxicity. **Uchovávání:** Tento léčivý přípravek nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Gilead Sciences International Limited, Cambridge, CB21 6GT, Velká Británie **Registrační čísla:** EU/1/14/938/001-002. **Datum revize textu:** 7/2015. **Přípravek je vydáván pouze na lékařský předpis a není hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Před předepsáním přípravku si přečtěte plnou verzi Souhrnu údajů o přípravku.**

**Reference:** 1. SmPC Zydelig. 2. Herman SE, Gordon AL, Wagner AJ, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase-δ inhibitor CAL-101 shows promising preclinical activity in chronic lymphocytic leukemia by antagonizing intrinsic and extrinsic cellular survival signals. Blood. 2010;116:2078-2088.

# Editorial

Vážené kolegyně, vážení kolegové,  
dovolujeme si Vám předložit zvláštní supplementum časopisu Klinická onkologie věnované chronické lymfocytární leukemii a maligním lymfomům. V roce 2011 bylo v České republice diagnostikováno téměř 2 500 nových nemocných s maligní lymfoproliferací, což představuje stav, kdy je každé tři a půl hodiny diagnostikován nový pacient. Největší skupinou jsou non-Hodgkinovy lymfomy následované chronickou lymfocytární leukemií a Hodgkinovým lymfomem. Incidence těchto lymfoproliferací s výjimkou Hodgkinova lymfomu každoročně stoupá – jen od roku 2000 o více než 30 %. Od tohoto roku jsme však také začali pozorovat stagnaci a postupný pokles úmrtnosti na tyto choroby. To je způsobeno jistě řadou faktorů, mezi nimiž zaujímá velmi důležité místo zlepšení léčebných výsledků, zejména v důsledku zavedení léčebných režimů využívající nová cytostatika, monoklonální protilátky a inhibitory signálních drah B buněčného receptoru. V předkládaném souboru souhrnných referátů je podán přehled vybraných částí této aktuální problematiky a věříme, že bude čtenářům k užítku.

*Za autorský kolektiv*

*prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.  
předseda Kooperativní lymfomové skupiny ČHS ČLS JEP*

*doc. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D.  
předseda České CLL skupiny ČHS ČLS JEP*

*prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.  
1. místopředseda České CLL skupiny ČHS ČLS JEP*

*editoři supplementa*



# Obsah | Contents

<b>Editorial</b>	<b>3S3</b>
<b>Molekulární prognostické markery chronické lymfocytární leukemie a jejich klinický význam</b> Molecular Prognostic Markers and Their Clinical Relevance in Chronic Lymphocytic Leukemia Navrkalová V., Kantorová B., Jarošová M., Pospíšilová Š.	<b>3S6</b>
<b>Význam minimální zbytkové nemoci u chronické lymfocytární leukemie</b> Significance of Minimal Residual Disease in Chronic Lymphocytic Leukemia Doubek M.	<b>3S16</b>
<b>Monoklonální protilátky v léčbě chronické lymfocytární leukemie v roce 2015</b> Monoclonal Antibodies in the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia in 2015 Obrtlíková P., Urbanová R.	<b>3S22</b>
<b>Léčebné možnosti pro nemocné s chronickou lymfocytární leukemií a významnými přidruženými chorobami</b> Therapeutic Options for „Slow-go“ Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia Smolej L.	<b>3S30</b>
<b>Léčba chronické lymfocytární leukemie s aberací TP53</b> Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia with TP53 Aberrations Lysák D., Schwarz J.	<b>3S39</b>
<b>Malé molekuly v léčbě chronické lymfocytární leukemie v roce 2015 a v blízké budoucnosti</b> Small Molecules in the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia in 2015 and in the Near Future Špaček M.	<b>3S45</b>
<b>Aktuality v podpůrné léčbě chronické lymfocytární leukemie</b> News in the Supportive Care of Chronic Lymphocytic Leukemia Brejcha M.	<b>3S50</b>
<b>Maligní lymfomy – minulost, současnost a budoucnost</b> Malignant Lymphomas – Past, Present and Future Trněný M., Klener P. Jr., Pytlík R.	<b>3S55</b>
<b>Difuzní velkobuněčný B lymfom – moderní způsoby diagnostiky a molekulárně cílené léčby</b> Diffuse Large B-cell Lymphoma – Modern Diagnostics and Molecularly Targeted Treatment Pytlík R., Trněný M.	<b>3S64</b>
<b>Folikulární lymfom</b> Follicular Lymphoma Benešová K., Trněný M.	<b>3S73</b>
<b>Lymfom z pláštových buněk – současný stav poznání a možnosti léčby</b> Mantle Cell Lymphoma – Cutting-edge Diagnostics and Treatment Approaches Klener P. Jr., Trněný M.	<b>3S80</b>

<b>Hodgkinův lymfom – vývoj léčebných přístupů a současné trendy</b>	<b>3587</b>
Hodgkin's Lymphoma – the Treatment Approaches Development and Current Trends Kořen J., Trněný M.	
<b>Záchranná léčba a role transplantací u lymfomů</b>	<b>3595</b>
Salvage Treatment and the Role of Transplantation in Lymphomas Pohlreich D., Vácková B., Pytlík R., Trnková M., Trněný M.	
<b>Současné možnosti imunoterapie nádorových onemocnění</b>	<b>35105</b>
Current Approaches in Cancer Immunotherapy Otáhal P., Trněný M.	

#### Hlavní partner supplementa



#### Další partneři supplementa



# Molekulární prognostické markery chronické lymfocytární leukemie a jejich klinický význam

## Molecular Prognostic Markers and Their Clinical Relevance in Chronic Lymphocytic Leukemia

Navrkalová V.<sup>1</sup>, Kantorová B.<sup>1</sup>, Jarošová M.<sup>2</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1</sup>

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

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

### Souhrn

Chronická lymfocytární leukemie je nejčastější typ leukemie v západním světě postihující zejména starší dospělé osoby. Navzdory stále se zdokonalující léčbě zůstává z důvodu značné biologické i klinické variability nadále nevyléčitelným onemocněním. Patogeneze chronické lymfocytární leukemie není dodnes plně objasněna, nicméně velkou roli hrají antigenní stimulace, narušená apoptóza a vliv mikroprostředí. Mezi nejvýznamnější molekulární prognostické faktory s jasným klinickým dopadem patří mutační stav genů pro těžký řetězec imunoglobulinů (*IGHV*), cytogenetické aberace a mutace genů *TP53* a *ATM*. Zavedení nových sekvenačních technologií umožnilo v posledních letech zpřesnění analýzy stávajících i detekci nových potenciálních prognostických markerů chronické lymfocytární leukemie. Významnými kandidáty jsou mutace genů *SF3B1*, *NOTCH1* a *BIRC3*, jejichž klinický dopad je předmětem intenzivního výzkumu. V neposlední řadě jsou nadále studovány také další mechanismy patogeneze chronické lymfocytární leukemie, mezi něž patří deregulace signalizace přes B buněčný receptor a regulace genové exprese pomocí microRNA. Přesná charakterizace molekulárních abnormalit je klíčová pro lepší rozdělení rizikových skupin pacientů s chronickou lymfocytární leukemií, kteří mohou profitovat z nových terapeutických přístupů.

### Klíčová slova

chronická lymfocytární leukemie – biologické markery – chromozomální aberace – mutace – prognóza

### Summary

Chronic lymphocytic leukemia is the most common leukemia in Western countries affecting particularly elderly adults. Despite the constantly improving therapy options, chronic lymphocytic leukemia is still an incurable disease owing to considerable clinical and biological heterogeneity. Pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia is not fully understood; however, aberrant antigenic stimulation, apoptosis deregulation and microenvironmental interactions play a crucial role in disease development. The most important molecular prognostic markers with clinical relevance include mutation status of heavy-chain immunoglobulin genes (*IGHV*), presence of cytogenetic aberrations and *TP53* and *ATM* gene mutations. Recent implementation of next generation sequencing technologies has enabled more accurate analysis of both well-established and novel potential prognostic markers. The most relevant candidates are mutations in *SF3B1*, *NOTCH1* and *BIRC3* genes, which are now intensively studied with respect to their clinical importance. The other examined molecular mechanisms of chronic lymphocytic leukemia pathogenesis include deregulation of B-cell receptor signalization and abnormal regulation of gene expression by microRNA. The precise characterization of molecular abnormalities improves the risk stratification of chronic lymphocytic leukemia patients, which could possibly benefit from new treatment approaches.

### Key words

chronic lymphocytic leukemia – biological markers – chromosome aberrations – mutations – prognosis

Práce byla realizována za podpory grantů IGA MZ ČR NT13493-4/2012, NT13576-4/2012, NT13576, AZV MZ ČR č. 15-30015A-4/2015 a 15-31834A-4/2015 a TAČR TE02000058.

This work was supported by the grants IGA MH CZ NT13493-4/2012, NT13576-4/2012, NT13576, AZV MZ ČR No. 15-30015A-4/2015 a 15-31834A-4/2015 a TAČR TE02000058.

Autoři deklaruji, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.  
Interní hematologická  
a onkologická klinika  
LF MU a FN Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: sarka.pospisilova@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 30. 7. 2015

Přijato/Accepted: 4. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2015356>

**Úvod**

Chronická lymfocytární leukemie (CLL) patří mezi nízké maligní lymfoproliferativní onemocnění, které je zpravidla charakterizováno akumulací zralých monoklonálních B lymfocytů s typickým imunofenotypem (CD5, CD19, CD20 a CD23) v periferní krvi, kostní dřeni a lymfatických orgánech [1]. Díky velmi variabilnímu klinickému průběhu choroby a absenci kauzální genové abe-

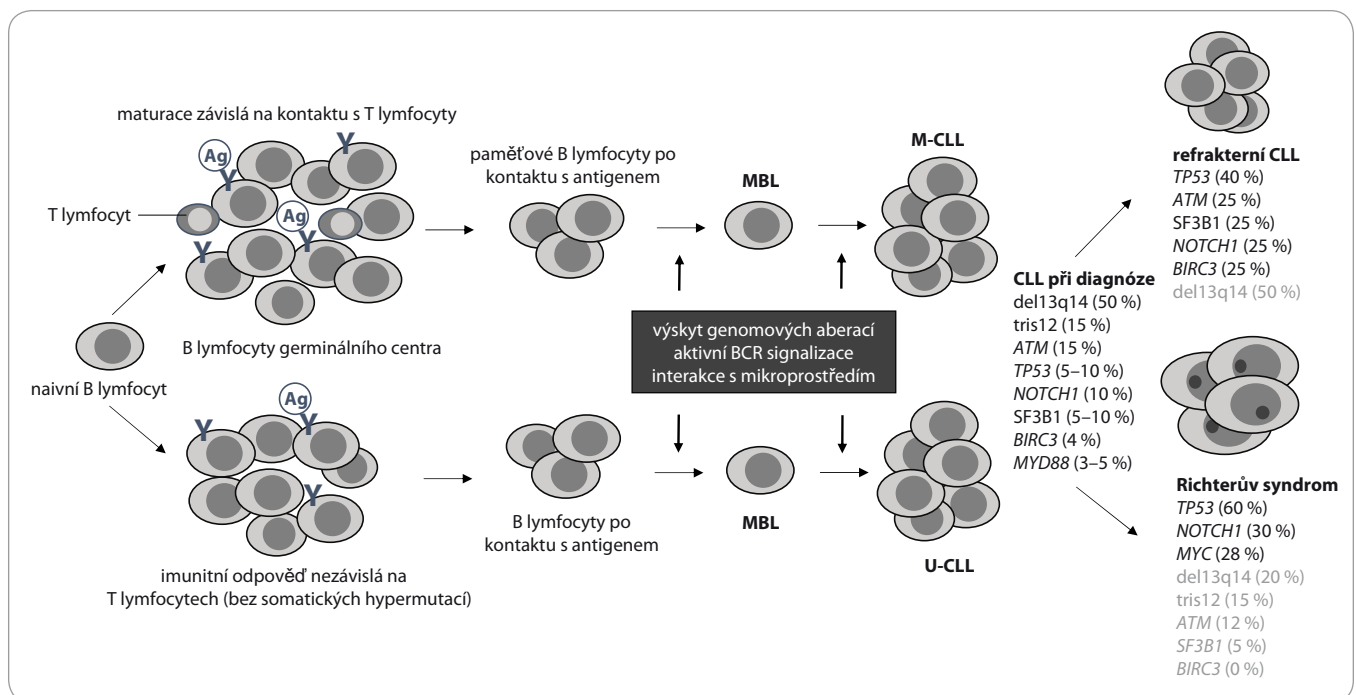
race není prozatím u CLL dostupná univerzální účinná léčba. Nicméně byla popsána celá řada klinicko-biologických faktorů, které přispívají k objasnění patogeneze CLL a stanovení prognózy pacientů (tab. 1). Zdá se, že mezi hlavní molekulární mechanismy patří vliv mikroprostředí podílející se na antigenní stimulaci B buněčného receptoru (B-cell receptor – BCR) a vnitrobuněčná akumulace genetických defektů (obr. 1) [2,3].

Významná role antigenu ve vývoji CLL je podpořena existencí pozměněného repertoáru genů pro těžký řetězec imunoglobulinů (*IGHV*) při srovnání s fyziologickými B lymfocyty a rovněž také faktem, že někteří pacienti využívají sekvenčně identický, tzv. stereotypní BCR [4–6]. Objev cytogenetických a molekulárně-genetických markerů výrazně napomohl objasnění heterogenity biologického pozadí CLL. Dle klasického

**Tab. 1. Biologická a klinická charakteristika CLL podle mutačního stavu genů *IGHV*.**

Charakteristika CLL	Mutované <i>IGHV</i> geny	Nemutované <i>IGHV</i> geny
BCR signalizace	↓ exprese CD38, ZAP-70	↑ exprese CD38, ZAP-70
proliferační aktivita CLL buněk	LDT > 12 měsíců, dlouhé telomery	zkrácené telomery
sérové markery	↓ hladina B2M, TK, LDH, VEGF	↑ hladina B2M, TK, LDH, VEGF
rekurentní cytogenetické aberace	del(13q)	del(11q), del(17p)
molekulární markery (mutace)	<i>MYD88</i>	<i>TP53</i> , <i>ATM</i> , <i>NOTCH1</i> , <i>SF3B1</i>
deregulace microRNA	↓ exprese miR15a	↑ exprese miR15a, miR16-1
medián OS	8–10 let	25 let
průběh CLL	indolentní	progresivní
léčebná odpověď	dlouhodobě stabilní	opakované relapsy

B2M – β-2-mikroglobulin, LDH – laktátdehydrogenáza, LDT – zdvojovací čas lymfocytů, TK – tymidinkináza, OS – celkové přežití, BCR – B buněčný receptor, VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor



**Obr. 1. Klonální evoluce CLL a přítomnost molekulárních lézí v jednotlivých stádiích onemocnění. Hlavní mechanismy patogeneze CLL jsou vypsány v šedém rámečku (podle Gaidano et al, 2012) [117].**



Döhnerova modelu [7] lze podle přítomnosti cytogenetických abnormalit určit prognózu, která je nejhorší v případě delecce 17p (del(17p)), následované delecí 11q (del(11q)). Nedávno publikované výsledky celogenomového a exomového sekvenování ukázaly, že kromě známých nádorových supresorů *TP53* a *ATM* jsou u CLL rekurentně mutovány i další geny, jako je *SF3B1*, *NOTCH1* a *BIRC3*, které mohou přispívat k horší prognóze pacientů [8–11]. Přítomnost určitých molekulárních lézí odráží klinickou fázi a rovněž klonální evoluci choroby, kdy např. premaligní léze známá jako monoklonální B lymfocytóza (MBL) je charakterizována nízkým počtem abnormalit, zatímco agresivní CLL nebo tzv. Richterův syndrom (RS) jsou spojovány s akumulací závažných genetických defektů [12–14]. V následujícím textu bychom rádi shrnuli poznatky o molekulární podstatě patogeneze a klonální evoluci CLL s důrazem na význam klasických i nových molekulárních prognostických markerů pro klinickou praxi.

### Prognostické faktory asociované s deregulací BCR signalizace

BCR receptor na povrchu lymfocytů hraje velice významnou fyziologickou úlohu v rozpoznávání antigenu a spouštění signální kaskády, která je nezbytná pro přežití a proliferaci jak normálních, tak i maligních B lymfocytů. Základní komponentou tohoto receptoru je membránový imunoglobulin, jehož struktura zahrnující preferenční využívání určitých typů subgenů pro těžký řetězec (např. *VH3-21*, *VH1-69*) hraje významnou roli v patogenezi CLL. Přítomnost somatických mutací v genech pro *IGHV* je jedním ze základních prognostických markerů, který umožňuje rozlišení dvou skupin pacientů s jasně odlišnými klinicko-biologickými rysy. V případě mutovaného *IGHV* (M-CLL) dochází k vývoji CLL až po reakci B lymfocytu s antigenem, který prošel germinálním centrem lymfatické uzliny. Naopak leukemické buňky s nemutovaným *IGHV* (U-CLL) se s antigenem sice setkaly, ale nebyly po této reakci podrobeny procesu somatické hypermutace (obr. 1). Hranice pro U-CLL byla stanovena arbitrárně a odpovídá více než 98% sek-

venční homologii s genem zárodečné linie [15]. Tito pacienti mají vyšší frekvenci nepříznivých genových abnormalit a celkově výrazně horší prognózu než pacienti s mutovaným *IGHV*, kteří vykazují významně delší celkové přežití (overall survival – OS) (tab. 1) [4,5]. Zvláštní případ pak reprezentuje genový segment *VH3-21*, jehož přítomnost v leukemickém klonu představuje nepříznivou prognózu bez ohledu na jeho mutační stav [16]. V posledních letech se objevil další fakt podporující význam antigenní stimulace při vývoji a progresi CLL. Bylo zjištěno, že asi 30 % CLL pacientů využívá určitý typ tzv. stereotypního BCR receptoru, který je charakteristický identickou sekvencí VH CDR3 oblastí (variable heavy complementarity-determining region 3) imunoglobulinu (tzv. subset) pro danou skupinu nepřibuzných pacientů [6,17]. Tito pacienti vykazují výrazně rozdílné genetické pozadí a také celkový průběh choroby. Například pacienti ze subsetu #2 využívající stereotypní *VH3-21* mají nepříznivou prognózu bez ohledu na mutační stav genů *IGHV* a byla u nich prokázána vyšší frekvence výskytu *SF3B1* mutací a poškození p53 dráhy [18,19]. Celkově tedy tato nedávná pozorování naznačují, že vývoj CLL je pravděpodobně řízen vysoce specifickou antigenní selekcí B lymfocytů spojenou se získáváním určitých genetických defektů.

Další prognostické markery zapojené do BCR signalizace jsou molekuly ZAP-70 a CD38, jejichž vyšší úroveň exprese je asociována s U-CLL a tedy agresivnějším průběhem onemocnění [5,20]. ZAP-70 (zeta asociovaný protein) je tyrozinináza, která se fyziologicky vyskytuje v T lymfocytech a také v různých vývojových stádiích normálních i maligních B lymfocytů [21]. Při studiu CLL bylo prokázáno, že vysoká hladina ZAP-70 moduluje BCR signalizaci a přispívá k nutnosti dříve zahájit terapii [22]. CD38 je transmembránový glykoprotein kooperující se ZAP-70 během BCR signalizace, který po aktivaci spouští typickou signální kaskádu pro proliferaci CLL buněk. Prognóza pacientů CD38+/ZAP-70+ je horší než u nemocných se zvýšenou expresí pouze znaku CD38 [23]. Oba tyto markery dříve sloužily jako alternativa

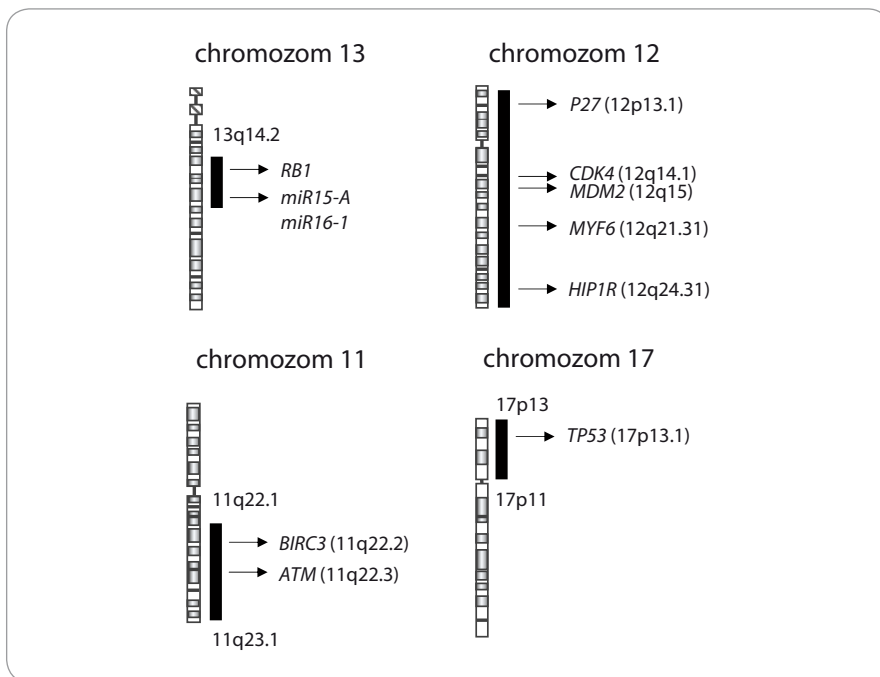
k poněkud obtížnému stanovení mutačního stavu genů *IGHV*. Nicméně exprese ZAP-70 a CD38 se mění spolu s vývojem onemocnění a navíc prognosticky významná míra exprese je obtížně stanovitelná díky odlišným metodám používaným v jednotlivých laboratořích. Proto dnes slouží už jen jako doprovodné prognostické faktory ke standardizovanému vyšetření genů *IGHV*.

Cytoplazmatická BCR signalizace je zprostředkována řadou kináz aktivujících nezbytné pro-proliferaci a anti-apoptické procesy v CLL buňkách [24]. Fosforylační kaskáda zahrnuje především kinázy Lyn, Syk a Btk. Zajímavé je, že Lyn není pro BCR signalizaci nezbytná tak jako ostatní zmíněné kinázy, ale naopak hraje klíčovou roli v ukončení BCR aktivace. Fosforylací jsou dále aktivovány proteiny PI3K a PLC $\gamma$ 2 odpovědné za tvorbu tzv. druhých posílů, které zprostředkovávají aktivaci příslušných drah (např. RAS, NF $\kappa$ B, AKT, MAPK, PKC atd.) [25]. Pochopení mechanismů BCR signalizace vedlo k navržení nových terapeutických postupů založených na inhibici jednotlivých komponent této dráhy. Tyto tzv. BCR inhibitory mají pro nádorovou buňku fatální následky; vedou nejenom k inhibici signálů pro přežití, ale ovlivňují také migraci maligních buněk [26]. Mezi klinicky testovaná léčiva patří např. ibrutinib jako inhibitor Btk dosahující velmi dobrých klinických výsledků (schválen v USA v roce 2014 pro léčbu relabující/refrakterní CLL v druhé léčebné linii), fostamatinib pro inhibici Syk a nebo PI3K inhibitor idelalisib [27].

### Cytogenetické prognostické faktory

Získané genetické změny se vyskytují v době diagnózy CLL u více než 80 % nemocných a hrají významnou roli v patogenezi onemocnění. Jejich identifikace má význam pro prognózu, volbu léčebné strategie, a tedy OS nemocných. Na jejich určení se už od 70. let minulého století podílí řada cytogenetických a molekulárně-cytogenetických metod, jako je klasická cytogenetika, fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), čipové technologie a v poslední době i nejmodernější technologie sekvenování nové generace





Obr. 2. Rekurentní cytogenetické změny u CLL s vyznačením nejvýznamnějších zasažených genů na jednotlivých chromozomech (podle Puiggros et al, 2014) [116].

(next-generation sequencing – NGS). Přes výskyt velkého spektra genetických změn byly určeny rekurentní změny prognostického významu.

Milníkem ve vývoji cytogenetiky CLL a jejího klinického významu byla práce z roku 2000, kdy Döhner et al určili na základě cytogenetické (FISH) analýzy 325 CLL nemocných prognostický význam nejčastějších chromozomových změn v hierarchickém uspořádání [7]. Tato „Döhnerova prognostická klasifikace“ ukázala, že nemocní s delecí 13q (del(13q)) jako jedinou změnou v karyotypu mají dobrou prognózu, zatímco pacienti s del(17p) zahrnující gen *TP53* a del(11q) zahrnující gen *ATM*, mají nepříznivou prognózu. Nález trizomie chromozomu 12 (tris(12)) je spojován se střední prognózou společně s nálezem normálního karyotypu. Právě tato cytogenetická prognostická stratifikace doplnila a upřesnila již existující hodnocení klinického stadia podle Bineta a Raie [28,29].

Kromě uvedených chromozomových změn, které jsou součástí rutinního CLL panelu FISH vyšetření, existují i další chromozomové aberace, jež byly určeny klasickou cytogenetickou nebo čipovou technologií. K takovým změnám patří

zmnožení krátkých ramen chromozomu 2, které bylo pozorováno u 8–28 % CLL nemocných [30,31]. Zmnožení zahrnuje oblast s lokalizací významných onkogenů jako *MYCN*, *REL* a nebo *MSH2* a častěji se vyskytuje u nemocných v pokročilejším stadiu onemocnění (Binet B a C) a také jako sekundární změna spojená s kratším OS a transformací do RS [31,32].

#### Změny chromozomu 13q

Del(13q) se vyskytuje až u 50 % CLL nemocných v době diagnózy a je nejčastější změnou detekovanou metodou FISH. Během posledních několika let byla tato oblast obzvláště intenzivně studována a byla navržena řada kandidátních genů (obr. 2), které by mohly být odpovědné za patogenezi stejně jako za prognostickou heterogenitu nemocných s del(13q). V deletované oblasti byly určeny geny kódující microRNA (miRNA), *miR15a* a *miR16-1* [33,34], ale jasná korelace s expresí a počtem alel nebyla přesně stanovena. Kromě těchto miRNA bylo studováno několik dalších genů lokalizovaných v deletované oblasti 13q, jako gen *DLEU7* nebo *DLEU2*, které by mohly hrát významnou roli v aktivitě nádorových supresorů [35]. Jednoznačný

závěr však zatím nebyl proveden. Analýzy deletované oblasti dále ukázaly, že velká delecce zahrnující gen *RB1* (typ I) je spojena s kratším časem do první léčby (time to first treatment – TTFT) a OS, ve srovnání s nemocnými, kteří mají kratší delecce zahrnující jen geny *miR15a* and *miR16-1* (typ II) [35–38]. Pacienti mohou mít také bialeickou del(13q), která je pozorována až ve 30 % případů [39]. Bialeická delecce je často spojena s malou delecí nezahrnující *RB1* gen. Klinický význam bialeické delecce je stále kontroverzní, avšak častěji je pozorována u nemocných s agresivnějším průběhem onemocnění [40,41]. Prognostický význam bialeické delecce je obtížné stanovit také proto, že může být ovlivněn řadou dalších faktorů, ke kterým řadíme zejména velikost klonu s touto delecí. Orlandi et al ukázali, že klon, který tvoří 65–90 % buněčné populace, může znamenat prognostické zhoršení u nemocných s izolovanou del(13q) [41].

#### Trizomie chromozomu 12

Tris(12) je druhá nejčastější cytogenetická změna u nemocných s CLL s frekvencí 20–30 %, z čehož až v 60 % případů se vyskytuje jako jediná změna karyotypu. Pokud se objevuje spolu s dalšími cytogenetickými aberacemi, pak často s trizomií chromozomů 18 a 19, ale také s del(11q), del(13q), del(14q), del(17p) anebo s translokacemi zahrnujícími gen *IGH* [7]. Tris(12) je považována za marker střední prognózy, i když některé práce potvrdily výskyt u pacientů s agresivnějším průběhem onemocnění [42]. Tato aberace je považována za změnu časného stadia onemocnění, která podporuje akumulaci dalších změn, např. mutací genů *NOTCH1* nebo *TP53* [43]. Tris(12) vede dále ke zvýšené regulaci řady genů lokalizovaných na chromozomu 12 (obr. 2), přičemž za hlavní patogenetický mechanismus této změny je považována dávka genů [44].

#### Delece chromozomu 11

Del(11q) je pozorována u 5–20 % CLL nemocných [2,7]. Tato delecce je značně heterogenní a je klasifikována buď jako „velká delecce“ vyskytující se čas-

těži, nebo jako „malá delecce“, která je mnohdy spojena s mutacemi na druhé párové alele. Delecce se často vyskytuje společně s dalšími defekty a je součástí komplexních změn, což potvrzuje nestabilitu nádorového genomu [45,46]. Minimálně deletovaná oblast téměř vždy zahrnuje gen *ATM*. Homozygotní delecce nebyla zatím u CLL nemocných pozorována, ale 20–30 % nemocných s heterozygotní *del(11q)* má mutaci párové *ATM* alely [46]. V blízkosti genu *ATM*, v oblasti 11q22, je lokalizován také gen *BIRC3* (obr. 2), jehož role v patogenезi a prognóze CLL je v současnosti intenzivně studována. Bylo pozorováno, že nemocní s delecí nebo mutací genu *BIRC3* jsou často rezistentní na léčbu fludarabinem [47].

#### Delecce chromozomu 17

*Del(17p)* je pozorována u 3–10 % nemocných v době diagnózy CLL [7,47,48], avšak až u 30 % léčených a refrakterních pacientů [48]. Delecce může být přítomna *de novo* v době diagnózy nebo se může objevit až v průběhu onemocnění jako výsledek klonálního vývoje [49]. V současnosti převládá názor, že přítomnost více než 25 % pozitivních jader určených metodou FISH předpovídá horší průběh onemocnění [48,50]. Více než 75 % nemocných s delecí genu *TP53* má mutaci v párové alele (obr. 2). Tito nemocní s bialelickým defektem mají horší průběh onemocnění, kratší dobu přežití bez progresu (progression-free survival – PFS) i OS [51]. Nicméně negativní vliv na prognózu má ale také samotná delecce nebo mutace genu *TP53*, což potvrzuje, že každá tato změna je dostatečná pro rezistenci a klonální vývoj. Pomocí sekvenování nové generace s vysokým pokrytím (tzv. ultradeep NGS) se ukázalo, že výskyt *TP53* mutací je prognosticky nepříznivý i v případě, že jsou přítomny v malých subklonech [52]. *Del(17p)* je často součástí komplexních karyotypů, vyskytující se společně s delecí chromozomu 4p, 18p, 20p a změnami chromozomu 8 [53,54].

#### Komplexní karyotyp a chromotripse

Komplexní karyotyp (CK) je obecně definován jako nálezy tří a více změn v karyotypu. U nemocných s CLL se vyskytuje přibližně u 16 % nemocných [55,56].

Nález CK je velmi často asociován s nemutovaným stavem *IGHV*, expresí CD38 a krátkým OS. Provedená analýza počtu změn v komplexním karyotypu ukázala, že prognostická hodnota CK je vyšší u nemocných s nálezem pěti a více změn, a dále byla potvrzena vysoká asociace CK s *del(11q)* a *del(17p)* [57]. Baliakas et al analyzovali celkem 1 001 neléčených CLL nemocných a CK pozorovali u 157 (15,6 %) nemocných [56]. Tento nálezy byl asociován s nemutovaným stavem *IGHV* a změnami 17p. Nález CK se ukázal jako nezávislý prognostický faktor pro přežívání bez události (event-free survival – EFS) u neléčených CLL pacientů. Cytogenetická analýza 72 nemocných s relabující/refrakterní CLL, kteří byli léčeni kombinací s ibrutinibem, odhalila CK u 26 (36 %) nemocných, přičemž u 22 z nich byla součástí *del(17p)*. Tato studie dále ukázala, že CK je nezávislý faktor spojený s nepříznivým EFS a OS u těchto nemocných. Toto nebylo potvrzeno u nemocných s *del(17p)* bez CK, což vedlo k závěru, že s nepříznivým průběhem relabující/refrakterní CLL je spojen spíše CK než *del(17p)* [58].

Chromotripse je pojem odvozený z řeckých slov „chromos“ pro chromozom a „thripsis“ pro rozpad chromozomů na kousky. Tento proces úzce souvisí se vznikem komplexního karyotypu a označuje jednu katastrofickou událost, během níž se chromozom nebo více chromozomů rozpadne na mnoho kousků, které se pak spojují zpět pomocí DNA opravných procesů v náhodném pořadí. Takto mohou být vysvětleny komplexní chromozomové přestavby s řadou zlomů představující tzv. marker chromozomy. V nádorových buňkách vede chromotripse ke ztrátě nádorových supresorů a může být příčinou amplifikace onkogenů. Chromotripse se může vyskytovat u 2–3 % nádorů a byla pozorována až u 25 % nádorů kostí [59]. V případě CLL byl tento jev objeven nedávno pomocí metody NGS, kdy se jednalo o chromotripsí chromozomu 4 [59]. Kombinací celogenomového sekvenování, komparativní genomové hybridizace (arrayCGH) a SNPs array se povedlo analyzovat a určit chromotripsí i u řady dalších nádorů [60,61].

#### Poškození ATM/p53 apoptické dráhy

Narušení apoptotické dráhy je další velice důležitý mechanismus patogeneze CLL, které umožňuje přežívání B lymfocytů v periferní krvi. Molekulární defekty bránící správnému průběhu apoptózy zahrnují zvýšenou expresi antiapoptických proteinů rodiny Bcl-2 a aberace (delecce a/nebo mutace) nádorových supresorů *TP53* a *ATM*, které představují významné negativní prognostické faktory CLL. *ATM/p53* signální dráha spouští v odpovědi na buněčný stres mechanismy zabezpečující potlačení klonální expanze buněk a udržení integrity genomu [62]. Samotný prognostický význam hladiny proteinu Bcl-2 nebyl prokázán a některé studie ukazují spíše na významný poměr hladin molekul Bcl-2/Bax při regulaci apoptózy [63].

#### Aberace genu TP53

Protein p53 je jaderný transkripční faktor, který se v závislosti na rozsahu a typu buněčného poškození podílí zejména na reparaci DNA, blokaci buněčného cyklu a iniciaci apoptózy. Somatické poškození genu *TP53* bylo popsáno u více než poloviny onkologických malignit a v případě leukemií a lymfomů má jeho stanovení silný prognostický a prediktivní význam [64,65]. Výskyt zárodečných aberací genu *TP53* je navíc spjat s autozomálně dominantními Li-Fraumeni a Li-Fraumeni-like syndromy, vyznačujícími se rodinnou predispozicí k vývoji četných nádorových onemocnění v mladém věku (zpravidla v < 45 letech) [66]. Nejčastějšími způsoby deregulace proteinu p53 je narušení vazebné a/nebo transkripční schopnosti tohoto nádorového supresoru; popsáno je ovšem také získání onkogenní aktivity p53 u CLL mutovaných buněk [67]. U nově diagnostikované CLL jsou aberace genu *TP53* detekovány u 5–10 % pacientů a zpravidla asociují se zdaleka nejhorší prognózou onemocnění [7,68]. Nejkratší OS přitom vykazují nemocní s bialelickým poškozením genu *TP53* (medián ~19 měsíců) [68,69], kdy je *del(17p)* nejčastěji kombinována s mutacemi lokalizovanými v oblasti DNA-vazebné domény [70]. Výskyt samostatné mutace genu *TP53* je u neléčené CLL

pozorován vcelku ojediněle (3–5 % pacientů), ovšem stejně jako bialelický defekt přispívá k rezistenci nádorových klonů na standardní chemoimuniterapii a celkovou léčebnou odpověď tak dosáhne pouze zhruba 30–60 % pacientů [68,71]. Při relapsu onemocnění jsou navíc často leukemické buňky nesoucí *TP53* aberace v rámci klonálního vývoje selektovány [13,72]. Tyto aberace je pak možné zaznamenat u 30–40 % chemorefrakterní CLL a až u poloviny případů RS [14,73]. Detekce minoritních *TP53* mutací je ovšem v diagnostických vzorcích často z důvodu nedostačující senzitivity konvenčně používaných metod velmi problematická a v těchto případech je doporučováno využití přístupů NGS [52,72,74]. Nezbytná součást mutační analýzy je také stanovení funkčního důsledku každé detekované *TP53* varianty, ať už pomocí specifických testů (zejména FASAY) nebo dohledáním v dostupných databázích (<http://p53.iarc.fr/>, <http://p53.free.fr/>). Současné poznatky týkající se analýzy mutací genu *TP53* včetně charakterizace nejčastěji používaných detekčních metodik, které lze využít také u ostatních nádorových onemocnění, jsou přehledně shrnuty v mezinárodně platných doporučeních Evropské iniciativy pro výzkum CLL [74]. Nemocným s jakoukoliv prokázanou patogenní *TP53* aberací je standardně doporučována účast v klinických studiích testujících léčiva nezávislá na funkci p53 signální dráhy, popřípadě jsou indikovány k alogenní transplantaci krvetvorných buněk [1,75]. V minulém roce bylo v USA organizací FDA pro léčbu těchto pacientů a nemocných s relabovanou nebo refrakterní CLL schváleno použití nového tyrozinkinázového inhibitoru ibrutinibu na základě výsledků studie RESONATE [76].

#### Inaktivace genu *ATM*

*ATM* je převážně jaderná kináza, která je aktivována po vzniku dvouřetězcových zlomů DNA a prostřednictvím fosforylace aktivuje řadu efektorových molekul zahrnutých v odpovědi na poškození DNA [77]. Kinázová kaskáda směřuje k mnoha cílovým molekulám, z nichž nejvýznamnější je protein

p53 spouštějící procesy na ochranu integrity genomu [78]. Zárodečné mutace v genu *ATM* vedou k autozomálně recesivnímu syndromu ataxia-telangiectasia, který je spojen se zvýšeným rizikem infekcí a vzniku nádorových onemocnění, zejména leukemií, lymfomů a nádorů prsu [79]. Gen *ATM* může být u CLL pacientů zasažen prostřednictvím del(11q) a/nebo somatické (případně germinální) mutace. Při analýze obou typů defektů se ukázalo, že dohromady představují nejčastější abnormalitu spojenou s negativní prognózou při diagnóze CLL, kdy se vyskytují u přibližně 25 % pacientů [80]. U pacientů vyžadujících léčbu může být tato frekvence ještě vyšší [81]. Dopad *ATM* defektů na prognózu pacientů byl prokázán v řadě studií, které ukazují jejich negativní vliv na přežití a také jejich potenciální prediktivní charakter [80–84]. Nicméně analýza mutací v tomto extrémně dlouhém genu (62 kódujících exonů) je pro většinu laboratoří náročná, a proto se rutinně vyšetřuje pouze del(11q). Přestože NGS technologie značně zjednodušily tento proces, interpretace identifikovaných variant zůstává nadále problematická. Je proto velmi vhodné využít některý z funkčních testů, který by vyčlenil skutečně patogenní mutace s jednoznačným vlivem na funkci proteinu. Tyto testy jsou založeny zejména na sledování indukce exprese p53 a jeho cílového genu *p21* po poškození DNA ionizujícím zářením nebo vybranými chemoterapeutiky [85–88]. Právě pomocí funkčních analýz bylo zjištěno, že kompletní inaktivace *ATM* je u CLL pacientů zprostředkována zejména bialelickými defekty (del(11q)/mutace nebo mutace/mutace), které vedou k trvalému narušení p53 dráhy po poškození DNA [81]. Samotná del(11q) k inaktivaci *ATM* nevede, protože transkripce z druhé alely je schopna zajistit dostačující syntézu funkčního proteinu, avšak může ovlivňovat průběh choroby prostřednictvím haploinsuficience dalších genů lokalizovaných v oblasti 11q22–23 (např. *BIRC3*) [80]. Klinický dopad jednotlivých *ATM* defektů u CLL pacientů byl podrobněji popsán teprve nedávno, protože starší studie sledovaly pouze vliv del(11q) bez analýzy možné přítomnosti *ATM* mu-

tací. Efekt mutace doprovázející asi ve třetině případů delecí se projevuje ve významném zkrácení TTFT a OS ve srovnání se samotnou delecí [81]. Práce Skowronské et al prokázala signifikantní zhoršení PFS a OS pouze u pacientů s bialelickým *ATM* defektem [83]. Navíc bylo zjištěno, že tito pacienti jsou rezistentní na standardně používanou cytotoxickou chemoterapii, jejíž mechanismus účinku je závislý na funkční p53 dráze [81,83]. Proto je do budoucna velice žádoucí hledat nové možnosti léčby s p53 nezávislým mechanismem účinku, které by byly vhodné pro *ATM*-defektní pacienty. Jednou z možností by mohlo být použití inhibitorů BCR signalizace [89] nebo také některého z nových terapeutických přístupů založených na konceptu syntetické letality, který k usmrcení nádorových buněk využívá dysfunkce *ATM* spolu s terapeutickým zvýšením genotoxického stresu [90].

#### Význam deregulace miRNA

MiRNA jsou krátké nekódující úseky RNA podílející se na regulaci exprese nejméně 20–30 % všech protein kódujících genů, zahrnutých zejména v buněčné proliferaci, diferenciaci a apoptóze. Jejich význam v iniciaci a progresi onkologických malignit podtrhuje fakt, že zhruba polovina známých lidských miRNA je lokalizována v genomových oblastech asociovaných s karcinogenezí [33]. Nádorově supresorová, popřípadě onkogenní funkce miRNA byla popsána také u CLL, kde je možné na základě specifického expresního profilu těchto markerů odlišit nádorové buňky od fyziologických B lymfocytů [91]. Pomocí vytipovaného panelu miRNA vyznačujících se v rámci CLL rozdílnou expresí lze do určité míry ve spojitosti s ostatními molekulárními markery rovněž predikovat průběh tohoto onemocnění [91,92]. Zdaleka nejčastěji (> 60 % případů) je u CLL pozorována deregulace klastru *miR15a* a *miR16-1* lokalizovaných v často deletované oblasti 13q14 [33], která vede k navýšení exprese antiapoptotického proteinu Bcl-2 [93]. Vztah mezi hladinou exprese miRNA, rekurentními genomovými defekty a klinickým průběhem CLL byl prokázán rovněž u genů kódujících *miR34b/c* (lokus 11q22.3) a *miR34a* regu-



lovaných proteinem p53 [94]. Význam aberantní exprese těchto a dalších miRNA (např. *miR150* a *miR155*) u CLL je dáván do spojitosti také s aktivní BCR signalizací asociovanou se zvýšenou proliferací leukemických buněk [27,95,96].

Příčinou deregulované exprese miRNA mohou být také mutace v těchto markerech (detekované např. u *miR16-1*), které byly sporadicky nalezeny u pacientů s familiární CLL, a poukazují tak na význam genetické predispozice při jejím vývoji [91]. Navzdory prokázané úloze při patogenezi CLL není prozatím aberantní exprese miRNA u tohoto onemocnění z důvodu nestandardizované detekční metodiky rutinně vyšetřována.

### Nové potenciální prognostické markery CLL

Rychle se vyvíjející technologie NGS umožnily pomocí celogenomového či celoexomového přístupu objevení dalších rekurentně se vyskytujících genových aberací u CLL [8,9,11]. Jsou to zejména mutace v genech *SF3B1*, *NOTCH1* nebo *BIRC3*, které se vyskytují u 5–15 % nově diagnostikovaných pacientů a zejména pak v pozdějších fázích onemocnění (obr. 1). Jejich klinický dopad a možnost využití jako nových „biomarkerů“ je v současné době intenzivně studován [97–99]. V nedávné době bylo popsáno, že jsou asociovány s nepříznivými cytogenetickými aberacemi a také s celkově horším průběhem choroby, odrážejícím se v rychlejší progresi, rezistenci na léčbu a kratším PFS a OS pacientů (tab. 1) [19,47,98–100]. Na druhé straně ale není přesně znám funkční dopad těchto mutací a také chybí standardizované detekční metody, což prozatím znemožňuje zavedení těchto analýz mezi rutinní vyšetření CLL pacientů. Další rekurentně mutovaný gen *MYD88*, jehož proteinový produkt se podílí na iniciaci imunitní odpovědi spojené se zánětem, byl v nedávné době asociován s mutovaným *IGHV* a *del(13q)* a zřejmě je tedy spojen s příznivější prognózou CLL pacientů (tab. 1) [11,43].

Rossi et al integrovali tyto nově nalezené molekulární defekty do klasického cytogenetického hierarchického modelu a navrhli tak potenciálně dokonalejší prognostickou stratifikaci

CLL pacientů [101]. Rozlišují čtyři skupiny: 1. vysoce riziková pacientů s defekty v genech *TP53* a/nebo *BIRC3*, 2. pacienti se středním rizikem s mutacemi v *NOTCH1* a/nebo *SF3B1* a/nebo s *del(11q)*, 3. pacienti s nízkým rizikem nesoucí tris(12) nebo normální karyotyp a 4. pacienti s velmi nízkým rizikem nesoucí pouze *del(13q)*. V nedávné studii Baliakas et al podpořili klinickou významnost zejména *SF3B1* a *NOTCH1* mutací [19]. Nicméně tento prognostický model bude potřeba ještě ověřit na základě prospektivních klinických studií. Prediktivní potenciál těchto nových markerů s cílem využití v personalizované léčbě je stále předmětem diskuzí.

### Mutace genu *SF3B1*

*SF3B1* je jedna z proteinových komponent sestříhového aparátu buňky (spliceozom), který se podílí na úpravě prekurzorové mRNA do její zralé formy [102]. Gen *SF3B1* je lokalizován na 2. chromozomu a jeho mutace se vyskytují zejména v exonech 14–16 v tzv. HEAT doménách v několika preferenčně mutovaných kodonech. Nejčastější mutací je záměna K700E, vyskytující se asi ve 40–50 % případů. Frekvence mutací roste od diagnózy (5–10 %), přes progresi choroby (17 %) až k refrakterní formě CLL (20 %) [8,11,98,99]. Mutace v *SF3B1* jsou asociovány s nemutovaným *IGHV*, s *del(11q)* a zdá se, že také s mutacemi genu *ATM* [11,99], čímž dále zhoršují už tak nepříznivou prognózu těchto pacientů; klinicky se projevují značně zkráceným TTFT a kratším OS pacientů [99,103]. Jejich funkční dopad není prozatím přesně objasněn, nicméně Paulsen et al ve své studii ukázali stěžejní roli sestříhového aparátu v udržování genomické stability, kdy při zablokování jednotlivých komponent splicesomu došlo k akumulaci poškození DNA [104]. Je tedy možné, že mutace *SF3B1* vedou k narušení odpovědi na poškození DNA, podobně jako mutace v *ATM* [105].

### Mutace genu *NOTCH1*

Gen *NOTCH1*, lokalizovaný v oblasti 9q34.3, kóduje heterodimerní transmembránový protein podílející se na regulaci buněčné proliferace (NF- $\kappa$ B dráha), diferenciaci a apoptózy. Aberace tohoto

transkripčního faktoru byly asociovány s patogenezi řady nádorových onemocnění, kdy v rámci hematologických malignit je výskyt prognosticky nepříznivých mutací genu *NOTCH1* pozorován zejména u T-akutní lymfoblastické leukemie (~50 % případů) [106]. V případě CLL jsou somatické onkogenní mutace genu *NOTCH1* detekovány u 8–12 % nově diagnostikovaných pacientů [9,10] a zpravidla vedou ke konstitutivní aktivaci *NOTCH1* signální dráhy. Zdaleka nejčastěji je přítom u CLL analyzována hot spot mutace c.7544\_7545delCT (70–80 % *NOTCH1* mutací) vedoucí ke vzniku předčasně zkrácené aktivní formy proteinu. Spolu s ostatními *NOTCH1* defekty je tato mutace pozorována zejména u pacientů s nemutovaným stavem genů *IGHV* a také s tris(12) [9,100]. Z hlediska prognózy CLL je výskyt patogenních mutací genu *NOTCH1* zpravidla spojen se zkráceným PFS a OS pacientů (medián ~55 měsíců) [98] a také zvýšeným rizikem Richterovy transformace [10,107]. Předběžné výsledky klinických studií poukazují též na prediktivní význam přítomnosti *NOTCH1* mutací u CLL, kdy u těchto pacientů nebyl prokázán léčebný prospěch z přidání rituximabu k režimu fludarabin-cyklofosamid [97].

### Defekty genu *BIRC3*

*BIRC3* je negativní regulátor kinázy MAPK, která aktivuje nekanonickou NF- $\kappa$ B dráhu stimulující proliferaci buněk [108]. U CLL pacientů může být *BIRC3* inaktivován pomocí *del(11q)* a/nebo mutace, podobně jak je tomu v případě *ATM* [19,47]. Gen *BIRC3* je lokalizován do oblasti 11q22.2, ale nemusí vždy v případě *del(11q)* chybět. Studie Rose-Zerilliho et al detekovala delecii *BIRC3* v 83 % případů delecí genu *ATM* a ukázala, že spíše *ATM* mutace než *BIRC3* delecce a/nebo mutace ovlivňují přežití pacientů s *del(11q)* [109]. Inaktivace proteinu *BIRC3* je spojena především s posunovými mutacemi nebo mutacemi vedoucími ke vzniku stop kodonu, které způsobují ztrátu E3 ubikvitin ligázové aktivity směrem ke kináze MAPK a následně vedou ke konstitutivní aktivaci nekanonické NF- $\kappa$ B dráhy. Výskyt mutací při diagnóze je nízký (5 %), zatímco u relabujících a fludara-

bin-refrakterních pacientů je poměrně vysoký (25 %) [47].

### Klonální evoluce molekulárních aberací u CLL

CLL je klonální onemocnění, které prochází několika klinickými stadii od bezpříznakové fáze, přes symptomatickou CLL, která může přejít až ve vysoce agresivní formu známou jako RS. V průběhu CLL je možné detekovat různé molekulární léze, které mohou být klonálně zvýhodňovány a přispívat tak k progresi onemocnění (obr. 1). Biologická variabilita CLL je tedy dána různou kombinací genetických abnormalit a přítomností subklonálních defektů [110]. Ačkoliv se prozatím u CLL nepodařilo přímo určit kauzální (tzv. founder) aberaci podílející se na prvotní iniciaci onemocnění, byly odhaleny genomové změny spojené s vývojem a progresí CLL. Tyto tzv. driver aberace se mohou vyskytovat klonálně nebo subklonálně v časnějších, resp. pozdějších fázích evoluce CLL [9,43,111].

Mezi nejčastěji deregulované buněčné mechanismy u CLL patří zejména narušení DNA reparace a kontroly buněčného cyklu (aberrace *TP53*, *ATM*, *BIRC3*), ovlivnění RNA zpracování a sestřihu (mutace *SF3B1*, *XPO1*), navýšení intenzity proliferace (mutace *NOTCH1*, *FBXW7*, *KRAS*, *NRAS*, *MED12*), modulace imunitních mechanismů (mutace *MYD88*) a změna modifikace chromatinu (*CHD2*) [11,43]. Řadu těchto patogenetických klonálních defektů je přitom možné zaznamenat už na úrovni hematopoetických prekurzorů a také u myeloidních buněk pacientů s CLL [112,113] a mohou se uplatnit rovněž při vývoji MBL. Tento premaligní leukemický stav nevyžadující hematologickou léčbu je možné diagnostikovat až u ~13 % příbuzných pacientů s CLL, z nichž 1–2 % případů ročně progreduje do klinicky vyjádřené CLL [114].

V časných stádiích neléčené CLL jsou pomocí konvenčně dostupných metod ve většině nádorových buněk nalézány spíše klinicky příznivé genomové defekty (nejčastěji *del(13q)*) a mutace genu *MYD88*, které jsou predominantně klonálního původu [43]. Až ve 20 % případů ovšem v průběhu CLL dochází také k nárůstu subklonálních po-

pulací nesoucích prognosticky nepříznivé genomové aberace (např. *TP53*, *ATM* a *SF3B1*), které přispívají k agresivnímu fenotypu onemocnění včetně rezistence na standardně podávanou chemoimunoterapii (obr. 1). Riziko vývoje genomových aberací se přitom značně zvyšuje s přítomností nemutovaného *IGHV* a podáním terapie, která poskytuje významný selekční tlak [13,72,101]. Narušení reparačních a apoptotických mechanismů u leukemických buněk ve spojení s navýšením intenzity jejich proliferace napomáhá akumulaci dalších patogenetických změn [43,110]. Důsledkem může být progresse CLL do malignit vyššího stupně, nejčastěji difúzního velkobuněčného B lymfomu, popřípadě prolymfocytární leukemie, které lze detekovat u 5–15 % pacientů a jsou spojeny s infaustní prognózou onemocnění [115].

Dosud ne zcela objasněnou otázkou klonálního vývoje CLL zůstává, zda jsou později detekované mutace následkem spontánní mutagenese nádorové buňky nebo zda jsou do DNA vnášeny agresivní genotoxickou terapií. Nejnovější studie ukazují, že minoritně mutované subklony jsou přítomny v CLL buňkách již před terapií, která následně přispívá k jejich expanzi, a to až ve chvíli, kdy je eliminována většina nádorové populace senzitivní na léčbu [43,72,111].

### Závěr

Klinická heterogenita CLL se zdá být v přímé souvislosti s biologickou podstatou tohoto dosud neléčitelného onemocnění. Nejsilnějšími klinicky významnými prognostickými markery CLL nadále zůstávají analýza mutačního stavu genů *IGHV* ve spojení s vyšetřením stávajících rekurentních chromozomálních a genomových aberací. Při predikci léčebné odpovědi je kromě *del(17p)* a *del(11q)* doporučováno také stanovení mutačního profilu kódujících oblastí genů *TP53* a *ATM*, které společně pomáhají určit pacienty schopné profitovat z alternativních léčebných modalit. V souvislosti s novými poznatky o patogenезi CLL a vývojem sofistikovanějších detekčních přístupů lze do budoucna očekávat rozšíření portfolia vyšetřovaných molekulárních markerů. Důkladně

rozdělení pacientů dle přítomnosti rizikových genomových abnormalit by mohlo napomoci při výběru efektivní cílené terapie určené pro danou skupinu pacientů. Nicméně pro přesné stanovení prognostického a prediktivního významu nově detekovaných genomových aberací je nezbytná jejich analýza v rámci klinických studií.

### Literatura

- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* 2008; 111(12):5446–5456. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906.
- Zenz T, Mertens D, Küppers R et al. From pathogenesis to treatment of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(1): 37–50. doi: 10.1038/nrc2764.
- Chiorazzi N, Ferrarini M. Cellular origin(s) of chronic lymphocytic leukemia: cautionary notes and additional considerations and possibilities. *Blood* 2011; 117(6): 1781–1791. doi: 10.1182/blood-2010-07-155663.
- Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A et al. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94(6): 1848–1854.
- Damle RN, Wasil T, Fais F et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94(6): 1840–1847.
- Agathangelidis A, Darzentas N, Hadzidimitriou A et al. Stereotyped B-cell receptors in one-third of chronic lymphocytic leukemia: a molecular classification with implications for targeted therapies. *Blood* 2012; 119(19): 4467–4475. doi: 10.1182/blood-2011-11-393694.
- Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343(26): 1910–1916.
- Quesada V, Conde L, Villamor N et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor *SF3B1* gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet* 2011; 44(1): 47–52. doi: 10.1038/ng.1032.
- Puente XS, Pinyol M, Quesada V et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2011; 475(7354): 101–105. doi: 10.1038/nature10113.
- Fabbri G, Rasi S, Rossi D et al. Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of *NOTCH1* mutational activation. *J Exp Med* 2011; 208(7): 1389–1401. doi: 10.1084/jem.20110921.
- Wang L, Lawrence MS, Wan Y et al. *SF3B1* and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2011; 365(26): 2497–2506. doi: 10.1056/NEJMoa1109016.
- D'Arena G, Musto P. Monoclonal B-cell lymphocytosis. *Transl Med UniSa* 2014; 8: 75–79.
- Stilgenbauer S, Sander S, Bullinger L et al. Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia: acquisition of high-risk genomic aberrations associated with unmutated VH, resistance to therapy, and short survival. *Haematologica* 2007; 92(9): 1242–1245.
- Rossi D, Spina V, Deambrogi C et al. The genetics of Richter syndrome reveals disease heterogeneity and predicts survival after transformation. *Blood* 2011; 117(12): 3391–3401. doi: 10.1182/blood-2010-09-302174.
- Ghia P, Stamatopoulos K, Belessi C et al. ERIC recommendations on *IGHV* gene mutational status analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2007; 21(1): 1–3.

16. Thorsélius M, Kröber A, Murray F et al. Strikingly homologous immunoglobulin gene rearrangements and poor outcome in VH3-21-using chronic lymphocytic leukemia patients independent of geographic origin and mutational status. *Blood* 2006; 107(7): 2889–2894.
17. Stamatopoulos K, Belessi C, Moreno C et al. Over 20% of patients with chronic lymphocytic leukemia carry stereotyped receptors: Pathogenetic implications and clinical correlations. *Blood* 2007; 109(1): 259–270.
18. Strefford JC, Sutton LA, Baliakas P et al. Distinct patterns of novel gene mutations in poor-prognostic stereotyped subsets of chronic lymphocytic leukemia: the case of SF3B1 and subset #2. *Leukemia* 2013; 27(11): 2196–2199. doi: 10.1038/leu.2013.98.
19. Baliakas P, Hadzidimitriou A, Sutton LA et al. Recurrent mutations refine prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2015; 29(2): 329–336. doi: 10.1038/leu.2014.196.
20. Wiestner A, Rosenwald A, Barry TS et al. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. *Blood* 2003; 101(12): 4944–4951.
21. Scielzo C, Camporeale A, Geuna M et al. ZAP-70 is expressed by normal and malignant human B-cell subsets of different maturational stage. *Leukemia* 2006; 20(4): 689–695.
22. Rassenti LZ, Huynh L, Toy TL et al. ZAP-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2004; 351(9): 893–901.
23. Deaglio S, Vaisitti T, Aydin S et al. CD38 and ZAP-70 are functionally linked and mark CLL cells with high migratory potential. *Blood* 2007; 110(12): 4012–4021.
24. Quiroga MP, Balakrishnan K, Kurtova AV et al. B-cell antigen receptor signaling enhances chronic lymphocytic leukemia cell migration and survival: specific targeting with a novel spleen tyrosine kinase inhibitor, R406. *Blood* 2009; 114(5): 1029–1037. doi: 10.1182/blood-2009-03-212837.
25. Dal Porto JM, Gauld SB, Merrell KT et al. B cell antigen receptor signaling 101. *Mol Immunol* 2004; 41(6–7): 599–613.
26. Burger JA. Inhibiting B-cell receptor signaling pathways in chronic lymphocytic leukemia. *Curr Hematol Malig Rep* 2012; 7(1): 26–33. doi: 10.1007/s11899-011-0104-z.
27. Mraz M, Chen L, Rassenti LZ et al. miR-150 influences B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia by regulating expression of GAB1 and FOXP1. *Blood* 2014; 124(1): 84–95. doi: 10.1182/blood-2013-09-527234.
28. Binet JL, Auquier A, Dighiero G et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981; 48(1): 198–206.
29. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975; 46(2): 219–234.
30. Jarosova M, Urbankova H, Plachy R et al. Gain of chromosome 2p in chronic lymphocytic leukemia: significant heterogeneity and a new recurrent dicentric rearrangement. *Leuk Lymphoma* 2010; 51(2): 304–313. doi: 10.3109/10428190903518311.
31. Chapiro E, Leporrier N, Radford-Weiss I et al. Gain of the short arm of chromosome 2 (2p) is a frequent recurring chromosome aberration in untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL) at advanced stages. *Leuk Res* 2010; 34(1): 63–68. doi: 10.1016/j.leukres.2009.03.042.
32. Rinaldi A, Mian M, Kwee I et al. Genome-wide DNA profiling better defines the prognosis of chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2011; 154(5): 590–599. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08789.x.
33. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(24): 15524–15529.
34. Klein U, Lia M, Crespo M et al. The DLEU2/miR-15a/16-1 cluster controls B cell proliferation and its deletion leads to chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell* 2010; 17(1): 28–40. doi: 10.1016/j.ccr.2009.11.019.
35. Parker H, Rose-Zerilli MJ, Parker A et al. 13q deletion anatomy and disease progression in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2011; 25(3): 489–497. doi: 10.1038/leu.2010.288.
36. Ouillette P, Erba H, Kujawski L et al. Integrated genomic profiling of chronic lymphocytic leukemia identifies subtypes of deletion 13q14. *Cancer Res* 2008; 68(4): 1012–1021. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-3105.
37. Ouillette P, Collins R, Shakhani S et al. The prognostic significance of various 13q14 deletions in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res* 2011; 17(21): 6778–6790. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0785.
38. Mosca L, Fabris S, Lionetti M et al. Integrative genomics analyses reveal molecularly distinct subgroups of B-cell chronic lymphocytic leukemia patients with 13q14 deletion. *Clin Cancer Res* 2010; 16(23): 5641–5653. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0151.
39. Reddy KS. Chronic lymphocytic leukaemia profiled for prognosis using a fluorescence in situ hybridisation panel. *Br J Haematol* 2006; 132(6): 705–722.
40. Chena C, Avalos JS, Bezares RF et al. Biallelic deletion 13q14.3 in patients with chronic lymphocytic leukemia: cytogenetic, FISH and clinical studies. *Eur J Haematol* 2008; 81(2): 94–99. doi: 10.1111/j.1600-0609.2008.01086.x.
41. Orlandi EM, Bernasconi P, Pascutto C et al. Chronic lymphocytic leukemia with del13q14 as the sole abnormality: dynamic prognostic estimate by interphase-FISH. *Hematol Oncol* 2013; 31(3): 136–142. doi: 10.1002/hon.2032.
42. Matutes E, Oscier D, Garcia-Marco J et al. Trisomy 12 defines a group of CLL with atypical morphology: correlation between cytogenetic, clinical and laboratory features in 544 patients. *Br J Haematol* 1996; 92(2): 382–388.
43. Landau DA, Carter SL, Stojanov P et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell* 2013; 152(4): 714–726. doi: 10.1016/j.cell.2013.01.019.
44. Kienle DL, Korz C, Hosch B et al. Evidence for distinct pathomechanisms in genetic subgroups of chronic lymphocytic leukemia revealed by quantitative expression analysis of cell cycle, activation, and apoptosis-associated genes. *J Clin Oncol* 2005; 23(16): 3780–3792.
45. Marasca R, Maffei R, Martinelli S et al. Clinical heterogeneity of de novo 11q deletion chronic lymphocytic leukaemia: prognostic relevance of extent of 11q deleted nuclei inside leukemic clone. *Hematol Oncol* 2013; 31(2): 88–95. doi: 10.1002/hon.2028.
46. Ouillette P, Li J, Shakhnovich R et al. Incidence and clinical implications of ATM aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51(12): 1125–1132. doi: 10.1002/gcc.21997.
47. Rossi D, Fangazio M, Rasi S et al. Disruption of BIRC3 associates with fludarabine chemorefractoriness in TP53 wild-type chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2012; 119(12): 2854–2862. doi: 10.1182/blood-2011-12-395673.
48. Delgado J, Espinet B, Oliveira AC et al. Chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: a retrospective analysis of prognostic factors and therapy results. *Br J Haematol* 2012; 157(1): 67–74. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.09000.x.
49. Tam CS, Shanafelt TD, Wierda WG et al. De novo deletion 17p13.1 chronic lymphocytic leukemia shows significant clinical heterogeneity: the M. D. Anderson and Mayo Clinic experience. *Blood* 2009; 114(5): 957–964. doi: 10.1182/blood-2009-03-210591.
50. Oscier D, Wade R, Davis Z et al. Prognostic factors identified three risk groups in the LRF CLL4 trial, independent of treatment allocation. *Haematologica* 2010; 95(10): 1705–1712. doi: 10.3324/haematol.2010.025338.
51. Zenz T, Kröber A, Scherer K et al. Monoallelic TP53 inactivation is associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia: results from a detailed genetic characterization with long-term follow-up. *Blood* 2008; 112(8): 3322–3329. doi: 10.1182/blood-2008-04-154070.
52. Rossi D, Khiabani H, Spina V et al. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014; 123(14): 2139–2147. doi: 10.1182/blood-2013-11-539726.
53. Gunnarsson R, Mansouri L, Isaksson A et al. Array-based genomic screening at diagnosis and during follow-up in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2011; 96(8): 1161–1169. doi: 10.3324/haematol.2010.039768.
54. Rudenko HC, Else M, Dearden C et al. Characterising the TP53-deleted subgroup of chronic lymphocytic leukemia: an analysis of additional cytogenetic abnormalities detected by interphase fluorescence in situ hybridisation and array-based comparative genomic hybridisation. *Leuk Lymphoma* 2008; 49(10): 1879–1886. doi: 10.1080/10428190802345902.
55. Haferlach C, Dicker F, Schnittger S et al. Comprehensive genetic characterization of CLL: a study on 506 cases analysed with chromosome banding analysis, interphase FISH, IgV(H) status and immunophenotyping. *Leukemia* 2007; 21(12): 2442–2451.
56. Baliakas P, Iskas M, Gardiner A et al. Chromosomal translocations and karyotype complexity in chronic lymphocytic leukemia: a systematic reappraisal of classic cytogenetic data. *Am J Hematol* 2014; 89(3): 249–255. doi: 10.1002/ajh.23618.
57. Jaglowski SM, Ruppert AS, Heerema NA et al. Complex karyotype predicts for inferior outcomes following reduced-intensity conditioning allogeneic transplant for chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2012; 159(1): 82–87. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09239.x.
58. Thompson PA, O'Brien SM, Wierda WG A et al. Complex karyotype, rather than del(17p), is associated with inferior outcomes in relapsed or refractory CLL patients treated with Ibrutinib-based regimens. *Blood* 2014; 124(21): abstr. doi: 10.1002/cncr.29566.
59. Stephens PJ, Greenman CD, Fu B et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell* 2011; 144(1): 27–40. doi: 10.1016/j.cell.2010.11.055.
60. Rausch T, Jones DT, Zapatka M et al. Genome sequencing of pediatric medulloblastoma links catastrophic DNA rearrangements with TP53 mutations. *Cell* 2012; 148(1–2): 59–71. doi: 10.1016/j.cell.2011.12.013.
61. Korbel JO, Campbell PJ. Criteria for inference of chromothripsis in cancer genomes. *Cell* 2013; 152(6): 1226–1236. doi: 10.1016/j.cell.2013.02.023.
62. Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992; 358(6381): 15–16.
63. Thomas A, El Rouby S, Reed JC et al. Drug-induced apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia: relationship between p53 gene mutation and bcl-2/bax proteins in drug resistance. *Oncogene* 1996; 12(5): 1055–1062.
64. Petitjean A, Mathe E, Kato S et al. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. *Hum Mutat* 2007; 28(6): 622–629.
65. Robles AI, Harris CC. Clinical outcomes and correlates of TP53 mutations and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(3). doi: 10.1101/cshperspect.a001016.
66. Olivier M, Goldgar DE, Sodha N et al. Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. *Cancer Res* 2003; 63(20): 6643–6650.
67. Trbusek M, Smardgar J, Malcikova J et al. Missense mutations located in structural p53 DNA-binding motifs are



- associated with extremely poor survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29(19): 2703–2708. doi: 10.1200/JCO.2011.34.7872.
68. Zenz T, Eichhorst B, Busch R et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28(29): 4473–4479. doi: 10.1200/JCO.2009.27.8762.
69. Malcikova J, Smardova J, Rocnova L et al. Monoallelic and biallelic inactivation of TP53 gene in chronic lymphocytic leukemia: selection, impact on survival, and response to DNA damage. *Blood* 2009; 114(26): 5307–5314. doi: 10.1182/blood-2009-07-234708.
70. Zenz T, Vollmer D, Trbusek M et al. TP53 mutation profile in chronic lymphocytic leukemia: evidence for a disease specific profile from a comprehensive analysis of 268 mutations. *Leukemia* 2010; 24(12): 2072–2079. doi: 10.1038/leu.2010.208.
71. Gonzalez D, Martinez P, Wade R et al. Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial. *J Clin Oncol* 2011; 29(16): 2223–2229. doi: 10.1200/JCO.2010.32.0838.
72. Malcikova J, Stano-Kozubik K, Tichy B et al. Detailed analysis of therapy-driven clonal evolution of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2015; 29(4): 877–885. doi: 10.1038/leu.2014.297.
73. Zenz T, Häbe S, Denzel T et al. Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood* 2009; 114(13): 2589–2597. doi: 10.1182/blood-2009-05-224071.
74. Pospisilova S, Gonzalez D, Malcikova J et al. ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2012; 26(7): 1458–1461. doi: 10.1038/leu.2012.25.
75. Dreger P, Döhner H, Ritgen M et al. Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long-term clinical and MRD results of the German CLL Study Group CLL3X trial. *Blood* 2010; 116(14): 2438–2447. doi: 10.1182/blood-2010-03-275420.
76. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(3): 213–223. doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
77. Shiloh Y, Ziv Y. The ATM protein kinase: regulating the cellular response to genotoxic stress, and more. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14(4): 197–210.
78. Jiang L, Sheikh MS, Huang Y. Decision Making by p53: life versus death. *Mol Cell Pharmacol* 2010; 2(2): 69–77.
79. Taylor AM, Byrd PJ. Molecular pathology of ataxia telangiectasia. *J Clin Pathol* 2005; 58(10): 1009–1015.
80. Guarini A, Marinelli M, Tavoraro S et al. ATM gene alterations in chronic lymphocytic leukemia patients induce a distinct gene expression profile and predict disease progression. *Haematologica* 2012; 97(1): 47–55. doi: 10.3324/haematol.2011.049270.
81. Austen B, Skowronska A, Baker C et al. Mutation status of the residual ATM allele is an important determinant of the cellular response to chemotherapy and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia containing an 11q deletion. *J Clin Oncol* 2007; 25(34): 5448–5457.
82. Austen B, Powell JE, Alvi A et al. Mutations in the ATM gene lead to impaired overall and treatment-free survival that is independent of IGVH mutation status in patients with B-CLL. *Blood* 2005; 106(9): 3175–3182.
83. Skowronska A, Parker A, Ahmed G et al. Biallelic ATM inactivation significantly reduces survival in patients treated on the United Kingdom Leukemia Research Fund Chronic Lymphocytic Leukemia 4 trial. *J Clin Oncol* 2012; 30(36): 4524–4532.
84. Skowronska A, Austen B, Powell JE et al. ATM germline heterozygosity does not play a role in chronic lymphocytic leukemia initiation but influences rapid disease progression through loss of the remaining ATM allele. *Haematologica* 2012; 97(1): 142–146. doi: 10.3324/haematol.2011.048827.
85. Best OG, Gardiner AC, Majid A et al. A novel functional assay using etoposide plus nutlin-3a detects and distinguishes between ATM and TP53 mutations in CLL. *Leukemia* 2008; 22(7): 1456–1459. doi: 10.1038/sj.leu.2405092.
86. Navrkalova V, Sebejova L, Zemanova J et al. ATM mutations uniformly lead to ATM dysfunction in chronic lymphocytic leukemia: application of functional test using doxorubicin. *Haematologica* 2013; 98(7): 1124–1131. doi: 10.3324/haematol.2012.081620.
87. Pettitt AR, Sherrington PD, Stewart G et al. p53 dysfunction in B-cell chronic lymphocytic leukemia: inactivation of ATM as an alternative to TP53 mutation. *Blood* 2001; 98(3): 814–822.
88. Stankovic T, Stewart GS, Fegan C et al. Ataxia telangiectasia mutated-deficient B-cell chronic lymphocytic leukemia occurs in pregerminal center cells and results in defective damage response and unrepaired chromosome damage. *Blood* 2002; 99(1): 300–309.
89. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013; 369(1): 32–42. doi: 10.1056/NEJMoa1215637.
90. Navrkalova V, Raskova Kafkova L, Divoky V et al. Oxidative stress as a therapeutic perspective for ATM-deficient chronic lymphocytic leukemia patients. *Haematologica* 2015; 100(8): 994–996. doi: 10.3324/haematol.2015.130260.
91. Calin GA, Ferracin M, Cimmino A et al. A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2005; 353(17): 1793–1801.
92. Zenz T, Mohr J, Eldering E et al. miR-34a as part of the resistance network in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009; 113(16): 3801–3808. doi: 10.1182/blood-2008-08-172254.
93. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(39): 13944–13949.
94. Fabbri M, Bottoni A, Shimizu M et al. Association of a microRNA/TP53 feedback circuitry with pathogenesis and outcome of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *JAMA* 2011; 305(1): 59–67. doi: 10.1001/jama.2010.1919.
95. Li S, Moffett HF, Lu J et al. MicroRNA expression profiling identifies activated B cell status in chronic lymphocytic leukemia cells. *PLoS One* 2011; 6(3): doi: 10.1371/journal.pone.0016956.
96. Cui B, Chen L, Zhang S et al. MicroRNA-155 influences B-cell receptor signaling and associates with aggressive disease in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014; 124(4): 546–554.
97. Stilgenbauer S, Schnaiter A, Paschka P et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood* 2014; 123(21): 3247–3254. doi: 10.1182/blood-2014-01-546150.
98. Oscier DG, Rose-Zerilli MJ, Winkelmann N et al. The clinical significance of NOTCH1 and SF3B1 mutations in the UK LRF CLL4 trial. *Blood* 2013; 121(3): 468–475. doi: 10.1182/blood-2012-05-429282.
99. Rossi D, Brusca G, Spina V et al. Mutations of the SF3B1 splicing factor in chronic lymphocytic leukemia: association with progression and fludarabine-refractoriness. *Blood* 2011; 118(26): 6904–6908. doi: 10.1182/blood-2011-08-373159.
100. Weissmann S, Roller A, Jeromin S et al. Prognostic impact and landscape of NOTCH1 mutations in chronic lymphocytic leukemia (CLL): a study on 852 patients. *Leukemia* 2013; 27(12): 2393–2396. doi: 10.1038/leu.2013.218.
101. Rossi D, Rasi S, Spina V et al. Integrated mutational and cytogenetic analysis identifies new prognostic subgroups in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2013; 121(8): 1403–1412. doi: 10.1182/blood-2012-09-458265.
102. Wahl MC, Will CL, Lüthmann R. The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine. *Cell* 2009; 136(4): 701–718. doi: 10.1016/j.cell.2009.02.009.
103. Mansouri L, Grabowski P, Degerman S et al. Short telomere length is associated with NOTCH1/SF3B1/TP53 aberrations and poor outcome in newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia patients. *Am J Hematol* 2013; 88(8): 647–651. doi: 10.1002/ajh.23466.
104. Paulsen RD, Soni DV, Wollman R et al. A genome-wide siRNA screen reveals diverse cellular processes and pathways that mediate genome stability. *Mol Cell* 2009; 35(2): 228–239. doi: 10.1016/j.molcel.2009.06.021.
105. Te Raa GD, Derks IA, Navrkalova V et al. The impact of SF3B1 mutations in CLL on the DNA-damage response. *Leukemia* 2015; 29(5): 1133–1142. doi: 10.1038/leu.2014.318.
106. Weng AP, Ferrando AA, Lee W et al. Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science* 2004; 306(5694): 269–271.
107. Rossi D, Rasi S, Fabbri G et al. Mutations of NOTCH1 are an independent predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2012; 119(2): 521–529. doi: 10.1182/blood-2011-09-379966.
108. Conze DB, Zhao Y, Ashwell JD. Non-canonical NF-κB activation and abnormal B cell accumulation in mice expressing ubiquitin protein ligase-inactive c-IAP2. *PLoS Biol* 2010; 8(10). doi: 10.1371/journal.pbio.1000518.
109. Rose-Zerilli MJ, Forster J, Parker H et al. ATM mutation rather than BIRC3 deletion and/or mutation predicts reduced survival in 11q-deleted chronic lymphocytic leukemia: data from the UK LRF CLL4 trial. *Haematologica* 2014; 99(4): 736–742. doi: 10.3324/haematol.2013.098574.
110. Schuh A, Becq J, Humphray S et al. Monitoring chronic lymphocytic leukemia progression by whole genome sequencing reveals heterogeneous clonal evolution patterns. *Blood* 2012; 120(20): 4191–4196. doi: 10.1182/blood-2012-05-433540.
111. Ouillette P, Saiya-Cork K, Seymour E et al. Clonal evolution, genomic drivers, and effects of therapy in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res* 2013; 19(11): 2893–2904. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0138.
112. Damm F, Mylonas E, Cosson A et al. Acquired initiating mutations in early hematopoietic cells of CLL patients. *Cancer Discov* 2014; 4(9): 1088–1101. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0104.
113. Kikushige Y, Ishikawa F, Miyamoto T et al. Self-renewing hematopoietic stem cell is the primary target in pathogenesis of human chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell* 2011; 20(2): 246–259. doi: 10.1016/j.ccr.2011.06.029.
114. Rawstron AC, Bennett FL, O'Connor SJ et al. Monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2008; 359(6): 575–583. doi: 10.1056/NEJMoa075290.
115. Chigrinova E, Rinaldi A, Kwee I et al. Two main genetic pathways lead to the transformation of chronic lymphocytic leukemia to Richter syndrome. *Blood* 2013; 122(15): 2673–2682. doi: 10.1182/blood-2013-03-489518.
116. Puiggros A, Blanco G, Espinet B. Genetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia: where we are and where we go. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 435983. doi: 10.1155/2014/435983.
117. Gaidano G, Foà R, Dalla-Favera R. Molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest* 2012; 122(10): 3432–3438. doi: 10.1172/JCI64101.



# Význam minimální zbytkové nemoci u chronické lymfocytární leukemie

## Significance of Minimal Residual Disease in Chronic Lymphocytic Leukemia

Doubek M.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno  
CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU, Brno

### Souhrn

S příchodem nových a vysoce účinných léčebných postupů do terapie chronické lymfocytární leukemie nabývá na významu analýza minimální reziduální nemoci. Minimální reziduální nemoc získává u chronické lymfocytární leukemie význam jako prediktivní faktor, nicméně její důležitost je v mnoha klinických situacích stále nejasná. Rolí minimální reziduální nemoci ovlivňují především tyto faktory: metoda použitá k detekci minimální reziduální nemoci, léčebný režim, vyšetření z periferní krve vs. kostní dřeně nebo časový bod, kdy byl proveden odběr vzorku na analýzu minimální reziduální nemoci. Vysoce senzitivní metody, které dnes ke kvantifikaci minimální reziduální nemoci používáme, dosahují citlivosti  $10^{-4}$ – $10^{-5}$ . Jde o metody ASO-PCR (allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction) a vícebarevnou průtokovou cytometrii. Postavení minimální reziduální nemoci v běžné hematologické praxi není bohužel stále ještě jasně definováno.

### Klíčová slova

chronická lymfocytární leukemie – minimální reziduální nemoc – prognostické faktory – průtoková cytometrie – přežití bez progresse

### Summary

Newly introduced highly effective treatment options increase the importance of minimal residual disease measurement in chronic lymphocytic leukemia. Minimal residual disease is gaining interest mainly as a predictive marker; however, clinical significance of minimal residual disease in chronic lymphocytic leukemia in many different situations remains unresolved. Factors with a possible impact on the clinical significance of minimal residual disease are as follows: technique for minimal residual disease quantification, treatment regimen, peripheral blood vs. bone marrow analysis or time-point for sampling. Highly sensitive methods now available to evaluate minimal residual disease can detect a single chronic lymphocytic leukemia cell in  $10^{-4}$ – $10^{-5}$  leukocytes using either allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction or multicolor flow cytometry. Minimal residual disease quantification as a surrogate marker to assess treatment efficacy in routine hematological practice has to be further evaluated.

### Key words

chronic lymphocytic leukemia – minimal residual disease – prognostic factors – flow cytometry – progression-free survival

Autor deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá žádné komerční zájmy.

The author declare he has no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.  
Interní hematologická  
a onkologická klinika  
LF MU a FN Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: mdoubek@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 29. 7. 2015  
Přijato/Accepted: 4. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153S16>

## Úvod

Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je stále i přes značné pokroky v určení prognózy nemoci a pokroky v její terapii v posledních 15 letech považována za nevléčitelné onemocnění, tedy s výjimkou alogenní transplantace krvetvorných buněk [1]. Ale i přesto se ukazuje, že nové možnosti léčby, především nové typy kombinované chemoimunoterapie, dokáží u nemocných s CLL navodit hlubokou léčebnou odpověď. Čím větší masu maligních buněk se podaří odstranit, tím větší je pravděpodobnost prodloužené doby do progresu nemoci (progression-free survival – PFS) a celkového přežití (overall survival – OS).

K detekci reziduálních leukemických buněk (minimální reziduální nemoc – MRN) u nemocných s výbornou léčebnou odpovědí je zapotřebí použít citlivé metody. Zatím ale není zcela jasné, zda i u CLL bude detekce MRN tak významná, jako je tomu v případě akutní promyelocytární leukemie [2,3], akutní lymfoblastické leukemie [4,5], akutní myeloidní leukemie [6] a samozřejmě chronické myeloidní leukemie [7]. Jisté je, že eradikace MRN je nezbytnou podmínkou pro vyléčení hematologické malignity, nicméně každá negativita MRN se automaticky nerovná vyléčení, což

je u CLL zřejmější snad ještě více než u ostatních leukemií (graf 1) [8–11].

Podrobně se sledování MRN u CLL věnuje řada prací, včetně českých [12]. V roce 2010 byl k tomuto tématu publikován zevrubný přehled pražských autorů [13]. Tato práce si klade za cíl na přehled pražských autorů navázat předložením nových poznatků o postavení detekce MRN u CLL. Stále totiž v této oblasti není jasno. Základní otázka, která se týká MRN u CLL, zní i v dnešní době značných pokroků v oblasti biologie a léčby CLL takto: Má léčba CLL směřovat k eradikaci MRN? A pokud ano, v jakých případech?

## Metody detekce MRN u CLL

Ke zjištění MRN u CLL je zapotřebí metod, které jsou citlivější než konvenční cytologie, histologie či základní analýza průtokovou cytometrií.

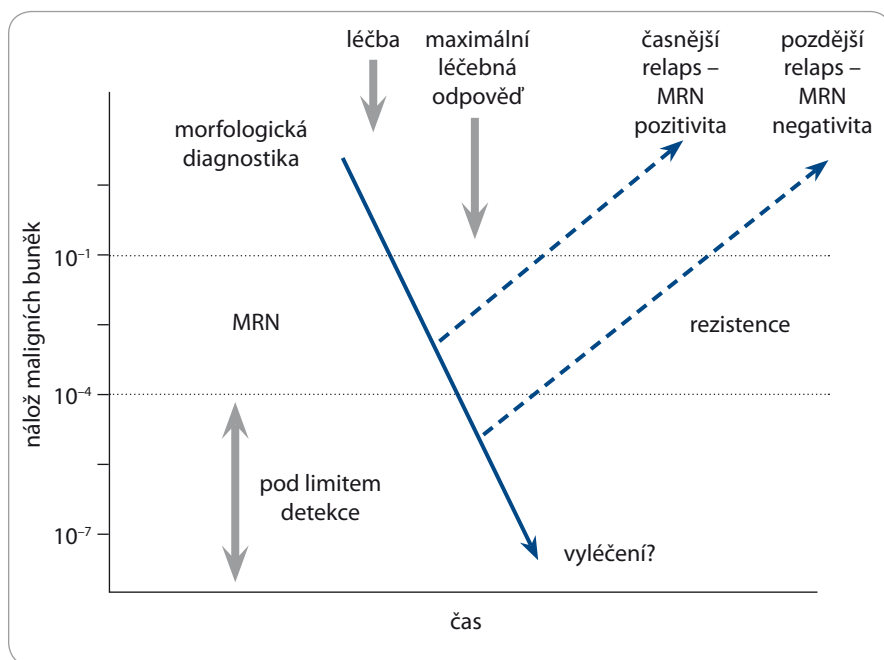
V současné době jsou ke sledování MRN u CLL využívány tyto metody: ASO-PCR (allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction) s primery individuálně navrženými pro každého pacienta a průtoková cytometrie [14–18]. Dříve používané polymerázové řetězové reakce (PCR) s využitím konsenzuálních (consensus, univerzálních) primerů k určení klonality

IgH řetězců se pro nízkou senzitivitu již nepoužívá [13]. Vzhledem k absenci specifického molekulárně genetického markeru (jaké představují např. fúzní geny či mutace genů akutní myeloidní leukemie, chronické myeloidní leukemie nebo akutní promyelocytární leukemie) nemohou být tyto aberace ke sledování MRN u CLL využity. Metody sledování MRN u CLL jsou v podstatě shodné s metodami používanými pro detekci MRN u akutní lymfoblastické leukemie [5].

## Průtoková cytometrie

Průtokovou cytometrií (FCM) byly původně CLL buňky identifikovány jen na základě koexpresy znaků CD5 a CD19 [19]. Toto vyšetření je ale značně nepřesné [14]. Velmi citlivou detekci MRN může poskytnout analýza čtyřbarevnou FCM, která umožní detekovat jednu nádorovou buňku až z  $10^4$ – $10^5$  leukocytů [16,17]. Pracovní skupina ERIC (Evropská výzkumná iniciativa pro CLL) navrhla čtyřbarevné kombinace monoklonálních protilátek umožňující identifikaci CLL buněk s limitem detekce 0,01 % z leukocytů pro CLL s typickým imunofenotypem (přesnost 96,7 %, senzitivita 91,1 % a specifická 98,8 %). Předpokladem k dosažení uvedených parametrů je ale naměření dostatečného počtu událostí (500 000 leukocytů na zkumavku) a důkladná znalost charakteristiky „gataných“ populací CLL buněk umožňující správné vyhodnocení [16]. Srovnatelných výsledků lze dosáhnout při užití doporučených klonů jednotlivých monoklonálních protilátek. Antigeny, proti kterým jsou monoklonální protilátky při testování MRN pomocí čtyřbarevné FCM namířeny, ukazuje tab. 1. Ve snaze snížit pracnost a časovou náročnost prováděného vyšetření byl opět z popudu ERIC zveřejněn standardizovaný přístup ke sledování MRN pomocí šestibarevné FCM [17] a v současné době se pracuje na přípravě publikace o sledování MRN pomocí osmibarevné FCM (odesláno k publikování, osobní komunikace).

Osmibarevnou FCM detekci MRN u CLL navrhlo rovněž brněnské pracoviště [18]. Osmibarevná FCM měla 100% shodu se čtyřbarevnou FCM a silně korelovala rovněž s výsledky ASO-PCR v reálném čase ( $r = 0,94$ ).



Graf 1. Schéma chování MRN po léčbě CLL.

MRN – minimální reziduální nemoc, CLL – chronická lymfocytární leukemie

Výsledkem FCM analýzy je stanovení procenta CLL buněk z leukocytů s uvedením limitu detekce pro dané měření (podstatné zejména u MRN negativních výsledků).

Největšími výhodami sledování MRN pomocí FCM jsou rychlost vyšetření, fakt, že pro vyšetření není nutné mít vstupní vzorek pacienta (znalost vstupního imunofenotypu je ale vhodná především u pacientů s atypickým imunofenotypem), a to, že metodiku lze s minimálními úpravami aplikovat na jakýkoliv průtokový cytometr s možností vícebarevné analýzy.

### Polymerázová řetězová reakce

Technika detekce MRN pomocí konsenzuálních primerů pro jednotlivé IgVH rodiny má relativně nízkou senzitivitu ( $10^{-3}$ ) a je považována za překonanou [13]. Díky sekvenčnímu vyšetření přestavby *IgVH* (gen pro těžký řetězec imunoglobulinů) identifikované při diagnóze však máme možnost sledovat reziduální maligní populaci s vysokou senzitivitou a specifičností pomocí individuálních, pacient-specifických primerů (ASO-PCR). Příprava esej je založena na navržení klon-specifických primerů a vyklonování standardu, který je v průběhu času používán k přesné kalibraci esej. Každou esej je nutné před použitím otestovat pro detekční limit senzitivity [12,13,20]. Použije-li se jako templát DNA, dosahuje senzitivita analýzy MRN hodnoty  $10^{-4}$ , což odpovídá senzitivě detekce MRN pomocí FCM. Při použití RNA (cDNA) jako templátu lze senzitivitu detekce MRN zvýšit až o 3–4 řády. Nevýhodou práce s RNA je ale fragilita této molekuly s nutností rychlejšího transportu do laboratoře. Detaily molekulárně genetické analýzy byly popsány v řadě publikací [20,21].

Samozřejmou součástí analýzy MRN pomocí FCM či PCR je kontrola kvality (vzájemné korelace, mezilaboratorní kontroly s výměnou vzorků, optimalizace vyhodnocování již naměřených dat v případě FCM).

### Klinický význam sledování MRN u CLL

#### Výsledky klinických studií

O významu dosažení MRN negativity u CLL pro prodloužení PFS nás informuje

**Tab. 1. Antigeny, proti kterým jsou namířeny monoklonální protilátky při testování MRN pomocí čtyřbarevné průtokové cytometrie [16].**

Zkumavka	Antigeny			
1	slgλ	slgκ	CD19	CD5
2	CD45	CD14	CD19	CD5
3	CD20	CD38	CD19	CD5
4	CD81	CD22	CD19	CD5
5	CD43	CD79b	CD19	CD5

už práce z roku 2003, v níž bylo dokumentováno, že konsolidace alemtuzumabem vede k navození negativy MRN u 38 % pacientů a PFS nemoci u těchto nemocných je významně delší než PFS u pacientů s přetrvávající MRN pozitivitou [22]. Ke stejným výsledkům dospěly i další studie používající alemtuzumab v konsolidační léčbě CLL [23,24]. Studie Montilla et al prokázala navíc význam negativy MRN pro prodloužení OS [24]. Rovněž rituximab přidáný k léčbě CLL jako maintenance vedl k navýšení počtu negativit MRN [25,26]. Přidání rituximabu do udržovací terapie CLL vedlo k dosažení 70 % MRN negativních remisí. U MRN negativních pacientů pak bylo zjištěno delší PFS (77 vs. 36 % ve 2,5 letech) a dokonce i OS (89 vs. 72 % ve 3 letech) [25].

V rámci klinických studií s novými kombinacemi chemoimunoterapie, novými monoklonálními protilátkami či novými léky jako jsou inhibitory signálních drah B buněčného receptoru (BCR signalizace) je analýza MRN prováděna v současné době téměř rutinně. Seznam vybraných studií [27–33], u nichž bylo prováděno měření MRN, podává tab. 2.

Uvedené klinické studie [27–33] ukazují, že MRN negativita bývá daleko častěji dosahována u nemocných léčených chemoimunoterapií než u nemocných léčených novými inhibitory BCR signalizace, ať již v monoterapii nebo v kombinaci s rituximabem. Nemocní léčení inhibitory BCR signalizace v monoterapii dosahují především parciálních remisí. V případě použití ibrutinibu, jednoho z inhibitorů BCR signalizace, v monoterapii dochází navíc u pacientů s CLL k lymfocytóze, která hodnocení MRN může komplikovat [34]. Je ale pravda, že

výsledky těchto studií nelze dobře srovnávat (soubory pacientů jsou odlišné, dávkování a terapeutická schémata jsou naprosto rozdílná, hodnocení léčebné odpovědi je prováděno v jiných časových intervalech a měření MRN využívá různých metod).

Senzitivita MRN je vyšší při vyšetření kostní dřeně ve srovnání s periferní krví [27], většina hodnocení MRN v běžné praxi ale probíhá z periferní krve.

### Allogenní transplantace

I přes povzbuzující data uvedená výše má i v současné běžné hematologické praxi analýza MRN u CLL nezpochybnitelné místo jen u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk [1,35–37]. Alogenní transplantace představuje v současné době jediný potenciálně kurativní přístup k léčbě CLL a jejím prostřednictvím lze dosáhnout dlouhodobého vymizení MRN dokonce u pacientů s nežádoucími prognostickými znaky [1,35–37]. Na základě nové pozitivní MRN po alogenní transplantaci krvetvorných buněk lze indikovat léčbu již v případě tohoto počínajícího relapsu, což je rozdíl oproti konvenčně léčeným pacientům, u nichž se relapsy detekované na základě MRN neléčí (neléčí se ani hematologické relapsy, nesplňují-li standardní kritéria zahájení terapie) [38,39].

### Význam měření MRN u CLL pro běžnou praxi

Doporučený postup pro diagnostiku a terapii CLL Mezinárodní pracovní skupiny pro CLL (International Workshop on CLL) zatím neuvádí měření MRN jako nutnou podmínku hodnocení léčebné

Tab. 2. Vybrané klinické studie, u nichž bylo prováděno měření MRN.

Režim	Studie	Kohorta pacientů (n)	ORR (CR)	MRN negativita (periferní krev)	Metoda měření MRN	Medián PFS
FCR (fludarabin; cyklofosfamid; rituximab) a FC (fludarabin; cyklofosfamid)	fáze III; 1. linie; Böttcher et al 2012 [27]	493	95 % (44 %) – FCR	63 % u FCR (MRN pod $10^{-4}$ ); 35 % u FC (MRN pod $10^{-4}$ )	4barevná FCM	68,7 měsíce pro pacienty s MRN pod $10^{-4}$ a 15,4 měsíce pro MRN nad $10^{-2}$
BR (bendamustin; rituximab)	fáze II; 1. linie; Fischer et al 2012 [28]	117 (MRN analyzována u 45)	88 % (23,1 %)	57,8 % (MRN pod $10^{-4}$ )	4barevná FCM	32,4 měsíce (event-free survival) u MRN pod $10^{-4}$ a 11,8 měsíce pro MRN nad $10^{-4}$
rituximab + chlorambucil	fáze III; 1. linie; Goede et al 2014 [29]	233	65,9 % (8,3 %)	3,3 %	ASO-PCR	16,3 měsíce (celá skupina)
obinutuzumab + chlorambucil	fáze III; 1. linie; Goede et al 2014 [29]	238	75,5 % (22,2 %)	37,7 %	ASO-PCR	26,7 měsíce (celá skupina)
ofatumumab + chlorambucil	fáze III; 1. linie; Hillmen et al 2015 [30]	226 (MRN analyzována u 167)	82 % (13 %)	8 %	4barevná FCM	22,4 měsíce (celá skupina)
alemtuzumab	fáze III; 1. linie; Hillmen et al 2007 [31]	149	83 % (24 %)	7,4 %	4barevná FCM	14,6 měsíce (celá skupina); PFS ve 2 letech 60 % (MRN pozitivní) a 85 % (MRN negativní)
ofatumumab + dexamethason	fáze II; relabovaná a refrakterní CLL; Doubek et al 2015 [32]	33	67 % (15 %)	3 %	8barevná FCM	10 měsíců (celá skupina)
rituximab + ibrutinib	fáze II; relabovaná a refrakterní CLL; Burger et al 2014 [33]	40	87 % (8 %)	2,5 %	4barevná FCM	medián času do dosažení léčebné odpovědi 5,72 měsíce; medián trvání odpovědi 15,44 měsíce

MRN – minimální reziduální nemoc, ASO-PCR – allele-specific oligonucleotide-PCR, CR – kompletní remise, FCM – průtoková cytometrie, ORR – celková léčebná odpověď, PFS – přežití bez progresu, CLL – chronická lymfocytární leukemie

odpovědi, avšak doporučují zařadit sledování MRN do klinických studií, jejichž cílem je dosáhnout co nejlubší a nejdéle trvající léčebné odpovědi, a samozřejmě použít ke sledování MRN po alogenní transplantaci [40].

V současné době je ale již nezpochybnitelné, že dosažení negativy MRN je příznivý nezávislý prediktivní faktor CLL (alespoň co se týká PFS). Aktuálně je ve schvalovacím procesu doporučení Evropské lékové agentury (EMA), který umožní v rámci klinických studií využití měření MRN jako náhradní cíl místo sledování PFS, což může významně zrychlit proces klinického hodnocení. Není však

dořešena otázka, zda velký selekční tlak, který vyvíjíme s cílem dosáhnout MRN negativy u většiny nemocných, nevede rovněž k selekci malignějších klonů nemoci, a tedy i k daleko agresivnějšímu a obtížněji léčitelnému průběhu následného relapsu onemocnění [41]. Navíc toxicita intenzivnější terapie může být rovněž nezanedbatelná [23,24].

Česká skupina pro chronickou lymfocytární leukemii i Česká leukemická skupina pro život proto v současnosti vydávají následující doporučení, které se týká MRN u CLL: Sledování MRN v periferní krvi či kostní dřeni metodami s citlivostí minimálně  $10^{-4}$  (pomocí FCM

nebo ASO-PCR) je vhodné zvážit u nemocných léčených intenzivní léčbou (např. kombinované fludarabinové režimy, alemtuzumab, režimy s novými monoklonálními protilátkami a alogenní transplantace). Dosud se nejedná o vyšetření povinné, ale význam MRN v budoucnu pravděpodobně výrazně vzroste. Vhodné je především u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk [38,39].

### Závěr

Na základě výše uvedených informací je možné otázku analýzy MRN u CLL shrnout následovně:



1. Dosažení MRN negativity u CLL je možné, a to nejen po alogenní transplantaci krvetvorných buněk.
2. Vyšetření MRN z kostní dřevě má větší senzitivitu než z periferní krve.
3. MRN negativita je častěji dosahováno pomocí chemoimunoterapie než s využitím nových molekul, jako jsou inhibitory BCR signalizace [33,42], zatím ale není jasné, bude-li mít tento fakt nějaký význam pro osud nemocných a běžnou klinickou praxi.
4. Řada prací ukazuje, že dosažení MRN negativity prodlužuje nemocným PFS (dle některých menších prací i OS). MRN tak může být použito jako další prediktivní marker u CLL.
5. Na druhou stranu nová MRN pozitivita po předešlé negativitě se u pacientů s CLL neléčí (s výjimkou pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk), a tak pravidelné měření MRN po terapii nepřináší nemocným v běžné hematologické praxi zatím žádnou výhodu.
6. Dosud není dořešena otázka, zda snaha po co nejvyšším procentu dosažených MRN negativit pomocí intenzivní terapie nepovede také ke zvýšení tlaku, jenž bude mít za následek daleko větší selekci malignější klonů CLL, a tedy daleko agresivnější průběh relapsu nemoci po takovéto léčbě.

## Literatura

1. Krejčí M, Doubek M, Brychtová Y et al. Fludarabine with cytarabine followed by reduced-intensity conditioning and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with poor-risk chronic lymphocytic leukemia. *Ann Hematol* 2013; 92(2): 249–254. doi: 10.1007/s00277-012-1579-y.
2. Gallagher RE, Yeap BY, Bi W et al. Quantitative real-time RT-PCR analysis of PML-RAR alpha mRNA in acute promyelocytic leukemia: assessment of prognostic significance in adult patients from intergroup protocol 0129. *Blood* 2003; 101(7): 2521–2528.
3. Diverio D, Rossi V, Avvisati G et al. Early detection of relapse by prospective reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of the PML/RARalpha fusion gene in patients with acute promyelocytic leukemia enrolled in the GIMEMA-AIEOP multicenter „AIDA“ trial. *GIMEMA-AIEOP Multicenter „AIDA“ Trial. Blood* 1998; 92(3): 784–789.
4. Zhou J, Goldwasser MA, Li A et al. Quantitative analysis of minimal residual disease predicts relapse in children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia in DFCI ALL Consortium Protocol 95–01. *Blood* 2007; 110(5): 1607–1611.
5. Šálek C, Folber F, Froňková E et al. Early MRD response as a prognostic factor in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol*. In press 2015. doi: 10.1111/ejh.12587.
6. Doubek M, Palasek I, Pospisil Z et al. Detection and treatment of molecular relapse in acute myeloid leukemia with RUNX1 (AML1), CBFB, or MLL gene translocations: frequent quantitative monitoring of molecular markers in different compartments and correlation with WT1 gene expression. *Exp Hematol* 2009; 37(6): 659–672. doi: 10.1016/j.exphem.2009.03.004.
7. Hochhaus A, Reiter A, Saussele S et al. Molecular heterogeneity in complete cytogenetic responders after interferon-alpha therapy for chronic myelogenous leukemia: low levels of minimal residual disease are associated with continuing remission. *German CML Study Group and the UK MRC CML Study Group. Blood* 2000; 95(1): 62–66.
8. Bosch F, Ferrer A, López-Guillermo A et al. Fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone in the treatment of resistant or relapsed chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2002; 119(4): 976–984.
9. Rawstron AC, Kennedy B, Evans PA et al. Quantitation of minimal disease levels in chronic lymphocytic leukemia using a sensitive flow cytometric assay improves the prediction of outcome and can be used to optimize therapy. *Blood* 2001; 98(1): 29–35.
10. Moreton P, Kennedy B, Lucas G et al. Eradication of minimal residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival. *J Clin Oncol* 2005; 23(13): 2971–2979.
11. Wierda W, O'Brien S, Wen S et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005; 23(18): 4070–4078.
12. Skuhrová Francová H, Tichý B, Malinová K et al. Stanovení minimální zbytkové nemoci u B-buněčné chronické lymfocytární leukemie: možnosti a vývoj metodických přístupů založených na PCR a RQ-PCR. *Transfuzie Hematol Dnes* 2009; 15: 197–203.
13. Bezdičková L, Špaček M, Peková S Kozák T. Minimální reziduální nemoc u chronické lymfocytární leukemie: metody stanovení a klinický význam. *Transfuzie Hematol dnes* 2010; 16 (Suppl 1): 97–101.
14. Rawstron AC, Kennedy B, Evans PA et al. Quantitation of minimal disease levels in chronic lymphocytic leukemia using a sensitive flow cytometric assay improves the prediction of outcome and can be used to optimize therapy. *Blood* 2001; 98(1): 29–35.
15. Böttcher S, Ritgen M, Pott C et al. Comparative analysis of minimal residual disease detection using four-color flow cytometry, consensus IgH-PCR, and quantitative IgH PCR in CLL after allogeneic and autologous stem cell transplantation. *Leukemia* 2004; 18(10): 1637–1645.
16. Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia* 2007; 21(5): 956–964.
17. Rawstron AC, Böttcher S, Letestu R et al. Improving efficiency and sensitivity: European Research Initiative in CLL (ERIC) update on the international harmonised approach for flow cytometric residual disease monitoring in CLL. *Leukemia* 2013; 27(1): 142–149. doi: 10.1038/leu.2012.216.
18. Stehlíková O, Chovancová J, Tichý B et al. Detecting minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia using 8-color flow cytometry protocol in routine hematological practice. *Int J Lab Hematol* 2014; 36(2): 165–171. doi: 10.1111/ijlh.12149.
19. Vuillier F, Claisse JF, Vandenvelde C et al. Evaluation of residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients in clinical and bone-marrow remission using CD5–CD19 markers and PCR study of gene rearrangements. *Leuk Lymphoma* 1992; 7(3): 195–204.
20. Peková S, Bezdičková L, Smolej L et al. Quantitation of minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia using locked nucleic acid-modified, fluorescently labeled hybridization probes and real-time PCR technology. *Mol Diagn Ther* 2007; 11(5): 325–335.
21. Karkare S, Bhatnagar D. Promising nucleic acid analogs and mimics: characteristic features and applications of PNA, LNA, and morpholino. *Appl Microbiol Biotechnol* 2006; 71(5): 575–586.
22. O'Brien SM, Kantarjian HM, Thomas DA et al. Alemtuzumab as treatment for residual disease after chemotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2003; 98(12): 2657–2663.
23. Wendtner CM, Ritgen M, Schweighofer CD et al. German CLL Study Group (GCLLSG). Consolidation with alemtuzumab in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) in first remission – experience on safety and efficacy within a randomized multicenter phase III trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Leukemia* 2004; 18(6): 1093–1101.
24. Montillo M, Tedeschi A, Miqueleiz S et al. Alemtuzumab as consolidation after a response to fludarabine is effective in purging residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2006; 24(15): 2337–2342.
25. Del Poeta G, Del Principe MI, Consalvo MA et al. The addition of rituximab to fludarabine improves clinical outcome in untreated patients with ZAP-70-negative chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2005; 104(12): 2743–2752.
26. Del Poeta G, Del Principe MI, Buccisano F et al. Consolidation and maintenance immunotherapy with rituximab improve clinical outcome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2008; 112(1): 119–128.
27. Böttcher S, Ritgen M, Fischer K et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate analysis from the randomized GCLLSG CLL8 trial. *J Clin Oncol* 2012; 30(9): 980–988. doi: 10.1200/JCO.2011.36.9348.
28. Fischer K, Cramer P, Busch R et al. Bendamustine in combination with rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J Clin Oncol* 2012; 30(26): 3209–3216. doi: 10.1200/JCO.2011.39.2688.
29. Goede V, Fischer K, Busch R et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370(12): 1101–1110. doi: 10.1056/NEJMoa1313984.
30. Hillmen P, Robak T, Janssens A et al. Chlorambucil plus ofatumumab versus chlorambucil alone in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukaemia (COMPLEMENT 1): a randomised, multicentre, open-label phase 3 trial. *Lancet* 2015; 385(9980): 1873–1883. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60027-7.
31. Hillmen P, Skotnicki AB, Robak T et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2007; 25(35): 5616–5623.
32. Doubek M, Brychtová Y, Panovska A et al. Ofatumumab added to dexamethasone in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: results from a phase II study. *Am J Hematol* 2015; 90(5): 417–421. doi: 10.1002/ajh.23964.
33. Burger JA, Keating MJ, Wierda WG et al. Safety and activity of ibrutinib plus rituximab for patients with high-risk chronic lymphocytic leukaemia: a single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2014; 15(10): 1090–1099. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70335-3.
34. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(3): 213–223. doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
35. Esteve J, Villamor N, Colomer D et al. Stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: different outcome after autologous and allogeneic transplantation and correlation with minimal residual disease status. *Leukemia* 2001; 15(3): 445–451.

36. Ritgen M, Stilgenbauer S, von Neuhoff N et al. Graft-versus-leukemia activity may overcome therapeutic resistance of chronic lymphocytic leukemia with unmutated immunoglobulin variable heavy-chain gene status: implications of minimal residual disease measurement with quantitative PCR. *Blood* 2004; 104(8): 2600–2602.
37. Moreno C, Villamor N, Colomer D et al. Clinical significance of minimal residual disease, as assessed by different techniques, after stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2006; 107(11): 4563–4569.
38. Smolej L, Doubek M, Špaček M et al. Doporučení pro diagnostiku a léčbu chronické lymfocytární leukémie (CLL). *Transf Hematol dnes* 2013; 19: 61–68.
39. Doubek M, Mayer J (eds). *Postupy diagnostiky a léčby leukemií a jejich infekčních komplikací u dospělých pacientů. Doporučení České leukemické skupiny – pro život (CELL)*. 2. vyd. Brno: Česká leukemická skupina – pro život: 162.
40. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL) updating the National Cancer Institute-Working Group (NCCN) 1996 guidelines. *Blood* 2008; 111(12): 5446–5456. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906.
41. Panovská A, Smolej L, Lysák D et al. The outcome of chronic lymphocytic leukemia patients who relapsed after fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab. *Eur J Haematol* 2013; 90(6): 479–485. doi: 10.1111/ejh.12106.
42. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 370(11): 997–1007. doi: 10.1056/NEJMoa1315226.

# Monoklonální protilátky v léčbě chronické lymfocytární leukemie v roce 2015

## Monoclonal Antibodies in the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia in 2015

Obtřlíková P.<sup>1</sup>, Urbanová R.<sup>2</sup>

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

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

### Souhrn

Kombinace chemoterapie s monoklonálními protilátkami je nyní základ v léčbě chronické lymfocytární leukemie. Rituximab, nejrozšířenější anti-CD20 protilátka užívaná v běžné klinické praxi, vedla v kombinaci s fludarabinem a cyklofosfamidem u dosud neléčených pacientů v dobrém celkovém stavu nejen k zlepšení přežití bez progresu, ale i ke zlepšení celkového přežití. Tento režim se stal standardem léčby nemocných v dobrém fyzickém stavu. Rituximab i nejnovější anti-CD20 protilátka obinutuzumab v kombinaci s chlorambucilem prodloužily celkové přežití ve srovnání s monoterapií chlorambucilem u dosud neléčených pacientů s významnými přidruženými onemocněními. Kombinace anti-CD20 protilátky s chlorambucilem se tak stala standardním režimem v této skupině pacientů. Alemtuzumab a ofatumumab zlepšily výsledky léčby u refrakterní chronické lymfocytární leukemie. Cílená léčba pomocí kombinace chemoterapie a monoklonálních protilátek u nemocných s chronickou lymfocytární leukemií představuje významný pokrok v léčbě tohoto onemocnění.

### Klíčová slova

monoklonální protilátka – rituximab – ofatumumab – alemtuzumab – obinutuzumab

### Summary

Chemotherapy combinations with monoclonal antibodies are now the basis for treatment of chronic lymphocytic leukemia. Rituximab, the most widely used anti-CD20 antibody in routine clinical practice, led not only to improvement of progression-free survival, but also to improvement of overall survival in previously untreated patients with good performance status in combination with fludarabine and cyclophosphamide. This regimen has become the standard treatment for patients in good physical condition. Rituximab and the newest anti-CD20 antibody obinutuzumab in combination with chlorambucil, as compared with chlorambucil alone, prolonged overall survival in previously untreated patients with significant comorbidities, and the combination of anti-CD20 antibody with chlorambucil has become the standard regimen in this group of patients. Alemtuzumab and ofatumumab improved treatment results in refractory chronic lymphocytic leukemia. Targeted therapy with combination chemotherapy and monoclonal antibody in patients with chronic lymphocytic leukemia represents a significant advance in the treatment of this disease.

### Key words

monoclonal antibody – rituximab – ofatumumab – alemtuzumab – obinutuzumab

Práce byla realizována za podpory programem PRVOUK P27/LF1/1 a grantu IGA-LF-2015-001.

This study was supported by the program PRVOUK P27/LF1/1 and grant IGA-LF-2015-001.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Petra Obtřlíková, Ph.D.

I. interní klinika – klinika hematologie  
1. LF UK a VFN v Praze

U Nemocnice 2

128 08 Praha

e-mail: petra.obrtlikova@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 28. 7. 2015

Přijato/Accepted: 2. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153522>



## Úvod

Terapeutický přístup k chronické lymfocytární leukemii (CLL) prošel v posledním desetiletí zásadními změnami. Zavedení monoklonálních protilátek do léčby CLL vedlo ke značnému zlepšení léčebných výsledků a jejich užití u pacientů s CLL se stále více rozšiřuje.

Monoklonální protilátka působí cíleně na nádorovou buňku, mají schopnost vázat se na epitopy konkrétních povrchových nádorových antigenů či solubilních proteinů a dovedou mechanismy odlišnými od účinku cytostatik indukovat jejich zánik. Navíc mohou zvyšovat senzitivitu nádorových buněk ke konvenční chemoterapii, a proto se často používají jako součást kombinovaných imunochemoterapeutických schémat. Na základě řady *in vitro* experimentů byly definovány tři základní mechanismy jejich působení. Patří mezi ně komplementem zprostředkovaná cytotoxicita (complement-dependent cellular cytotoxicity – CDC), cytotoxicita závislá na protilátkách (antibody-dependent cellular cytotoxicity – ADCC) a přímá indukce apoptózy (direct cell death – DCD) [1]. Syntéza monoklonálních protilátek prošla vývojem od čistě myších (jejich nevýhodou byla tvorba protilátek proti myší komponentě – tzv. human anti-mouse antibodies – HAMA), přes chimerické až po humanizované nebo čistě humánní.

Uplynulo již 18 let od doby, kdy byl schválen pro klinickou onkologickou praxi rituximab, první chimerická monoklonální protilátka zaměřená proti antigenu CD20. Za tuto dobu významně přibýlo klinických zkušeností s jejím použitím a její úspěch podnítl prudký rozvoj imunoterapie. V preklinických studiích jsou testovány desítky monoklonálních protilátek proti různým antigenům, nejčastěji se však stále využívá antigen CD20 [2,3]. Přelomovým momentem ve vývoji protilátek se bezpochyby stala syntéza obinutuzumabu, anti-CD20 humanizované protilátky nové generace, protilátky II. typu s unikátním mechanismem účinku, molekuly upravené metodou glycoengineeringu.

V tomto přehledovém článku představujeme čtyři základní protilátky testované v léčbě CLL: rituximab, ofatu-

mumab, alemtuzumab a nejnovější protilátku obinutuzumab.

## Rituximab

### Rituximab – charakteristika a mechanismus účinku

Rituximab je chimerická myši-lidská monoklonální protilátka zaměřená proti antigenu CD20. Rituximab byl v roce 1997 historicky první monoklonální protilátka schválená pro léčbu hematologických malignit a v současné době je to nejrozšířenější protilátka užívaná v léčbě CLL. Mechanismus účinku rituximabu je komplexní a zahrnuje přímý cytotoxický účinek, aktivaci komplementu a buněčnou cytotoxicitu závislou na protilátce. Ačkoli v monoterapii je méně efektivní ve srovnání s léčbou lymfomů díky nižší denzitě antigenu CD20 na leukemických lymfocytech a rychlému odstranění rituximabu z oběhu solubilním CD20 antigenem, v rámci kombinovaných imunochemoterapeutických schémat přispívá díky synergickému účinku s řadou cytostatik významně ke zlepšení výsledků léčby, a přitom nevedl k podstatnému zvýšení toxicity léčby [4].

### Rituximab – klinické studie

Kombinace rituximabu s fludarabinem a cyklofosfamidem (režim FCR), vyvinutá v MD Anderson Cancer Center v texaském Houstonu, je nyní vysoce účinný standard iniciální terapie pro nemocné s CLL v dobré kondici bez závažných komorbidit. Dle výsledků publikovaných studií je pomocí tohoto režimu v léčbě 1. linie dosahováno až 95 % léčebných odpovědí a kompletní remise (complete remission – CR) byla zaznamenána v 52 %, resp. v jedné ze studií až v 72 % případů [5]. V prospektivní randomizované studii CLL8 fáze III bylo poprvé prokázáno, že přidání rituximabu k chemoterapeutické kombinaci fludarabinu s cyklofosfamidem (FC) prodlužuje nejen dobu do progresu onemocnění (progression-free survival – PFS), ale vede v rámci léčby 1. linie i k prodloužení celkového přežití (overall survival – OS). PFS ve třech letech bylo 65 % v rameni s rituximabem (FCR) vs. 45 % v rameni s FC ( $p < 0,0001$ ), OS ve třech letech bylo 87 vs. 83 % ( $p = 0,01$ ) [6]. Přidání rituximabu k režimu FC vedlo k vyššímu výskytu

neutropenie stupně 3 a 4 (34 vs. 21 %;  $p < 0,0001$ ), který se však nepromítl do vyššího procenta infekčních komplikací. Také v léčbě relapsů byla prokázána vyšší účinnost chemoimunoterapie FCR vůči FC. V prospektivní, randomizované studii REACH fáze III vedlo užití kombinace FCR u pacientů s relabovanou CLL k signifikantnímu prodloužení PFS ve srovnání s FC režimem (medián PFS 30,6 vs. 20,6 měsíce;  $p < 0,001$ ), avšak bez prodloužení OS [7]. Limitací této studie bylo, že pouze 18, resp. 17 % pacientů bylo léčeno v rámci 1. linie fludarabinovým režimem, který je nyní v primoterapii často užíván. Přidání rituximabu vedlo k častější neutropenii stupně 3 a 4 (89 vs. 84 %), závažné infekce však v rameni s FCR kombinací ve srovnání s FC režimem zvýšeny nebyly. Přesto je hematologická toxicita hlavní problém tohoto režimu.

Vzhledem k tomu, že pacienti s CLL jsou často staršího věku s dalšími přidruženými onemocněními, byla snaha navrhnout protokol se srovnatelnou účinností a menší toxicitou. FCR-lite režimy s redukovanou dávkou fludarabinu a cyklofosfamidu se zdají být slibnou alternativou s dobrými výsledky léčby a zejména přijatelnou toxicitou [8]. V ČR probíhal projekt Q-Lite České skupiny pro CLL zaměřený na léčbu starších či komorbidních nemocných s CLL s využitím nízkodávkovaného protokolu FCR a výsledky byly také velmi dobré a s akceptovatelnou toxicitou [9].

Další testovanou chemoimunoterapeutickou kombinací je kombinace rituximabu s bendamustinem (BR režim). Ve studii s relabovanými pacienty byla u tohoto režimu zaznamenána celková léčebná odpověď (overall response rate – ORR) 59 %, z toho 9 % CR [10]. V jiné studii pro dosud neléčené pacienty bylo dosaženo ještě lepších výsledků (ORR 88 %, CR 23 %) a přitom s přijatelnou toxicitou [11]. Nejčastějším nežádoucím účinkem byla myelosuprese (zejména neutropenie stupně 3 a 4 u 19,7 % pacientů). Německá randomizovaná studie CLL10 fáze III následně porovnávala účinnost a toxicitu BR režimu ve srovnání s kombinací FCR v léčbě 1. linie u pacientů v celkově dobrém stavu s nízkým skóre komorbidit (Cumulative III-

ness Rating Scale – CIRS  $\leq 6$ ). ORR byla v obou ramenech srovnatelná (97,8 %), ale v rameni s FCR bylo dosaženo více CR (40,7 vs. 31,5 %;  $p = 0,026$ ), také více pacientů dosáhlo negativity minimální reziduální nemoci (MRN): 74,1 %, a PFS bylo také signifikantně delší při léčbě FCR (medián PFS 53,7 vs. 43,2 měsíce;  $p = 0,001$ ). Vyšší účinnost FCR režimu byla však provázena signifikantně vyšší toxicitou. V rameni s FCR režimem byly častěji pozorovány neutropenie stupně 3 a 4 (87,7 vs. 67,8 %;  $p < 0,001$ ) i závažné infekční komplikace (39,8 vs. 25,4 %;  $p = 0,001$ ) [12]. V retrospektivní analýze podskupin nebyl v této studii zaznamenán rozdíl v PFS ve skupině pacientů  $\geq 65$  let s CIRS 4–6 a s více než jednou přidruženou chorobou. FCR režim tedy zůstává standardem pro fit pacienty v léčbě 1. linie. Výsledky však naznačují, že pro starší pacienty bez významných komorbidit může být režim BR přijatelnou alternativou, ale tyto závěry bude nutné potvrdit ještě v dalších studiích.

Rituximab byl testován i s další monoklonální protilátkou alemtuzumabem v kombinaci s fludarabinem a cyklofosfamidem (režim CFAR). V léčbě 1. linie u vysoce rizikových pacientů byla velmi dobrá léčebná odpověď (ORR 92 % se 70 % CR), problémem tohoto režimu však byla výrazná hematologická toxicita [13]. Na skupinu starších komorbidních pacientů s CLL se zaměřila studie CLL11 porovnávající kombinaci rituximabu s chlorambucilem ve srovnání se sólo chlorambucilem a kombinací s novou monoklonální protilátkou obinutuzumabem (viz níže) [14]. Další léčebné režimy kombinující rituximab s cytostatiky byly a jsou testovány a používají se zejména v dalších liniích terapie a nebo ve specifických situacích, jako je přítomnost autoimunitních komplikací. Kromě cytostatik je možné kombinovat rituximab i s vysokodávkovanými kortikosteroidy, zde však musíme počítat s vysokým rizikem infekčních komplikací včetně invazivních mykóz [15]. V současné době se řeší i otázka využití rituximabu v udržovací terapii u CLL. Z interim analýzy prospektivní, randomizované studie Maintenance fáze III pro pacienty po 1. či 2. linii léčby, kteří dosáhli mini-

málně parciální remise (partial remission – PR), se ukazuje, že rituximab aplikovaný v tříměsíčních intervalech vede k prodloužení PFS (85,2 vs. 75,9 % při observaci;  $p = 0,0085$ ), nebyl však prokázán vliv na OS. V rameni s rituximabem byl navíc vyšší výskyt neutropenie stupně 3 a 4 (17,9 vs. 9,3 %;  $p = 0,049$ ) a četnější infekční komplikace (51,5 vs. 38,8 %;  $p = 0,047$ ) (data odeslána k publikaci).

#### Rituximab – nežádoucí účinky

Asi u 40 % pacientů dochází zejména během první infuze rituximabu k infuzní reakci, která je podmíněna pravděpodobně lýzou cirkulujících B lymfoidních buněk s následným uvolněním celé řady cytokinů (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 a další) a vede k příznakům, jako je horečka, třes, hypotenze nebo dušnost. Z tohoto důvodu je nezbytná zejména při první infuzi pomalá aplikace rituximabu s postupným navyšováním rychlosti podávání a před aplikací se používá premedikace, která obvykle zahrnuje kombinaci antihistaminika, antipyretika a kortikosteroidu. Hematologická toxicita samotného rituximabu je nízká, nejčastější bývá neutropenie, která je obvykle nízkého stupně. Mezi nejzávažnější komplikace léčby s rituximabem patří riziko reaktivace hepatitidy B nebo C, která může vést až k jaternímu selhání, proto se před zahájením léčby vyšetřuje sérologie hepatitidy B, C [16]. V současné době se u CLL v rámci studie SAWYER testuje i rituximab určený k podkožní aplikaci, který by měl zajistit rychlejší a pohodlnější aplikaci tohoto léku. V předběžné analýze byla potvrzena srovnatelná účinnost a bezpečnost obou cest podání rituximabu [17].

#### Ofatumumab

##### Ofatumumab – charakteristika a mechanismus účinku

Ofatumumab je plně lidská IgG1 monoklonální protilátka anti-CD20, která se váže na odlišný epitop antigenu CD20 než rituximab. Ve srovnání s rituximabem indukuje více cytotoxicitu závislou na komplementu a cytotoxicitu závislou na protilátce, a to i u buněk s nízkou expresí CD20 antigenu. Ofatumumab prokázal v *in vitro* testech velmi slibný účinek i na leukemické buňky CLL rezistentní na rituximab [18,19].

#### Ofatumumab – klinické studie

V publikované studii fáze I/II s ofatumumabem podávaným u relabovaných či refrakterních nemocných bylo dosaženo 50 % léčebných odpovědí s velmi dobrou snášenlivostí [20]. Další studie fáze III pak probíhala u CLL pacientů refrakterních na fludarabin a zároveň alemtuzumab (FA-refrakterní) či nevhodných na léčbu alemtuzumabem pro masivní lymfadenopatii ( $> 5$  cm). Výsledky byly slibné i u takto prognosticky nepříznivé skupiny nemocných: ORR byla 58 % v FA-refrakterní skupině a 47 % ve skupině s bulky lymfadenopatií s mediánem PFS 5,7, resp. 5,9 měsíce a mediánem OS 13,7, resp. 15,4 měsíce [21,22]. Tolerance léčby byla dobrá a na základě těchto výsledků byl ofatumumab schválen v roce 2009 pro léčbu nemocných s CLL refrakterních na fludarabin i alemtuzumab. V retrospektivní analýze byla prokázána účinnost ofatumumabu i u pacientů rezistentních na rituximab (ORR 44 %, medián PFS 5,5 měsíce) [23]. Ofatumumab byl následně testován i v kombinacích s chemoterapií. V britské studii COMPLEMENT-1 fáze III byl ofatumumab podávaný v kombinaci s chlorambucilem srovnáván s terapií samotným chlorambucilem u nemocných s dosud neléčenou CLL. Přidání ofatumumabu vedlo k významně lepší ORR (82 vs. 69 %;  $p = 0,001$ ) a k signifikantnímu prodloužení PFS (22,4 vs. 13,1 měsíce;  $p < 0,001$ ). Toxicita léčby byla přijatelná s dominujícími neutropenií (stupně 3 a 4 v 26 %) [24]. V prospektivní studii OMB115991 fáze II pro pacienty dosud neléčené, nevhodné pro léčbu fludarabinem a pacienty s relapsy CLL, byla testována kombinace ofatumumab + bendamustin. Z předběžných výsledků máme k dispozici ORR, která dosahovala 95 % v primoterapii a 74 % v léčbě relapsu, toxicita léčby byla opět přijatelná, nejčastěji se vyskytovala neutropenie (stupně 3 a 4: 36, resp. 55 %) [25]. Definitivní závěry této studie ještě nejsou k dispozici. Ofatumumab lze stejně jako rituximab kombinovat také s vysokodávkovanými kortikoidy [26].

Na podkladě výsledků klinických studií je tedy ofatumumab schválen k léčbě CLL refrakterní na fludarabin a alemtuzumab a v kombinaci s chlorambuci-

lem nebo bendamustinem je schválen k léčbě pacientů s CLL bez předchozí léčby, kteří nemohou být léčeni terapií založenou na fludarabinu.

#### **Ofatumumab – nežádoucí účinky**

Toxicita ofatumumabu je velmi obdobná rituximabu. Dominují infuzní reakce při 1. nebo 2. aplikaci. Jsou způsobeny nejspíše uvolněním cytokinů a vedou k příznakům, jako je pruritus, dušnost, pocení nebo horečka. Cytopenie po ofatumumabu bývají mírného stupně, nejčastěji opět neutropenie.

#### **Alemtuzumab**

##### **Alemtuzumab – charakteristika a mechanismus účinku**

Alemtuzumab je rekombinantní humanizovaná monoklonální protilátka IgG1 namířená specificky proti povrchovému glykoproteinu CD52, který je exprimován na povrchu maligních i normálních T a B lymfocytů, ale i monocytů, makrofágů a v malé míře také granulocytů. Mechanismus indukce apoptózy lymfocytů je zde zprostředkován pomocí aktivace komplementu a díky cytotoxicitě závislé na protilátce [27]. Jde o protilátku, kterou je možné aplikovat jak nitrožilně, tak podkožně se srovnatelnou účinností. Alemtuzumab je možno použít jak v primoterapii u pacientů s CLL, pro něž není vhodná chemoterapie s fludarabinem, tak v léčbě relabované či refrakterní CLL.

##### **Alemtuzumab – klinické studie**

Alemtuzumab byl nejprve testován v monoterapii u pacientů s refrakterní či relabovanou CLL a léčebná odpověď se zde pohybovala mezi 33 a 53 %, OS bylo 19–35 měsíců u pacientů, kteří odpovídali na terapii [28–30]. Následně byl alemtuzumab v prospektivní, randomizované studii porovnáván s chlorambucilem v léčbě 1. linie, zde dosáhl významně lepších výsledků (ORR 83 vs. 56 %;  $p < 0,0001$ ) a na podkladě této studie byl následně schválen i do léčby 1. linie [31]. Ve shodě se studiemi s refrakterními/relabovanými pacienty bylo dosaženo lepších výsledků u pacientů s minimální či žádnou lymfadenopatií, naopak u pacientů s bulky postižením, tj. s uzlinami  $> 5$  cm, byla jeho účinnost velmi nízká. Alemtuzumab byl dále tes-

ťován i jako součást kombinované léčby s cytostatiky, event. s jinými protilátkami (rituximab). Synergická aktivita fludarabinu s alemtuzumabem (režim FA) byla potvrzena v několika klinických studiích. ORR u pacientů s relabovanou či refrakterní chorobou při užití režimu FA dosahovala v jedné ze studií 83 % s 30 % CR, přičemž léčba byla poměrně dobře tolerována [32]. V jiné randomizované studii fáze III porovnávající kombinaci FA s monoterapií fludarabinem byly také prokázány jasně lepší výsledky kombinací léčby (PFS 23,7 vs. 16,5 měsíce;  $p = 0,0003$ ), ale za cenu vyšší incidence závažných nežádoucích účinků (33 vs. 25 %), které však nevedly ke zvýšení mortality [33]. Po přidání cyklofosfamidu do této léčebné kombinace (režim FCA) se při porovnání s léčbou FCR v 1. linii ukázalo, že toxicita této léčby je příliš vysoká, navíc terapeutický efekt kombinace FCR byl jasně lepší [34]. Tato studie musela být kvůli toxicitě předčasně ukončena.

Vzhledem k tomu, že alemtuzumab vykazuje účinnost i u nemocných s poruchou dráhy p53, je vhodnou alternativou léčby zejména pro vysoce rizikové CLL s delecí části chromozomu 17 (del(17p)) a nebo mutací genu *TP53*, kde dosahuje lepších výsledků ve srovnání s konvenčními cytostatiky [35]. V současné době se však na poli léčby CLL objevily nové, účinnější molekuly, jako je ibrutinib nebo idelalisib, a alemtuzumab tak nyní ustupuje v léčbě CLL spíše do pozadí. V roce 2012 byl alemtuzumab de-registrován v hematologické indikaci vzhledem k registraci pro léčbu roztroušené sklerózy. Nyní je alemtuzumab pro pacienty s CLL dostupný v ČR díky specifickému léčebnému programu.

##### **Alemtuzumab – nežádoucí účinky**

Léčba alemtuzumabem je spojena s dlouhodobou, výraznou deplecí zdravých B a T lymfocytů a v důsledku toho i se zvýšeným rizikem oportunních infekcí a dále rizikem reaktivace cytomegaloviru (CMV). Z tohoto důvodu je nutné, aby nemocní léčení alemtuzumabem užívali antimikrobiální profylaxi (sulfametoxazol/trimetoprim, aciklovir nebo analoga) a dále je doporučována pravidelná monitorace CMV pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Mezi další

nežádoucí účinky patří hematologická toxicita. Vyskytují se i reakce na protilátku obdobné reakcím na rituximab či ofatumumab (horečky, třesavky, zimnice, hypotenze), a to zejména při nitrožilním podání. Proto je preferována podkožní aplikace, po které vidíme často lokální kožní reakce v místě vpichu, jež však nebvývají závažné.

#### **Obinutuzumab (GA101)**

##### **Obinutuzumab (GA101) – charakteristika a mechanismus účinku**

Obinutuzumab (GA101) je humanizovaná protilátka třídy IgG1 proti antigenu CD20, protilátka typu II s unikátním mechanismem účinku, která vykazuje významné odlišnosti ve srovnání s rituximabem a ofatumumabem, protilátkami typu I. Molekula obinutuzumabu, její Fc oblast je cíleně změněna glykosylací metodou glycoengineeringu. Protilátka má silnější efekt ADCC, na protilátkách závislou cytotoxicitu. Toho bylo dosaženo právě díky vyšší afinitě Fc fragmentu imunoglobulinu k efektorovým cytotoxickým buňkám. Je uváděn až 100krát silnější ADCC efekt ve srovnání s rituximabem [36–38]. Dále protilátka vykazuje silnější indukci přímé buněčné smrti nádorové buňky DCD [39]. Jedním z možných mechanismů DCD je neapoptotická, lysozomy zprostředkovaná buněčná smrt [40]. Cytotoxicita závislá na komplementu je u obinutuzumabu menší ve srovnání s rituximabem a ofatumumabem [36]. Stejně tak na protilátce závislá buněčná fagocytóza (antibody-dependent cellular phagocytosis – ADCP) byla u obinutuzumabu slabší [41]. Obinutuzumab vede změnou struktury molekuly Ig (záměna leucinu za valin na pozici 11 v myší části polypeptidové sekvence imunoglobulinu) k rozevření vazebného místa pro antigen CD20 a změně polohy molekuly protilátky při vazbě na tento antigen. To umožní vazbu ramen Fab na jeden tetramer CD20 antigenu, čímž je zabráněno internalizaci komplexu protilátka typu II a antigen a jeho intracelulární degradaci, což vedlo u protilátek typu I ke snížení jejich účinku [42]. Rituximab se na rozdíl od obinutuzumabu váže v místech lipidových raftů. Tato schopnost souvisí s aktivací komplementu a kom-



plementem zprostředkovanou cytotoxicitou [43]. Obinutuzumab tvoří vazbu s antigenem v místech intercelulárních kontaktů cílových buněk, čímž dochází k tzv. homotypické agregaci cílových buněk [42]. Je popsána celá řada odlišností v mechanismu účinku protilátek typu I a II, které demonstruje tab. 1 [36,40,42,44–46].

### Obinutuzumab – preklinické a klinické studie fáze I a II

Preklinické studie na myších modelech lymfomu prokázaly vysokou účinnost a také vyšší efektivitu při podání vyšší dávky GA101 [36]. Ve studii GAUGUIN byl testován účinek obinutuzumabu v monoterapii u nemocných s relabující nebo refrakterní CLL. Ve fázi I dostávalo 13 nemocných dávku od 400 do 1 200 mg (den 1 a 8 cyklu 1 a den 1 cyklu 2–8). Ve fázi II pak dostávalo 20 nemocných fixní dávku 1 000 mg (den 1, 8 a 15 cyklu 1 a den 1 cyklu 2–8). Jednalo se o 33 významně předléčených nemocných s mediánem podaných cyklů terapie 3. Bylo dosaženo 62 % ORR ve fázi I a 30 % ve fázi II, kde byla horší odpověď ovlivněna větší masou tumoru při menší dávce léku v této podskupině. Byly však dosahovány pouze PR. Ve fázi I a II bylo 82 a 73 % nežádoucích reakcí, přičemž nejběžnější byly reakce vázané na podání infuze (infusion-related reactions – IRR) stupně 1 a 2. Ve fázi II byl medián PFS 10,7 měsíce a medián trvání léčebné odpovědi 8,9 měsíce. Studie prokázala jako optimální aplikaci jednotné dávky 1 000 mg ve dnech 1, 8 a 15 cyklu 1 a dále byl podán průkaz tolerovatelné toxicity léku. IRR byly během první infuze častější ve srovnání s reakcemi po podání rituximabu. Závěrem studie GAUGUIN bylo, že obinutuzumab v monoterapii je aktivní lék u významně předléčených nemocných s relabující a refrakterní CLL [47]. Ve studii fáze I GAUSS, studii bezpečnosti, snášenlivosti, farmakokinetiky a efektivity byl obinutuzumab podáván 22 nemocným s relabujícími CD20 pozitivními non-Hodgkinskými lymfomy (NHL) nebo CLL/SLL (small lymphocytic lymphoma, lymfom z malých lymfocytů), celkem pěti nemocným s CLL a dvěma nemocným se SLL. Obinutuzumab byl podáván v dávce 200–2 000 mg

Tab. 1. Srovnání mechanismu účinku monoklonálních protilátek typu I a II.

Mechanismus účinku	Protilátky typu I	Protilátky typu II
vazebná kapacita protilátek [42,44]	plná	poloviční
homotypická agregace buněk [40]	nízká	vysoká
indukce přímé buněčné smrti [36]	nízká	vysoká
akumulace CD20 v lipidových raftech [44]	vysoká	nízká
na komplementu závislá cytotoxicita	vysoká	nízká
indukce imunogenní smrti buněk [45]	ne	ano
CD20 downregulace [46]	ano	ne

každý týden po čtyři týdny, a pokud nemocní dosáhli léčebné odpovědi nebo klinického efektu terapie, pokračovali v udržovací léčbě každé tři měsíce, celkem v osmi dávkách udržovací léčby. Po indukci celkem pět nemocných (23 %) dosáhlo PR a 12 nemocných (54 %) mělo obraz stabilní nemoci. Osm nemocných dostávalo léčbu udržovací a nejlepší léčebná odpověď byla dosažena ve 32 %. Jeden ze dvou nemocných se SLL dosáhl léčebné odpovědi, ale žádný z pěti nemocných s CLL kritéria odpovědi nespůlnil. Všechny pět zařazených nemocných s CLL bylo refrakterních na fludarabin. Studie prokázala, že obinutuzumab v indukční a udržovací terapii byl dobře tolerován u heterogenní skupiny vysoce předléčených nemocných s CD20 pozitivními NHL [48]. Studie fáze II GAGE porovnávala efekt monoterapie s obinutuzumabem u 80 neléčených nemocných s CLL, kterým byla podávána dávka 1 000 nebo 2 000 mg v celkem osmi cyklech po 21 dnech. ORR ve skupině nemocných léčených nižší dávkou byla 49 % a ve druhé skupině léčených vyšší dávkou byla ORR 67 % ( $p = 0,08$ ) [49]. V multicentrické studii fáze Ib GALTON byla studována bezpečnost a předběžná účinnost terapie na dvou paralelních skupinách nemocných s CLL léčených v primoléčbě obinutuzumabem a bendamustinem (G-B) (20 nemocných) a obinutuzumabem, fludarabinem a cyklofosfamidem (G-FC) (21 nemocných). ORR pro G-B byla 90 % s 20 % CR a ORR u G-FC byly 62 % s 10 % CR při mediánu sledování 23,5 a 20,7 měsíce. Výskyt IRR byl 88 %, stupeň 3 a 4 celkem IRR 20 %. Nejběžnějším nežádou-

cím účinkem byly neutropenie, v 55 % nemocných léčených G-B a v 48 % léčených G-FC stupně 3 a 4. Studie prokázala nadějnou účinnost těchto kombinovaných režimů s obinutuzumabem v iniciačně léčbě, kdy k ukončení sledování ve studii nebyla zaznamenána žádná recidiva onemocnění [50].

### Obinutuzumab – klinická studie fáze III

Ve studii fáze III, otevřené prospektivní randomizované mezinárodní studii CLL11, byli nemocní randomizováni do tří ramen. Byli léčeni šesti cykly obinutuzumabu v kombinaci s chlorambucilem (G-Clb), šesti cykly rituximabu v kombinaci s chlorambucilem (R-Clb) a v monoterapii chlorambucilem (Clb). Jednalo se o celkem 780 dosud neléčených nemocných s mediánem věku 73 let, s CIRS skóre > 6 a nebo s clearance kreatininu 30–69 ml/min. Medián CIRS skóre byl 8, 61 % nemocných mělo nemutovaný stav IGHV, 8 % del(17p) a 16 % del(11q). Chlorambucil byl podáván v dávce 0,5 mg/kg/den den 1 a 15 cyklu, bylo podáno celkem šest cyklů po 28 dnech. Obinutuzumab byl podáván v dávce 100 mg den 1, 900 mg den 2 a 1 000 mg den 8 a den 15 v 1. cyklu a den 1 v 2.–6. cyklu terapie po 28 dnech. Rituximab byl podáván v dávce 375 mg/m<sup>2</sup>/den 1 cyklu 1 a 500 mg/m<sup>2</sup>/den 1 v 2.–6. cyklu po 28 dnech. Nemocní, kteří progredovali na terapii chlorambucilem, měli možnost přefázení („crossover“) do ramene s obinutuzumabem. Ve skupinách G-Clb a R-Clb bylo dosaženo 20,7 vs. 7 % CR, negativita minimální reziduální nemoci (MRN)

v periferní krvi byla dosažena v 37,7 vs. 3,3 % a negativita MRN v kostní dřeni v podskupinách v 19,5 vs. 2,6 %. PFS byl delší ve skupině léčené G-Clb ve srovnání se skupinou R-Clb, 29,2 vs. 15,4 měsíce ( $p < 0,001$ ), také doba do další antileukemické terapie byla delší, 42,7 vs. 32,7 měsíce ( $p < 0,001$ ). Nebyl prokázán statisticky signifikantní rozdíl v OS v podskupinách R-Clb a G-Clb, ale výsledky nejsou zralé vzhledem k malému počtu událostí v podskupinách. Byl ale prokázán rozdíl v OS nemocných léčených v rameni G-Clb a R-Clb oproti nemocným léčeným v rameni s Clb. Kombinovaná terapie G-Clb a R-Clb statisticky signifikantně prodloužila PFS ve srovnání s Clb (29,2 a 15,4 vs. 11,1 měsíce) a také byl prokázán statisticky významný rozdíl v PFS u G-Clb vs R-Clb. Studie CLL11 ukázala, že kombinace protilátky obinutuzumabu nebo rituximabu s chlorambucilem v 1. linii u starších a komorbidních nemocných prodloužila OS ve srovnání s monoterapií chlorambucilem a že medián PFS nemocných léčených G-Clb se téměř zdvojnásobil na 30 měsíců oproti PFS nemocných léčených kombinací R-Clb [14,51]. Delší sledování by pak mělo prokázat, zda podání obinutuzumabu namísto rituximabu nebude mít vliv na prodloužení OS.

#### Obinutuzumab – nežádoucí účinky

U nemocných léčených ve studii CLL11 kombinovanou terapií G-Clb vs. R-Clb byl výskyt neutropenie stupně  $\geq 3$  ve 33 vs. 28 % a trombocytopenie stupně  $\geq 3$  v 10 vs. 3 %, ale nedošlo ke zvýšení rizika infekčních komplikací stupně  $\geq 3$  v podskupinách 12 vs. 14 % [51]. Jedná se o akceptovatelnou toxicitu režimu. Přestože jde o starší a komorbidní nemocné, byl výskyt uvedených komplikací relativně nízký ve srovnání s toxicitou režimů FCR a BR (viz výše) ve studii CLL10. Vzhledem k četnosti a závažnosti výskytu IRR u nemocných léčených v rameni G-Clb ve studii CLL11 je vhodné se jim věnovat na tomto místě podrobněji. Protinádorová léčba obecně včetně léčby monoklonálními protilátkami infuzní reakce vyvolává. Jedná se o reakce imunitního systému alergické, zprostředkované IgE. U monoklonálních protilátek byly ale po-

psány zejména reakce nealergické, vyvolané uvolněním cytokinů. Bezpochyby jsou však vyvolávající mechanismy složitější [52]. Ve studii CLL11 ale nebyly zaznamenány fatální IRR a většina nemocných léčbu dokončila. IRR probíhají po obrazem nevolnosti, zimnice, horečky, hypotenze, zvracení, dušnosti, pocitů horka, hypertenze, průjmu, tachykardie nebo bolesti hlavy. Mohou být přítomny příznaky respirační či kardiální, bronchospasmus, sípání, otok hrtanu nebo fibrilace síní. Příznaky jsou většinou mírné až středně závažné a jsou léčebně dobře ovlivnitelné. V některých případech (reakce stupně 4 nebo opakování IRR stupně 3) však mohou vést k ukončení léčby. Incidence jejich výskytu ve studii CLL11 v rameni G-Clb byla 66 %, ve 20 % stupně 3 a 4, přičemž výskyt v rameni s R-Clb byl výrazně menší, 38 % léčených a 4 % stupně 3 a 4. V rameni s G-Clb se reakce stupně 3 a 4 vyskytovaly během první infuze léku, v průběhu dalších infuzí léku byly hlášeny pouze reakce stupně 1 a 2. Nejčastější byl výskyt IRR u nemocných zařazených v I. fázi studie, kde nebyla podávána premedikace. Se zahájením jejího podávání u nemocných s počty lymfocytů  $> 25 \times 10^9/l$  a následně u všech nemocných, po vyzazení antihypertenzní terapie před podáním infuze, podáním pomalé infuze a rozdělením první dávky léku do dvou dnů se počet všech IRR snížil na 53 %, ale reakce stupně 3 a 4 se stále vyskytovaly v 17 %. Byla snaha identifikovat rizikové faktory pro výskyt IRR. Počet lymfocytů, velikost nádorové masy, exprese antigenu CD20 a další však nemohou výskyt IRR predikovat s dostatečnou spolehlivostí. Některé jiné faktory mohou zvyšovat riziko výskytu IRR, ale nejsou běžně vyšetřovány, např. polymorfizmy genů (Fc gamma receptor IIIa). Vyšší výskyt IRR bývá také u nemocných s anamnézou atopie, astmatu, autoimunitních onemocnění, kardiální nebo pneumologickou anamnézou, nemocných v terapii  $\beta$ -blokátory [53]. Význam preventivních opatření IRR hodnotila studie GREEN. V případě první infuze byla podávána 60 min před podáním i.v. kortikoterapie (dexametazon 20 mg i.v. nebo metylprednizolon 80 mg i.v.), jako neúčinné se naopak jeví podávání hydrokortizonu i.v.,

dále 30 min před podáním léku byla doporučena analgetika/antipyretika a antihistaminika. Během druhého a dalších podání léku byla doporučena pouze analgetika/antipyretika, u nemocných s lehkým stupněm IRR navíc antihistaminika a u nemocných s výskytem IRR 3, s počty lymfocytů  $> 25 \times 10^9/l$  byla doporučena premedikace kortikosteroidy. První infuzi obinutuzumabu (1 000 mg látky v podobě sterilního roztoku o koncentraci 25 mg/ml rozředit ve 250 ml fyziologického roztoku) bylo doporučeno aplikovat v dávce 100 mg i.v. první den a 900 mg i.v. první nebo druhý den. Je doporučeno podat prvních 100 mg v infuzi během 4 hod. Pokud podání proběhlo bez reakce, lze podat 900 mg týž den rychlostí 50 mg/hod, se zvyšováním rychlosti o 50 mg/hod po 30 min do max. rychlosti 400 mg/hod. V prevenci syndromu lýzy tumoru u nemocných s velkou masou nádoru se doporučuje 1–2 dny před zahájením terapie prevence v podobě dostatečné hydratace min. 3 l tekutin denně, tři dny před podáním zahájit podávání alopurinou. Tato opatření jsou vhodná před první a každou další infuzí do poklesu počtu lymfocytů  $< 25 \times 10^9/l$ . V průběhu prvního cyklu terapie byly pozorovány fatální krvácivé příhody, vždy v souvislosti s léčbou antikoagulační nebo antiagregační, dále u nemocných s trombocytopenií nebo s anamnézou pádu. Proto je doporučeno v průběhu léčby monitorování počtu trombocytů a v případě závažné trombocytopenie jejich substituce [14,51,54]. V souhrnu údajů o přípravku (SPC) je stejně jako pro prevenci vypracováno doporučení pro léčbu IRR [55].

#### Obinutuzumab – výsledky metaanalýzy klinických studií

Ladyzynski et al publikovali v roce 2014 metaanalýzu, která srovnávala celkem devět kvalitních randomizovaných kontrolovaných studií se sledováním PFS a šest studií se sledováním OS u mladých nemocných léčených režimy chlorambucilem, fludarabinem (F), alemtuzumabem, fludarabinem s cyklofosfamidem (FC), bendamustinem a kombinovaným režimem (FCR) a u nemocných starších léčených v 1. linii režimy chlorambu-

cilem, fludarabinem, chlorambucilem s ofatumumabem (O-Clb) nebo s rituximabem (R-Clb) nebo obinutuzumabem (G-Clb). Režim FCR měl největší potenciál u mladých nemocných v prevenci progresu CLL. U starších nemocných terapie G-Clb demonstruje nejdelší vypočítaný PFS (60 měsíců) ve srovnání s ostatními léčebnými režimy a největší potenciál k prodloužení OS [56].

### Obinutuzumab – perspektivy léčby

Kromě studií, které testují kombinaci obinutuzumabu s chemoterapií bendamustinem nebo s fludarabinem a cyklofosfamidem u nemocných dosud neléčených stejně jako relabujících, byly publikovány první výsledky preklinického testování, jež naznačují možnosti kombinace cílené protinádorové léčby (např. selektivního BCL-2 inhibitoru venetoclaxu nebo inhibitoru proteozomu bortezomidu) s obinutuzumabem, kde lze očekávat synergický efekt terapie. Byla pozorována taktéž minimální interference idelalisibu a ibrutinibu s imunitní efektorovou funkcí obinutuzumabu ve srovnání s rituximabem, s největší pravděpodobností v důsledku indukce přímé buněčné smrti a silnější Fc signalizací, což podporuje klinické testování těchto kombinací [50,54,57].

### Závěr

Monoklonální protilátky jsou dnes v rámci kombinovaných imunochemoterapeutických schémat základem v léčbě CLL. Rituximab je součástí režimu FCR, který je standardem v léčbě 1. linie u pacientů s CLL v dobrém celkovém stavu. Vzhledem k nižší toxicitě kombinace rituximabu s bendamustinem se zdá, že tento režim může být vhodnou alternativou pro starší nemocné bez významných komorbidit. U dosud neléčených pacientů s významnými přidruženými onemocněními je nyní standardem kombinace chlorambucilu s anti-CD20 protilátkou. Přidání jak rituximabu, tak ofatumumabu i obinutuzumabu k chlorambucilu vedlo ke zvýšení účinnosti léčby a v případě rituximabu a obinutuzumabu též k prodloužení OS v této obtížně léčitelné populaci nemocných. Ve srovnání s ostatními anti-CD20 protilátkami

jsou u obinutuzumabu pozorovány častější infuzní reakce, které mohou být závažné, a proto je nutno dbát opatrnosti zejména při první infuzi a přísně dodržovat doporučená preventivní opatření. Léčba CLL prochází v současné době i díky dalším novým lékům, jako je idelalisib či ibrutinib, dramatickými změnami. Testují se nové léčebné kombinace a lze očekávat další pokrok v léčbě CLL. Avšak až výsledky klinických studií, porovnávání výsledků léčby s dosavadními standardy a každodenní praxe nám odpoví na řadu otázek, které si dnes s příchodem nových léčiv včetně protilátky obinutuzumabu klademe.

### Literatura

- Glennie MJ, French RR, Cragg MS et al. Mechanisms of killing by anti-CD20 monoclonal antibodies. *Mol Immunol* 2007; 44(16): 3823–3337.
- Cragg MS, Walshe CA, Ivanov AO et al. The biology of CD20 and its potential as a target for mAb therapy. *Curr Dir Autoimmun* 2005; 8: 140–174.
- Beers SA, Chan CH, French RR et al. CD20 as a target for therapeutic type I and II monoclonal antibodies. *Sem Hematol* 2010; 47(2): 107–114.
- Cheson BD. Monoclonal antibody therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Immunol Immunother* 2006; 55(2): 188–196.
- Tam CS, O'Brien S, Wierda W et al. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008; 112(4): 975–980. doi: 10.1182/blood-2008-02-140582.
- Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376(9747): 1164–1174. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61381-5.
- Robak T, Dmoszynska A, Sola-Celigny P et al. Rituximab plus fludarabine and cyclophosphamide prolongs progression-free survival compared with fludarabine and cyclophosphamide alone in previously treated chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28(10): 1756–1765. doi: 10.1200/JCO.2009.26.4556.
- Foon KA, Boyiadzis M, Land SR et al. Chemoimmunotherapy with low-dose fludarabine and cyclophosphamide and high dose rituximab in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2009; 27(4): 498–503. doi: 10.1200/JCO.2008.17.2619.
- Smolej L, Brychtova Y, Doubek M et al. Low-dose FCR is a safe and effective treatment option for elderly/comorbid patients with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. Updated results of project Q-Lite by Czech CLL Study Group. 56th ASH Annual Meeting and Exposition 2014; abstr. 4760.
- Fischer K, Cramer P, Busch R et al. Bendamustine combined with rituximab in patients with relapsed and/or refractory chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J Clin Oncol* 2011; 29(26): 3559–3566. doi: 10.1200/JCO.2010.33.8061.
- Fischer K, Cramer P, Busch R et al. Bendamustine in combination with rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J Clin Oncol* 2012; 30(26): 3209–3216. doi: 10.1200/JCO.2011.39.2688.

- Eichhorst B, Fink AM, Busch R et al. Frontline chemoimmunotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and Rituximab (R) (FCR) shows superior efficacy in comparison to bendamustine (B) and Rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic leukemia (CLL): final analysis of an international, randomized study of the German CLL Study Group (GCLLSG) (CLL10 Study). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2014; 124(21): 19.
- Parikh SA, Keating MJ, O'Brien S et al. Frontline chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, alemtuzumab, and rituximab for high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2011; 118(8): 2062–2068. doi: 10.1182/blood-2011-01-329177.
- Goede V, Fischer K, Busch R et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370(12): 1101–1110. doi: 10.1056/NEJMoa1313984.
- Smolej L, Doubek M, Panovska A et al. Rituximab in combination with high-dose dexamethasone for the treatment of relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2012; 36(10): 1278–1282. doi: 10.1016/j.leukres.2012.07.005.
- Dervite I, Hober D, Morel P. Acute hepatitis B in a patient with antibodies to hepatitis B surface antigen who was receiving rituximab. *N Engl J Med* 2001; 344(1): 68–69.
- Assouline S, Buchcheri V, Delmer A. et al. Non-inferior pharmacokinetics with comparable safety and response rates for subcutaneous, compared with intravenous, rituximab in combination with fludarabine and cyclophosphamide in patients with untreated chronic lymphocytic leukemia: part 2 of the phase Ib SAWYER study (BO25341). 56th ASH Annual Meeting and Exposition 2014; abstr. 1995.
- Teeling JL, French RR, Cragg MS et al. Characterization of new human CD20 monoclonal antibodies with potent cytolytic activity against non-Hodgkin lymphomas. *Blood* 2004; 104(6): 1793–1800.
- Beum PV, Lindorfer MA, Beurskens F et al. Complement activation on B lymphocytes opsonized with rituximab or ofatumumab produces substantial changes in membrane structure preceding cell lysis. *J Immunol* 2008; 181(1): 822–832.
- Coiffier B, Lepage S, Pedersen LM et al. Safety and efficacy of ofatumumab, a fully human monoclonal anti-CD20 antibody, in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: a phase 1–2 study. *Blood* 2008; 111(3): 1094–1100.
- Osterborg A. Ofatumumab, a human anti-CD20 monoclonal antibody. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10(3): 439–449. doi: 10.1517/14712590903586239.
- Wierda WG, Kipps TJ, Mayer J et al. Ofatumumab as single-agent CD20 immunotherapy in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28(10): 1749–1755. doi: 10.1200/JCO.2009.25.3187.
- Wierda WG, Padmanabhan S, Chan GW et al. Ofatumumab is active in patients with fludarabine-refractory CLL irrespective of prior rituximab: results from the phase 2 international study. *Blood* 2011; 118(19): 5126–5129. doi: 10.1182/blood-2011-04-348656.
- Hillmen P, Robak T, Janssens A et al. Ofatumumab + chlorambucil versus chlorambucil alone in patients with untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL): results of the phase III Study Complement 1 (OMB110911). 55th ASH Annual Meeting and Exposition 2013; abstr. 528.
- Offner FP, Afanashev B et al. Ofatumumab and bendamustine combination therapy in patients with untreated and relapsed chronic lymphocytic leukemia: initial results of the phase II study OMB115991. *iwCLL* 2013; abstr. 429.
- Doubek M, Brychtova Y, Panovska A et al. Ofatumumab added to dexamethasone in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: results from

- a phase II study. *Am J Hematol* 2015; 90(5): 417–421. doi: 10.1002/ajh.23964.
27. Flynn JM, Byrd JC. Campath-1H monoclonal antibody therapy. *Curr Opin Oncol* 2000; 12(6): 574–581.
28. Osterborg A, Dyer MJ, Bunjes D et al. Phase II multicenter study of human CD52 antibody in previously treated chronic lymphocytic leukemia. European Study Group of CAMPATH-1H Treatment in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol* 1997; 15(4): 1567–1574.
29. Keating MJ, Flinn I, Jain V et al. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* 2002; 99(10): 3554–3561.
30. Rai KR, Freter CE, Mercier RJ et al. Alemtuzumab in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients who also had received fludarabine. *J Clin Oncol* 2002; 20(18): 3891–3897.
31. Hillmen P, Skotnicki AB, Robak T et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2007; 25(35): 5616–5623.
32. Elter T, Borchmann P, Schulz H et al. Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II trial. *J Clin Oncol* 2005; 23(28): 7024–7031.
33. Elter T, Gercheva-Kyuchukova L, Pylypenko H et al. Fludarabine plus alemtuzumab versus fludarabine alone in patients with previously treated chronic lymphocytic leukaemia: a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2011; 12(13): 1204–1213. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70242-X.
34. Lepretre S, Aurran T, Mahe B et al. Excess mortality after treatment with fludarabine and cyclophosphamide in combination with alemtuzumab in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia in a randomized phase 3 trial. *Blood* 2012; 119(22): 5104–5110. doi: 10.1182/blood-2011-07-365437.
35. Stilgenbauer S, Döhner H. Campath-1H-induced complete remission of chronic lymphocytic leukemia despite p53 gene mutation and resistance to chemotherapy. *N Engl J Med* 2002; 347(6): 452–453.
36. Mossner E, Brunker P, Moser S et al. Increasing the efficacy of CD20 antibody therapy through the engineering of a new type II anti-CD20 antibody with enhanced direct and immune effector cell-mediated B-cell cytotoxicity. *Blood* 2010; 115(22): 4393–4402. doi: 10.1182/blood-2009-06-225979.
37. Ferrara C, Brunker P, Suter T et al. Modulation of therapeutic antibody effector functions by glycosylation engineering: influence of Golgi enzyme localization domain and co-expression of heterologous beta1, 4-N-acetylglucosaminyltransferase III and Golgi alpha-mannosidase II. *Biotechnol Bioeng* 2006; 93(5): 851–861.
38. Herter S, Herting F, Mundigl O et al. Preclinical activity of the type II CD20 antibody GA101 (obinutuzumab) compared with rituximab and ofatumumab in vitro and in xenograft models. *Mol Cancer Ther* 2013; 12(10): 2031–2042. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-12-1182.
39. Dalle S, Reslan L, Besseyre de Horts T et al. Preclinical studies on the mechanism of action and the anti-lymphoma activity of the novel anti-CD20 antibody GA101. *Mol Cancer Ther* 2011; 10(1): 178–185. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0385.
40. Alduaij W, Ivanov A, Honeychurch J et al. Novel type II anti-CD20 monoclonal antibody (GA101) evokes homotypic adhesion and actin-dependent, lysosome-mediated cell death in B-cell malignancies. *Blood* 2011; 117(17): 4519–4529. doi: 10.1182/blood-2010-07-296913.
41. Rafiq S, Butchar JP, Cheney C et al. Comparative assessment of clinically utilized CD20-directed antibodies in chronic lymphocytic leukemia cells reveals divergent NK cell, monocyte, and macrophage properties. *J Immunol* 2013; 190(6): 2702–2711. doi: 10.4049/jimmunol.1202588.
42. Niederfellner G, Lammens A, Mundigl O et al. Epitope characterization and crystal structure of GA101 provide insights into the molecular basis for type I/II distinction of CD20 antibodies. *Blood* 2011; 118(2): 358–367. doi: 10.1182/blood-2010-09-305847.
43. Kern DJ, James BR, Blackwell S et al. GA101 induces NK-cell activation and antibody-dependent cellular cytotoxicity more effectively than rituximab when complement is present. *Leuk Lymphoma* 2013; 54(11): 2500–2505. doi: 10.3109/10428194.2013.781169.
44. Cragg MS. CD20 antibodies: doing the time warp. *Blood* 2011; 118(2): 219–220. doi: 10.1182/blood-2011-04-346700.
45. Cheadle EJ, Sidon L, Dovedi SJ et al. The induction of immunogenic cell death by type II anti-CD20 monoclonal antibodies has mechanistic differences compared with type I rituximab. *Br J Haematol* 2013; 162(6): 842–845. doi: 10.1111/bjh.12427.
46. Klein C, Lammens A, Schafer W et al. Response to: monoclonal antibodies targeting CD20. *MAbs* 2013; 5(3): 337–338. doi: 10.4161/mabs.24108.
47. Cartron G, de Guibert S, Dilhuydy MS et al. Obinutuzumab (GA101) in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia: final data from the phase 1/2 GAUGUIN study. *Blood* 2014; 124(14): 2196–2202. doi: 10.1182/blood-2014-07-586610.
48. Sehn LH, Assouline SE, Stewart DA et al. A phase 1 study of obinutuzumab induction followed by 2 years of maintenance in patients with relapsed CD20-positive B-cell malignancies. *Blood* 2012; 119(22): 5118–5125. doi: 10.1182/blood-2012-02-408773.
49. Flynn JM, Kipps TJ, Boxer M et al. Obinutuzumab (GA101) 1000 mg vs 2000 mg in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) results of the phase 2 GAGE (GAO4768g) trial. *J Clin Oncol* 2014; 32 (Suppl): abstr. 7083.
50. Brown JR, O'Brien S, Kingsley CD et al. Obinutuzumab plus fludarabine/cyclophosphamide or bendamustine in the initial therapy of CLL patients: the phase 1b GALTON trial. *Blood* 2015; 125(18): 2779–2785. doi: 10.1182/blood-2014-12-613570.
51. Goede V, Fischer K, Engelke A et al. Obinutuzumab as frontline treatment of chronic lymphocytic leukemia: updated results of the CLL11 study. *Leukemia* 2015; 29(7): 1602–1604. doi: 10.1038/leu.2015.14.
52. Byrd JC, Murphy T, Howard RS et al. Rituximab using a thrice weekly dosing schedule in B-cell chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma demonstrates clinical activity and acceptable toxicity. *J Clin Oncol* 2001; 19(8): 2153–2164.
53. Vogel WH. Infusion reactions: diagnosis, assessment, and management. *Clin J Oncol Nurs* 2010; 14(2): E10–E21. doi: 10.1188/10.CJON.E10-E21.
54. Goede V, Klein C, Stilgenbauer S. Obinutuzumab (GA101) for the treatment of chronic lymphocytic leukemia and other B-cell non-hodgkin's lymphomas: a glyco-engineered type II CD20 antibody. *Oncol Res Treat* 2015; 38(4): 185–192. doi: 10.1159/000381524.
55. Obinutuzumab (Gazyvaro) [homepage on the Internet]. Summary of product characteristics. 2014. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Public\\_assessment\\_report/human/002799/WC500171596.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002799/WC500171596.pdf).
56. Ladyzynski P, Molik M, Foltynski P. A network meta-analysis of progression free survival and overall survival in first-line treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Treat Rev* 2015; 41(2): 77–93. doi: 10.1016/j.ctrv.2014.11.004.
57. Jak M, van Bochove GG, Reits EA et al. CD40 stimulation sensitizes CLL cells to lysosomal cell death induction by type II anti-CD20 mAb GA101. *Blood* 2011; 118(19): 5178–5188. doi: 10.1182/blood-2011-01-331702.



# Léčebné možnosti pro nemocné s chronickou lymfocytární leukemií a významnými přidruženými chorobami

## Therapeutic Options for „Slow-go“ Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia

Smolej L.

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

### Souhrn

Chronická lymfocytární leukemie je onemocněním starších nemocných, z nichž většina trpí významnými přidruženými onemocněními či funkčním omezením (tzv. slow-go nemocní). Klinická hodnocení u chronické lymfocytární leukemie se donedávna bohužel zaměřovala zejména na podskupinu mladších nemocných v dobrém celkovém stavu („go-go“). Klinicko-biologické parametry jako výkonnostní stav, vypočtená clearance kreatininu, počet a závažnost přidružených onemocnění a další nám společně s individuálním klinickým posouzením mohou být vodítkem při rozhodování o cílech a intenzitě léčby. Dvě velké randomizované studie prokázaly, že přidání monoklonálních protilátek proti CD20 (obinutuzumab, rituximab a ofatumumab) k chlorambucilu u neléčených starších/komorbidních nemocných vedlo k významnému zvýšení počtu kompletních remisí, přežití bez progresu a dokonce i celkového přežití (v případě obinutuzumabu a rituximabu) s přijatelným bezpečnostním profilem. Chemoimunoterapie kombinující chlorambucil s anti-CD20 protilátkou je tedy nový standard léčby 1. linie u této skupiny nemocných. Léčba relabující/refrakterní chronické lymfocytární leukemie je u „slow-go“ nemocných velmi obtížná a specifických dat je málo. V této indikaci jsme svědky revolučního průlomů zaváděním nových, perorálně dostupných malých molekul působících na principu inhibice signálních drah B buněčného receptoru: ibrutinibu, inhibitoru Brutonovy tyrozinkinázy a idelalisibu, inhibitoru fosfatidylinositol-3 kinázy  $\delta$ . Oba tyto léky radikálně změnily přístup k léčbě relabující/refrakterní chronické lymfocytární leukemie; relativně mírná toxicita je předurčuje také pro použití u starších/komorbidních nemocných. Další možnosti léčby relabující/refrakterní chronické lymfocytární leukemie pro „slow-go“ nemocné zahrnují alemtuzumab, ofatumumab, vysokodávkované glukokortikoidy + rituximab či ofatumumab a režim bendamustin + rituximab. Tento přehledný článek shrnuje současné poznatky o léčbě starších a komorbidních nemocných s chronickou lymfocytární leukemií.

### Klíčová slova

chronická lymfocytární leukemie – přidružená onemocnění – geriatrické hodnocení – obinutuzumab – rituximab – ofatumumab – ibrutinib – idelalisib

Tato práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NT13412-4/2012, RVO MZ ČR (FNHK, 00179906) a programem PRVOUK P37/08.

This work was supported by the grant IGA MH CZ NT13412-4/2012, MH CZ – DRO (UHHK, 00179906) and by the programme PRVOUK P37/08.

Prohlašuji, že v souvislosti s výše uvedeným příspěvkem, jehož jsem autorem, mám střet zájmů s níže vyjmenovanými společnostmi: Roche, Janssen-Cilag, Gilead a GlaxoSmithKline (honoraria za přednáškovou činnost či konzultace, cestovní granty).

I declare that, in connection with the above-mentioned contribution, which I am an author, I have a conflict of interest with the typed the following companies: Roche, Janssen-Cilag, Gilead and GlaxoSmithKline (honoraria for lectures or consultations, travel grants).

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



doc. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D.  
IV. interní hematologická klinika  
LF UK a FN Hradec Králové  
Sokolská 581  
500 05 Hradec Králové  
e-mail: lukas.smolej@fnhk.cz

Obdrženo/Submitted: 23. 7. 2015

Přijato/Accepted: 29. 7. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153530>

## Summary

Chronic lymphocytic leukemia is a disease of older patients, most of them suffering from significant comorbidities or functional limitations (so-called 'slow-go' patients). Unfortunately, clinical trials in chronic lymphocytic leukemia have until recently focused mainly on the subgroup of younger patients in good overall condition ('go-go' patients). Clinico-biological parameters, such as performance status, calculated creatinine clearance, the number and severity of comorbidities along with individual clinical assessment can help guide decisions relating to the objectives and ultimately the intensity of treatment. Two large randomized studies have recently demonstrated that the addition of monoclonal antibodies against CD20 (obinutuzumab, rituximab and ofatumumab) to chlorambucil in untreated 'slow-go' patients resulted in a significant increase in the number of complete remissions, progression-free survival and even overall survival (for obinutuzumab and rituximab) with an acceptable safety profile. Chemoimmunotherapy combining chlorambucil with anti-CD20 antibody is thus the new standard 1<sup>st</sup> line therapy in this group of patients. Treatment of relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia in 'slow-go' patients is very difficult and specific data is sparse. In this indication, we have witnessed an extraordinary breakthrough by means of small oral inhibitors interfering with B-cell receptor downstream signaling pathways: ibrutinib, the Bruton's tyrosine kinase inhibitor, and idelalisib, the inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase  $\delta$ . Both drugs radically changed the approach to the treatment of relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia; relatively mild toxicity also predetermines their use in elderly/comorbid patients. Other treatment options for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia in this subgroup include alemtuzumab, ofatumumab, high-dose glucocorticoids + antiCD20 antibodies, or bendamustine + rituximab regimen. This review summarizes current data regarding the treatment of elderly and comorbid patients with chronic lymphocytic leukemia.

## Key words

chronic lymphocytic leukemia – comorbidity – geriatric assessment – obinutuzumab – rituximab – ofatumumab – ibrutinib – idelalisib

## Úvod

Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je nejčastější leukemie dospělých v euroamerické populaci [1–3]. Hlavní charakteristikou je neobyčejná rozmanitost individuální prognózy, kdy celkové přežití (overall survival – OS) sahá od několika měsíců po desítky let [4–7]. CLL je považována za onemocnění běžnými přístupy nevyléčitelné. V současnosti skýtá jedinou možnost trvalého vyléčení alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk. Ta je však proveditelná pouze u velmi malé podskupiny mladších nemocných s vysoce nepříznivou prognózou v dobrém klinickém stavu [8,9]. Chemoimunoterapeutický režim FCR (fludarabin, cyklofosfamid, rituximab) je nyní standard léčby 1. linie u mladších nemocných v dobrém stavu („go-go“ dle nomenklatury Německé CLL skupiny) [10]. Medián věku při stanovení diagnózy CLL se však pohybuje mezi 65 a 72 lety [3,6,7,11,12]. Randomizované studie fáze III zveřejněné mezi lety 2004 a 2013 ale léčily nemocné zpravidla o 5–10 let mladší (tab. 1) [10,13,14–28]. Drtivá většina výsledků z velkých CLL studií tak není přímo aplikovatelná pro neselektovanou populaci CLL nemocných, natož pro „slow-go“ nemocné. Bylo prokázáno, že léčba starších nemocných plnodávkovanými režimy na bázi fludarabinu (FC, FCR) vyústila v nepřijatelnou hematolo-

**Tab. 1. Počet nemocných a medián věku v randomizovaných CLL studiích publikovaných mezi lety 2004 a 2013.**

1. autor	Rok	Design studie	Léčebná linie	Medián věku
Mabed	2004	CLB + teofylin vs. CLB	1.	58 vs. 61
Eichhorst	2006	FC vs. F	1.	58 vs. 59
Robak	2006	CMC vs. CC vs. C	1.	61 vs. 62 vs. 59
Catovsky	2007	FC vs. F vs. CLB	1.	64 vs. 65 vs. 65
Flinn	2007	FC vs. F	1.	61 vs. 61
Hillmen	2007	Cam vs. CLB	1.	59 vs. 60
Eichhorst	2009	F vs. CLB	1.	71 vs. 70
Knauf	2009	B vs. CLB	1.	64 vs. 64
O'Brien	2009	FC + oblimersen vs. FC	Rel/Ref	63 vs. 63
Hallek	2010	FCR vs. FC	1.	61 vs. 61
Robak	2010	FCR vs. FC	Rel/Ref	62 vs. 63
Robak	2010	FC vs. CC	1.	59 vs. 58
Sutton	2011	autoSCT vs. chemo	1.	56 vs. 57
Elter	2011	FluCam vs. F	Rel/Ref	60 vs. 61
Reynolds	2012	FCR vs. PCR	1.	64 vs. 64
Lepretre	2012	FCCam vs. FCR	1.	57 vs. 57
Niederle	2013	B vs. F	Relaps	68 vs. 69

CLB – chlorambucil, F – fludarabin, FC – fludarabin + cyklofosfamid, B – bendamustin, FCR – fludarabin + cyklofosfamid + rituximab, CC – kladribin + cyklofosfamid, chemo – chemoterapie, CMC – kladribin + cyklofosfamid + mitoxantron, PCR – pentostatin + cyklofosfamid + rituximab, Cam – alemtuzumab, FluCam – fludarabin + alemtuzumab, FCCam – fludarabin + cyklofosfamid + alemtuzumab, autoSCT – autologní transplantace krvetvorných kmenových buněk, Rel/Ref – relabující/refrakterní onemocnění

gickou a infekční toxicitu [29,30]. Vyšší věk byl opakovaně prokázán jako nezávislý prediktor kratšího OS u CLL [31–36]. Retrospektivní analýza barcelonských autorů ukázala, že OS se v historickém srovnání významně prodloužilo pouze u nemocných mladších 70 let v době stanovení diagnózy [6]. Lze tedy konstatovat, že až do nedávné doby byl klinický přínos moderních režimů chemoterapie a chemoimunoterapie prokázán pouze u mladších a fit („go-go“) nemocných.

### Význam posouzení funkce ledvin a přidružených onemocnění

Renální funkce se postupně zhoršuje s přibývajícím věkem díky fyziologickému stárnutí, přidruženým onemocněním (např. arteriální hypertenze, diabetes mellitus) a užívání nefrotoxických léků [37–39]. Protože svalové hmoty ubývá a vylučování kreatininu klesá obdobnou rychlostí, může zůstat koncentrace sérového kreatininu téměř konstantní po dlouhou dobu i přes zhoršující se funkci ledvin. Proto je u starších nemocných přesnější hodnotit funkci ledvin pomocí glomerulární filtrace [37,38]. Vyhodnocení funkce ledvin je zásadní pro dávkování cytostatik, jako např. fludarabinu a cyklofosfamidu, která jsou vylučována převážně renální cestou [40,41]. Glomerulární filtrace může být jednoduše zhodnocena pomocí rovnice pro vypočtenou clearance kreatininu, např. dle Cockcrofta a Gaulta [42], která je v současné době široce používána v rámci klinických studií s CLL. Ve studii CALGB 9011 se ukázalo, že clearance kreatininu  $\leq 80$  ml/min byla spojena s vyšší toxicitou léčby u pacientů s CLL léčených v 1. linii fludarabinem v monoterapii [43].

Přidružená onemocnění mají obecně nepříznivý vliv na OS pacientů s malignitami včetně lymfoproliferací [44–47]. Dat týkajících se komorbidit u CLL je však dosud velmi málo. V unicentrické retrospektivní analýze z Mayo Clinic byla přítomnost závažného přidruženého onemocnění spojena s významně kratším OS [32]; velká analýza nemocných léčených v rámci dvou randomizovaných studií fáze III německé CLL skupiny ukázala, že přítomnost dvou či více komorbidit byla nezávislým pre-

diktorem přežití bez progresu (progression-free survival – PFS) i OS nezávisle na věku [36]. Zdá se tedy, že věk i přidružená onemocnění hrají důležitou úlohu v prognóze pacientů s CLL, ale je třeba vyčkat výsledků dalších prospektivních studií.

### Indikace k léčbě CLL

Podle mezinárodně uznávaných doporučení International Workshop on CLL je vhodné zahájení léčby pouze v případě klinické aktivity CLL (masivní či progresivní lymfadenopatie/splenomegalie, progresivní anémie a/nebo trombocytopenie, systémové příznaky nebo krátký zdvojevací čas lymfocytů), což platí i pro „slow-go“ nemocné [48]. U nemocných s mírnou, asymptomatickou anémií a/nebo trombocytopenií je možno zahájení léčby odložit až do zřetelného zhoršování [49], což platí zejména pro velmi staré nebo těžce komorbidní nemocné, u nichž jsou léčebné možnosti značně omezené.

### Individuální posouzení nemocného a stanovení léčebného cíle

Nejdůležitějším faktorem při rozhodování o intenzitě léčby je stanovení cíle léčby v závislosti na stavu nemocného (zejména věk, zdatnost, funkční schopnosti a přidružená onemocnění). Maximalizace terapeutické odpovědi a prodloužení OS je jasný cíl u mladších, zdatných pacientů („go-go“ dle Německé CLL skupiny) [50]. Na opačném pólu spektra stojí těžce komorbidní nemocní („no-go“), jejichž přidružená onemocnění budou mít rozhodující vliv na OS. Proto z hlediska léčby CLL vyžadují symptomatický, paliativní přístup s minimálními vedlejšími účinky při zachování kvality života jako hlavního cíle. Mezi těmito dvěma extrémy se nachází početná a heterogenní skupina nemocných s významnými komorbiditami („slow-go“). Nedořešeným problémem stále zůstává, jak nejlépe tyto tři podskupiny oddělit. Vzhledem k tomu, že kalendářní věk je velmi nespolehlivý ukazatel, je nutno hodnotit tzv. biologický věk. Výkonnostní stav dle Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) slouží jako základní nástroj. Je však též možné posouzení funkční kapacity nemocného,

přidružených onemocnění a dalších parametrů pomocí komplexního geriatrického hodnocení (comprehensive geriatric assessment – CGA) [51]. Německá CLL skupina (DCLLSG) jako první navrhla použití systému Cumulative Illness Rating Scale (CIRS) k posuzování komorbidit [52]. Tento systém skóruje počet a závažnost postižení v každém ze 14 orgánových systémů. Byl ověřen v geriatrické populaci [53] a jeho význam byl prokázán u pacientů se solidními nádory i maligními lymfomy [54–56]. DCLLSG použila hranici 6 bodů pro definici „go-go“ nemocných [10],  $\geq 7$  bodů pro definici „slow-go“ a  $\geq 18$  pro „no-go“ nemocné [57]. Jde však o arbitrární rozdělení a dosud neexistují přesvědčivá prospektivní data prokazující prognosticko/prediktivní význam tohoto systému. Jiným příkladem je index komorbidit dle Charlsona (CCI) [58], který je široce používán u solidních nádorů [59], kde několik studií prokázalo jeho užitečnost u maligních lymfomů [46,47,60].

Kvalita života a funkční zdatnost jsou mimořádně důležitými faktory u starších/komorbidních nemocných s CLL vzhledem k chronickému průběhu, nevyléčitelnosti onemocnění a možným závažným vedlejšími účinkům léčby. Několik publikací ukázalo, že CLL je spojena s významným narušením kvality života a dosažení kvalitní léčebné odpovědi vede k jejímu zlepšení [61–67]. Zajímavým zjištěním je, že zhoršení kvality života a funkční zdatnosti mohou být závislé na pohlaví – ve dvou studiích měly ženy tyto ukazatele významně horší než muži [61,66]. Celkově vzato je vhodné před zvolením terapeutických cílů a výběru nevhodnější intenzity léčby komplexní individuální posouzení každého jednotlivého pacienta. Podrobné hodnocení pomocí indexů komorbidit, CGA a funkční hodnocení by měla být v maximální možné míře prováděna v rámci prospektivních klinických studií. Individuální klinické posouzení nemocného, jeho očekávání a priority v současné době zůstávají úhelným kamenem pro běžnou praxi.

### Léčba 1. linie „slow-go“ nemocných s CLL

Alkylační látka chlorambucil (CLB) byla léčba volby u CLL po více než 40 let [68].

**Tab. 2. Srovnání klíčových dat ze studií kombinujících anti-CD20 protilátku a chlorambucil.**

Studie	R-CLB	R-CLB	G-CLB	O-CLB
	CLL208	CLL11	CLL11	COMPLEMENT-1
fáze	II	III	III	III
n	100	233	238	221
medián věku	70	73	74	69
stadium Binet C (%)	56	36	36	32
medián CIRS skóre	7*	8	8	9**
medián CrCl (ml/min)	–	61	61	72
nemutované IGHV (%)	52	62	61	57
FISH del(11q) (%)	13/3	19/5	16/8	19/5
B2M > 3,5 mg/l (%)	–	35	32	71
medián podaných cyklů	–	6	6	6,4
ORR (%)	84	65	78	82
CR (%)	10	7	21	14
negativita MRN v krvi (%)	0	3	38	8
medián PFS (měsíce)	23,5	15,4	29,2	22,4
infuzní reakce st. 3/4 (%)	3	4	20	10
neutropenie st. 3/4 (%)	41	28	33	26
infekce st. 3–5 (%)	11	14	12	9

G – obinutuzumab, R – rituximab, O – ofatumumab, B2M –  $\beta$ 2-mikroglobulin, IGHV – variabilní oblast těžkého řetězce imunoglobulinu, FISH – fluorescenční *in situ* hybridizace, MRN – minimální reziduální nemoc, CrCl – clearance kreatininu, PB – periferní krev, PFS – přežití bez progresy

\*počet komorbidit, \*\*včetně 4 bodů za CLL u každého nemocného

Je známo mnoho schémat dávkování, ale schémata německé (0,4–0,8 mg/kg 1. a 15. den, opakování à 4 týdny) [20,57] a britské (10 mg/m<sup>2</sup> 1.–7. den s opakováním à 4 týdny) jsou nejvíce používána v běžné praxi [17,69]. Celková léčebná odpověď (objective response rate – ORR) a PFS se pohybovaly mezi 37 a 72 % v 9–20 měsících v závislosti na studijních populacích. Kompletní remise (complete remission – CR) jsou vzácné. Není zřejmé, které dávkování je nejlepší, ale britské schéma s vyšší dávkou na cyklus dosáhlo vyšších ORR v historickém porovnání [70]. První randomizovaná studie specificky zaměřená na starší nemocné s CLL byla studie CLL5 srovnávající fludarabin s chlorambucilem v monoterapii u 193 neléčených pacientů starších 65 let. Zatímco fludarabin dosáhl významně vyšší ORR/CR, nebyl proká-

zán rozdíl v PFS a OS [20]. Naproti tomu subanalýza britské studie CLL4 ukázala, že FC kombinace přinesla lepší ORR, CR i PFS (ne však OS) než chlorambucil ve všech skupinách, včetně pacientů ve věku  $\geq$  70 let. Toto bylo dosaženo za cenu vyšší myelotoxicity, ale nikoliv závažných infekcí [17].

Kombinace anti-CD20 protilátek s CLB u „slow-go“ pacientů byla zkoumána v několika studiích. Britská studie fáze II prokázala slibnou účinnost a bezpečnost kombinace chlorambucilu a rituximabu (R-CLB) u 100 pacientů (tab. 2). Zásadní však byly výsledky velké randomizované studie CLL11 u 589 nemocných s významnými komorbiditami (kumulativní CIRS skóre  $\geq$  7 a/nebo clearance kreatininu < 70 ml/min), kteří byli randomizováni mezi CLB (0,5 mg/kg v den 1 a 15, pro max. 6 cyklů), CLB + rituximab

(R-CLB, 375 mg/m<sup>2</sup> i.v. den 1 v 1. cyklu, 500 mg/m<sup>2</sup> den 1 v cyklech 2–6) a CLB + obinutuzumab (GA101), novou humanizovanou anti-CD20 protilátku II. typu s upravenou glykosilací, vyznačující se zvýšenou přímou indukci buněčné smrti a na protilátce závislou cytotoxicitou (G-CLB, 100 mg i.v. v den 1, 900 mg v den 2, 1 000 mg dny 8 a 15 v 1. cyklu, 1 000 mg den 1 v cyklech 2–6). Obě kombinace byly výrazně lepší než CLB ve smyslu CR a PFS. Kromě toho u pacientů léčených G-CLB v porovnání s CLB bylo dosaženo významně delšího OS (kombinace R-CLB prokázala významné prodloužení OS vůči CLB při aktualizaci dat). Rozdíly v počtu CR a PFS byly také významně lepší u G-CLB vs. R-CLB. Nemocní léčení G-CLB měli významně častější projevy závažné infuzní toxicity v porovnání s rituximabem (21 vs. 4 %) a také častější závažné neutropenie než R-CLB nebo CLB (34 vs. 25 vs. 15 %); výskyt závažných infekcí byl obdobný ve všech ramenech [57]. Mezinárodní studie fáze III COMPLEMENT-1 randomizovala 447 neléčených pacientů CLL považovaných za nezpůsobitelné pro léčbu FCR mezi CLB a kombinací CLB + ofatumumab, plně humánní anti-CD20 protilátku se zvýšenou cytotoxicitou závislou na komplementu (O-CLB, 300 mg i.v. den 1 a 1 000 mg den 8 v 1. cyklu, 1 000 mg den 1 v cyklech 2–12, opakování à 4 týdny). Režim O-CLB přinesl podstatně lepší ORR/CR a delší PFS, ale ne OS [71]. Tabulka 2 shrnuje klíčové údaje ze studií kombinujících anti-CD20 protilátku s chlorambucilem. Na základě studií CLL11 a COMPLEMENT-1 se stala kombinace CLB a anti-CD20 monoklonální protilátky novým standardem pro léčbu „slow-go“ nemocných s CLL v 1. linii léčby. Chlorambucil v monoterapii by měl být vyhrazen pouze pro extrémně komorbidní nemocné ve špatném stavu („no-go“).

Bendamustin je bifunkční cytostatikum s kombinovanými vlastnostmi alkylační látky a purinového analoga. Randomizovaná studie fáze III léčila v rámci 1. linie 305 nemocných s CLL bendamustinem (100 mg/m<sup>2</sup> i.v. dny 1–2 cyklu, opakování à 4 týdny) vs. chlorambucilem (0,8 mg/kg dny 1 a 15). Bendamustin prokázal významně lepší ORR/CR



(68/30 vs. 39/2 %) i PFS (21,7 vs. 9,3 měsíce) [21]. Na základě těchto výsledků byl bendamustin schválen pro 1. linii léčby nemocných s CLL nevhodných k režimu FCR navzdory skutečnosti, že průměrný věk ve studii byl poměrně nízký (63 vs. 63,6 let) a nebylo prováděno posouzení komorbidit. Bendamustin byl úspěšně použit v kombinaci s rituximabem ve studii fáze II. Celkem 117 pacientů s mediánem věku 64 roků obdrželo bendamustin (90 mg/m<sup>2</sup> i.v. dny 1–2 cyklu, opakování à 4 týdny) plus rituximab do šesti cyklů. Bylo dosaženo ORR/CR v 88 a 23 %; medián přežití bez události byl 27 měsíců; závažná neutropenie a infekce se vyvinuly až u 20 a 8 % [72]. V současné době jsou s velkým napětím očekávány výsledky francouzské studie MaBLE porovnávací režim BR s kombinací R-CLB.

Jak již bylo uvedeno dříve, použití plnodávkovaných fludarabinových režimů u starších nemocných může být spojeno s nepříjemně vysokým výskytem myelotoxicity a/nebo závažných infekcí [29,30]. Logický postup s cílem snížit toxicitu a zachovat léčebnou účinnost je snížení dávek fludarabinu a cyklofosfamidu. Několik pilotních studií publikovalo slibnou účinnost a přijatelnou toxicitu nízkodávkovaného režimu FC [73,74]. Účinnost a bezpečnost nízkých dávek FCR byla posuzována v rámci projektu „Q-lite“ České skupiny pro CLL. V rámci 1. linie bylo léčeno 108 neléčených nemocných s CLL/SLL. Dávky fludarabinu byly sníženy na 50 % (12 mg/m<sup>2</sup> i.v. nebo 20 mg/m<sup>2</sup> p.o.) a cyklofosfamidu na 60 % (150 mg/m<sup>2</sup> i.v. nebo p.o. den 1–3 cyklu). Rituximab byl podán v klasické dávce pro CLL. ORR/CR (včetně klinické CR a CRi) bylo dosaženo v 81 a 37 %. Medián PFS byl 28 měsíců a mediánu OS nebylo dosaženo. Toxicita byla přijatelná (závažná neutropenie 56 %, avšak těžké infekce v 15 %) [75]. Australská studie OFOCIR randomizovala 120 neléčených pacientů s CLL ve věku ≥ 65 let s CIRS skóre ≤ 6 mezi plnodávkovaný FCR, kombinaci fludarabin + rituximab a nízkodávkovaný FCR (fludarabin 24 mg/m<sup>2</sup> a cyklofosamid 150 mg/m<sup>2</sup> p.o. v den 1–3, rituximab ve standardní dávce). ORR byla obdobná ve všech ramenech, (FCR, FR a low-dose FCR 97, 95 a 95 %), ale počet

**Tab. 3. Účinnost a bezpečnost nízkodávkovaného FCR u starších/komorbidních nemocných s CLL.**

Studie	FCR3	Low-dose FCR
	OFOCIR	Q-lite
fáze	III	IV
n	41	108
medián věku	71	69
pokročilá klinická stadia (%)	Binet C 37	Rai III/IV 55
medián CIRS skóre	–*	5
medián CrCl (ml/min)	–	69
nemutované IGHV (%)	–	74
FISH del 11q/17p (%)	–	31/9
ORR (%)	95	81
CR (%)	51	37
medián PFS (měsíce)	75 % v 18 měs.	28
OS (měsíce)	90 % v 18 měs.	75 % v 30 měs.
neutropenie st. 3/4 (%)	49	56
infekce st. 3–5 (%)	15	15

ORR – poměr optického potlačení, CR – kompletní remise, PFS – přežití bez progrese, OS – celkové přežití

\*vstupní kritérium CIRS ≤ 6

CR byl nejvyšší u plnodávkovaného FCR (79, 38 a 51 %). V 18 měsících byla PFS a OS srovnatelná [76]. Tabulka 3 shrnuje nejdůležitější data studií Q-lite a OFOCIR. Nízkodávkovaný režim FCR se ukazuje být další možností léčby pro starší/komorbidní nemocné s CLL; je však zapotřebí dalších studií, ideálně randomizovaných vůči chemoimunoterapii na bázi chlorambucilu.

### Léčba relapsu/refrakterní CLL

Dle současných mezinárodních doporučení [48] je možno v případě relapsu CLL opakovat předchozí linii léčby, pokud bylo dosaženo dostatečně dlouhého trvání léčebné odpovědi (≥ 12 měsíců při použití monoterapie, např. chlorambucil či fludarabin, ≥ 24 měsíců v případě kombinovaných režimů, např. FCR). Nemocné s kratším PFS je nutno léčit jako refrakterní CLL a léčebný přístup tedy změnit. Léčba pacientů s refrakterní CLL (nedosažení léčebné odpovědi či relaps do šesti měsíců od dokončení léčby) představuje extrémně

náročný úkol, protože tito pacienti se vyznačují častým výskytem chemorezistence, oportunních infekcí a zhoršujícím se celkovým stavem [77]. Navíc je bohužel velmi málo dat týkajících se specificky „slow-go“ nemocných. Humanizovaná monoklonální anti-CD52 protilátka alemtuzumab může být použita u fludarabin-refrakterních nemocných, zejména při masivní infiltraci kostní dřeně. ORR lze očekávat kolem 30–40 %, ale léčebná odpověď obvykle trvá méně než 12 měsíců, účinnost v případě objemné lymfadenopatie je nízká a vzrůstá riziko oportunních infekcí [78,79]. Nemocní s tzv. dvojité-refrakterní CLL (tj. na fludarabin i alemtuzumab) mají extrémně nepříznivou prognózu [80]. Ofatumumab je jediný preparát schválený pro léčbu těchto nemocných, a to na základě studie fáze II, ve které bylo léčeno 95 dvojité refrakterních nemocných (průměrný věk 64 let, medián předchozích linií 5). Léčba se skládala z osmi týdenních (1 × 300 mg + 7 × 2 000 mg) a následně čtyř měsíčních i.v. infuzí (2 000 mg). ORR

**Tab. 4. Porovnání stěžejních dat ibrutinibu a idelalisibu v léčbě relapsu/refrakterní CLL.**

Studie	Ibrutinib RESONATE	R + idelalisib GS-US-312-0116
fáze	III	III
n	195	110
medián věku	67	71
medián předchozích terapií	3	3 preparáty
stadium Rai III/IV (%)	56	65
medián CIRS skóre	–	8
medián CrCl (ml/min)	32 % < 60	62
nemutované IGHV (%)	–	83
del 17p/mutace <i>TP53</i> (%)	32	42
B2M > 3,5 mg/l (%)	78	–
ORR (%)	43	81
CR (%)	0	0
medián sledování (měsíce)	9,4	3,8
PFS (měsíce)	88 % v 6 měs.	93 % v 6 měs.
OS (měsíce)	90 % ve 12 měs.	92 % ve 12 měs.
neutropenie st. 3/4 (%)	16	34
infekce st. 3/4 (%)	24	21

ORR – poměr optického potlačení, CR – kompletní remise, PFS – přežití bez progresu, OS – celkové přežití

(hodnocené po osmi týdnech léčby) bylo dosaženo v 51 %, medián PFS činil 5,5 měsíce a medián OS 14,2 měsíce. Infuzní reakce se vyskytly u 63 % nemocných, většina však stupně I/II; těžké infekce byly pozorovány u 24 % [81]. Zkušenost s režimem bendamustin + rituximab (BR) byla publikována u 78 nemocných (medián věku 66,5 roku, 28 % fludarabin-refrakterní). Bendamustin byl podáván v dávce 70 mg/m<sup>2</sup> i.v. den 1–2, à 4 týdny). Bylo dosaženo ORR/CR v 59 a 9 % včetně 46 % u fludarabin-refrakterních, ale pouze u 7 % nemocných s del 17p. Medián PFS a OS činily 15 a 34 měsíců; k závažné neutropenii a infekcím došlo v 23 a 13 % [82]. Kombinace vysoké dávky kortikosteroidů s monoklonálními protilátkami je další možností léčby relabující/refrakterní CLL. Použití extrémně vysokých dávek metylprednisolonu (1 g/m<sup>2</sup> i.v. den 1–5) v kombinaci s rituximabem se ukázalo účinné, ale dosti toxické (steroidní

diabetes, těžké infekce až u 50 % nemocných, časná úmrtí na léčbě) v pilotních studiích [83,84]. Nedávná unicentrická retrospektivní studie hodnotila nižší dávky kortikosteroidů (dexametazon 40 mg p.o. ve dny 1–4 ± 10–13, klasická dávka rituximabu, opakování à 3 týdny) u 60 nemocných s relabující/refrakterní CLL (medián věku 66 roků, medián předchozí terapie 2; 50 % fludarabin-refrakterní). ORR/CR bylo dosaženo v 73 a 5 % s mediánem PFS a OS 8 a 26 měsíců. Závažné infekce byly zaznamenány u 27 % nemocných [85]. Výše uvedené léčebné přístupy jsou poměrně dobře využitelné i u starších/komorbidních nemocných s relabující/refrakterní CLL, společným jmenovatelem však je krátké trvání léčebné odpovědi.

#### Nové léky

Dva nové preparáty interferující se signálními drahami B buněčného receptoru přinesly zásadní průlom v léčbě relabu-

jící/refrakterní CLL. Ibrutinib je perorálně dostupný kovalentní inhibitor Brutonovy tyrozinkinázy, což způsobuje narušení komunikace maligních lymfocytů s výhodným mikroprostředím mízních uzlin a snížení jejich proliferace. Ve studii fáze IB/II byla použita monoterapie ibrutinibem v dávce 840 mg (n = 34) či 420 mg (n = 51) v dlouhodobém podávání do progresu či nepříjemné toxicity u 85 nemocných (medián věku 66 let) s těžce předléčenou (medián 4 předchozí linie). ORR/CR byly dosaženy v 71 a 2 %; dalších 20 a 15 pacientů mělo tzv. částečnou odpověď s lymfocytózou, typickým projevem léčby ibrutinibem způsobeným redistribucí CLL buněk z lymfatických uzlin do periferní krve. PFS a OS ve 26 měsících byly 75 a 83 %. Průjem byl nejčastější nežádoucí účinek (49 %, ale pouze 2 % stupně 3/4). Těžká neutropenie a infekce byly pozorovány u 15 a 41 %. U 7 z 11 pacientů s progresí byla zjištěna Richterova transformace [86]. V následné randomizované studii fáze III prokázal ibrutinib v dávce 420 mg vyšší účinnost v porovnání s ofatumumabem z hlediska ORR, PFS i OS. Závažné nežádoucí příhody byly častější v rameni s ibrutinibem, včetně průjmu (4 vs. 0 %) a fibrilace síní (3 vs. 0 %). Krvácivé komplikace byly také častější u ibrutinibu (celkem 44 vs. 12 %), ale významné krvácivé příhody byly vzácné a srovnatelné mezi oběma rameny (1 vs. 2 %) [87].

Idelalisib je perorálně dostupný inhibitor fosfatidylinositol 3-kinázy (PI3K)  $\delta$ , čímž narušuje interakci CLL buněk s mikroprostředím, což vede ke snížené přežití leukemických lymfocytů. Po slibných výsledcích studie fáze I u těžce předléčených nemocných s CLL [88] byl idelalisib hodnocen v randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované studii fáze III v kombinaci s rituximabem vs. kombinaci rituximab + placebo u starších pacientů s relabující/refrakterní CLL považovaných za nevhodné k chemoterapii. Dávka idelalisibu byla 150 mg 2krát denně až do progresu či nepříjemné toxicity; rituximab byl použit v neobvyklém režimu (pět infuzí à 2 týdny + tři infuze à 4 týdny, celkem tedy osm dávek). Kombinace idelalisib + rituximab kombinace dosáhla vyšší ORR, del-

šího PFS i OS. Obdobně jako u ibrutinibu bylo pozorováno nové spektrum nežádoucích účinků: průjem/kolitida v 19 % (závažné v 5 %), zvýšení transamináz v 35 % (stupně 3/4 v 5 %); a poléková pneumonitida ve 4 % [89]. Výsledky ibrutinibu a idelalisibu ve studiích fáze III jsou shrnuty v tab. 4.

### Závěr

Léčba starších/komorbidních („slow-go“) nemocných s CLL se až v nedávné době dostala do centra pozornosti odborníků a farmaceutických společností. Pro ideální volbu cílů léčby a léčebné intenzity je nesporně důležitá snaha co nejpřesněji zhodnotit celkový stav, funkční zdatnost a přidružená onemocnění. Kombinace chlorambucilu s anti-CD20 protilátkami (obinutuzumab, rituximab a ofatumumab) se stala novým standardem pro 1. linii léčby těchto nemocných. Kombinace bendamustinu s rituximabem či ofatumumabem nebo nízkodávkovaný FCR mohou být užitečné u vybraných nemocných. Situace u relabující/refrakterní CLL je dosti nepřehledná vzhledem k nedostatku specifických studií pro „slow-go“ nemocné. Možnosti léčby v této indikaci zahrnují alemtuzumab, ofatumumab, vysokodávkované kortikoidy v kombinaci s anti-CD20 protilátkou či režim bendamustin + rituximab. Zásadní změnu pro léčbu relabující/refrakterní CLL znamená příchod nových selektivních inhibitorů – ibrutinibu a idelalisibu. Tyto perorální preparáty podávané revolučním způsobem (dlouhodobě do progresu či nepřijatelné toxicity) dosáhly výsledků PFS a OS dříve nemyslitelných u konvenčních postupů. Vzhledem k velmi krátkému období sledování a odlišnému profilu závažné toxicity (krváčení a fibrilace síní u ibrutinibu, kolitidy, zvýšení transamináz a pneumonitidy u idelalisibu), jsou nutné další, dlouhodobé údaje o účinnosti a bezpečnosti, aby bylo možno ibrutinib a idelalisib optimálním způsobem zařadit do stávajících léčebných algoritmů. Velmi nízké počty celkových léčebných odpovědí však již nyní ukazují, že léčba těmito preparáty v monoterapii či v kombinaci se samotnými monoklonálními protilátkami nemá kurativní potenciál. Je též

Tab. 5. Nové léky ve vývoji pro relabovanou/refrakterní CLL.

Preparát	Mechanismus účinku	Fáze vývoje
venetoclax (GDC-0199)	inhibice Bcl-2	II, III
duvelisib (IPI-145)	inhibice fosfatidylinositol-3-kinázy $\gamma$ a $\delta$	II, III
lenalidomid	komplexní – mikroprostředí	II, III
CC-292	inhibice Brutonovy tyrozinkinázy	I, II
ONO-4059	inhibice Brutonovy tyrozinkinázy	I, II

nutno vzít v úvahu vysokou finanční náročnost léčby těmito preparáty. Řada klinických studií v současnosti zkoumá ibrutinib a idelalisib v kombinaci s chemoterapií i další cílené léky, které by mohly být vhodné pro starší/komorbidní nemocné (tab. 5) [90]. Díky tomu můžeme do budoucna očekávat další zlepšení léčebných výsledků u „slow-go“ nemocných s CLL ve smyslu prodloužení období do progresu i celkového přežití pomocí kombinací nových léků s klasickými preparáty či dokonce kombinacemi cílených léků zcela bez chemoterapie.

### Literatura

- Dores GM, Anderson WF, Curtis RE et al. Chronic lymphocytic leukaemia and small lymphocytic lymphoma: overview of the descriptive epidemiology. *Br J Haematol* 2007; 139(5): 809–819.
- Linnet MS, Schubauer-Berigan MK, Weisenburger DD et al. Chronic lymphocytic leukaemia: an overview of aetiology in light of recent developments in classification and pathogenesis. *Br J Haematol* 2007; 139(5): 672–686.
- Pfeil AM, Imfeld P, Pettengell R et al. Trends in incidence and medical resource utilisation in patients with chronic lymphocytic leukaemia: insights from the UK Clinical Practice Research Datalink (CPRD). *Ann Hematol* 2015; 94(3): 421–429. doi: 10.1007/s00277-014-2217-7.
- Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975; 46(2): 219–234.
- Binet JL, Auquier A, Dighiero G et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981; 48(1): 198–206.
- Abrisqueta P, Pereira A, Rozman C et al. Improving survival in patients with chronic lymphocytic leukemia (1980–2008): the Hospital Clinic of Barcelona experience. *Blood* 2009; 114(10): 2044–2050. doi: 10.1182/blood-2009-04-214346.
- Panovska A, Doubek M, Brychtova Y et al. Chronic lymphocytic leukemia and focusing on epidemiology and management in everyday hematologic practice: recent data from the Czech Leukemia Study Group for Life (CELL). *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2010; 10(4): 297–300. doi: 10.3816/CLML.2010.n.061.
- Dreger P, Corradini P, Kimby E et al. Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus. *Leukemia* 2007; 21(1): 12–17.

- Dreger P, Schetelig J, Andersen N et al. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: stem cell transplantation or novel agents? *Blood* 2014; 124(26): 3841–3849. doi: 10.1182/blood-2014-07-586826.
- Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomized, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376(9747): 1164–1174. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61381-5.
- Diehl LF, Karnell LH, Menck HR. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. The National Cancer Data Base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1999; 86(12): 2684–2692.
- Molica S, Levato D. What is changing in the natural history of chronic lymphocytic leukemia? *Haematologica* 2001; 86(1): 8–12.
- Robak T, Dmoszynska A, Solal-Celigny P et al. Rituximab plus fludarabine and cyclophosphamide prolongs progression-free survival compared with fludarabine and cyclophosphamide alone in previously treated chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28(10): 1756–1765. doi: 10.1200/JCO.2009.26.4556.
- Mabed M, Aref S, Fouda M et al. Chlorambucil plus theophylline vs chlorambucil alone as a front line therapy for B-cell chronic lymphatic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2004; 45(10): 2029–2035.
- Eichhorst BF, Busch R, Hopfinger G et al. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2006; 107(3): 885–891.
- Robak T, Blonski JZ, Gora-Tybor J et al. Cladribine alone and in combination with cyclophosphamide or cyclophosphamide plus mitoxantrone in the treatment of progressive chronic lymphocytic leukemia: report of a prospective, multicenter, randomized trial of the Polish Adult Leukemia Group (PALG CLL2). *Blood* 2006; 108(2): 473–479.
- Catovsky D. Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370(9583): 230–239.
- Flinn IW. Phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide compared with fludarabine for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: US Intergroup Trial E2997. *J Clin Oncol* 2007; 25(7): 793–798.
- Hillmen P, Skotnicki AB, Robak T et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2007; 25(35): 5616–5623.
- Eichhorst BF, Busch R, Stilgenbauer S et al. First-line therapy with fludarabine compared with chlorambucil does not result in a major benefit for elderly patients with advanced chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009; 114(16): 3382–3391. doi: 10.1182/blood-2009-02-206185.



21. Knauf WU, Lissichkov T, Aldaoud A et al. Phase III randomized study of bendamustine compared with chlorambucil in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2009; 27(26): 4378–4384. doi: 10.1200/JCO.2008.20.8389.
22. O'Brien S, Moore JO, Boyd TE et al. 5-year survival in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia in a randomized, phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide with or without oblimersen. *J Clin Oncol* 2009; 27(31): 5208–5212. doi: 10.1200/JCO.2009.22.5748.
23. Robak T, Jamrozik K, Gora-Tybor J et al. Comparison of cladribine plus cyclophosphamide with fludarabine plus cyclophosphamide as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia: a phase III randomized study by the Polish Adult Leukemia Group (PALG-CLL3 Study). *J Clin Oncol* 2010; 28(11): 1863–1869. doi: 10.1200/JCO.2009.25.9630.
24. Sutton L, Chevret S, Tournilhac O et al. Autologous stem cell transplantation as a first-line treatment strategy for chronic lymphocytic leukemia: a multicenter, randomized, controlled trial from the SFGM-TC and GFLLC. *Blood* 2011; 117(23): 6109–6119. doi: 10.1182/blood-2010-11-317073.
25. Elter T, Gercheva-Kyuchukova L, Pylypenko H et al. Fludarabine plus alemtuzumab versus fludarabine alone in patients with previously treated chronic lymphocytic leukaemia: a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2011; 12(13): 1204–1213. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70242-X.
26. Reynolds C, Di Bella N, Lyons RM et al. A Phase III trial of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab vs. pentostatin, cyclophosphamide, and rituximab in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Invest New Drugs* 2012; 30(3): 1232–1240. doi: 10.1007/s10637-011-9737-y.
27. Lepretre S, Aurran T, Mahé B et al. Excess mortality after treatment with fludarabine and cyclophosphamide in combination with alemtuzumab in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia in a randomized phase 3 trial. *Blood* 2012; 119(22): 5104–5110. doi: 10.1182/blood-2011-07-365437.
28. Niederle N, Megdenberg D, Balleisen L et al. Bendamustine compared to fludarabine as second-line treatment in chronic lymphocytic leukemia. *Ann Hematol* 2013; 92(5): 653–660. doi: 10.1007/s00277-012-1660-6.
29. Shvidel L, Shtalrid M, Bairey O et al. Conventional dose fludarabine-based regimens are effective but have excessive toxicity in elderly patients with refractory chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2003; 44(11): 1947–1950.
30. Ferrajoli A, O'Brien S, Wierda W et al. Treatment of patients with CLL 70 years old and older: a single center experience of 142 patients. *Leuk Lymphoma* 2005; 46 (Suppl 1): S86: abstr. P95.
31. Wierda WG, O'Brien S, Wang X et al. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2007; 109(11): 4679–4985.
32. Thurmes P, Call T, Slager S et al. Comorbid conditions and survival in unselected, newly diagnosed patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2008; 49(1): 49–56. doi: 10.1080/10428190701724785.
33. Wierda WG, O'Brien S, Wang X et al. Characteristics associated with important clinical end points in patients with chronic lymphocytic leukemia at initial treatment. *J Clin Oncol* 2009; 27(10): 1637–1643. doi: 10.1200/JCO.2008.18.1701.
34. Shanafelt TD, Jenkins G, Call TG et al. Validation of a new prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2009; 115(2): 363–372. doi: 10.1002/cncr.24004.
35. Pflug N, Bahlo J, Shanafelt TD et al. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014; 124(1): 49–62. doi: 10.1182/blood-2014-02-556399.
36. Goede V, Cramer P, Busch R et al. Interactions between comorbidity and treatment of chronic lymphocytic leukemia: results of German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group trials. *Haematologica* 2014; 99(6): 1095–1100. doi: 10.3324/haematol.2013.096792.
37. Lindeman RD. Changes in renal function with aging. Implications for treatment. *Drugs Aging* 1992; 2(5): 423–431.
38. Fliser D. Ren sanus in corpore sano: the myth of the inexorable decline of renal function with senescence. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(3): 482–485.
39. Presta P, Lucisano G, Fuiano L et al. The kidney and the elderly: why does the risk increase? *Int Urol Nephrol* 2012; 44(2): 625–632. doi: 10.1007/s11255-011-0063-2.
40. Plunkett W, Gandhi V, Huang P et al. Fludarabine: pharmacokinetics, mechanisms of action, and rationales for combination therapies. *Semin Oncol* 1993; 20 (5 Suppl 7): 2–12.
41. Moore MJ. Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clin Pharmacokinet* 1991; 20(3): 194–208.
42. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16(1): 31–41.
43. Martell RE, Peterson BL, Cohen HJ et al. Analysis of age, estimated creatinine clearance and pretreatment hematologic parameters as predictors of fludarabine toxicity in patients treated for chronic lymphocytic leukemia: a CALGB (9011) coordinated intergroup study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 50(1): 37–45.
44. Piccirillo JF, Tierney RM, Costas I et al. Prognostic importance of comorbidity in a hospital-based cancer registry. *JAMA* 2004; 291(20): 2441–2447.
45. Janssen-Heijnen ML, van Spronsen DJ, Lemmens VE et al. A population-based study of severity of comorbidity among patients with non-Hodgkin's lymphoma: prognostic impact independent of International Prognostic Index. *Br J Haematol* 2005; 129(5): 597–606.
46. Kobayashi Y, Miura K, Hojo A et al. Charlson Comorbidity Index is an independent prognostic factor among elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137(7): 1079–1084. doi: 10.1007/s00432-010-0973-x.
47. Wieringa A, Boslooper K, Hoogendoorn M et al. Comorbidity is an independent prognostic factor in patients with advanced-stage diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP: a population-based cohort study. *Br J Haematol* 2014; 165(4): 489–496. doi: 10.1111/bjh.12765.
48. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* 2008; 111(12): 5446–5456. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906.
49. Cheson BD, Bennett JM, Grever M et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 1996; 87(12): 4990–4997.
50. Cramer P, Hallek M. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia-what do we need to know? *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8(1): 38–47. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.167.
51. Extermann M, Hurria A. Comprehensive geriatric assessment for older patients with cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(14): 1824–1831.
52. Linn BS, Linn MW, Gurel L. Cumulative illness rating scale. *J Am Geriatr Soc* 1968; 16(5): 622–626.
53. Parmelee PA, Thuras PD, Katz IR et al. Validation of the Cumulative Illness Rating Scale in a geriatric residential population. *J Am Geriatr Soc* 1995; 43(2): 130–137.
54. Extermann M, Overcash J, Lyman GH et al. Comorbidity and functional status are independent in older cancer patients. *J Clin Oncol* 1998; 16(4): 1582–1587.
55. Wedding U, Rohrig B, Klippstein A et al. Age, severe comorbidity and functional impairment independently contribute to poor survival in cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133(12): 945–950.
56. Nabhan C, Smith SM, Helenowski I et al. Analysis of very elderly ( $\geq 80$  years) non-hodgkin lymphoma: impact of functional status and co-morbidities on outcome. *Br J Haematol* 2012; 156(2): 196–204. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08934.x.
57. Goede V, Fischer K, Busch R et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370(12): 1101–1110. doi: 10.1056/NEJMoa1313984.
58. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40(5): 373–383.
59. Sarfati D. Review of methods used to measure comorbidity in cancer populations: no gold standard exists. *J Clin Epidemiol* 2012; 65(9): 924–933. doi: 10.1016/j.jclinepi.2012.02.017.
60. Lin TL, Kuo MC, Shih LY et al. The impact of age, Charlson comorbidity index, and performance status on treatment of elderly patients with diffuse large B cell lymphoma. *Ann Hematol* 2012; 91(9): 1383–1391. doi: 10.1007/s00277-012-1463-9.
61. Holzner B, Kemmler G, Kopp M et al. Quality of life of patients with chronic lymphocytic leukemia: results of a longitudinal investigation over 1 yr. *Eur J Haematol* 2004; 72(6): 381–389.
62. Else M, Smith AG, Cocks K et al. Patients' experience of chronic lymphocytic leukaemia: baseline health-related quality of life results from the LRF CLL4 trial. *Br J Haematol* 2008; 143(5): 690–697. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07407.x.
63. Shanafelt TD, Bowen D, Venkat C et al. Quality of life in chronic lymphocytic leukemia: an international survey of 1482 patients. *Br J Haematol* 2007; 139(2): 255–264.
64. Eichhorst BF, Busch R, Obwandner T et al. Health-related quality of life in younger patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine plus cyclophosphamide or fludarabine alone for first-line therapy: a study by the German CLL Study Group. *J Clin Oncol* 2007; 25(13): 1722–1731.
65. Else M, Cocks K, Crofts S et al. Quality of life in chronic lymphocytic leukemia: 5-year results from the multicenter randomized LRF CLL4 trial. *Leuk Lymphoma* 2012; 53(7): 1289–1298. doi: 10.3109/10428194.2011.649479.
66. Pashos CL, Flowers CR, Kay NE et al. Association of health-related quality of life with gender in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Support Care Cancer* 2013; 21(10): 2853–2860. doi: 10.1007/s00520-013-1854-z.
67. van den Broek EC, Oerlemans S, Nijziel MR et al. Impact of active surveillance, chlorambucil, and other therapy on health-related quality of life in patients with CLL/SLL in the Netherlands. *Ann Hematol* 2015; 94(1): 45–56. doi: 10.1007/s00277-014-2161-6.
68. Altman SJ, Haut A, Cartwright GE et al. Early experience with p-(N,N-di-2-chloroethyl)-aminophenylbutyric acid (CB 1348), a new chemotherapeutic agent effective in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1956; 9(3): 512–517.
69. Hillmen P, Gribben JG, Follows GA et al. Rituximab plus chlorambucil as first-line treatment for chronic lymphocytic leukemia: Final analysis of an open-label phase II study. *J Clin Oncol* 2014; 32(12): 1236–1241. doi: 10.1200/JCO.2013.49.6547.
70. Catovsky D, Else M, Richards S. Chlorambucil – still not bad: a reappraisal. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2011; 11 (Suppl 1): S2–S6. doi: 10.1016/j.clml.2011.02.006.
71. Hillmen P, Robat T, Janssens A et al. Ofatumumab + chlorambucil versus chlorambucil alone in patients with untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL): results of the phase III Study Complement 1 (OMB110911). *ASH Annual Meeting abstracts*. *Blood* 2013; 122(21): 528.

72. Fischer K, Cramer P, Busch R et al. Bendamustine in combination with rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J Clin Oncol* 2012; 30(26): 3209–3216. doi: 10.1200/JCO.2011.39.2688.
73. Marotta G, Bigazzi C, Lenoci M et al. Low-dose fludarabine and cyclophosphamide in elderly patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia refractory to conventional therapy. *Haematologica* 2000; 85(12): 1268–1270.
74. Forconi F, Fabbri A, Lenoci M et al. Low-dose oral fludarabine plus cyclophosphamide in elderly patients with untreated and relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol* 2008; 26(4): 247–251. doi: 10.1002/hon.868.
75. Smolej L, Brychtova Y, Doubek M et al. Low-dose FCR is a safe and effective treatment option for elderly/comorbid patients with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. Updated Results of Project Q-Lite By Czech CLL Study Group. *ASH Annual Meeting Abstracts*. *Blood* 2014; 124(21): 4670.
76. Mulligan SP, Gill D, Turner P et al. A Randomised dose De-Escalation Study of oral fludarabine ± oral cyclophosphamide and intravenous rituximab as first-line therapy of fit patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL) aged ≥65 years: final analysis of response and toxicity. *ASH Annual Meeting Abstracts*. *Blood* 2014; 124(21): 3325.
77. Keating MJ, O'Brien S, Kontoyiannis D et al. Results of first salvage therapy for patients refractory to a fludarabine regimen in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2002; 43(9): 1755–1762.
78. Keating MJ. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* 2002; 99(10): 3554–3561.
79. Fiegl M, Stauder R, Steurer M et al. Alemtuzumab in chronic lymphocytic leukemia: final results of a large observational multicenter study in mostly pretreated patients. *Ann Hematol* 2014; 93(2): 267–277. doi: 10.1007/s00277-013-1966-z.
80. Tam CS, O'Brien S, Lerner S et al. The natural history of fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia patients who fail alemtuzumab or have bulky lymphadenopathy. *Leuk Lymphoma* 2007; 48(10): 1931–1939.
81. Wierda WG, Kipps TJ, Mayer J et al. Ofatumumab as single-agent CD20 immunotherapy in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28(10): 1749–1755. doi: 10.1200/JCO.2009.25.3187.
82. Fischer K, Cramer P, Busch R et al. Bendamustine combined with rituximab in patients with relapsed and/or refractory chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J Clin Oncol* 2011; 29(26): 3559–3566. doi: 10.1200/JCO.2010.33.8061.
83. Bowen DA, Call TG, Jenkins GD et al. 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): 2412–2417.
84. Pileckyte R, Jurgutis M, Valceckiene V et al. Dose-dense high-dose methylprednisolone and rituximab in the treatment of relapsed or refractory high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2011; 52(6): 1055–1065. doi: 10.3109/10428194.2011.562572.
85. Šimkovič M, Motyčková M, Belada D et al. Five years of experience with rituximab plus high-dose dexamethasone for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Arch Med Sci*. In press 2016; 12: (2).
86. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013; 369(1): 32–42. doi: 10.1056/NEJMoa1215637.
87. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(3): 213–223. doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
88. Brown JR, Byrd JC, Coutre SE et al. Idelalisib, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110δ, for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014; 123(22): 3390–3397. doi: 10.1182/blood-2013-11-535047.
89. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 370(11): 997–1007. doi: 10.1056/NEJMoa1315226.
90. ClinicalTrials.gov [homepage on the Internet]. Chronic lymphocytic leukemia. [cited 2015 July 20]. Available from: [http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=chronic+lymphocytic+leukemia&recr=Open&no\\_unk=Y&type=Intr&phase=12&pg=1](http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=chronic+lymphocytic+leukemia&recr=Open&no_unk=Y&type=Intr&phase=12&pg=1).

# Léčba chronické lymfocytární leukemie s aberací *TP53*

## Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia with *TP53* Aberrations

Lysák D.<sup>1</sup>, Schwarz J.<sup>2</sup>

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

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

### Souhrn

Pacienti s chronickou lymfocytární leukémií s prokázanou delecí krátkého raménka 17. chromozomu (17p-) nebo mutací genu *TP53* mají významně horší prognózu s vyšším rizikem progresu do symptomatického onemocnění, horší a kratší odpovědi na chemoimunoterapii a častějším výskytem Richterova syndromu. *TP53* delece/mutace je aktuálně jediná genetická abnormalita, která nezávisle predikuje odpověď na léčbu a zároveň ovlivňuje volbu léčebného postupu u chronické lymfocytární leukemie. Práce sumarizuje léčebné možnosti u této prognosticky nepříznivé varianty chronické lymfocytární leukemie. Tradiční chemoimunoterapie (např. FCR) nenabízí dlouhodobou kontrolu nemoci a pacienti s del(17p) byli obvykle zvažováni k provedení alogenní transplantace kostní dřeně. Nové molekuly ze skupiny BCR inhibitorů nebo BCL2 antagonistů dosahují u chronické lymfocytární leukemie s del(17p) výbornou efektivitu, dokonce u relabujících/refrakterních (R/R), s vyšším procentem dosažených odpovědí a prodlouženým přežitím bez progresu. Probíhají klinické studie, které mají určit optimální léčebný postup s cílem navodit dlouhodobou remisi onemocnění. Nové molekuly mění algoritmy pro léčbu pacientů s delecí/mutací *TP53* a také indikaci alogenní transplantace. Zejména mladší pacienti by měli být konzultováni v centrech pro intenzivní hematologickou péči, aby se mohli zvážit jejich zařazení do klinických studií testujících nové molekuly nebo v optimální dobu indikovat alogenní transplantaci.

### Klíčová slova

chronická lymfocytární leukemie – rizikové faktory – delece 17p – *TP53* – transplantace

### Summary

Patients with chronic lymphocytic leukemia with deletion of the short arm of chromosome 17 (17p-) or mutation of the *TP53* gene have significantly worse prognosis with a higher risk of progression to symptomatic disease, worse and shorter responses to chemo-immunotherapy, and more frequent occurrence of Richter's syndrome. *TP53* deletion/mutation is currently the only genetic abnormality that independently predicts response to treatment and also affects the choice of therapeutic approach in chronic lymphocytic leukemia. This work summarizes treatment options available for this poor prognosis variant of chronic lymphocytic leukemia. Traditional chemo-immunotherapy (e.g. FCR) does not offer long-term disease control, and patients with *TP53* deletion/mutation were usually considered to undergo allogeneic bone marrow transplantation. New molecules from the group of BCR inhibitors or BCL2 antagonists achieve excellent efficacy in chronic lymphocytic leukemia with del17p even in relapsed/refractory (R/R) cases, with a higher percentage of responses and prolonged survival without progression. Clinical trials are ongoing to determine optimal therapeutic approach and to induce long-term remission of the disease. The new molecules change algorithms for treatment of patients with *TP53* aberration, including indication for allogeneic transplantation. Especially younger patients should be consulted in centers of intensive hematological care to consider their inclusion into clinical trials testing new molecules or to indicate allogeneic transplantation at the optimal time.

### Key words

chronic lymphocytic leukemia – risk factors – deletion 17p – *TP53* – transplantation

Práce byla podpořena Programem rozvoje vědních oborů Karlovy Univerzity (projekt P36) a projektem Ministerstva zdravotnictví koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00669806 – FN Plzeň.

This study was supported by the Charles University Research Fund (project number P36) and by the project of Ministry of Health, Czech Republic – conceptual development of research organization (Faculty Hospital in Pilsen – FNPI, 00669806).

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.  
Hematologicko-onkologické oddělení  
FN Plzeň  
alej Svobody 80  
304 60 Plzeň-Lochotín  
e-mail: lysak@fnplzen.cz

Obdrženo/Submitted: 4. 8. 2015  
Přijato/Accepted: 5. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153539>

## Úvod

Delece krátkého raménka 17. chromozomu del(17p), zahrnující gen *TP53* (v pruhu 17p13.1), představuje nejdůležitější prognostický faktor u chronické lymfocytární leukemie (CLL). Pacienti s aberací *TP53* progredují rychleji do symptomatického onemocnění vyžadujícího léčbu, mají kratší trvání odpovědi na chemoimunoterapii a medián jejich celkové přežití (overall survival – OS) je kratší než tři roky od zahájení léčby [1–3]. Přítomnost této genetické abnormality řadí nemocné do skupiny tzv. vysoce rizikových CLL (high-risk nebo dokonce ultra high-risk), kam spadají také pacienti refrakterní na purinová analoga nebo časně relabující po chemoimunoterapii (< 24 měsíců). Tito nemocní představují cca 10–15 % všech léčených pacientů [3,4].

Del(17p) lze při vyšetření fluoroscenční *in situ* hybridizací (FISH) nalézt u asi 5–10 % nově diagnostikovaných CLL. Delece vede ke ztrátě jedné alely genu *TP53* (kódujícího tumor protein p53). Nález je obvykle spojen s dysfunkční mutací zbývající alely *TP53* (ve více než 90 % případů) [4,5]. Delece jednoho *TP53* lokusu a/nebo mutace druhého pak vedou k narušení funkce *TP53* dráhy, která je důležitá pro zprostředkování buněčné smrti po expozici cytostatikům poškozujícím DNA, jako jsou fludarabin nebo bendamustin. Tento mechanismus vysvětluje rezistenci na p53-dependentní terapie, která nemůže být překonána ani přidáním anti-CD20 protilátky. Výsledkem je velmi špatná odpověď na konvenční terapii FC (fludarabin + cyklofosfamid), resp. FCR (totéž + rituximab) – celková míra odpovědi (overall response rate – ORR) a kompletních remisí (complete remission – CR) byla po FC 34 a 0 %; resp. 68 a 5 % po FCR; krátké přežití bez progresu (progression free survival – PFS; medián 11 měsíců) a krátký medián celkové přežití (overall survival – OS) do 2–3 let [6–8].

Gen *TP53* (resp. protein p53) je důležitý regulátor buněčného cyklu, který chrání buňku před genotoxickými a onkogenními vlivy a je aktivován v reakci na buněčný stres, jakým je např. poškození DNA, hypoxie či oxidativní zátěž. Při poškození DNA cytostatiky nebo radioterapií je *TP53* upregulován. Aktivovaný

protein p53 podporuje transkripci genů odpovědných za obnovu DNA, a pokud mechanismus obnovy DNA selže, spouští *TP53*-dependentní buněčnou apoptózu. Protein p53 tak indukuje reparační buněčné mechanismy nebo apoptózu při nenapravitelném poškození DNA, resp. celé buňky.

*TP53* tedy hraje důležitou roli v onkogenezi a odpovědi na chemoterapii u řady humánních solidních i hematologických nádorů a je důležitý pro kontrolu maligní transformace buněk i jejich odpovědi na cytostatika. Je pravděpodobně nejvýznamnějším nádorovým supresorem, který má zásadní roli v prevenci vzniku a vývoje nádorů a který brání kumulaci genetických změn. *TP53* je suprimován nebo mutován u více než 50 % nádorů u člověka. Neschopnost mutovaného proteinu p53 správně indukovat apoptózu vysvětluje rezistenci na chemoterapii. Dysfunkce p53 je zároveň hlavní důležitou příčinou genomické nestability CLL lymfocytů. Ta umožňuje získání dalších genetických aberací, které mohou být výhodné pro přežití a selekci postižených buněk v rámci klonálního vývoje.

Prevalence del(17p) se u CLL mění v průběhu onemocnění. V době diagnózy a při úvodní léčbě je del(17p)/*TP53* přítomna max. u 10 % nemocných. Opakovaná expozice cytostatikům poškozujícím DNA může vést ke klonální selekci rezistentních klonů, takže při relapsu onemocnění je to již kolem 20 % nemocných a u opakovaně relabujících nebo refrakterních (R/R) onemocnění může záchyt stoupat až na 50 %. Méně často se vyskytuje defekt *TP53* nezpůsobený del(17p), nýbrž mutací jedné z alel *TP53*. Mezi neléčenými pacienty bez delece 17p je mutace *TP53* přítomna v cca 4–5 % případů [8–11]. Prognóza těchto pacientů je stejně nepříznivá jako v případě del(17p) [8,12]. Aberace *TP53* jsou častější u nemocných s nemutovaným *IGHV*, u kterých se vyskytují v 15–20 % případů. Naopak v případě některých subgenů (např. *IGHV3-21*) jsou defekty *TP53* vzácné [13].

Metoda vhodná pro detekci del(17p) je FISH [14]. Vedle FISH analýzy doporučuje European Research Initiative on CLL (ERIC) také začlenit vyšetření *TP53* mu-

tace pomocí sekvenačních technik do rutinní diagnostiky [15]. Vyšetření *TP53* je důležitou součástí vstupní diagnostiky, neboť pomáhá stanovit individuální prognózu daného pacienta a také určuje výběr vhodné terapie. Vzhledem k tomu, že se defekty v genu *TP53* objevují v důsledku selekčního tlaku terapie v průběhu onemocnění, mělo by být vyšetření delece/mutace *TP53* prováděno opakovaně v průběhu onemocnění, minimálně u fit pacientů a zejména před zahájením další linie léčby. To umožní včasné odhalení pacientů s vysoce rizikovou CLL, kteří mohou být rezistentní na terapii a mohou vyžadovat změnu léčebného postupu, event. zvážení indikace alogenní transplantace.

## Zahájení léčby

Léčba CLL s delecí/mutací *TP53* by měla být zahájena až v případě aktivního onemocnění, v souladu s obecně platnými pravidly pro zahájení léčby. Snadnější dostupnost diagnostických metod, jako je průtoková cytometrie a její častější screeningové využití, zvyšuje počty nemocných, u kterých je diagnostikována CLL v časném stadiu. Malá část nemocných má pak při záchyťovém cytogenetickém vyšetření detekováno del(17p), tedy genetický parametr s jasně nepříznivou prognózou. Tato informace nicméně nemění postup při dispenzarizaci pacienta do doby splnění kritérií indikujících zahájení léčby. Aktuálně nejsou k dispozici žádné informace podporující zahájení léčby u asymptomatické CLL s delecí/mutací *TP53*. Naopak její časně zahájení může vést k selekci rezistentních klonů, které mohou komplikovat budoucí léčbu. Přestože je přítomnost delece/mutací *TP53* spojena s vysokým rizikem progresu do symptomatického onemocnění, pouze kolem 50 % nemocných splní indikaci k zahájení terapie v prvních třech letech sledování [16]. Navíc malá skupina nemocných s delecí/mutací *TP53* může mít indolentní klinický průběh s dlouhodobým přežitím [17,18]. Tito nemocní bývají charakterizováni mutovaným stavem *IGHV*, časným stadiem (Rai 0), mladším věkem [18]. Samotná CLL také existuje u konkrétního pacienta ve formě vícečetných subklonů, jejichž zastou-



pení se může v čase měnit [19] a jsou popsány dokonce případy vymizení 17p- klonu [18]. Pacienti se získáním delece/mutace *TP53* mívají horší prognózu než pacienti s *de novo* aberací v době diagnózy [18]. Mimo klinické studie tedy není vlastní rozhodnutí o zahájení léčby u CLL s delecí a mutací určováno informací o přítomnosti *TP53* defektu, ale řídí se standardními IWCLL kritérii [14]. Nicméně přítomnosti delece/mutace *TP53* v době indikace k terapii musí odpovídat volba adekvátní léčby.

### Léčebné možnosti v primoléčbě a relapsu

Chemoimunoterapie, která je v současné době stále standardem v 1. linii léčby u pacientů v dobrém celkovém stavu, bohužel nepřináší uspokojivou odpověď a kontrolu onemocnění v případě nepříznivých biologických vlastností onemocnění, jako je aberace *TP53*. Protokol FCR, který je jinak u CLL velmi účinný a přináší vysoké procento CR (40–70 %), má u pacientů s touto aberací menší účinnost – cca 70 % odpovědi a pouze 5 % CR [6,12]. Přítomnost delece/mutací *TP53* je nejdůležitější negativní prognostický faktor určující kratší PFS (medián 11,3 měsíce) a kratší OS [6]. Pouze kolem 25 % pacientů s del(17p) dosahuje dlouhodobé remise  $\geq 3$  roky po primoléčbě FCR nebo podobným protokolem [20].

Pokud by byl FCR zvažován jako indukční léčba, mělo by jeho použití být omezeno spíše na mladší pacienty, s nízkým zastoupením delece *TP53* a nekomplexním karyotypem. I v této situaci však může být FCR v budoucnu vytlačen novými molekulami. Prognóza onemocnění je ovlivněna nejen přítomností, ale také velikostí *TP53* klonu (dle procentního zastoupení buněk s aberací). Pacienti s menším klonem (< 25 %) mají, zejména v nepřítomnosti dalších nepříznivých indikátorů, signifikantně delší čas do zahájení léčby i OS (92 % ve třech letech) než nemocní s velkými klony [18].

Nemocní, kteří dosáhnou CR, event. nodulární parciální remisí (nodular partial remission – nPR), mívají delší trvání této remise do progresu (medián 37 vs. 8 měsíců). Lepší eradikace onemocnění je spojena také s delším OS (medián ne-

dosažen vs. 32 měsíců, při mediánu sledování 33 měsíců). Proto by dosažení CR/nPR mělo být považováno za minimální terapeutický cíl [16]. Kombinační protokol bendamustinu a rituximabem (BR), přestože jeho cytotoxický efekt zahrnuje *TP53* dependentní i *TP53* nezávislý mechanismus a přestože bendamustin prokázal účinnost v klinických studiích zaměřených na relabující/refraktérní CLL, nabízí ještě horší kontrolu nemoci v porovnání s FCR [21].

V případě relabující CLL s del(17p) jsou výsledky léčby pomocí obou režimů, FCR i BR, neuspokojivé s celkovou odpovědí 35, resp. 7 % a mediánem PFS 5–7 měsíců [22]. Tyto protokoly by tedy neměly být mimo léčbu 1. linie zvažovány, možná s výjimkou pokusu o snížení nálože CLL buněk před transplantací (ale i zde budou patrně preferenčně používány nové molekuly – viz níže).

Při léčbě pacientů s defektem *TP53* se využívají také preparáty, jejichž mechanismus účinku je na *TP53* nezávislý, především alemtuzumab [23,24], kortikosteroidy nebo lenalidomid. Alemtuzumab v monoterapii nabízí odpověď u cca 40–60 % relabujících/refraktérních pacientů (0–20 % CR), s mediánem trvání remise 6–8 měsíců [25–27]. V primoléčbě je celková odpověď sice vyšší (64 %, CR 27 %), ovšem medián PFS je u pacientů s delecí/mutací *TP53* přesto významně kratší (11 měsíců) v porovnání s ostatními genetickými podskupinami [28]. Slibnou aktivitu u CLL s aberací *TP53* má kombinace alemtuzumabu s vysokodávkovanými kortikosteroidy, kdy je možnost dosažení až 90 % celkových odpovědí a medián PFS 18 měsíců [29]. Léčba alemtuzumabem je ovšem spojena s výraznou deplecí T lymfocytů a s tím souvisejícím rizikem infekčních komplikací [25,26,30], a to zejména při snaze o intenzifikaci kombinací protilátky s další chemoimunoterapií. Alemtuzumab proto musí být podáván pouze v centrech, která mají zkušenost s podpůrnou léčbou, monitorací a léčbou oportunních infekcí.

Vysokodávkované kortikosteroidy jsou další léčebnou možností u refraktérní CLL včetně pacientů s nepříznivou cytogenetikou. Celková odpověď u delecí *TP53* CLL se pohybuje mezi

50 a 80 % [31]. Kombinace vysokých dávek metylprednisolonu s rituximabem umožnila u předléčených nemocných s aberacemi *TP53* dosáhnout 69 % celkových odpovědí [32].

Ofatumumab je schopen navodit odpověď u 41 % pacientů s aberací *TP53* rezistentních na fludarabin a alemtuzumab, ovšem trvání odpovědi je krátké (PFS 6 měsíců). Lepších výsledků se dosahuje jeho kombinací s cyklofosfamidem a fludarabinem (63 % odpovědi včetně 13 % CR), ovšem za cenu vyšší hematologické toxicity [33,34]. Tato protilátka má však nižší efektivitu oproti novým inhibitorům (viz níže). Při porovnání s ibrutinibem byl medián PFS 5,8 měsíce pro ofatumumab, avšak nebyl dosažen ve skupině léčené ibrutinibem [35]. Jako výhodná se naopak jeví kombinace s dexametazonem (O-dex), kde byl u R/R pacientů s defektem p53 dosažen ORR 63 % s mediánem PFS 10,5 měsíce [36].

Povzbudivých výsledků při léčbě CLL s delecí/abrací *TP53* dosahují také imunomodulační léky, jako např. lenalidomid. Zejména v kombinaci s rituximabem vykazuje lenalidomid lepší kvalitu odpovědi bez zvýšení rizika toxicity (celková odpověď 66 %, doba do progresu 17 měsíců) [37].

Přes nepochybné zlepšení odpovědi na terapii i přežití u pacientů s aberací *TP53* po výše uvedených terapeutických režimech zůstává tato genetická abnormalita zásadním nepříznivým prognostickým znakem. Pro léčbu nemocných s touto aberací se proto hledají nové a efektivnější léky a postupy.

### Nové molekuly

Nové léky typu inhibitorů BCR signalizace (BCRi) nebo antagonistů antiapoptotické dráhy BCL2 (BCL2a) vykazují vynikající aktivitu u všech genetických subtypů CLL, včetně onemocnění s delecí/mutací *TP53* [38–41]. Do první z těchto skupin patří ibrutinib. Při jeho užití v monoterapii dosahují pacienti s R/R CLL s del(17p) více než 80 % celkových odpovědí (včetně parciální remise s lymfocytózou – PRL), což je podstatně více v porovnání s historickými soubory léčenými chemoimunoterapií. Pouze malé procento nemocných však splňuje kritéria CR (< 5 %). Přestože je odpověď

na léčbu podobná u pacientů s aberací i bez ní, pacienti s rizikovou cytogenetikou po úvodní dobré odpovědi časněji relabují v porovnání s nemocnými bez aberace. Pravděpodobnost PFS je u nich 80 % ve 12 měsících a 50–60 % ve 24 měsících [42]. Zvýšené riziko relapsu není pravděpodobně dáno pouze přítomností aberace *TP53*, ale také komplexním karyotypem, který je u R/R CLL léčených ibrutinibem silnějším prediktorem biologického chování nemoci než aberace *TP53* [43]. Kombinace ibrutinibu s rituximabem nezlepšuje signifikantně efektivitu léčby u R/R CLL s aberací *TP53*. Naopak kombinovaná léčba idelalisibem a rituximabem poskytuje lepší výsledky v porovnání s monoterapií idelalisibem. Celkový počet odpovědí je kolem 80 % a medián PFS 17 měsíců [40]. Při použití v 1. linii léčby bude efektivita nových molekul u aberací *TP53* CLL pravděpodobně ještě vyšší. Je popsána téměř 100% celková odpověď s cca 10–30 % dosažení CR na menších souborech dosud neléčených nemocných s aberací *TP53* [41,44].

BCL2 antagonist venetoclax (ABT-199) byl použit v monoterapii či kombinaci s rituximabem pro léčbu R/R CLL s aberací *TP53*. Bylo dosaženo výborné celkové odpovědi (~80 %), ale na rozdíl od BCRi také nezanedbatelného procenta CR (~25 %), část pacientů byla dokonce MRD-negativních [45]. Studie testující venetoclax v 1. linii léčby u CLL s aberací *TP53* jsou stále v běhu.

V porovnání s dosud dostupnou terapií (kromě transplantace) poskytují nové molekuly dlouhodobější kontrolu nemoci u R/R CLL i v případě nepříznivé cytogenetiky. Pokud vezmeme v úvahu vysoké procento odpovědí, prodloužení PFS a také nízkou toxicitu nových molekul, je vhodné léčit pacienty s CLL s delecí/mutací *TP53* těmito preparáty již v 1. linii léčby. To v současné době znamená nabízet pacienty k zařazení do klinických studií testujících některou z nových molekul, event. zajistit úhradu přípravku dle §16. Pokud taková možnost není, je na místě indukční chemoimunoterapie. S ohledem na výbornou a dlouhodobou efektivitu inhibitorů u této vysoce rizikové populace pacientů lze v budoucnu pravděpodobně očekávat

výraznější prosazování ibrutinibu nebo tandemu idelalisib + rituximab v 1. linii léčby u CLL s delecí nebo mutací *TP53*.

Nové molekuly nejsou genotoxické a neměly by podporovat vznik rezistentních klonů podobně jako cytostatika fungující na principu poškozování DNA. Ovšem i při terapii těmito molekulami se může rozvinout rezistence, která je pravděpodobně dána genomickou nestabilitou přítomného CLL klonu [43] a může se projevit např. rozvojem Richtera syndromu [46]. Abnormality *TP53* si zachovávají nepříznivý prognostický dopad u R/R CLL i při léčbě novými molekulami. Pacienti s del(17p) relabují při léčbě BCRi/BCL2a dříve než pacienti bez této genetické změny a nové molekuly nemají dle aktuálních znalostí u vysoce rizikové CLL kurativní potenciál.

### Alogenní transplantace

Alogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk může u CLL nastolit dlouhotrvající remisi a představuje v současné době jedinou potenciálně kurativní modalitu tohoto onemocnění. Oproti standardní léčbě nemají pacienti s delecí 17. chromozomu po alogenní transplantaci horší výsledky [47,48]. V retrospektivní studii Evropské skupiny pro transplantaci kostní dřeně (EBMT) byl potvrzen přínos alogenní transplantace u CLL s delecí *TP53*. Po třech letech přežívalo 44 % pacientů, 37 % v trvající remisi onemocnění [49]. Řada studií pak potvrdila, že alogenní transplantace umožňuje dlouhodobé přežití (OS) 40–50 % pacientů s aberací *TP53* [47,49–51]. Recentní studie porovnáující transplantaci a netransplantační postup (tj. chemoimunoterapii) ukázala lepší OS transplantovaných pacientů (64 vs. 25 % ve dvou letech) [52].

Řada studií prokázala přítomnost efektu reakce štěpu proti leukemii (GVL) u CLL. Rozvoj reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) snižuje pravděpodobnost relapsu nebo progresu onemocnění po alogenní transplantaci. Kompletní eradikace leukemického klonu (MRD negativita) je dosažena pravděpodobněji u pacientů s GVHD nebo ji lze vyvolat pomocí imunomanipulace [53]. Reakce GVL je tak hlavní faktor zajišťující dlou-

hodobou kontrolu nemoci a vyléčení po alogenní transplantaci. Vhodným indikováním potransplantační imunoterapie u pacientů s vyšším rizikem relapsu onemocnění (přetrvávající reziduální nemoc, přetrvávající smíšený dárcovský chimerismus) je možné výsledky transplantaci léčby dále zlepšit a dosáhnout dlouhodobého OS kolem 75 % a PFS 65 % (u pacientů s delecí/mutací *TP53*: OS 61 % a PFS 60 % po čtyřech letech) [54].

Alogenní transplantace je bohužel zatížena určitou s relapsem nesouvisející mortalitou (15–30 % po dvou letech) a také u více než 25 % dlouhodobě přežívajících pacientů je významně snížena kvalita života v důsledku komplikací plynoucích z chronické formy GVHD. Na druhou stranu nemocní s del(17p) CLL léčení novými molekulami relabují navzdory kontinuálnímu podávání medikace a dlouhodobému potlačení nádorového klonu, část z nich dokonce ve formě Richtera syndromu. I přes nespornou efektivitu nových molekul u CLL s aberací *TP53* mohou někteří pacienti s touto genetickou abnormalitou z alogenní transplantace profitovat a minimálně části pacientů s vysoce rizikovou CLL může být alogenní transplantace kostní dřeně i v současné době nabídnuta. Indikace by měla být zvažována zejména u biologicky mladých nemocných ve věku do cca 65 let (výjimečně 70 let).

Klasická indikační kritéria vydaná v roce 2007 definují jako kandidáty alogenní transplantace nemocné, kteří: a) jsou refrakterní na purinová analoga nebo b) relabují do 12 měsíců po monoterapii purinovými analogy či do 24 měsíců po kombinačních režimech založených na purinových analogích anebo c) mají nepříznivý molekulární subtyp s poruchou signální dráhy *TP53* a vyžadují léčbu [55]. S dostupností nových molekul se tato tradiční kritéria definice vysoce rizikové CLL, která určovala indikaci k alogenní transplantaci, nepochybně změnila. V současné době není k dispozici zatím dostatek údajů, ale transplantaci algoritmy u CLL se budou dále vyvíjet a nové molekuly povedou ke změně doporučení pro indikaci nebo minimálně pro načasování alogenní transplantace.



Transplantaci není v současné době nutné provádět u CLL s aberací *TP53* v první remisi, s ohledem na to, že je velká šance na dosažení druhé remise novými molekulami a rozšiřuje se tak prostor pro provedení úspěšné transplantace, která není omezena na období po dosažení první remise. Transplantace tak bude zvažována zejména při relapsu onemocnění, a to ještě s větším důrazem na individuální situaci konkrétního pacienta. Při nedostatečné odpovědi R/R CLL na chemoimuniterapii moderními protilátkami nebo na léčbu novými molekulami bude pravděpodobně indikována alogenní transplantace. Naopak pacienti s dobrou odpovědí budou dispenzarizováni, resp. léčeni novými molekulami do progresu, anebo mohou být taktéž konsolidováni alogenní transplantací. Rozhodnutí mezi netransplantačním a transplantačním postupem u konkrétního nemocného bude vycházet z vyhodnocení rizika onemocnění na jedné straně a rizik spojených s transplantací na druhé straně. Vysoké riziko onemocnění, jako aberace *TP53*, a nízké riziko transplantace (mladší pacient bez komorbidit, s dobře shodným dárce) budou favorizovat transplantační postup a naopak nízké riziko onemocnění (bez této aberace) a vyšší předpokládané riziko transplantace budou akcentovat netransplantační cestu. Na základě dostupných informací nelze nyní označit ani jednu z těchto cest za lepší (dlouhodobá léčba novými molekulami vs. konsolidace transplantací). Celkové přežití bude v průběhu prvních dvou let podobné (60–80 %), v dalším období se bude u transplantovaných pacientů se senzitivním onemocněním jen mírně snižovat, zatímco dlouhodobá prognóza pacientů pokračujících v léčbě BCRi je nejasná a pro její predikci nejsou zatím dostatečné informace.

Nové molekuly najdou své využití i přímo u transplantovaných pacientů. Jejich aplikace v časném potransplantačním období může pomoci kontrolovat nemoc do doby, než je plně nastolen efekt reakce štěpu proti leukemii. Svě místo najdou také při léčbě potransplantačního relapsu nebo při snaze o odstranění perzistující minimální reziduální nemoci. Deplece B lymfocytů navozená

novými molekulami může mít přínos i oslabením rozvoje chronické GVHD.

V současné době jsou při alogenní transplantaci preferovány nemyeloablativní přípravné režimy, u kterých lze očekávat transplantační mortalitu nespojenou s relapsem do cca 25 %. Využití nepříbuzeneckého HLA kompatibilního dárce poskytuje stejné výsledky s podobným dlouhodobým OS (59 vs. 55 % po pěti letech) jako příbuzenecká transplantace s HLA kompatibilním sourozencem [47,49,56] a do budoucna lze očekávat spíše častější volbu mladého nepříbuzného dárce. Úspěch transplantace závisí také na jejím správném načasování. Transplantace by měla být zvažována v době, kdy je u nemocného možné navodit kvalitní remisi s co nejmenší zbytkovou nemocí. Progresivní onemocnění nebo výrazné předlčení pacienta (více než čtyřmi liniemi chemoterapie) mají nepříznivý vliv. Důležitou roli pochopitelně hraje i celkový stav nemocného a přežití se snižuje s rostoucím počtem komorbidit a transplantačním rizikem [47,56].

Nové molekuly tedy pravděpodobně alogenní transplantaci u vysoce rizikové CLL nenahradí, mohou ji však vhodně doplňovat a společně s GVL aktivitou navozenou transplantací dosáhnout dlouhodobé kontroly a vyléčení CLL. Transplantace by měla proto být prodiskutována s pacientem při prvním nebo maximálně druhém relapsu.

### Závěr

Aberace genu *TP53* jsou u pacientů s CLL zásadním prognostickým faktorem, který je nezávislý na ostatních biologických vlastnostech onemocnění. V posledních letech se objevilo několik nových molekul, které jsou velkou nadějí pro nemocné s vysoce rizikovou CLL. Pomocí BCRi nebo BCL2a lze dosáhnout dlouhodobé odpovědi u některých pacientů s delecí/mutací *TP53*. Budoucí léčba pravděpodobně bude spočívat v kombinaci různých molekul z různých farmakologických skupin. Její součástí bude nadále i alogenní transplantace, nicméně nové léky pravděpodobně změní doporučení pro indikaci a načasování alogenní transplantace a transplantace se bude zvažovat ještě s větším

důrazem na individuální situaci konkrétního pacienta.

Zejména mladší pacienti splňující kritéria vysoce rizikové CLL by měli být konzultováni v některém z center pro intenzivní hematologickou léčbu, kde může být nemocnému nabídnuto zařazení do klinické studie s novými molekulami, může být zvažována indikace alogenní transplantace a zahájeny s ní související kroky, jako např. proces vyhledávání dárce.

### Literatura

1. Döhner H, Fischer K, Bentz M et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 1995; 85(6): 1580–1589.
2. Best G, Thompson P, Tam CS. Diagnostic techniques and therapeutic challenges in patients with TP53 dysfunctional chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2012; 53(11): 2105–2115. doi: 10.3109/10428194.2012.692088.
3. Stilgenbauer S, Zenz T. Understanding and managing ultra high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Hematology. Am Soc Hematol Educ Program* 2010; 2010: 481–488. doi: 10.1182/asheducation-2010.1.481.
4. Zenz T, Gribben JG, Hallek M et al. Risk categories and refractory CLL in the era of chemoimmunotherapy. *Blood* 2012; 119(18): 4101–4107. doi: 10.1182/blood-2011-11-312421.
5. Shindiapina P, Brown JR, Danilov AV. A new hope: novel therapeutic approaches to treatment of chronic lymphocytic leukaemia with defects in TP53. *Br J Haematol* 2014; 167(2): 149–161. doi: 10.1111/bjh.13042.
6. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomized, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376(9747): 1164–1174. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61381-5.
7. Zent CS, Kay NE. Management of patients with chronic lymphocytic leukemia with a high risk of adverse outcome: the mayo clinic approach. *Leuk Lymphoma* 2011; 52(8): 1425–1434. doi: 10.3109/10428194.2011.568654.
8. Zenz T, Eichhorst B, Busch R et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28(29): 4473–4479. doi: 10.1200/JCO.2009.27.8762.
9. Zenz T, Mertens D, Kuppers R et al. From pathogenesis to treatment of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(1): 37–50. doi: 10.1038/nrc2764.
10. Zenz T, Häbe S, Denzel T et al. Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53–p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood* 2009; 114(13): 2589–2597. doi: 10.1182/blood-2009-05-224071.
11. Rossi D, Cerri M, Deambrogi C et al. The prognostic value of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia is independent of Del17p13: implications for overall survival and chemorefractoriness. *Clin Cancer Res* 2009; 15(3): 995–1004. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1630.
12. Badoux XC, Keating MJ, Wierda WG. What is the best frontline therapy for patients with CLL and 17p deletion? *Curr Hematol Malig Rep* 2011; 6(1): 36–46. doi: 10.1007/s11899-010-0069-3.
13. Malcikova J, Stalika E, Davis Z et al. The frequency of TP53 gene defects differs between chronic lymphocytic leukaemia subgroups harbouring distinct antigen receptors. *Br J Haematol* 2014; 166(4): 621–625. doi: 10.1111/bjh.12893.

14. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D et al. International workshop on chronic lymphocytic leukemia. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International workshop on chronic lymphocytic leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* 2008; 111(12): 5446–5456. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906.
15. Pospisilova S, Gonzalez D, Malcikova J et al. ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2012; 26(7): 1458–1461. doi: 10.1038/leu.2012.25.
16. Strati P, Keating MJ, O'Brien SM et al. Outcomes of first-line treatment for chronic lymphocytic leukemia with 17p deletion. *Haematologica* 2014; 99(8): 1350–1355. doi: 10.3324/haematol.2014.104661.
17. Tam OG, Gardiner AC, Davis ZA et al. A subset of Binet stage A CLL patients with TP53 abnormalities and mutated IGHV genes have stable disease. *Leukemia* 2009; 23(1): 212–214. doi: 10.1038/leu.2008.260.
18. Tam CS, Shanafelt TD, Wierda WG et al. De novo deletion 17p13.1 chronic lymphocytic leukemia shows significant clinical heterogeneity: the M. D. Anderson and Mayo Clinic experience. *Blood* 2009; 114(5): 957–964. doi: 10.1182/blood-2009-03-210591.
19. Schuh A, Becq J, Humphray S et al. Monitoring chronic lymphocytic leukemia progression by whole genome sequencing reveals heterogeneous clonal evolution patterns. *Blood* 2012; 120(20): 4191–4196. doi: 10.1182/blood-2012-05-433540.
20. Bosch F, Abrisqueta P, Villamor N et al. Rituximab, fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone: a new, highly active chemoimmunotherapy regimen for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2009; 27(27): 4578–4584. doi: 10.1200/JCO.2009.22.0442.
21. Eichhorst B, Fink A, Busch R et al. Frontline chemoimmunotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) shows superior efficacy in comparison to bendamustine (B) and rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL): final analysis of an international, randomized study of German CLL Study Group (GCLLSG) (CLL10 Study). *Blood* 2014; 124: abstr. 19.
22. Badoux XC, Keating MJ, Wang X et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab chemoimmunotherapy is highly effective treatment for relapsed patients with CLL. *Blood* 2011; 117(11): 3016–3024. doi: 10.1182/blood-2010-08-304683.
23. Smolej L, Prochazka V, Spacek M et al. Guidelines for alemtuzumab treatment in chronic lymphocytic leukaemia (CLL). *Vnitr Lek* 2012; 58(3): 232–236.
24. Doubek M, Jungova A, Brejcha M et al. Alemtuzumab in chronic lymphocytic leukemia treatment: retrospective analysis of outcome according to cytogenetics. *Vnitr Lek* 2009; 55(6): 549–554.
25. Stilgenbauer S, Zenz T, Winkler D et al. Subcutaneous alemtuzumab in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia: Clinical results and prognostic marker analyses from the CLL2H study of the german chronic lymphocytic leukemia study group. *J Clin Oncol* 2009; 27(24): 3994–4001. doi: 10.1200/JCO.2008.21.1128.
26. Lozanski G, Heerema NA, Flinn IW et al. Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions. *Blood* 2004; 103(9): 3278–3281.
27. Fiegl M, Erdel M, Tinhofer I et al. Clinical outcome of pretreated B-cell chronic lymphocytic leukemia following alemtuzumab therapy: a retrospective study on various cytogenetic risk categories. *Ann Oncol* 2010; 21(12): 2410–2419. doi: 10.1093/annonc/mdq236.
28. Hillmen P, Skotnicki AB, Robak T et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2007; 25(35): 5616–5623.
29. Pettitt AR, Jackson R, Carruthers S et al. Alemtuzumab in combination with methylprednisolone is a highly effective induction regimen for patients with chronic lymphocytic leukemia and deletion of TP53: final results of the national cancer research institute CLL206 trial. *J Clin Oncol* 2012; 30(14): 1647–1655. doi: 10.1200/JCO.2011.35.9695.
30. Keating MJ, Flinn I, Jain V et al. Therapeutic role of alemtuzumab (CAMPATH-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* 2002; 99(10): 3554–3561.
31. Bowen DA, Call TG, Jenkins GD et al. Methylprednisolone-rituximab is the national cancer research institute for patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia including those with unfavorable cytogenetic features. *Leuk Lymphoma* 2007; 48(12): 2412–2417.
32. Pilecky R, Jurgutis M, Valcekiene V et al. Dose-dense high-dose methylprednisolone and rituximab in the treatment of relapsed or refractory high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2011; 52(6): 1055–1065. doi: 10.3109/10428194.2011.562572.
33. Wierda WG, Kipps TJ, Mayer J et al. Ofatumumab as single-agent CD20 immunotherapy in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28(10): 1749–1755. doi: 10.1200/JCO.2009.25.3187.
34. Wierda WG, Kipps TJ, Dürig J et al. Chemoimmunotherapy with O-FC in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2011; 117(24): 6450–6458. doi: 10.1182/blood-2010-12-323980.
35. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(3): 213–223. doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
36. Doubek M, Brychtova Y, Panovska A et al. Ofatumumab added to dexamethasone in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: results from a phase II study. *Am J Hematol* 2015; 90(5): 417–421. doi: 10.1002/ajh.23964.
37. Badoux XC, Keating MJ, Wen S et al. Phase II study of lenalidomide and rituximab as salvage therapy for patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2013; 31(5): 584–591. doi: 10.1200/JCO.2012.42.8623.
38. Burger JA, Keating MJ, Wierda WG et al. Safety and activity of ibrutinib plus rituximab for patients with high-risk chronic lymphocytic leukaemia: a single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2014; 15(10): 1090–1099. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70335-3.
39. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE et al. Three-year follow-up of treatment-naïve and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood* 2015; 125(16): 2497–2506. doi: 10.1182/blood-2014-10-606038.
40. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 370(11): 997–1007. doi: 10.1056/NEJMoa1315226.
41. O'Brien S, Lamanna N, Kipps TJ et al. Update on a phase 2 study of idelalisib in combination with rituximab in treatment-naïve patients ≥ 65 years with chronic lymphocytic leukemia (CLL) or small lymphocytic lymphoma (SLL). *Blood* 2014; 124: abstr. 1994.
42. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013; 369(1): 32–42. doi: 10.1056/NEJMoa1215637.
43. Thompson PA, O'Brien SM, Wierda WG et al. Complex karyotype is a stronger predictor than del(17p) for an inferior outcome in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia patients treated with ibrutinib-based regimens. *Cancer* 2015. In press. doi: 10.1002/cncr.29566.
44. Farooqui MZ, Valdez J, Martyr S et al. Ibrutinib for previously untreated and relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with TP53 aberrations: a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol* 2015; 16(2): 169–176. doi: 10.1016/S1470-2045(14)71182-9.
45. Roberts AW, Ma S, Brander DM et al. Determination of recommended phase 2 dose of ABT-199 (GDC-199) combined with rituximab (R) in patients with relapsed/refractory (R/R) chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood* 2014; 124(21): abstr. 325.
46. Woyach JA, Ruppert A, Lozanski G et al. Association of disease progression on ibrutinib therapy with the acquisition of resistance mutations: a single-center experience of 267 patients. *Clin Oncol* 2014; 32: abstr. 7010.
47. Dreger P, Dohner H, Ritgen M et al. Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long-term clinical and MRD results of the German CLL study group CLL3X trial. *Blood* 2010; 116(14): 2438–2447. doi: 10.1182/blood-2010-03-275420.
48. Dreger P, Schnaiter A, Zenz T et al. TP53, SF3B1, and NOTCH1 mutations and outcome of allotransplantation for chronic lymphocytic leukemia: six-year follow-up of the GCLLSG CLL3X trial. *Blood* 2013; 121(16): 3284–3288. doi: 10.1182/blood-2012-11-469627.
49. Schetelig J, van Biezen A, Brand R et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia with 17p deletion: A retrospective european group for blood and marrow transplantation analysis. *J Clin Oncol* 2008; 26(31): 5094–5100. doi: 10.1200/JCO.2008.16.2982.
50. Khouri IF, Bassett R, Poindexter N et al. Nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia: long-term follow-up, prognostic factors, and effect of human leukocyte histocompatibility antigen subtype on outcome. *Cancer* 2011; 117(20): 4679–4688. doi: 10.1002/cncr.26091.
51. Sorror ML, Storer BE, Sandmaier BM et al. Five-year follow-up of patients with advanced chronic lymphocytic leukemia treated with allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *J Clin Oncol* 2008; 26(30): 4912–4920. doi: 10.1200/JCO.2007.15.4757.
52. Poon ML, Fox PS, Samuels BI et al. Allogeneic stem cell transplant in patients with chronic lymphocytic leukemia with 17p deletion: consult-transplant versus consult-no-transplant analysis. *Leuk Lymphoma* 2015; 56(3): 711–715. doi: 10.3109/10428194.2014.930848.
53. Ritgen M, Stilgenbauer S, von Neuhoff N et al. Graft-versus-leukemia activity may overcome therapeutic resistance of chronic lymphocytic leukemia with unmutated immunoglobulin variable heavy-chain gene status: implications of minimal residual disease measurement with quantitative PCR. *Blood* 2004; 104(8): 2600–2602.
54. Richardson SE, Khan I, Rawstron A et al. Risk-stratified adoptive cellular therapy following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for advanced chronic lymphocytic leukemia. *Br J Hematol* 2013; 160(5): 640–648. doi: 10.1111/bjh.12197.
55. Dreger P, Corradini P, Kimby E et al. Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus. *Leukemia* 2007; 21(1): 12–17.
56. Michallet M, Sobh M, Milligan D et al. The impact of HLA matching on long-term transplant outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for CLL: a retrospective study from the EBMT registry. *Leukemia* 2010; 24(10): 1725–1731. doi: 10.1038/leu.2010.165.

# Malé molekuly v léčbě chronické lymfocytární leukemie v roce 2015 a v blízké budoucnosti

## Small Molecules in the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia in 2015 and in the Near Future

Špaček M.

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze  
I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

Chronická lymfocytární leukemie je jedna z nejčastějších lymfoidních malignit a je charakteristická svým vysoce variabilním klinickým průběhem. Kombinované režimy jako fludarabin, cyklofosfamid a rituximab vedly ke zlepšení přežití mladších pacientů s chronickou lymfocytární leukemií a staly se standardem léčby u nemocných v dobrém stavu. Chronická lymfocytární leukemie však postihuje zejména starší nemocné a ne všichni pacienti jsou vhodní pro intenzivní chemoimunoterapii. Navíc nemocní s prognosticky nepříznivou cytogenetikou hůře odpovídají na standardní léčbu a remise mívá často krátké trvání. Rovněž léčebná úspěšnost u refrakterních onemocnění je velmi špatná. Avšak v posledním roce došlo ke změně terapeutického paradigmatu. Několik nových léků bylo schváleno pro terapii chronické lymfocytární leukemie, včetně ibrutinibu a idelalisibu. Jedná se o perorálně účinkující látky cílené na kinázy asociované s B buněčným receptorem. Ibrutinib je selektivní ireverzibilní inhibitor Brutonovy tyrozinkinázy, zatímco idelalisib selektivně inhibuje  $\delta$  izoformu fosfatidylinositol 3-kinázy (PI3K). Obě tyto látky prokázaly významnou účinnost u relabujících/refrakterních chronické lymfocytární leukemie, stejně jako u vysoce rizikových pacientů s delecí 17p a/nebo mutací TP53. V tomto článku podáváme přehled některých nových malých molekul, které jsou již schváleny pro léčbu nebo jsou v pokročilém klinickém vývoji.

### Klíčová slova

chronická lymfocytární leukemie – ibrutinib – idelalisib – rituximab – ABT-199

### Summary

Chronic lymphocytic leukemia is one of the most common lymphoid malignancies and is characterized by a highly heterogeneous clinical course. Combined regimens, such as fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab have led to improvements in survival in younger patients with chronic lymphocytic leukemia and have become the standard of care in fit patients. However, the majority of chronic lymphocytic leukemia patients are elderly and not all patients are eligible for aggressive chemoimmunotherapy. In addition, patients with poor-risk cytogenetics have inferior responses to standard treatments with often shorter durations of response. Furthermore, the treatment outcomes of refractory disease are dismal. Nevertheless, there has been a dramatic change in therapeutic paradigms in the past year. Several new drugs have been approved for the treatment of chronic lymphocytic leukemia, including ibrutinib and idelalisib. These new molecules are orally active agents and both target the B-cell receptor associated kinases. Ibrutinib is a selective, irreversible inhibitor of Bruton tyrosine kinase, whereas idelalisib selectively targets phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)  $\delta$  isoform. These agents have demonstrated remarkable activity in patients with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia, as well as patients with high-risk deletion of the 17p chromosome and/or TP53 mutation. This review focuses on some of the novel small molecules that are currently approved or in advanced clinical development.

### Key words

chronic lymphocytic leukemia – ibrutinib – idelalisib – rituximab – ABT-199

Práce byla podpořena prostředky z programu PRVOUK P27/LF1/1.

This study was supported by funds from the elementary science program PRVOUK P27/LF1/1.

Prohlašuji, že v souvislosti s výše uvedeným příspěvkem, jehož jsem autorem, mám stěžen zájmů s níže vypsányými společnostmi: Gilead, Janssen-Cilag a Roche (honoraria za přednáškovou činnost, cestovní granty).

I declare that, in connection with the above-mentioned contribution, which I am an author, I have a conflict of interest with the typed the following companies: Gilead, Janssen-Cilag and Roche (honoraria for lectures, travel grants).

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Martin Špaček, Ph.D.

I. interní klinika – klinika hematologie

1. LF UK a VFN v Praze

U Nemocnice 2

128 08 Praha 2

e-mail: m.spacek@centrum.cz

Obdrženo/Submitted: 28. 7. 2015

Přijato/Accepted: 2. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153545>

## Úvod

Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je častý typ zralé maligní proliferace z B lymfocytů. Jedná se o onemocnění s velmi variabilním klinickým průběhem. Základem léčby CLL jsou v současnosti chemoterapeutické režimy s anti-CD20 protilátkou, u mladších nemocných v dobrém stavu je standardem režim FCR (fludarabin, cyklofosamid, rituximab). Zavedení monoklonálních protilátek a kombinovaných imunochemoterapeutických režimů vedlo k výraznému zlepšení léčebných výsledků. U značné části pacientů s CLL ale není možné tyto intenzivní léčebné přístupy použít. Onemocnění totiž typicky postihuje zejména starší pacienty, medián věku při diagnóze je 72 let a přibližně pouze třetina nemocných je diagnostikována ve věku do 65 let [1]. Při výběru optimální léčby pro konkrétního pacienta je nutné zohlednit celou řadu faktorů. Vyšší věk, aktuální celkový stav, přítomnost komorbidit, renální insuficience apod. často limituje aplikaci standardní chemoterapie. Navíc vysoce riziková nemocní s přítomností CLL klonu s prognosticky nepříznivou delecí 17p (del(17p)) a/nebo mutací *TP53* vykazují značnou rezistenci ke standardní genotoxické chemoterapii. Rovněž pacienti s relapsem CLL mají často omezené terapeutické možnosti z důvodu rezistence na předchozí standardní terapii či pro přetrvávající následky toxicity podané léčby. Je zde proto velká potřeba nových terapeutických přístupů, které budou účinné i u vysoce rizikových pacientů a zároveň budou dostatečně bezpečné s nízkou toxicitou. Na základě narůstajících poznatků o patogenezi CLL se vyvíjí a začíná uplatňovat celá řada léků, které cíleně zasahují do specifických signálních drah či ovlivňují mikroprostředí kolem nádorových buněk. Díky tomu jsme v poslední době svědky přelomových změn v terapii CLL. Nové malé molekuly mají velice dobrou účinnost i u relabujících a refrakterních CLL, včetně pacientů s prognosticky nepříznivými cytogenetickými abnormalitami. Mimo to mají při selektivnějším působení nižší toxicitu proti standardní chemoterapii.

V tomto článku se detailněji zaměříme zejména na následující nové malé

molekuly: ibrutinib (inhibitor BTK), idelalisib (inhibitor PI3K $\delta$ ) a ABT-199 (Bcl2 inhibitor).

## Ibrutinib

Zásadní a přímou roli má v patogenezi CLL B buněčný receptor (BCR). Jedná se o transmembránový protein, který se skládá ze dvou částí: z antigen-specifického membránového imunoglobulinu (Ig) a z intracelulární části složené z Ig- $\alpha$ /Ig- $\beta$  řetězců (CD79 $\alpha$ /CD79 $\beta$ ). Stimulace BCR vede k aktivaci několika intracelulárních signálních drah, včetně aktivace Brutonovy tyrozinkinázy (BTK) a fosfatidylinositol 3-kinázy (PI3K). Tyto tyrozinkinázy dále propagují BCR signální dráhy, včetně mobilizace kalcia, aktivace AKT kinázy, ERK 1/2, NF- $\kappa$ B cesty a další. Na funkci BCR se tedy podílí celá řada kináz, které mohou být využity jako cíle pro novou terapii. První takovou schválenou látkou pro použití u CLL byl v roce 2014 ibrutinib, následovaný ve stejném roce idelalisibem.

Ibrutinib (PCI-32765) je perorální inhibitor BTK, který v preklinických studiích prokázal u CLL buněk proapoptotické a antiproliferativní působení i vliv na nádorové stroma [2]. Byrd et al [3] publikovali data ze studie fáze IB/II u pacientů s relapsem/refrakterní CLL nebo lymfomem z malých lymfocytů (small lymphocytic lymphoma – SLL). Použito bylo dvojí dávkování ibrutinibu u celkem 85 pacientů (51 nemocných dostávalo 420 mg a 34 pacientů 840 mg) s mediánem věku 66 let (rozmezí 37–82 let). Většina pacientů měla rizikové onemocnění s mediánem 4 předchozí linie léčby, 81 % mělo nemutovaný stav IgVH, del(17p) byla detekována u 33 % nemocných a v 52 % případech byla přítomna masivní lymfadenopatie (> 5 cm). Celková odpověď na léčbu (objective response rate – ORR) podle současných kritérií byla v obou kohortách 71 %. Další 15 pacientů (18 %) dosáhlo parciální remise (partial remission – PR) s persistující lymfocytózou. Rychle nastupující lymfocytóza po zahájení léčby, která přetrvává různě dlouhou dobu, je fenomén přítomný u všech BCR inhibitorů. Je způsoben lymfocytární redistribucí a odpovídá dosažení PR, ačkoli podle konvenčních kritérií se jako PR nedá hodnotit.

Terapeutická odpověď byla nezávislá na rizikových faktorech, včetně klinického stadia, počtu předchozích terapií či přítomnosti chromozomálních aberací. Například pacienti s del(17p) odpověděli na léčbu v 68 % (z toho jedna kompletní remise (complete remission – CP). Přežití bez progresu (progression-free survival – PFS) bylo ve 26 měsících 75 % a celkové přežití (overall survival – OS) 83 %. Vedlejší účinky byly převážně stupně 1/2 dle CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events) a zahrnovaly přechodný průjem (47 %), únavu (28 %) a infekce horních cest dýchacích (33 %).

V této studii byla také zahrnuta druhá skupina 29 pacientů nad 65 let s dříve neléčenou CLL a dva pacienti s dosud neléčeným SLL [3]. Medián věku byl 71 let (rozmezí 65–84 let). Recentně byla publikována data po tříletém sledování [4], přičemž 81 % pacientů stále pokračovalo s terapií ibrutinibem a medián délky na léčbě byl 30 měsíců (rozmezí 0,3–44 měsíce). ORR na léčbu byla 84 %, z toho 23 % byly CR. Důležité je, že kvalita i četnost odpovědí se zvyšovala s časem na terapii (medián dosažení CR 21 měsíců). Medián PFS nebyl dosažen a OS ve 30 měsících bylo 96 %. Nejčastější nežádoucí účinky během tříletého sledování byly hypertenze (23 %), průjem (16 %), infekce včetně pneumonie (13 %) a fibrilace síní (6 %). Cytopenie se vyskytly v méně než 5 % případů. Zajímavé je, že frekvence cytopenií, infekcí, průměry i další vedlejších účinků se snižovala s délkou léčby. Pouze 10 % pacientů ukončilo léčbu pro nežádoucí účinky a jeden pacient měl progresi onemocnění.

V roce 2014 byla publikována data z registrační studie fáze III RESONATE, která porovnávala ibrutinib s ofatumumabem u předléčených pacientů s CLL [5]. Celkově bylo randomizováno 391 pacientů do ramene s ibrutinibem (420 mg p.o. 1krát denně) nebo intravenózním ofatumumabem (iniciální dávka 300 mg, dále 2 000 mg týdně 7krát a dále po 4 týdnech 16 týdnů). Medián věku byl 67 let v obou ramenech, medián předchozích terapií byl 3 u ibrutinibu a 2 u ofatumumabu. Celková odpověď byla 43 % v rameni s ibrutinibem a 4 % u ofatu-



Tab. 1. Malé molekuly schválené k terapii CLL.

Látka	Mechanismus účinku	SPC indikace u CLL	Dávkování	Poznámka
ibrutinib (obchodní název Imbruvica®)	inhibitor Bruto- novy tyrozinkinázy (BTK)	pacienti s CLL, kteří již podstoupili alespoň jednu předchozí terapii, nebo v 1. linii léčby u pacientů s del(17p) nebo mutací <i>TP53</i> , u nichž není vhodná chemo-imunoterapie	420 mg 1krát denně p.o. (tj. 3 tbl 140 mg)	vyšší riziko krvácení – nutnost vysazení před chirurgickými výkony a opatrnost při souběžné antikoagulační či antiagregační terapii; riziko fibrilace síní; úprava dávky při současném podávání inhibitorů cytochromu P450
idelalisib (obchodní název Zydelig®)	inhibitor fosfatidy- linositol 3-kinázy $\delta$ (PI3K $\delta$ )	v kombinaci s rituximabem k léčbě pacientů s CLL, kteří podstoupili alespoň jednu předchozí léčbu, nebo jako léčba 1. linie při výskytu del(17p) nebo mutace <i>TP53</i> u pacientů nevhodných pro chemo-imunoterapii	150 mg 2krát denně p.o.	hlavní nehematologické nežádoucí účinky: elevace jaterních transamináz, průjem/kolitida, pneumonitida

CLL – chronická lymfocytární leukemie

mumabu. Navíc dalších 20 % pacientů léčených ibrutinibem dosáhlo PR s lymfocytózou. Rovněž rozdíl v PFS byl signifikantně lepší u ibrutinibu (medián nedosažen) proti ofatumumabu (medián 9,4 měsíce). Ve 12 měsících bylo OS 90 % u ibrutinibu a 81 % u ofatumumabu. Stejná četnost odpovědí na léčbu byla u všech pacientů bez ohledu na základní charakteristiky a prognostické faktory. Nežádoucí účinky stupně  $\geq 3$  častější v rameni s ibrutinibem zahrnovaly průjem (4 vs. 2 %) a fibrilaci síní (3 vs. 0 %). Nežádoucí účinky zahrnující všechny krvácivé příhody byly častější u ibrutinibu (44 %) proti ofatumumabu (12 %), avšak zahrnovaly převážně petechie a ekchymózy a nebyl rozdíl v incidenci závažných krvácivých příhod stupně  $\geq 3$  (dva pacienti na ibrutinibu a tři pacienti na ofatumumabu). Nutno ale poznamenat, že ze studie byli vyloučeni pacienti na warfarinu, nicméně jiná antikoagulace či antiagregace byla povolena.

Výsledky uvedených prací vedly v únoru 2014 v USA úřad FDA (Food and Drug Administration – Úřad pro kontrolu léčiv) ke schválení použití ibrutinibu pro léčbu pacientů s CLL, kteří podstoupili alespoň jednu předchozí terapii, a v červenci 2014 pak bylo schválení rozšířeno na pacienty s del(17p) v 1. linii. V Evropě je v současnosti rovněž schvá-

lena indikace ibrutinibu v monoterapii u pacientů s CLL, kteří již podstoupili alespoň jednu předchozí terapii, nebo v 1. linii u pacientů s del(17p) nebo mutací *TP53*, u nichž není vhodná chemo-imunoterapie (tab. 1).

#### Idelalisib

Jedním z dalších klíčových hráčů v přenosu BCR signálu je zmíněná cytoplazmatická tyrozinkináza PI3K. Izoforma PI3K $\delta$  je exprimována pouze v buňkách hematopoetického původu, přičemž signální dráha PI3K $\delta$  je často hyperaktivní u B lymfocytárních malignit, včetně CLL [6]. Idelalisib (CAL-101, GS-1101) je první selektivní perorální PI3K $\delta$  inhibitor vysoce indukující apoptózu CLL buněk. Na rozdíl od pan-PI3K inhibitorů nevykazuje idelalisib významnou cytotoxicitu k normálním NK buňkám a T lymfocytům [6]. Kromě přímého účinku na CLL buňky antagonizuje i podpurné faktory nádorového mikroprostředí a inhibuje tak chemotaxi či migraci CLL buněk.

Studie fáze I na 54 pacientech s relabující/refrakterní CLL prokázala účinnost idelalisibu v monoterapii v dávkování 50–350 mg 1–2krát denně [7]. Pacienti byli výrazně předléčení s mediánem 5 předchozích linií léčby (rozmezí 2–14), 70 % nemocných bylo refrakterních na poslední terapii a většina byla

s prognosticky nepříznivým nemutovaným stavem IgVH (91 %), s masivní lymfadenopatií (80 %) či s del(17p)/mutací *TP53* (24 %). ORR byla 72 %, medián doby do první odpovědi byl 1,9 měsíce a medián PFS byl 15,8 měsíce. Mezi nejčastější nežádoucí účinky jakéhokoli stupně patřila únava (31 %), průjem (30 %), teploty (28 %), vyrážka (22 %), infekce horních cest dýchacích (22 %) a pneumonie (22 %). Mezi nejčastěji pozorované nežádoucí účinky stupně  $\geq 3$  patřily pneumonie (20 %), febrilní neutropenie (11 %) a průjem (6 %).

Následující registrační studie fáze III u pacientů s relapsem CLL byla multicentrická, randomizovaná, dvojitě zaslepená a placebem kontrolovaná [8]. Celkem 220 pacientů bylo rozděleno do dvou léčebných ramen: rituximab s idelalisibem a rituximab s placebem. Iničiální dávka intravenózního rituximabu byla 375 mg/m<sup>2</sup>, následovaná čtyřmi dávkami 500 mg/m<sup>2</sup> každé dva týdny a dále třemi dávkami každé čtyři týdny. Idelalisib byl podáván perorálně v dávce 150 mg 2krát denně. Mezi zařazovací kritéria patřila progresse CLL do 24 měsíců po poslední terapii a nevhodnost podání cytotoxické terapie z důvodu myelosuprese jako následku předchozí léčby, snížené renální funkce nebo přítomnost významných komorbidit.

Medián věku zařazených pacientů byl 71 let (rozmezí 48–90 let), 85 % nemocných mělo komorbidní skóre CIRS > 6 (medián CIRS 8 v obou ramenech) a 40 % středně těžkou renální dysfunkci (clearance kreatininu < 60 ml/min). Pacienti měli medián tři předchozí linie terapie (rozmezí 1–12), které vesměs zahrnovaly rituximab, cyklofosfamid, fludarabin či bendamustin. Z negativních biologických prognostických znaků mělo přes 80 % pacientů nemutovaný stav IgVH a více než 40 % mělo del(17p) nebo mutaci TP53.

V době publikované analýzy byl medián podávání idelalisibu pouze 3,8 měsíce a 81 % pacientů v rameni s idelalisibem stále pokračovalo v terapii. Medián PFS byl 5,5 měsíce ve skupině s placebem a nebyl dosažen ve skupině s idelalisibem. Ve 12 měsících bylo OS 92 % u pacientů dostávajících idelalisib vs. 80 % u ramene s placebem ( $p = 0,02$ ), ORR (vše PR) 81 u idelalisibu vs. 13 % u placeba.

Mezi pět nejčastějších nežádoucích účinků u pacientů léčených idelalisibem s rituximabem patřila teplota, únava, nevolnost, zimnice a průjem. Průjem stupně  $\geq 3$  dle CTCAE se vyskytl u čtyř pacientů s idelalisibem a u žádného v případě placeba. Závažné nežádoucí účinky se objevily u 40 % pacientů s idelalisibem a rituximabem, zatímco v rameni s rituximabem a placebem to bylo ve 35 % případů. Nejčastější závažné nežádoucí účinky (výskyt  $\geq 5$  %) v rameni s idelalisibem zahrnovaly pneumonii (6 %), teploty (6 %), febrilní neutropenii (5 %) a v rameni s placebem pneumonii (8 %) a febrilní neutropenii (6 %). Nežádoucí účinky vedly k přerušení léčby u devíti pacientů (8 %) ve skupině s idelalisibem a u 11 pacientů (10 %) ve skupině s placebem. Elevace transamináz stupně  $\geq 3$  se vyskytla u šesti pacientů (5 %) v rameni s idelalisibem, ale v žádném z případů to nevedlo k ukončení terapie.

Výsledky práce Furmana et al vedly v roce 2014 k rychlému schválení FDA pro použití kombinace idelalisibu s rituximabem u pacientů s relapsem CLL, kteří nejsou vhodní k podání chemoterapie [8]. Evropská komise pak schválila kombinaci s rituximabem k léčbě

pacientů s CLL, kteří podstoupili alespoň jednu předchozí léčbu, nebo jako léčbu 1. linie při výskytu del(17p) anebo mutace TP53 u pacientů nevhodných pro imunochemoterapii (tab. 1).

### ABT-199

Kromě inhibice BCR je dalším slibným terapeutickým cílem protein Bcl-2 (B-cell lymphoma 2). Jedná se o důležitý antiapoptotický protein a v současné době je testována řada jeho inhibitorů. ABT-199 (venetoclax, GDC-0199) je perorální selektivní Bcl-2 inhibitor. V prvních studiích prokázal významnou klinickou aktivitu, ale také zvýšené riziko syndromu nádorového rozpadu (tumor lysis syndrome – TLS), vedoucí k nutnosti zahajování léčby s eskalací dávky za pečlivé monitorace. Seymour et al prezentovali data ze studie ABT-199 v monoterapii ve fázi I/II [9]. Dávka ABT-199 byla po týdnu navyšována z 20 mg na 50, 100, 200 a finálních 400 mg. Zařazeno bylo 84 pacientů s mediánem času ve studii 14,7 měsíce. V 57 % se jednalo o fludarabin rezistentní CLL, u 27 % pacientů byla prokázána del(17p). Nejčastější nežádoucí účinky byly průjem (37 %), nevolnost (36 %), neutropenie (35 %), infekce horních cest dýchacích (29 %) a únava (27 %). Nežádoucí účinky stupně 3/4 byly neutropenie (32 %), anémie (8 %), TLS (8 % včetně 1krát stupeň 5) a febrilní neutropenie, trombocytopenie, hyperglykemie a hypokalemie (vše 6 %). Léčbu přerušilo 28 nemocných, z toho 18 pro progresi CLL, osm kvůli nežádoucím účinkům a dva z jiného důvodu. Odpověď na léčbu byla 79 % (CR/CRi 22 %) s mediánem trvání 20,5 měsíce u 63 hodnotitelných pacientů. V případě del(17p) byla ORR 78 % a u fludarabin refrakterních 79 %.

ABT-199 vede k vysokému počtu dlouhodobých remisí u pacientů s relabující/refrakterní CLL, včetně nemocných refrakterních na fludarabin či s přítomností del(17p). Cílená inhibice Bcl-2 se jeví jako slibný terapeutický cíl a dá se očekávat, že ABT-199 bude pravděpodobně v blízké době další schválenou látkou v léčbě CLL.

### Ostatní malé molekuly

Kromě ibrutinibu a idelalisibu se v současné době testuje řada dalších malých

molekul působících na úrovni inhibice signální dráhy BCR. Prezentována byla např. slibná data z klinického hodnocení fáze I u relabujících/refrakterních CLL léčených BTK inhibitorem ONO-4059 [10]. Rovněž je ve vývoji několik nových inhibitorů PI3K. Duvelisib (IPI-145) je nový perorální PI3K- $\delta, \gamma$  inhibitor, který ve studii fáze I prokázal účinnost u vysoce předléčených pacientů s relabující/refrakterní CLL, včetně prognosticky nepříznivých CLL [11]. Další potenciálně terapeuticky ovlivnitelnou tyrozinkinázu, která se účastní BCR signalizace, je Syk (Spleen tyrosine kinase). Prvním klinicky testovaným Syk inhibitorem u CLL byl fostamatinib (R406), jeho použití je ale limitováno nízkou specifitou [12]. Sharman et al recentně publikovali data z fáze II klinického hodnocení nového perorálního selektivního inhibitoru Syk entospletinibu (GS-9973) [13]. Léčeno bylo 41 pacientů s relapsem/refrakterní CLL, medián PFS byl 13,8 měsíce a ORR 61 %, přičemž 29 % nemocných mělo závažné nežádoucí účinky.

### Závěr

Současným standardem léčby u mladších nemocných s CLL v dobrém stavu zůstává imunochemoterapie FCR, kterou ale nelze pro významnou toxicitu použít u starších či komorbidních pacientů. Také její účinnost u vysoce rizikových pacientů s CLL s přítomností del(17p) a/nebo mutací TP53 je omezená. Rovněž osud nemocných s relapsem po FCR je velmi nepříznivý [14]. Výzkum v oblasti patogeneze CLL přinesl nové poznatky o důležitosti signálních drah BCR, které se tak staly zdrojem pro vývoj cílené terapie. Mezi nové malé molekuly již schválené k terapii CLL patří ibrutinib (inhibitor BTK) a idelalisib (inhibitor PI3K $\delta$ ), v ČR však zatím nemají stanovenou úhradu ze zdravotního pojištění (stav v srpnu 2015). Pacienty potenciálně profitující z nové cílené léčby je vhodné odesílat do hematologických center, kde jim mnohdy může být nabídnuta i účast v klinických studiích s novými léky. Provedené klinické studie prokázaly vysokou účinnost obou nových preparátů v léčbě pacientů s CLL při poměrně nízké toxicitě, která jinak bývá spojena s intenzivními imunochemo-

terapeutickými režimy. Velmi dobrých a dlouhodobých léčebných odpovědí dosahují také u opakovaně relabujících nemocných s CLL, u pacientů refrakterních na standardní chemoterapii i v případě vysoce rizikových CLL s *del(17p)* a/nebo mutací *TP53*. Dosud publikovaná data, svědčící o jednoznačné účinnosti kinázových inhibitorů, již vedou ke změnám v léčebných doporučeních u CLL, a to včetně plánování a indikace alogenní transplantace kostní dřeně [15,16]. V dohledné době můžeme pravděpodobně očekávat schválení dalšího cíleného léku ABT-199, který působí na úrovni inhibice Bcl-2. Ve vývoji jsou také nové generace inhibitorů BTK, PI3K a Syk, které mají potenciál dále posunout terapeutické možnosti u CLL. V současné době probíhá mnoho klinických studií, na jejichž základě bychom měli získat odpovědi na další otázky spojené s cílenou léčbou, jako je výběr optimální léčebné kombinace pro terapii 1. linie a v relapsu, bezpečnost a účinnost při dlouhodobém podávání apod.

## Literatura

1. Howlader N, Noone AM, Krapcho et al. SEER cancer statistics review 1975–2009 (Vintage 2009 Populations). Bethesda: National Cancer Institute 2011.
2. Ponader S, Chen SS, Buggy JJ et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 thwarts chronic lymphocytic leukemia cell survival and tissue homing in vitro and in vivo. *Blood* 2012; 119(5): 1182–1189. doi: 10.1182/blood-2011-10-386417.
3. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013; 369(1): 32–42. doi: 10.1056/NEJMoa1215637.
4. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE et al. Three-year follow-up of treatment-naive and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood* 2015; 125(16): 2497–2506. doi: 10.1182/blood-2014-10-606038.
5. Byrd J, Brown J, O'Brien S et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(3): 213–223. doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
6. Herman SE, Gordon AL, Wagner AJ et al. Phosphatidylinositol 3-kinase-delta inhibitor CAL-101 shows promising preclinical activity in chronic lymphocytic leukemia by antagonizing intrinsic and extrinsic cellular survival signals. *Blood* 2010; 116(12): 2078–2088. doi: 10.1182/blood-2010-02-271171.
7. Brown R, Furman RR, Flinn I et al. Final results of a phase I study of idelalisib (GSE 1101) a selective inhibitor of PI3K {delta}, in patients with relapsed or refractory CLL. *J Clin Oncol* 2013; abstr. 7003.
8. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 370(11): 997–1007. doi: 10.1056/NEJMoa1315226.
9. Seymour JF, Davids MS, Pagel JM et al. ABT-199 (GDC-0199) in relapsed/refractory (R/R) chronic lymphocytic leukemia (CLL) and small lymphocytic lymphoma (SLL): high completeresponse rate and durable disease control. *J Clin Oncol* 2014; 32: abstr. 7015.
10. Fegan C, Bagshawe J, Salles J et al. The Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitor ONO-4059: promising single agent activity and well tolerated in patients with high risk chronic lymphocytic leukaemia. American Society of Hematology ASH Annual Meeting and Exposition, December 2014; San Francisco. Abstr. 3328.
11. Flinn I, Patel M, Kahl BS et al. Preliminary safety and efficacy of IPI-145, a potent inhibitor of PI3K $\delta$ , in patients with CLL. American Society of Hematology 55th Annual Meeting and Exposition, December 7–10, 2013; New Orleans, LA. Abstr. 677.
12. Friedberg JW, Sharman J, Sweetenham J et al. Inhibition of Syk with fostamatinib disodium has significant clinical activity in non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2010; 115(13): 2578–2585. doi: 10.1182/blood-2009-08-236471.
13. Sharman J, Hawkins M, Kolibaba K et al. An open-label phase 2 trial of entospletinib (GS-9973), a selective spleen tyrosine kinase inhibitor, in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2015; 125(15): 2336–2343. doi: 10.1182/blood-2014-08-595934.
14. Panovska A, Smolej L, Lysak D et al. The outcome of chronic lymphocytic leukemia patients who relapsed after fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab. *Eur J Haematol* 2013; 90(6): 479–485. doi: 10.1111/ejh.12106.
15. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2015 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol* 2015; 90(5): 446–460. doi: 10.1002/ajh.23979.
16. Dreger P, Schetelig J, Andersen N et al. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: stem cell transplantation or novel agents? *Blood* 2014; 124(26): 3841–3849. doi: 10.1182/blood-2014-07-586826.

# Aktuality v podpůrné léčbě chronické lymfocytární leukemie

## News in the Supportive Care of Chronic Lymphocytic Leukemia

Brejcha M.

Hematologické oddělení, Nemocnice Nový Jičín a.s.

### Souhrn

Pacienti s chronickou lymfocytární leukemií mají narušenou buněčnou i humorální imunitu s kvantitativním a kvalitativním postižením jednotlivých buněk imunitního systému. Nerovnováha imunity se u nich projevuje zvýšeným výskytem infekcí a autoimunitních cytopenií. Podpůrná péče se u chronické lymfocytární leukemie zaměřuje na prevenci a léčbu těchto nejčastějších komplikací prostřednictvím antimikrobiální profylaxe, substituce imunoglobulinů, imunosupresivní léčby, aplikace růstových faktorů a substituce krevních přípravků.

### Klíčová slova

chronická lymfocytární leukemie – podpůrná léčba – infekční komplikace

### Summary

Patients with chronic lymphocytic leukemia have disrupted cellular and humoral immunity with quantitative and qualitative impairment of the cells of the immune system. Immunity disbalance leads to increased incidence of infections and autoimmune cytopenias. Supportive care for chronic lymphocytic leukemia focuses on prevention and treatment of these complications and consists of antimicrobial prophylaxis, substitution of immunoglobulins, immunosuppressive therapy, growth factors and blood transfusions.

### Key words

chronic lymphocytic leukemia – supportive care – infectious complications

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



**MUDr. Martin Brejcha**  
Hematologické oddělení  
Nemocnice Nový Jičín a.s.  
Revoluční 2214/35  
741 01 Nový Jičín  
e-mail: martin.brejcha@nnj.agel.cz

Obdrženo/Submitted: 15. 7. 2015

Přijato/Accepted: 2. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153550>



## Úvod

Většina komplikací, které typicky provází chronickou lymfocytární leukemii (CLL), souvisí s nerovnováhou imunitního systému. CLL je spjata s humorálním a buněčným imunitním deficitem [1]. U nemocných s CLL dochází k rozvoji hypogamaglobulinemie a kvalitativnímu i kvantitativnímu postižení B lymfocytů, T lymfocytů, NK buněk, neutrofilů, monocytů a makrofágů. Porucha imunity vede ke zvýšenému výskytu infekčních komplikací, které jsou hlavní příčinou morbidity a mortality u CLL [2]. Na zvýšeném výskytu infekcí se kromě imunodeficitu spojeného se samotnou CLL podílí i imunosuprese navozená terapií. Autoimunitní projevy jsou pozorovány přibližně u čtvrtiny nemocných a nejčastěji se manifestují jako autoimunitní hemolytická anémie (AIHA), imunitní trombocytopenie (ITP) a čistá aplazie červené řady (pure red cell aplasia – PRCA) [3]. Kromě projevů autoimunity se na vzniku cytopenií může podílet infiltrace kostní dřeně při základním onemocnění a myelosuprese navozená léčbou.

## Infekční komplikace u nemocných s CLL

Neoplastické CLL buňky indukují funkční změny v imunitním systému prostřednictvím přímé mezibuněčné reakce a produkci řady cytokinů, jako jsou IL-6, IL-10, TNF a TGF- $\beta$  [4]. Imunitní systém je zároveň narušen cytotoxickou terapií, která vede ke snížení počtu jednotlivých typů buněčných elementů. Změny funkce T lymfocytů vedou k narušení interakce s B lymfocyty v procesu prezentace antigenu, je deficientní funkce T helperů a zvýšená aktivita T supresorů. Snížení cytotoxické aktivity NK buněk souvisí s chyběním azurofilních granul, neutrofilů a monocytů mají sníženou fagocytární a baktericidní funkci s poruchou migrace a chemotaxe, je narušena aktivace komplementu [5–7]. V průběhu nemoci se infekce vyskytují až u 80 % pacientů a 25–50 % nemocných v důsledku infekce umírá [8]. Spektrum prokazovaných infekčních agens se mění v průběhu nemoci od běžných bakteriálních organizmů až po méně časté oportunní patogeny. Zatímco bakteriální infekce jsou projevem imunodefi-

citu spojeného se samotnou CLL, virové, oportunní a mykotické infekce jsou zpravidla komplikací podávané léčby. Bakteriální infekce jsou nejčastější a postihují zpravidla dýchací cesty, mohou ale postihnout i kůži, močový a gastrointestinální trakt [6]. Nejčastějšími patogeny v respiračním traktu jsou *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Haemophilus influenzae*, na infekcích močových cest se podílejí gramnegativní bakterie jako *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* [9]. Častým problémem u CLL jsou virové infekce nebo jejich reaktivace. Riziko představují zvláště *herpes simplex virus*, *varicella zoster virus*, *cytomegalovirus* (CMV), virus Epstein-Barrové a viry hepatitidy B a C. Zvláště u pacientů léčených chemoterapií v kombinaci s monoklonálními protilátkami mohou mít virové infekce velmi vážný průběh [10]. Oportunní a mykotické infekce jsou vzácné u dosud neléčených pacientů, jejich frekvence ale stoupá při léčbě purinovými analogy, steroidy a monoklonálními protilátkami. Typickým oportunním patogenem, který postihuje pacienty léčené monoklonálními protilátkami a purinovými analogy, je *Pneumocystis jiroveci* [11].

## Spektrum infekčních komplikací dle terapeutických režimů

Při léčbě alkylačními cytostatiky je většina prokazovaných infekcí bakteriálního původu. Způsobené jsou jak grampozitivními, tak gramnegativními patogeny a typicky se projevují opakovanými infekcemi dýchacích cest. Mykotické a virové infekce nejsou při léčbě alkylačními cytostatiky běžné, může k nim ale dojít při dlouhodobé neutropenii, souběžné léčbě kortikosteroidy nebo dlouhodobé léčbě širokospektrými antibiotiky [8].

V posledních dvou dekádách získala hlavní podíl v léčbě CLL purinová analoga. Jejich použití na jedné straně vede ke zlepšení léčebné odpovědi, na druhé straně se zvyšuje incidence a mění spektrum infekcí. Ve srovnání s pacienty léčenými chlorambucilem mají nemocní užívající fludarabin více herpetických a oportunních infekcí [12]. Při léčbě fludarabinovým režimem se tak můžeme setkat s méně obvyklými infekčními

agens, jako jsou např. *Listeria species*, *Mycobacterium species*, *Nocardia species*, mykotickými infekcemi, které většinou způsobuje *Candida species* nebo *Aspergillus species*, a zvýšeným výskytem pneumocystové infekce. Herpetické infekce jsou při léčbě fludarabinem spojeny se zvýšenou incidencí postherpetické neuralgie [13]. Patogeneze infekcí při léčbě purinovými analogy souvisí s kvantitativní a kvalitativní poruchou T lymfocytů, zvláště CD4+, která může přetrvávat i několik let po terapii [14]. Riziko infekcí je vyšší u pacientů, kteří již byli dříve léčeni, než u těch, kteří dostávají fludarabin v 1. linii léčby [11]. Dalšími rizikovými faktory infekcí u pacientů léčených purinovými analogy jsou pokročilé stadium nemoci, zvýšená hladina sérového kreatininu, anémie a snížená hladina IgG. Cytostatikum strukturou podobné alkylačním cytostatikům a purinovým analogům je bendamustin. Přestože podobnost s purinovými analogy by mohla teoreticky vést ke zvýšenému výskytu infekcí, dosavadní zkušenosti tento předpoklad při léčbě bendamustinem nepotvrzují [15].

Důležitou roli v péči o pacienty s refrakterní CLL mají vysoké dávky kortikoidů, zvláště u nemocných s masivní lymfadenopatií. Kortikoidy nezpůsobují myelosupresi, ale zvýšené riziko invazivních mykóz představuje obávaný vedlejší účinek [16].

Nedílnou součástí léčby pacientů s CLL jsou monoklonální protilátky. Rituximab způsobuje depleci B lymfocytů v periferní krvi, která přetrvává až půl roku po ukončení léčby. Frekvence infekčních komplikací u monoterapie rituximabem je nízká, ale pokud je rituximab podáván v kombinaci se steroidy nebo chemoterapií, dochází ke zvýšenému riziku reaktivace hepatitidy B, která může vést až k fulminantní hepatitidě a jaternímu selhání [17]. Alemtuzumab způsobuje dlouhodobou a výraznou depleci zdravých B a T lymfocytů. Jeho podání může být komplikováno reaktivací cytomegalovirové infekce a pneumonií způsobenou pneumocystou [18].

Recentně se do léčby CLL zařazuje cílená léčba reprezentovaná inhibitory tyrozinkináz ibrutinibem a idelalisibem. V současné době jsou používány zpra-

vidla u těžce předléčených pacientů a jejich podání není spojeno s dalším navýšením výskytu infekcí, které je běžně pozorováno u této skupiny nemocných [19,20].

### Strategie profylaktické léčby

Význam profylaktického podání antibiotik na snížení výskytu infekcí u CLL dosud nebyl hodnocen v žádné prospektivní randomizované studii. Antibiotická profylaxe obecně indikována není, může ale být zvážena u pacientů s hypogamaglobulinemií a opakovanými bakteriálními infekcemi [21]. Tento přístup může být přínosem u pacientů s chronickou obstrukční plicní nemocí (CHOPN), u kterých profylaktické podání makrolidových antibiotik vede ke snížení incidence exacerbací [22]. Profylaxe pneumocystové infekce je doporučována u pacientů léčených alemtuzumabem, purinovými analogy a u pacientů léčených vysokými dávkami kortikoidů [23]. Lékem volby je perorální trimetoprim-sulfametoxazol (TMP/SMX), v případě alergie lze použít dapson nebo inhalační pentamidin [24]. Profylaxe aciklovirem proti herpetickým infekcím je doporučována u pacientů léčených intenzivními nebo imunopresivními režimy, kteří jsou séropozitivní, mají nízkou hladinu CD4+ lymfocytů a anamnézu předchozí herpetické infekce [21]. Trvání pneumocystové a herpetické profylaxe se doporučuje minimálně ještě dva měsíce po ukončení léčby, popř. do vzestupu CD4+ lymfocytů nad  $0,2 \times 10^9/l$ . U pacientů léčených alemtuzumabem je problematická CMV reaktivace, vyskytující se v 10–25 % případů [25]. Je nutné, aby nemocní léčení alemtuzumabem užívali profylakticky aciklovir (nebo ekvivalenty) po dobu léčby a minimálně dva, lépe však šest měsíců po jejím skončení. Dále je doporučována týdenní monitorace CMV viremie pomocí kvantitativní PCR v reálném čase. Při významném vzestupu počtu CMV kopií či při výskytu febrilií s pozitivitou CMV je nutné léčbu alemtuzumabem přerušit a zahájit preemptivní léčbu ganciklovirem, valganciklovirem nebo foscavirem. Při nízké CMV viremii bez klinických příznaků je možné zvážit pokračování v léčbě alemtuzumabem s pečlivými dalšími kont-

Tab. 1. Přehled antimikrobiální profylaxe.

Infekční agens	Antimikrobiální profylaxe	Léčebné režimy
herpetické infekce	Aciclovir • 400 mg 1-0-1	• purinová analoga • alemtuzumab
pneumocystová infekce	TMP/SMX • 960 mg 1× denně • 960 mg 2× denně 3 dny v týdnu • 960 mg 2× denně 2 dny v týdnu za sebou	• purinová analoga • alemtuzumab • vysokodávkované kortikoidy
bakteriální infekce	není indikována, ale lze zvážit u pacientů s CHOPN a hypogamaglobulinemií	
mykotické infekce	lze zvážit u pacientů léčených vysokými dávkami kortikoidů	

CHOPN – chronická obstrukční plicní nemoc

rolami CMV viremie [26]. Léčba monoklonálními protilátkami může mít za následek reaktivaci hepatitidy B nebo C. Všichni pacienti by měli být před zahájením léčby vyšetřeni na přítomnost obou typů hepatitid a v případě pozitivního nálezu léčeni ve spolupráci s odborníkem na virovou hepatitidu [27]. Preemptivní protivirová léčba je indikována u HBsAg pozitivních pacientů. U pacientů s pozitivitou anti-HBc protilátek a negativitou HBsAg je nezbytné vyšetření DNA viru hepatitidy B. V případě pozitivního nálezu je postup stejný jako u HbsAg pozitivních nemocných. Souhrn antimikrobiální profylaxe je uveden v tab. 1.

### Substituce imunoglobulinů

Normální hladina IgG u zdravých jedinců je 7–16 g/l. Pokles hladiny IgG pod 6,5 g/l vede ke zvýšení pětiletého rizika infekčních komplikací z 26 na 57 % [28]. V průběhu nemoci dojde k poklesu hladiny IgG u více než 85 % pacientů s CLL [29]. Na jejím vzniku se podílí dysfunkce neklonálních CD5+ B lymfocytů a regulační abnormality T buněk, zároveň samotné maligní B lymfocyty mají schopnost inhibovat imunoglobuliny produkující plazmatické buňky [30]. V patogenezi imunodeficitu se uplatňuje především porucha opsonizace a neutralizační funkce imunoglobulinů. V důsledku nízké hladiny imunoglobulinů dochází ke zvýšené náchylnosti k bakteriálními infekcím, nejčastěji prokazovanými pa-

togeny jsou opouzdřené bakterie (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Haemophilus influenzae*). V klinickém obraze pak dominují infekce dýchacích cest, především opakované sinusitidy, pneumonie, bronchitidy. Dosavadní zkušenosti ukazují, že substituce imunoglobulinů vede k poklesu výskytu bakteriálních infekcí, na celkovou mortalitu pacientů s CLL však vliv nemá [31]. Podání imunoglobulinů je indikováno u pacientů s opakovanými infekcemi a hladinou IgG < 5 g/l. Iničiální dávka je 0,2–0,4 g/kg a opakuje se každé 3–4 týdny [32]. Pokud substituce imunoglobulinů nevede ke snížení výskytu bakteriálních infekcí, měl by být další postup u těchto pacientů řešen ve spolupráci s imunologem a mikrobiologem. Alternativou intravenózního podání imunoglobulinů je podání subkutánní [33]. Efekt subkutánního podání na snížení incidence infekcí je srovnatelný s intravenózním a umožňuje aplikaci samotným pacientem v domácím prostředí.

### Vakcinace

Protilátková odpověď na očkování je u pacientů s CLL ve srovnání se zdravou populací celkově snižena [34–36]. U neselektované skupiny pacientů s CLL dochází k odpovědi na pneumokokovou polysacharidovou vakcínu u 0–22 % případů. Pokud je však vakcína podána v počáteční fázi onemocnění, před zahájením chemoterapie a rozvojem hy-

pogamaglobulinemie, tak k významné odpovědi na očkování proti pneumokokům dochází u 35–47 %, proti *Haemophilus influenzae* u 27–43 % a proti tetanu u 24–65 % pacientů. Odpověď na očkování proti sezónní chřipce je u pacientů s CLL rovněž snižena a jejího zvýšení lze dosáhnout podáním dvou dávek vakcíny s odstupem 21 dní [37]. Pacienti by měli být o snížené účinnosti vakcinace informováni, ale obecně je doporučováno každoroční očkování proti chřipce a každých pět let pravidelné očkování proti pneumokokům [38]. V době chřipkové sezóny by však měla být věnována zvýšená pozornost i těm nemocným, kteří očkování podstoupili. Pacienti léčení rituximabem by měli být očkováni až poté, co dojde k regeneraci B lymfocytů. Živé vakcíny jsou u pacientů s CLL kontraindikovány.

### Autoimunitní cytopenie

Autoimunitní komplikace jsou u CLL poměrně častým jevem a v průběhu nemoci se objevují u 10–25 % pacientů [3]. Jsou dalším z projevů celkové imunitní dysbalance a u CLL postihují především krevní složky. Nejčastější formou autoimunitní poruchy u CLL je AIHA. V laboratorním obraze se projeví izolovaným poklesem hemoglobinu, retikulocytózou, vzestupem bilirubinu a laktátdehydrogenázy, poklesem haptoglobinu a pozitivním Coombsovým testem (direct antiglobulin test – DAT). Rizikovými faktory pro rozvoj AIHA jsou pokročilé stadium, věk nad 65 let a pozitivní DAT [39]. Rozvoj AIHA může také souviset s prodělanou terapií [40]. Ve studii CLL4 měli pacienti léčení chlorambucilem nebo fludarabinem více než 2krát vyšší riziko rozvoje AIHA než ti, kteří byli léčení kombinací fludarabinu a cyklofosfamidu (FC). Vysvětlením může být lepší léčebná odpověď na FC, nižší dávka fludarabinu v kombinovaném režimu a imunosupresivní efekt cyklofosfamidu. U pacientů, kteří mají pozitivní DAT nebo AIHA v anamnéze a vyžadují léčbu CLL, by měl být preferován kombinovaný režim před monoterapií chlorambucilem nebo fludarabinem. ITP se objevuje přibližně u 2–5 % pacientů a přibližně 1/3 případů má současně AIHA (Evansův syndrom) [41]. Vyšší výskyt ITP byl pozoro-

van v souvislosti s vysokým počtem leukocytů, pozitivním DAT a nemutovaným *IgVH* genem. Souvislost mezi rozvojem ITP a prodělanou léčbou pozorován nebyl. PRCA je vzácná komplikace, která se projevuje poklesem hemoglobinu, retikulocytopenií a negativním DAT. U této poruchy je důležité vyloučit virové infekce (virus Epstein-Barrové, CMV, parvovirus B19).

### Imunosupresivní léčba autoimunitních cytopenií

Léčba autoimunitních cytopenií je v 1. linii založena na podání kortikoidů [3]. Podává se prednisolon v dávce 1 mg/kg/den po dobu 2–4 týdnů s následným pozvolným snižováním dávky nebo pulzy dexametazonu 40 mg/den po dobu čtyř dnů. V případě potřeby rychlé léčebné odpovědi mohou být podány intravenózní imunoglobuliny. U pacientů nereagujících na kortikoidy může mít efekt jiná imunosupresivní terapie, jako např. azatioprin nebo cyklosporin A [42]. U nekontrolovatelné hemolýzy nebo trombocytopenie může být přínosem splenektomie [43]. Při její indikaci je však nutné vzít v úvahu, že její provedení dále prohlubuje imunodeficit a zvyšuje riziko infekcí. U nemocných, kteří nejsou schopni podstoupit splenektomii, může být zváženo ozáření sleziny [44]. V léčbě autoimunitních cytopenií může mít efekt i monoterapie rituximabem nebo alemtuzumabem [45,46]. V literatuře jsou popsány i případy úspěšného použití agonistů trombopoetinového receptoru v léčbě ITP pacientů s CLL [47,48]. Přestože přítomnost autoimunitní cytopenie není indikací k léčbě CLL, její rozvoj může být projevem progresu nemoci a k jejímu zvládnutí je v některých případech nutná chemoimunoterapie [49].

### Růstové faktory a transfuze

Kromě základních laboratorních vyšetření vyžaduje komplexní diagnóza všech cytopenií provést diagnostický odběr kostní dřeně. K rozhodnutí o léčebném postupu je nezbytné odlišit autoimunitní cytopenii od cytopenie způsobené útlakem krvetvorby leukemickou populací nebo protinádorovou léčbou. Anémie, která vzniká v dů-

sledku útlaku erytropoézy při infiltraci kostní dřeně a nelepší se při terapii CLL, může reagovat na podání erythropoetinu [50]. U pacientů, kteří reagují na léčbu erythropoetinem, dochází ke snížení potřeby transfuzí a zlepšení kvality života. Podání transfuzí může být u těžce imunosuprimovaných nemocných spojeno se zvýšeným rizikem rozvoje reakce štěpu proti hostiteli [51]. U nemocných léčených fludarabinem či alemtuzumabem a po alogenní transplantaci, stejně jako u nemocných, u kterých se uvažuje o provedení alogenní transplantace v budoucnu, by proto měly být používány ozářené transfúzní přípravky [52]. Podání leukocytárních růstových faktorů u CLL nejen vede ke zvýšení počtu neutrofilů, ale má i pozitivní vliv na jejich funkci [53]. Jejich podání je indikováno v primární profylaxi u nemocných léčebných režimů s rizikem rozvoje febrilní neutropenie více než 20 %, v sekundární profylaxi pak u nemocných, kteří prodělali komplikovanou neutropenii v předchozím léčebném cyklu [54]. V léčbě CLL je riziko těžké infekce vyskytující se u více než 20 % pacientů spojeno s režimy kombinujícími rituximab s purinovými analogy [55].

### Závěr

Podpůrná péče u pacientů s CLL zahrnuje zajištění širokého spektra preventivních a léčebných opatření. Základem prevence výskytu komplikací v léčbě CLL je uvědomění si rizik, která jsou spojena s jednotlivými druhy léčby, a znalost specifických poruch imunity, jež provázejí CLL. Dodržení doporučených postupů je tak základem ke snížení rizika rozvoje komplikací a umožňuje pacientům projít náročnou protinádorovou léčbou.

### Literatura

1. Dearden C. Disease-specific complications of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 2008(1): 450–456. doi: 10.1182/asheducation-2008.1.450.
2. Hamblin AD, Hamblin TJ. The immunodeficiency of chronic lymphocytic leukaemia. *Br Med Bull* 2008; 87(1): 49–62. doi: 10.1093/bmb/ldn034.
3. Diehl LF, Ketchum LH. Autoimmune disease and chronic lymphocytic leukemia: autoimmune hemolytic anemia, pure red cell aplasia, and autoimmune thrombocytopenia. *Semin Oncol* 1998; 25(1): 80–97.
4. Buggins AG, Patten PE, Richards J et al. Tumor-derived IL-6 may contribute to the immunological defect in CLL. *Leukemia* 2008; 22(5): 1084–1087.

5. Kay NE, Zarlino JM. Impaired natural killer activity in patients with chronic lymphocytic leukemia is associated with a deficiency of azurophilic cytoplasmic granules in putative NK cells. *Blood* 1984; 63(2): 305–309.
6. Itälä M, Vainio O, Remes K. Functional abnormalities in granulocytes predict susceptibility to bacterial infections in chronic lymphocytic leukaemia. *Eur J Haematol* 1996; 57(1): 46–53.
7. Schlesinger M, Broman I, Lugassy G. The complement system is defective in chronic lymphatic leukemia patients and in their healthy relatives. *Leukemia* 1996; 10(9): 1509–1513.
8. Wadhwa PD, Morrison VA. Infectious complications of chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol* 2006; 33(2): 240–249.
9. Morrison VA. Management of infectious complications in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007; 2007(1): 332–338.
10. Melchardt T, Weiss L, Greil R et al. Viral infections and their management in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2013; 54(8): 1602–1613. doi: 10.3109/10428194.2012.755178.
11. Anaissie EJ, Kontoyiannis DP, O'Brien S et al. Infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine. *Ann Intern Med* 1998; 129(7): 559–566.
12. Cheson BD. Infectious and immunosuppressive complications of purine analog therapy. *J Clin Oncol* 1995; 13(9): 2431–2448.
13. Byrd JC, McGrail LH, Hospenthal DR et al. Herpes virus infections occur frequently following treatment with fludarabine: results of a prospective natural history study. *Br J Haematol* 1999; 105(2): 445–447.
14. Frank DA, Mahajan S, Ritz J. Fludarabine-induced immunosuppression is associated with inhibition of STAT1 signaling. *Nat Med* 1999; 5(4): 444–447.
15. Gurion R, Raanani P, Shpilberg O et al. bendamustine is not associated with an increase in infections – systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Blood* 2013; 122(21): 5125–5125.
16. Smolej L, Doubek M, Panovská A et al. Rituximab in combination with high-dose dexamethasone for the treatment of relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2012; 36(10): 1278–1282. doi: 10.1016/j.leukres.2012.07.005.
17. Dervite I, Hober D, Morel P. Acute hepatitis B in a patient with antibodies to hepatitis B surface antigen who was receiving rituximab. *N Engl J Med* 2001; 344(1): 68–69.
18. Martin SI, Marty FM, Fiumara K et al. Infectious complications associated with alemtuzumab use for lymphoproliferative disorders. *Clin Infect Dis* 2006; 43(1): 16–24.
19. Brown JR, Byrd JC, Coutre SE et al. Idelalisib, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110δ, for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014; 123(22): 3390–3397. doi: 10.1182/blood-2013-11-535047.
20. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013; 369(1): 32–42. doi: 10.1056/NEJMoa1215637.
21. Oscier D, Dearden C, Erem E et al. Guidelines on the diagnosis, investigation and management of chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2012; 159(5): 541–564. doi: 10.1111/bjh.12067.
22. Donath E, Chaudhry A, Hernandez-Aya LF et al. A meta-analysis on the prophylactic use of macrolide antibiotics for the prevention of disease exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2013; 107(9): 1385–1392. doi: 10.1016/j.rmed.2013.05.004.
23. Segal BH, Freifeld AG, Baden LR et al. Prevention and treatment of cancer-related infections. *J Natl Compr Canc Netw* 2008; 6(2): 122–174.
24. Radocha J, Závělová A, Žák P. Profylaxe pneumocystové pneumonie u hematologických nemocných. *Postgraduální medicína* 2013; 15 (Suppl): 35–37.
25. Osterborg A, Foà R, Bezars RF et al. Management guidelines for the use of alemtuzumab in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2009; 23(11): 1980–1988. doi: 10.1038/leu.2009.146.
26. O'Brien SM, Keating MJ, Mocarski ES. Updated guidelines on the management of cytomegalovirus reactivation in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with alemtuzumab. *Clin Lymphoma Myeloma* 2006; 7(2): 125–130.
27. Artz AS, Somerfield MR, Feld JJ et al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: chronic hepatitis B virus infection screening in patients receiving cytotoxic chemotherapy for treatment of malignant diseases. *J Clin Oncol* 2010; 28(19): 3199–3202. doi: 10.1200/JCO.2010.30.0673.
28. Molica S, Levato D, Levato L. Infections in chronic lymphocytic leukemia. Analysis of incidence as a function of length of follow-up. *Haematologica* 1993; 78(6): 374–377.
29. Itälä M, Helenius H, Nikoskelainen J et al. Infections and serum IgG levels in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol* 1992; 48(5): 266–270.
30. Sampalo A, Brieva JA. Humoral immunodeficiency in chronic lymphocytic leukemia: role of CD95/CD95L in tumoral damage and escape. *Leuk Lymphoma* 2002; 43(4): 881–884.
31. Raanani P, Gafter-Gvili A, Paul M et al. Immunoglobulin prophylaxis in hematological malignancies and hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma* 2009; 50(5): 764–772. doi: 10.1080/10428190902856824.
32. Zelenetz AD, Abramson JS, Advani R et al. Non-Hodgkin's Lymphomas. *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8(3): 288–334.
33. Compagno N, Cinetto F, Semenzato G et al. Subcutaneous immunoglobulin in lymphoproliferative disorders and rituximab-related secondary hypogammaglobulinemia: a single-center experience in 61 patients. *Haematologica* 2014; 99(6): 1101–1106. doi: 10.3324/haematol.2013.101261.
34. Hartkamp A, Mulder AH, Rijkers GT et al. Antibody responses to pneumococcal and haemophilus vaccinations in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Vaccine* 2001; 19(13): 1671–1677.
35. Sinisalo M, Aittoniemi J, Oivanen P et al. Response to vaccination against different types of antigens in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2001; 114(1): 107–110.
36. Sinisalo M, Vilpo J, Itälä M et al. Antibody response to 7-valent conjugated pneumococcal vaccine in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Vaccine* 2007; 26(1): 82–87.
37. De Lavallade H, Garland P, Sekine T et al. Repeated vaccination is required to optimize seroprotection against H1N1 in the immunocompromised host. *Haematologica* 2011; 96(2): 307–314. doi: 10.3324/haematol.2010.032664.
38. Kim DK, Bridges CB, Harriman KH et al. Advisory committee on immunization practices recommended immunization schedule for adults aged 19 years or older – United States, 2015. *Ann Intern Med* 2015; 162(3): 214–223.
39. Barcellini W, Capalbo S, Agostinelli RM et al. Relationship between autoimmune phenomena and disease stage and therapy in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2006; 91(12): 1689–1692.
40. Dearden C, Wade R, Else M et al. The prognostic significance of a positive direct antiglobulin test in chronic lymphocytic leukemia: a beneficial effect of the combination of fludarabine and cyclophosphamide on the incidence of hemolytic anemia. *Blood* 2008; 111(4): 1820–1826.
41. Visco C, Ruggeri M, Laura EM et al. Impact of immune thrombocytopenia on the clinical course of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008; 111(3): 1110–1116.
42. Cortes J, O'Brien S, Loscertales J et al. Cyclosporin A for the treatment of cytopenia associated with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2001; 92(8): 2016–2022.
43. Hill J, Walsh RM, McHam S et al. Laparoscopic splenectomy for autoimmune hemolytic anemia in patients with chronic lymphocytic leukemia: a case series and review of the literature. *Am J Hematol* 2004; 75(3): 134–138.
44. Guiney MJ, Liew KH, Quong GG et al. A study of splenic irradiation in chronic lymphocytic leukemia. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 16(1): 225–229.
45. D'Arena G, Laurenti L, Capalbo S et al. Rituximab therapy for chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* 2006; 81(8): 598–602.
46. Karlsson C, Hansson L, Celsing F et al. Treatment of severe refractory autoimmune hemolytic anemia in B-cell chronic lymphocytic leukemia with alemtuzumab (humanized CD52 monoclonal antibody). *Leukemia* 2007; 21(3): 511–514.
47. Koehrer S, Keating MJ, Wierda W. Eltrombopag, a second-generation thrombopoietin receptor agonist, for chronic lymphocytic leukemia-associated ITP. *Leukemia* 2010; 24(5): 1096–1098. doi: 10.1038/leu.2010.45.
48. Sinisalo M, Sankelo M, Itälä-Remes M. Thrombopoietin receptor agonists can be used temporarily with patients suffering from refractory chronic lymphocytic leukemia-associated immunologic thrombocytopenia. *Leuk Lymphoma* 2011; 52(4): 724–725. doi: 10.3109/10428194.2010.551794.
49. Kaufman M, Limaye SA, Driscoll N et al. A combination of rituximab, cyclophosphamide and dexamethasone effectively treats immune cytopenias of chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2009; 50(6): 892–899. doi: 10.1080/10428190902887563.
50. Siakantaris MP, Angelopoulou MK, Vassilakopoulos TP et al. Correction of disease related anaemia of B-cell chronic lymphoproliferative disorders by recombinant human erythropoietin: maintenance is necessary to sustain response. *Leuk Lymphoma* 2000; 40(1–2): 141–147.
51. Maung ZT, Wood AC, Jackson GH et al. Transfusion-associated graft-versus-host disease in fludarabine-treated B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1994; 88(3): 649–652.
52. Treleaven J, Gennery A, Marsh J et al. Guidelines on the use of irradiated blood components prepared by the British Committee for Standards in Haematology blood transfusion task force. *Br J Haematol* 2011; 152(1): 35–51. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08444.x.
53. Itälä M, Pelliniemi TT, Remes K et al. Long-term treatment with GM-CSF in patients with chronic lymphocytic leukemia and recurrent neutropenic infections. *Leuk Lymphoma* 1998; 32(1–2): 165–174.
54. Lyman GH. Guidelines of the National Comprehensive Cancer Network on the use of myeloid growth factors with cancer chemotherapy: a review of the evidence. *J Natl Compr Cancer Netw* 2005; 3(4): 557–571.
55. Byrd JC, Peterson BL, Morrison VA et al. Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (CALGB 9712). *Blood* 2003; 101(1): 6–14.



# Maligní lymfomy – minulost, současnost a budoucnost

## Malignant Lymphomas – Past, Present and Future

Trněný M., Klener P. Jr., Pytlík R.

I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

Předkládaný přehled velmi stručně shrnuje zásadní mezníky ve vývoji poznání a léčby maligních lymfomů. Historie poznání maligních lymfomů se datuje od prvního popisu Thomasem Hodgkinem v roce 1832. Klasifikace lymfoproliferativních nádorů se prakticky každých 10 let měnila jako odraz prohlubujícího se poznání. Systémová léčba se vyvíjela v několika etapách od chemoterapie v monoterapii, přes kombinovanou chemoterapii, imunoterapii reprezentovanou rituximabem až do zatím čtvrté etapy, která je charakterizována řadou nových léků zaměřených na důležité patogenetické mechanismy vzniku a růstu lymfomů. Radioterapie zůstává nedílnou a důležitou součástí léčby lymfomů. Incidence lymfoproliferací stále roste, ale do roku 2000 začala klesat mortalita jako důsledek cílené léčby založené na znalostech biologie a patogenese.

### Klíčová slova

lymfom – klasifikace – chemoterapie – cílená léčba

### Summary

This review summarizes the key steps on the way to understanding lymphoma biology and management. The history of lymphomas started in 1832 when Thomas Hodgkin first presented lymphomas. Classification of lymphoproliferative tumors has changed almost every 10 years as a reflection of deeper knowledge of this disease. Systemic therapy has developed in several steps starting by monotherapy with different chemotherapeutic agents, followed by the era of combination chemotherapy and by the rituximab era, which significantly changed the treatment paradigm. Several years ago, we entered into the fourth era characterized by many different targeted treatments. Radiotherapy remains an important part of lymphoma management. Lymphoproliferative tumors incidence is growing but mortality has started to decline starting in the year 2000 as the reflection of targeted therapy based on biology and pathogenesis.

### Key words

lymphoma – classification – chemotherapy – targeted therapy

Práce byla podpořena granty IGA MZ ČR č. NT13072-4/2012 a NT12193-5/2011 a PRVOUK 27/LF1/1.

This study was supported by grants of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT13072-4/2012 a NT12193-5/2011 and PRVOUK-27/LF1/1.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.  
I. interní klinika – klinika hematologie  
1. LF UK a VFN v Praze  
U Nemocnice 2  
128 08 Praha 2  
e-mail: trneny@lf1.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 1. 10. 2015

Přijato/Accepted: 3. 10. 2015

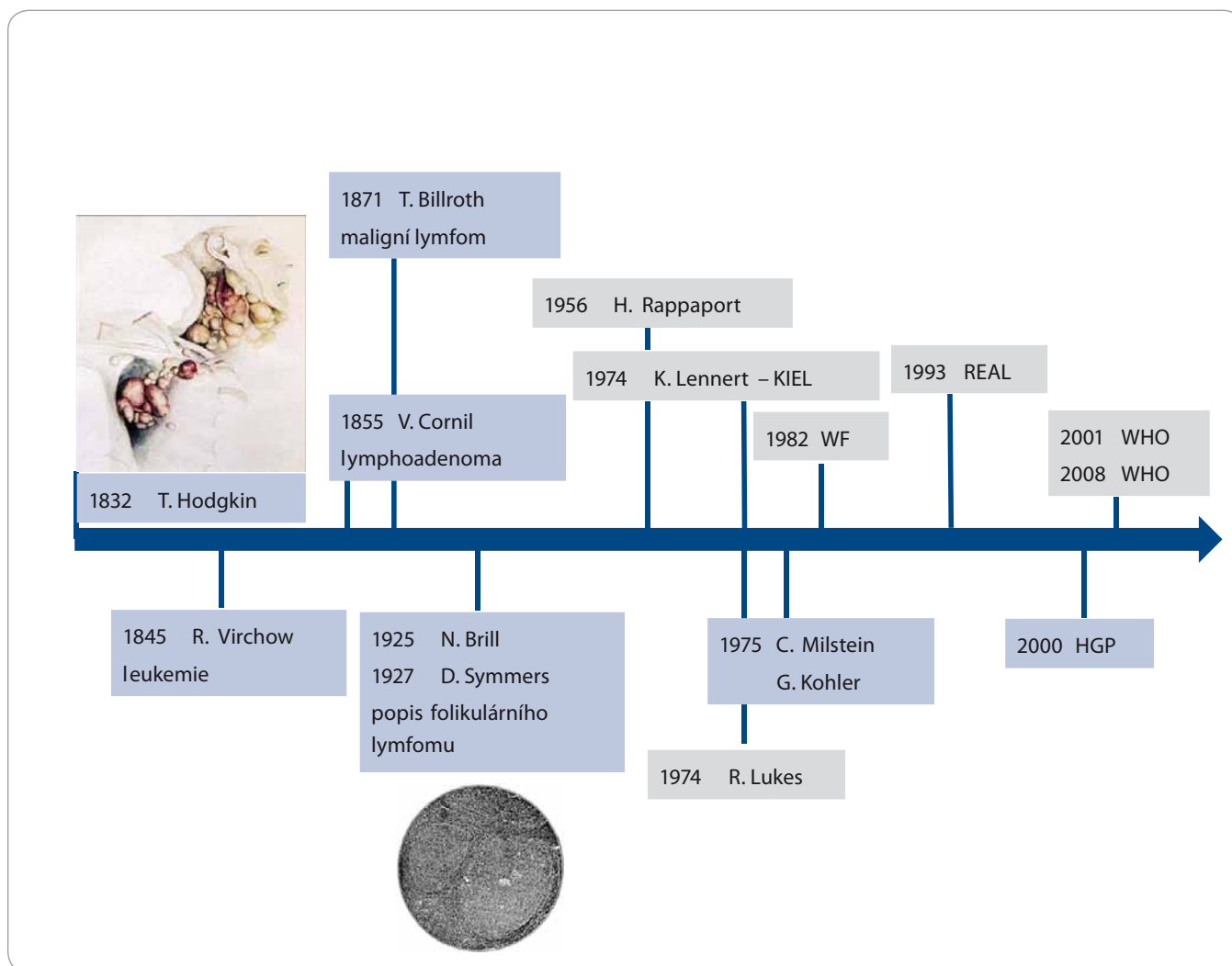
<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153555>

### Historie lymfomů

Hodgkinův lymfom a potažmo i non-Hodgkinovy lymfomy nesou svůj název po dr. Thomasu Hodgkinovi (17. 8. 1798–5. 4. 1866), který v roce 1832 [1] popsal několik případů nemocných s adenomegalií, splenomegalií. V následujícím století byly některé z těchto případů histologicky verifikovány jako klasické případy toho, co nyní klasifikace nazývá klasickým Hodgkinovým lymfomem s Reed-Sternbergovými buňkami. Dnes užívané termíny leukemie použil poprvé v 19. století R. Virchow v roce 1845 a slovo lymfom v roce 1871 T. Billroth. Názvoslovný vývoj v oblasti lymfomů probíhal (a probíhá) celou dobu,

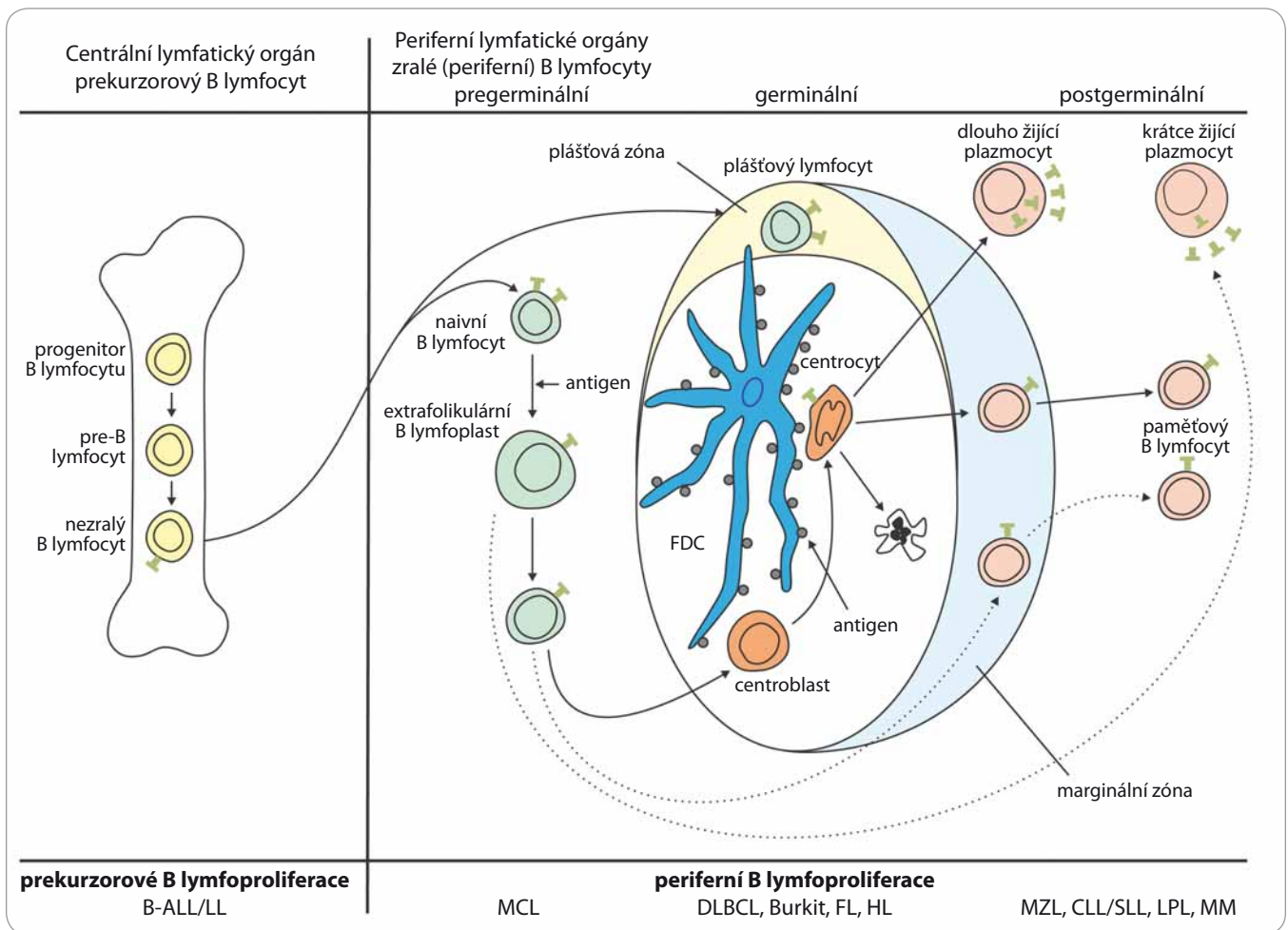
stejně jako klasifikační pokusy. Po druhé světové válce se ujal jako první široce používaná klasifikace Rappaportův popis folikulárních lymfomů (FL) z roku 1956, jenž kladl důraz na přesná morfologická kritéria [2,3]. Postupný rozvoj imunologických metod a poznání funkčních vztahů ve vývoji lymfocytů vedl v roce 1974 ke vzniku dvou klasifikací. Na americkém kontinentě Lukesovy [4], nazývané též Lukesovy-Collinsovy, a v Evropě tzv. Kielské klasifikace [5,6]. Zásadním posunem v technologickém instrumentáriu bylo objevení metody tvorby monoklonálních protilátek Kohlerem a Milsteinem v roce 1975 [7]. Umožnilo prudký roz-

voj poznatků a přenos těchto pozorování do diagnostiky, ale také postupně do oblasti terapie. Terminologická nejednotnost a z toho vyplývající neschopnost porovnávat různé sestavy nemocných a přenášet poznatky mimo publikující pracoviště vedly ke snaze sjednotit klasifikaci. Prvním krokem byla snaha vytvořit alespoň něco jako „překladový slovník“ mezi jednotlivými klasifikacemi, což našlo odraz v dokumentu Working formulation publikovaném v roce 1982 [8]. Rozvoj cytogenetických a molekulárně biologických technik vedl dále k prohloubení znalostí o biologické charakteristice nádorů, jejich vývoje. Pracovní skupina hemato-



Obr. 1. Přehled důležitých mezníků ve vývoji poznání a klasifikace lymfoproliferativních chorob. Kresba nemocného s lymfadenopatií je z roku 1828 a je dokumentací sedmého případu z Hodgkinovy práce.

WF – working formulatin, REAL – Revised European and American Lymphoma Classification, HGP – Human Genom Project, WHO – WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Bližší popis v textu.



**Obr. 2. Schéma vývoje B lymfocytu a přehled jednotlivých jednotek B buněčných lymfoproliferativních nádorů.**

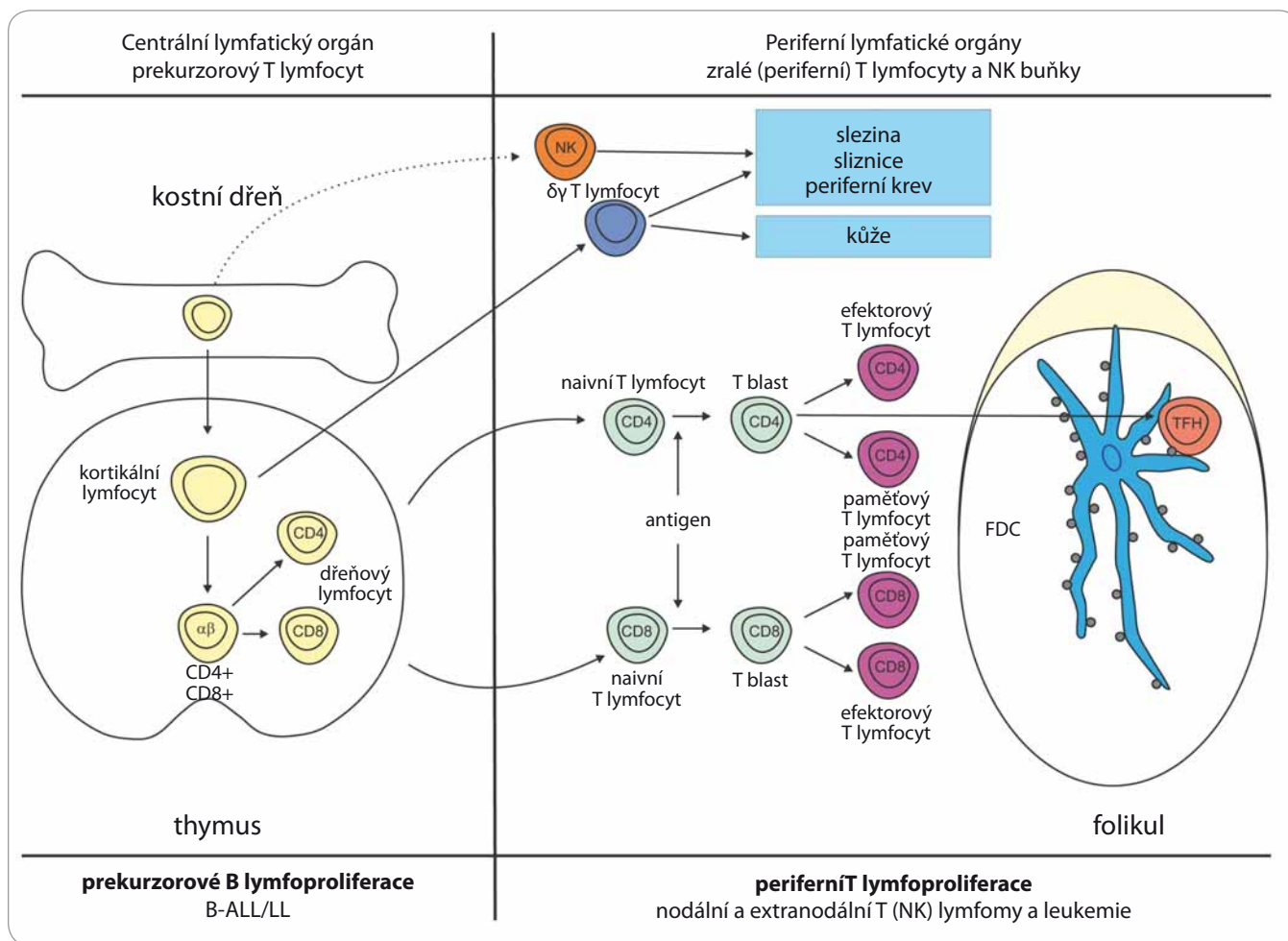
B-ALL/LL – B buněčná akutní lymfoblastová leukemie/lymfoblastový lymfom, MCL – lymfom z plášťových buněk, DLBCL – difúzní velkobuněčný lymfom, Burkitt – Burkittův lymfom, FL – folikulární lymfom, HL – Hodgkinův lymfom, MZL – lymfom z marginální zóny, CLL/SLL – chronická lymfocytární leukemie/lymfom z malých lymfocytů, LPL – lymfoplazmocytní lymfom, MM – mnohočetný myelom, FDC – folikulární dendritická buňka

patologů a kliniků již z obou břehů Atlantického oceánu publikovala v roce 1994 pracovní verzi tzv. REAL klasifikace (Revised European and American Lymphoma Classification) [9]. Dříve zmíněný rozvoj molekulární biologie a technologií je charakterizován mimo jiné projektem cíleným na poznání celého lidského genomu (Human Genome Project – HGP). Tyto poznatky akcelerovaly další poznání i v oblasti nádorů, v tomto případě lymfomů a leukemií [10]. REAL klasifikace se pak stala podkladem pro celosvětovou WHO klasifikaci nádorů hematopoetické a lymfoidní tkáně v roce 2001 a 2008 [11,12]. V současné době proběhl její update. Obrázek 1 shrnuje jednotlivé časové mezníky ve vývoji klasifikací.

### Biologie a současná klasifikace lymfomů

Lymfomy mohou vzniknout na jakémkoli stupni vývoje lymfocytu. Schematicky je vývoj B lymfocytu a jemu odpovídající jednotky shrnut na obr. 2 a vývoj T lymfocytu na obr. 3. Na úrovni prekurzorové buňky dochází ke vzniku akutní lymfoblastové leukemie (ALL) a lymfoblastového lymfomu (LL). Současný pohled na biologii a kliniku těchto dvou jednotek – stejně jako na chronickou lymfocytární leukemii (CLL) a lymfom z malých lymfocytů (small lymphocytic lymphoma – SLL) – je ten, že se jedná o jednu jednotku s rozdílnou klinickou manifestací. Mimo ALL a LL řadíme všechny ostatní jednotky do skupiny periferních lymfoproliferací. To ovšem ne-

znamená, že některé prvotní události nevznikají již na úrovni prekurzorových buněk. Příkladem může být t(14;18) (q32;q21), která vzniká již v kostní dřeni a pro vývoj FL, pro nějž je typická, ale pro jeho vývoj ne postačující, jsou nutné další události [13]. Většina B lymfoproliferací vychází z buněk, které prošly zárodečným centrem. Zásadní událostí je zde prezentace antigenu pomocí profesionálních antigen prezentujících buněk a na základě toho prodělaná somatická hypermutace ve variabilní oblasti Ig genu. Buňky, u nichž došlo k úspěšné hypermutaci, se dále vyvíjejí do paměťových nebo plazmatických buněk. U těch, u nichž byla vysoce afinní mutace neúspěšná, je indukována apoptóza [14]. Buňky mohou z této apoptózy uniknout



Obr. 3. Schéma vývoje B lymfocytu a přehled jednotlivých jednotek T buněčných lymfoproliferativních nádorů.

T-ALL/LL – T buněčná akutní lymfoblastová leukemie/lymfoblastový lymfom

a tyto mechanismy se potom podílejí na nádorovém vzniku. Jedním z mechanismů, který může stát za umožněním tohoto úniku, je infekce virem EBV. Z buněk, které prošly germinálním centrem, vznikají FL, DLBCL (difuzní velkobuněčný B lymfom), Hodgkinův lymfom, Burkittův lymfom a další. Mechanismus antigenní prezentace nemusí být vždy závislý na antigen prezentujících buňkách. B lymfocyty, které se setkají s antigenem alternativním způsobem, mohou potom procházet marginální zónou a mohou z nich také vznikat paměťové lymfocyty nebo lymfocyty produkující protilátky. Jejich charakteristikou potom je, že nesou somatickou mutaci. To částečně vysvětluje, proč CLL vzniká z paměťových B lymfocytů, ale část nese somatickou mutaci IgV<sub>H</sub> a část ne [15]. Lymfom z plášťových buněk (mantle cell lym-

phoma – MCL) vzniká z naivních B lymfocytů nacházejících se nebo recirkulujících plášťovou zónou a nese typickou translokaci t(11;14)(q13;q32), která je základem patogenetickým mechanismem. Z buněk marginální zóny potom vznikají zejména lymfomy z marginální zóny, jenž jsou však většinou extranodální. Obrázek 3 zjednodušeně představuje dráhu vývoje T lymfocytů a vznik T lymfoproliferací. I ty můžeme rozdělit na prekursorové (T ALL a T lymfoblastový lymfom) a periferní. Z periferních T lymfomů jsou nejčastější anaplastický velkobuněčný lymfom (ALCL – alk pozitivní nebo negativní), angioimunoblastický T lymfom (AITL) a periferní T lymfom blíže nespecifikovaný (PTL NOS). Existuje celá řada primárně extranodálních T lymfomů, zejména kožních, ale také postihujících gastrointestinální trakt a další. Při vzniku

lymfomů hrají klíčovou roli i změny epigenetické [16,17]. Nejedná se však pouze o změny na úrovni vlastní nádorové lymfomové buňky, ale v patogenezi se uplatňuje velkou mírou mikroprostředí [18,19].

### Etiologie

Jedním z nejdůležitějších faktorů vzniku lymfomu je porucha imunitního systému. Zejména se jedná o imunopresi, kdy jako extrémní případy může sloužit HIV infekce a rozvoj AIDS [20], stav po transplantacích solidních orgánů s následnou imunopresí (post transplantací lymfoproliferace) [21]. Existuje kauzální souvislost mezi některými infekčními agens a vznikem lymfomů, i když penetrace je velmi nízká. Mechanismus může být buď přímý (např. zabudování do genomu buňky) třeba u EBV, HTLV1, KSHV. Nebo se dále uplatňuje



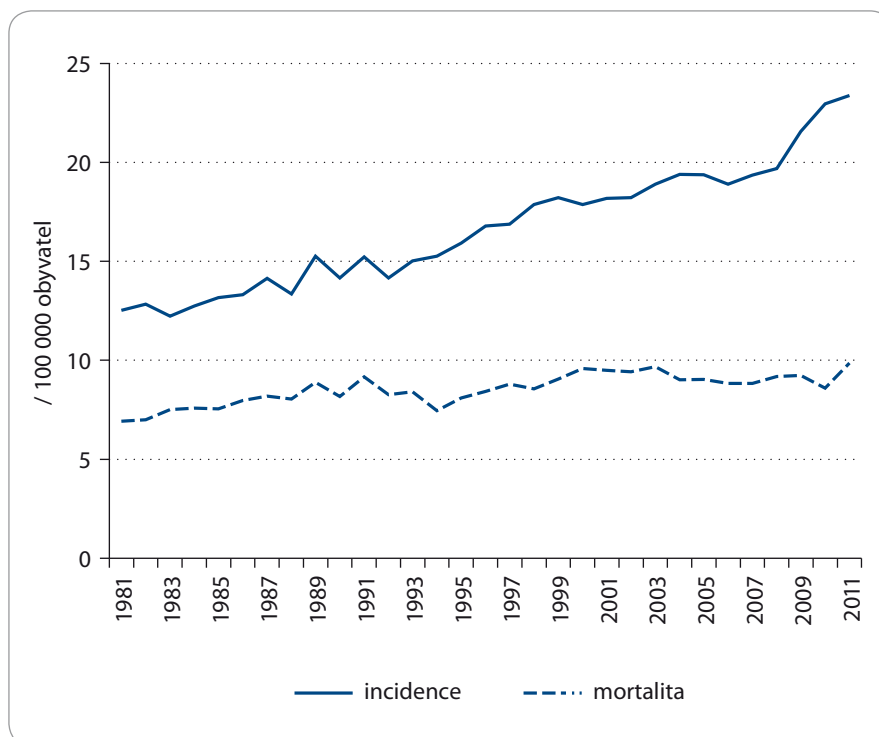
chronická antigenní stimulace, jako je tomu např. u *Helicobacter pylori*, *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia psittaci*. Z virových agens se může uplatnit již zmíněný HIV, EBV, HCV. Imunosupresivní mechanismus byl popsán u EBV, HIV, KSHV [22]. Rovněž existuje v některých případech rodinná zátěž, jak bylo uvedeno v řadě familiárních výskytů [23,24].

### Epidemiologie

Incidence maligních lymfomů kolísá kolem 15 na 100 000 obyvatel s poměrně velkou geografickou variací. V roce 2011 bylo v ČR diagnostikováno téměř 2 500 nových nemocných, což představuje stav, kdy každé 3,5 hod je diagnostikován nový pacient. Největší skupina jsou non-Hodgkinovy lymfomy následované CLL a Hodgkinovým lymfomem. Incidence těchto lymfoproliferací s výjimkou Hodgkinova lymfomu zatím každoročně stoupá. Jen od roku 2000 incidence stoupla o více než 30 %. Od tohoto roku jsme však také začali pozorovat stagnaci a postupný pokles úmrtnosti na tyto choroby. Poměr zemřelých na jedno z těchto nádorových onemocnění vůči nově diagnostikovaným klesl z 55 % v roce 1981 na 37 % v roce 2010, resp. 42 % v roce 2011 (graf 1) [25].

### Diagnóza a stážování

V oblasti diagnostiky lymfomů se v současnosti uplatňuje vysoce specializovaná hematopatologie s instrumentáři imunohistochemickým, průtokovou cytometrií a molekulární biologii. Pro zjištění rozsahu onemocnění a hodnocení odpovědi jsou v současné době aplikována mezinárodní doporučení, která jsou založena u řady podtypů na využití celotělové PET s použitím <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglukózy (FDG) [26,27]. Přestože neexistuje v některých jednotlivých bodech těchto doporučení shoda a je stále nutné používat spolu s PET i CT a v řadě případů pouze CT, znamená využití PET významný posun. Na druhou stranu je nutná při hodnocení výsledků léčby obezřetnost tam, kde přetrvává nebo se objeví znovu PET pozitivita, neboť to může být v důsledku nenádorové příčiny (reaktivní změny, infekce, granulomatózní proces). Vždy se proto snažíme indikovat histologickou revizi.

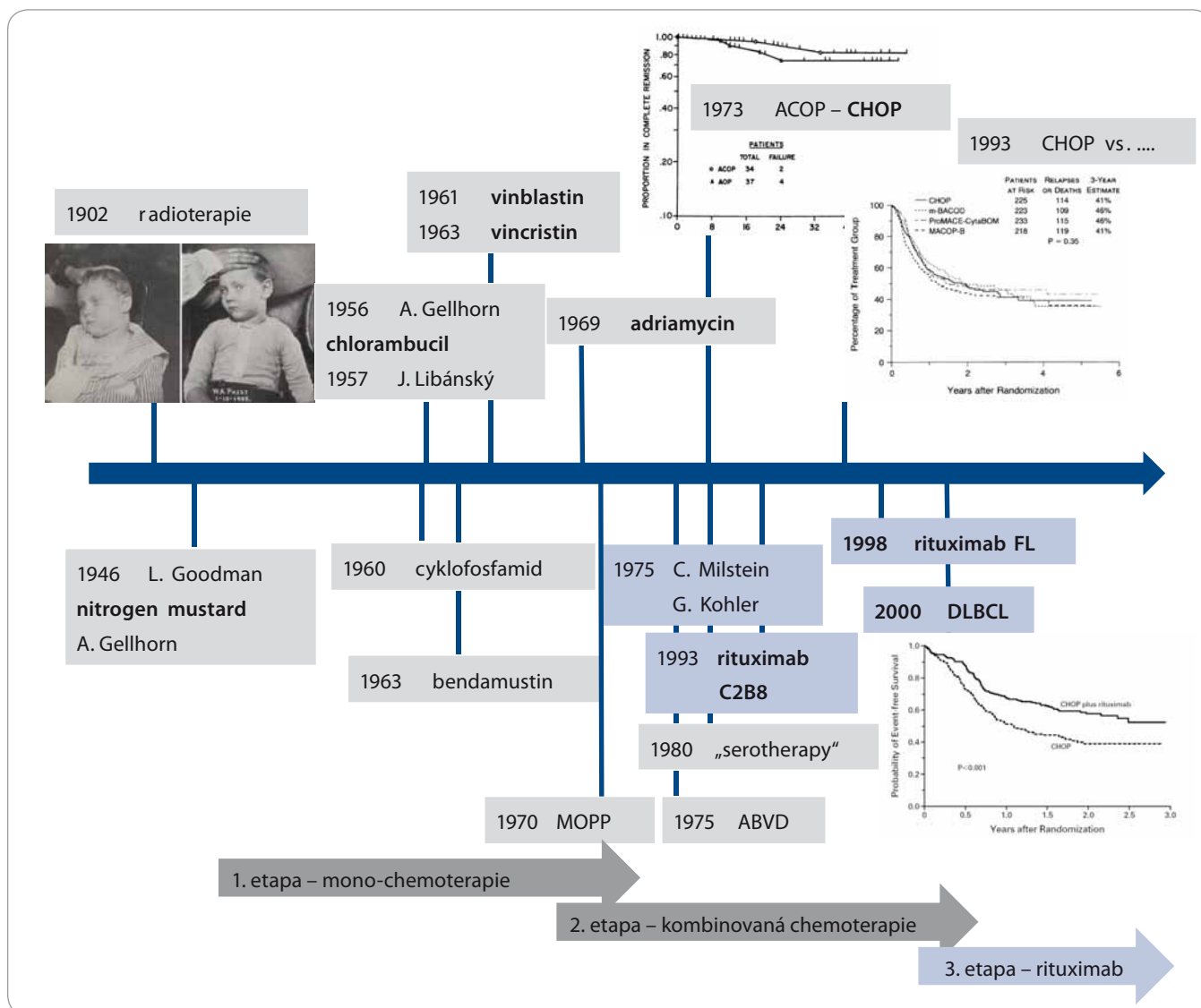


Graf 1. Vývoj incidence a mortality na lymfom (Hodgkinův i non-Hodgkinův) a chronické lymfocytární leukemie v ČR (z dat Ústavu národního zdraví a Národního onkologického registru [25]).

### Léčba

Léčba lymfomů je příkladem velmi úspěšné aplikace moderních léčebných poznatků, které v současnosti vycházejí ze stále lepšího poznání patogenese a biologických charakteristik. Přehledně vývoj shrnuje obr. 4. Jedním z prvních dokladů o velmi dobré senzitivitě lymfomu k radioterapii byla práce z roku 1902 [28] (fotografie léčeného chlapce je na obr. 4). Další vývoj nastal po roce 1945 a můžeme ho rozdělit do několika fází. První fází bylo objevení a zavedení vlastní chemoterapie. V letech 1946–1970 byla objevena prakticky všechna cytostatika, která používáme dodnes. Dokonce i lék, jenž prožil své znovuzrození počátkem tohoto tisíciletí – bendamustin [29], byl objeven v roce 1963 [30]. Monoterapie znamenala jistě zlepšení léčebných výsledků, ale za další významnou etapu je nutné považovat éru kombinované chemoterapie. V roce 1970 publikovala skupina vedená DeVitou kombinovaný režim MOPP (nitrogen-mustard, vinkristin, prokarbazin a prednison) u nemocných s Hodgkinovým lymfomem [31], i když, jak uvádí

v tomto článku, začali ho používat v roce 1964. V roce 1975 publikovala skupina vedená Bonadonnou studii s antracyklinovým režimem ABVD (adriamycin, bleomycin, vinblastin, dakarbazin) [32], který používáme dosud. Hodgkinův lymfom se tak stal prvním nádorem, který bylo možné vyléčit v pokročilém stadiu. V roce 1973 byl publikován skupinou vedenou Emilem Freiem III. režim ACOP, který je vlastně režimem CHOP, a byl použit v léčbě non-Hodgkinových lymfomů [33]. I tento režim používáme rovněž až do dnešní doby. Existovala snaha zlepšit výsledky léčby dalšími kombinacemi, v originálních reportech vypadaly příznivě, ale v případech non-Hodgkinových lymfomů se ukázalo, že prakticky žádný není lepší než CHOP [34]. Snad jedinou výjimkou je režim ACVBP, který se ukázal jako lepší než CHOP jak v prerituximabové éře [35], tak v kombinaci s rituximabem [36]. U Hodgkinova lymfomu byl zaveden intenzivnější režim – eskalovaný BEACOPP –, který vykazuje ve srovnání s COPP/ABVD větší efektivitu, ale za cenu vyšší toxicity [37]. Třetí významnou kapitolou léčby lymfomů, kterou mů-



Obr. 4A. Vývoj léčby maligních lymfomů.

FL – folikulární lymfom, DLBCL – difúzní velkobuněčný lymfom, MOPP – nitrogen mustard, vinkristin, prokarbazin a prednison, ABVD – adriamycin, bleomycin, vinblastin, dakarbazin

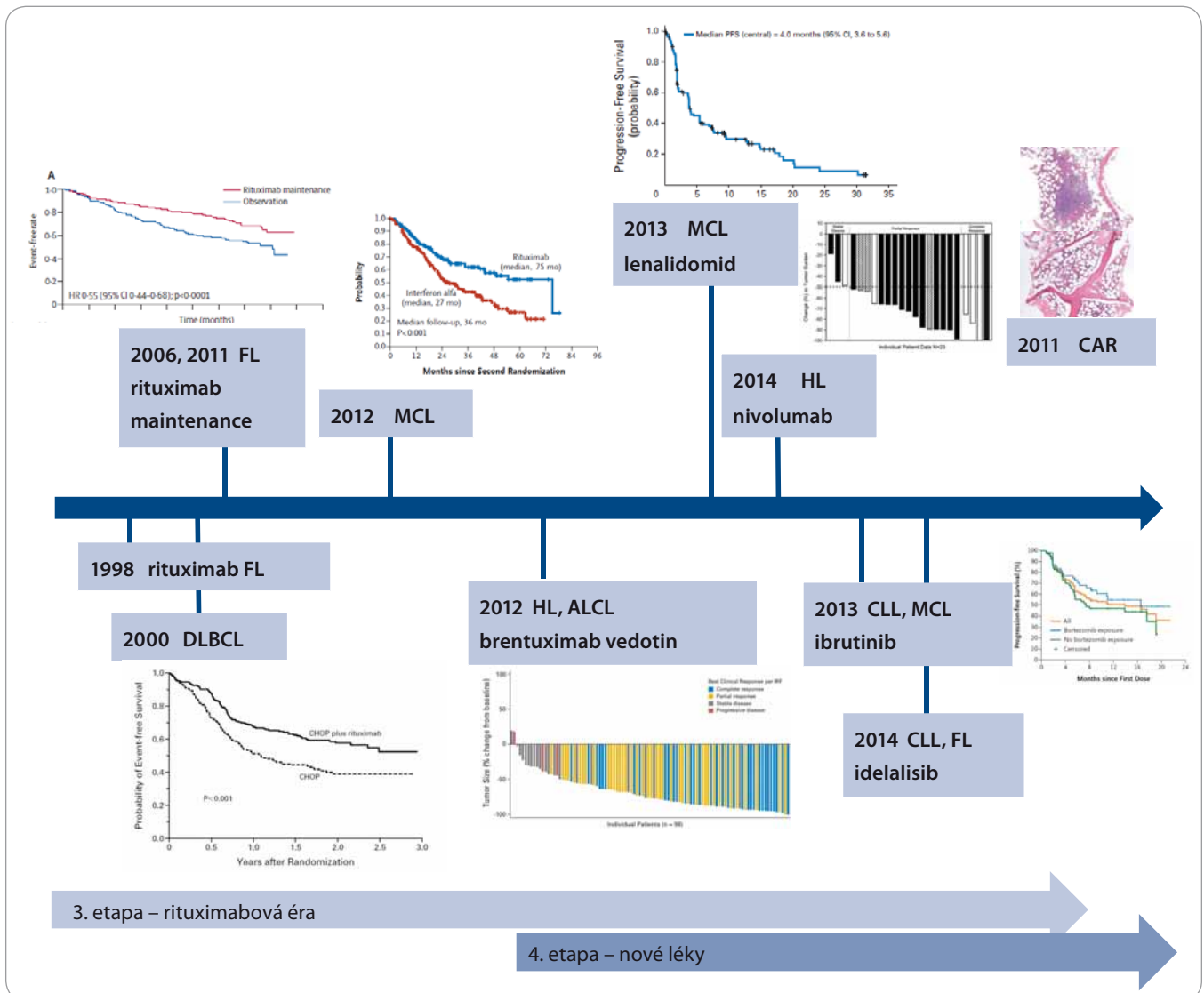
žeme datovat od 90. let minulého století do současnosti, je zavedení imuniterapie monoklonálními protilátkami. První práce fáze I studie s rituximabem byla publikována v roce 1994 [38], zásadní fáze II studie s touto anti-CD20 chimerickou protilátkou v monoterapii byla uveřejněna v roce 1998 [39]. Počátek této kapitoly však najdeme již v roce 1975, kdy byla publikována metoda výroby monoklonálních protilátek [7], a již v roce 1980 byla monoklonální protilátka Ab 89 proti blíže nespecifikovanému antigenu testována na pacientovi [40]. Zavedení kombinované imunochemoterapie, nejčastěji představované kom-

binací R-CHOP [41], byl krok, který výrazně změnil léčebné možnosti. Od roku 2000 se také zastavila a začala klesat úmrtnost na lymfomy a CLL. Jestliže ještě v prvním desetiletí tohoto století byla zásadní otázka, zda rituximab zlepší výsledky spolu s chemoterapií nebo ne, v současnosti se otázka obrátila ve formulaci: Jaká chemoterapie je nejlepším partnerem rituximabu? Postupně se objevily další nahé protilátky, např. obinutumab, který se ukázal ve srovnání dvou anti-CD20 protilátek u CLL lepší než rituximab [42]. Lze tedy říci, že v posledních 10 letech byla odstartována zatím poslední, v pořadí čtvrtá, zásadní kapitola

vývoje léčby lymfomů. Rituximab zůstává základem úspěšné léčby B lymfoproliferací, ale objevují se snahy nahradit ho účinnějšími variantami anti-CD20 protilátky. Rovněž se objevují protilátky proti novým cílům, modifikace anti-CD20 protilátek a testuje se celá řada nových látek.

### Výhled s novými léky

O obinutumabu jako nové anti-CD20 protilátce již byl pojednáno. Dosud jako jediná nová protilátka ukázal lepší výsledky než rituximab, alespoň u CLL. Protilátky také mohou být modifikovány, může být na ně navázána radioaktivní látka, např. ibritumomab (anti-CD20 pro-



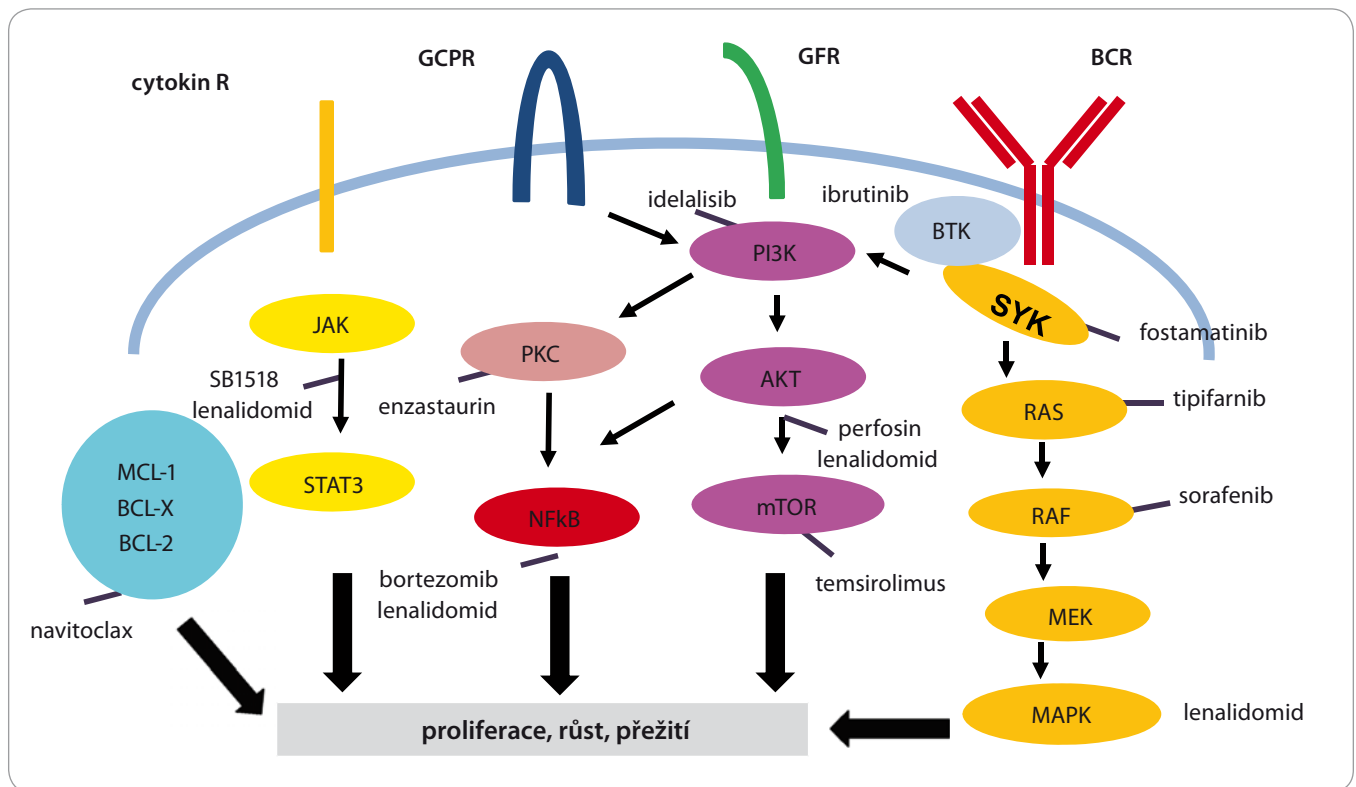
**Obr. 4B. Současná etapa vývoje léčby maligních lymfomů.**

FL – folikulární lymfom, DLBCL – difuzní velkobuněčný lymfom, MCL – lymfom z pláštových buněk, HL – Hodgkinův lymfom, CLL – chronická lymfocytární leukemie, ALCL – anaplastický velkobuněčný lymfom

tilátka tiuxetan s <sup>90</sup>Ytriem [43]. Poprvé se uplatnily protilátky u jiných lymfoproliferací než z B lymfocytů. Jedná se o anti-CD30 protilátku brentuximab vedotin, kde je navázána antitubulinová látka auristatin. Tato protilátka se ukázala jako účinná u Hodgkinova lymfomu [44] a anaplastického velkobuněčného lymfomu, který je také CD30 pozitivní [45]. Jako velmi atraktivní se jeví koncept tzv. BiTe protilátek, které jsou bispecifické, obvykle anti-CD3 cílené na T lymfocyt a další vazebné místo na cílové buňce. Příkladem může být blinatumomab (anti-CD3 a anti-CD19) a jeho použití u ALL [46] a nově i u lymfomů [47] nebo

protilátka AFM13 (anti-CD30/CD16A) testovaná ve fázi I u Hodgkinova lymfomu [48]. Další velkou skupinou nových léků jsou látky, které jsou zaměřeny na jednotlivé dráhy důležité v patogenezi lymfomů, jak je vidět na obr. 5 (modifikováno podle [49,50]). Jako velmi důležitá se ukazuje dráha signalizace B buněčného receptoru (BCR), zejména u DLBCL ABC (activated B-cell) podtypu, CLL a MCL. Inhibitor Brutonovy kinázy ibrutinib je velmi potentní lék pro MCL [51] i CLL [52]. Recentně byly publikovány výsledky studie časně fáze u DLBCL podtypu ABC [53]. Další lék, který se dostává do klinické praxe, je inhibitor fosfati-

dylinositol-3-kinázy delta (PI3K) idelalisib. V kombinaci s rituximabem je používán u CLL [54] a je účinný u refrakterního FL [55]. Venetoclax (ABT-199) účinkuje prostřednictvím selektivní blokády bcl-2 proteinu a byly prezentovány velmi povzbudivé výsledky u CLL [56]. Poslední skupina léků, o níž je nutné se zmínit, jsou léky zasahující do mikroprostředí a ovlivňující interakci mezi lymfomem a imunitním systémem. Sem patří léky ze skupiny imidů, zejména lenalidomid. Je to lék s pleiotropním efektem jak na lymfomovou buňku, tak na mikroprostředí. Velmi povzbudivé výsledky byly publikovány v kombinaci s rituxi-



Obr. 5. Schematické znázornění jednotlivých klíčových drah a léčebných cílů v lymfomové buňce.

mabem u nemocných s FL jak v primoterapii [57], tak v relapsu [58]. V obou indikacích probíhají randomizované studie fáze III. Lenalidomid je rovněž velmi účinný lék u nemocných s relapsem MCL, jak bylo demonstrováno v randomizované studii [59]. Stejně jako v případě ibrutinibu se zdá, že účinkuje u DLBCL podtypu ABC a v kombinaci s imunochemoterapií R-CHOP [60] je nadějnou cestou pro tento prognosticky nepříznivý podtyp DLBCL. Posledními zmíněnými jsou tzv. checkpoint inhibitory, které blokují vazbu PD-1 a PD-L1, což je cesta, kterou se tumor snaží uniknout imunitnímu dozoru. Z hematologických diagnóz se zatím největší efekt ukázal u nemocných s Hodgkinovým lymfomem, kde byl použit nivolumab [61] nebo pembrolizumab [63]. U FL byla s nadějnými výsledky testována kombinace pidilizumabu s rituximabem [63].

### Závěr

Závěrem lze shrnout, že vývoj poznání v oblasti lymfoproliferativních nádorů velmi efektivně umožnil výrazně zlepšit léčebné výsledky. Obzvláště v poslední

době se nalézáme v období dramatického rozvoje cílené léčby, která vychází z rychle se prohlubujících poznatků o biologii a patogenezi lymfomů.

### Literatura

- Hodgkin T. On some morbid appearances of the absorbent glands and spleen. *Med Chir Trans* 1832; 17: 69–97.
- Hicks EB, Rappaport H, Winter WJ. Follicular lymphoma; a re-evaluation of its position in the scheme of malignant lymphoma, based on a survey of 253 cases. *Cancer* 1956; 9(4): 792–821.
- Rappaport H. Tumors of the Hamatopoietic systems. In: *Atlas of Tumor Pathology*. Armed Forces Institute of Pathology, 1966.
- Lukes RJ, Collins RD. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer* 1974; 34 (Suppl 4): 1488–1503.
- Bennett M, Farrer-Brown G, Henry K et al. Classification of non-Hodgkin's lymphomas. *Lancet* 1974; 304(7877): 405–408.
- Lennert K. Morphology and classification of malignant lymphomas and so-called reticuloses. *Acta Neuropathol Suppl* 1975; Suppl 6: 1–16.
- Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256(5517): 495–497.
- National Cancer Institute sponsored study of classifications of non-Hodgkin's lymphomas: summary and description of a working formulation for clinical usage. The Non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. *Cancer* 1982; 49(10): 2112–2135.
- Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms:

a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84(5): 1361–1392.

- Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403(6769): 503–511.
- World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissue. Lyon: IARC Press 2001.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al (eds). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press 2008.
- Mamessier E, Brousais-Guillaumot F, Chetaille B et al. Nature and importance of follicular lymphoma precursors. *Haematologica* 2014; 99(5): 802–810. doi: 10.3324/haematol.2013.085548.
- De Silva NS, Klein U. Dynamics of B cells in germinal centres. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(3): 137–148. doi: 10.1038/nri3804.
- Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2005; 352(8): 804–815.
- Jiang Y, Hatzl K, Shaknovich R. Mechanisms of epigenetic deregulation in lymphoid neoplasms. *Blood* 2013; 121(21): 4271–4279. doi: 10.1182/blood-2012-12-451799.
- Jiang Y, Melnick A. The epigenetic basis of diffuse large B-cell lymphoma. *Semin Hematol* 2015; 52(2): 86–96. doi: 10.1053/j.seminhematol.2015.01.003.
- Ame-Thomas P, Tarte K. The yin and the yang of follicular lymphoma cell niches: role of microenvironment heterogeneity and plasticity. *Semin Cancer Biol* 2014; 24: 23–32. doi: 10.1016/j.semcancer.2013.08.001.
- Scott DW, Gascoyne RD. The tumour microenvironment in B cell lymphomas. *Nat Rev Cancer* 2014; 14(8): 517–534. doi: 10.1038/nrc3774.
- Gloghini A, Dolcetti R, Carbone A. Lymphomas occurring specifically in HIV-infected patients: from pathogenesis to pathology. *Semin Cancer Biol* 2013; 23(6): 457–467. doi: 10.1016/j.semcancer.2013.08.004.



21. Al-Mansour Z, Nelson BP, Evens AM. Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD): risk factors, diagnosis, and current treatment strategies. *Curr Hematol Malig Rep* 2013; 8(3): 173–183. doi: 10.1007/s11899-013-0162-5.
22. De Paoli P, Carbone A. Microenvironmental abnormalities induced by viral cooperation: Impact on lymphomagenesis. *Semin Cancer Biol* 2015; 34: 70–80. doi: 10.1016/j.semcancer.2015.03.009.
23. Altieri A, Bermejo JL, Hemminki K. Familial risk for non-Hodgkin lymphoma and other lymphoproliferative malignancies by histopathologic subtype: the Swedish Family-Cancer Database. *Blood* 2005; 106(2): 668–672.
24. Goldin LR, Bjorkholm M, Kristinsson SY et al. Highly increased familial risks for specific lymphoma subtypes. *Br J Haematol* 2009; 146(1): 91–94. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07721.x.
25. Uzis.cz [internetová stránka]. Ústav zdravotnických informací a statistiky. Novotvary. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/katalog/zdravotnicka-statistika/novotvary>.
26. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014; 32(27): 3059–3068.
27. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L et al. Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol* 2014; 32(27): 3048–3058.
28. Pusey W. Cases of sarcoma and Hodgkin's disease treated by exposures to X-ray – a preliminary report. *JAMA* 1902; 38(3): 166–169.
29. Cheson BD, Rummel MJ. Bendamustine: rebirth of an old drug. *J Clin Oncol* 2009; 27(9): 1492–1501. doi: 10.1200/JCO.2008.18.7252.
30. Ozegowski W, Krebs D. w-[bis-(chloroethyl)-amino-benzimidazolyl-(2)]-propionic or butyric acids as potential cytostatic agents. *J Prakt Chem* 1963; 20: 178–186.
31. Lowenbraun S, DeVita VT, Serpick AA. Combination chemotherapy with nitrogen mustard, vincristine, procarbazine, and prednisone in lymphosarcoma and reticulum cell sarcoma. *Cancer* 1970; 25(5): 1018–1025.
32. Bonadonna G, Zucali R, Monfardini S et al. Combination chemotherapy of Hodgkin's disease with adriamycin, bleomycin, vinblastine, and imidazole carboxamide versus MOPP. *Cancer* 1975; 36(1): 252–259.
33. Gottlieb JA, Gutterman JU, McCredie KB et al. Chemotherapy of malignant lymphoma with adriamycin. *Cancer Res* 1973; 33(11): 3024–3028.
34. Fisher RI, Gaynon ER, Dahlborg S et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993; 328(14): 1002–1006.
35. Tilly H, Lepage E, Coiffier BA et al. Intensive conventional chemotherapy (ACVBP regimen) compared with standard CHOP for poor-prognosis aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003; 102(13): 4284–4289.
36. Récher C, Coiffier B, Haioun C et al. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet* 2011; 378(9806): 1858–1867. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61040-4.
37. Diehl V, Franklin J, Pfreundschuh M et al. Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 2003; 348(24): 2386–2395.
38. Maloney DG, Liles TM, Czerwinski DK et al. Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 1994; 84(8): 2457–2466.
39. McLaughlin P, Grillo L, Link BK et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998; 16(8): 2825–2833.
40. Nadler LM, Stashenko P, Hardy R et al. Serotherapy of a patient with a monoclonal antibody directed against a human lymphoma-associated antigen. *Cancer Res* 1980; 40(9): 3147–3154.
41. Coiffier B, Lepage E, Herbret R et al. MabThera (rituximab) plus CHOP is superior to CHOP alone in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLCL): interim results of a randomized GELA trial. *Blood* 2000; 96 (Suppl 1): 950–950.
42. Goede V, Fischer K, Busch R et al. Obinutuzumab plus Chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370(12): 1101–1110. doi: 10.1056/NEJMoa1313984.
43. Morschhauser F, Radford J, Van Hoof A et al. Phase III trial of consolidation therapy with yttrium-90-ibritumomab tiuxetan compared with no additional therapy after first remission in advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26(32): 5156–5164. doi: 10.1200/JCO.2008.17.2015.
44. Younes A, Gopal AK, Smith SE et al. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30(18): 2183–2189. doi: 10.1200/JCO.2011.38.0410.
45. Pro B, Advani R, Brice P et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large-cell lymphoma: results of a phase II study. *J Clin Oncol* 2012; 30(18): 2190–2196. doi: 10.1200/JCO.2011.38.0402.
46. Topp MS, Gokbuget N, Stein AS et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015; 16(1): 57–66. doi: 10.1016/S1470-2045(14)71170-2.
47. Viardot A, Goebeler M, Hess G et al. Treatment of relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma with the bispecific T-cell engager (BiTE<sup>®</sup>) antibody construct blinatumomab: primary analysis results from an open-label, phase 2 study. *Blood* 2014; 124(21): 4460–4460.
48. Rothe A, Sasse S, Topp MS et al. A phase 1 study of the bispecific anti-CD30/CD16A antibody construct AFM13 in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2015; 125(26): 4024–4031. doi: 10.1182/blood-2014-12-614636.
49. Reeder CB, Ansell SM. Novel therapeutic agents for B-cell lymphoma: developing rational combinations. *Blood* 2011; 117(5): 1453–1462. doi: 10.1182/blood-2010-06-255067.
50. Perez-Galan P, Dreyling M, Wiestner A. Mantle cell lymphoma: biology, pathogenesis, and the molecular basis of treatment in the genomic era. *Blood* 2011; 117(1): 26–38. doi: 10.1182/blood-2010-04-189977.
51. Wang ML, Rule S, Martin P et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2013; 369(6): 507–516. doi: 10.1056/NEJMoa1306220.
52. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(3): 213–223. doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
53. Wilson WH, Young RM, Schmitz R et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med* 2015; 21(8): 922–926.
54. Flinn I, Kimby E, Cotter FE et al. A phase III, randomized, controlled study evaluating the efficacy and safety of idelalisib (GS-1101) in combination with ofatumumab for previously treated chronic lymphocytic leukemia (CLL). *ASCO Meeting Abstracts* 2013; 31 (Suppl 15): TPS7131.
55. Gopal AK, Kahl BS, de Vos S et al. PI3K $\delta$  inhibition by idelalisib in patients with relapsed indolent lymphoma. *N Engl J Med* 2014; 370(11): 1008–1018. doi: 10.1056/NEJMoa1314583.
56. Seymour J, Davids MS, Pagel JM et al. Bcl-2 Inhibitor ABT-199 (GDC-0199) monotherapy shows anti-tumor activity including complete remissions in high-risk relapsed/refractory (R/R) chronic lymphocytic leukemia (CLL) and Small lymphocytic lymphoma (SLL). *Blood* 2013; 122(21): 872–872.
57. Fowler NH, Davis RE, Rawal S et al. Safety and activity of lenalidomide and rituximab in untreated indolent lymphoma: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(12): 1311–1318. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70455-3.
58. Wang M, Fowler N, Wagner-Bartak N et al. Oral lenalidomide with rituximab in relapsed or refractory diffuse large cell, follicular and transformed lymphoma: a phase II clinical trial. *Leukemia* 2013; 27(9): 1902–1909. doi: 10.1038/leu.2013.95.
59. Trneny M, Lamy T, Walewski J et al. Phase II randomized, multicenter study of lenalidomide vs best investigator's choice in relapsed/refractory mantle cell lymphoma: results of the MCL-002 (SPRINT) study. *Blood* 2014; 124(21): 626.
60. Vitolo U, Chiappella A, Franceschetti S et al. Lenalidomide plus R-CHOP21 in elderly patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: results of the REAL07 open-label, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(7): 730–737. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70191-3.
61. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 311–319. doi: 10.1056/NEJMoa1411087.
62. Moskowitz CH, Ribrag V, Michot JM et al. PD-1 Blockade with the monoclonal antibody pembrolizumab (MK-3475) in patients with classical Hodgkin lymphoma after brentuximab vedotin failure: preliminary results from a phase 1b study (KEYNOTE-013). *Blood* 2014; 124(21): 290.
63. Westin JR, Chu F, Zhang M et al. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(1): 69–77. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70551-5.

# Difuzní velkobuněčný B lymfom – moderní způsoby diagnostiky a molekulárně cílené léčby

## Diffuse Large B-cell Lymphoma – Modern Diagnostics and Molecularly Targeted Treatment

Pytlík R., Trněný M.

I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

**Východiska:** Difuzní velkobuněčný B lymfom je označení zahrnující řadu klinicko-patologických jednotek lišících se molekulární patogenezi, klinickou prezentací i prognózou. Přesná korelace mezi klinicko-patologickými a molekulárními subtypy difuzního velkobuněčného B lymfomu nebyla dosud stanovena, byly však identifikovány klíčové signální dráhy, jejichž blokáda může být terapeuticky významná. **Cíl:** Cílem tohoto přehledu je ukázat moderní přístup k diagnostice difuzního velkobuněčného B lymfomu na molekulární úrovni, shrnout současné možnosti léčby nově diagnostikovaných pacientů s difuzním velkobuněčným B lymfomem a představit nové léčebné možnosti, které jsou v současné době zkoumány v klinických studiích. **Výsledky:** Současná molekulární diagnostika difuzního velkobuněčného B lymfomu se ubírá dvěma hlavními směry. První směr je členění podle genové exprese, buď na úrovni mRNA nebo na úrovni proteinové. Dle toho jsou pacienti děleni do podskupin podle buněčného původu nebo dle stromální signatury. Nejčastěji užívané je dělení podle buněčného původu, na lymfomy podobné B buňkám z germinálního centra (GCB subtyp) a na lymfomy podobné aktivovaným B buňkám (ABC subtyp). Druhý směr výzkumu představují studie genetické informace na úrovni DNA, kde jsou identifikovány genetické mutace, delece, amplifikace a ztráty heterozygoty, které mohou být specifické pro skupiny definované genovou expresí, ale mohou jít i napříč těmito skupinami. Oba tyto výzkumné směry se snaží identifikovat klíčové signální dráhy důležité pro přežití a růst nádorových buněk a v nich místa, která je možné farmakologicky zablokovat. V současné době jsou standardem léčby 1. linie pro všechny pacienty antracyklinové režimy s rituximabem, které zlepšily prognózu jak pacientů s ABC, tak pacientů s GCB subtypem, i když výsledky u pacientů s ABC subtypem jsou nadále horší. Existuje řada nových preparátů se slibnou účinností, jež se zkoumají v různých pokročilých fázích klinických studií (lenalidomid, bortezomib, idelalisib, venetoclax). Jejich předpokládaná účinnost se však bude týkat pouze přesně molekulárně definovaných podtypů difuzního velkobuněčného B lymfomu. **Závěr:** Na příchod nových cílených léků do praxe je nutno ještě vyčkat. Pro jejich efektivní užití bude nutný nejen průkaz jejich účinnosti v randomizovaných studiích, ale též rozšíření rutinní diagnostiky o molekulární metody a zajištění její přesnosti, rychlosti a dostupnosti.

### Klíčová slova

difuzní velkobuněčný B lymfom – exprese genu – signální transdukce – léčba

Práce byla podpořena granty IGA MZ ČR č. NT13072-4/2012 a NT12193-5/2011.

This study was supported by grants of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT13072-4/2012 and NT12193-5/2011.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Robert Pytlík

I. interní klinika – klinika hematologie  
1. LF UK a VFN v Praze  
U Nemocnice 2  
128 08 Praha 2  
e-mail: pytlirik@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 25. 9. 2015

Přijato/Accepted: 28. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153564>

## Summary

**Background:** Diffuse large B-cell lymphoma is a common label for a number of clinico-pathological entities, which differ in molecular pathogenesis, clinical presentation and prognosis. Exact correlation between clinico-pathological and molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma was not optimally defined; however, key signal transduction pathways were identified; blockage of these pathways may be therapeutically significant. **Aim:** The purpose of this review is to show current approach to diagnostics of diffuse large B-cell lymphoma on molecular levels, to summarize current first-line treatment options for newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma patients and to introduce new treatment possibilities, which are currently under investigation in clinical trials. **Results:** Current molecular diagnostics of diffuse large B-cell lymphoma is evolving in two main directions. One direction is classification according to gene expression or protein levels. According to these studies, patients may be divided into subgroups according to the cell of origin or according their stromal signature. Most frequently used is classification according cell of origin (COO), which divides diffuse large B-cell lymphomas into GCB subtype (germinal B-cell like) or ABC subtype (activated B-cell like). Second direction is studying genetic information on DNA level, where genetic mutations, deletions, amplifications and losses of heterozygosity are identified, which may be specific for subgroups defined by gene expression analysis, but may go across them. Both these directions aim at identifying signaling pathways important for survival and proliferation of tumor cells and in these, to identify targets for pharmacological blockage. Currently, standard of first-line treatment for all patients is anthracycline-based regimen with rituximab, which improved prognosis in both cell of origin subtypes, even if patients in the ABC subgroup have still inferior outcome. There is a number of new drugs with promising effectivity, which are studied in different phases of clinical trials (lenalidomide, bortezomib, idelalisib, venetoclax), but their possible effectivity will be limited only for precisely defined molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. **Conclusion:** The advent of new targeted drugs for diffuse large B-cell lymphoma is still awaited. For their effective use, besides the proof of their effectivity in randomized studies, also the extension of use of molecular methods in routine diagnostics and ensuring their wide availability will be necessary.

## Key words

diffuse large B-cell lymphoma – gene expression profiling – signal transduction pathways – treatment

## Úvod

Diagnostika a léčba difuzního velkobuněčného B lymfomu (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL) představuje velmi úspěšnou kapitolu z dějin klinické onkologie. Z diagnostického hlediska tento lymfom (a lymfomy obecně) jsou jedním z prvních příkladů úspěšného použití monoklonálních protilátek, a to jak pomocí imunohistochemie, tak i průtokové cytometrie [1,2]. DLBCL byl jako jedno z prvních onemocnění úspěšně studován pomocí profilů genové exprese na úrovni microarrays (hned několik způsobů klasifikace) [3–5], molekulární patogenezi onemocnění pomáhá objasnit komparativní genomová hybridizace (aCGH) [6,7], k identifikaci genetických mutací jako potenciálně důležitých léčebně využitelných cílů výrazně přispělo sekvenování nové generace (next-generation sequencing – NGS) [8] a přenesení studia genové exprese DLBCL z experimentální na rutinní platformu výrazně přiblížilo úspěšné využití metody nanostringů [9]. Z terapeutického hlediska počet vyléčených pacientů s pokročilým DLBCL stoupl z počtu blízkého 0 na 30 % od poloviny minulého století do jeho osmé dekády [10] a dále na 50–60 % v prvním desetiletí tohoto století. Tento druhý skok se podařil zavedením anti-CD20 protilátky rituximabu do

rutinní praxe [11–13], což bylo umožněno až díky výše uvedené možnosti imunohistochemického průkazu membránových antigenů. Úspěch rituximabu je tedy rovněž jedním z prvních příkladů úspěšného přenesení metod moderní diagnostiky do praxe.

V posledních 10 letech k podobnému posunu v úspěšnosti léčby DLBCL nedošlo, avšak došlo k výraznému posunu v diagnostických možnostech, i když většina experimentálně užívaných metod nebyla ještě úspěšně převedena do rutinní praxe. Rozvoj těchto experimentálních metod však vedl k výraznému skoku v porozumění biologii DLBCL, zejména na úrovni klíčových signálních drah, které umožňují přežití a proliferaci nádorových buněk [14,15], a na úrovni imunologických mechanismů, které poskytují buňkám DLBCL ochranu [5,16]. Díky tomu došlo též k rozvoji experimentálních léčebných metod, z nichž se mnohé posunuly do II.–III. stadia klinických zkoušek. Zdá se tedy pravděpodobné, že v blízké budoucnosti dojde k dalšímu výraznému pokroku v léčbě tohoto nádorového onemocnění.

Tento přehled si klade za úkol krátce přiblížit způsoby, které pomohly identifikovat nové léčebné cíle, na základě současných léčebných postupů přiblížit skupiny pacientů se setrvalě špat-

nou prognózou, představit nové slibné strategie a krátce se zmínit o výzvách, které představuje jejich event. zavedení do klinické praxe. Co se týče léčby, budeme se zabývat vesměs léčbou nově diagnostikovaných pacientů, o léčbě re-labovaných lymfomů pojednává článek autorů Pohlreich et al v tomto čísle [17].

## Současná klasifikace DLBCL – nové diagnostické metody, nové poznatky

Podle zatím poslední verze WHO klasifikace z roku 2008 se DLBCL dělí na řadu podtypů, variant a klinicko-patologických podjednotek včetně přechodných typů mezi DLBCL a jinými klinickými entitami (tab. 1) [18]. Toto rozdělení však jistě bude v následné klasifikaci, očekávané na přelomu tohoto a příštího roku, upraveno, protože jednak již neodpovídá poznatkům nashromážděným v posledních několika letech, jednak neposkytuje dostatečnou oporu pro stanovení léčebné strategie. Dá se však očekávat, že ani nová klasifikace nebude uspokojivě reflektovat všechny nové poznatky, a to především proto, že diagnostika DLBCL představuje „pohyblivý cíl“, ke kterému se navíc různé skupiny badatelů pokoušejí dospět různými metodami.

V éře po zavedení monoklonálních protilátek znamenalo zásadní změnu

v přístupu k diagnostice DLBCL jejich zkoumání na základě profilů genové exprese [3–5,16,19]. Globální profily genové exprese na úrovni mRNA studované pomocí tzv. microarrays umožnily rozdělení difuzních velkobuněčných lymfomů na dvě podskupiny podle buněčného původu (cell of origin – COO): lymfom podobný B buňkám z germinálního centra (germinal centre B-cell like – GCB) a lymfom podobný aktivovaným B lymfocytům (activated B-lymphocyte like – ABC) s malým množstvím případů, které se nepodařilo klasifikovat. Tento přístup rovněž vedl k potvrzení postavení primárního mediastinálního B lymfomu jako zvláštní klinické jednotky, která se liší od ostatních DLBCL i na molekulární úrovni, a konečně vedl i k molekulární definici tzv. lymfomů „šedé zóny“ [20,21]. Microarrays se však ukázaly jako nepoužitelné v běžné klinické praxi vzhledem ke své technické náročnosti, problémům se standardizací a potřebě čerstvě zmražené tkáně. Podařilo se sice vytvořit zjednodušený, šestigenový model, v němž byla genová exprese určována z archivních parafinových vzorků pomocí real-time kvantitativní PCR (RT-qPCR) [22], avšak tato metoda není praktická ke studiu exprese většího počtu genů.

V praxi se ukázalo schůdné zjišťování proteinové exprese pomocí imunohistochemie a bylo navrženo několik modelů k oddělení GC od non-GC fenotypu. Algoritmus dle Hansové se dočkal největší popularity [23], ale korelace tohoto i dalších modelů s profily genové exprese se ukázala jako omezená: v recentní studii srovnávající devět imunohistochemických algoritmů byly jen 4 % pacientů klasifikovány jako GC a 23 % jako ABC/nonGC všemi devíti [24]. Problematická je i korelace imunohistochemických modelů s výsledky léčby [24–26].

Řešením tohoto problému by mohla být nově zavedená metoda stanovení genové exprese na úrovni mRNA pomocí metody nanostringů [27]. Jedná se o metodiku, která vyžaduje pouze malé fragmenty mRNA, jež je možno získat z parafinových vzorků. Fragmenty mRNA jsou hybridizovány se dvěma DNA próbami, jednou fluorescenčně označenou

**Tab. 1. DLBCL – varianty, podskupiny, podtypy a klinické jednotky (podle [18]).**

#### **DLBCL – blíže nespecifikovaný**

- běžné morfologické varianty
  - centroblastový
  - imunoblastový
  - anaplastický
- vzácné morfologické varianty
- molekulární podskupiny
  - podobný B buňkám germinálního centra (GCB)
  - podobný aktivovaným B lymfocytům (ABC)
- imunohistochemické podskupiny
  - CD5 pozitivní DLBCL
  - podobný B buňkám germinálního centra (GCB)
  - nepodobný B buňkám germinálního centra (non-GCB)

#### **Podtypy difuzního velkobuněčného lymfomu**

- velkobuněčný B lymfom bohatý na T buňky a histiocyty
- primární DLBCL CNS
- primární kožní DLBCL, leg-type
- EBV pozitivní DLBCL starších osob

#### **Jiné klinické jednotky z velkých B buněk**

- primární mediastinální B lymfom (PMBL)
- intravaskulární velkobuněčný B lymfom
- DLBCL asociovaný s chronickým zánětem
- lymfomatoidní granulomatóza
- ALK pozitivní velkobuněčný B lymfom
- plazmablastický B lymfom
- velkobuněčný B lymfom vzniklý v terénu HHV-8 asociované multicentrické Castlemannovy choroby
- primární B lymfom vznikající ve výpotku

#### **Přechodné typy („šedá zóna“)**

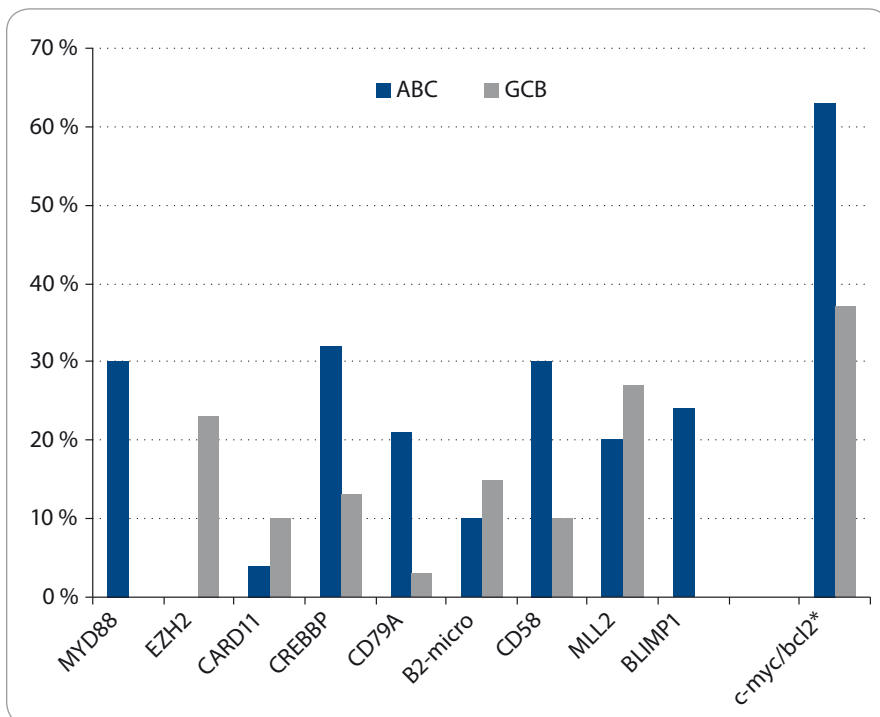
- B lymfom blíže neklasifikovatelný, s rysy mezi difuzním velkobuněčným B lymfomem a Burkittovým lymfomem
- B lymfom blíže neklasifikovatelný, s rysy mezi difuzním velkobuněčným B lymfomem a klasickým Hodgkinovým lymfomem

a druhou imobilizační. Tak zvaný CodeSets (většinou pro několik desítek stanovovaných genů včetně kontrolních) mohou být individuálně připravené, ale existují i designované sety pro různé účely – konkrétně pro stanovení COO u DLBCL existuje platforma Lymph2Cx kvantifikující 20 genů [28]. CodeSets jsou následně imobilizovány a mRNA kopie jsou počítány digitálně. Platforma velmi dobře koreluje s klasickými mikroarray i RT-qPCR, velmi dobrá je rovněž korelace při opakovaném stanovení z téhož vzorku a korelace mezi různými šaržemi CodeSets je údajně stoprocentní. Nejdů-

ležitější však je, že COO stanovené pomocí nanostringů mají prognostický význam [29]. Nevýhodou je vysoká cena základního vybavení a (zatím) i reagentů. V této době je stanovení COO pomocí nanostringů užíváno v klinických studiích fáze III s cílenými léky (lenalidomid, ibrutinib), kde rozhoduje o vhodnosti zařazení pacientů.

Je ovšem nutné se zmínit, že v současné době existuje ještě jeden způsob dělení DLBCL na základě genové exprese, a to pomocí tzv. stromální signatury, tedy pomocí určování genové exprese nádorového mikroprostředí.





**Graf 1. Rozdělení genových mutací/zvýšených expresí u pacientů s DLBCL podle molekulárně biologických subtypů: GCB vs. ABC.**

\*Dvojitá exprese pomocí imunohistochemie, ostatní frekvence udávají frekvence mutací.

Tento způsob je nezávislý na COO a má rovněž prognostický význam [16].

Určení COO však není všespásné i z jiných důvodů. Jednak ani tento, ani žádný jiný algoritmus rozdělení pacientů na základě globální genové exprese nedokáže oddělit pacienty s pravděpodobností vyléčení blížíící se 100 % od pacientů s pravděpodobností vyléčení blízkou nule, jednak proto, že na základě studia genetické informace na úrovni DNA se podařilo určit mutace, amplifikace a delece, které jsou někdy specifické pro určitou COO podskupinu, jiné naopak jdou napříč oběma podskupinami (graf 1) [30,31]. Podobně jako stanovení genové exprese na úrovni mRNA i metody ke studiu DNA jsou založeny na array technologiích umožňujících rychlé zkoumání velkého počtu vzorků. Arraye komparativní genomové hybridizace (aCGH) zjišťují genové delece či amplifikace chromozomálních úseků od velikosti 120 kbp výše [6,7]. Jejich nevýhodou je, že nedokáží zjistit balancované translokace. NGS umožňuje stanovit mutační stav včetně bodových mutací, pokud jsou tyto přítomny alespoň u 5 %

buněk ve vzorku [8]. Nakonec ani imunohistochemické vyšetření není možné zcela zavrhnout, protože určování duální exprese bcl2/c-myc proteinů má i v éře microarrays prognostický význam nezávislý na COO [29,32].

### Současný standard léčby DLBCL a identifikace pacientů s nepříznivou prognózou

Prognóza pacientů s DLBCL je již po déle než 20 let stanovována pomocí mezinárodního prognostického indexu (International prognostic index – IPI) včetně jeho modifikací (aaIPI, R-IPI, NCCN-IPI, E-IPI) [33–36]. IPI se ukázal jako užitečný i při určování prognózy relabujících a refrakterních DLBCL (saIPI) [37], alespoň v předrituximabové éře. Problém IPI, stejně jako dalších klinických prognostických indexů, z nichž uvedeme alespoň tzv. ABE index pro pacienty starší 60 let vyvinutý českou Kooperativní lymfomovou skupinou [38], je především v tom, že pacienty se špatnou prognózou sice identifikují, ale neumožňují nám účinně zasáhnout (tab. 2). Kombinace tradičních prognostických znaků

s prognostickými znaky biologickými, včetně COO, tento potenciál sice mají, ale optimální způsob jejich kombinace nebyl dosud nalezen.

V současné době je standardem léčby pro všechny pacienty s DLBCL, bez ohledu na věk a počet nepříznivých prognostických faktorů, režim s rituximabem a antracykliny, přičemž randomizované studie neprokázaly, že jakýkoli režim by byl lepší než R-CHOP (kombinace rituximabu a chemoterapie CHOP – cyklofosamid, doxorubicin, vinkristin a prednison) podávaný ve třítydenních intervalech (R-CHOP-21). Podle revidovaného IPI (R-IPI) pak i pacienti v prognosticky nejméně příznivé skupině (3–5 nepříznivých znaků) mají pravděpodobnost čtyřletého přežití bez progresu zhruba 50 %, tedy i v případě, že bychom měli k dispozici účinnější léčebný režim, znamenalo by to, že 50 % pacientů bude léčeno zbytečně intenzivně a s vyšší toxicitou.

V předrituximabové éře německá skupina pro studium vysoce maligních lymfomů ukázala v randomizovaných studiích, že zkrácení intervalu pro podání CHOP z 21 dnů na 14 (CHOP-14) u pacientů nad 60 let a přidání etoposidu k CHOP (CHOEP) u mladších nízké rizikových pacientů zlepšuje přežití bez události a celkové přežití (overall survival – OS) cca o 10 % v pěti letech [39,40]. Tyto výsledky se však nepodařilo v éře R-CHOP potvrdit [41–43].

Mírné kontroverze v současné rituximabové éře před nástupem novějších cílených způsobů léčby budí podskupina mladších nemocných (do 60 let) s vyšším aaIPI (2–3). Tato skupina nebyla ve směr zařazována do randomizovaných studií užívajících jako jedno z léčebných ramen R-CHOP-21. Výjimku tvoří pouze Cunninghamova studie [41], kde však nebyl uveden ani přesný počet těchto nemocných, ani jejich výsledky. Někteří odborníci se proto domnívají, že tito nemocní zaslouží intenzivnější přístup.

V randomizovaných studiích mladších rizikových pacientů byl nejvíce zkoumán přínos pozdní intenzifikace v podobě vysokodávkované léčby s podporou autologních křevetvorných buněk (HDT-ASCT). Byly publikovány celkem čtyři randomizované studie, které ne-

**Tab. 2. Prognostické systémy pro DLBCL založené na klinických parametrech (podle [33–38]).**

**A. Originální Mezinárodní prognostický index pro agresivní lymfomy léčené režimem s antracykliny, bez rituximabu (IPI) [33].**

Parametry: věk > 60, stadium III–IV, zvýšené LDH, špatný performance status (ECOG ≥ 2), postižení více než 1 extranodálního orgánu. Bod za každý nepříznivý prognostický faktor.

Bodů	Kompletní remise (%)	Celkové přežití v 5 letech (%)
0–1	87	73
2	67	51
3	55	43
4–5	44	26

**B. Věkově upravený Mezinárodní prognostický index (aaIPI) [33].**

Dělení podle věku: ≤ 60 a > 60 let, vypadáva postižení extranodálních orgánů, ostatní parametry jako u IPI.

Bodů	Kompletní remise (%)		Celkové přežití v 5 letech (%)	
	≤ 60 let	> 60 let	≤ 60 let	> 60 let
0	92	91	83	56
1	78	71	69	44
2	57	56	46	37
3	46	36	32	21

**C. Věkově upravený Mezinárodní prognostický index pro relabující a refraktení pacienty (sekundární aaIPI, saIPI) pro pacienty ≤ 60 let, léčba ICE, bez rituximabu [34].**

Stejně parametry jako u aaIPI.

Bodů	Kompletní remise (%)	Celkové přežití ve 4 letech (%)
0	60	74
1	28	49
2–3	21	18

**D. Revidovaný Mezinárodní prognostický index (R-IPI) pro pacienty léčené R-CHOP [35].**

Stejně parametry jako u IPI.

Bodů	Přežití bez selhání ve 4 letech (%)	Celkové přežití ve 4 letech (%)
0	94	94
1	80	79
2–3	53	55

**E. Upravený IPI (NCCN-IPI) pro pacienty léčené režimem s antracykliny a rituximabem [36].**

Parametry: věk do 40 let 0 bodů, > 40 let až ≤ 60 let 1 bod, > 60 let až ≤ 75 let 2 body, > 70 let 3 body, LDH – v normě 0 bodů, > 1 až ≤ 3násobek normy 1 bod, > 3násobek normy 2 body. Dále 1 bod za stadium III–IV, ≥ 1 extranodální postižení, ECOG performance status ≥ 2.

Bodů	Přežití bez selhání v 5 letech (%)		Celkové přežití v 5 letech (%)	
	NCCN	BCCA	NCCN	BCCA
0–1	91	94	96	96
2–3	74	72	82	77
4–5	51	54	64	56
≥ 6	30	35	33	38

NCCN – trénigový dataset (National Cancer Centers Network), BCCA – validační dataset (British Columbia Cancer Agency)

**E. E-IPI (elderly IPI) pro pacienty starší 60 let léčené R-CHOP [37].**

Prognostické faktory: stejné jako v IPI, pouze věková hranice je 70 let.

Bodů	Přežití bez selhání ve 3 letech (%)	Celkové přežití ve 3 letech (%)
0–1	77 (95% CI 69–89 %)	86 (95% CI 78–94 %)
2	62 (95% CI 50–73 %)	74 (95% CI 64–84 %)
3	47 (95% CI 36–59 %)	58 (95% CI 47–69 %)
4–5	28 (95% CI 14–43 %)	36 (95% CI 21–50 %)

**F. ABE3 prognostický index České Kooperativní lymfomové skupiny pro pacienty starší 60 let léčené antracyklinovým režimem s rituximabem [38].**

Nepříznivé faktory: věk ≥ 70 let, masivní postižení ≥ 7,5 cm, ECOG ≥ 2.

Skupina I – žádný nepříznivý faktor či jen věk, skupina II – masivní postižení, špatný celkový stav (ECOG) nebo kombinace věku a špatného celkového stavu, skupina III – masivní postižení v kombinaci s alespoň jedním dalším nepříznivým faktorem.

Skupina	Celkové přežití ve 3 letech (%)
I	92 (95% CI 86–98 %)
II	67 (95% CI 61–74 %)
III	36 (95% CI 26–51 %)

prokázaly přínos autologní transplantace [44–47]. Problém těchto studií spočívá jednak v samotném konceptu – pozdní intenzifikace nemůže pomoci pacientům, kteří nedosáhnou remise předchozí konvenční léčbou –, jednak i v tom, že ve třech ze čtyř studií byla použita v netransplantačním ramenu intenzivnější léčba než R-CHOP-21. V poslední studii pak byly zahrnuty i jiné diagnózy než DLBCL a 30 % pacientů s DLBCL nedostalo rituximab. Zatímco tedy bylo všeobecně přijato, že HDT-ASCT konsolidace nemá místo v léčbě 1. linie u pacientů s DLBCL, není jasné, zda některý z intenzivnějších indukčních režimů (R-CHOP-14, R-CHOEP-14 či R-MegaCHOP) má být u mladších rizikových pacientů pokládán za „nový standard“.

### Nové léčebné metody

Léků, které navazují na výše uvedené poznatky z biologie DLBCL, je v současné době v různých pokročilých fázích klinického zkoumání několik desítek a v preklinickém pochopitelně mnohem více. Z těchto důvodů se zde zaměříme na ty, které jsou již ve fázi randomizovaných klinických studií v primoléčbě, a na ty, u nichž probíhají nebo jsou připravovány klinické studie i v ČR.

### Lenalidomid

Lenalidomid je imunomodulační agens aktivující T lymfocyty a NK buňky. Kromě toho blokuje angiogenezi a má i přímý protinádorový účinek. Ve dvou pilotních studiích [48,49] byla prokázána jeho účinnost jako monoterapie u 19 %, resp. 28 % pacientů s relabovaným či refrakterním DLBCL. V následné studii zjišťující aktivitu lenalidomidu u různých DLBCL bylo zjištěno, že léčebná odpověď byla pozorována u 53 % pacientů s non-GC fenotypem, ale pouze u 9 % pacientů s GC fenotypem určeným dle algoritmu Hansové [23,50].

V dalších studiích vyšlo najevo, že část přímé protinádorové aktivity i aktivace T lymfocytů je zprostředkována aktivací exprese cereblonu (kódovaného genem *CRBN*). Cereblon způsobuje změnu afinity E3 ubikvitin ligázy, a tím zvýšenou degradaci určitých substrátů, včetně NF- $\kappa$ B, jehož signální dráha

hraje klíčovou roli v patogenezi non-GC (či ABC) lymfomů. Stejným způsobem jsou degradovány transkripční faktory IKZF1 (Ikaros) a IKZF3 (Aiolos) u T lymfocytů, což způsobuje jejich aktivaci. Lenalidomid rovněž snižuje expresi interferon regulačního faktoru 4 (IRF4), na němž je závislá aktivace *MYC* onkogenu [51,52]. V následující studii fáze II kombinující R-CHOP s lenalidomidem (R2-CHOP) bylo zjištěno, že lenalidomid ruší negativní prognostický efekt non-GC fenotypu u DLBCL [53].

V současné době jsou v běhu dvě randomizované studie fáze II–III zkoumající R-CHOP vs. R2-CHOP v primoléčbě DLBCL. První zahrnuje neléčené pacienty bez ohledu na jejich molekulární subtyp (NCT01856192), druhá, probíhající i v ČR, zahrnuje pouze pacienty s ABC subtypem na základě mRNA exprese vyšetřované pomocí nanostringů (NCT02285062). Přestože podání lenalidomidu těmto nemocným představuje potenciální přínos, referování pacientů do studie je poměrně obtížné právě vzhledem k nutnosti čekání na výsledky tohoto vyšetření. Vzhledem k potenciální efektivitě u pacientů se zvýšenou expesí *MYC* onkogenu probíhá rovněž pilotní studie lenalidomidu v kombinaci s DA-EPOCH-R u těchto nemocných (NCT02213913).

### Bortezomib

Bortezomib je první z inhibitorů proteazomu či dráhy ubikvitin-proteazom (UPP). Předpokládaným mechanismem účinku bylo přerušení NF- $\kappa$ B dráhy, i když jiným způsobem, než jakým funguje lenalidomid – bortezomib měl zabránit degradaci inhibitoru NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B), a tím translokaci NF- $\kappa$ B do buněčného jádra [54]. Následně však bylo zjištěno několik dalších mechanismů účinku, které jsou na NF- $\kappa$ B nezávislé – zvýšená exprese p53, jež vede ke zvýšené expresi proapoptického proteinu Noxa [55], indukce stresu endoplazmatického retikula, který vede k uvolnění intracelulárního vázaného kalcia do cytoplazmy, jeho vychytávání mitochondriemi opět spouští apoptotickou kaskádu [56], či suprese HIF-1 $\alpha$ , který následně vede k utlumení PI3K/AKT/mTOR dráhy [57]. Kromě toho byl prokázán i vliv bortezo-

mibu na aktivaci protinádorových imunologických mechanismů [58].

Spekulace, že bortezomib potlačuje dráhu NF- $\kappa$ B, která je konstitučně aktivována u ABC podtypu DLBCL, vedla ke zkoumání mechanismu jeho účinku. Ve studii Dunleavyho et al [59] byl pacientům s relabovaným či refrakterním DLBCL podáván nejprve samotný bortezomib a posléze bortezomib v kombinaci s DA-EPOCH-R. Bylo zjištěno, že pacienti s ABC DLBCL mají skutečně větší procento celkové odpovědi než pacienti s GCB subtypem (83 vs. 13 %), stejně jako zlepšené OS (10,8 vs. 3,4 měsíce). Zlepšení předpokládané klinické odpovědi bylo zaznamenáno i v následné klinické studii R-CHOP s bortezomibem. Podobně jako lenalidomid i bortezomib ve spojení s R-CHOP dokázal smazat nepříznivý prognostický účinek ABC fenotypu [60]. I přes neznalost přesného mechanismu účinku bortezomibu u DLBCL vedly tyto klinické výsledky k zahájení několika randomizovaných studií chemoimunoterapie s bortezomibem vs. samotná chemoimunoterapie (např. NCT00931918 pro nově diagnostikované, NCT02542111 pro relabované pacienty s non-GC fenotypem). Vedle bortezomibu je v klinických zkouškách i nový inhibitor proteazomu, carfilzomib (NCT02073097).

### Dráha B buněčného receptoru (BCR)

Signalizace pomocí buněčného receptoru (BCR) je základní mechanismus přežití normálních i nádorových B buněk. U značného počtu DLBCL je tento receptor konstitučně aktivován, a to opět více u ABC než u GCB podtypu. Aktivace dráhy BCR vede v konečném důsledku jednak opět k aktivaci transkripčního faktoru NF- $\kappa$ B, jednak k aktivaci mTOR pomocí dráhy PI3K/AKT/mTOR, což aktivuje několik cílů důležitých pro regulaci proteosyntézy [61].

BCR signální dráha je velmi komplikovaná, a přestože zde existuje několik molekul, které je možno farmakologicky zablokovat, nádorové buňky si mohou vytvořit únikový mechanismus přes jiné komponenty BCR dráhy. Kromě toho mutace v některých genech (např. *CARD11*, mutovaný v 10 % lymfomů GCB

i ABC fenotypu) způsobují rezistenci na blokátory BCR signální dráhy [62].

Z BCR blokátorů jsou zatím v klinické praxi u různých druhů lymfomů užívány čtyři – blokátor Syk kinázy fostamatinib, blokátor Brutonovy kinázy (BTK) ibrutinib (dříve PCI-32765), blokátor PI3-kinázy idelalisib a blokátor mTOR temsirolimus. U DLBCL se z těchto jeví nejperspektivnější ibrutinib.

Průkaz účinnosti ibrutinibu u relabovaných/refrakterních DLBCL byl podán ve studii [63], kde byla zjištěna jeho preferenční aktivita u ABC podtypu. V následné studii Ib se potvrdila jeho schůdnost podávání s R-CHOP [64] a v současné době probíhá randomizovaná studie R-CHOP vs. R-CHOP s ibrutinibem u ABC podtypu DLBCL (NCT01855750). Byla též zjištěna synergie mechanismu ibrutinibu s bortezomibem [65], která je rovněž zkoumána v klinických studiích, ovšem u pacientů s lymfomem z plášťových buněk (NCT02356458).

#### Venetoclax (ABT-199, GSC-0199)

Zvýšená exprese antiapoptotického proteinu bcl-2 je přítomna zhruba u 50 % DLBCL, pokud je zkoumána imunohistochemicky, záleží ovšem na způsobu hodnocení. I přes problémy s kvantifikací imunohistochemického stanovení je tento způsob vyšetření u DLBCL výhodný vzhledem k tomu, že bcl-2 může být exprimováno několika mechanismy, které se liší u GCB a ABC subtypu [66]: zatímco u GCB lymfomů je to většinou t(14;18), u ABC subtypu jde o amplifikaci genového lokusu.

Bcl-2 patří do skupiny antiapoptotických proteinů (spolu s Mcl-1, Bcl-X<sub>L</sub>, Bcl-W či A1), které jsou lokalizovány na buněčné membráně. Současně s nimi jsou na témže místě lokalizovány i molekulárně příbuzné antiapoptotické proteiny (Bad, Bax, Bim, Puma, Noxa), které se vážou na proteiny bcl-2 skupiny, umožňují jejich degradaci, a tím obnovují citlivost buněk k apoptóze [67].

Ohledně prognostického významu bcl-2 u DLBCL se dlouho vedly spory. V současné době panuje shoda, že zvýšená exprese bcl-2 sama o sobě neznamená horší prognózu, ale v kombinaci s některými dalšími faktory ano. Tímto

faktorem je především koexprese c-myc. Dvojitá exprese bcl-2 a je přítomna u 23–31 % pacientů s DLBCL [32,68] a je až 2krát častější u ABC než u GCB subtypu [69]. Oproti tomu dvojitá přestavba *BCL2* a *MYC* onkogenu je mezi předpokládanými DLBCL přítomna v méně než 10 % případů, v současné době jsou ovšem tyto lymfomy řazeny do skupiny blíže nespécifikovaných NHL s rysy intermediárními mezi DLBCL a Burkittovým lymfomem (tab. 1).

Vývoj inhibitorů bcl-2 probíhá už řadu let. První lék, blokující *BCL2* na genové úrovni, oblimersen, se přes určité léčebné úspěchy u chronické lymfatické leukemie a indolentních lymfomů [70,71] do praxe neprosadil. Úspěšněji si zatím vedou inhibitory bcl-2 proteinu, tzv. BH3 mimetika. Molekuly ABT-737 a jeho perorální verze ABT-263 (navitoclax) prokázaly svou efektivitu především v léčbě chronické lymfatické leukemie [72], ale měly poměrně signifikantní nežádoucí účinky (např. trombopenii), vyplývající z toho, že zároveň inhibovaly Bcl-X<sub>L</sub>. ABT-199 (GDC-0199 či venetoclax) je selektivním inhibitorem bcl-2 proteinu, nepůsobí trombopenii, a je proto možné ho kombinovat s chemoterapií. Předpokládá se, že by mohl zlepšit prognózu především v případech dvojitě exprese bcl-2 a c-myc [73].

Schůdnost podávání venetoclaxu spolu s chemoimunoterapií (bendamustin a rituximab) u relabovaných a refrakterních lymfomů byla prokázána ve studii prezentované na sjezdu Americké hematologické společnosti v roce 2014 [74]. V současné době je připravována studie fáze Ib/II u pacientů s nově diagnostikovaným DLBCL, která bude zkoumat schůdnost a účinnost venetoclaxu v kombinaci R-CHOP nebo obinutuzumab-CHOP. Tato studie poběží i v ČR.

#### Závěr

V tomto článku jsme představili současný vývoj molekulární diagnostiky a na ní založené léčby pacientů s DLBCL. Vzhledem k počtu léků, které jsou v současné době v preklinickém i klinickém zkoumání, je velmi pravděpodobné, že některý z nich se dostane do běžné klinické praxe. To si vyžádá rozšíření našich rutinálních diagnostických metod o postupy,

kteří jsou v současné míře stále experimentální. Imunohistochemické stanovení exprese bcl-2 a c-myc nebude představovat zvláštní technické ani finanční nároky. Na druhé straně stanovení COO na molekulární úrovni bude vyžadovat alespoň zpočátku náročné technické vybavení, které patrně nebude k dispozici ani ve všech specializovaných hematologických centrech. I když je stále jistá naděje na to, že pro určení pacientů vhodných k léčbě na základě COO subtypu bude stačit imunohistochemie (jako v pilotních studiích s lenalidomidem), nedá se na to spoléhat. Kromě toho bude i z takto definovaných podskupin nutné vyloučit pacienty, kteří z určitých léčebných postupů nebudou moci mít přínos (např. 10 % nemocných s mutací CARD11). Určení specifických aktivačních či inhibičních genetických mutací bude vyžadovat NGS platformy, opět technicky i finančně náročné. Na tyto nezbytné úkoly by jistě bylo vhodné se s předstihem připravit.

#### Literatura

1. Winter JN, Variakojis D, Epstein AL. Phenotypic analysis of established diffuse histiocytic lymphoma cell lines utilizing monoclonal antibodies and cytochemical techniques. *Blood* 1984; 63(1): 140–146.
2. Shawler DL, Wormsley SB, Dillman RO et al. The use of monoclonal antibodies and flow cytometry to detect peripheral blood and bone marrow involvement of a diffuse, poorly differentiated lymphoma. *Int J Immunopharmacol* 1985; 7(4): 423–432.
3. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403(6769): 503–511.
4. Shipp MA, Ross KN, Tamayo P et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2002; 8(1): 68–74.
5. Monti S, Savage KJ, Kutok JL et al. Molecular profiling of diffuse large B-cell lymphoma identifies robust subtypes including one characterized by host inflammatory response. *Blood* 2005; 105(5): 1851–1861.
6. Tirado CA, Chen W, Garcia R et al. Genomic profiling using array comparative genomic hybridization define distinct subtypes of diffuse large B-cell lymphoma: a review of the literature. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 54. doi: 10.1186/1756-8722-5-54.
7. Nedomova R, Papajik T, Prochazka V et al. Cytogenetics and molecular cytogenetics in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2013; 157(3): 239–247.
8. Jardin F. Next generation sequencing and the management of diffuse large B-cell lymphoma: from whole exome analysis to targeted therapy. *Discov Med* 2014; 18(97): 51–65.
9. Scott DW, Mottok A, Ennishi D et al. Prognostic significance of diffuse large B-cell lymphoma cell of origin determined by digital gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue biopsies. *J Clin Oncol* 2015; 33(26): 2848–2856. doi: 10.1200/JCO.2014.60.2383.



10. Armitage JO, Corder MP, Leimert JT et al. Advanced diffuse histiocytic lymphoma treated with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) without maintenance therapy. *Cancer Treat Rep* 1980; 64(4–5): 649–654.
11. Coiffier B, Lepage E, Briere J et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346(4): 235–242.
12. Sehn LH, Donaldson J, Chhanabhai M et al. Introduction of combined CHOP plus rituximab therapy dramatically improved outcome of diffuse large B-cell lymphoma in British Columbia. *J Clin Oncol* 2005; 23(22): 5027–5033.
13. Pfreundschuh M, Trümper L, Osterborg A et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomized controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol* 2006; 7(5): 379–391.
14. Niemann CU, Wiestner A. B-cell receptor signaling as a driver of lymphoma development and evolution. *Semin Cancer Biol* 2013; 23(6): 410–421. doi: 10.1016/j.semcancer.2013.09.001.
15. Majchrzak A, Witkowska M, Smolewski P. Inhibition of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in diffuse large B-cell lymphoma: current knowledge and clinical significance. *Molecules* 2014; 19(9): 14304–14315. doi: 10.3390/molecules190914304.
16. Lenz G, Wright G, Dave Ss et al. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2008; 359(22): 2313–2323. doi: 10.1056/NEJMoa0802885.
17. Pohlreich D, Vacková B, Pytlík R et al. Záchraná léčba a role transplantací u lymfomů. *Klin Onkol* 2015; 28 (Suppl 3): 3S95–3S104. doi: 10.14735/amko20153S95.
18. Stein H, Varnke RA, Chan WC et al. Diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified. In: Swerdlow SH et al (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2008: 233–237.
19. Rosenwald A, Wright G, Leroy K et al. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J Exp Med* 2003; 198(6): 851–862.
20. Dave SS, Fu K, Wright GW et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 2006; 354(23): 2431–2442.
21. Hummel M, Bentink S, Berger H et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 2006; 354(23): 2419–2430.
22. Malumbres R, Chen J, Tibshirani R et al. Paraffin-based 6-gene model predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. *Blood* 2008; 111(12): 5509–5514. doi: 10.1182/blood-2008-02-136374.
23. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; 103(1): 275–282.
24. Coutinho R, Clear AJ, Owen A et al. Poor concordance among nine immunohistochemistry classifiers of cell-of-origin for diffuse large B-cell lymphoma: implications for therapeutic strategies. *Clin Cancer Res* 2013; 19(24): 6686–6695. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1482.
25. Gutiérrez-García G, Cardesa-Salzmann T, Climent F et al. Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunotherapy. *Blood* 2011; 117(18): 4836–4843.
26. Benesova K, Forsterova K, Votavova H et al. The Hans algorithm failed to predict outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *Neoplasma* 2013; 60(1): 68–73. doi: 10.4149/neo\_2013\_010.
27. Kulkarni MM. Digital multiplexed gene expression analysis using the NanoString nCounter system. *Curr Protoc Mol Biol* 2011; chapter 25: unit25B.10. doi: 10.1002/0471142727.mb25b10s94.
28. Scott DW, Wright GW, Williams PM et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood* 2014; 123(8): 1214–1217. doi: 10.1182/blood-2013-11-536433.
29. Scott DW, Mottok A, Ennishi D et al. Prognostic significance of diffuse large B-cell lymphoma cell of origin determined by digital gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue biopsies. *J Clin Oncol* 2015; 33(26): 2848–2856. doi: 10.1200/JCO.2014.60.2383.
30. Intlekofer AM, Younes A. Precision therapy for lymphoma – current state and future directions. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11(10): 585–596. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.137.
31. Dunleavy K, Wilson WH. Appropriate management of molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Oncology (Williston Park)* 2014; 28(4): 326–334.
32. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol* 2012; 30(28): 3452–3459.
33. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med* 1993; 329(14): 987–994.
34. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood* 2007; 109(5): 1857–1861.
35. Zhou Z, Sehn LH, Rademaker AW et al. An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood* 2014; 123(6): 837–842. doi: 10.1182/blood-2013-09-524108.
36. Hamlin PA, Zelenetz AD, Kewalramani T et al. Age-adjusted International Prognostic Index predicts autologous stem cell transplantation outcome for patients with relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003; 102(6): 1989–1996.
37. Advani RH, Chen H, Habermann TM et al. Comparison of conventional prognostic indices in patients older than 60 years with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP in the US Intergroup Study (ECOG 4494, CALGB 9793): consideration of age greater than 70 years in an elderly prognostic index (E-IPI). *Br J Haematol* 2010; 151(2): 143–151.
38. Procházka V, Pytlík R, Janíková A et al. A new prognostic score for elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP: the prognostic role of blood monocyte and lymphocyte counts is absent. *PLoS One* 2014; 9(7): e102594. doi: 10.1371/journal.pone.0102594.
39. Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood* 2004; 104(3): 626–633.
40. Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood* 2004; 104(3): 634–641.
41. Cunningham D, Hawkes EA, Jack A et al. Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles. *Lancet* 2013; 381(9880): 1817–1826. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60313-X.
42. Delarue R, Tilly H, Mounier N et al. Dose-dense rituximab-CHOP compared with standard rituximab-CHOP in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (the LNH03-6B study): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14(6): 525–533. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70122-0.
43. Pfreundschuh M, Nickening C, Kannourakis G et al. Rituximab as a „chemo-equalizer“ in the MInT (Mabthera International Trial Group) study: treatment results of CHOP-21, CHOEP-21, MACOP-B and PMitCEBO with and without rituximab in young good-prognosis patients with aggressive lymphomas. *Ann Oncol* 2005; 16 (Suppl 5): v98.
44. Vitolo U, Chiappella A, Brusamolino E et al. Randomized multicentre phase III study for first line treatment of young patients with high risk (aapI 2–3) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): Rituximab (R) plus dose-dense chemotherapy CHOP14/MegaCHOP14 with or without intensified high-dose chemotherapy (HDC) and autologous stem cell transplantation (ASCT). Results of DLCL04 trial of Italian Lymphoma Foundation (FIL) [abstract]. *Ann Oncol* 2011; 22 (Suppl 4): iv106.
45. Schmitz N, Nickelsen M, Ziepert M et al. Conventional chemotherapy (CHOEP-14) with rituximab or high-dose chemotherapy (MegaCHOEP) with rituximab for young, high-risk patients with aggressive B-cell lymphoma: an open-label, randomised, phase 3 trial (DSHNHL 2002-1). *Lancet Oncol* 2012; 13(12): 1250–1259. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70481-3.
46. Cortelazzo S, Tarella C, Gianni AM et al. Chemoimmunotherapy with R-CHOP or high dose sequential therapy (R-HDS) with autologous stem cell transplantation (ASCT) for high risk DLBCL patients: preliminary results of the randomized RHD50305 trial by Gruppo Italiano Terapie Innovative nei Linfomi (GITIL) [abstract]. *Hematol Oncol* 2013; 31 (Suppl 1): 136.
47. Stiff PJ, Unger JM, Cook R et al. Autologous transplantation as consolidation for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2013; 369(18): 1681–1690. doi: 10.1056/NEJMoa1301077.
48. Wiernik PH, Lossos IS, Tuscano JM et al. Lenalidomide monotherapy in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26(30): 4952–4957. doi: 10.1200/JCO.2007.15.3429.
49. Witzig TE, Vose JM, Zinzani PL et al. An international phase II trial of single-agent lenalidomide for relapsed or refractory aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2011; 22(7): 1622–1627. doi: 10.1093/annonc/mdq626.
50. Lopez-Girona A, Mendy D, Ito T et al. Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide. *Leukemia* 2012; 26(11): 2326–2335. doi: 10.1038/leu.2012.119.
51. Zhang LH, Kosek J, Wang M et al. Lenalidomide efficacy in activated B-cell-like subtype diffuse large B-cell lymphoma is dependent upon IRF4 and cereblon expression. *Br J Haematol* 2013; 160(4): 487–502. doi: 10.1111/bjh.12172.
52. Hernandez-Ilizaliturri FJ, Deeb G, Zinzani PL et al. Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal center B-cell-like than in germinal center B-cell-like phenotype. *Cancer* 2011; 117(22): 5058–5066. doi: 10.1002/cncr.26135.
53. Nowakowski GS, LaPlant B, Macon WR et al. Lenalidomide combined with R-CHOP overcomes negative prognostic impact of non-germinal center B-cell phenotype in newly diagnosed diffuse large B-Cell lymphoma: a phase II study. *J Clin Oncol* 2015; 33(3): 251–257. doi: 10.1200/JCO.2014.55.5714.
54. Karin M, Yamamoto Y, Wang QM. The IKK NF-kappa B system: a treasure trove for drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3(1): 17–26.

55. Qin JZ, Ziffra J, Stennett L et al. Proteasome inhibitors trigger NOXA-mediated apoptosis in melanoma and myeloma cells. *Cancer Res* 2005; 65(14): 6282–6293.
56. Landowski TH, Megli CJ, Nullmeyer KD et al. Mitochondrial-mediated dysregulation of Ca<sup>2+</sup> is a critical determinant of Velcade (PS-341/bortezomib) cytotoxicity in myeloma cell lines. *Cancer Res* 2005; 65(9): 3828–3836.
57. Befani CD, Vlachostergios PJ, Hatzidaki E et al. Bortezomib represses HIF-1 $\alpha$  protein expression and nuclear accumulation by inhibiting both PI3K/Akt/TOR and MAPK pathways in prostate cancer cells. *J Mol Med (Berl)* 2012; 90(1): 45–54. doi: 10.1007/s00109-011-0805-8.
58. Pellom ST Jr, Dudimah DF, Thounaojam MC et al. Modulatory effects of bortezomib on host immune cell functions. *Immunotherapy*. In press 2015.
59. Dunleavy K, Pittaluga S, Czuczman MS et al. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2009; 113(24): 6069–6676. doi: 10.1182/blood-2009-01-199679.
60. Ruan J, Martin P, Furman R et al. Bortezomib plus CHOP-rituximab for previously untreated diffuse large B-cell lymphoma and mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29(6): 690–697. doi: 10.1200/JCO.2010.31.1142.
61. Vajpayee N, Thakral C, Gopaluni S et al. Activation of mammalian target of rapamycin in diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathological study. *Leuk Res* 2012; 36(11): 1403–1409. doi: 10.1016/j.leukres.2012.07.016.
62. Balasubramanian S, Crowley R, Sirisawad M et al. The Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitor PCI-32765 inhibits growth of ABC DLBCL tumors in vivo and in vitro by preventing activation of pro-survival NF- $\kappa$ B pathways. *Blood* 2011; 118: abstr. 4969.
63. Wilson WH, Gerecitano JF, Goy A et al. The Bruton's Tyrosine kinase (BTK) inhibitor, ibrutinib (PCI-32765), has preferential activity in the ABC subtype of relapsed/refractory de novo diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): interim results of a multicenter, open-label, phase 2 study. *Blood* 2012; 120: 686.
64. Younes A, Thieblemont C, Morschhauser F et al. Combination of ibrutinib with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) for treatment-naïve patients with CD20-positive B-cell non-Hodgkin lymphoma: a non-randomised, phase 1b study. *Lancet Oncol* 2014; 15(9): 1019–1126. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70311-0.
65. Dasmahapatra G, Patel H, Dent P et al. The Bruton tyrosine kinase (BTK) inhibitor PCI-32765 synergistically increases proteasome inhibitor activity in diffuse large-B cell lymphoma (DLBCL) and mantle cell lymphoma (MCL) cells sensitive or resistant to bortezomib. *Br J Haematol* 2013; 161(1): 43–56. doi: 10.1111/bjh.12206.
66. Dunleavy K, Wilson WH. Differential role of BCL2 in molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17(24): 7505–7507. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2372.
67. Zivny J, Klenner P Jr, Pytlík R et al. The role of apoptosis in cancer development and treatment: focusing on the development and treatment of hematologic malignancies. *Curr Pharm Des* 2010; 16(1): 11–33.
68. Green TM, Young KH, Visco C et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol* 2012; 30(28): 3460–3467.
69. Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A et al. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood* 2013; 121(20): 4021–4031. doi: 10.1182/blood-2012-10-460063.
70. Pro B, Leber B, Smith M et al. Phase II multicenter study of oblimersen sodium, a Bcl-2 antisense oligonucleotide, in combination with rituximab in patients with recurrent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 143(3): 355–360. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07353.x.
71. O'Brien S, Moore JO, Boyd TE et al. 5-year survival in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia in a randomized, phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide with or without oblimersen. *J Clin Oncol* 2009; 27(31): 5208–5212. doi: 10.1200/JCO.2009.22.5748.
72. Kipps TJ, Eradat H, Grosicki S et al. A phase 2 study of the BH3 mimetic BCL2 inhibitor navitoclax (ABT-263) with or without rituximab, in previously untreated B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. In press 2015.
73. Johnson-Farley N, Veliz J, Bhagavathi S et al. ABT-199, a BH3 mimetic that specifically targets Bcl-2, enhances the antitumor activity of chemotherapy, bortezomib and JQ1 in „double hit” lymphoma cells. *Leuk Lymphoma* 2015; 56(7): 2146–2152. doi: 10.3109/10428194.2014.981172.
74. de Vos S, Flowers CR, Wang D et al. The BCL-2 inhibitor ABT-199 (GDC-0199) in combination with bendamustine and rituximab in patients with relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2014; 124(21): abstr. 1722.

# Folikulární lymfom

## Follicular Lymphoma

Benešová K., Trněný M.

I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

Folikulární lymfomy představují druhý nejčastější typ lymfomu. Charakteristickou molekulárně biologickou změnou je t(14;18)(q32;q21). Na ni navazují další změny vedoucí k progresi onemocnění. Důležitou roli hraje mikroprostředí. Obvykle je diagnostikován v pokročilém stadiu, průběh je u většiny případů indolentní, nicméně u části dochází k rychlé progresi. V současné době dosahuje medián přežití bez progresu 6–7 let a medián celkového přežití se pohybuje mezi 10 a 15 lety. K výraznému zlepšení došlo zavedením imunoterapie – rituximabu – do léčebného přístupu, a to jak do léčby indukční, tak udržovací. Přes toto zlepšení je nutné počítat s opakovanými relapsy, pro jejichž léčbu se nabízí různé postupy v závislosti na řadě faktorů. Nepříznivý vývoj je histologická transformace do difuzního velkobuněčného lymfomu. Předkládaný přehled ve stručnosti shrnuje poznatky o biologii, klinickém průběhu a léčbě.

### Klíčová slova

folikulární lymfom – diagnóza – léčba

### Summary

Follicular lymphomas represent the second most frequent lymphoma subtype. Translocation t(14;18)(q32;q21) is a characteristic biologic hallmark. It is not sufficient to drive follicular lymphomas development and subsequent molecular defect appears which lead to follicular lymphomas development and progression. The microenvironment plays an important role. The disease is usually diagnosed in an advanced clinical stage. The course is mostly indolent, but there is a subgroup characterized by rapid progression. The outcome has been improved with median of progression free survival between 6–7 years and overall survival between 10 and 15 years. The outcome improvement was caused by introduction of immunotherapy – rituximab, both in induction as well as in maintenance therapy. Despite this improvement, subsequent relapses occur, they can be managed by a variety of approaches based on many factors. The most adverse event is histological transformation. The present review briefly summarizes understanding of biology, clinical course and management.

### Key words

follicular lymphoma – diagnosis – treatment

Práce byla podpořena granty IGA MZ ČR č. NT13072-4/2012 a NT12193-5/2011.

This study was supported by grants of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT13072-4/2012 and NT12193-5/2011.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.  
I. interní klinika – klinika hematologie  
1. LF UK a VFN v Praze  
U Nemocnice 2  
128 08 Praha 2  
e-mail: trneny@cesnet.cz

Obdrženo/Submitted: 29. 9. 2015  
Přijato/Accepted: 1. 10. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153573>

## Úvod

Folikulární lymfomy (FL) jsou druhým nejčastějším typem lymfomu a nejčastějším typem indolentním. V ČR tvoří zhruba 20 % všech lymfomů. [1]. Postihují jak nodální, tak i extranodální lokalizace a ve více než 50 % kostní dřev. Průběh onemocnění je velmi variabilní, někteří nemocní dlouhodobě bez progresy i více než 10 let, u části nemocných lymfom rychle progreduje, případně se transformuje do vyššího stupně malignity, nejčastěji do difuzního velkobuněčného B lymfomu (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL) (cca 30 %) [2]. V literatuře jsou popsány i ojedinělé sponatní remise onemocnění. Některé práce upozorňují na častější incidenci mezi příbuznými [3].

Celkové přežití (overall survival – OS) nemocných s FL se v éře rituximabu prodloužilo z původních 8–10 let na 12–14 let [4]. Z analýzy amerického registru vyplývá, že se pětileté přežití nemocných zvýšilo o 10 % (1992–2000: 67 %, 2001–2009: 77 %) [5]. Z dat Kooperativní lymfomové skupiny je zřejmé, že pět let se dožívá 84 % nemocných a 10 let 71 % nemocných (nepublikováno).

## Biologie

FL vznikají z B lymfocytů zárodečného centra. Za základní patogenetický mechanismus vzniku FL je považována translokace t(14;18)(q32;q21), která spočívá v translokaci genu pro bcl-2 do oblasti genu pro těžké řetězce imunoglobulinů a je detekovatelná u 90–95 % FL. K translokaci dochází v průběhu časného vývoje B lymfocytů v kostní dřev. Samotná tato translokace však nestačí ke vzniku FL, jak o tom svědčí výskyt cirkulujících B lymfocytů nesoucích tuto translokaci u zdravých dárců [6]. Z hlediska vývoje FL je nezbytný pobyt buňky nesoucí t(14;18)(q32;q21)- v zárodečném centru (germinálním – GC), kde dochází ke vzniku sekundárních genetických změn. Na vzniku, progresi a případně transformaci se podílí celá řada dalších změn, od časně vzniklých mutací v chromatin regulujících genech (*CREBBP*, *EZH2* a *MLL2*) přes mutace v genu *EBF1* a regulátorů NF-κB signalizace (*MYD88* a *TNF AIP3*) [7].

Důležitou roli hrají faktory spojené nikoli jen s vlastní nádorovou populací, ale také s biologickou charakteristikou hostitele ve smyslu imunologické reakce a faktorů mikroprostředí zahrnujícího T lymfocyty a pomocné buňky, jako jsou folikulární dendritické buňky a makrofágy [8].

## Stanovení diagnózy

Ke stanovení správné diagnózy je zapotřebí imunohistochemické vyšetření postižené tkáně, většinou uzliny. A to i přes to, že v případě cirkulujících B lymfocytů v periferní krvi lze na diagnózu FL s velkou pravděpodobností soudit. Lymfom si většinou zachovává folikulární uspořádání, s nádorovou infiltrací zárodečného centra a zeslabenou či chybějící pláštovou zónou. Nádorové buňky mohou být i v interfolikulární oblasti a často jsou přítomny různě velké difuzní oblasti. Rozlišení mezi difuzní oblastí a velkými folikulárními strukturami může být provedeno průkazem přítomnosti dendritických buněk. V případě, že difuzní oblasti jsou tvořeny převážně centroblasty, je nutné lymfom považovat již za difuzní velkobuněčný lymfom (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL). U FL rozhoduje poměr centrocytů a centroblastů o tzv. gradingu, v případě přítomnosti výrazné převahy centrocytů s přítomností jen malého počtu centroblastů se jedná o grade I (0–5 % centroblastů) nebo o grade II (6–15 % centroblastů). V případě vyššího zastoupení centroblastů se jedná o grade III, který může být dále rozdělen na grade IIIA a IIIB. Vzhledem k obtížnému patologickému hodnocení a reprodukovatelnosti výsledků je někdy FL dělen na typ indolentní (grade I–IIIA) a agresivní (grade IIIB), který se klinicky chová již jako DLBCL a je tak také léčen.

Imunofenotyp lymfomových buněk je charakterizován expresí B antigenů (CD19, CD20, CD22, CD79a), povrchových imunoglobulinů (IgG, IgD, IgM+/-) nejčastěji s bcl-2, bcl-6, CD10 pozitivitou. Proliferační index je většinou nízký do 20 % u low-grade FL a vyšší u FL grade IIIB. Udává se, že až 90 % buněk má pozitivní translokaci t(14;18)(q32;q21).

FL je velmi heterogenní onemocnění, řada nemocných se prezentuje jako postupně progredující lymfadenopatie.

Přechod do agresivního lymfomu, tzv. histologická transformace z FL do DLBCL, je popisován u 10–70 % nemocných s rizikem 2–3 % za rok a je spojen s rychlou progresí lymfadenopatie, jiným extranodálním postižením než kostní dřev, B symptomy a vysokými hodnotami LDH [2]. Proto se někdy transformace dělí na histologickou a klinickou. Histologická verifikace je v tomto případě velmi důležitá, i když je nutné si uvědomit, že transformace se může vyskytovat pouze v některých uzlinách, zatímco v dalších uzlinách je stále přítomen FL.

## Rizikové faktory

Parametry, podle kterých lze odhadnout pravděpodobný průběh onemocnění, jsou histologický grading, který byl popsán výše, rozdělení na lokalizované a pokročilé onemocnění, což je dáno klinickým stadiem, dále mezinárodní prognostický index FLIPI 1 a 2 (Follicular Lymphoma International Index) a jejich varianty. Tyto indexy v sobě zahrnují klinické charakteristiky, jako je rozsah onemocnění, počet nodálních lokalizací, hladinu LDH, anémii, hladinu beta2 mikroglobulinu a další. Zařazení do rizikových skupin není nicméně faktor rozhodující o indikaci zahájení léčby. Zde používáme tak zvaná GELF kritéria, která odrážejí velikost nádorové masy a aktivitu onemocnění. Jsou splněna, pokud je přítomno alespoň jedno kritérium z velikosti tumoru, vysokého LDH, B symptomů a dalších parametrů [9]. Experimentálně lze také pracovat s genetickou signaturou mikroprostředí tumoru, event. zastoupením pomocných buněk (makrofágy a další) [8,10].

Index FLIPI 1 zahrnuje pět prognostických faktorů: klinické stadium, věk, počet nodálních lokalizací ( $\leq 4$  vs.  $\geq 5$ ), hladina LDH nad normu a anémie (Hb pod 120 g/l). Podle počtu faktorů se nemocní dělí do tří skupin: s dobrým rizikem (0–1 faktor), středním rizikem (2 faktory) a rizikem vysokým (3–5 faktorů) s výrazně rozdílnou pravděpodobností OS jak v pěti, tak v 10 letech. FLIPI 1 bylo vytvořeno na podkladě mezinárodní studie, která zahrnovala data nemocných v letech 1985–1992, tedy před érou rituximabu [11]. V řadě studií



byla potvrzena jeho platnost i při používání rituximabu v primoléčbě i udržovací terapii. Index FLIPI 2 obsahuje věk, bulky postižení, hladinu hemoglobinu, postižení kostní dřeně a hladinu  $\beta$ 2-mikroglobulinu [12]. GELF kritéria obsahují parametry velké nádorové masy (velikost nádoru nad 7 cm, 3 a více uzlinových lokalizací nad 3 cm, splenomegalie pod linií pupku, výpotky, útlak orgánů), dále významné postižení kostní dřeně (neutropenie grade 3, trombopenie grade 3) a klinických projevů onemocnění (B symptomy). Přítomnost některého z těchto rizikových faktorů nás vede k zahájení terapie.

Řada studií ukazuje, že důležitým prognostickým faktorem se v budoucnu stane i vyšetřování buněčného mikroprostředí. Je pravděpodobné, že vyšetřování CD68+ makrofágů, cytotoxických T lymfocytů a dalších subpopulací T lymfocytů povede nejen ke stanovení prognózy, ale také k určení optimální terapie [10,13,14]. Nově byl publikován takzvaný m7-FLIPI index, který zahrnuje kromě FLIPI ještě sedm genů (*EZH2*, *ARID1A*, *MEF2B*, *EP300*, *FOXO1*, *CREBBP* a *CARD11*) ovlivňujících osud nemocných [15].

### Klinické charakteristiky a stážování

Většina nemocných je diagnostikována v klinicky pokročilém stadiu a u více než 50 % nalézáme infiltraci kostní dřeně již při diagnóze. U nemocných bývá generalizovaná periferní i viscerální lymfadenopatie. Bulky postižení nad 7 cm se vyskytuje asi 1/3 nemocných. Přibližně třetina nemocných má při diagnóze zvýšenou hladinu laktátdehydrogenázy. Řada nemocných je asymptomatických, často udávají, že zvětšené uzliny pozorují již delší dobu. Projevy z postižení jiných extranodálních orgánů než kostní dřeně jsou méně časté.

Vyšetřovací schéma nemocných s FL zahrnuje klinické vyšetření, laboratorní i zobrazovací metody. Z laboratorních metod je nutno zdůraznit provedení krevního obrazu, včetně diferenciálu a stanovení retikulocytů. Pro stanovení přítomnosti cirkulujících lymfomových buněk je důležité provedení průtokové cytometrie. Kromě standardních

biochemických parametrů vyšetřujeme LDH a  $\beta$ 2-mikroglobulin. Ze zobrazovacích metod volíme v závislosti na možnostech pracoviště klasické CT vyšetření trupu a postižených orgánů, pokud ale je k dispozici PET/CT, volíme raději tuto variantu. Téměř všechny FL jsou 18FDG avidní [16], při použití PET/CT pro hodnocení léčebné odpovědi je nutné mít k dispozici vyšetření před zahájením léčby. Ze speciálních metod provádíme vyšetření kostní dřeně, a to jak histologicky, tak i pomocí imunofenotypizace.

Dle rozsahu onemocnění stanovujeme klinické stadium, které je důležité při určování algoritmu léčby. Klinické stadium dle doporučení Kooperativní lymfomové skupiny ČR [17] postihuje i význam diseminace lymfomu do extranodálních orgánů a stanovuje význam postižení malých a velkých extranodálních orgánů. Obecně lze říci, že postižení více než dvou jakýchkoliv extralymfatických orgánů znamená klinické stadium IV.

### Terapie

Terapie FL je ovlivňována řadou faktorů. Lze však shrnout, že terapie je indikována teprve tehdy, jestliže nemocný vykazuje známky velké nádorové masy, progresse onemocnění či lokální nebo celkové příznaky. Rizikové faktory dle FLIPI slouží k odhadům prognózy onemocnění a neslouží jako kritérium k zahájení léčby ani jako vodítko pro volbu mezi různými druhy léčby. Terapie indolentních lymfomů je specifická tím, že léčbu tedy často nemusíme zahájit bezprostředně po zjištění diagnózy. Pečlivé sledování pacientů a vyhodnocování stávajících rizik často vede k dlouhodobému přežití bez nutnosti terapie a je indikováno jak u některých nemocných s časným klinickým stadiem, když např. exstirpaci došlo k úplnému odstranění tumoru, tak i při pokročilých onemocněních bez velké nádorové masy. Tento přístup je založen v případě pokročilého onemocnění s malou nádorovou masou na výsledcích randomizovaných studií. Vyžaduje sledování nemocného a nemocný se na jeho volbě také podílí. Lze ho použít i dnes v době rituximabu. Dosud všechny studie s chemoterapií prokázaly jen prodloužení doby do

zahájení další léčby [18,19], a nikoli prodloužení OS. Nadto 10 let od zahájení sledování nenastala nutnost léčby téměř u 20 % sledovaných nemocných [19]. Otázka se stala znovu živou po vstupu rituximabu do léčebného portfolia. Rituximab jako lék, který není chemoterapií, má výrazně méně nežádoucích účinků, a přitom je dostatečně účinný, se jeví jako kandidát pro časně zahájení léčby. V randomizované studii [20] se opět ukázalo, že podávání účinného léku vede k prodloužení doby do zahájení další linie léčby, nicméně efekt je opět pouze na úrovni PFS a nikoli OS. V případě lokalizovaných stadií, kde může být v určitém procentu kurativní i samotná radioterapie [21], je vždy nutné zvážit benefit a případná rizika. U řady nemocných s kompletní exstirpací lymfomového ložiska k radioterapii nesažeme. Zavádění nových metod v radioterapii, redukce ozařovaného objemu a redukce dávky [22] tuto otázku znovu otevírá.

### Terapie časných stadií FL

V časném klinickém stadiu je diagnostikováno 10–20 % nemocných s FL.

Nemocní s klinickým stadiem IA a klinickým stadiem IIA bez bulky postižení jsou indikováni k radioterapii postiženého pole (involved field – IF) s často s kurativním výsledkem [23]. Radiační dávka 24 Gy je k zajištění remise dostatečná. Desetiletý interval přežití bez progresse (progression-free survival – PFS) je dosažen v 43–51 % a 10leté OS v 62–79 % [24,25]. Relapsy u těchto nemocných se objevují většinou mimo ozařované pole, pouze 20 % z relapsů je v místě ozáření [26]. Z těchto důvodů je možné u nemocných uvažovat o kombinaci rituximabu a ozáření, které může pravděpodobně zvýšit OS i PFS [27].

Možnou variantou léčby je také samotné podávání rituximabu. Vybraní pacienti mohou být pouze sledováni bez iniciální terapie. Jedná se většinou o nemocné po exstirpaci původního ložiska.

V časném klinickém stadiu není u nemocných s FL doporučena kombinovaná chemoterapie. Jediná prospektivní studie, která byla publikována, neprokázala zlepšení OS ani PFS při srovnání se samotnou radioterapií [28].

### Terapie pokročilého stadia FL

U nemocných s pokročilým stadiem FL zahajujeme léčbu při splnění GELF kritérií, která definují velkou nádorovou masu. U pacientů, kteří výše uvedená kritéria nesplňují, je indikováno pouze sledování nemocných, tzv. W + W přístup (watch and wait).

Řada studií z předrituximabové éry, která porovnávala časné a oddálené zahájení chemoterapie u asymptomatických nemocných s FL, neprokázala žádný rozdíl v OS u nemocných [18,19]. Stejný výsledek byl dosažen v případě randomizace mezi rituximabem a observací. Doba do zahájení terapie dle multivariantní analýzy byla ovlivněna pouze postižením více než čtyř nodálních lokalizací; prognostické faktory dle FLIPI a FLIPI 2 vliv na zahájení neměly. Zde je nutné vzít v úvahu i přání pacienta terapii zahájit.

U nemocných, u kterých by odklad terapie snižoval kvalitu života a nejsou důvody k podání chemoterapie, je možné zahájit léčbu rituximabem v monoterapii, kde je popisována celková odpověď u nepředléčených pacientů 47–74 % s PFS kolem dvou let [29]. V roce 2014 byla publikována studie [20], ve které byli nemocní randomizováni do ramene s W + W a ramene s rituximabem v indukci nebo s udržovací terapií. Rituximab neprokázal zlepšení OS nemocných, ale došlo k oddálení doby, kdy bylo nutné zahájit chemoterapii (46 vs. 88 % ve třech letech). Za zmínku stojí ještě výsledky studie RESORT [30], která porovnávala selhání léčby (treatment failure – TTF) u nemocných léčených vstupně rituximabem a následně rozdělených do ramene s udržovací terapií nebo reindukční terapií v případě progresu. U obou ramen byl stejný interval OS, lišily se dobou zahájení chemoterapie. Ve třech letech nezačalo léčbu 95 % nemocných z ramene s udržovací terapií a 86 % nemocných z ramene s reindukční léčbou.

### Léčba nemocných s pokročilým stadiem onemocnění s indikací k zahájení léčby

Léčbou první volby u nemocných s FL je chemoterapie v kombinaci s monoklonální protilátkou rituximab. Ve všech

studiích fáze III byl prokázán efekt po přidání rituximabu k chemoterapii, který jak ovlivnil PFS, tak také i prodloužil OS [31–34].

Ve druhé polovině první dekády tohoto století se začala vést diskuse nikoli zda přidat rituximab k chemoterapii, ale jakou chemoterapii přidat k rituximabu. Postupně byly v primoterapii opuštěny fludarabinové režimy, ve většině zemí byla dávana přednost režimu s antracykliny CHOP před režimem COP. Postupně se však začal uplatňovat znovu vzkrísšený lék bendamustin, objevený počátkem 60. let 20. století [35]. První velká studie s bendamustinem, publikována Rumelem et al v roce 2005 [36], prokázala účinnost léčby kombinací bendamustin a rituximab u nemocných s relapsem FL nebo lymfomem z plášťových buněk (mantle cell lymphoma – MCL). V roce 2013 byla publikována randomizovaná studie srovnávající režim bendamustin s rituximabem (BR) proti R-CHOP [37]. Jednalo se o studii zahrnující různé typy indolentních lymfomů včetně MCL. V celé populaci bylo dosaženo u nemocných v rameni BR signifikantně delšího PFS (69 vs. 31 měsíců). Tato významnost byla pozorována i v podskupině FL (HR 0,61). OS obou skupin bylo stejné s mediánem sledování 45 měsíců. Chemoterapie BR vykazovala signifikantně nižší toxicitu. Předběžné výsledky studie BRIGHT [38], ve které byla porovnáována terapie BR a R-CHOP/R-CVP u nemocných s indolentními lymfomy a MCL, zatím hodnotily odpověď, data přežití ještě nejsou k dispozici. Odpověď na léčbu byla v rameni s BR 97 %, u nemocných léčených R-CHOP/R-CVP 91 %, také procento dosažení kompletní remise bylo vyšší v rameni s bendamustinem 31 vs. 25 %. Pokud se však srovnával režim BR pouze s režimem R-CHOP, rozdíl již nebyly statisticky významné. U nemocných s LF grade I–IIIA závisí volba mezi R-CHOP a BR na stavu nemocného, jeho komorbiditách a preferenci pracoviště. Pacienti s FL grade IIIB léčíme shodně jako DLBCL.

Monoterapie rituximabem je indikována u nemocných s indolentním průběhem onemocnění s celkovou odpovědí kolem 70 % a dosažením kompletní remise v 30 %. SAKK studie [39,40] srovná-

vala nemocné, kteří byli v indukční terapii léčeni pouze rituximabem a následně při dosažení odpovědi randomizováni buď do ramene s krátkou udržovací/konsolidační terapií nebo byli sledováni. Velmi zajímavé a také částečně překvapivé bylo pozorování, že nemocní v rameni s udržovací léčbou přežívali v osmi letech bez události v 45 %, pacienti bez prodloužené terapie ve 22 %.

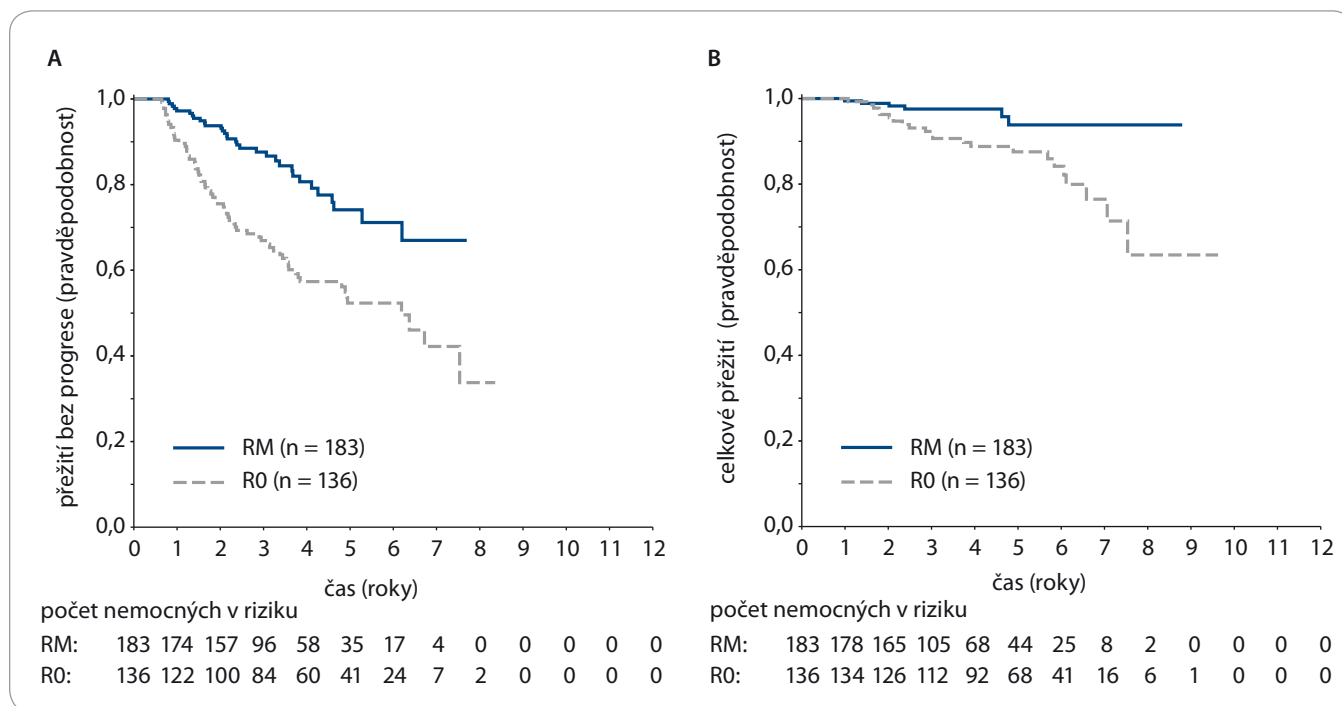
Důležitým faktorem je odpověď na léčbu. Již data z prerituximabové éry ukazují, že dosažení kompletní remise prodlužuje jak interval PFS, tak i OS nemocných [41]. Při použití PET k hodnocení odpovědi na terapii byl dokázán význam dosažení kompletní remise (PET negativity) po ukončení terapie [42].

### Udržovací terapie

Přínos udržovací terapie rituximabem byl demonstrován ve studii PRIMA [43]. S mediánem sledování 3 roky byl interval do progresu u nemocných s udržovací terapií 75 vs. 58 %, rozdíl v OS nebyl statisticky signifikantní. Recentně bylo českou lymfomovou skupinou publikováno pozorování z reálné praxe [44], které ukázalo, že nemocní po indukční imunochemoterapii R-CHOP, kteří dostávali udržovací rituximab, dosáhli i lepšího OS v pěti letech 93,8 vs. 87,5 % ( $p = 0,005$ ) (obr. 1). Podávání udržovací terapie je nyní standardní postup, je indikováno po dva roky od ukončení imunochemoterapie. Jaké schéma udržovací terapie použít bylo předmětem diskuzí. Dnes neexistuje srovnávací studie mezi jednotlivými schémata. Ve studii PRIMA byl použit režim jedna dávka každé dva měsíce, ve studii udržovací léčby u nemocných v relapsu byl použit interval tři měsíce [45]. V praxi se většinou preferuje jeden či druhý režim dle zvyklostí pracoviště. Někteří odborníci stále diskutují o tom, zda není lepší použít rituximab jako „retreatment“ místo udržovací léčby. Jako doklad bývá uváděna již zmíněná RESORT studie [30]. V ní byli ovšem léčeni nemocní s nízkou nádorovou náloží.

### Radioimunoterapie

Y-ibritumomab tiuxetan je anti-CD20 radioimunokonjugát s  $^{90}\text{Y}$ triem ( $^{90}\text{Y}$ ), který po navázání protilátky předává záření



Obr. 1. Pravděpodobnost přežití bez progresu (PFS) a celkového přežití (OS) u nemocných léčených udržovacím rituximabem a u nemocných sledovaných [36].

v místě nádoru. Jedná se o  $\beta$  záření s dosahem několika milimetrů. Jeho podání je kontraindikováno u nemocných s postižením kostní dřeně nad 20 % a u nemocných se sníženou rezervou krvetvorby. Jednoznačný přínos radioimunoterapie jako konsolidace první remise byl prokázán u nemocných, kteří nebyli léčeni rituximabem [46]. Tato randomizovaná studie srovnávala skupinu nemocných v kompletní nebo parciální remisi, kteří dostali jednu dávku ibritumomabu tiuxetanu s  $Y^{90}$  s nemocnými, kteří byli pouze sledováni (FIT trial). V této studii se prokázalo, že aplikace radioimunoterapie signifikantně zvyšuje odpověď na léčbu a PFS. Slabinou studie je, že většina nemocných nebyla léčena imunochemoterapií. Nicméně se na jejím základě zdálo racionální použít radioimunoterapii u nemocných, kteří nedosáhnou kompletní remise. Španělská skupina srovnávala nemocné s FL, kteří po imunochemoterapii R-CHOP dosáhli alespoň parciální remise a byli randomizováni mezi udržovací léčbu rituximabem a konsolidaci ibritumomabem tiuxetanem [47]. Nemocní na udržovací terapii rituximabem měli signifikantně lepší PFS. Hlavní místo radioimoterapie

tak zůstává jako prostředek léčby relapsů u vybraných nemocných.

### Transplantace

Indikace autologní transplantace (ASCT) v primoterapii FL je sporná, zvláště v éře rituximabu a obecně není indikována. Randomizované studie ukázaly benefit u doby do progresu, ale ne v OS [48–50]. Některé ukázaly nárůst sekundárních malignit, např. myelodysplastických syndromů, akutních myeloidních leukemií a solidních nádorů. Zde je ale nutné podotknout, že to bylo většinou u nemocných v pozdějších fázích onemocnění léčených fludarabinem.

Alogenní transplantace (alloSCT) v 1. linii léčby není indikována a je vyhrazena pro relabující, event. refrakterní onemocnění.

### Léčba relapsů

Rozhodnutí o léčbě relapsu závisí na době jeho vzniku a chování onemocnění. Vždy, pokud je to možné, se snažíme o histologickou verifikaci postižení, abychom vyloučili transformaci do agresivního histologického typu. I v době relapsu nachází uplatnění přístup W + W a léčba je indikována podle stejných kri-

terií (GELF) jako při diagnóze. Zde však vstupuje ještě jeden faktor, a to je doba, za níž od předchozí léčby relaps vznikl.

Pokud nemocný potřebuje léčbu, máme na výběr řadu možností: rituximab v monoterapii, chemoterapii s rituximabem, radioimunoterapii a pro nemocné s časným relapsem v dobrém klinickém stavu záchrannou imunochemoterapii a následnou autologní transplantací.

Rituximab v monoterapii pro indolentní lymfomy v relapsu (většinu tvořili nemocní s FL) byl použit ve studii fáze II studii [51]. Tito nemocní však nebyli rituximabem předléčeni. Ve studii SAKK [39] byli i nemocní s relapsem FL léčeni rituximabem 4krát v týdenních intervalech a dále dávkou 4krát po dvou měsících. Tato studie prokázala, že rituximab je účinný i v relapsech v monoterapii, jedna třetina nemocných dlouhodobě setrvala v remisi a nevyžadovala léčbu s dobou sledování osm let. Rovněž bylo demonstrováno, že je možné nemocné léčit rituximabem opakovaně s velmi dobrými výsledky [30].

Kombinace chemoterapie a rituximabu je však v léčbě relapsů nejčastější volbou. Stejně tak se uplatňuje udržovací terapie rituximabem v relapsu, jak demonstrovala randomizovaná studie [45].

U nemocných, kteří nedostávali vstupně ani antracyklinový režim, ani rituximab, je možné podávat R-CHOP a následně udržovací terapii rituximabem. Pacienti s udržovací terapií měli signifikantně prodlouženou dobu OS 74 % proti nemocným bez udržovací terapie s 64 %. Druhá nejčastěji používaná chemoterapie je bendamustin, ať již v monoterapii nebo v kombinaci s rituximabem [36]. Celková odpověď byla 77, resp. 90 % a medián PFS 6,7 měsíce, resp. 2 roky. Další možností je režim FCM (fludarabin, cyclofosfamid, mitoxantron). Výsledky ASCT nebo alloSCT nejsou v řadě studií jednoznačné (Montoto 2013). V předrituximabové éře ASCT prodloužovala OS i PFS ve srovnání s konvenční chemoterapií. Při podání rituximabu v rámci konvenční chemoterapie již není postavení ASCT tak jednoznačné. Přesto je indikována zejména u mladších nemocných s časným a prognosticky nepříznivým relapsem. V recentně publikované studii s dvojí randomizací s otázkou na význam rituximabu v rámci záchranné léčby, tak na jeho význam v rámci udržovací léčby po transplantaci [52], se ukázalo, že udržovací léčba po ASCT signifikantně prodloužuje dobu do progresu či do úmrtí. AlloSCT je vyhrazena pro skupinu mladších pacientů, v současné době s režimy s redukovanou intenzitou. Myeloablativní režimy jsou zatíženy vyšší úmrtností na komplikace léčby. AlloSCT v současné době většinou předchází selhání ASCT. Nicméně data z EBMT registru ukazují, že při srovnání alloSCT s redukovanou intenzitou a ASCT byly výsledky spíše ve prospěch alloSCT [53]. Tato otázka byla také sledována v prospektivní studii, s obdobnými výsledky, studie musela být předčasně ukončena z důvodu špatného náboru nemocných [54].

### Nové léky

Nové léky pro nemocné s FL mají různý mechanismus účinku. Patří k nim nové monoklonální protilátky, imunomodulační látky a nové molekuly typu kinázových inhibitorů.

Monoklonální protilátky proti B lymfocytům jsou nejčastěji ze skupiny anti-CD20 protilátek s různými mechanismy účinku. K těmto protilátkám patří např. obinutuzumab, který ve srovnání s ri-

tuximabem dosahoval vyšší odpovědi, ale PFS byla stejná [55]. U nemocných refrakterních na rituximab se testoval ofatumomab, který dosáhl nízké celkové odpovědi jen kolem 10 % [56]. Významná studie u nemocných refrakterních na rituximab srovnávající bendamustin v monoterapii a obinutuzumab s bendamustinem a následnou udržovací terapií bendamustinem ukázal signifikantní zlepšení PFS ve větvi s bendamustinem [55].

Obinutuzumab je testován v kombinaci s chemoterapií a srovnáván s rituximabem a chemoterapií (studie Gallium). Idealisib patří mezi PI3K inhibitory (inhibitor fosfatidylinositol-3-kinázy), který v klinických studiích prokázal efekt u refrakterních nemocných s FL, u nichž po podání idelalisibu došlo k celkové odpovědi v 57 % s mediánem PFS 11 měsíců. K nejčastějším nežádoucím účinkům patřila neutropenie, vysoká hodnota transamináz, průjemy a pneumonie [57]. Idelalisib byl schválen FDA i EMEA pro léčbu relabovaných FL a CLL/SLL a je k dispozici i v ČR, nicméně je nutné o něj žádat.

Z imunomodulačních látek se prokázal účinek lenalidomidu, zejména v kombinaci s rituximabem (tzv. R2 schéma – rituximab a revlimid). Slibné výsledky byly publikovány jak v primoterapii [58], tak v léčbě relapsů [59]. V obou indikacích probíhají randomizované studie fáze III.

### Závěr

FL jsou indolentní lymfomy s velmi variabilním průběhem a velkou heterogenitou onemocnění. Nejvýraznějším pokrokem v léčbě bylo zařazení rituximabu do léčebného schématu, které prodloužilo jak OS, tak i PFS. V současné době je na obzoru řada nových protilátek, imunomodulačních látek a malých molekul, ale i přes řadu dílčích pokroků v léčbě se stále ještě jedná o nevléčitelné onemocnění.

### Literatura

1. Trnety M, Vasova I, Pytlík R et al. Distribuce podtypů non-Hodgkinského lymfomu v České republice a jejich přežití. *Klin Onkol* 2007; 20(5): 341–348.
2. Link BK, Maurer MJ, Nowakowski GS et al. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy era: a report from the University of Iowa/MayoClinic Specialized Program of Research Excellence Molecular Epidemiology Resource. *J Clin Oncol* 2013; 31(26): 3272–3278. doi: 10.1200/JCO.2012.48.3990.
3. Goldin LR, Bjorkholm M, Kristinsson SY et al. Highly increased familial risks for specific lymphoma subtypes.

4. Br J Haematol 2009; 146(1): 91–94. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07721.x.
4. Tan D, Horning SJ, Hoppe RT et al. Improvements in observed and relative survival in follicular grade 1–2 lymphoma during 4 decades: the Stanford University experience. *Blood* 2013; 122(6): 981–987. doi: 10.1182/blood-2013-03-491514.
5. Nabhan C, Aschebrook-Kilfoy B, Chiu BC et al. The impact of race, age, and sex in follicular lymphoma: a comprehensive SEER analysis across consecutive treatment eras. *Am J Hematol* 2014; 89(6): 633–638. doi: 10.1002/ajh.23708.
6. Janz S, Potter M, Rabkin CS. Lymphoma- and leukemia-associated chromosomal translocations in healthy individuals. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 36(3): 211–223.
7. Okusun J, Bodor C, Wang J et al. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. *Nat Genet* 2014; 46(2): 176–181. doi: 10.1038/ng.2856.
8. Ame-Thomas P, Tarte K. The yin and the yang of follicular lymphoma cell niches: role of microenvironment heterogeneity and plasticity. *Semin Cancer Biol* 2014; 24: 23–32. doi: 10.1016/j.semcancer.2013.08.001.
9. Solal-Celigny P, Lepage E, Brousse N et al. Recombinant interferon alfa-2b combined with a regimen containing doxorubicin in patients with advanced follicular lymphoma. *N Engl J Med* 1993; 329(22): 1608–1614.
10. Dave SS, Wright G, Tan B et al. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N Engl J Med* 2004; 351(21): 2159–2169.
11. Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P et al. Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood* 2004; 104(5): 1258–1265.
12. Federico M, Bellei M, Marcheselli L et al. Follicular lymphoma international prognostic index 2: a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project. *J Clin Oncol* 2009; 27(27): 4555–4562. doi: 10.1200/JCO.2008.21.3991.
13. Alvaro T, Lejeune M, Salvadó MT et al. Immunohistochemical patterns of reactive microenvironment are associated with clinicobiologic behavior in follicular lymphoma patients. *J Clin Oncol* 2006; 24(34): 5350–5357.
14. Scott DW, Gascoyne RD. The tumour microenvironment in B cell lymphomas. *Nat Rev Cancer* 2014; 14(8): 517–534. doi: 10.1038/nrc3774.
15. Pastore A, Jurinovic V, Kridel R et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol* 2015; 16(9): 1111–1122.
16. Elstrom R, Guan L, Baker G et al. Utility of FDG-PET scanning in lymphoma by WHO classification. *Blood* 2003; 101(10): 3875–3876.
17. Sykorova A, Belada D, Smolej L et al. Staging of non-Hodgkin's lymphoma – recommendations of the Czech Lymphoma Study Group. *Klin Onkol* 2010; 23(3): 146–154.
18. Brice P, Bastion Y, Lepage E et al. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: a randomized study from the Groupe D'Etude des Lymphomes Folliculaires. *J Clin Oncol* 1997; 15(3): 1110–1117.
19. Ardeshtna KM, Smith P, Norton A et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 362(9383): 516–522.
20. Ardeshtna KM, Qian W, Smith P et al. Rituximab versus a watch-and-wait approach in patients with advanced-stage, asymptomatic, non-bulky follicular lym-



- phoma: an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(4): 424–435. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70027-0.
21. Hudson BV, Hudson GV, MacLennan KA et al. Clinical stage 1 non-Hodgkin's lymphoma: Long-term follow-up of patients treated by the British National Lymphoma Investigation with radiotherapy alone as initial therapy. *Br J Cancer* 1994; 69: 1088–1093.
  22. Yahalom J. Radiotherapy of follicular lymphoma: updated role and new rules. *Curr Treat Options Oncol* 2014; 15(2): 262–268. doi: 10.1007/s11864-014-0286-4.
  23. Dedeckova K, Mocikova H, Belada D et al. The role of radiotherapy in the treatment of malignant lymphomas – recommendations of the Czech Lymphoma Study Group. *Klin Onkol* 2013; 26(2): 99–109. doi: 10.14735/amko201399.
  24. Mac Manus MP, Hoppe RT. Is radiotherapy curative for stage I and II low-grade follicular lymphoma? Results of a long-term follow-up study of patients treated at Stanford University. *J Clin Oncol* 1996; 14(4): 1282–1290.
  25. Guadagnolo BA, Li S, Neuberger D et al. Long-term outcome and mortality trends in early-stage, Grade 1–2 follicular lymphoma treated with radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64(3): 928–934.
  26. Eich HT, Heimann M, Stutzer H et al. Long-term outcome and prognostic factors in early-stage nodal low-grade non-hodgkin's lymphomas treated with radiation therapy. *Strahlenther Onkol* 2009; 185(5): 288–295. doi: 10.1007/s00066-009-1937-4.
  27. Janikova A, Bortlicek Z, Campr V et al. Radiotherapy with rituximab may be better than radiotherapy alone in first line treatment of early-stage follicular lymphoma. Is it time to change the standard strategy? *Leuk Lymphoma*. In press 2015.
  28. Seymour JF, Pro B, Fuller LM J et al. Long-term follow-up of a prospective study of combined modality therapy for stage I–II indolent non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2003; 21(11): 2115–2122.
  29. Colombat P, Brousse N, Salles G et al. Rituximab induction immunotherapy for first-line low-tumor-burden follicular lymphoma: survival analyses with 7-year follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23(9): 2380–2385. doi: 10.1093/annonc/mds177.
  30. Kahl BS, Hong F, Williams ME et al. Rituximab extended schedule or re-treatment trial for low-tumor burden follicular lymphoma: eastern cooperative oncology group protocol e4402. *J Clin Oncol* 2014; 32(28): 3096–3102. doi: 10.1200/JCO.2014.56.5853.
  31. Marcus R, Imrie K, Belch A et al. CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first-line treatment for advanced follicular lymphoma. *Blood* 2005; 105(4): 1417–1423.
  32. Herold M, Pasold R, Srock S et al. Results of a Prospective randomised open label phase iii study comparing rituximab plus mitoxantrone, chlorambucil, prednisolone chemotherapy (R-MCP) versus MCP alone in untreated advanced indolent non-Hodgkin's lymphoma (NHL) and mantle-cell-lymphoma (MCL). *ASH Annual Meeting Abstracts* 2004; 104(11): 584.
  33. Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M et al. Front-line therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2005; 106(12): 3725–3732.
  34. Salles G, Mounier N, de Guibert S et al. Rituximab combined with chemotherapy and interferon in follicular lymphoma patients: results of the GELA-GOELAMS FL2000 study. *Blood* 2008; 112(13): 4824–4831. doi: 10.1182/blood-2008-04-153189.
  35. Cheson BD, Rummel MJ. Bendamustine: rebirth of an old drug. *J Clin Oncol* 2009; 27(9): 1492–1501. doi: 10.1200/JCO.2008.18.7252.
  36. Rummel MJ, Al-Batran SE, Kim S-Z et al. Bendamustine plus rituximab is effective and has a favorable toxicity profile in the treatment of mantle cell and low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2005; 23(15): 3383–3389.
  37. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2013; 381(9873): 1203–1210. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61763-2.
  38. Flinn IW, van der Jagt R, Kahl BS et al. Randomized trial of bendamustine-rituximab or R-CHOP/R-CVP in first-line treatment of indolent NHL or MCL: the BRIGTH study. *Blood* 2014; 123(19): 2944–2952. doi: 10.1182/blood-2013-11-531327.
  39. Ghielmini M, Schmitz SF, Cogliatti SB et al. Prolonged treatment with rituximab in patients with follicular lymphoma significantly increases event-free survival and response duration compared with the standard weekly x 4 schedule. *Blood* 2004; 103(12): 4416–4423.
  40. Martinelli G, Schmitz SF, Utiger U et al. Long-term follow-up of patients with follicular lymphoma receiving single-agent rituximab at two different schedules in trial SAKK 35/98. *J Clin Oncol* 2010; 28(29): 4480–4484. doi: 10.1200/JCO.2010.28.4786.
  41. Bachy E, Brice P, Delarue R et al. Long-term follow-up of patients with newly diagnosed follicular lymphoma in the preriuximab era: effect of response quality on survival – a study from the groupe d'etude des lymphomes de l'adulte. *J Clin Oncol* 2010; 28(5): 822–829.
  42. Trotman J, Fournier M, Lamy T et al. Positron emission tomography-computed tomography (PET-CT) after induction therapy is highly predictive of patient outcome in follicular lymphoma: analysis of PET-CT in a subset of PRIMA trial participants. *J Clin Oncol* 2011; 29(23): 3194–3200. doi: 10.1200/JCO.2011.35.0736.
  43. Salles G, Seymour JF, Offner F et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet* 2011; 377(9759): 42–51. doi: 10.1016/S0140-6736(10)62175-7.
  44. Janikova A, Bortlicek Z, Campr V et al. Impact of rituximab maintenance and maintenance schedule on prognosis in first-line treatment of follicular lymphoma. Retrospective analysis from czech lymphoma study group (clsg) database. *Leuk Lymphoma* 2015; 1–25.
  45. Van Oers MHJ, Klasa R, Marcus RE et al. Rituximab maintenance improves clinical outcome of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin lymphoma in patients both with and without rituximab during induction: results of a prospective randomized phase 3 intergroup trial. *Blood* 2006; 108(10): 3295–3301.
  46. Morschhauser F, Radford J, Van Hoof A et al. Phase III trial of consolidation therapy with yttrium-90-ibritumomab tiuxetan compared with no additional therapy after first remission in advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26(32): 5156–5164. doi: 10.1200/JCO.2008.17.2015.
  47. Canales MA, Dlouhy I, Briones J et al. A Randomized phase II study comparing consolidation with a single dose of 90 y ibritumomab tiuxetan (Zevalin®) (Z) vs. maintenance with rituximab (R) for two years in patients with newly diagnosed follicular lymphoma (FL) responding to R-CHOP. Preliminary. *Blood* 2013; 122(21): 369–369.
  48. Lenz G, Dreyling M, Schiegnitz E et al. Myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission prolongs progression-free survival in follicular lymphoma: results of a prospective, randomized trial of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2004; 104(9): 2667–2674.
  49. Gyan E, Foussard C, Bertrand P et al. High-dose therapy followed by autologous purged stem cell transplantation and doxorubicin-based chemotherapy in patients with advanced follicular lymphoma: a randomized multicenter study by the GOELAMS with final results after a median follow-up of 9 years. *Blood* 2009; 113(5): 995–1001. doi: 10.1182/blood-2008-05-160200.
  50. Sebban C, Mounier N, Brousse N et al. Standard chemotherapy with interferon compared with CHOP followed by high-dose therapy with autologous stem cell transplantation in untreated patients with advanced follicular lymphoma: the GELF-94 randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood* 2006; 108(8): 2540–2544.
  51. McLaughlin P, Grillo L, Link BK et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998; 16(8): 2825–2833.
  52. Pettengell R, Schmitz N, Gisselbrecht C et al. Rituximab purging and/or maintenance in patients undergoing autologous transplantation for relapsed follicular lymphoma: a prospective randomized trial from the lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2013; 31(13): 1624–1630. doi: 10.1200/JCO.2012.47.1862.
  53. Robinson SP, Canals C, Luang JJ et al. The outcome of reduced intensity allogeneic stem cell transplantation and autologous stem cell transplantation when performed as a first transplant strategy in relapsed follicular lymphoma: an analysis from the Lymphoma Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48(11): 1409–1414. doi: 10.1038/bmt.2013.83.
  54. Tomblyn MR, Evell M, Bredeson C et al. Autologous versus reduced-intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation for patients with chemosensitive follicular non-Hodgkin lymphoma beyond first complete response or first partial response. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17(7): 1051–1057. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.11.004.
  55. Sehn LH, Goy A, Offner FC et al. Randomized phase II trial comparing obinutuzumab (GA101) with rituximab in patients with relapsed CD20+ indolent B-Cell non-Hodgkin lymphoma: final analysis of the GAUSS study. *J Clin Oncol*. In press 2015.
  56. Czuczman MS, Fayad L, Delwail V et al. Ofatumumab monotherapy in rituximab-refractory follicular lymphoma: results from a multicenter study. *Blood* 2012; 119(16): 3698–3704. doi: 10.1182/blood-2011-09-378323.
  57. Gopal AK, Kahl BS, de Vos S et al. PI3Kδ Inhibition by Idelalisib in Patients with Relapsed Indolent Lymphoma. *N Engl J Med* 2014; 370(11): 1008–1018. doi: 10.1056/NEJMoa1314583.
  58. Fowler NH, Davis RE, Rawal S et al. Safety and activity of lenalidomide and rituximab in untreated indolent lymphoma: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(12): 1311–1318. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70455-3.
  59. Wang M, Fowler N, Wagner-Bartak N et al. Oral lenalidomide with rituximab in relapsed or refractory diffuse large cell, follicular and transformed lymphoma: a phase II clinical trial. *Leukemia* 2013; 27(9): 1902–1909. doi: 10.1038/leu.2013.95.

# Lymfom z pláštěvých buněk – současný stav poznání a možnosti léčby

## Mantle Cell Lymphoma – Cutting-edge Diagnostics and Treatment Approaches

Klener P. Jr., Trněný M.

I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

**Východiska:** Lymfom z pláštěvých buněk představuje specifický podtyp B-non-Hodgkinova lymfomu charakterizovaný na molekulární úrovni přítomností translokace t(11;14)(q13;q32), která vede k aberantní expresi cyklinu D<sub>1</sub> a následné deregulaci buněčného cyklu. Navzdory sporadickému výskytu indolentních forem lymfomu z pláštěvých buněk nevyžadujících řadu měsíců či dokonce let terapii převažují v běžné klinické praxi jednoznačně agresivní formy lymfomu z pláštěvých buněk. Přestože má lymfom z pláštěvých buněk chemosenzitivní povahu, cca 10 % pacientů na léčbu neodpoví (refrakterní nemoc) a většina zbylých pacientů prodělá dříve či později návrat (relaps) choroby. Průběh léčby lymfomu z pláštěvých buněk tak z dlouhodobé perspektivy obvykle probíhá pod obrazem chronicky relabujícího onemocnění vyžadujícího aplikace dalších a dalších linií léčby. Prognóza relabujícího lymfomu z pláštěvých buněk je však extrémně nepříznivá. **Cíl:** Cílem tohoto přehledu je shrnout současné postupy v diagnostice a terapii lymfomu z pláštěvých buněk. **Výsledky:** Terapeutický algoritmus primoterapie lymfomu z pláštěvých buněk doznal v poslední dekádě řady modifikací, které významně zlepšily prognózu pacientů. Mezi klíčové milníky léčby lymfomu z pláštěvých buněk patří např. včlenění monoklonální protilátky rituximab do indukční části terapie, intenzifikace polychemoterapeutických režimů u mladších pacientů včetně implementace vysokodávkovaného cytarabinu, pevné ukotvení konsolidace léčebné odpovědi pomocí vysokodávkované terapie a autologní transplantace kostní dřeně u mladších pacientů nebo začlenění udržovací léčby rituximabem. Kromě této „optimalizace“ primoterapie bylo dalším klíčovým faktorem zlepšení prognózy pacientů s lymfomem z pláštěvých buněk schválení nových účinných léků v posledních několika letech. Nové léky totiž zásadním způsobem rozšířily paletu léčebných možností relapsů či refrakterních forem lymfomu z pláštěvých buněk, které byly dříve indikovány k paliativní či symptomatické léčbě. Mezi tyto léky patří staronové cytostatikum bendamustin, inhibitor Brutonovy tyrozinkinázy ibrutinib, imunomodulační látka lenalidomid, inhibitor mTOR temsirolimus a inhibitor proteazomu bortezomib. **Závěr:** Díky dvěma klíčovými faktorům, tj. 1. optimalizaci primoterapie pomocí „konvenčních“ protilymfomových léků a postupů a 2. významnému rozšíření možností léčby relapsů pomocí nových léků, se celkové přežití pacientů s lymfomem z pláštěvých buněk za posledních 10 let v zásadě zdvojnásobilo (z 3–4 let v první dekádě nového tisíciletí na současných 6–8 let). Optimální využití nových léků včetně jejich vzájemných kombinací povede zcela jistě v blízké budoucnosti k dalšímu zlepšení prognózy pacientů s lymfomem z pláštěvých buněk.

### Klíčová slova

lymfom z pláštěvých buněk – minimální reziduální choroba – autologní transplantace

Tato práce byla podpořena projektem PRVOUK-27/LF1/1, IGA-MZ NT/13072-4, IGA-MZ NT 13201-4/2012.

This study was supported by project PRVOUK-27/LF1/1, IGA-MZ NT/13072-4, IGA-MZ NT 13201-4/2012.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Pavel Klener Jr., Ph.D.

I. interní klinika – klinika hematologie  
1. LF UK a VFN v Praze  
U Nemocnice 2  
128 08 Praha 2  
e-mail: pavel.klener2@vfn.cz

Obdrženo/Submitted: 24. 9. 2015

Přijato/Accepted: 27. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153580>

## Summary

**Background:** Mantle cell lymphoma represents a specific subtype of B-cell non-Hodgkin lymphoma characterized on the molecular level by translocation t(11;14)(q13;q32) leading to aberrant overexpression of cyclin D<sub>1</sub> and deregulation of the cell cycle. Despite sporadic indolent forms of mantle cell lymphoma, majority of patients present with advanced aggressive disease that requires immediate treatment. Despite chemosensitive nature of mantle cell lymphoma, approximately 10% patients present with a refractory disease, and the vast majority of patients who initially respond to therapy, relapse sooner or later. The course of mantle cell lymphoma thus represents a chronically relapsing malignancy requiring further and further lines of therapies. Prognosis of relapsed or refractory (R/R) mantle cell lymphoma is dismal. **Aim:** The goal of this article is to provide a cutting-edge review of currently used diagnostic and treatment approaches for mantle cell lymphoma. **Results:** Several key modifications of the therapeutic algorithm of mantle cell lymphoma treatment implemented in the past 10 years resulted in significantly improved prognosis of patients. The milestones in the therapy of mantle cell lymphoma include incorporation of anti-CD20 monoclonal antibody rituximab into induction therapy, intensification of polychemotherapeutic regimen including implementation of high-dose cytarabine, consolidation of response with high-dose therapy and autologous stem cell transplantation (HDT-ASCT) in younger fit patients, and maintenance therapy with rituximab in the elderly patients. Besides such “optimization” of front-line therapy, introduction of novel anti-lymphoma agents into therapy of R/R mantle cell lymphoma also contributed (and will contribute in the future) to improved prognosis of mantle cell lymphoma. Among these agents, there is a new cytostatic drug bendamustine, Bruton tyrosine-kinase inhibitor ibrutinib, immunomodulatory agent lenalidomide, mTOR inhibitor temsirolimus and proteasome inhibitor bortezomib. **Conclusion:** The overall survival of mantle cell lymphoma virtually doubled in the recent 10 years as a result of two key factors: 1. optimization of front-line therapy with “conventional” anti-lymphoma agents, and 2. brand new possibilities of therapy for R/R mantle cell lymphoma thanks to the introduction of novel anti-lymphoma agents. Combinatorial approaches using most efficacious combinations of novel and conventional anti-mantle cell lymphoma agents will definitely lead to further improvements of survival parameters in mantle cell lymphoma patients in near future.

## Key words

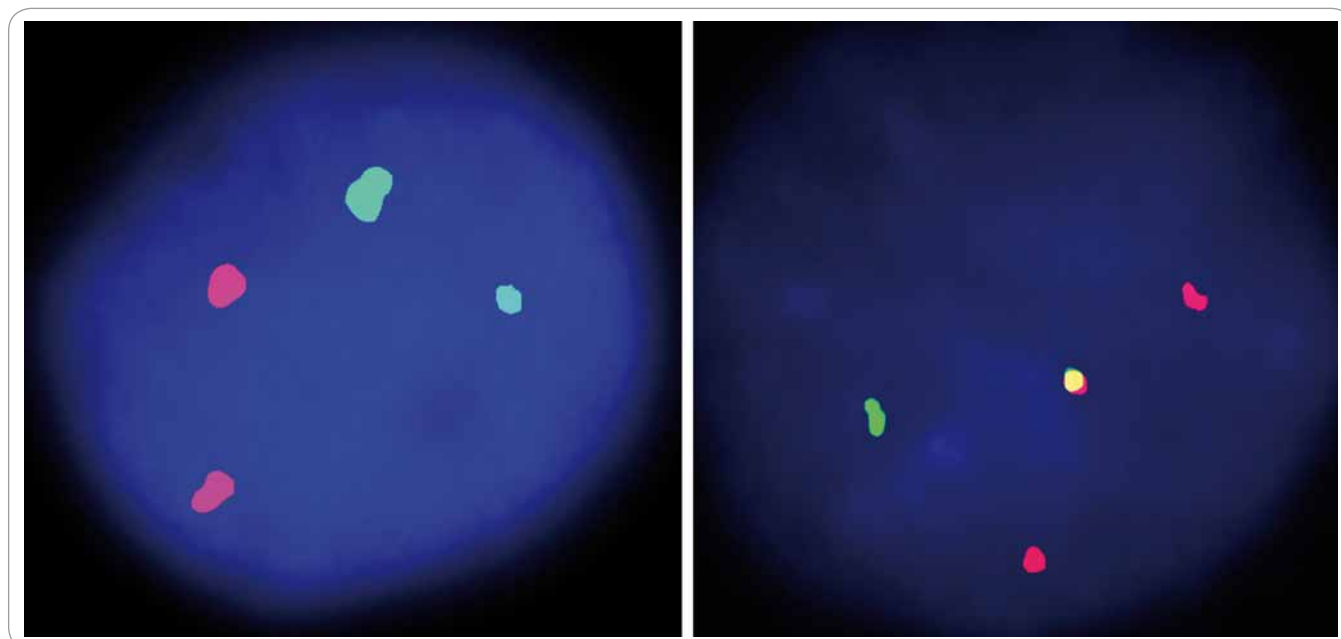
mantle cell lymphoma – minimal residual disease – autologous transplantation

## Epidemiologie a diagnostická kritéria

Incidence non-Hodgkinových lymfomů (NHL) v ČR je cca 16/100 000/rok, což ročně obnáší téměř 2 000 nově diagnostikovaných pacientů. B lymfomy (B-NHL) jsou výrazně čtenější ve srovnání s T lym-

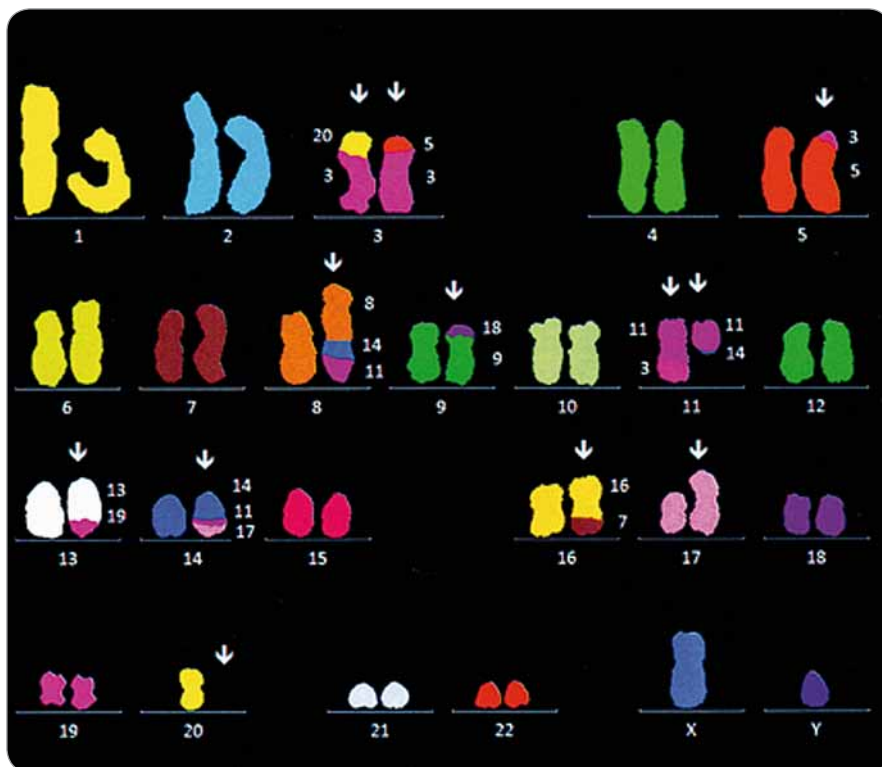
fomy (T-NHL) a to v poměru cca 9 : 1. Podle klinického průběhu lze lymfomy dělit na agresivní a indolentní. Nejčastější typy B-NHL na západní polokouli představují difuzní velkobuněčný lymfom (patřící mezi agresivní lymfomy) a folikulární lymfom (náležící mezi in-

dolentní lymfomy). Lymfom z pláštěvých buněk (mantle cell lymphoma – MCL) tvoří cca 6–8 % B-NHL [1]. MCL je charakterizován na molekulární úrovni translokací t(11;14)(q13;q32), která vede k juxtapozici a nadměrné expresi cyklinu D<sub>1</sub> (obr. 1). Kromě této patogno-



**Obr. 1.** Analýza FISH pomocí sondy IGH/CCND1 Dual Fusion (zelený signál – IgH, červený signál – cyklin D<sub>1</sub>, žlutý signál – translokace). Vlevo: normální nález, vpravo: MCL. Prezentováno s laskavým svolením Centra nádorové cytogenetiky 1. LF UK a VFN v Praze (prof. Kyra Michalová).

nické aberace nacházíme u MCL celou škálu dalších cytogenetických změn, včetně mutace genu pro *ATM* (např. delece 11q22–23), *TP53* (delece 17p13) či *CDKN2A/p16INK4A/p14ARF* (delece lokusu 9p21). Vedle nadměrné exprese cyklinu  $D_1$  nacházíme u části pacientů nadměrnou expresi cyklin-dependentní kinázy *CDK4* (amplifikace 12q13), antiapoptického regulátoru *BCL2* či ubikvitin-ligázy *MDM2*. Tyto změny vedou k poruchám průchodu buňky buněčným cyklem a defektní opravě DNA, což má za následek zvýšenou frekvenci vzniku sekundárních mutací [2]. MCL je nemoc staršího věku, medián věku při stanovení diagnózy je 66 let. Onemocnění se z nejasného důvodu vyskytuje častěji u mužů než u žen v poměru cca 2–3 : 1. MCL má charakteristický imunofenotyp – typická je pozitivita CD19, CD20 a CD5, zatímco znaky CD10, CD23 a CD200 jsou obvykle negativní. V případě histologického vyšetření zvětšené uzliny či infiltrovaného orgánu lze prakticky u všech pacientů s MCL prokázat zvýšenou expresi cyklinu  $D_1$ , *BCL2* antiapoptického proteinu. Na základě morfologie rozeznáváme méně agresivní klasickou (konvenční) variantu a agresivnější blastoidní varianty (pleomorfní a blastickou). U blastoidních variant MCL nacházíme často sekundární aberace, včetně mutací transkripčního faktoru *MYC* (amplifikace 8q24, translokace t(8;14)) či komplexní změny karyotypu (obr. 2). Typicky se u pacientů s MCL při diagnóze vyskytuje kromě obvykle rozsáhlého nodálního postižení (tj. postižení uzlin a sleziny) i extranodální postižení lymfomem, nejčastěji infiltraci kostní dřeně MCL klonem (u cca 80 % pacientů) zvláště s vyplavováním MCL buněk do periferní krve (leukemizace). Časté je též postižení gastrointestinálního traktu (infiltrace žaludku či střev). Postižení CNS, obvykle ve formě infiltrace likvoru detekovatelné pomocí průtokové cytometrie, nacházíme vstupně u < 5 % pacientů. Mezi hlavní rizikové faktory infiltrace CNS patří vysoká hladina laktátdehydrogenázy, blastoidní morfologická varianta choroby, nízký výkonnostní stav (tzv. performance status) a vysoké riziko dle mezinárodního prognostického indexu pro MCL (MCL international prognostic index – MIPI) (viz dále).



Obr. 2. Komplexní změny karyotypu u pacienta s *de novo* diagnostickou blastickou variantou MCL pomocí vícebarevné FISH (mFISH).

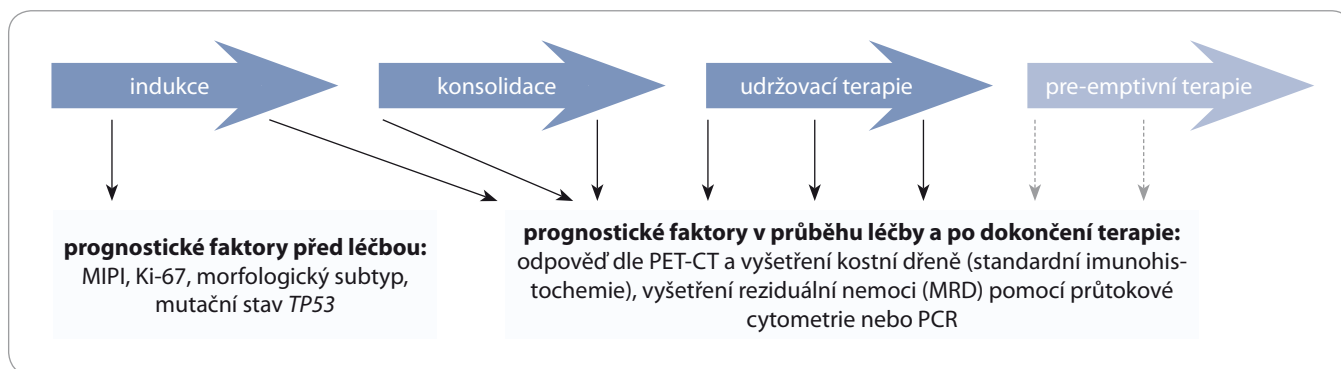
Kromě t(11;14) si všimněte přítomnosti komplexní translokace t(8;11;14), která má za následek translokaci cyklinu  $D_1$  a transkripčního faktoru *MYC* do oblasti zesilovačů transkripce těžkých řetězců pro imunoglobuliny. Prezentováno s laskavým svolením Centra nádorové cytogenetiky 1. LF UK a VFN v Praze (prof. Kyra Michalová).

### Prognostické ukazatele

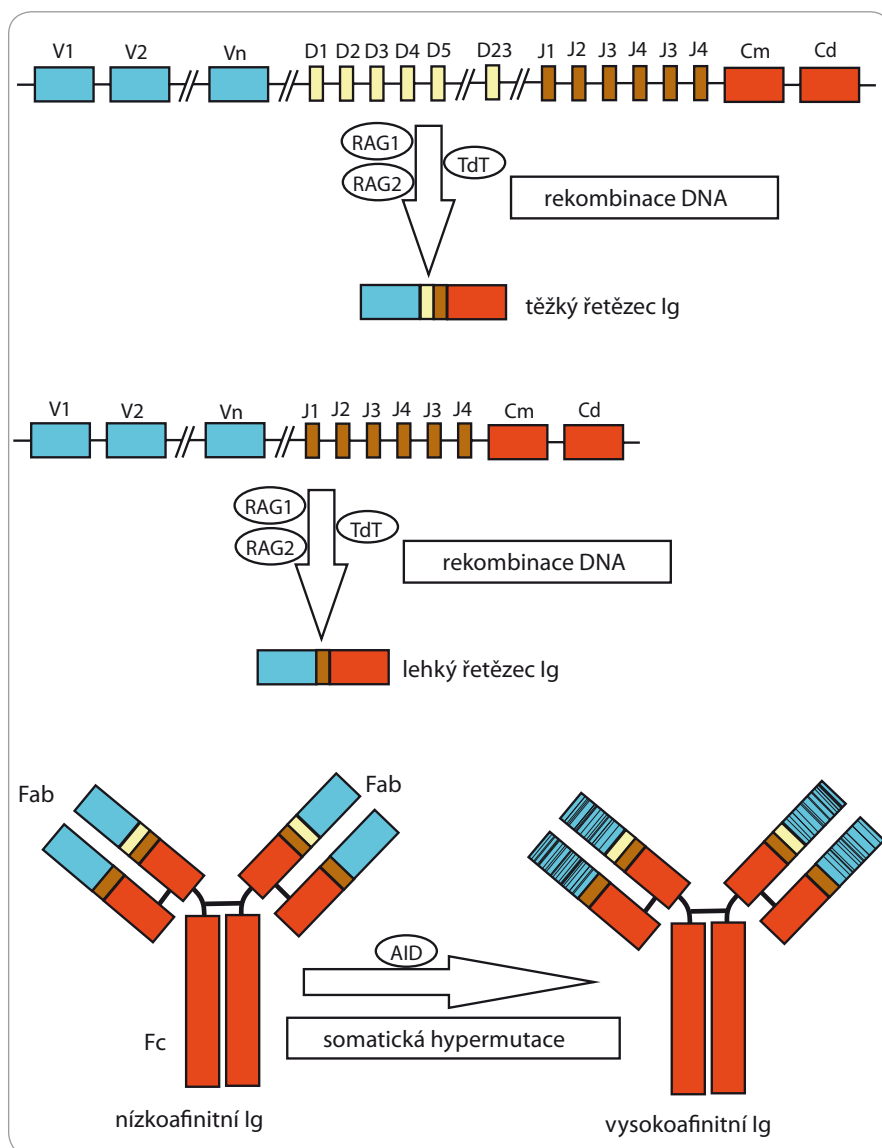
Na základě čtyř parametrů (věk, počet leukocytů, hladina laktátdehydrogenázy a výkonnostní stav) tvořících MIPI lze pacienty s MCL při diagnóze rozdělit do tří rizikových skupin s odhadem předpokládaného přežití – pacienty s nízkým, středním a vysokým rizikem dle MIPI [3,4]. Analýza dat českých pacientů s MCL z registru Kooperativní lymfomové skupiny za období 1999–2010 prokázala, že pacienti s nízkým, středním a vysokým rizikem dle MIPI vykazují medián celkového přežití (overall survival – OS) 8,8, 4,5, resp. 2,1 roku od stanovení diagnózy [5]. Kromě MIPI se mezi důležité prognostické ukazatele řadí též proliferanční index dle Ki-67/MIB1 [6]. Bylo opakovaně potvrzeno, že pacienti s proliferančním indexem dle Ki-67  $\geq 30$  % vykazují statisticky významně horší prognózu ve srovnání s pacienty s proliferančním indexem < 30 %. Mezi další nepříznivé prognostické ukazatele patří

mutace tumor-supresorového genu *TP53* (delece 17p, nebo bodové mutace *TP53*) [7]. Diagnóza je založena na imunohistochemické detekci zvýšené exprese cyklinu  $D_1$  v biopsované uzlině či kostní dřeni, a v záchytu translokace t(11;14) v lymfomové populaci. Vstupní vyšetření (staging) zahrnuje kromě toho zjištění rozsahu choroby pomocí CT či PET-CT a vyšetření kostní dřeně (trepanobiopsie). U pacientů s vysokým rizikem postižení CNS je vhodné vstupní vyšetření likvoru pomocí průtokové cytometrie. U pacientů s neurologickou symptomatikou budící klinické podezření na postižení CNS lymfomem je kromě vyšetření likvoru na místě též provedení vstupního CT či MRI hlavy. Mezi nejdůležitější prognostické faktory po léčbě patří dosažení kompletní remise dle CT (s dosažením remise choroby v kostní dřeni dle trepanobiopsie), dosažení PET-negativity pomocí PET a dosažení molekulární remise pomocí





Obr. 3. Prognostické faktory u pacientů s MCL před léčbou, v průběhu léčby a po jejím dokončení.



Obr. 4. Schematické znázornění procesu rekombinace DNA a somatické hypermutace variabilních úseků imunoglobulinů (Ig).

RAG – rekombinázu aktivující gen, TdT – terminální nukleotidyl-transferáza, AID – cytidin-deamináza indukovaná aktivací, Fab – část monoklonální protilátky vázající antigen, V-D-J-C – segmenty genů kódující imunoglobuliny (variabilní – variable, odlišné – diversity, spojovací – joining, konstantní – constant) (segmenty genů kódujících Ig)

stanovení minimální reziduální choroby (minimal residual disease – MRD) v kostní dřeni a periferní krvi (obr. 3).

### Minimální zbytková nemoc

Minimální zbytková (reziduální) nemoc (MRD) znamená záchyt zbytkové populace MCL buněk v množství, které je pod limitem standardních vyšetřovacích metod, jimiž se hodnotí odpověď na léčbu (tj. CT, PET-CT, imunohistochemické (IHC) vyšetření kostní dřeně) [8]. MRD lze stanovit buď pomocí průtokové cytometrie (8barevné kombinace s citlivostí  $10^{-4}$ ) nebo pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce (qPCR) s citlivostí  $10^{-5}$  až  $10^{-7}$ . MRD se obvykle stanovuje v kostní dřeni a periferní krvi pacienta v průběhu léčby a po léčbě. Výhodou stanovení MRD pomocí průtokové cytometrie je jednodušší rychlost metodiky (výsledek je k dispozici během hodin od odběru materiálu), jednodušší absence pracného nastavování systému pro detekci pacient-specifických primerů (v případě stanovení MRD pomocí PCR). Nevýhodou ve srovnání s PCR metodikou je nižší citlivost a nezbytná dostupnost čerstvého materiálu. Molekulárním cílem pro qPCR je záchyt translokace t(11;14)- tato metoda je využitelná u všech pacientů, u kterých lze translokaci technicky zachytit (pouze cca 30 % pacientů). Alternativním molekulárním cílem pro sledování MRD pomocí qPCR je záchyt přestavby variabilních úseků těžkých řetězců pro imunoglobuliny (obr. 4) [9]. Podmínkou pro konstrukci pacient-specifických primerů je dostatečné množství biologického materiálu při stanovení diagnózy (významně infiltrovaná periferní

či dřevná krev), které umožní vytvoření ředící řady nezbytné pro následnou kvantifikaci MRD. Sekvenování nové generace (next-generation sequencing – NGS) založené na masivní paralelní sekvenaci umožňuje záchyt a konstrukci molekulárních cílů v materiálu s relativně nízkou infiltrací MCL klonem [10]. Širšímu využití NGS však zatím brání vysoká cena vyšetření. Recentně jsme prokázali, že pro přípravu pacient-specifických cílů lze použít kromě lymfomových buněk izolovaných z periferní krve či kostní dřevě též DNA izolovanou z parafinových bločků orgánů infiltrovaných lymfomem [11]. Kromě kvantifikace translokace t(11;14) či přestavby variabilních úseků těžkých řetězců pro imunoglobuliny existují alternativní metody monitorace MRD, např. kvantifikace exprese cyklinu D<sub>1</sub> či SOX11 pomocí PCR. Stanovení MRD má dle naprosté většiny dosud publikovaných prací důležitý prognostický význam [8]. Dosažení tzv. molekulární remise (tj. MRD-negativity) po léčbě je asociováno s lepší prognózou ve srovnání s přetrvávajícím záchytem zbytkové MCL populace (tj. MRD-positivitou). Jako tzv. molekulární relaps se označuje situace, kdy po původním dosažení MRD-negativity dojde k opětovnému záchytu MCL buněk, aniž dojde ke klinicky manifestnímu relapsu choroby. Vzhledem k tomu, že molekulární relaps předchází téměř ve 100 % klinický návrat choroby, indikují některá pracoviště tzv. preemptivní terapii obvykle založenou na imunoterapii pomocí monoklonální protilátky rituximab.

### Terapie mladších pacientů

Léčba MCL se dělí podle toho, zda pacient je či není schopen absolvovat léčbu pomocí vysokodávkované chemoterapie [12]. Pacienti únosní vysokodávkované léčby jsou léčeni ve třech fázích: indukce → konsolidace → udržovací fáze. Indukční fáze má za cíl navodit kompletní remisi onemocnění. Standardem je intenzifikovaný imunochemoterapeutický režim obsahující alkylační cytostatikum cyklofosfamid, antracyklin doxorubicin (adriamycin), vinca-alkaloid vinkristin, vysokodávkovaný cytarabin (high-dose araC – HDAC), anti-CD20 monoklonální protilátku (R)ituximab a kor-

tikoidy (např. R-MaxiCHOP, R-HyperCVAD, R-HDAC) [13–17]. Včlenění rituximabu a HDAC do indukčního režimu významným způsobem přispělo ke zlepšení prognózy pacientů s MCL v posledních 10 letech [5,18,19]. Podává se obvykle šest cyklů chemoterapie v intervalu 21 dnů (např. R-MaxiCHOP/R-HDAC, 3 + 3 cykly). Většina pacientů (kolem 80–90 %) vykáže po indukční části léčby klinicky objektivně měřitelnou odpověď (parciální nebo kompletní remisi onemocnění). Léčebná odpověď je následně konsolidována vysokodávkovanou chemoterapií a autologní transplantací kostní dřevě (ASCT) [20]. Recentně publikované práce naznačují, že podávání udržovací terapie pomocí anti-CD20 monoklonální protilátky rituximab (obvykle v intervalu 2–3 měsíců po dobu min. 2 let) prodlužuje bezpříznakové období [21]. Součástí léčby pacientů s prokázanou infiltrací CNS je v případě meningeálního postižení opakovaná intratekální aplikace depotního cytarabinu, v případě ložiskového postižení CNS je nutná systémová léčba vysokodávkovaným metotrexátem.

### Terapie starších či komorbidních pacientů

Terapie starších či komorbidních pacientů (tj. pacientů neúnosných vysokodávkované terapie a ASCT) je založena na středně intenzivních imunochemoterapeutických režimech složených z alkylačních látek a antracyklinů (cyklofosfamid + doxorubicin + vinkristin + prednison – CHOP) či na staronovém cytostatiku bendamustinu, vždy v kombinaci s rituximabem (tj. R-CHOP nebo R-bendamustin) [22]. Bylo prokázáno, že pacienti léčení režimem R-CHOP profitují z následné udržovací terapie rituximabem [23]. Terapie pacientů, pro které jsou z důvodu vysokého věku či významných komorbidit rizikové i středně intenzivní léčebné režimy, je založena na alkylačních látkách (cyklofosfamid, chlorambucil), opět v kombinaci s rituximabem.

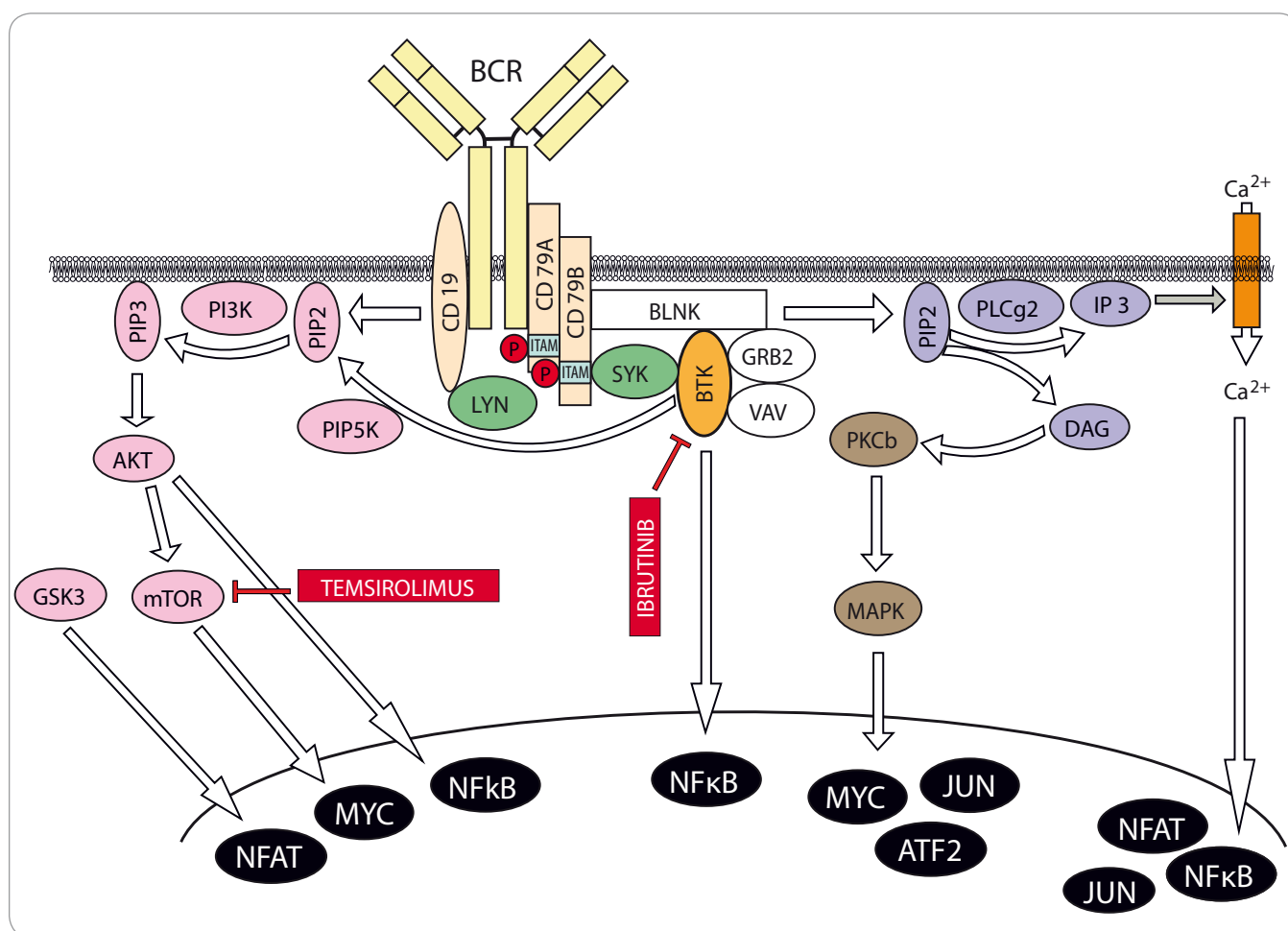
### Terapie relapsu či progresse onemocnění

V současné době neexistuje „standardní“ léčba relabovaných či refrak-

terních pacientů s MCL [24]. V případě návratu (relapsu) choroby se za jedinou potenciálně kurativní metodu považuje alogenní transplantace kostní dřevě (alloSCT) [21]. Optimální výsledky alloSCT jsou dosahovány u pacientů, kteří pomocí záchranných léčebných režimů dosáhnou ≥ 2. kompletní remise. K navození remise se nejčastěji používají intenzifikované chemoterapeutické režimy založené na platinových derivátech, v kombinaci s vysokodávkovaným cytarabinem (režim DHAP – cisplatina, vysokodávkovaný cytarabin, dexametazon), etopozidem (ESHAP – etopozid, vysokodávkovaný cytarabin, cisplatina) nebo gemcitabinem (GDP – gemcitabin, cisplatina, dexametazon), vždy v kombinaci s kortikoidy a obvykle v kombinaci s rituximabem (v případě přetrvávající CD20-positivity lymfomu). U části pacientů dojde při relapsu k transformaci do blastické varianty MCL, která bývá na molekulární úrovni doprovázena sekundárními aberacemi či komplexními změnami karyotypu – tito pacienti mají extrémně špatnou prognózu. Obzvláště nepříznivou prognózu mají také pacienti, u kterých dojde k návratu choroby v CNS. Všichni pacienti, u nichž nelze uvažovat o indikaci k provedení alloSCT, nemají vhodné dárce kostní dřevě nebo tento léčebný postup odmítnou, by měli být léčeni v rámci klinických studií. Pokud pacienti nesplňují kritéria pro vstup do studie, terapii v rámci klinické studie odmítnou nebo pokud není vhodná studiová léčba k dispozici, je k dispozici celá škála protilymfomových látek zahrnující jednak standardně hrazené chemoterapeutické režimy založené na platinových derivátech či fludarabinu, jednak tzv. nové léky, u nichž je nezbytné žádat příslušnou zdravotní pojišťovnu o schválení zvýšené úhrady (viz další kapitola).

### Nové léky v terapii relabovaného/refrakterního MCL

V posledních letech bylo do terapie MCL zavedeno několik nových léků, které významným způsobem rozšířily možnosti léčby zejména relabovaného/refrakterního MCL (R/R MCL). Temsirolimus (Torisel®) je inhibitor mTOR schválený



Obr. 5. Zjednodušené schéma signalizace z B buněčného receptoru s vyznačenými molekulárními cíli nových protilymfomových léků.

BTK – Brutonova tyrozinokináza, mTOR – molekula s názvem mammalian target of rapamycine, BCR – B buněčný receptor, SYK – tyrozinokináza, DAG – druhý posel diacylglycerol, MAPK – proteinkináza aktivovaná mitogenem, PI3K – fosfatidylinositol-3-kináza, PLCγ2 – fosfolipáza C-gamma 2. Černé jsou označné transkripční faktory (NFAT, MYC, NFκB, JUN, ATF2, NFAT).

v Evropě k léčbě R/R MCL [25]. Klíčová registrační studie fáze III však prokázala poměrně skromné prodloužení přežití bez progresu choroby v kohortě pacientů léčených temsirolimem ve srovnání s pacienty léčenými výběrem investigátora (investigator's choice – IC). Bortezomib (Velcade®), inhibitor proteazomu, je zatím registrován v indikaci R/R MCL pouze v USA [26]. Podobně jako temsirolimus ani monoterapie bortezomibem ovšem není s to u většiny pacientů navodit remise trvající déle než několik měsíců. Naproti tomu lenalidomid (Revlimid®), imunomodulační látka s dosud ne zcela vyjasněným mechanismem protilymfomového působení, dokáže u části pacientů navodit i dlouhodobé remise [27,28]. Spolehlivý molekulární mar-

ker, který by predikoval účinnost léčby lenalidomidem, však zatím není znám. Další účinnou látkou v terapii R/R MCL je staronové cytostatikum bendamustin (Levact®), který u pacientů s R/R MCL prokázal dobrý účinek v kombinaci s rituximabem [29]. V některých zemích se kombinace bendamustinu a rituximabu používá u starších pacientů v 1. linii terapie, neboť je při srovnatelné účinnosti méně toxická než režim R-CHOP [22]. Převratným lékem v léčbě nejen MCL je ibrutinib (Imbruvica®), inhibitor Brutonovy tyrozinokinázy, která představuje klíčovou molekulu přenášející signál z B buněčného receptoru (BCR) do nitra buňky (obr. 5) [30]. Inhibice signalizace z BCR je pro většinu MCL buněk letální. Nadějně výsledky v pilotních klinic-

kých studiích projevily specifický inhibitor BCL2 venetoclax (ABT-199/GDC-0199). Vzhledem k tomu, že žádný z nových léků není s to navodit trvalou remisi u pacientů s R/R MCL, zaměřují se v současné době klinické studie na analýzu protilymfomové účinnosti (a bezpečnosti) kombinovaných režimů zahrnujících nové a staré léky. Dobrou účinnost v terapii R/R MCL prokázaly kombinace bendamustinu s rituximabem a cytarabinem (režim R-BAC), ibrutinibu s rituximabem, lenalidomidu s rituximabem či temsirolimu s bendamustinem a rituximabem (režim BERT) [31–33]. Nechemoterapeutická kombinace lenalidomidu a rituximabu (R2) se testuje jako alternativa k udržovací monoterapii rituximabem.

## Shrnutí

Léčba (a prognóza) MCL doznala v posledních dekádách převratných změn. Díky dvěma klíčovými faktorům, 1. optimalizaci primoterapie pomocí „konvenčních“ protilymfomových léků a léčebných postupů a 2. významnému rozšíření možností léčby relapsů zavedením nových léků do klinické praxe, se celkové přežití pacientů s MCL za posledních 10 let v zásadě zdvojnásobilo (z 3–4 let v první dekádě nového tisíciletí na v současnosti odhadovaných 6–8 let). Optimální využití nových léků včetně jejich vzájemných kombinací mezi sebou či spolu se „starými“ léčivy povedou zcela jistě v blízké budoucnosti k dalšímu zlepšení prognózy pacientů s MCL.

## Literatura

- Dreyling M. Mantle cell lymphoma: biology, clinical presentation, and therapeutic approaches. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2014; 191–198. doi: 10.14694/EdBook\_AM.2014.34.191.
- Zhang J, Jima D, Moffitt AB et al. The genomic landscape of mantle cell lymphoma is related to the epigenetically determined chromatin state of normal B cells. *Blood* 2014; 123(19): 2988–2996. doi: 10.1182/blood-2013-07-517177.
- Hoster E, Dreyling M, Klapper W et al. A new prognostic index (MIPi) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood* 2008; 111(2): 558–565.
- Hoster E, Klapper W, Hermine O et al. Confirmation of the mantle-cell lymphoma International Prognostic Index in randomized trials of the European Mantle-Cell Lymphoma Network. *J Clin Oncol* 2014; 32(13): 1338–1346. doi: 10.1200/JCO.2013.52.2466.
- Salek D, Vesela P, Boudova L et al. Retrospective analysis of 235 unselected patients with mantle cell lymphoma confirms prognostic relevance of Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index and Ki-67 in the era of rituximab: long-term data from the Czech Lymphoma Project Database. *Leuk Lymphoma* 2014; 55(4): 802–810. doi: 10.3109/10428194.2013.815349.
- Klapper W, Hoster E, Determann O et al. Ki-67 as a prognostic marker in mantle cell lymphoma-consensus guidelines of the pathology panel of the European MCL Network. *J Hematop* 2009; 2(2): 103–111. doi: 10.1007/s12308-009-0036-x.
- Stefancikova L, Moulis M, Fabian P et al. Loss of the p53 tumor suppressor activity is associated with negative prognosis of mantle cell lymphoma. *Int J Oncol* 2010; 36(3): 699–706.
- Pott C, Hoster E, Delfau-Larue MH et al. Molecular remission is an independent predictor of clinical outcome in patients with mantle cell lymphoma after combined immunochemotherapy: a European MCL intergroup study. *Blood* 2010; 115(16): 3215–3223. doi: 10.1182/blood-2009-06-230250.
- van Dongen JJ, Langerak AW, Bruggemann M et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia* 2003; 17(12): 2257–2317.
- Rogers YH, Venter JC. Genomics: massively parallel sequencing. *Nature* 2005; 437(7057): 326–327.
- Kalinova M, Fronkova E, Klener P et al. The use of formalin-fixed, paraffin-embedded lymph node samples for the detection of minimal residual disease in mantle cell lymphoma. *Br J Haematol* 2015; 169(1): 145–148. doi: 10.1111/bjh.13182.
- Dreyling M, Ferrero S, Hermine O. How to manage mantle cell lymphoma. *Leukemia* 2014; 28(11): 2117–2130. doi: 10.1038/leu.2014.171.
- Merli F, Luminari S, Illariucci F et al. Rituximab plus HyperCVAD alternating with high dose cytarabine and methotrexate for the initial treatment of patients with mantle cell lymphoma, a multicentre trial from Gruppo Italiano Studio Linfomi. *Br J Haematol* 2012; 156(3): 346–353. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08958.x.
- Romaguera JE, Fayad LE, Feng L et al. Ten-year follow-up after intense chemoimmunotherapy with rituximab-HyperCVAD alternating with rituximab-high dose methotrexate/cytarabine (R-MA) and without stem cell transplantation in patients with untreated aggressive mantle cell lymphoma. *Br J Haematol* 2010; 150(2): 200–208. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08228.x.
- Bernstein SH, Epner E, Unger JM et al. A phase II multicenter trial of hyperCVAD MTX/Ara-C and rituximab in patients with previously untreated mantle cell lymphoma; SWOG 0213. *Ann Oncol* 2013; 24(6): 1587–1593. doi: 10.1093/annonc/mdt070.
- Lefrere F, Delmer A, Suzan F et al. Sequential chemotherapy by CHOP and DHAP regimens followed by high-dose therapy with stem cell transplantation induces a high rate of complete response and improves event-free survival in mantle cell lymphoma: a prospective study. *Leukemia* 2002; 16(4): 587–593.
- Delarue R, Haioun C, Ribrag V et al. CHOP and DHAP plus rituximab followed by autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma: a phase 2 study from the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *Blood* 2013; 121(1): 48–53. doi: 10.1182/blood-2011-09-370320.
- Lenz G, Dreyling M, Hoster E et al. Immunochemotherapy with rituximab and cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone significantly improves response and time to treatment failure, but not long-term outcome in patients with previously untreated mantle cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG). *J Clin Oncol* 2005; 23(9): 1984–1992.
- Geisler CH, Kolstad A, Laurell A et al. Nordic MCL2 trial update: six-year follow-up after intensive immunochemotherapy for untreated mantle cell lymphoma followed by BEAM or BEAC + autologous stem-cell support: still very long survival but late relapses do occur. *Br J Haematol* 2012; 158(3): 355–362. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09174.x.
- Robinson S, Dreger P, Caballero D et al. The EBMT/EMCL consensus project on the role of autologous and allogeneic stem cell transplantation in mantle cell lymphoma. *Leukemia* 2015; 29(2): 464–473. doi: 10.1038/leu.2014.223.
- Vaughn JE, Sorror ML, Storer BE et al. Long-term sustained disease control in patients with mantle cell lymphoma with or without active disease after treatment with allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *Cancer*. In press 2015. doi: 10.1002/cncr.29498.
- Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2013; 381(9873): 1203–1210. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61763-2.
- Kluin-Nelemans HC, Hoster E, Hermine O et al. Treatment of older patients with mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2012; 367(6): 520–531. doi: 10.1056/NEJMoa1200920.
- Dreyling M, Geisler C, Hermine O et al. Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014; 25 (Suppl 3): 83–92. doi: 10.1093/annonc/mdu264.
- Hess G, Herbrecht R, Romaguera J et al. Phase III study to evaluate temsirolimus compared with investigator's choice therapy for the treatment of relapsed or refractory mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2009; 27(23): 3822–3829.
- Robak T. Bortezomib in the treatment of mantle cell lymphoma. *Future Oncol*. In press 2015.
- Goy A, Sinha R, Williams ME et al. Single-agent lenalidomide in patients with mantle-cell lymphoma who relapsed or progressed after or were refractory to bortezomib: phase II MCL-001 (EMERGE) study. *J Clin Oncol* 2013; 31(29): 3688–3695. doi: 10.1200/JCO.2013.49.2835.
- Zinzani PL, Vose JM, Czuczman MS et al. Long-term follow-up of lenalidomide in relapsed/refractory mantle cell lymphoma: subset analysis of the NHL-003 study. *Ann Oncol* 2013; 24(11): 2892–2897. doi: 10.1093/annonc/mdt366.
- Robinson KS, Williams ME, van der Jagt RH et al. Phase II multicenter study of bendamustine plus rituximab in patients with relapsed indolent B-cell and mantle cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26(27): 4473–4479. doi: 10.1200/JCO.2008.17.0001.
- Wang ML, Rule S, Martin P et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2013; 369(6): 507–516. doi: 10.1056/NEJMoa1306220.
- Visco C, Finotto S, Zambello R et al. Combination of rituximab, bendamustine, and cytarabine for patients with mantle-cell non-Hodgkin lymphoma ineligible for intensive regimens or autologous transplantation. *J Clin Oncol* 2013; 31(11): 1442–1449. doi: 10.1200/JCO.2012.45.9842.
- Wang M, Fayad L, Wagner-Bartak N et al. Lenalidomide in combination with rituximab for patients with relapsed or refractory mantle-cell lymphoma: a phase 1/2 clinical trial. *Lancet Oncol* 2012; 13(7): 716–723. doi: 10.1016/S1473-0204(12)70200-0.
- Hess G, Keller U, Scholz CW et al. Safety and efficacy of temsirolimus in combination with bendamustine and rituximab in relapsed mantle cell and follicular lymphoma. *Leukemia* 2015; 29(8): 1695–1701. doi: 10.1038/leu.2015.60.



# Hodgkinův lymfom – vývoj léčebných přístupů a současné trendy

## Hodgkin's Lymphoma – the Treatment Approaches Development and Current Trends

Kořen J., Trněný M.

I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

Hodgkinův lymfom je relativně vzácné zhoubné onemocnění, které postihuje převážně mladší dospělí jedince. Z hlediska prognózy patří v dnešní době mezi jeden z nejlépe léčitelných typů lymfomů, ale i nádorů dospělého věku vůbec, s dosažením vyléčení u více než 80 % všech pacientů. Toto onemocnění dobře demonstuje, jak zlepšení onkologických přístupů v průběhu posledních několika dekád, popsané v tomto článku, vedlo ke zlepšení kurability a celkového dlouhodobého přežívání. V případě této choroby to bylo zejména zavedením kombinace modalit léčby (kombinovaná chemoterapie a radioterapie), pokrokem v technologii radioterapie, zavedením intenzivnější chemoterapie pro pokročilá onemocnění a v poslední době i použitím nových léků. Vzhledem k vysokému procentu vyléčitelnosti a mladému věku většiny pacientů představují pozdní toxické účinky významné téma. Další pokrok, ke kterému směřuje klinický výzkum, je tedy zaměřen na větší prognostickou individualizaci léčby, snahu o další redukci intenzity léčby při zachování její vysoké účinnosti a zavedení nových, méně toxických léků nejen do léčby málo početných relabujících a rezistentních forem, ale i do časnějších fází léčby.

### Klíčová slova

Hodgkinův lymfom – indukční chemoterapie – záchranná léčba – léčba s kombinací modalit – transplantace krvetvorných buněk – pozitronová emisní tomografie – brentuximab vedotin – nivolumab

### Summary

Hodgkin's lymphoma is a relatively rare malignant disease, mostly affecting younger adults. It represents one of the most curable disease among all lymphomas and other malignant diseases of adult age, with curability more than 80%. The progress of curability and long term survival demonstrates the development of oncologic approach during the last few decades, depicted in this article, particularly by introduction of combined modality treatment (chemotherapy and radiotherapy), progress in radiotherapy technique, implementation of high intensity regimens for advanced stages and use of novel drugs as well. Because of high curability rate and young age of most of the patients, late toxic effects are of significant relevance. The ongoing clinical research is focused on better prognostic stratification offering the patients more individualized treatment by risk and response disease evaluation, aiming to reduce toxicity while maintaining high curability and introduction of novel, less toxic drugs and their use in early phases of treatment.

### Key words

Hodgkin's lymphoma – induction chemotherapy – salvage therapy – combined modality therapy – hematopoietic stem cell transplantation – positron-emission tomography – brentuximab vedotin – nivolumab

Práce byla podpořena granty IGA MZ ČR č. NT13072-4/2012 a NT12193-5/2011.

This study was supported by grants of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT13072-4/2012 and NT12193-5/2011.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Jan Kořen

I. interní klinika – klinika hematologie  
1. LF UK a VFN v Praze  
U Nemocnice 2  
128 08 Praha 2  
e-mail: jan.koren@vfn.cz

Obdrženo/Submitted: 27. 9. 2015

Přijato/Accepted: 1. 10. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153587>

## Epidemiologie

Incidence Hodgkinova lymfomu (HL) je 2–3 případy na 100 000 obyvatel za rok. O něco častěji jsou postiženi muži než ženy (3 : 2). Typický je hlavní vrchol incidence křivky z hlediska věku mezi 20 a 35 lety. V pozdějším věku incidence opět mírně narůstá a dosahuje druhého vrcholu kolem 60 let věku, většinu pacientů ale tvoří mladší dospělí. U příbuzných pacientů s HL v 1. linii existuje asi 3krát vyšší riziko výskytu této nemoci, než je populační. Vyšší riziko je u jedno-vaječných dvojčat, mladších příbuzných, sourozenců, zejména stejného pohlaví, nižší riziko pak pro rodiče a starší příbuzné. Zřejmě je asociace s prodělanou infekcí EBV (virus Epstein-Barrové), často lze v nádorových buňkách HL prokázat přítomnost genetického materiálu EBV, který hraje roli při vzniku této choroby. U osob, které prodělaly manifestní infekci (infekční mononukleózu) je zvýšené riziko vzniku HL, nicméně naprostá většina osob, která byla infikována EBV (do 30 let věku kolem 95 % populace), obvykle bezpříznakově, nikdy HL neonemocní. V řadě případů navíc EBV v nádorových buňkách není prokazatelný. Lze předpokládat, že tato souvislost mezi infekcí EBV a vznikem HL je odpovědná i za typickou manifestaci v mladším dospělém věku.

## Klasifikace a biologie

Na základě morfologie, imunofenotypu, ale i klinického chování a přístupu k léčbě rozlišuje aktuální platná klasifikace lymfoidních malignit dvě základní entity HL. Nodulární lymfocytárně predominantní Hodgkinův lymfom (NLPHL), který se vyskytuje asi v 5 % případů, a klasický Hodgkinův lymfom (cHL), který představuje asi 95 % všech případů. V rámci cHL rozlišujeme na základě morfologie (způsob nádorového růstu, přítomnost fibrózy, složení buněčného pozadí tumoru) čtyři podtypy: modulárně sklerotický (65 %), smíšeně buněčný (25 %), bohatý na lymfocyty (4 %) a s deplecí lymfocytů (1 %). Tyto podtypy cHL mají i určité specifické klinické rysy (obvyklejší místa postižení, frekvence EBV positivity, výskyt B příznaků), mají však stejný imunofenotyp nádorových buněk a neliší se ani v terapeutickém přístupu.

Na rozdíl od většiny ostatních nádorů tvoří vlastní nádorové buňky u cHL pouze kolem 1 % všech buněk nádorové tkáně, morfologicky rozlišujeme mononukleární blastické tzv. Hodgkinovy buňky a dvou- a vícejaderné buňky Reed-Sternberga (HRS). Většinu buněk nádoru pak tvoří buňky reaktivního pozadí (T i B lymfocyty, histiocyty, eozinofily, plazmatické buňky, fibroblasty). Vzhledem k řídkému výskytu vlastních nádorových buněk a jejich nejistému imunofenotypu nebyl po dlouhou dobu zcela jasný jejich liniový původ. U nádorových buněk NLPHL charakteru mírně atypických polyploidních imunoblastů, tzv. LP buněk, se pravidelně vyskytují povrchové B buněčné antigeny (CD20, CD79) i další markery buněk germinálního centra (GC), jako bcl-6, tedy jejich původ v B lymfocytech byl nepochybný. Pro HRS buňky (Hodgkinovy a Reed-Sternbergovy) cHL je ovšem typická pouze exprese antigenů, které nejsou liniově specifické (CD15, CD30). Až v 90. letech 20. století byl díky mikrodisekčním technikám a molekulární genetiky (single cell PCR) definitivně prokázán původ nádorových buněk HL v germinálních B buňkách zásluhou klonálně specifické rearanže genu pro imunoglobulinový řetězec v nádorových buňkách [1]. Prakticky ve všech případech cHL lze prokázat somatické mutace rearanžovaných úseků genu pro IgVH, což svědčí pro jejich původ v zárodečných centrech po aktivaci antigenem. U většiny HRS buněk dochází ke vzniku nefunkčních somatických mutací IgV genu (nonsense mutace, ztráta afinity k antigenu). Za fyziologických podmínek vede nefunkční somatická mutace IgVH k rychlé apoptóze v zárodečném centru. Předpokládá se proto, že většina HRS buněk vzniká z preapoptických B buněk zárodečného centra. Jakým způsobem unikají HRS buňky apoptóze není zcela jasné, podílet se na tom může např. vliv latentní infekce EBV. Asi ve 40 % HRS buněk je detekovatelný latentní membránový protein kódovaný virem Epstein-Barrové (LMP1), který napodobuje funkci aktivovaného receptoru CD40. To vede k deregulaci signální cesty NF-κB, která je kritická pro přežití HRS buněk. V HRS buňkách

byla prokázána deregulace v řadě transkripčních faktorů, kromě signální cesty NF-κB i např. JAK/STAT, na které se podílí exprese některých cytokinů (IL-13, IL-21) a další faktory [2]. V patofyziologii vzniku a rozvoje HL hraje zásadní úlohu i vliv mikroprostředí i interakce s ostatními reaktivními buňkami v nádorové tkáni. V tomto ohledu hrají dominantní roli T lymfocyty, které tvoří obvykle většinu buněčné populace tumoru a představují rovněž většinu buněk, které jsou s buňkami LP i HRS v přímém kontaktu. Zdá se, že tyto interakce jsou důležité pro přežití HRS buněk a jejich únik před imunitní reakcí organismu. Buňky HRS rovněž exprimují PD ligandy 1 a 2, které přes aktivaci PD-1 (programmed death receptor) na povrchu T buněk inhibují jejich protinádorovou aktivitu. Jedním z nadějných léků testovaných v klinických studiích v současné době v léčbě HL je i monoklonální protilátka (nivolumab), která blokuje PD-1 receptor a zvyšuje tak T buňkami zprostředkovanou protinádorovou imunitní reakci.

## Klinický obraz

Nejčastější manifestací HL je u mladších dospělých jedinců nebolestivě hmatné zvětšení lymfatických uzlin v oblasti krku nebo nadklíčku (60–80 %), méně často v oblasti třísel (5–15 %). Další typická prezentace je zjištění mediastinální expanze (až 60 % pacientů) na zobrazovacích metodách. Mediastinální postižení je nezhoubné zachyceno jako bulky tumor (často nad 10 cm), který se může projevovat jenom minimálními příznaky, může však být asociován s přítomností pleurálního nebo perikardiálního výpotku, v nichž obvykle nelze při cytologickém vyšetření zachytit nádorovou populaci. Méně často je spojen s dalšími příznaky, jako kašel, bolestivost, vzácně se syndromem z komprese horní duté žíly. Frekvence postižení jednotlivých uzlinových a mimouzlinových lokalit je uvedena v tab. 1.

Celkové příznaky jsou u HL poměrně časté, jsou přítomny asi u jedné třetiny pacientů a často předcházejí delší dobu stanovení diagnózy. Mezi typické příznaky patří horečky, často cyklické, tzv. Pelova-Ebsteinova typu, zvýšené, zejména noční, pocení, hubnutí,

**Tab. 1. Frekvence postižení jednotlivých uzlinových a mimouzlinových lokalit.**

Lokalita	Postižení při diagnóze (%)
Waldayerův okruh	1–2
krční uzliny	60–80
axilární uzliny	25–35
mediastinální uzliny	50–60
hilové uzliny	15–35
slezina	30–35
játra	2–6
paraaortální uzliny	30–40
ilické uzliny	15–20
mezenterální uzliny	1–4
inguinální uzliny	8–15
kostní dřeň	1–4
ostatní extranodální lokality	10–12
celkem extranodální lokality	10–15

svědění, únava. Alkoholová bolest se udává jako poměrně specifický příznak pro HL, avšak je velmi vzácná, typicky silná, vzniká několik minut po napití se alkoholem, byť v malé dávce, ale je lokalizována do oblasti postižených uzlin. Další možné příznaky vyplývají z postižení extranodálních lokalit. Může se vyskytnout bolest kostí při jejich postižení, někdy provázená i symptomatickou hyperkalcémií, bolestivost v podžebří při postižení jater, sleziny, cytopenie při infiltraci kostní dřeně (KD), vzácně jsou popisovány paraneoplastické neurologické syndromy či reaktivní změny na kůži (urtika, ichtyóza, erytema nodosum, multiforme, hyperpigmentace).

### Diagnostika, určení klinického stadia

Ke stanovení přesné diagnózy – podtypu lymfomu – je nezbytná exstirpace celé zvětšené uzliny nebo reprezentativního vzorku postižené tkáně a kompletní histologické vyšetření včetně imunohistochemie na pracovišti s dostatečnou zkušeností v diagnostice hematologických

**Tab. 2. Určení klinického stadia dle Ann-Arbor klasifikace.**

Stadium I	postižení 1 oblasti lymfatických uzlin nebo 1 extralymfatického orgánu
Stadium II	postižení 2 nebo více skupin lymfatických uzlin na téže straně bránice nebo lokalizované postižení 1 extralymfatického orgánu (IIE) včetně postižení 1 nebo více skupin lymfatických uzlin na téže straně bránice
Stadium III	postižení lymfatických uzlin nebo orgánů na obou stranách bránice, které může být provázeno lokalizovaným postižením 1 extralymfatického orgánu nebo tkáně (IIIE) nebo sleziny (IIIS) nebo obojího (IIISE)
Stadium IV	difuzní nebo diseminované postižení 1 nebo více extralymfatických orgánů či tkání s nebo bez současného postižení lymfatických uzlin
Přípona A	bez celkových příznaků
Přípona B	alespoň jeden z příznaků: noční profuzní poty, teploty neinfekčního původu > 38 °C, váhový úbytek >10 % tělesné hmotnosti za posledních 6 měsíců
Poznámka	jako extralymfatické orgány nejsou hodnoceny: lymfatické uzliny, slezina, thymus, Waldayerův mizní okruh, appendix, Peyerovy plaky

malignit. Pouhá jehlová biopsie obvykle neumožní přesné stanovení diagnózy.

Detailní anamnéza a klinické vyšetření jsou nezbytné ke zhodnocení klinického stavu, závažnosti komorbidit, rizik protinádorové léčby. Věk pacienta, přítomnost B symptomů (horečky, pocení, hubnutí) a celkový stav kondice (performance status) bezprostředně ovlivňují rozhodnutí o léčebné strategii. Dále zejména onemocnění srdce, plic, ledvin nebo jater mohou podmiňovat modifikaci chemoterapie. Funkční vyšetření srdce echokardiograficky a pomocí EKG a funkční vyšetření plic včetně difuzní kapacity pro výměnu krevních plynů jsou důležitá pro indikaci potenciálně kardiotoxických a pneumotoxických cytostatik u většiny pacientů.

Pro určení klinického stadia jsou nejdůležitější zobrazovací metody. Standardní celotělové vyšetření pomocí CT je v dnešní době u HL již většinou nahrazeno hybridním vyšetřením PET/CT. PET je realizován pomocí FDG, tedy radionuklidem navázaným na glukózu (fluorin-18-fluoro-2-deoxy-D-glukóza). HL patří mezi tzv. pravidelně FDG-PET avidní tumory, senzitivita této metody je pro určení klinického stadia vyšší než při

použití klasického CT (95 vs. 80 %). Ještě cennější je použití PET/CT při hodnocení výsledku na konci léčby, kde oproti CT dokáže odlišit relativně častá fibrózní rezidua původní masy tumoru od viabilní nádorové tkáně. Vyšetření KD pomocí trepanobiopsie, vzhledem k nízké incidenci postižení KD u HL a vysoké citlivost PET vyšetření, dnes není považováno za obligatorní.

Určení klinického stadia vychází z Ann-Arbor klasifikace (tab. 2).

### Prognostické skupiny

Z hlediska volby primární léčby se podle rozsahu onemocnění a přítomnosti dalších prognostických faktorů rozlišují tři skupiny. Časná příznivá stadia (klinické stadium I a II dle Ann Arbor klasifikace), tedy bez žádného rizikového faktoru, časná nepříznivá stadia, kdy je přítomen alespoň jeden rizikový faktor, a pokročilá stadia (klinické stadium III a IV). Stanovení rizikových faktorů pro časná stadia se poněkud liší mezi jednotlivými hlavními světovými skupinami, což činí výsledky jednotlivých klinických studií těchto skupin obtížněji srovnatelné. V běžné klinické praxi v ČR většina pracovišť používá systém rizikových fak-

**Tab. 3. Srovnání definice rizikových faktorů pro časná stadia nejvýznamnějších skupin.**

Rizikový faktor	GHSG	EORTC	NCIC	NCCN
věk		≥ 50	≥ 40	
histologie			MC a LD	
sedimentace a B symptomy	> 50 A a > 30 B	> 50 A a > 30 B	> 50 nebo B symptomy	> 50 nebo B symptomy
mediastinální masa	MMP > 0,33	MTR > 0,35	MMP > 0,33 nebo > 10 cm	MMP > 0,33
počet uzlinových lokalit	> 2	> 3	> 3	> 3
extranodální postižení	jakékoliv			
bulky masa				> 10 cm

GHSG – German Hodgkin Study Group, EORTC – European Organization for the Research and Treatment of Cancer, NCIC – National Cancer Institute Canada, MC – smíšená buněčnost, LD – lymfocytární deplece, MMP – poměr max. šíře mediastina a max. šíře hrudníku, MTR – poměr maximální šíře mediastina a hrudníku v úrovni Th5-6

**Tab. 4. Mezinárodní prognostický systém (IPS).**

Rizikové faktory	Počet rizikových faktorů	FFTF v 5 letech v %
věk > 45 let	0	84
mužské pohlaví	1	77
stadium IV	2	67
albumin < 40 g/l	3	60
hemoglobin < 105 g/l	4	51
leukocytóza > 15	5+	42
lymfopenie < 0,6 nebo 8 %	–	–

torů podle Německé skupiny pro Hodgkinův lymfom (German Hodgkin Study Group – GHSG). GHSG navíc řadí klinické stadium IIB s masivní mediastinální masou a/nebo s extranodálním postižením mezi pokročilá stadia. Srovnání definice rizikových faktorů pro časná stadia nejvýznamnějších skupin uvádí tab. 3.

Pro stratifikaci rizika u pokročilých stadií byl na základě statistické analýzy souboru 5 000 pacientů sestaven Mezinárodní prognostický systém (International prognostic system – IPS) (tab. 4), který obsahuje sedm faktorů. Každý z nich zhoršuje prognózu z hlediska přežití bez selhání léčby (freedom from treatment failure – FFTF) v pěti letech o sedm procentních bodů. Je důležité podotknout, že vychází z analýz pacientů léčených standardní chemoterapií (ABVD – adriamycin,

bleomycin, vinblastin, dakarbazin a srovnatelné), při použití intenzifikované chemoterapie eskalovaný (eskal.) BEACOPP se jeho význam částečně smazává.

#### Léčba časných příznivých stadií

Přístup k léčbě pacientů s časným stadiem HL se za poslední čtyři dekády zásadně změnil. V 70. letech 20. století představoval standardní přístup pro pacienty s klinickými stadii I a IIA samostatnou extenzivní radioterapii. Tento postup ale vedl k relativně vysoké rekurenci onemocnění (25–30 %) mimo ozářovanou oblast, i když většina pacientů byla úspěšně léčena následnou chemoterapií. Navíc extenzivní radioterapie představuje vysoké riziko pozdních nežádoucích účinků, zejména sekundárních malignit. Další vývoj vedl k zavedení

kombinace léčebných modalit, začlenění chemoterapie a redukci objemu a dávek radioterapie. Benefit použití kombinované léčby oproti samotné extenzivní radioterapii byl prokázán v několika randomizovaných studiích. Bylo dosaženo zlepšení přežití bez selhání léčby asi o 15–20 % [3,4]. Nejobvyklejším režimem chemoterapie, který je používán v léčbě časných stadií, je ABVD, který je dobře tolerovaný, představuje nižší riziko z hlediska dlouhodobých komplikací v porovnání s původními režimy (sekundární akutní leukemie, neplodnost). Při použití kombinované léčby bylo možno nahradit extenzivní radioterapie modernější a šetrnější technikou ozáření postiženého pole (involved field – IF), které představuje nižší riziko pozdních komplikací. Při vysoké účinnosti kombinované léčby a riziku pozdní toxicity řada studií porovnávala v randomizovaných studiích různý počet cyklů a dávku radioterapie ve snaze nalézt ideální rovnováhu mezi dostatečnou účinností a dlouhodobou bezpečností léčby. Studie HD10 německé skupiny (GHSG) porovnávala dva a čtyři cykly ABVD a IF RT 20 a 30 Gy ve čtyřech různých ramenech u velkého souboru 1 190 pacientů, přežití bez události (event-free survival – EFS) a celkové přežití (overall survival – OS) v osmi letech bylo 87, resp. 95 % a nelišilo se signifikantně v jednotlivých ramenech [5]. Na základě této studie lze považovat léčbu dvěma cykly ABVD a IF RT 20 Gy



u dobře definované skupiny pacientů, pomocí rizikových faktorů podle GHSG, za standardní postup u časných příznivých stadií.

Ve snaze získat nové prognostické informace použitelné pro další stratifikaci léčby se ukázalo jako velmi cenné průběžné hodnocení odpovědi na úvodní chemoterapii pomocí PET vyšetření (tzv. interim PET), provedené po 2–3 cyklech chemoterapie, které je schopno predikovat prognózu přežití bez progresse (progression-free survival – PFS) lépe než dosud používané prognostické faktory [6].

V Evropě v posledních letech proběhly dvě klinické studie s recentně publikovanými výsledky, které randomizovaly pacienty mezi standardní kombinovanou léčbu a chemoterapii samotnou podle výsledku PET po 2–3 cyklech chemoterapie.

Ve studii RAPID britské skupiny pro stadia IA a IIA bez mediastinálního bulky tumoru, kde byl PET proveden po třech cyklech ABVD, byli PET pozitivní pacienti léčeni 4. cyklem ABVD a IF RT, PET negativní byli randomizováni mezi skupinu s IF RT a skupinu bez další léčby. Mezi PET negativními po 3. cyklu bylo PFS ve třech letech pro skupinu s IF RT oproti skupině bez další léčby 94,6 vs. 90,8 %. Absolutní rozdíl PFS činil 3,8 %, statisticky však nebyla prokázána non-inferiorita experimentálního postupu (vynechání radioterapie při dosažení PET negativity po třech cyklech ABVD) [7]. Přesto lze konstatovat, že pacienti s negativním PET vyšetřením po chemoterapii mají velmi dobrou prognózu i bez použití radioterapie a lze u nich uvažovat o větší individualizaci léčby s ohledem na dlouhodobé toxické účinky radioterapie, obzvláště u mladších jedinců.

Studie H10 organizovaná EORTC pro časná příznivá (H10F) a časná nepříznivá (H10U) stadia randomizovala pacienty mezi standardní kombinaci ABVD + IF RT a experimentální větev na základě PET výsledku po dvou cyklech ABVD. PET negativní pacienti dostali další dva cykly (H10F), resp. čtyři cykly (H10U) ABVD, v případě PET positivity byla léčba intenzifikována pomocí režimu eskal. BEACOPP a INRT. Interim analýza prokázala PFS v jednom roce u H10F 100 % u standardní větve a 95 % u samotné

chemoterapie, u H10U byl PFS 97,3 % u standardní větve vs. 94,7 % v případě samotné chemoterapie [8]. Vzhledem k tomu, že rozdíl byl pro obě skupiny signifikantní ve prospěch standardní větve zahrnující radioterapii, bylo doporučeno další nábor do studie zastavit.

Obě studie tedy přinesly srovnatelné výsledky, na jejichž základě lze odvodit, že u časných stadií HL konsolidační radioterapie u PET negativních pacientů po samotné chemoterapii přináší redukci selhání léčby v řádu jednotek procent (4–5 %), tedy výrazná většina pacientů je vyléčena již samotnou chemoterapií. Definitivní závěry z hlediska dlouhodobého OS a pozdních nežádoucích účinků radioterapie bude možné hodnotit až po dlouhodobějším sledování.

#### Léčba časných nepříznivých stadií

Pacienti s časným onemocněním (klinické stadium I a II) a s rizikovými faktory jsou léčeni standardně kombinací chemoterapie a radioterapie. Podobně jako v předchozí skupině byl klinický výzkum v posledních dekadách zaměřen na identifikaci ideální dávkové intenzity chemoterapie jak z hlediska počtu cyklů, tak i intenzity jednotlivých režimů, a dále rozsahu a dávky radioterapie.

Při porovnání extenzivní a lokalizované radioterapie po předchozí chemoterapii nebyl prokázán rozdíl ve výsledcích léčby v několika klinických studiích [9,10], extenzivní radioterapie byla ale zatížena větší akutní toxicitou i vyšší incidencí sekundárních malignit.

Kromě standardního režimu ABVD byly testovány dávkově intenzifikované chemoterapie ve snaze snížit procento selhání léčby u této skupiny časných stadií s horší prognózou.

Studie HD11, organizovaná GHSG, zaměřená na intenzitu chemoterapie a rovněž dávku radioterapie, porovnávala čtyři cykly ABVD + 20 nebo 30 Gy IF RT a čtyři cykly bazální BEACOPP + 20 nebo 30 Gy IF RT. V pěti letech byl PFS 86 % a OS 94,5 %, bez signifikantního rozdílu mezi jednotlivými rameny, na hranici inferiority byly výsledky FFTS (přežití bez selhání léčby) ve skupině 4krát ABVD + 20 Gy [11].

Podobné výsledky prokázala i studie H9-U organizovaná EORTC. V ní

byli pacienti randomizováni mezi čtyři a šest cyklů ABVD a čtyři cykly bazálního BEACOPP (bleomycin, etoposid, adriamycin, cyklofosfamid, vinkristin, prokarbazin, prednison), všichni pacienti následně podstoupili IF RT 30 Gy. Mezi skupinami nebyl v této studii prokázán staticky signifikantní rozdíl ve výsledcích léčby [12].

V další německé studii HD14 však bylo prokázáno statisticky významné zlepšení PFS ve větvi při použití více intenzifikované chemoterapie 2krát eskal. BEACOPP + 2krát ABVD oproti standardnímu rameni 4krát ABVD, 95,4 vs. 89 %. V obou ramenech následovala IF RT 30 Gy. OS bylo v pěti letech stejné (97 %) [13].

Na základě klinických studií lze považovat za standardní léčbu v této skupině podání čtyř cyklů ABVD a IF RT 30 Gy nebo dvou cyklů eskal. BEACOPP + dvou cyklů ABVD a IF RT 30 Gy, se zohledněním věku, celkového stavu a komorbidit.

#### Léčba pokročilých stadií

Základem primární léčby pokročilého HL je kombinovaná chemoterapie. Do 60. let minulého století bylo dlouhodobé přežití těchto pacientů léčených jednotlivými cytostatiky kolem 5 %. První historicky úspěšný kombinovaný režim, který byl použit poprvé v roce 1964, byl MOPP (mechlorethamin, vinkristin, prokarbazin, prednison), jenž dosahoval asi 50% kurability [14]. Byla to první účinná systémová léčba, která dokázala vyléčit toto onemocnění v pokročilých stadiích, byla ale zatížena poměrně výraznou pozdní toxicitou (neplodnost, myelodysplazie) a vysokým procentem relapsů.

Režim ABVD (adriamycin, bleomycin, vinblastin, dakarbazin), který byl zaveden o něco později, prokázal lepší účinnost z hlediska kontroly choroby i OS a dobrou toleranci [15].

V další generaci klinických studií byly testovány různé hybridní a alternující režimy, které ale neprokázaly lepší účinnost než samotné ABVD a jejich toxicita byla obvykle větší [16].

Nadějně výsledky přinesl režim Stanford V v klinické studii fáze II: u 142 pacientů bylo dosaženo v pěti letech FFTF 89 % a OS 96 %. V dalších randomizovaných studiích ale nebyla potvrzena jeho superiorita oproti ABVD [17].

Na základě matematického modelování vyvinula německá skupina protokol BEACOPP ve variantách s bazálními a eskalovanými dávkami cyklofosfamid, etoposidu a adriamycinu a dále obsahující bleomycin, vinkristin, prokarbazin a prednison. Obě tyto varianty BEACOPP v počtu osmi cyklů byly porovnány ve velké randomizované studii HD9 (GHSG) se standardní léčbou té doby, osmi cykly alternujícího režimu COPP/ABVD. BEACOPP eskal. přinesl signifikantní zlepšení 10letého FFTP (82 vs. 64 %) i OS (75 vs. 86 %) oproti COPP/ABVD, tato léčba ale přináší větší akutní (zejména cytopenie, infekce) i pozdní toxicitu (zejména vyšší riziko sekundárních akutních leukemií (3 %) a infertilitu) [18]. Proto se další generace studií zaměřily na redukci toxicity při zachování vysoké účinnosti.

Studie HD15 (GHSG), která randomizovala 2 196 pacientů do tří ramen, 8krát BEACOPP eskal., 6krát BEACOPP eskal., 8krát BEACOPP bazální podávaný ve zkráceném intervalu 14 dní, prokázala statisticky významné zlepšení kontroly nemoci i OS, tak i větší bezpečnost při použití šesti cyklů BEACOPP eskal. oproti osmi cyklům BEACOPP eskal., PFS v pěti letech bylo 90,3 vs. 85,6 % oproti OS 95,3 vs. 91,9 % [19]. Významně menší procento pacientů bylo po chemoterapii indikováno ke konsolidační radioterapii než ve studii HD9 (11 vs. 70 %), což je podmíněno tím, že ve studii HD15 byla radioterapie provedena jen u pacientů s PET pozitivním reziduem.

Přímé porovnání ABVD a BEACOPP proběhlo v několika menších randomizovaných studiích, které potvrdily signifikantní benefit kontroly nemoci ve prospěch BEACOPP v rozmezí 12–18 % a OS asi o 4–8 %, ale bez statistické signifikance [20].

V současné době neexistuje mezinárodní shoda na standardním režimu pro pokročilá stadia. Ve prospěch intenzifikovaného BEACOPP hovoří dosažení vyléčení u většího počtu pacientů, problém je vyšší toxicita a vyšší riziko závažných pozdních nežádoucích účinků. Oproti tomu ABVD je lépe tolerováno, ale vyléčí méně pacientů. Otázkou zůstává, zda tento rozdíl může být z hlediska OS kompenzován účinnou záchranou léčbou v případě selhání primoterapie.

Na základě studie HD15 považujeme za standardní postup mimo klinické studie u pokročilých stadií 6krát BEACOPP eskal. s následnou radioterapií na případné PET pozitivní reziduum. U pacientů starších 60 let šest cyklů ABVD.

Lze očekávat, že další vývoj v léčbě pokročilých stadií bude směřovat k větší individualizaci léčby na základě hodnocení rizikových faktorů a kvality odpovědi a dále začleněním nových, vysoce účinných a méně toxických léků, jako je anti-CD30 protilátka brentuximab vedotin (BV), která je mimo jiné v současné době testována v klinické studii fáze III v primoléčbě pokročilých stadií. Aktuálně probíhá i řada klinických studií s přístupem adaptovaným na výsledky PET vyšetření, provedeným obvykle po prvních dvou cyklech chemoterapie. Jsou založeny na principu eskalace či de-eskalace intenzity léčby podle průběžného hodnocení odpovědi na léčbu.

### Nodulární lymfocytárně predominantní varianta HL

Nodulární lymfocytárně predominantní varianta HL (NLPHL) se vyznačuje řadou klinických specifík, která ovlivňují i přístup k léčbě. Onemocnění se chová obvykle indolentně, má ale větší tendenci k relapsům, přesto je jeho dlouhodobá prognóza dobrá. Pacienti umírají i na pozdní nežádoucí účinky opakované léčby. Ve většině případů jsou oproti cHL pacienti diagnostikováni v časném stadiu (80 %), často bez rizikových faktorů. V případě lokalizovaných forem bez rizikových faktorů lze použít samotnou IF RT. Pokud se jedná o postižení jedné uzliny, která je kompletně extirpována, je opodstatněné i pouhé sledování. Pro časná nepříznivá a pokročilá stadia se doporučuje postupovat jako u cHL s použitím chemoterapie ABVD. Vzhledem k pozitivitě CD20 v nádorových buňkách lze použít i kombinaci s rituximabem. V případě relapsu jsou terapeutické varianty radioterapie v případě dosud neozářené oblasti, další chemoterapie (R-CHOP, R-COP), případně rituximab v monoterapii. Vysokodávkovaná léčba s autologní transplantací krvetvorných buněk (ASCT) obvykle není indikována. Vzhledem k vyššímu riziku transformace do agresivního B-NHL u této

jednotky je důležitá histologická verifikace v případě rekurence choroby.

### Léčba refrakterní a relabující (R/R) nemoci

Pacienti, u nichž selhává primární terapie, lze z hlediska prognózy rozdělit do tří skupin. V případě nedosažení kompletní remise úvodní léčbou, nebo relapsem do tří měsíců od jejího ukončení hovoříme o primárně progresivním či refrakterním onemocnění. Jeho prognóza je nejhorší, pomocí konvenční chemoterapie lze dosáhnout dlouhodobé kontroly nemoci jen zřídka. Dále rozlišujeme relapsy časně, do 12 měsíců od ukončení léčby, které mají obdobně špatnou prognózu, a relapsy pozdní, po roce a déle od dosažení první remise.

Zlepšení výsledků léčby R/R forem bylo dosaženo pomocí konsolidace vysokodávkovanou chemoterapií s podporou autologních krvetvorných buněk (ASCT). Existují ale jen dvě randomizované studie porovnávající konvenční chemoterapii proti ASCT, obě demonstrují signifikantní zlepšení přežití ve smyslu EFS, FFTF ve skupině s ASCT, zlepšení OS nebylo statisticky významně v těchto studiích demonstrováno. Dlouhodobé přežití bez známek choroby se po ASCT pohybuje kolem 50 % [21,22].

V léčbě 2. linie se používá řada režimů, převážně založených na platině (DHAP, ESAP, ICE, GDP) s ORR (overall response rate, součet dosažených parciálních a kompletních remisí) v rozmezí 60–89 %, neexistují žádné randomizované srovnávací studie, na základě kterých by bylo možné doporučit určitý režim. V posledních letech se objevily zajímavé výsledky při použití některých novějších režimů, jako GVD (gemcitabin, vinorelbin, lipozomální doxorubicin) [23] nebo bendamustinu [24]. Jako přípravný režim před ASCT se obvykle používá BEAM (BICNU, etoposid, cytosin-arabinosid, melfalan).

Byla identifikována řada rizikových faktorů, které lze určit v okamžiku relapsu a které mohou sloužit k určité adaptaci léčebné strategie. Mezi ně patří relaps do 12 měsíců, klinická stadia III a IV, anémie, extranodální postižení, B symptomy. Další významný prognos-

tický faktor je odpověď na záchranou chemoterapii. V analýze publikované Si-rohim et al bylo pětileté OS u pacientů v kompletní remisi, parciální remisi a s rezistentní chorobou 79, 59 a 17 %, PFS 69, 44 a 14 % [25]. V několika analýzách byl prokázán i silný prognostický význam PET nálezu před ASCT [26].

Ve snaze o dosažení lepšího výsledku u R/R forem při použití ASCT byl testován v randomizované studii HD-R2 (GHSG) postup s použitím vysokodávkované sekvenční chemoterapie po úvodních dvou cyklech DHAP v experimentální větvi, před ASCT. Tento postup ale nevedl ke zlepšení celkových výsledků léčby a byl zatížen větší toxicitou [27].

Použití tandemové ASCT pro pacienty stratifikované podle rizika testovala studie H96. Výsledky naznačují, že u prognosticky nepříznivých forem R/R HL, jako je primárně progresivní onemocnění či kumulace rizikových faktorů (relaps do jednoho roku, KS III, IV, relaps v ozařované oblasti), může tandemová transplantace přinést zlepšení v OS, v pěti letech byl OS 57 vs. 30–40 % v historických kontrolách [28].

V případech choroby relabující po ASCT je možné u mladších pacientů indikovat provedení alogenní transplantace jako poslední možnosti, kterou lze považovat za kurativní přístup. Výsledky tohoto postupu ale nejsou uspokojivé. Po standardním myeloablativním přípravném režimu byla zaznamenána vysoká peritransplantační mortalita dosahující až 50 %, dlouhodobě přežívá jen kolem 20 % pacientů [29]. Při použití režimů s redukcí intenzitou (RIC) je mortalita na výkon kolem 15 %, ale dochází k častým relapsům (až u 60 %) a dlouhodobé OS je kolem 40 % [30].

Další pokrok v léčbě R/R forem se dá tedy spíše očekávat díky novým lékům, které jsou v současné době testovány nebo již zavedeny do léčby pro vybrané situace v léčbě HL.

### Nové léky

Nejvýznamnější z této skupiny nových léků je v současné době BV. Jedná se o monoklonální protilátku anti-CD30 konjugovanou s mikrotubulárním toxinem (monometyl auristatin E), která představuje cílenou a relativně málo toxickou lé-

čebnou modalitu. Přípravek byl v roce 2014 registrován i v ČR pro léčbu pacientů s R/R, u kterých selhává ASCT nebo nejsou schopni ASCT a prodělali alespoň dvě linie léčby pro R/R onemocnění. Vysoká účinnost tohoto léku byla zaznamenána již v klinické studii fáze II, hodnoceno bylo 102 pacientů relabujících po ASCT, tedy s velmi špatnou prognózou. ORR byl 75 %, kompletní remise 34 %, medián trvání kompletní remise 29 měsíců [31].

Vzhledem k pozoruhodným výsledkům u R/R forem probíhá rozsáhlé testování BV v dalších fázích léčby pomocí klinických studií, jako součást salvage před ASCT, jako indukce před alogenní transplantací krvetvorných kmenových buněk (alloSCT) u refrakterních forem a rovněž i v rámci primární léčby (ABVD vs. BV + AVD u KS III a IV). V loňském roce byla publikována průběžná data studie AETHERA, kde byl BV testován v randomizované, placebem kontrolované studii u rizikových pacientů jako konsolidační léčba po ASCT, po dobu jednoho roku. Odhadované PFS ve dvou letech bylo 65 a 45 % ve větvi s BV, resp. s placebem, rozdíl byl signifikantní. Hlavní toxicitu představuje senzorická polyneuropatie (36 %), obvykle reverzibilní [32]. Na základě této studie se předpokládá rozšíření registrace i o tuto indikaci.

Další nový lék, který v úvodních fázích klinického testování prokázal vysokou účinnost u R/R forem HL, je nivolumab, anti-PD1 protilátka posilující T buněčnou imunitní protinádorovou reakci. Ve skupině 23 R/R pacientů s HL (78 % po ASCT, 78 % po léčbě BV) bylo dosaženo ORR 87 %, z toho 17 % kompletní remise, 13 % stabilní choroby [33]. Klinické testování s tímto nadějným lékem dále probíhá v různých klinických studiích.

### Závěr

Přes vysokou účinnost primární léčby HL pomocí konvenčních technik chemoterapie a radioterapie, které se zřejmě blíží hranici svých možností účinnosti u této choroby, zůstává řada oblastí a otázek stále otevřených k dalšímu zkoumání. Vzhledem k pozdním nežádoucím účinkům, které zhoršují kvalitu života a představují riziko pro OS, je vývoj zaměřen na větší individualizaci léčby, lepší stratifikace rizika, jednak použitím PET adapto-

vaných přístupů, jednak například i větším poznáním biologie nádoru a jeho prognostických souvislostí. Další pokrok lze očekávat i zásluhou neustálého zlepšování technologie radioterapie a zejména zavedením nových vysoce účinných léků do standardní léčby.

### Literatura

- Küppers R, Rajewsky K, Zhao M et al. Hodgkin disease: Hodgkin and Reed-Sternberg cells picked from histological sections show clonal immunoglobulin gene rearrangements and appear to be derived from B cells at various stages of development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(23): 10962–10966.
- Schmitz R, Stanelle J, Hansmann ML et al. Pathogenesis of classical and lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 151–174. doi: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092209.
- Engert A, Franklin J, Eich HT et al. Two cycles of doxorubicin, bleomycin, vinblastine, and dacarbazine plus extended-field radiotherapy is superior to radiotherapy alone in early favorable Hodgkin's lymphoma: final results of the GHSG HD7 trial. *J Clin Oncol* 2007; 25(23): 3495–3502.
- Hagenbeek A, Eghbali H, Ferme C et al. Three cycles of MOPP/ABV hybrid and involved-field irradiation is more effective than subtotal nodal irradiation in favorable supradiaphragmatic clinical stage I–II Hodgkin's disease. *Blood* 2000; 96: A575.
- Engert A, Illütschow A, Eich HT et al. Reduced treatment intensity in patients with early-stage Hodgkin's lymphoma. *New Engl J Med* 2010; 363(7): 640–652. doi: 10.1056/NEJMoa1000067.
- Hutchings M, Loft A, Hansen M et al., FDG-PET after two cycles of chemotherapy predicts treatment failure and progression-free survival in Hodgkin lymphoma. *Blood* 2006; 107(1): 52–59.
- Radford J, Illidge T, Counsell N et al. Results of a trial of PET directed therapy for early stage Hodgkin's lymphoma. *New Engl J Med* 2015; 372(17): 1598–1607. doi: 10.1056/NEJMoa1408648.
- Raemaekers JM, André MP, Federico M et al. Omitting radiotherapy in early positron emission tomography-negative stage I/II Hodgkin lymphoma is associated with an increased risk of early relapse: clinical results of the preplanned interim analysis of the randomized EORTC/LYSA/FIL H10 trial. *J Clin Oncol* 2014; 32(12): 1188–1194. doi: 10.1200/JCO.2013.51.9298.
- Eghbali H, Raemaekers J, Carde P. The EORTC strategy in the treatment of Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol Suppl* 2005; (66): 135–140.
- Engert A, Schiller P, Josting A et al. Involved-field radiotherapy is equally effective and less toxic compared with extended-field radiotherapy after four cycles of chemotherapy in patients with early-stage unfavorable Hodgkin's lymphoma: results of the HD8 trial of the German Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21(19): 3601–3608.
- Eich HT, Diehl V, Engert A et al. Intensified chemotherapy and dose-reduced involved-field radiotherapy in patients with early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD11 trial. *J Clin Oncol* 2010; 28(27): 4199–4206. doi: 10.1200/JCO.2010.29.8018.
- Noordijk EM, Thomas J, Fermé C et al. First results of the EORTC-GELA H9 randomized trials: the H9-F trial (comparing 3 radiation dose levels) and H9-U trial (comparing 3 chemotherapy schemes) in patients with favorable or unfavorable early stage Hodgkin's lymphoma (HL). *J Clin Oncol* 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings 2005; 23 (part I of II): 165.

13. von Tresckow B, Plütschow A, Engert A et al. Dose-intensification in early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD14 trial. *J Clin Oncol* 2012; 30(9): 907–913. doi: 10.1200/JCO.2011.38.5807.
14. DeVita VT Jr, Simon RM, Hubbard SM et al. Curability of advanced Hodgkin's disease with chemotherapy. Long-term follow-up of MOPP-treated patients at the National Cancer Institute. *Ann Intern Med* 1980; 92(5): 587–595.
15. Santoro A, Bonadonna G, Valagussa P et al. Long-term results of combined chemotherapy-radiotherapy approach in Hodgkin's disease: superiority of ABVD plus radiotherapy versus MOPP plus radiotherapy. *J Clin Oncol* 1987; 5(1): 27–37.
16. Johnson PW, Radford JA, Cullen MH et al. Comparison of ABVD and alternating or hybrid multidrug regimens for the treatment of advanced Hodgkin's lymphoma: results of the United Kingdom Lymphoma Group LY09 Trial (SRCTN97144519). *J Clin Oncol* 2005; 23(36): 9208–9218.
17. Hoskin PJ, Lowry L, Horwich A et al. Randomized comparison of the Stanford V regimen and ABVD in the treatment of advanced Hodgkin's lymphoma: United Kingdom National Cancer Research Institute Lymphoma Group Study ISRCTN 64141244. *J Clin Oncol* 2009; 27(32): 5390–5396. doi: 10.1200/JCO.2009.23.3239.
18. Engert A, Diehl V, Franklin J, et al. Escalated-dose BEACOPP in the treatment of patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: 10 years of follow-up of the GHSG HD9 study. *J Clin Oncol* 2009; 27(27): 4548–4554. doi: 10.1200/JCO.2008.19.8820.
19. Engert A, Haverkamp H, Kobe C et al. Reduced intensity of chemotherapy and PET-guided radiotherapy in patients with advanced stage Hodgkin lymphoma (HD15 trial): a randomised, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2012; 379(9828): 1791–1799. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61940-5.
20. Skoetz N, Trelle S, Rancea M et al. Effect of initial treatment strategy on survival of patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Oncol* 2003; 14(10): 943–952. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70341-3.
21. Linch DC, Winfield D, Goldstone AH et al. Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet* 1993; 341(8852): 1051–1054.
22. Schmitz N, Pfistner B, Diehl V et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002; 359(9323): 2065–2071.
23. Bartlett NL, Niedzwiecki D, Johnson JL et al. Gemcitabine, vinorelbine, and pegylated liposomal doxorubicin (GVD), a salvage regimen in relapsed Hodgkin's lymphoma: CALGB 59804. *Ann Oncol* 2007; 18(6): 1071–1079.
24. Moskowitz AJ, Hamlin PA Jr, Perales MA. Phase II study of bendamustine in relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2013; 31(4): 456–460. doi: 10.1200/JCO.2012.45.3308.
25. Sirohi B, Cunningham D, Powles R et al. Long-term outcome of autologous stem-cell transplantation in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2008; 19(7): 1312–1319. doi: 10.1093/annonc/mdn052.
26. Mocikova H, Pytlík R, Markova J et al. Pre-transplant positron emission tomography in patients with relapsed Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2011; 52(9): 1668–1674. doi: 10.3109/10428194.2011.573889.
27. Josting A, Müller H, Borchmann P et al. Dose intensity of chemotherapy in patients with relapsed Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2010; 28(34): 5074–5080. doi: 10.1200/JCO.2010.30.5771.
28. Morschhauser F, Brice P, Fermé C et al. Risk-adapted salvage treatment with single or tandem autologous stem-cell transplantation for first relapse/refractory Hodgkin's lymphoma: results of the prospective multicenter H96 trial by the GELA/SFGM study group. *J Clin Oncol* 2008; 26(36): 5980–5987. doi: 10.1200/JCO.2007.15.5887.
29. Peniket AJ, Ruiz de Elvira MC, Taghipour G et al. An EBMT registry matched study of allogeneic stem cell transplants for lymphoma: allogeneic transplantation is associated with a lower relapse rate but a higher procedure-related mortality than autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31(8): 667–678.
30. Sureda A, Canals C, Arranz R et al. Allogeneic stem cell transplantation after reduced intensity conditioning in patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. Results of the HDR-ALIO study – a prospective clinical trial by the Grupo Español de Linfomas/Trasplante de Médula Osea (GEL/TAMO) and the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica* 2012; 97(2): 310–317. doi: 10.3324/haematol.2011.045757.
31. Younes A, Gopal AK, Smith SE et al. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30(18): 2183–2189. doi: 10.1200/JCO.2011.38.0410.
32. Moskowitz C, Nadamane A, Masszi T et al. The Aethera Trial: results of a Randomized, double-blind, placebo-controlled phase 3 study of brentuximab vedotin in the treatment of patients at risk of progression following autologous stem cell transplant for Hodgkin lymphoma. *Blood* 2014; 124(21).
33. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 311–319. doi: 10.1056/NEJMoa1411087.



# Záchranná léčba a role transplantací u lymfomů

## Salvage Treatment and the Role of Transplantation in Lymphomas

Pohlreich D., Vacková B., Pytlík R., Trnková M., Trněný M.

I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

Přestože v terapii lymfomů dosahujeme v posledních letech pokroku, stále zůstává nezanebatelné procento nemocných s refrakterním nebo relabujícím onemocněním. Záchranná intenzivní chemoterapie s podporou autologní transplantace je léčebný standard u řady těchto pacientů. V intenzivním výzkumu jsou také alogenní transplantace krvetvorných buněk, především po přípravě redukované intenzity. Předkládaný přehledný článek shrnuje současné poznatky a doporučení k záchranné léčbě u pacientů s nejčastěji se vyskytujícími lymfomy.

### Klíčová slova

refrakterní/relabující lymfom – Hodgkinův lymfom – difuzní velkobuněčný B lymfom – folikulární lymfom – T buněčný non-Hodgkinův lymfom – autologní transplantace krvetvorných buněk – alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk

### Summary

Despite achieving promising treatment results in patients with lymphoma, there is still a significant proportion of patients who relapse or have refractory disease. Salvage therapy followed by high dose treatment with autologous stem-cell transplantation is the standard of care in many of them. The role allogeneic stem-cell transplantation, especially after reduced intensity conditioning, is under extensive investigation. This review article presents current knowledge and recommendation in the salvage treatment of relapsed/refractory lymphomas.

### Key words

refractory/relapsed lymphoma – Hodgkin's lymphoma – diffuse large B-cell lymphoma – follicular lymphoma – T-cell non-Hodgkin lymphoma – autologous stem cell transplantation – allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Tato práce byla podpořena výzkumnými projekty NT12193-5/2011, NT11299-6/2010 a NT13072-4/2012.

This work was supported by research projects NT12193-5/2011, NT11299-6/2010 and NT13072-4/2012.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



**MUDr. David Pohlreich**  
I. interní klinika – klinika hematologie  
1. LF UK a VFN v Praze  
U Nemocnice 2  
128 08 Praha 2  
e-mail: david.pohlreich@vfn.cz

Obdrženo/Submitted: 27. 9. 2015

Přijato/Accepted: 29. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153S95>

### Hodgkinův lymfom

Většina pacientů s Hodgkinovým lymfomem (HL) je v současné době vyléčitelná chemoterapií +/- radioterapií. Až 10 % pacientů s časným stadiem a 30 % s pokročilým stadiem onemocnění nedosáhne remise nebo relabuje po ukončení chemoterapie [1].

Standardem léčby relabujících a refrakterních HL je záchranná chemoterapie následovaná v případě chemosenzitivity vysokodávkovanou terapií (high-dose therapy – HDT) s autologní transplantací krevetvorných buněk (ASCT). V minulosti byly provedeny dvě randomizované studie, které prokazují přesvědčivý benefit transplantačního přístupu ve srovnání s konvenční záchrannou chemoterapií [2,3].

Mezi prognosticky nepříznivé faktory predikující špatnou léčebnou odpověď patří: primárně refrakterní onemocnění (progrese na léčbě nebo relaps < 3 měsíce po ukončení terapie), časný relaps (< 12 měsíců po ukončení léčby), pokročilé klinické stadium III–IV, snížený performance stav (PS), extranodální postižení, věk > 50 a další. Očekávané celkové přežití (overall survival – OS) v pěti letech u primárně refrakterních onemocnění je 26 %, u časného relapsu 46 % a u pozdního relapsu 71 % [4].

Cílem záchranné chemoterapie je umožnit pacientovi dospět k ASCT. Ideální salvage režim splňuje co nejvyšší procento léčebných odpovědí s přijatelnou hematologickou i nehematologickou toxicitou a zároveň významně nesnižuje potenciál mobilizovat periferní kmenové buňky (peripheral blood stem cells – PBSC) před ASCT. Byla studována a publikována celá řada salvage režimů s celkovou léčebnou odpovědí mezi 60 a 85 % bez přesvědčivě prokázané superiority jediného z použitých režimů: dexaBEAM, ICE, ESAP, DHAP, GDP, IVE. S úvahou o dosažení co největšího protinádorového účinku Josling et al publikovali randomizovanou studii srovnávající standardní salvage (2–4krát DHAP/BEAM) s intenzifikovaným režimem (2krát DHAP, cyklofosamid + sběr PBSC, MTX + etopozid/BEAM). V této studii nebyl prokázán benefit v dosažení OS při použití intenzifikované léčby [5].

I s přihlédnutím již ke zmíněným prognostickým faktorům, PET/CT vyšetření před vstupem do ASCT je další významný prediktivní faktor výsledku léčby. Jabbour et al prokázali tříleté OS 58 vs. 87 % u pacientů vstupujících do transplantace s PET pozitivním nebo PET negativním nálezem po ukončení

salvage léčby [7]. V další studii demonstrierují Moskowitz et al podobný význam pretransplantačního PET vyšetření, nemocní s PET pozitivním nálezem měli pravděpodobnost pětiletého OS 31 %, zatímco PET negativní 75 % [8].

### Vysokodávkovaná terapie s ASCT

Režimů vysokodávkované terapie existuje celá řada. Neproběhla žádná randomizovaná studie, která by je srovnávala mezi sebou. Nejčastěji používaný režim BEAM (karmustin = BCNU, etopozid, Ara-C, melfalan), který považujeme v současné době za zlatý standard s vysokou protinádorovou aktivitou a únosnou toxicitou [2,3]. Dalším často používaným režimem byl v minulosti CVB (cyklofosamid, etopozid, BCNU) [9]. Nově byl testován i přípravný režim s bendamustinem – BeEAM (bendamustin, etopozid, Ara-C, melfalan) [10].

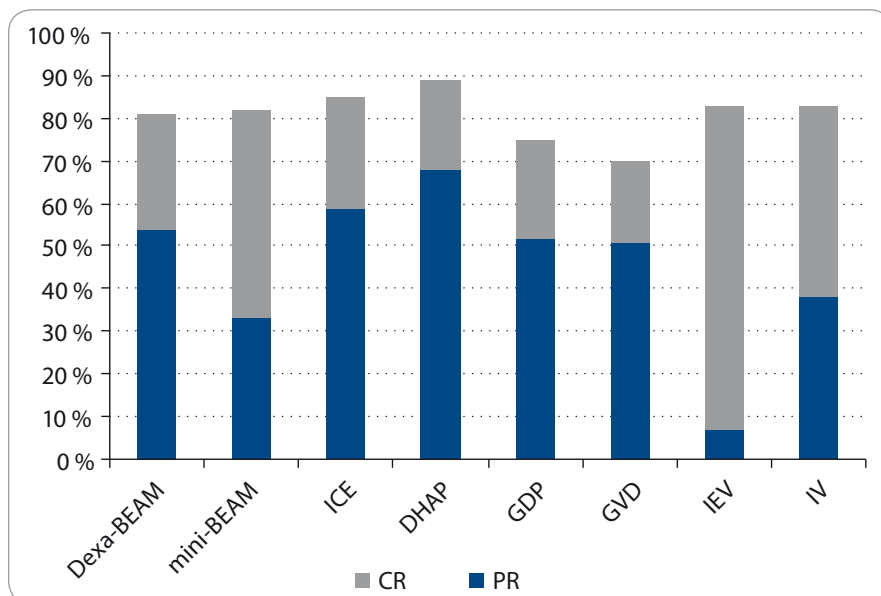
### Tandemové ASCT u Hodgkinova lymfomu

U pacientů s kritickými rizikovými faktory (např. primárně refrakterní onemocnění, časný relaps) je možné dosáhnout další intenzifikace HDT režimu provedením tandemové ASCT. Multicentrická studie GELA s tandemovou ASCT publikovaná v roce 2007 demonstrovala pětileté OS 54 % s akceptovatelnou peritransplantační mortalitou 6 % [11]. Podobné výsledky publikovali i Morschhauser et al u prognosticky nepříznivých HL s pětiletým OS 57 % [12].

Tandemová transplantace použitá v případě přetrvávající PET positivity po záchranné léčbě vedla k signifikantně lepším výsledkům ve srovnání s jednoduchou transplantací s pětiletou pravděpodobností doby do progrese (progression-free survival – PFS) 43 vs. 0 % [13].

V našem centru bylo v letech 1996–2004 tandemově transplantováno 22 pacientů s primárně refrakterním (32 %) nebo s časným relapsem onemocnění. Po salvage chemoterapii vstupovalo do ASCT 32 % chemorefrakterních pacientů. V první fázi tandemové ASCT se HDT skládala z melfalanu a mitoxantronu. S odstupem 30–60 dní byla realizována II. fáze po přípravě BEAM.

Nebylo zaznamenáno žádné peritransplantační úmrtí. Den +100 po tan-



Graf 1. Ukazuje přehledně efekt jednotlivých druhů záchranné léčby [6].

Dexa-BEAM – dexametazon, BCNU, etopozid, Ara-C, mitoxantron, DHAP – dexametazon, Ara-C – cisplatina, GDP – gemcitabin, dexametazon, cisplatina, GVD – gemcitabin, vinorelbine, doxil (liposomalní doxorubicin), ICE – ifosfamid, carboplatina, etopozid, IEV – ifosfamid, etopozid, vinorelbin, ifosfamide

Tab. 1. Výběr studií záchranné léčby DLBCL.

Studie	No.	Léčba	PFS/EFS (roky)	OS (roky)
Kewalramani et al 2004 [28]	36	R+ ICE	54 % (2)	67 % (2)
	147	R- ICE	43 % (2)	56 % (2)
Vellenga et al 2008, (HOVON) [29]	113	R+ DHAP/VIM/DHAP	52 % (2)	59 % (2)
	112	R- DHAP/VIM/DHAP	31 % (2)	52 % (2)
Martin et al 2008, (GELATMO) [27]	163	R+ ESHAP	38 % (5)	50 % (5)
Gisselbrecht et al 2010 (CORAL) [25]	194	R+ ICE	31 % (3)	47 % (3)
	202	R+ DHAP	42 % (3)	51 % (3)
Crump et al 2014 [26]	310	R+ GDP	26 % (4)	39 % (4)
	309	R+ DHAP	26 % (4)	39 % (4)

demové ASCT byla celková léčebná odpověď 81 % (5krát kompletní remise a 13krát parciální remise), chemorefrakterní byli čtyři pacienti. V 10letém sledování je OS nemocných 55 % a PFS 50% [14]. Pravděpodobnost OS u nemocných s rizikovými faktory transplantovanými tandemově a nemocnými většinou bez rizikových faktorů transplantovaných jednoduchou ASCT ukazuje graf 2.

#### Alogenní transplantace u Hodgkinova lymfomu

Přes předpokládaný graft-versus-lymphoma (GVL) efekt i u HL byly první zkušenosti nepovzbudivé. V roce 1996 byly publikovány dvě analýzy z mezinárodního registru (IBMTR) a evropského registru EBMT ukazující pravděpodobnost tříletého OS jen 21, resp. čtyřletého 25 % [15,16]. Se zavedením redukované přípravy (RIC) a zlepšení podpůrné léčby se zlepšoval osud nemocných.

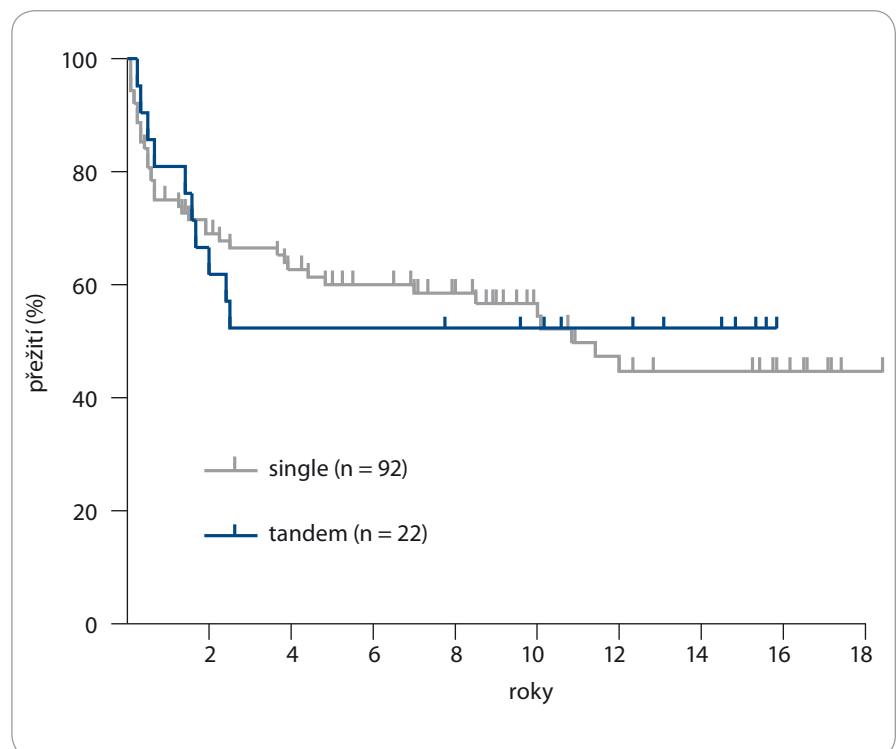
Jedním z důležitých příspěvků naznačujících směřování alogenní transplantace (alloSCT) u HL byla analýza LWP EBMT (Lymphoma working party of European Bone and Marrow Transplantation) srovnávající alloSCT po myeloablativním režimu s režimem s redukovanou intenzitou (RIC). RIC podstoupilo 97 pacientů, konvenční režim 93 pacientů. Úmrtí z jiné příčiny než z důvodu HL bylo signifikantně nižší u RIC alloSCT a obdobně lepší ve srovnání s myeloablativní transplantací byla i pravděpodobnost OS a PFS/úmrtí (PFS). Nemocní s chronickou reakcí štěpu proti hostiteli (graft versus host disease – GVHD) měli vý-

znamně nižší procento relapsů, což naznačuje přítomnost GVL efektu [17].

Výsledky velkého počtu pacientů (n = 285) po RIC-alloSCT byly samostatně analyzovány ve stejném roce. Pacienti v této studii byli významně předlčení, v průměru předcházely alloSCT čtyři linie chemoterapie a u 77 % nemocných selhala předcházející jedna až dvě ASCT. Při vstupu do transplantace bylo v kompletní remisi 17 % pacientů, 43 % mělo chemosenzitivní a 40 % mělo chemorezistentní onemocnění. Úmrtí spojená s transplantací (transplant-

-related mortality – TRM) v jednom roce a ve třech letech byla pozorována ve 20 a 22 %. PFS/úmrtí (PFS) ve dvou letech byla 29 %. Opět bylo pozorováno, že rozvoj chronické GVHD signifikantně snižovala procento relapsu, nicméně za cenu vyšší TRM [18].

Skupina ze Seattlu uvádí výsledky transplantací u 62 pacientů od příbuzných a nepříbuzných dárců a 28 pacientů po HLA-haploidentické příbuzenské transplantaci. Přípravný režim byl proveden kombinací celotělového ozařování (TBI, 2 Gy) a fludarabinu



Graf 2. Celkové přežití (OS) po tandemové a jednoduché ASCT u HL [14].

Tab. 2. Současná transplantační doporučení u lymfomů (upraveno dle [32]).

Diagnóza	Stav onemocnění	Příbuzenecká alloSCT			ASCT
		Příbuzenecká alloSCT	Nepříbuzenecká HLA shoda	Nepříbuzenecká Mismatch >1 Ag	
DLBCL	CR1 (střední, vysoké IPI při dg.)	GNR/III	GNR/III	GNR/III	CO/I
	chemosenzitivní relaps, CR ≥ 2	CO/II	CO/II	D/III	S/I
	chemosenzitivní relaps po ASCT	S/II	S/II	CO/III	GNR/III
	refrakterní onemocnění	CO/II	CO/II	D/III	CO/II
MCL	CR1	D/III	D/III	GNR/III	S/I
	CR/PR > 1, před ASCT – ano	CO/III	CO/III	D/III	S/II
	CR/PR > 1, před ASCT – ne	S/II	S/II	CO/III	GNR/II
	refrakterní onemocnění	CO/II	CO/II	D/III	GNR/II
FL	CR1	GNR/III	GNR/III	GNR/III	D/II
	chemosenzitivní relaps, CR ≥ 2	CO/III	CO/III	GNR/III	S/II
	chemosenzitivní relaps po ASCT	S/II	S/II	D/III	D/III
	refrakterní onemocnění	CO/II	CO/II	CO/II	GNR/III
TCL	CR1	CO/II	CO/II	GNR/III	CO/II
	chemosenzitivní relaps, CR ≥ 2	S/II	S/II	CO/III	CO/II
	refrakterní onemocnění	CO/II	CO/II	CO/III	GNR/II
HL	CR1	GNR/III	GNR/III	GNR/III	GNR/I
	chemosenzitivní relaps, ne-před ASCT	D/III	D/III	GNR/III	S/I
	chemosenzitivní relaps před ASCT	S/II	S/II	CO/III	CO/III
	refrakterní onemocnění	D/II	D/II	D/III	CO/III

DLBCL – difuzní velkobuněčný lymfom, MCL – lymfom z pláštových buněk, FL – folikulární lymfom, TCL – T buněčný lymfom, HL – Hodgkinův lymfom, S – léčebný standard, obecně doporučovaná indikace, CO – clinical option (může být provedena po zvážení riziko vs. benefit), D – developmental (v hodnocení a ve vývoji, jsou nutné další studie), GNR – obecně nedoporučeno

váha důkazu: I – výsledky alespoň jedné randomizované studie, II – výsledky z alespoň jedné kvalitní klinické studie bez randomizace, case controlled studie, III – deskriptivní studie, expert opinion

(90 mg/m<sup>2</sup>). Pacienti byli těžce předléčení (průměr pět linií léčby) a u 92 % selhala předcházející ASCT. Stav onemocnění při vstupu do RIC alloSCT byl 22 pacientů v kompletní remisi, 30 v partiální remisi a 38 refrakterních/relabovaných. Výsledky studie demonstrují signifikantně nižší riziko TRM a relapsu u pacientů podstupujících haploidentickou transplantaci [19].

Vývoj počtu alloSCT v Evropě podle použitého režimu (myeloablativní nebo s redukcí intenzitou) a počtu haploidentických transplantací ukazuje graf 3.

Peggs et al publikovali 76 konsekutivních pacientů s relabovaným/refrakterním HL použitím *in vivo* T buněčné deplece (alemtuzumab) u RIC alloSCT

a následně eskalované dávky dárcovských lymfocytů (donor lymphocyte infusion – DLI). U 24 pacientů byly DLI použity pro relaps, u 22 pacientů pro smíšený chimerismus. Odpovědělo 79 % pacientů léčených pomocí DLI pro relaps (14krát kompletní remise, 5krát partiální remise) a 86 % se smíšeným chimerismem dosáhlo plného dárcovského chimerismu. OS ve čtyřech letech po transplantaci bylo 64 a 59 % u nemocných léčených DLI pro potransplantační relaps. Tato data demonstrují vysoký potenciál imunoterapie pomocí alogenních DLI s efektem na snížení rizika relapsu a indukci trvalého protinádorového účinku [20]. Doporučení k alloSCT dle EBMT jsou uvedena v tab. 2.

### Difuzní velkobuněčný B lymfom

Difuzní velkobuněčný lymfom (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL) je nejčastější typ non-Hodgkinova lymfomu (NHL), v ČR tvoří zhruba 40 % nových případů ze všech NHL. Incidence DLBCL vzrůstá s věkem, celková incidence je 6,9 nových případů/100 000, zatímco více než 30/100 000 u věku nad 65 let. Dlouhodobě vyléčitelných je 30–50 % nemocných, většina relapsů onemocnění se dostavuje časně v 1.–2. roce po ukončení léčby.

Řada randomizovaných studií prokázala jasné zlepšení léčebných výsledků, zvýšení pravděpodobnosti vyléčení použitím cílené imunochemoterapie. Ta spočívá v přidání rituximabu ke stan-

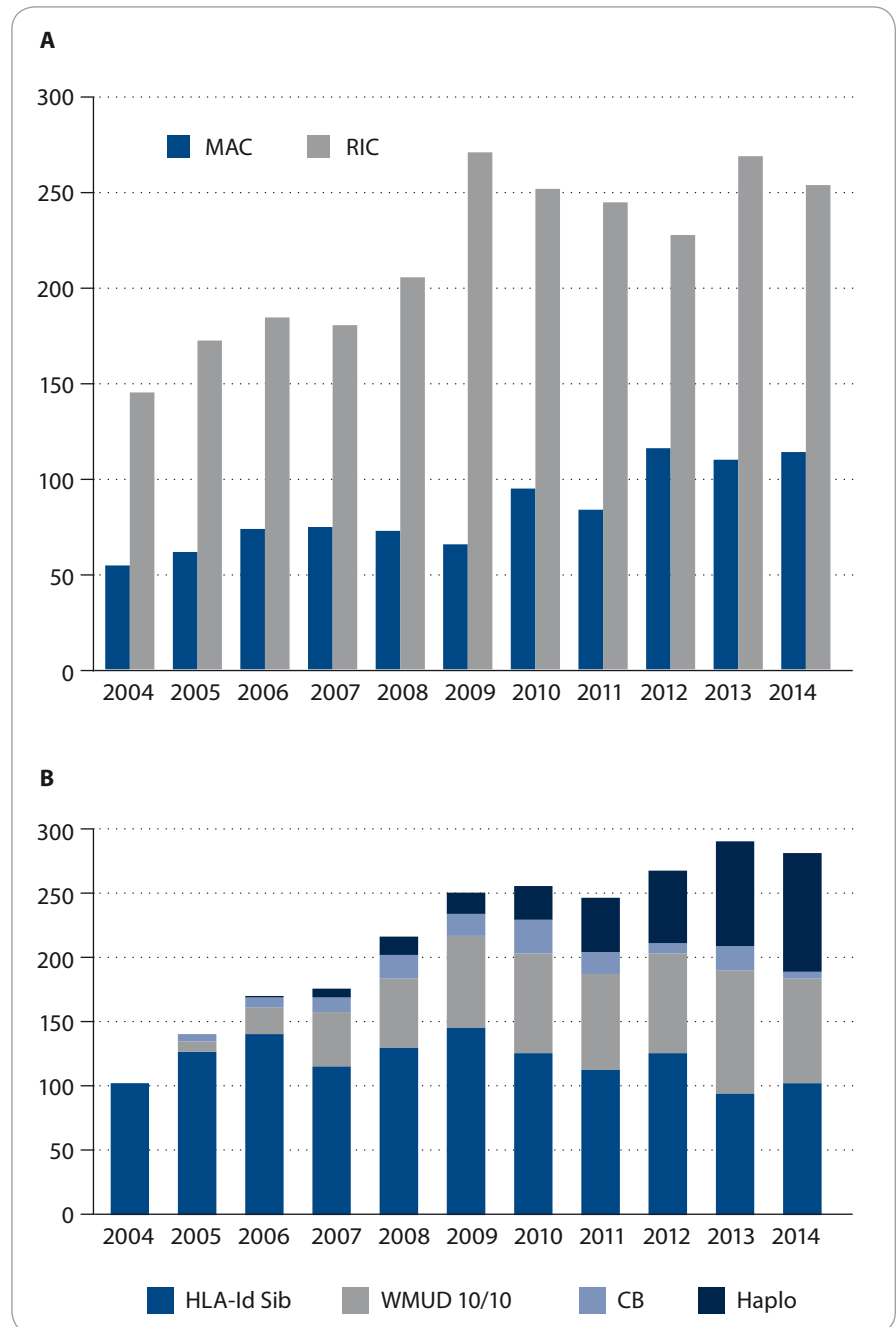


dardní chemoterapii CHOP s dosažením kompletních remisí v 75–88 % s pětiletým OS 50–80 % [21,22].

Pacienti s primárně refrakterním DLBCL, časně relabujícím nebo dosahujícím pouze parciální odpovědi k iniciální chemoterapii v kombinaci s rituximabem, mívají horší odpověď na záchrannou léčbu a celkově horší prognózu.

PARMA studie publikovaná v roce 1995 srovnávala salvage samotnou chemoterapii DHAP (cisplatina, cytarabin, dexametazon) nebo v kombinaci s ASCT. OS a PFS bylo významně zlepšeno v rámci s ASCT [23].

Na základě těchto výsledků je salvage (záchranná) chemoterapie následovaná vysokodávkovanou chemoterapií s ASCT v současnosti standard léčby. Cílem salvage chemoterapie je snaha dosáhnout maximální odpovědi před ASCT. Volba typu záchranného režimu zvažuje kombinace s co nejvyšším procentem léčebných odpovědí a zároveň s co nejnižší hematologickou a nehematologickou toxicitou a s cílem nelimitovat sběr kmenových buněk. Tyto principy je nutno uvážit ještě v kontextu celkového stavu pacienta a jeho komorbidit. Jsou dvě základní strategie salvage režimů – platinové a neplatinové záchranné režimy. Platinové režimy mají vyšší procento léčebných odpovědí, ale za cenu vyšší toxicity. Tyto režimy jsou proto většinou preferovány u více „fit“ pacientů, kteří jsou kandidáty vysokodávkované chemoterapie s ASCT. Neplatinové salvage režimy jsou častěji indikovány u nemocných neúnosných k ASCT z důvodu věku nebo komorbidit a dále u pacientů s nízkou dřevnou rezervou, např. po více liniích chemoterapie či relabujících po ASCT. V současné době stále není dosaženo shody, který záchranný režim je nejvhodnější. Protinádorový efekt cisplatiny, karboplatiny nebo oxaliplatiny u B-NHL byl prokázán v mnoha studiích. Platina jako součást salvage režimů (DHAP, EHSAP, GDP, ICE, GIFOX) u pacientů s refrakterním/relabovaným DLBCL dosahuje léčebné odpovědi u 49–82 % a kompletních remisí v 19–61 %. Všechny tyto režimy jsou použitelné k mobilizaci periferních kmenových buněk krvetvorby. Jsou zatíženy významnou hematologickou toxicitou



**Graf 3. Vývoj počtu allo-SCT (A) dle použitého přípravného režimu (myeloablativní – MAC a s redukovanou intenzitou – RIC) a (B) dle zdroje buněk.**

a nezanedbatelnou toxicitou nehematologickou. Hematologická toxicita platinových režimů spočívá v neutropenii grade III–IV v 50–70 %, v trombocytopenii grade III–IV ve 40–90 %, hospitalizace pro febrilní neutropenii se vyskytují v 10–20 % případů. Nehematologická toxicita limitující platinové režimy je především renální (platina), kardiotoxicita (ifosfamid), neurotoxicita (ifosfamid) a mozečková toxicita (Ara-C).

Salvage režimů u DLBCL bez použití platiny je také celá řada (MINE, IVE, MiniBEAM ...) se srovnatelným protinádorovým efektem jako u platinových režimů. Většina těchto „non-platin based“ režimů se dnes již nepoužívá s ohledem na kumulaci dávky antracyklinů nebo „poškození“ kmenových buněk alkylačními látkami. V současnosti jsou preferovány pouze neplatinové režimy na bázi gemcitabinu, které jsou obecně lépe to-

lerovány a mají celkově významně nižší toxicitu.

Prospektivní randomizovaná studie CORAL srovnávala dva záchranné režimy: již zmíněný R-DHAP a R-ICE (rituximab, ifosfamid, etopozid, karboplatina). Randomizováno bylo 396 pacientů: 2/3 s relapsem déle než 12 měsíců po ukončení léčby a 1/3 pacientů rezistentních nebo s časným relapsem onemocnění. V hodnocení léčebné odpovědi (ORR 62–64 %) a schopnosti mobilizovat kmenové buňky nebyl zaznamenán rozdíl mezi oběma použitými režimy. V předem neplánované analýze bylo nicméně režimem DHAP ve srovnání s ICE dosaženo lepší doby do progresu (PFS) ve skupině nemocných s GCB (germinal center B-cell like) podtypem DLBCL [24].

Pouze polovina pacientů v této studii podstoupila ASCT, ostatní k ní nedospěli většinou z důvodu rezistence nebo progresu lymfomu na terapii. OS ve třech letech se nelišilo v obou ramenech podle režimu (47 vs. 51 %) a relaps/progrese onemocnění byly ovlivněny především: předchozím použitím rituximabu (EFS 21 vs. 47 %), časným relapsem (EFS 20 vs. 45 %) a sekundárním aalPI (EFS 18 vs. 40 % u aalPI 0–1) [25].

Nemocní byli potransplantačně randomizováni do dvou ramen: udržovací rituximab vs. sledování. Zhodnocení efektu po čtyřech letech nezaznamenalo rozdíl v procentu relapsů lymfomu v obou ramenech. Celkově byly ve třech letech po transplantaci zaznamenány relaps/progrese u 39 % nemocných.

Ve druhé randomizované studii byl srovnáván režim DHAP a GDP (gemcitabin, dexametazon a cisplatin). Ani zde nebyl nalezen signifikantní rozdíl v účinnosti, ale režim GDP byl provázen signifikantně menší toxicitou [26].

Sami na našem pracovišti používáme režim ESHAP (etopozid, cisplatin, Ara-C a metylprednisolon), který má menší renální toxicitu ve srovnání s režimem DHAP.

Studie skupiny GEL/TAMO (Grupo Espanol de Linfomas/Transplante Autologo de Medula Osea) hodnotila retrospektivní data u 163 konsekutivních pacientů použitím salvage režimu ESHAP (etopozid, metylprednisolon, vysokodávkované Ara-C, cisplatin) s rela-

bovaným/refrakterním DLBCL. V 1. linii chemoterapií s rituximabem bylo léčeno 94 a bez rituximabu 69 pacientů. Léčebného efektu (ORR) a kompletní remise bylo dosaženo v 67 a 37 % u pacientů předléčených rituximabem, zatímco u nemocných bez rituximabu v indukci to bylo v 81 a 56 %. V multivariantní analýze bylo jako negativní prognostický faktor prokázáno předchozí použití rituximabu před salvage chemoterapií [27].

Ve studii HOVON 2008 (Dutch-Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group) byly publikovány výsledky studie u 225 pacientů po záchranné chemoterapii DHAP/VIP/DHAP. Ve dvou ramenech bylo srovnáváno přidání rituximabu a následné ASCT. Kompletních remisí v rameni s rituximabem bylo 75 % ve srovnání s 54 % bez rituximabu. V OS ve dvou letech však nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl: 59 vs. 52 % [29].

#### AlloSCT u DLBCL

Se zavedením alloSCT po redukováném přípravném režimu (RIC alloSCT) přibývá indikací i u DLBCL. Očekávaného GVL efektu není dosaženo za cenu neakceptovatelné peritransplantační mortality u myeloablativních transplantací a transplantování mohou být i starší a komorbidní pacienti.

Řada výzkumných týmů v současné době prezentuje slibná data RIC alloSCT u DLBCL relabujících po ASCT [30,31].

Současná transplantační doporučení u lymfomů jsou uvedena v tab. 2 (upraveno dle [32]).

#### Folikulární lymfom

Folikulární lymfomy (FL) představují asi třetinu všech lymfomů s mediánem věku 59 let při diagnóze. Pro FL je typický indolentní klinický průběh s dlouhým mediánem OS více než 10 let. Mezi hlavní prognostické faktory patří stratifikace rizika onemocnění dle FLIPI (International Follicular Lymphoma Prognostic Index). Přestože je medián OS pacientů s FL dlouhý, úplného vyléčení nebývá zpravidla dosaženo. Z tohoto důvodu řada studií zkoumala efekt použití vysokodávkované chemoterapie (HDT) s ASCT v 1. linii léčby. I když bylo dosaženo prodloužení PFS FL, ani jedna ze studií neprokázala

zlepšení OS nemocných. Tato data byla potvrzena v metaanalýze autorů Al Khabori et al [33].

Další nezanedbatelnou proměnou je zvýšená incidence sekundárních malignit u mnoho let trvajících sledování po použití intenzivnějších léčebných protokolů v primoterapii, i když se zdá, že vyšší incidence byla způsobena zejména indukčními režimy založenými na fludarabinu.

V roce 2003 byla publikována randomizovaná multicentrická studie u pacientů s relapsem FL srovnávající HDT/ASCT s konvenční chemoterapií. Hodnoceno bylo 229 pacientů a bylo dosaženo signifikantně lepších výsledků v rameni s ASCT: OS ve čtyřech letech 71 vs. 46 % a PFS ve dvou letech 56 vs. 28 % [34].

Francouzská skupina hodnotila retrospektivní data u 254 relabovaných FL léčených konvenční chemoterapií s rituximabem nebo bez něho a vysokodávkovanou chemoterapií/ASCT +/- rituximab. Přidání rituximabu k chemoterapii přineslo lepší výsledky než HDT bez rituximabu. Nejlepších výsledků bylo dosaženo provedením HDT a ASCT v kombinaci s rituximabem. Touto kombinací – salvage HDT s rituximabem a ASCT bylo dosaženo OS více než 90 % pětiletém sledování [35].

Řada studií fáze II prokazuje v dlouhodobém sledování dosažení platů křivky přežití nemocných po ASCT, naznačující dosažení vyléčení pacientů. Kornacker et al popisují dlouhodobé sledování 241 pacientů po ASCT pro relaps FL. V 10 letech byla pravděpodobnost relapsu 47 %, s mediánem relapsu 20 (2–128) měsíců po ASCT. Šest let po ASCT byly zaznamenány pouze tři relapsy. Dynamika relapsů FL po ASCT je dvoufázová: relapsy v prvním roce po ASCT mají agresivnější průběh a celkově horší přežití, do 6. roku po ASCT pacienti relabují „lineárně“ a po 6. roce jsou již relapsy FL zcela raritní. Relaps FL více než jeden rok po ASCT jsou relativně neagresivní s mediánem OS více než 8 let [36].

V roce 2013 byla publikována dvojité randomizovaná studie u nemocných s FL v relapsu. První randomizace zkoumala efekt přidání rituximabu k záchranné terapii (*in vivo* purging), druhá randomizace

Tab. 3. Výběr studií ASCT u PTCL.

Studie	No.	Indukční chemoterapie	Stav nemoci v době ASCT	% pacientů dospělo k ASCT	Odpověď	PFS/EFS (roky)	OS (roky)
Corradini et al 2006 [41]	62		CR1 56 % PR1 24 %	71	CR 89 % PR 8 %	30 % (12)	34 % (12)
Rodrigues et al 2007 [42]	26	MegaCHOP/ifosfamid + etopozid	CR 46 % PR 27 %	73	CR 89 % PR 5 %	53 % (3)	73 % (3)
Reimer et al 2009 [43]	83	CHOP/DexaBEAM	CR1 47 % PR 37 %	66	CR 58 % PR 8 %	35 % (3)	48 % (3)
D'Amore et al 2012 [44]	166	CHOEP-14	PR + CR 82 %	72	CR 78 %	44 % (5)	51 % (5)

PR – parciální remise, CR – kompletní remise

efekt udržovací léčby po ASCT. S dlouhým mediánem sledování (8,3 roku) se ukázalo, že zlepšení PFS v 10 letech nebylo ve skupině nemocných s purgingem statisticky významné. Naproti tomu udržovací terapie rituximabem po dobu dvou let po ASCT signifikantně zlepšila PFS v 10 letech z 37 na 54 %. OS ovlivněno nebylo. Limitujícím faktorem této studie, ostatně jako řady dalších, je, že rituximab nebyl použit v 1. linii [37].

#### AlloSCT u folikulárního lymfomu

Dlouhý medián OS nemocných s FL při standardní léčbě a relativně vysoká peritransplantační morbidita a mortalita při alloSCT limitují indikaci k alloSCT. Zavedením RIC alloSCT a prokazatelným GVL efektem u FL se otvírají indikace hlavně pro pacienty relabující po předchozí ASCT. AlloSCT u FL je považována za léčebnou modalitu s potenciálem plného vyléčení. Současné doporučení jsou uvedena v tab. 2.

#### T buněčné non-Hodgkinovy lymfomy

T buněčné non-Hodgkinovy lymfomy (T-NHL) jsou vzácnější a heterogenní skupina agresivních onemocnění, která jsou spojena s velmi špatnou prognózou a představují asi 10 % ze všech lymfoproliferativních nádorů. Mezi nejčastější histopatologické typy patří nodální periferní T buněčný lymfom blíže neklasifikovaný (PTCL), anaplastický velkobuněčný lymfom (ALCL) a angioimunoblastický T buněčný lymfom (AITL). Většina pacientů bývá diagnostikována ve vyš-

ším věku a s pokročilým onemocněním s mediánem 60 let při diagnóze s výjimkou ALK pozitivního ALCL s mediánem 33 let. T buněčný fenotyp je sám o sobě špatným prognostickým faktorem ve srovnání s B buněčnými lymfomy a další aplikované skórovací systémy (IPI, PIT, ALK+/- u ALCL) nám dále stratifikují rizikovitost onemocnění.

Historicky jsou T lymfomy léčeny, obdobně jako B lymfomy, režimy obsahujícími antracykliny. V mezinárodní retrospektivní analýze 1 300 pacientů [38] však nebyl prokázán benefit antracyklinového režimu ve srovnání s režimem bez použití antracyklinů. Primárně refrakterních bylo 30 % pacientů s dlouhodobým přežitím pouze 10–30 % i při eskalaci nebo intenzifikaci léčby. V roce 2010 publikovaná studie přidává do standardního režimu CHOP etopozid a režim CHOEP (cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin, etopozid, prednizon) naznačuje zlepšení OS hlavně u mladších nemocných s tolerovatelnou toxicitou [39]. Obdobné výsledky demonstrovala i česká lymfomová skupina. Bylo dosaženo statisticky významného rozdílu při srovnání doby do progresu (PFS) ve prospěch režimu CHOEP. Při srovnání nemocných transplantovaných v 1. linii nebyl nalezen rozdíl se skupinou netransplantovanou [40].

Neuspokojivé výsledky standardní léčby T-NHL podněcují použití HDT s ASCT nebo alloSCT. V tuto chvíli nemáme k dispozici randomizované kontrolované studie zabývající se postavením ASCT u T-NHL, existují však již studie srovnávající alloSCT a ASCT.

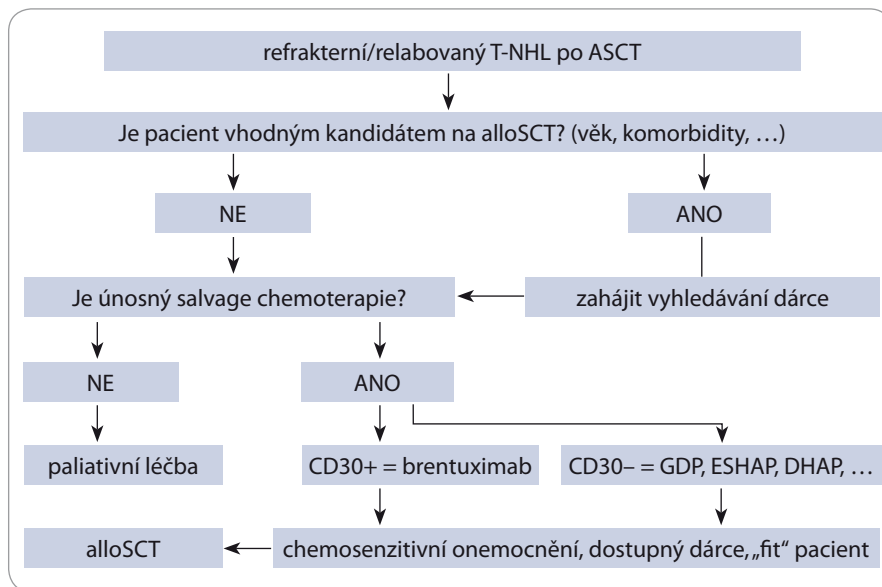
#### ASCT v 1. linii

Bylo publikováno několik prospektivních studií fáze II se slibnými výsledky použitím ASCT jako konsolidace 1. linie léčby u nemocných dosahujících alespoň parciální remise po indukční chemoterapii. V jednotlivých studiích byla použita řada indukčních protokolů, následovaných v případě chemosenzitivity pacienta ASCT většinou s přípravným režimem BEAM. Tabulka 3 uvádí výběr studií se základní deskripcí, efektem indukční terapie, procento nemocných, kteří dospěli k ASCT a stav nemoci po ASCT, a proměnnými OS a PFS.

Největším problémem zůstává přibližně 30–40 % pacientů, kteří jsou primárně rezistentní nebo časně progredující a nejsou indikováni k transplantaci. Naopak pacienti, kteří jsou chemosenzitivní a únosní podstoupit ASCT, ve srovnání s konvenční chemoterapií z tohoto přístupu profitují. Strategickou výzvou tedy zůstává snížit onu třetinu nemocných, kteří k transplantaci nedospějí.

#### Role ASCT u chemosenzitivních relabovaných T-NHL

Ve dvou největších retrospektivních studiích skupina GEL/TAMO hodnotila efekt ASCT nejen v 1. parciální remisi/kompletní remisi, ale také efekt ASCT po salvage chemoterapii provedené ve 2. parciální remisi/kompletní remisi. V roce 2003 byly publikovány výsledky 115 pacientů, z nichž 32 % bylo v 1. kompletní remisi (CR1) a 24 % bylo ve 2. (CR2) a vyšší kompletní remisi. Pětileté OS v celé kohortě nemocných



**Schéma 1. Rozhodovací algoritmus léčby refrakterního nebo relabovaného T-NHL po ASCT.**

bylo 56 %. Pokud rozdělíme skupinu dle stavu onemocnění v době transplantace, v pěti letech bylo dosaženo přežití u CR1 80 %, CR2/CR3 50 % a parciální remisi (PR) v 46 % [45].

V další studii GELTAMO skupina hodnotila kohortu 123 pacientů, kteří v letech 1990–2004 podstoupili ASCT v rámci léčby po selhání 1. linie. OS a PFS v pěti letech bylo 45 a 34 %. Nemocní v 2. a vyšší kompletní remisi měli lepší léčebné výsledky než pacienti v 2. a další parciální remisi nebo pacienti s chemo-refrakterním onemocněním (při pětiletém sledování: CR 2/3 = OS 35 %, PFS 57 %, PR2/3 = OS 23 %, PFS 33 %, refrakterní = OS 10 %) [46]. Chen et al publikovali zkušenosti Stanfordské univerzity u 53 pacientů s 60měsíčním sledováním, podstupujících ASCT u chemosenzitivních T-NHL v letech 1989–2006. U nemocných v 1. kompletní remisi byl OS 76 % ve srovnání s 48 % pacientů ve 2. kompletní remisi a více [47].

Velká část publikovaných dat je zatížena „chybou“ velké heterogenosti T-NHL a v současnosti je snaha hodnotit léčebné výsledky u jednotlivých subtypů T-NHL. Retrospektivní analýza registru Evropské transplantáční společnosti (EBMT) hodnotila výsledky ASCT u AITL lymfomů. Hodnoceno bylo 146 pacientů se čtyřletým sledováním s dosažením OS 59 a PFS 42 %. Lepších výsledků bylo

dosaženo u pacientů vstupujících do ASCT v CR ve srovnání s chemorezistentním onemocněním: PFS (4 roky) 56 vs. 23 % [48].

#### Význam alloSCT v léčbě periferních T lymfomů

Léčba relabovaných a refrakterních T-NHL spočívá v podání chemoterapie a/nebo imunoterapie, která v principu znamená pouze dosažení kontroly onemocnění a vedení nemocného k alloSCT. Výsledky vlastní alloSCT u PTL se ukázaly jako slibné, s přítomným GVL efektem, a to zejména ve srovnání s některými dalšími podtypy NHL [49], což potvrzují i česká data [50]. Bohužel pouze menšina nemocných je únosná k alloSCT z důvodů rezistence onemocnění, nedostupnosti vhodného dárce, nízkého performace stavu, orgánových postižení a dalších. Proto se testoval přístup se zařazením alloSCT již do 1. linie. V italské studii dosahovali mladší nemocní, kteří byli transplantováni na podkladě genetické randomizace alogenně nebo autologně, lepších výsledků než starší nemocní léčení jen chemoterapií. Při srovnání PFS mezi alogenně a autologně nemocnými nebyl nalezen rozdíl. Rozdíl, byť na hranici statistické významnosti ( $p = 0,10$ ), byl pozorován při srovnání pravděpodobnosti OS ve čtyřech letech ve prospěch ASCT (OS 92 %

proti alloSCT (OS 69 %) [51]. Druhá studie randomizovala nemocné na začátku léčby a umožňovala i alloSCT od nepřibuzného dárce. V rámci hodnocení interim analýzy (hodnotitelných 58 nemocných ze 104) byla pravděpodobnost přežití bez události (EFS) identická a při srovnání OS byl pozorován statisticky nevýznamný trend ve prospěch lepšího přežití nemocných transplantovaných autologně [52].

Z chemoterapie používané k záchranné léčbě je nutné se zmínit o gemcitabinu (Gemzar) v monoterapii nebo v kombinaci. Zinzani et al demonstrovali chemosenzitivitu u 51 % pacientů dosažení kompletní remise ve 23 % při monoterapii gemcitabinem s délkou léčebné odpovědi 5–60 měsíců. Tato léčba představuje možnost paliativní chemoterapie pro nemocné, kteří nejsou únosní následné alloSCT [53].

Při kombinované chemoterapii gemcitabin s cisplatinou/oxaliplatinou a dexametazonem je dosahováno léčebné odpovědi 40–69 % a kompletní remise v 8–19 % s mediánem PFS 4–5 měsíců. Gemcitabin v kombinaci je tedy alternativou k dosažení cytoredukce a kontroly onemocnění u pacientů plánovaných k alloSCT [54].

Nadějí k lepší efektivitě záchranné terapie u CD30 pozitivních ALCL a PTL je brentuximab vedontin (Adcetris), což je anti-CD30 protilátka s navázaným cytostatikem auristatinem [55]. Ve studii fáze II u relabovaného/refrakterního anaplastického lymfomu (ALCL) vedlo podání brentuximabu u 58 pacientů (15 z nich bylo po ASCT) k dosažení 86 % léčebných odpovědí a 57 % kompletních remisí. Medián délky léčebné odpovědi byl 13,3 měsíce [56].

#### Závěr

Přestože je u nemocných s refrakterním nebo relabujícím lymfomem celková prognóza přežití zhoršena, dosahujeme v současnosti vysokého počtu léčebných odpovědí u řady pacientů. Použití vysokodávkované chemoterapie s ASCT je standardní léčebná modalita a u mnoha pacientů je dosaženo platů křivek přežití s pravděpodobným úplným vyléčením. Nicméně stále je řada



nemocných, u nichž záchranná terapie selhává. V intenzivním výzkumu je také postavení alloSCT po redukované přípravě i s haploidentickým dárce, která díky GVL efektu je schopna překonat vysoce riziková onemocnění.

## Literatura

- Kuruwilla J. Standard therapy of advanced Hodgkin lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 497–506. doi: 10.1182/asheducation-2009.1.497.
- Schmitz N, Pfistner B, Sextro M et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002; 359(9323): 2065–2071.
- Linch DC, Winfield D, Goldstone AH et al. Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet* 1993; 341(8852): 1051–1054.
- Josting A, Rueffer U, Franklin J et al. Prognostic factors and treatment outcome in primary progressive Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood* 2000; 96(4): 1280–1286.
- Josting A, Muller H, Brochmann P et al. Dose intensity of chemotherapy in patients with relapsed Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2010; 28(34): 5074–5080. doi: 10.1200/JCO.2010.30.5771.
- Kuruwilla J, Keating A, Crump M. How I treat relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2011; 117(16): 4208–4217. doi: 10.1182/blood-2010-09-288373.
- Jabbour E, Hosing C, Ayers G et al. Pretransplant positive positron emission tomography/gallium scans predict poor outcome in patients with recurrent/refractory Hodgkin lymphoma. *Cancer* 2007; 109(12): 2481–2489.
- Moskowitz AJ, Yahalom J, Kewalramani T et al. Pretransplantation functional imaging predicts outcome following autologous stem cell transplantation for relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2010; 116(23): 4934–4947. doi: 10.1182/blood-2010-05-282756.
- Reece DE, Barnett MJ, Connors JM et al. Intensive chemotherapy with cyclophosphamide, carmustine, and etoposide followed by autologous bone marrow transplantation for relapsed Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1991; 9(10): 1871–1879.
- Visani G, Malerba L, Stefani PM et al. BeEAM (bendamustine, etoposide, cytarabine, melphalan) before autologous stem cell transplantation is safe and effective for resistant/relapsed lymphoma patients. *Blood* 2001; 118(12): 3419–3425. doi: 10.1182/blood-2011-04-351924.
- Fung HC, Stiff P, Schriber J et al. Tandem autologous stem cell transplantation for patients with primary refractory or poor risk recurrent Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marr Transplant* 2007; 13(5): 594–600.
- Morschhauser F, Brice P, Fermé C et al. Risk-adapted salvage treatment with single or tandem autologous stem-cell transplantation for first relapse/refractory Hodgkin's lymphoma: results of the prospective multicenter H96 trial by the GELA/SFGM study group. *J Clin Oncol* 2008; 26(36): 5980–5987. doi: 10.1200/JCO.2007.15.5887.
- Devillier R, Coso D, Castagna L et al. Positron emission tomography response at the time of autologous stem cell transplantation predicts outcome of patients with relapsed and/or refractory Hodgkin's lymphoma responding to prior salvage therapy. *Haematologica* 2012; 97(7): 1073–1079. doi: 10.3324/haematol.2011.056051.
- Pohlreich D, Vackova B, Trnkova M et al. Fifty percent cure rate in poor risk relapsed/refractory Hodgkin lymphoma after tandem autologous stem cell transplantation. *EBMT* 2014; abstr. 2381.
- Gajewski JL, Phillips GL, Sobocinski KA et al. Bone marrow transplants from HLA-identical siblings in advanced Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1996; 14(2): 572–578.
- Milpied N, Fielding AK, Pearce RM et al. Allogeneic bone marrow transplant is not better than autologous transplant for patients with relapsed Hodgkin's disease. European Group for Blood and Bone Marrow Transplantation. *J Clin Oncol* 1996; 14(4): 1291–1296.
- Sureda A, Robinson S, Canals C et al. Reduced-intensity conditioning compared with conventional allogeneic stem-cell transplantation in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma: an analysis from the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol* 2008; 26(3): 455–462.
- Robinson SP, Sureda A, Canals C et al. Reduced intensity allogeneic stem cell transplantation for Hodgkin's lymphoma: Identification of prognostic factors predicting outcome. *Haematol* 2009; 94(2): 230–238. doi: 10.3324/haematol.13441.
- Burroughs LM, O'Donnell PV, Sandmaier BM et al. Comparison of outcomes of HLA-matched related, unrelated, or HLA-haploidentical related hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplantation* 2008; 14(11): 1279–1287. doi: 10.1016/j.bbmt.2008.08.014.
- Peggs KS, Kasvani I, Edwards N et al. Donor lymphocyte infusions modulate relapse risk in mixed chimeras and induce durable salvage in relapsed patients after T-cell-depleted allogeneic transplantation for Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29(8): 971–978. doi: 10.1200/JCO.2010.32.1711.
- Coiffier B, Lepage E, Briere J et al. CHOP like chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346(4): 235–242.
- Pfreundschuh M, Trümper L, Ostergorg A et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomized controlled trial by the MabThera International Trial Group. *Lancet Oncol* 2006; 7(5): 379–391.
- Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1995; 333(23): 1540–1545.
- Thieblemont C, Briere J, Mounier N et al. The germinal center/activated B-cell subclassification has a prognostic impact for response to salvage therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma: a bio-CORAL study. *J Clin Oncol* 2011; 29(31): 4079–4087. doi: 10.1200/JCO.2011.35.4423.
- Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N et al. Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol* 2010; 28(27): 4184–4190. doi: 10.1200/JCO.2010.28.1618.
- Crump M, Kuruwilla J, Couban S et al. Randomized comparison of gemcitabine, dexamethasone, and cisplatin versus dexamethasone, cytarabine, and cisplatin chemotherapy before autologous stem-cell transplantation for relapsed and refractory aggressive lymphomas: NCIC-CTG LY.12. *J Clin Oncol* 2014; 32(31): 3490–3496. doi: 10.1200/JCO.2013.53.9593.
- Martín A, Conde E, Arnan M et al. R-ESHAP as salvage therapy for patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma: the influence of prior exposure to rituximab on outcome. A GEL/TAMO study. *Haematologica* 2008; 93(12): 1829–1836. doi: 10.3324/haematol.13440.
- Kewalramani T, Zelenetz AD, Nimer SD et al. Rituximab and ICE as second-line therapy before autologous stem cell transplantation for relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Hematol* 2007; 86: 107–115.
- Vellenga E, van Putten WT, van't Veer MB et al. Rituximab improves the treatment results of DHAP-VIM-DHAP and ASCT in relapsed/progressive aggressive CD 20+ NHL: a prospective randomised HOVON trial. *Blood* 2008; 111(2): 537–543.
- Van Kampen RJ, Canals C, Schouten HC et al. Allogeneic stem-cell transplantation as salvage therapy for patients with diffuse large B-cell lymphoma Relapsing after an autologous stem-cell transplantation: an analysis of the European Group for Blood and Marrow Transplantation registry. *J Clin Oncol* 2011; 29(10): 1342–1348. doi: 10.1200/JCO.2010.30.2596.
- Freytes CO, Zhang MJ, Carreras J et al. Outcome of lower-intensity allogeneic transplantation in non-Hodgkin lymphoma after autologous transplantation failure. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(8): 1255–1264. doi: 10.1016/j.bbmt.2011.12.581.
- Sureda A, Bader P, Cesaro S et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marr Transpl* 2015; 50(8): 1037–1056. doi: 10.1038/bmt.2015.6.
- Al Khabori, de Almeida JR, Guyatt GH et al. Autologous stem cell transplantation in follicular lymphoma: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104(1): 18–28. doi: 10.1093/jnci/djr450.
- Schouten HC, Qian W, Kvaloy S et al. High-dose therapy improves progression-free survival and survival in relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma: results from the randomized European CUP trial. *J Clin Oncol* 2003; 21(21): 3918–3927.
- Sebban C, Brice P, Delarue R et al. Impact of rituximab and/or high-dose therapy with autotransplant at time of relapse in patients with follicular lymphoma: a GELA study. *J Clin Oncol* 2008; 26(21): 3614–3620. doi: 10.1200/JCO.2007.15.5358.
- Kornacker M, Stumm J, Pott C et al. Characteristics of relapse after autologous stem-cell transplantation for follicular lymphoma: a long-term follow-up. *Ann Oncol* 2009; 20(4): 722–728. doi: 10.1093/annonc/mdn691.
- Pettengell R, Schmitz N, Gisselbrecht C et al. Rituximab purging and/or maintenance in patients undergoing autologous transplantation for relapsed follicular lymphoma: a prospective randomized trial from the lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2013; 31(13): 1624–1630. doi: 10.1200/JCO.2012.47.1862.
- Vose J, Armitage J, Weisenburger D et al. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: pathology findings and clinical outcomes. *J Clin Oncol* 2008; 26(25): 4124–4130. doi: 10.1200/JCO.2008.16.4558.
- Schmitz N, Trümper L, Ziepert M et al. Treatment and prognosis of mature T-cell and NK-cell lymphoma: an analysis of patients with T-cell lymphoma treated in studies of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood* 2010; 116(18): 3418–3425. doi: 10.1182/blood-2010-02-270785.
- Janikova A, Bortlicek Z, et al. CHOEP versus CHOP gives better results in first-line therapy of t-cell lymphoma. A retrospective analysis from czech lymphoma study group (CLSG) database. *Hematological Oncology* 2015; 33 (Suppl 1): abstr. 99.
- Corradini P, Tarella C, Zallio F et al. Long-term follow-up of patients with peripheral T-cell lymphomas treated up-front with high dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation. *Leukemia* 2006; 20(9): 1533–1538.

42. Rodrigues J, Conde E, Gutiérrez A et al. Frontline autologous stem cell transplantation in high-risk peripheral T-cell lymphoma: a prospective study from The Gel-Tamo Study Group. *Eur J Haematol* 2007; 79(1): 32–38.
43. Reimer P, Rüdiger T, Geissinger E et al. Autologous stem cell transplantation as first-line therapy in peripheral T-cell lymphomas: results of a prospective multicenter study. *J Clin Oncol* 2009; 27(1): 106–113. doi: 10.1200/JCO.2008.17.4870.
44. d'Amore F, Relander T, Lauritzsen GF et al. Up-front autologous stem-cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma: NLG-T-01. *J Clin Oncol* 2012; 30(25): 3093–3099. doi: 10.1200/JCO.2011.40.2719.
45. Rodrigues J, Caballero MD, Gutiérrez A et al. High-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma: the GEL-TAMO experience. *Ann Oncol* 2003; 14(12): 1768–1775.
46. Rodrigues J, Conde E, Gutiérrez A et al. The adjusted International Prognostic Index and beta-2-microglobulin predict the outcome after autologous stem cell transplantation in relapsing/refractory peripheral T-cell lymphoma. *Haematologica* 2007; 92(8): 1067–1074.
47. Chen A, McMillan A, Negrin RS et al. Long-term results of autologous hematopoietic cell transplantation for peripheral T-cell lymphoma: the Stanford experience. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(7): 741–747. doi: 10.1016/j.bbmt.2008.04.004.
48. Kyriakou C, Canals C, Goldstone A et al. High-dose therapy and autologous stem-cell transplantation in angioimmunoblastic lymphoma: complete remission at transplantation is the major determinant of outcome – Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol* 2008; 26(2): 218–224. doi: 10.1200/JCO.2007.12.6219.
49. Doderio A, Spina F, Narni F et al. Allogeneic transplantation following a reduced intensity conditioning regimen in relapsed/refractory peripheral T-cell lymphomas: long term remissions and response to donor lymphocyte infusions support the role of a graft versus lymphoma effect. *Leukemia* 2012; 26(3): 520–526. doi: 10.1038/leu.2011.240.
50. Valkova V, Benesova K, Vitek A et al. The results of allogeneic transplants in patients with malignant lymphoma—a retrospective analysis of data from the Czech National Registry. *Neoplasma* 2009; 56(1): 76–83.
51. Corradini P, Vitolo U, Rambaldi A et al. Intensified chemo-immunotherapy with or without stem cell transplantation in newly diagnosed patients with peripheral T-cell lymphoma. *Leukemia* 2014; 28(9): 1885–1891. doi: 10.1038/leu.2014.79.
52. Schmitz N, Nickelsen M, Altmann B et al. Allogeneic or autologous transplantation as first-line therapy for younger patients with peripheral T-cell lymphoma: results of the interim analysis of the AATT trial. *J Clin Oncol ASCO Meeting Abstracts* 2015; 33 (15 Suppl): 8507.

# Současné možnosti imunoterapie nádorových onemocnění

## Current Approaches in Cancer Immunotherapy

Otáhal P., Trněný M.

I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

Metody nádorové imunoterapie pronikají po mnoha letech experimentálních výzkumů do klinické praxe. Existuje několik metod, které se ukázaly jako velmi účinné v případech již neléčitelného nádorového onemocnění. Protinádorové protilátky patří mezi základní pilíře nádorové imunoterapie a jsou úspěšně používány řadu let. Novější skupinou jsou imunomodulační protilátky, které mají schopnost prolomit nádorovou toleranci a navodit regresi nádorů prostřednictvím nespecifické aktivace imunitního systému. Bispecifické protilátky aktivující T lymfocyty reprezentují zcela novou třídu protinádorových léčiv, která navodí expanzi T lymfocytů *in vivo*. Představitel této třídy blinatumomab je v současnosti dostupný k léčbě B lymfoblastové leukemie. V metodách buněčné imunoterapie se ukazuje jako velmi účinná léčba B buněčných lymfoproliferací pomocí geneticky modifikovaných T lymfocytů exprimujících chimérické antigenní receptory. Ačkoliv se jedná o technicky složitou a nákladnou metodu, jde o velmi úspěšný postup, který je schopen navodit remisi i ve zcela beznadějných případech. Cílem tohoto článku je vysvětlit základní principy nádorové imunoterapie a shrnout nejnovější poznatky v této oblasti.

### Klíčová slova

rakovina – lymfomy – imunoterapie – monoklonální protilátky – genová terapie

### Summary

Methods of cancer immunotherapy have finally entered clinical medicine after years of preclinical research. Currently, there are several methods, which have proven to be very effective even in cases of incurable cancer. Antitumor monoclonal antibodies are among major therapeutic anti-cancer drugs and have been successfully used for many years. Novel group of antibodies are immunomodulatory antibodies which can break tumor-specific immune tolerance and induce regression of tumors by non-specific activation of immune system. Bispecific antibodies represent a novel class of anti-cancer agents which can induce expansion of T cells *in vivo*, blinatumomab is an example of such agents and is currently available for the treatment of acute B-cell leukemia. Cellular immunotherapy is also very effective, especially the use of Chimeric receptor modified T-cells for the therapy of B-cell lymphoproliferative diseases. Although it is a very complicated and expensive method, it is highly effective approach which can induce remission even in previously hopeless conditions. The goal of this article is to explain the basic principles of cancer immunotherapy and summarize the newest findings in this field.

### Key words

cancer – lymphoma – immunotherapy – monoclonal antibodies – gene therapy

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NT/14030-3.

This study was supported by grant of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT/14030-3.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Pavel Otáhal

I. interní klinika – klinika hematologie

1. LF UK a VFN v Praze

U Nemocnice 2

128 08 Praha 2

e-mail: pavel.otahal@vfn.cz

Obdrženo/Submitted: 23. 9. 2015

Přijato/Accepted: 27. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153S105>

**Úvod**

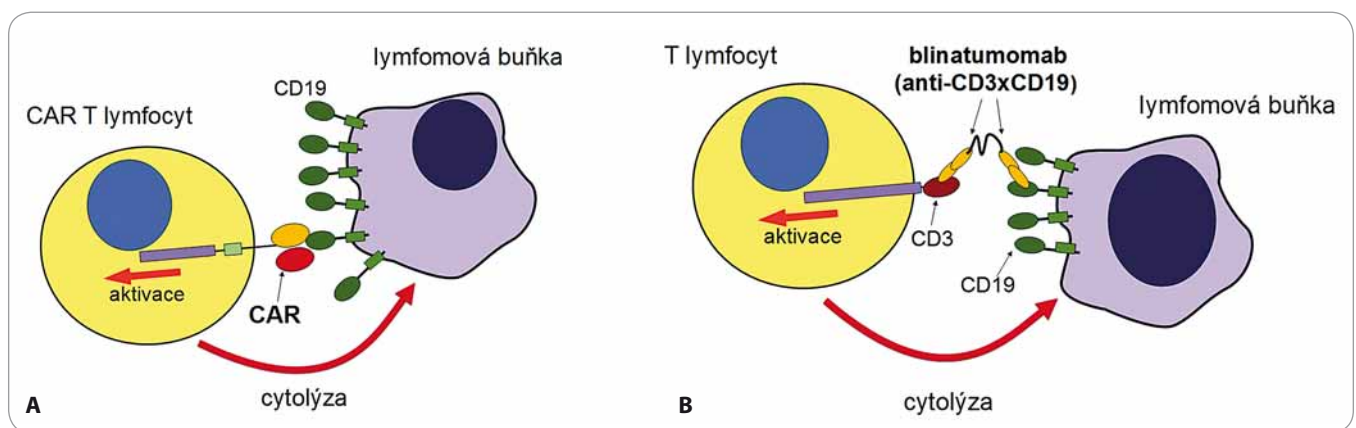
Vztah mezi imunitou a nádory je dynamický a komplexní systém. Nádorové buňky jsou charakterizovány přítomností mnoha genetických mutací a dysregulací v epigeneticky řízených genech a produkty těchto změn jsou rozpoznávány imunitním systémem jako cizí antigeny. Nicméně výsledek tohoto dynamického vztahu je paradoxně charakterizován rozvojem tolerance, při které jsou tyto *de novo* vzniklé nádorové antigeny viděny imunitním systémem jako antigeny tělu vlastní a jakákoliv imunitní odpověď je velmi účinně tlumena [1]. Rostoucí nádory obsahují obvykle relativně velké množství infiltrujících lymfocytů, které nejsou schopny navodit eliminaci nádoru *in vivo*, ale mimo imunosupresivní a tolerizující prostředí nádorového stromatu jsou plně funkční a schopny cytotoxického účinku, produkce cytokinů a proliferace. To je způsobeno charakteristickými vlastnostmi nádorového mikroprostředí, které vyvolává supresi lymfocytů mnoha mechanismy a vede k rozvoji tzv. nádorové tolerance [2]. Hlavní mechanismy, které účinně brání rozpoznání nádorů imunitním systémem, jsou vyvolány nenádorovou populací buněk ze skupiny myeloidních supresorových buněk a přítomností regulačních lymfocytů (CD4+ Treg). Dále řada nádorů přímo exprimuje na svém povrchu ligandy, které se vážou na inhibiční receptory na povrchu infiltrujících T lymfocytů (PD-1, LAG-3, CTL-4), a přímo tak navodí jejich supresi. A poslední mechanismus nádorové tolerance spočívá v produkci inhibičních

cytokinů (TGF β, IL-10) jak přímo nádorovými buňkami, tak nenádorovou populací supresorických buněk. Příkladem, jak alespoň trochu zamezit supresi T lymfocytů v nádorech, je nyní již historická aplikace IL-2 (Proleukin). Účinnost této léčby je diskutabilní. Používala se v léčbě melanomu a karcinomu ledviny. Podání IL-2 nespecificky stimulovalo imunitní systém a vyvolalo systémovou zánětlivou odpověď s typickými příznaky (teplota, hypotenze, průjem, zvracení, vyrážka), částečně to vedlo k aktivaci protinádorových T lymfocytů, ale zároveň bohužel došlo ke stimulaci supresorických T lymfocytů [3]. Tato léčba je nyní již překonána a intenzivní výzkum mechanismů nádorové tolerance přenesl pozornost na více specifické terapeutické cíle a odhalil nové možnosti léčby. Cílem tohoto článku je shrnout postupy protinádorové imunoterapie, které jsou dostupné pacientům v klinických studiích, a porovnat jejich účinnost.

**Nádorově specifické protilátky**

Monoklonální protilátky mají zásadní dopad na léčbu nádorových onemocnění a jsou označovány jako biologická protinádorová léčiva [4]. Rituximab (Mabthera®, anti-CD20), trastuzumab (Herceptin®, anti HER2/neu) a bevacizumab (Avastin®, anti-VEGEGF) jsou jedny z nejprodávanějších protinádorových léčiv. Protinádorové mAb fungují přes naprosto stejné mechanismy jako přirozené protilátky vznikající např. při virové infekci. Protilátky se naváží variabilní doménou na povrchové antigeny

na nádorových buňkách a konstantní doménou aktivují komplement a část lymfocytů označovaných jako NK buňky, což v důsledku vede ke zničení nádorové buňky. Aktivace NK buněk označovaná jako ADCC (antibody dependent cell cytotoxicity) je pravděpodobně hlavní efektorový mechanismus, alespoň pro rituximab představující jednu z prvních, a přesto stále neúspěšnějších terapeutických protilátek. Aktivace komplementu pomocí mAb (complement dependent cytotoxicity – CDC) je další mechanismus v protinádorovém působení protilátek. Je významný zejména u hematologických malignit, protože nádorové buňky jsou vystaveny působení komplementu v krevním řečišti a kostní dřeni. Existuje ale velmi málo důkazů, že efekt CDC má význam u solidních nádorů. Velmi malý efekt má pravděpodobně aktivace receptoru, na který se mAb váže na povrchu nádorových buněk. V současnosti se uplatňuje další generace protilátek, jež mají modifikované vlastnosti. Například ofatumumab [5] je anti-CD20 mAb, která má větší schopnost navodit CDC v porovnání s rituximabem. Jiný způsob modifikace mAb genetickou modifikací FC oblasti v místě vazby na ADCC naopak může selektivně zvýšit účinnost tohoto mechanismu, což je příklad anti-CD20 protilátky obinutuzumab [6]. Účinnost takto modifikovaných protilátek v porovnání s rituximabem však není jednoznačně vyřešena a stále se testuje v řadě klinických studií. První a dosud jediné přímé srovnání dvou anti-CD20 protilátek obinutuzumabu a rituximabu, v obou pří-



**Obr. 1. Protinádorové působení CAR T lymfocytů (A) a blinatumomabu (B).**



Tab. 1. Bispecifické protilátky testované v klinických studiích [7].

Výrobce	Název	Cíl BiTE	Typ nádoru
Trion Pharma	Removab	epithelial cell adhesion molecule (EpCam) × CD3	maligní ascites
Amgen	Blincyto	CD19 × CD3	Ph-neg. B-ALL
Amgen	AMG-110	EpCam × CD3	karcinomy
Affimed Therapeutics	AFM13	CD30 × CD16A	Hodgkinův lymfom
Merrimack Pharmaceuticals	MM-111	human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) × HER3	karcinom žaludku
Roche	RG7221 (RO5520985)	angiopoietin 2 (Ang-2) × vascular endothelial growth factor a (VEGF-A)	kolorektální karcinom
Genentech	RG7597 (MEDH7945A)	epidermal growth factor receptor (EGFR) × HER3	kolorektální karcinom, karcinomy hlavy a krku
Merus	MCLA-128	HER2 × HER3	karcinomy
Amgen	MEDI-565 (AMG-211)	carincoembryonic antigen × CD3	adenocarcinom GIT
Macrogenics	MGD006	CD123 × CD3	AML
Genentech	CD20 TDB	CD20 × CD3	B lymfoproliferace

padech v kombinaci s chlorambucilem u komorbidních nemocných s chronickou lymfocytární leukémií, ukázalo v tomto případě lepší efektivitu obinutuzumabu [6].

### Bispecifické protilátky

Jsou také označovány jako bi-specific T cell engagers (BiTE). Tyto protilátky jsou molekulární nástroje připravené genetickými manipulacemi [7]. Jedná se o protein tvořený dvěma protilátkami s různou specifitou. V případě blinatumomabu první protilátka rozpoznává antigen CD3 na povrchu T lymfocytů a druhá antigen CD19 na povrchu B lymfocytů (obr. 1) [8]. Vazba blinatumomabu na oba antigeny současně spojí efektorový T lymfocyt s maligním B lymfocytom, toto spojení navodí aktivaci T lymfocytu a zabití B lymfocytu. Blinatumomab si můžeme představit jako velmi silné „molekulární lepidlo“, které „slepí“ T lymfocyty s B lymfocyty, má tedy naprosto jiný mechanismus účinku než běžné terapeutické mAb. Současná vazba na receptor CD3 na T lymfocyttech s receptorem CD19 na B lymfocyttech navodí mohutnou proliferaci T lymfocytů a takto aktivované T lymfocyty začnou ihned zabíjet všechny B lymfocyty, na které jsou navázány. Blinatumomab je testován v klinické studii na

pacientech s refrakterní/relabující B buněčnou akutní leukémií. Předběžné výsledky ukazují doslova zázračnou účinnost této nové formy terapie [8]. Způsob podání je však velmi specifický – podává se v kontinuální infuzi po dobu čtyř týdnů na jeden cyklus léčby, protože má krátký biologický poločas v důsledku renální eliminace. Pro dostatečnou účinnost je nutné v organismu udržet dlouhodobě stabilní hladinu, neboť jakmile je blinatumomab eliminován, tak T lymfocyty přestávají reagovat s B lymfocyty a účinek léčby prudce klesá. Nežádoucí účinky (NÚ) této léčby jsou přítomny ve 100 % případů a jenom se liší svojí intenzitou. Bezprostřední NÚ spočívají v tzv. syndromu cytokinové bouře, kdy aktivací T lymfocytů blinatumomabem dojde k náhlému vyplavení prozánětlivých cytokinů (hlavně IL-6, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) s celkovými projevy, jako je horečka, zimnice, bolesti hlavy a projevy neurotoxicity. NÚ mohou progredovat až do rozvoje šokového stavu s respiračním a oběhovým selháním v důsledku poškození cévního endotelu v kapilárách (capillary leak syndrom). Následující nežádoucí účinek je naopak ve své podstatě žádoucí, neboť je projevem mohutného protinádorového působení aktivovaných T lymfocytů. U pacientů s B-ALL je antigen CD19 přítomen jak na maligních

blastech, tak i na zdravých B lymfocyttech a to vede k eliminaci všech B lymfocytů včetně těch zdravých. Důsledkem léčby je absolutní deplece všech B lymfocytů v těle pacienta s následným rozvojem protilátkového deficitu. Nejedná se však o fatální komplikaci. Protilátkový deficit lze hradit podáváním imunoglobulinů a po ukončení léčby blinatumomabem dojde ke spontánní reparaci B lymfocytů.

BiTE patří mezi průlomové léky a jejich další rozvoj přinese zásadní léčebné úspěchy v řadě dalších malignit, zejména B-ALL. Pomocí BiTE lze teoreticky zacílit jakýkoliv nádor, protože princip fungování je univerzální na jakýkoliv povrchový antigen. V tab. 1 jsou uvedeny příklady v současnosti probíhajících klinických studií s BiTE na různé typy nádorů. Kromě již zmíněného blinatumomabu u ALL/lymfoblastového lymfomu a dalších lymfomů [9] se testuje protilátka AFM13 (CD30xCD16A) u Hodgkinova lymfomu, výsledky zkoušek fáze I ukazují odpověď 11,5 % a stabilizaci onemocnění u 50 % nemocných [10]. Dále je to protilátka CD20 TDB (CD3xCD20) vyvíjená firmou Genentech, která má farmakokinetické vlastnosti podobné klasickým protilátkám a nemusí být podávána kontinuální infuzí jako blinatumomab [11].

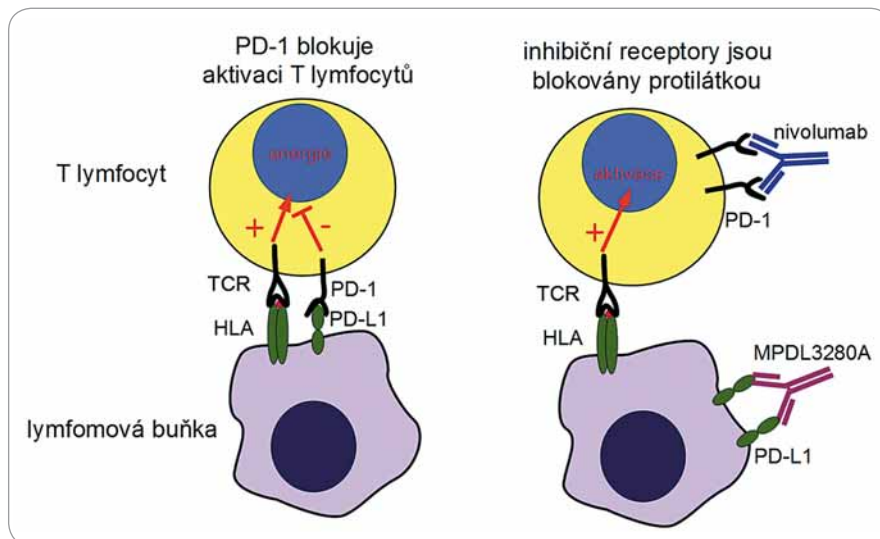
### Imunomodulační protilátky

Nádory jsou pro organismus přirozeně imunogenní. Jednotlivé typy nádorů jsou charakterizovány přítomností několika málo typických antigenů, zároveň ale jsou nádory mezi jedinci velmi heterogenní a obsahují mnoho jedinečných antigenů pocházejících z mutovaných genů. Imunitní odpověď na tyto nádorové antigeny je však tlumena mechanismy nádorové tolerance, a tak nádory unikají zničení imunitním systémem, přestože jsou účinně rozpoznány. Reaktivita T lymfocytů na antigenní komplexy je výsledkem interakce mnoha povrchových receptorů. Primárně musí dojít k rozpoznání krátkého antigenního peptidu derivovaného z intracelulárních proteinů, který je navázán na molekuly his-

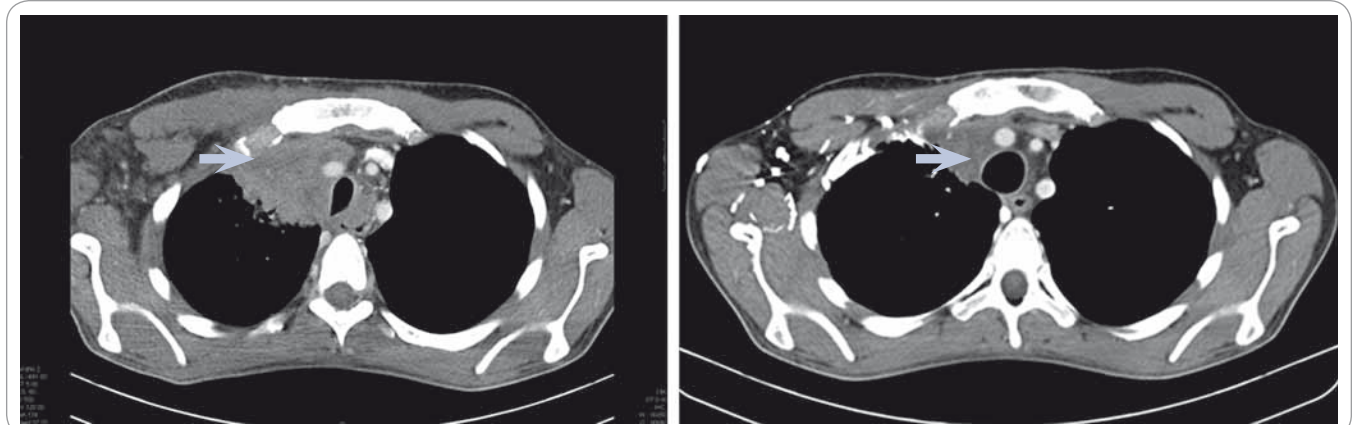
tokompatibilního systému (HLA). Tato interakce je ale modifikována aktivitou mnoha dalších povrchových receptorů obecně nazývaných kostimulační molekuly. Některé z těchto pomocných receptorů jsou aktivující (např. CD28) a některé naopak odpověď lymfocytů tlumí (PD-1, CTLA-4). Tlumící receptory lze jednoduše přirovnat k „brzdám“, které tlumí nadbytečnou imunitní odpověď a zamezují vzniku autoimunity (obr. 2, 3). Některé nádory, mezi nimi i krevní, např. Hodgkinův lymfom, vedou k aktivaci těchto inhibičních molekul a navozují útlum cytotoxické reakce a tak se chrání [12]. Nové trendy imunoterapie se soustředily na vývoj metod, které by vypnuly tyto inhibiční receptory a reaktivovaly existující imunitní odpověď proti mnoha ná-

dorovým antigenům současně. Léčba těmito tzv. immune checkpoint inhibitory (ICI) [13] je však charakterizována řadou NÚ, které pramení z navození náhlé a masivní aktivity T lymfocytů s projevy prudké a generalizované autoimunitní reakce (exantém, horečka, hepatotoxicita, kolitida, pneumonitida, hypofizitida). Zejména postižení plic může mít až fatální následky. Charakteristická vlastnost léčby ICI je tzv. nekonvenční odpověď na léčbu, která se liší od běžné odpovědi pozorované po podání klasické chemoterapie. Navození protinádorového účinku vyžaduje aktivaci T lymfocytů, což může u pacientů trvat překvapivě různě dlouhou dobu. Tento mechanismus může vést k opožděnému nástupu účinku léčby až do období několika týdnů až měsíců po zahájení terapie. V mezidobí byly popsány přechodné progrese nádorů neznamenající nutně selhání léčby. Klinicky testované protilátky se zkoušejí v podstatě na všechny typy nádorových onemocnění.

Ipilimumab je mAb blokující receptor CTLA-4. Po léčbě je popsáno prodloužení OS v řádu několika měsíců u pacientů s melanomem [14] a malobuněčným karcinomem plic. U karcinomu prostaty je efekt ipilimumabu sporný; probíhá studie ipilimumab + vakcína Provenge. Tremelimumab také blokuje CTLA-4. Ten se naopak ukázal neúčinný na melanom. U části pacientek s karcinomem prsu došlo k dočasnému zastavení progrese onemocnění v řádu měsíců. Dále probíhá klinické testování fáze III u maligního mezoteliomu [15].



Obr. 2. Imunomodulační protilátky.



Obr. 3. Efekt nivolumabu u nemocného s primárně rezistentním Hodgkinovým lymfomem, relapsem dva měsíce po autologní transplantaci, progredující na terapii brentuximabem vedotinem.

Nivolumab blokuje receptor PD-1 a ukázal se velmi účinný u Hodgkinova lymfomu [16]. V této počtem malé studii fáze I dosáhlo odpovědi 87 % těžce předléčených nemocných, kompletních remisí bylo 17 %. Účinnost nivolumabu u karcinomu tlustého střeva, prostaty byla malá. Pembrolizumab je testován rovněž u Hodgkinova lymfomu. Předběžné výsledky hodnocené tři měsíce po zahájení léčby u populace nemocných, kde selhal brentuximab vedotin, ukázaly 53 % celkových odpovědí s 20 % kompletních remisí [17]. Ve velmi zajímavé studii s pidilizumabem v kombinaci s rituximabem u folikulárního lymfomu bylo dosaženo 52 % kompletních remisí a celková odpověď byla zaznamenána u 66 % nemocných [18]. Prováděné sekvenční biopsie před léčbou a v jejím průběhu u části nemocných ukázaly korelaci mezi stupněm T buněčné odpovědi a dobou do progresu. Další cestou je hledání kombinací těchto látek s chemoterapií, radioterapií, jinými imunomodulačními látkami či aktivní imunizací. Příklady testovaných protilátek jsou uvedeny v tab. 2.

### Protinádorové vakcíny a buněčná imunoterapie

První metody nádorové imunoterapie byly založeny na metodách aktivní imunizace (vakcinace) proti nádorům. Využívala se řada postupů – vakcinace pomocí dendritických buněk, mrtvých nádorových buněk, rekombinantně připravených proteinů, rekombinantních virů, či přímo směsí antigenních peptidů. Za dobu testování protinádorových vakcín proběhlo nemalé množství klinických studií a do těchto postupů bylo vkládáno mnoho nadějí. Bohužel výsledky nenaplnily očekávání a tyto postupy se ukázaly jako málo účinné. Příkladem může být vakcína proti karcinomu prostaty Provenge. Jednalo se o individuálně připravenou a pro každého pacienta jedinečnou vakcínu na bázi dendritických buněk. Tato vakcína byla testována ve třech studiích fáze III, které ukázaly benefit na OS v řádu několika měsíců [19]. Následně byla schválena FDA v roce 2010 k léčbě hormonálně rezistentního karcinomu prostaty. Problémem Provenge byl velmi špatný poměr cena-be-

Tab. 2. Přehled testovaných imunomodulačních protilátek.

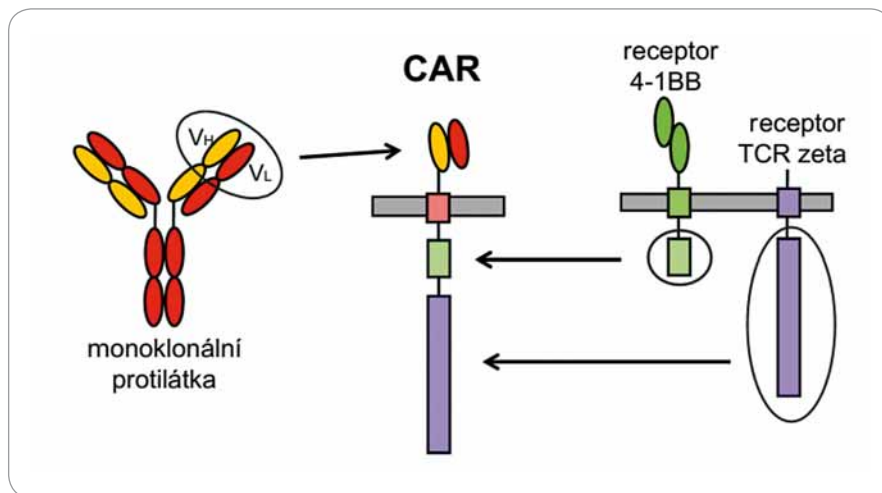
Název mAb	Blokovaný receptor	Typ nádoru
ipilimumab	CTLA-4	melanom, karcinomy prostaty, malobuněčný karcinom plic, GIT, ovaria, lymfomy
tremelimumab	CTLA-4	mezoteliom
nivolumab	PD-1	lymfomy, glioblastom, karcinomy GIT
pembrolizumab	PD-1	lymfomy, karcinomy plic, střeva, melanom
pidilizumab	PD-1	karcinomy prostaty, pankreatu, lymfomy, myeloidní leukemie, mnohočetný myelom, glioblastom
MPDL3280A	PD-L1	karcinom ledviny, močového měchýře, plic

nefit, neboť léčba stála cca 100 000 USD při prodloužení OS o cca čtyři měsíce (dle studií) a poněkud pochybná účinnost [20]. Takto z klinického pohledu limitovaná účinnost zamezila širšímu rozšíření. Vakcína je však stále dostupná a v současnosti probíhá klinická studie kombinace ipilimumab-Provenge. V oblasti lymfomů existuje řada studií testující vakcinační přístup, výsledkem randomizovaných fází III studií bylo buď neprokázání benefitu vakcinace, nebo jen mírný klinický benefit v době trvání odpovědi [21]. Problémem těchto studií obecně je, že byly prováděny ještě před „rituximabovou“ érou. Nedostatečná účinnost protinádorových vakcín spočívá v mechanismech nádorové tolerance, které zabraňují vzniku dostatečného počtu protinádorových T lymfocytů po imunizaci. Jednou z možností, jak toto obejít, je „vyrobit“ velké množství protinádorových T lymfocytů *in vitro* a následně je aplikovat pacientovi. Tyto postupy se také testují již dlouhou dobu a přinesly jen o trochu lepší výsledky než vakcinace, tj. byly popsány ojedinělé regrese nádorů – nejčastěji metastázy melanomu. Příčina selhání je opět v nádorové toleranci, protože podané nádorově specifické lymfocyty byly v prostředí nádoru aktivně tlumeny. Poznání těchto příčin neúspěchu vedlo k vývoji nových metod buněčné imunoterapie založených na genetické modifikaci T lymfocytů pomocí vnesení umělých genů, kterými byly T lymfocyty učiněny rezistentními na mechanismy nádorové tolerance. Jedná se o tzv. CAR (chimé-

rické antigenní receptory) modifikované T lymfocyty [22].

Cytotoxické T lymfocyty rozpoznávají cizí antigeny pomocí povrchového receptoru, který velmi specificky reaguje s hlavními histokompatibilními antigeny (HLA), jež mají na povrchu navázány antigeny ve formě krátkých peptidů. Tato aktivace je velmi komplexní a složitý proces. T lymfocyty musí reagovat s komplexem peptid-HLA s přesně danou afinitou, která závisí na průběhu maturace T lymfocytů v thymu, a každý jedinec má svoje T lymfocyty přesně „vychované“ na svoje individuální alely HLA. V protikladu k tomu stojí protilátky, které reagují s antigeny přímočaře a univerzálně, ale nejsou schopny vyvolat tak intenzivní a dlouhotrvající cytotoxickou reakci. Existuje způsob, jak kombinovat jednoduchost rozpoznávání antigenů protilátkami s cytotoxicitou lymfocytů. Spojíme-li část protilátky reagující s nějakým povrchovým antigenem s intracelulární signalizační částí T receptoru, tak tento umělý receptor (CAR) bude fungovat v principu stejně jako normální T receptor, avšak jeho specifita bude definována protilátkovou částí a nebude omezena variabilitou HLA molekul (obr. 4). Po vnesení tohoto umělého genu do T lymfocytů pacienta a jejich namnožení *in vitro* získáme ohromný počet cytotoxických T lymfocytů rozpoznávajících námi zvolený povrchový antigen.

Léčba probíhá v několika fázích. Nejprve jsou pacientům odebrány z krve lymfocyty, ty jsou následně aktivovány *in vitro* pomocí protilátek stimulujících



Obr. 4. Schéma chimerického antigenního receptoru.

T receptor a kostimulační molekulu CD28 a pomocí rekombinantního lentivirového virového vektoru je do nich vnesen transgen pro chimerický receptor specifický na antigen CD19. Tento antigen byl zvolen, protože maligní buňky leukemií a lymfomů vycházejících z B lymfocytů si zachovávají expresi liniových antigenů, což je právě povrchová molekula CD19. Aktivované T lymfocyty se expandují v kultivačním médiu po dobu asi 14 dnů, během této krátké doby exponenciálně rostou až na množství řádově  $10^9$ – $10^{10}$  buněk. Buňky se následně zamrazí a čekají na vhodnou dobu pro podání pacientovi, z jehož krve byly připraveny. Příprava buněk je velmi náročná, protože musí probíhat ve speciálních superčistých laboratořích. Pokud proběhla příprava buněk úspěšně, lze přistoupit k jejich podání pacientovi formou běžné intravenózní infuze. Jakmile CAR T buňky rozpoznají antigen CD19 na povrchu nádorů pomocí chimerického receptoru, spustí se aktivační signály a buňky se velmi těsně přilepí na povrch nádorových buněk, uvolní cytotoxická granula a zabijí je. Zároveň aktivace přes CAR navodí další proliferaci T lymfocytů a vede k ještě větší reakci proti nádoru (obr. 1). Léčba směřovaná na antigen CD19 má závažný, ale nikoliv zásadní nežádoucí účinek – dojde k eliminaci všech buněk exprimujících CD19, tedy i zdravých B lymfocytů stejně jako při léčbě blinatumomabem.

Léčba pomocí CAR19 specifických T lymfocytů je tedy velmi podobná léčbě blinatumomabem – nežádoucí účinky jsou v podstatě totožné, nicméně účinnost této léčby může být větší. Několik pacientů s B-ALL, kteří progredovali po léčbě blinatumomabem, bylo úspěšně léčeno pomocí CAR T lymfocytů [22]. Na rozdíl od blinatumomabu se CAR buňky podají jenom jednou a pacienti nemusí být několik týdnů napojeni na kontinuální infuzi. Nevyřešena je otázka trvalé deplece B buněk vyvolaná CAR T lymfocyty. To však není tak velký medicínský problém, neboť pacientům lze snadno suplementovat imunoglobuliny a v některých studiích se ukázalo, že CAR T buňky po určité době v řádu měsíců až jednoho roku z organismu zmizí a následně dojde k reparaci B lymfopoézy.

Výsledky léčby CAR jsou v současnosti nejlepší u nemocných s ALL, následovaných nemocnými s CLL. Efektivita se zatím jeví nejnižší u nemocných s lymfomy, zejména agresivními, i když i zde jsou výsledky u rezistentních lymfomů velmi slibné [22–25]. V současnosti se intenzivně hledají způsoby, jak po navození remise onemocnění podané CAR lymfocyty z organismu odstranit. Například regulovatelnou expresí CAR genu nebo pomocí vnesení sebevražedného genu společně s genem pro CAR, což by umožnilo kontrolovat hlavní NÚ léčby – trvalou depleci B lymfocytů. Výzkum v této oblasti se dnes soustřeďuje na identifikaci nových cílů na ostatních typech hematologických malignit,

např. antigen CD123 u akutní myeloidní leukemie [26].

### Shrnutí

Imunoterapeutické postupy léčby nádorových onemocnění prodělaly bouřlivý rozvoj. V posledních letech jsme byli svědky nejprve tiché revoluce, která v posledních asi dvou letech doslova mediálně explodovala. Po mnoha letech nic neříkajících a diskutabilních výsledků máme nyní k dispozici několik fungujících léčebných postupů s jednoznačně prokázaným efektem rovnajícím se zázraku. Tato revoluce byla odstartována prvními velmi úspěšnými klinickými studiemi s CART lymfocyty u pacientů s beznadějně progredujícími B lymfoproliferacemi. Krátce nato se ukázaly podobně vynikající výsledky léčby s blinatumomabem u pacientů s B-ALL. Další metodou s prokazatelným efektem jsou imunomodulační protilátky, jako je např. léčba nivolumabem u pacientů s Hodgkinovým lymfomem. Nevyřešenou otázkou je, proč vidíme tak dramatický rozdíl v účinnosti imunoterapie v léčbě hematologických malignit v porovnání s nehematologickými nádory. Zatímco efekt léčby B-ALL a B lymfomů pomocí CAR buněk nebo blinatumomabu se rovná naprostému vymizení choroby, v léčbě karcinomů se pohybujeme maximálně v prodloužení OS v řádu měsíců. Úkolem výzkumu tedy bude zejména vyřešit problém nízké účinnosti imunoterapie na nehematologické nádory. Do budoucna lze přesto očekávat, že CAR T buňky, BiTEs a Checkpoint blockage inhibitors se stanou spolu s kinázovými inhibitory poslední linií léčby rezistentních nádorových onemocnění. Cílem tohoto článku není shrnout všechny imunoterapeutické postupy, které kdy byly zkoušeny, ale naopak z mnoha existujících metod zdůraznit ty metody, u nichž byla dokumentována nepochybná účinnost a s kterými se budeme nepochybně v blízké budoucnosti setkávat v klinické praxi (tab. 3).

### Literatura

1. Ansell SM. Targeting immune checkpoints in lymphoma. *Curr Opin Hematol* 2015; 22(4): 337–342. doi: 10.1097/MOH.0000000000000158.
2. Joyce JA, Fearon DT. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science* 2015; 348(6230): 74–80. doi: 10.1126/science.aaa6204.



**Tab. 3. Shrnutí.**

Imunoterapeutická metoda	Léčený typ nádorů	Efekt léčby
protinádorové protilátky	lymfomy, leukemie, solidní nádory	jednoznačný benefit léčby u hematologických malignit (rituximab, ofatumumab, obinutuzumab) a u některých solidních nádorů (trastuzumab)
bispecifické protilátky	B lymfoproliferace	velmi účinné
imunomodulační protilátky	hematologické malignity, karcinomy	pozorovány jasné regrese hematologických malignit, klíčové studie stále probíhají
protinádorové vakcíny (dendritické buňky, proteiny peptidy, buněčné lyzáty)	hematologické malignity, karcinomy, řada dalších	nebyla prokázána jasná účinnost, efekt sporný
autologní nádorové lymfocyty	solidní nádory	ojediněle dokumentovaná regrese nádorů
autologní NK buňky	solidní nádory	ojediněle dokumentovaná regrese nádorů
CART lymfocyty	hlavně B lymfoproliferace, dále se zkouší na mnoho typů jiných nádorů	velmi účinné na B lymfoproliferace – možná ještě větší efekt než blinatumomab; u solidních nádorů je efekt sporný

3. Sim GC, Martin-Orozco N, Jin L et al. IL-2 therapy promotes suppressive ICOS<sup>+</sup> Treg expansion in melanoma patients. *J Clin Invest* 2014; 124(1): 99–110.

4. Suresh T, Lee LX, Joshi J et al. New antibody approaches to lymphoma therapy. *J Hematol Oncol* 2014; 7: 58. doi: 10.1186/s13045-014-0058-4.

5. van Oers MH et al. Ofatumumab maintenance versus observation in relapsed chronic lymphocytic leukaemia (PROLONG): an open-label, multicentre, randomized phase 3 study. *Lancet Oncol* 2015.

6. Goede V, Fischer K, Busch R et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370(12): 1101–1110. doi: 10.1056/NEJMoa1313984.

7. Sheridan C. Amgen's bispecific antibody puffs across finish line. *Nat Biotechnol* 2015; 33(3): 219–221. doi: 10.1038/nbt0315-219.

8. Topp MS, Gökbuget N, Zugmaier G et al. Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2014; 32(36): 4134–4140. doi: 10.1200/JCO.2014.56.3247.

9. Bargou R, Leo E, Zugmaier G et al. Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody. *Science* 2008; 321(5891): 974–977. doi: 10.1126/science.1158545.

10. Rothe A, Sasse S, Topp MS et al. A phase 1 study of the bispecific anti-CD30/CD16A antibody construct AFM13 in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2015; 125(26): 4024–4031. doi: 10.1182/blood-2014-12-614636.

11. Sun LI, Ellerman D, Mathieu M et al. Anti-CD20/CD3 T cell-dependent bispecific antibody for the treatment of

B cell malignancies. *Sci Transl Med* 2015; 7(287): 287ra70. doi: 10.1126/scitranslmed.aaa4802.

12. Eyre TA, Collins GP. Immune checkpoint inhibition in lymphoid disease. *Br J Haematol* 2015; 170(3): 291–304. doi: 10.1111/bjh.13397.

13. Mahoney KM, Rennett PD, Freeman GJ. Combination cancer immunotherapy and new immunomodulatory targets. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14(8): 561–584. doi: 10.1038/nrd4591.

14. Valsecchi ME. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; 373(13): 1270. doi: 10.1056/NEJM1509660#SA1.

15. Calabrò L, Morra A, Fonsatti E et al. Efficacy and safety of an intensified schedule of tremelimumab for chemotherapy-resistant malignant mesothelioma: an open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Respir Med* 2015; 3(4): 301–309. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00092-2.

16. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 311–319. doi: 10.1056/NEJMoa1411087.

17. Moskowitz CH, Ribrag V, Michot JM et al. PD-1 Blockade with the monoclonal antibody pembrolizumab (MK-3475) in patients with classical Hodgkin lymphoma after brentuximab vedotin failure: preliminary results from a phase 1b study (KEYNOTE-013). *Blood* 2014; 124(21): 290.

18. Westin JR, Chu F, Zhang M et al. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(1): 69–77. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70551-5.

19. Tanimoto T, Hori A, Kami M. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl*

*J Med* 2010; 363(20): 1966; author reply 1967–1968. doi: 10.1056/NEJM1009982#SA1.

20. Huber ML, Haynes L, Parker C et al. Interdisciplinary critique of sipuleucel-T as immunotherapy in castration-resistant prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104(4): 273–279. doi: 10.1093/jnci/djr514.

21. Schuster SJ, Neelapu SS, Gause BL et al. Vaccination with patient-specific tumor-derived antigen in first remission improves disease-free survival in follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29(20): 2787–2794. doi: 10.1200/JCO.2010.33.3005.

22. Porter DL, Hwang WT, Frey NV et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. *Sci Transl Med* 2015; 7(303): 303ra139. doi: 10.1126/scitranslmed.aac5415.

23. Maude SL, Teachey DT, Porter DL et al. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015; 125(26): 4017–4023. doi: 10.1182/blood-2014-12-580068.

24. Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Clin Oncol* 2015; 33(6): 540–549. doi: 10.1200/JCO.2014.56.2025.

25. Klebanoff CA, Yamamoto TN, Restifo NP. Immunotherapy: treatment of aggressive lymphomas with anti-CD19 CAR T cells. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11(12): 685–686. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.190.

26. Mardiros A, Dos Santos C, McDonald T. T cells expressing CD123-specific chimeric antigen receptors exhibit specific cytolytic effector functions and antitumor effects against human acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 122(18): 3138–3148. doi: 10.1182/blood-2012-12-474056.

# KLINICKÁ ONKOLOGIE

Časopis České onkologické společnosti a Slovenskej onkologickej spoločnosti  
The Journal of the Czech and Slovak Oncological Societies

## REDAKČNÍ RADA

### Výkonná redakční rada (Brno)

#### vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

MUDr. Petr Čoupek  
doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.  
doc. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.

#### výkonný redaktor

doc. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.  
MUDr. Jiří Novák  
prof. MUDr. Aleš Rejthar, CSc.

doc. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.  
RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.  
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

### Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno  
MUDr. Otakar Bednařík, Brno  
doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha  
prof. MUDr. David Cibula, CSc., Praha  
MUDr. Karel Cwierka, Ph.D., Olomouc  
doc. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha  
doc. MUDr. David Felzl, Ph.D., Ostrava  
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc  
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ostrava  
prof. MUDr. Ľudovít Jurga, DrSc., Trnava  
doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha  
prof. MUDr. Ivan Koza, DrSc., Bratislava

assoc. prof. Jeong Eon Lee, M.D., Ph.D., Seoul  
doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava  
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno  
doc. MUDr. Michal Mego, Ph.D., Bratislava  
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc  
doc. MUDr. Beata Mladosičová, CSc., Bratislava  
MUDr. Rudolf Nenutil, CSc., Brno  
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha  
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava  
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., Bratislava  
prof. Yeon Hee Park, M.D., Ph.D., Seoul  
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha  
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno  
doc. MUDr. Luděk Pour, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Igor Puzanov, Nashville  
prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc., Praha  
prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc., Praha  
prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D., Hradec Králové  
prof. MUDr. Jana Skříčková, CSc., Brno  
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., Brno  
MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D., Plzeň  
MUDr. Tomáš Šálek, Bratislava  
prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D., Brno  
doc. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno  
prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc., dr. h. c., Brno  
prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., Brno  
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice

### Čestní členové redakční rady

prof. MUDr. Josef Bilder, CSc., Brno  
prof. Sándor Eckhardt, Budapešť  
prof. Jan Klasterský, Brusel

prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc., Praha  
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno  
prof. MUDr. Zdeněk Mechl, CSc., Brno

MUDr. Jaroslav Němec, CSc., Brno  
doc. MUDr. Ivan Pleško, DrSc., Bratislava  
MUDr. Viliam Ujházy, DrSc., Bratislava

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2015

## KLINICKÁ ONKOLOGIE

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně.

Registrační značka MK ČR 5158. ISSN 0862-495X. ISSN pro on-line přístup 1802-5307.

On-line verze je přístupná na adrese [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz) nebo [www.klinickaonkologie.cz](http://www.klinickaonkologie.cz).

Časopis Klinická onkologie je uveden na Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik vydávaných v ČR, schváleném Radou pro výzkum a vývoj vlády ČR.

Nakladatel: Ambit Media, a.s., Klicperova 604/8, 150 00 Praha 5-Smíchov, tel./fax: +420 222 352 573/572.

Odpovědná redaktorka: Mgr. Simona Nováková, e-mail: [simona.novakova@ambitmedia.cz](mailto:simona.novakova@ambitmedia.cz).

Adresa redakce: Ambit Media, a.s., Media Hall, Bidláky 20, 639 00 Brno.

Grafická úprava: Karel Zlevor. Jazyková korektura: Mgr. Alena Šmídová.

Vychází 6krát ročně. Předplatné na rok 2015 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o předplatném podává a objednávky předplatitelů přijímá: e-mail: [předplatne@ambitmedia.cz](mailto:předplatne@ambitmedia.cz).

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Mgr. Blanka Turínová, e-mail: [blanka.turinova@ambitmedia.cz](mailto:blanka.turinova@ambitmedia.cz), tel.: +420 724 811 983.

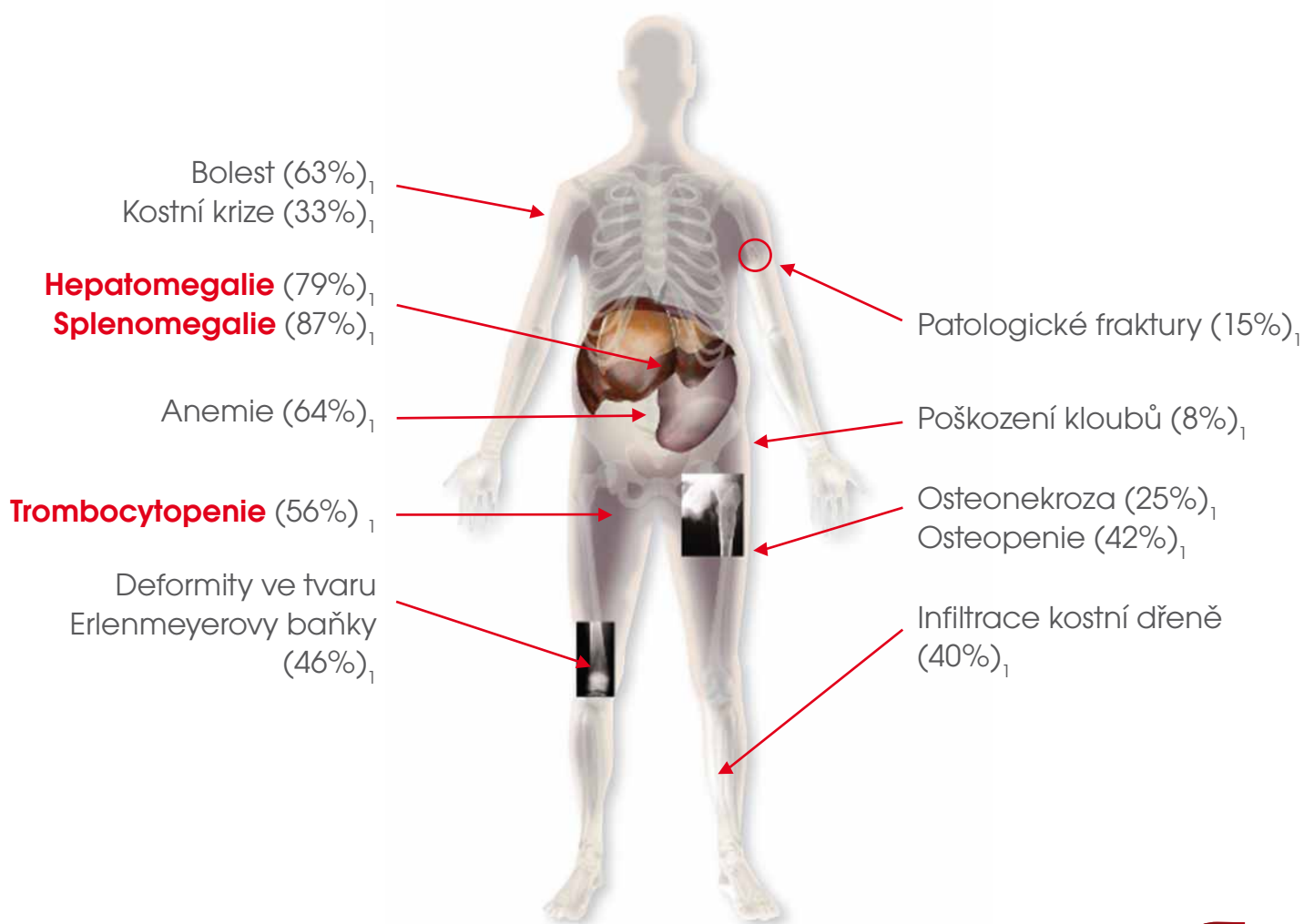
Rukopisy vkládejte do redakčního systému: <http://redakce.ambitmedia.cz/ko>; případné dotazy směřujte na e-mail [klinickaonkologie@mou.cz](mailto:klinickaonkologie@mou.cz)

Redakce časopisu Klinická onkologie, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno, e-mail: [klinickaonkologie@mou.cz](mailto:klinickaonkologie@mou.cz).

Pokyny pro autory naleznete na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz) v sekci časopisu nebo na [www.klinickaonkologie.cz](http://www.klinickaonkologie.cz).

Toto číslo vychází 15. 10. 2015.

# GAUCHEROVA NEMOC



DVA NEJVÝRAZNĚJŠÍ A NEJČASTĚJŠÍ PŘÍZNAKY GAUCHEROVY NEMOCI JSOU SPLENOMEGALIE A TROMBOCYTOPENIE<sub>1</sub>



ZVAŽTE PROSÍM TEST NA GAUCHEROVU NEMOC U VŠECH VAŠICH PACIENTŮ SE **SPLENOMEGALIÍ** A/NEBO **TROMBOCYTOPENIÍ** NEJASNÉHO PŮVODU



GAUCHEROVA  
NEMOC

GAUCHEROVA NEMOC MŮŽE BÝT DIAGNOSTIKOVÁNA, NEBO VYLOUČENA POMOCÍ JEDNODUCHÉHO ENZYMATICKÉHO **KREVNÍHO TESTU**<sub>2</sub>

SKRÍNINGOVÉ SETY PRO VYŠETŘENÍ POMOCÍ SUCHÉ KREVNÍ KAPKY SI MŮŽETE **OBJEDNAT** PROSTŘEDNICTVÍM WEBOVÉ STRÁNKY **WWW.SPRAVNADIAGNOZA.CZ**

(PŘÍSTUPOVÉ ÚDAJE – JMÉNO: SPRAVNA, HESLO: DIAGNOZA)

Literatura: 1. Charrow J et al *Arch Intern Med* 2000;160(18):2835-43. 2. Mistry PK et al *Am J Hematol* 2007;82(8):697-701.

sanofi-aventis, s.r.o., Evropská 846/176a, 160 00 Praha 6  
tel.: +420 233 086 111, fax: +420 233 086 222, e-mail: officecz@genzyme.com

genzyme  
A SANOFI COMPANY

# Jediná monoklonální protilátka prokazatelně účinnější než MabThera<sup>1</sup>

**GAZYVARO**  
obinutuzumab



Více než o **1 rok** delší PFS (29,2 měsíců vs 15,4 měsíců)<sup>1</sup>

**10x** vyšší četnost MRD negativity (37,7 % vs 3,3 %)<sup>1</sup>

**Odlíšný mechanismus účinku**

**100x** vyšší ADCC\* než MabThera<sup>2,3</sup>

**50x** vyšší DCD\*\* než MabThera<sup>4</sup>

**Jiný mechanismus buněčné smrti než je apoptóza<sup>4</sup>**

#### GAZYVARO® – Základní informace o přípravku

**Držitel rozhodnutí o registraci:** Roche Registration Ltd., Welwyn, Velká Británie. **Registrační číslo:** EU/1/14/937/001. **Účinná látka:** Obinutuzumab. Farmakoterapeutická skupina: monoklonální protilátky. ATC kód: L01XC02. **Indikace:** Přípravek Gazyvaro je v kombinaci s chlorambucilem indikován k léčbě dospělých pacientů s dříve neléčenou chronickou lymfocytární leukémií (CLL) a s komorbidity, v důsledku kterých nemohou podstoupit léčbu na bázi fludarabinu v plné dávce. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Upozornění:** Z důvodu snadnější zpětné zjistitelnosti biologických léčivých přípravků má být obchodní název podávaného přípravku zřetelně zaznamenán (nebo vyznačen) v pacientově dokumentaci. Nejčastěji pozorované nežádoucí účinky u pacientů léčených přípravkem Gazyvaro jsou infuzní reakce, které se objevují převážně v průběhu první 1000 mg infuze. V souvislosti s podáním přípravku Gazyvaro byly rovněž hlášeny případy syndromu z uvolnění cytokinů. Pacienti, kteří mají základní srdeční nebo plicní onemocnění, musí být v průběhu podávání infuze i v období po jejím podání pečlivě monitorováni. V průběhu intravenózní infuze přípravku Gazyvaro se může objevit hypotenze. Proto je třeba zvážit vynechání antihypertenzní léčby po dobu 12 hodin před podáním a v průběhu podání infuze a po dobu první hodiny po jejím podání. Pacienti s akutním rizikem hypertenzní krize musí být vyšetřeni s ohledem na přínos a rizika vynechání jejich antihypertenzní léčby. U pacientů léčených přípravkem Gazyvaro byla hlášena anafylaxe. Při podávání přípravku Gazyvaro byl hlášen syndrom nádorového rozpadu (TLS). Pacienti, u kterých je pravděpodobné riziko TLS (např. pacienti s velkou nádorovou masou nebo s vysokým počtem cirkulujících lymfocytů (>25x10<sup>9</sup>/l) musí dostat odpovídající profylaxi nádorového rozpadu urikostatiky (např. alopurinol) a hydrataci počínaje 12–24 hodin před podáním infuze přípravku Gazyvaro. **Klinicky významné interakce:** Žádné studie interakcí nebyly provedeny. Obinutuzumab není substrátem, inhibátorem ani induktorem enzymů cytochromu P450 (CYP450), uridin-difosfát-glukuronyltransferázy (UGT) ani transportéru, jako je glykoprotein P. Proto se při podání s léčivými přípravky, o kterých je známo, že jsou metabolizovány těmito enzymatickými systémy, žádné farmakokinetické interakce neočekávají. **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky:** Nejčastější nežádoucí účinky u pacientů léčených přípravkem Gazyvaro byly infuzní reakce, které se u většiny pacientů objevily v průběhu prvního cyklu léčby, neutropenie a trombocytopenie. Další nežádoucí účinky hlášené v průběhu klinických studií zahrnovaly syndrom nádorového rozpadu, srdeční příhody a velmi vzácně PML. **Dávkování a způsob podání:** Před každou infuzí přípravku je vždy třeba podat premedikaci, kterou tvoří analgetikum/antipyretikum a antihistaminikum. Viz platný Souhrn údajů o přípravku. **Předávkování:** Ve studiích u lidí není zkušenost s předávkováním. **Dostupná balení přípravku:** Gazyvaro 1000 mg koncentrát pro infuzní roztok. **Podmínky uchování:** Při teplotě 2 °C až 8 °C, chránit před světlem. **Datum poslední revize textu:** 23. 7. 2014.

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky.

Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Léčivý přípravek není hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Další informace o přípravku získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku GAZYVARO nebo na adrese: Roche s.r.o., Dukelských hrdinů 52, 170 00 Praha 7; tel.: 220 382 111. Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.ema.europa.eu/>.

\* buněčná smrt závislá na protilátce \*\* přímá buněčná smrt

#### Reference:

- Goede V. et al. Obinutuzumab as frontline treatment of chronic lymphocytic leukemia: updated results of the CLL11 study. *Leukemia*. 2015 Jan 30; doi: 10.1038/leu.2015.14. [Epub ahead of print].
- Mossner E, Brunker P, Moser S, et al. Increasing the efficacy of CD20 antibody therapy through the engineering of a new type II anti-CD20 antibody with enhanced direct and immune effector cell-mediated B-cell cytotoxicity. *Blood* 2010;115:4393–4402.
- Ferrara C, Brunker P, Suter T, Moser S, Puntener U, Umiana P. Modulation of therapeutic antibody effector functions by glycosylation engineering: implications of Golgi enzyme localization domain and co-expression of heterologous beta1,4-N-acetylglucosaminyltransferase III and Golgi alpha-mannosidase II. *Biotechnol Bioeng* 2006; 93:851–861.
- Dalle S, Reslan L, Besseyre T, et al. Preclinical studies on the mechanism of action and the anti-Lymphoma activity of the novel anti-CD20 antibody GA101. *Mol Cancer Ther* 2011; 10:178–185.