

Univerzita Palackého v Olomouci

Lékařská fakulta



# Dizertační práce

Komplexní přístup k diagnostice a léčbě  
nemocných s lymfomem z pláštěvých buněk

1. 5. 2018

MUDr. Aleš Obr

Univerzita Palackého v Olomouci

Lékařská fakulta



Komplexní přístup k diagnostice a léčbě  
nemocných s lymfomem z plášt'ových buněk

MUDr. Aleš Obr

**Dizertační práce**

Olomouc, 2018

Doktorský studijní program: Onkologie

Školitel: Doc. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.

Palacky University Olomouc  
Faculty Of Medicine



A comprehensive approach to the diagnosis  
and treatment of patients with mantle cell  
lymphoma

Aleš Obr, M.D.

**Doctoral thesis**

Olomouc, 2018

Doctoral Study Programme in Oncology

Supervisor: Doc. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.

# Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto doktorskou dizertační práci zpracoval samostatně a že jsem všechny informační zdroje uvedl v seznamu použité literatury. Zároveň tímto souhlasím se zařazením této práce do Lékařské knihovny Lékařské fakulty UP v Olomouci, kde může být dostupná ke studijním účelům. V případě jejího použití pro publikační či přednáškové účely má být tento zdroj řádně citován.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze své práce v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci, 1. 5. 2018

MUDr. Aleš Obr

# Poděkování

Na prvním místě bych chtěl poděkovat svému školiteli a kamarádovi doc. MUDr. Vítu Procházkovi, Ph.D., který nebyl jenom vedoucím mého postgraduálního studia, ale i mým velkým motivátorem a podporovatelem. Jeho zápal pro poznání nového mě stimuloval k vědecké práci i tehdy, kdy běžný pracovní a rodinný život nedával mnoho prostoru k bádání.

Dále děkuji přednostovi naší kliniky panu prof. MUDr. Tomáši Papajíkovi, CSc., který vedl mé Ph.D. studium na začátku této cesty. Profesor Papajík, ještě jako můj vedoucí SVOČ, stojí za prvním impulzem mého odborného směřování k problematice maligních lymfomů. Děkuji také svým kolegům a kolegyním, zdravotnickému personálu, laboratorním specialistům, datamanažerům, asistentkám a všem, kteří přispěli k úspěšnému dopsání této práce. Nemałym dílem se na dizertaci podílela má studentka SVOČ, nyní již lékařka MUDr. Andrea Jirkuvová, která pilným sběrem a prezentací dat úspěšně reprezentovala nejenom sebe ale i celou olomouckou hematologii. Má vděka patří i kolegům z Kooperativní lymfomové skupiny, kteří mi umožnili zpracovat data z českého registru pacientů s nehodgkinovými lymfomy. Diskuse s těmito předními odborníky v oboru, včetně jejich konstruktivní kritiky, mě posunuli jak vědecky, tak lidsky.

Největší díky ale patří mé rodině a přátelům. Bez obrovské podpory manželky Janky a bez její trpělivosti by mi mí tři synové neumožnili dokončit tuto práci. Má žena byla a je schopna, jako jedna z mála osob na tomto světě, tolerovat mé občasné vrtochy a cholericou povahu. Její podpora pro mě byla vždy esenciální složkou chtění pokračovat nejenom ve vědecké práci. Děkuji svým rodičům za to, jako mě vychovávali. Děkuji bratrovi a babke Milke, že při mně vždy stáli.

Bez jedné osoby bych nebyl hematologem a určitě by nedošlo k sepsání této dizertační práce. MUC. Peter Mitterpach, můj spolubydlící na kolejích a přítel z nejbližších, mi ukázal stínnou povahu hematologie. Jeho krátký život je mým doživotním rádcem. Spomínka na Pika mi dodá sílu i tehdy, kdy už nebudu mít odvahu pokračovat v tak překrásném oboru jako je hemato-onkologie. Děkuji za něj.

Tato studie byla podporována projekty IGA-LF-2014-001, IGA\_LF-2015-001, IGA\_LF\_2016\_001, IGA\_LF\_2017\_007, IGA-MZ NT/13072-4 a AZV 16-31092A.

# Obsah

## 1. Teoretická část

|        |                                      |    |
|--------|--------------------------------------|----|
| 1.2.   | Úvod                                 | 10 |
| 1.3.   | Epidemiologie                        | 10 |
| 1.4.   | Morfologie                           | 12 |
| 1.5.   | Patogeneze                           | 15 |
| 1.6.   | Klinické projevy                     | 18 |
| 1.7.   | Diagnóza a diferenciální diagnostika | 20 |
| 1.8.   | Stážování                            | 26 |
| 1.9.   | Prognostické a prediktivní faktory   | 28 |
| 1.10.  | Terapie                              | 34 |
| 1.2.1. | Léčba 1. linie                       | 36 |
| 1.2.2. | Udržovací terapie po 1. linii léčby  | 37 |
| 1.3.3. | Léčba relapsu                        | 38 |



## 2. Praktická část

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 2.1.   | Cíle práce   | 40 |
| 2.2.   | Soubory pacientů a metodika  | 41 |
| 2.3.   | Unicentrická analýza vybraných laboratorních a klinických prognostických ukazatelů             | 42 |
| 2.3.1. | Celkový objem nádorové masy v čase diagnózy a dosažení kompletní metabolické odpovědi po léčbě | 42 |
| 2.3.2. | $\beta$ -2 mikroglobulin a sérová thymidin kináza  | 46 |
| 2.3.3. | Komplexní karyotyp a mutace genu TP53  | 51 |
| 2.4.   | Multicentrická analýza udržovací terapie rituximabem u MCL v ČR                                | 60 |
| 2.5.   | Závěr  | 70 |
| 3.     | Seznam zkratk  | 74 |
| 4.     | Seznam použité literatury  | 78 |
| 5.     | Webové zdroje  | 94 |

# 1. Teoretická část

## 1.1 Úvod

---

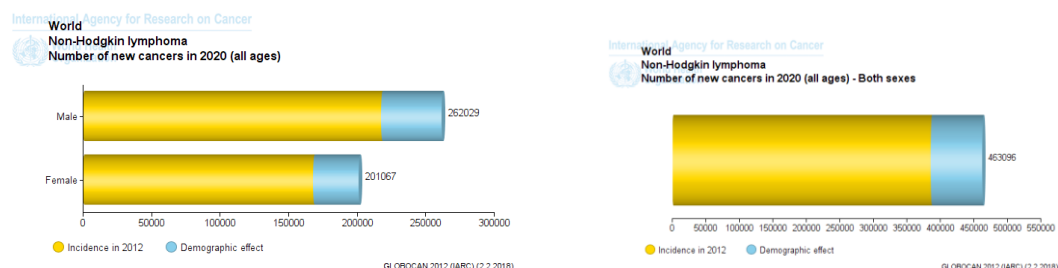
Lymfom z pláštěvých buněk (mantle cell lymphoma, MCL) je stále poměrně mladou diagnostickou jednotkou ve spektru Nehodgkinových lymfomů (NHL). Od jeho prvního popisu Raffeldem M. (1991) a Banksem P.M. (1992) uplynulo jen něco přes 25 let. Ti první použili pojmenování „lymfom z buněk pláště“, aby popsali klinicky i biologicky variabilní podtyp lymfomu z malých lymfocytů se specifickou translokací  $t(11;14)(q13;q32)$ . Od této doby prochází náhled na toto onemocnění nepřetržitým vývojem a na poli predikce osudu nemocného se každým rokem objeví množství nových informací. Vzhledem k různorodosti biologické povahy a klinického chování MCL je v době diagnózy poměrně těžké předpovídat vývoj choroby a prognózu nemocného.

## 1.2 Epidemiologie

---

Lymfom z pláštěvých buněk je maligní lymfoproliferativní onemocnění patřící do skupiny NHL. Ty patří spíše k raritním nádorovým onemocněním. Tvoří 3-4 % všech malignit (Ferlay J et al. 2010). MCL pak tvoří 2-10 % ze všech NHL. Roční incidence MCL je kolem 0,5/100.000 obyvatel. Nově diagnostikovaných nemocných je ročně nepatrně víc u bělochů (0,6/100.000 obyvatel) než u asiátů anebo černochoů (0,3/100.000 obyvatel) (Smedby KE et al. 2011). Tendence vzestupu incidence je podobná jako u

jiných NHL (Sant M et al. 2010, Morton LM et al. 2006). Podle GLOBOCAN 2012 tedy můžeme očekávat její stoupající charakter podobně jako u jiných NHL (graf č. 1).



Graf č. 1. Předpoklad vývoje incidence Nehodgkinových lymfomů ve světové populaci bez ohledu na věk u mužů ve srovnání se ženami a bez ohledu na pohlaví nemocných v době diagnózy podle GLOBOCAN 2012.

Medián věku v době diagnózy je 60-70 let s častějším výskytem u mužů než u žen v poměru 2-3:1. Poměr zastoupení pohlaví u nemocných je podobné jako u jiných podtypů B-buněčných NHL, snad kromě leukémie z vlasatých buněk anebo Burkittova lymfomu (Jaffe ES et al. 2001).

Dosud nebyly jasně identifikovány žádné rizikové faktory specificky zodpovídající za vznik MCL. Nebyl popsán jednoznačný vliv virů (Epstein-Barrové, nebo lidského T-cell leukemia/lymphoma viru) na patogenezi MCL. Schollkopf C. a kolektiv v roce 2008 popsali možný vliv infekce *Borrelia burgdorferi* na riziko rozvoje MCL. Tato analýza však byla založena jen na sérologických testech a epidemiologických datech, bez využití molekulárních vyšetřovacích metod. Na rozdíl od ostatních maligních lymfomů nebyl nalezen žádný vztah mezi vznikem MCL a získaným imunodeficitem nebo jinými

nemocemi imunitního systému (Clapp RW et al. 2008). Obecně může řada chemických látek iniciovat rozvoj ne Hodgkinových lymfomů včetně MCL. Zde je nutno zmínit zejména chemická rozpouštědla či pesticidy. (Clapp RW et al. 2008, Eriksson M et al. 2008). Nelze opomenout ani kouření nebo nadměrné pití alkoholu jako možné etiologické faktory vzniku NHL (Zhang Y et al. 2011).

Výskyt MCL, podobně jako jiných NHL, byl popsán u rodinných příslušníků jedné příbuzenské linie (rodiče – děti). U potomků rodičů, kteří onemocněli lymfomem, bylo častěji pozorováno toto nádorové onemocnění než u jedinců bez rodinné zátěže. To by mohlo vysvětlovat genetickou predispozici k rozvoji lymfoidní neoplázie. Tort F. a kolektiv (v r. 2004) dokonce popisují případ rodiny, kde byla otcí ve věku 77 let diagnostikována chronická lymfocytární leukémie (CLL), která byla později podle morfologických rysů překlasifikována na MCL. Jeho dcera se od 43 let léčila s B-buněčnou lymfoproliferací. Po opakovaných relapsech byla v této nádorové populaci prokázána přítomnost translokace t(11;14), která je základním diagnostickým znakem MCL. Našli se i klinické záznamy, podle kterých babička této pacientky (matka otce) mohla mít CLL.

### 1.3 Morfologie

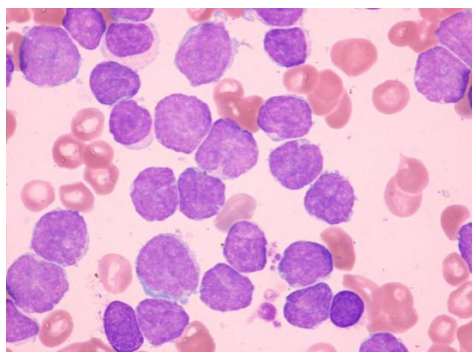
---

MCL obvykle tvoří monomorfní populace patologicky změněných lymfocytů. Nádorové buňky mívají chudou cytoplazmu a často nepravidelné nebo „rozštíplé“ jádro s jemným chromatinem. Podle struktury a velikosti buněk rozlišujeme několik cytologických variant lymfomu.

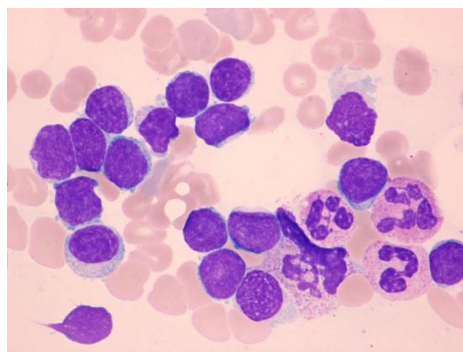
U „**klasické varianty**“ MCL je nádorový klon tvořen uniformní populací buněk malé až střední velikosti s nepravidelným jádrem a nenápadným jádérkem.

„**Malobuněčnou variantu**“ tvoří malé lymfocyty s hustým chromatinem podobně jako je tomu u buněk chronické lymfocytární leukémie a lymfomu z malých lymfocytů. Tato varianta je nejčastěji přítomna u pacientů s leukemickým obrazem v periferní krvi, splenomegalií a absencí významnějšího zvětšení lymfatických uzlin. Průběh onemocnění je v tomto případě obvykle pozvolný jako u jiných indolentních lymfoproliferací (Ondrejka SL et al. 2011). Méně často buňky připomínají lymfoblasty, odkud i název „**blastická varianta**“ MCL. Její buňky mají velké jádro s disperzním chromatinem a vysokou proliferační aktivitou. „**Pleomorfní varianta**“ je tvořena heterogenní populací větších buněk s vyšší proliferační aktivitou. Ta ale nedosahuje hodnot blastické varianty MCL. Poslední dvě jmenované jsou spojené s významně horší prognózou choroby (Vogt N et al. 2013, Bernard M et al. 2001). Je nutné podotknout, že jednotlivé cytologické subtypy MCL se mohou vzájemně prolínat a vytvářejí tak heterogenní neoplastickou populaci s velmi variabilním a obtížně odhadnutelným klinickým chováním. Základní cytologické varianty jsou naznačeny na obr. č. 1. Změny struktury nádorové lymfatické uzliny odpovídají pokročilosti infiltrace tkáně lymfomem. Podle těchto změn rozlišujeme tři základní typy MCL. Znakem časně infiltrace tkáně je zvětšená plášťová zóna lymfatického folikulu (26 % případů), kde nádorové buňky obklopují obvykle atrofovaná germinální centra. Následuje nodulární typ infiltrace (13 % případů), kde nádorové buňky tvoří nejednoznačně ohraničené „uzly“ v lymfatické tkáni. Nejčastější histologickou variantou je difuzní typ MCL (61 % případů), charakterizovaný rovnoměrnou infiltrací lymfatické uzliny monomorfními buňkami podobnými centrocytům. Lymfatická uzlina zde má obvykle zcela setřelou strukturu. Nově je k těmto morfologickým subtypům přidáno i šíření MCL „in situ“, které je typické

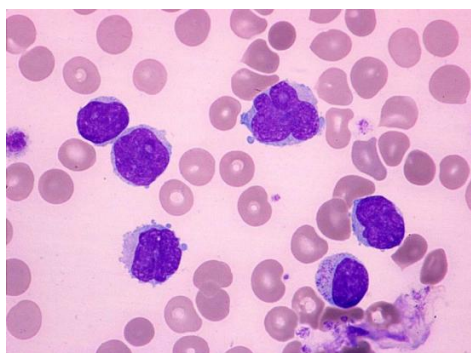
jen minimálním zvětšením plášťové zóny lymfatické uzliny (Ondrejka SL et al. 2011, Vogt N et al. 2013, Bernard M et al. 2001, Duggan MJ et al. 1990).



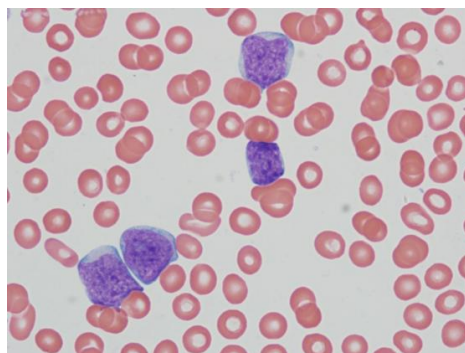
Klasická varianta



Malobuněčná varianta



Pleomorfní varianta



Blastická varianta

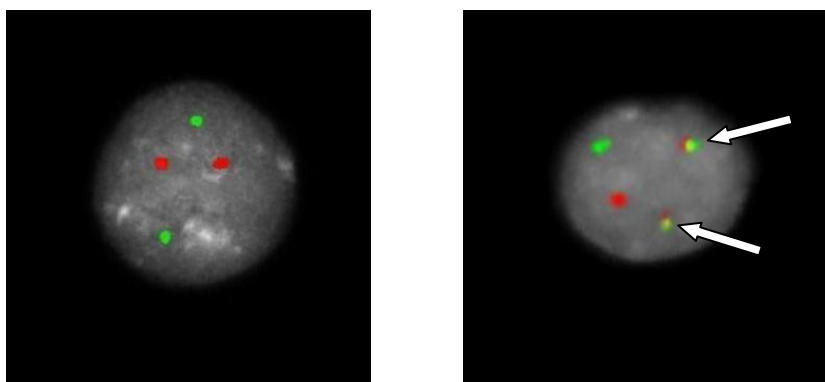
Obrázek č. 1. Základní cytologické varianty lymfomu z plášťových buněk.

(Zdroj: osobní archiv prim. MUDr. Davida Starostky, Ph.D.. Použito s jeho laskavým svolením)

## 1.4 Patogeneze

---

Lymfom z pláštěvých buněk je charakterizován specifickou translokací  $t(11;14)(q13;q32)$ , která má zásadní vliv na patogenezi lymfomu. Translokace vede k tvorbě derivovaného chromozomu 11 (chr. 11), který je výrazně kratší než normální chromozom 11, a derivovaného chromozomu 14 (chr. 14), který je naopak výrazně delší. Při vzniku této translokace dochází ke zlomu v blízkosti genu pro cyklin D1 (*CCND1*; syn. *BCL1*, *PRADI*) v oblasti chromozomu 11q13 a jeho přemístění do variabilní oblasti genu pro těžké řetězce imunoglobulinu (*IGVH*) na chromosomu 14q32 (obr. č. 2).



Obrázek č. 2. Detekce  $t(11;14)(q13;q32)$  fluorescenčně značenou genovou sondou  
A) negativní nález; B) pozitivní nález (označeny šipkami) (Obr A et al. 2016).

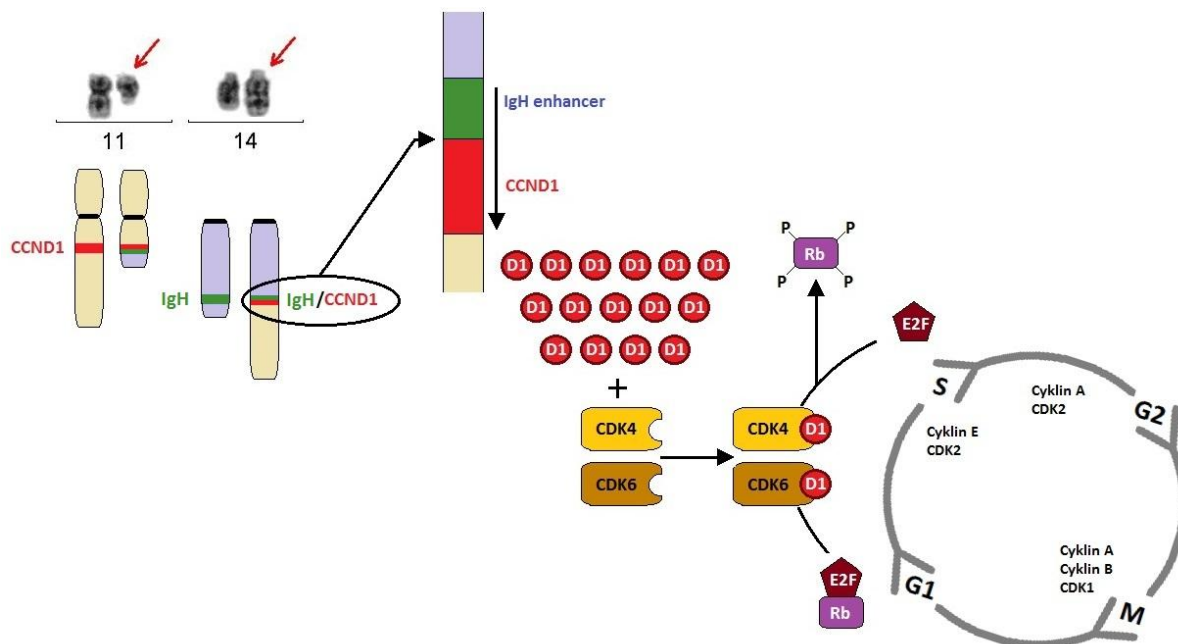
Zlomové místo genu *BCL1* se v 50-70 % případů nachází v oblasti zvané MTC (major translocation cluster), existuje ale řada dalších zlomových míst nazývaných mtr (minor translocation regions) (Gao J et al. 2009). Pomocí molekulárně biologických metod založených na polymerázové řetězcové reakci (PCR) lze prokázat přítomnost

t(11;14)(q13;q32) pouze pokud dojde ke zlomu v MTC oblasti. Pro určení translokace a fúze genů nezávisle na lokalizaci zlomu je využívána metoda fluorescenční in situ hybridizace (FISH) (obr. 3). Tato cytogenetická metoda využívá komerčně připravené sondy pokrývající celé geny BCL1 i IGH a umožňuje určit translokaci bez závislosti na místě zlomů. Vzácně se vyskytují i variantní translokace zahrnující geny pro lehké řetězce imunoglobulinu kappa t(2;11)(p11;q13) nebo lambda t(22;11)(q11;q13) (Gualco G et al. 2010, Fu K et al. 2005).

Na derivovaném chromozomu 14 vzniká fúzní gen IgH/CCND1. Produktem této chromozomální aberace je zvýšená exprese regulačního proteinu cyklin D1. V normálních lymfocytech expresi cyklinu D1 detekovat nelze, ovšem následkem t(11;14), resp. t(2;11)/t(11;22), je gen CCND1 konstitutivně přepisován a jeho hladina zůstává v buňkách MCL vysoká. Cyklin D1 funguje jako spouštěč buněčného cyklu, vazbou s cyklin-dependentní kinázou 4 a 6 (CDK4, CDK6) vytváří komplex, který fosforyluje Rb1 protein a dochází k aktivaci řady transkripčních faktorů, které umožní vstup do další fáze buněčného cyklu (Obr A et al. 2016). Přehledné grafické schéma tohoto procesu je načrtnuto na obr. č. 3.

Hyperexpresi cyklinu D1 je možné stanovit pomocí imunohistochemických anebo molekulárně biologických metod. U pacientů, kteří jsou cyklin D1 negativní může být přítomna vysoká exprese cyklinu D2, cyklinu D3 anebo cyklinu E. Vysoká exprese těchto cyklinů může být výsledkem translokace genů s těžkými nebo lehkými řetězci imunoglobulinů. Přítomnost zvýšené exprese cyklinu D2 a D3 ale není zcela specifická a byla pozorována také u jiných typů lymfoproliferací jako je Burkittův lymfom (BL) nebo lymfoblastický lymfom (LBL) (Fu K et al. 2005, Wlodarska I et al. 2008).





Obrázek č. 3. Schéma t(11;14)(q13;q32) a její vliv na patogenezi MCL

(Mikešová M., cytogenetická laboratoř Hemato-onkologické kliniky Fakultní nemocnice Olomouc, 2016)

Samotná zvýšená exprese cyklinu D1 (anebo D2 či D3) ale nestačí k maligní transformaci lymfocytární populace. Na patogenezi MCL se podílejí i další sekundární alterace genů, které deregulují signální dráhy uplatňující se u odpovědi na poškození DNA, buněčné proliferace a apoptóze. Zásadní roli v molekulární patogenezi MCL hrají B-buněčný receptor (BCR), nukleární faktor-kappa B (NF-κB), fosfatidylinositol-3-kináza (PI3K) a BCL2 signalizace. Pozorovány byly i aktivace Janusové kinázy (JAK)/signální transduktor a aktivátor transkripce 3 (STAT3), NOTCH a signální dráhy WNT (Vogt N et al. 2017).

S konkrétní morfologickou variantou lymfomu mohou souviset i další sekundární genetické změny. Klasická varianta MCL je spojována s menším množstvím

chromosomových změn. Zatímco blastoidní a/nebo pleomorfní varianty jsou charakterizovány velkým počtem změn s častou amplifikací genů v oblastech 3q, 7p, 8q24 (gen MYC) a 12q13 (geny CDK4 a MDM2), delecí v oblastech 1p, 9q21 (gen CDKN2A) a delecí 17p13 (gen TP53) včetně mutace tohoto genu (Beà S et al. 1999, Pinyol M et al. 1997, Espinet B et al. 2010, Hernández L et al. 2010, Eskelund CHW et al. 2017). Vzácně se objevuje t(11;14) společně s přestavbou genu MYC. Téměř ve všech popsanych případech je tento nález spojen s blastoidní variantou (Hao S et al. 2002, Michaux L et al. 2004). Častým nálezem u MCL je i delece/mutace genu ATM (ataxia telangiectasia mutated) v oblasti 11q23. Tato aberace se nachází přibližně u 56 % případů (Greiner TC et al. 2006). Leukemické formy MCL jsou často asociovány s delecí oblasti 8p, a to až v 79 % případů. Delece je navíc nezdřídka doprovázena i amplifikací genu MYC (Martinez-Climent JA et al. 2001). Až v 95 % případů tohoto lymfomu byla pozorována nadměrná exprese transkripčního faktoru SOX11 (Mozos A et al. 2009, Narurkar R et al. 2016). Nádorová buněčná populace s pozitivitou SOX11 pravděpodobně neprochází germinálním centrem lymfatické uzliny a je náchylnější k získané deregulaci buněčného cyklu, poškození DNA a některých signálních drah. Naopak nádorové lymfocyty se SOX11 negativitou jsou geneticky stabilnější a preferenčně infiltrují kostní dřeň, periferní krev a slezinu. Lze tedy předpokládat, že i SOX11 hraje významnou roli v rozvoji a dynamice MCL (Swerdlow SH et al. 2016).

Nemalý podíl na patogenezi MCL bude mít i nádorové mikroprostředí. Tato problematika je ale natolik komplexní a obsáhlá, že svým rozsahem přesahuje rámec této dizertační práce.

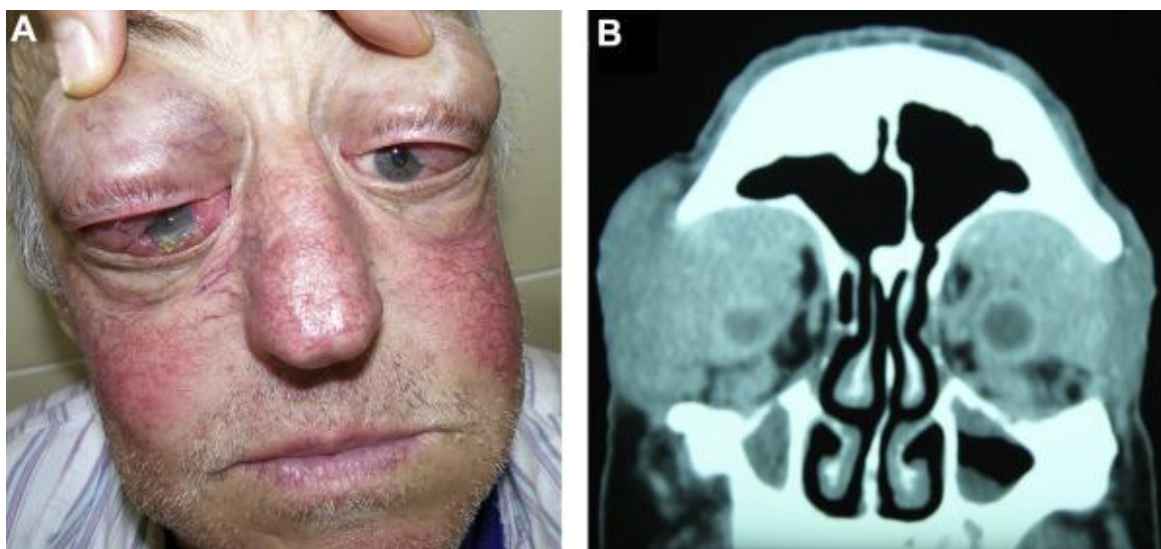
## 1.5 Klinický průběh

---

Pacienti s novou diagnózou MCL jsou nejčastěji muži ve věku od 60 do 70 let. Ve většině případů bývá nemoc zjištěna již v pokročilém stádiu. Systémové příznaky (B-symptomy) jsou přítomny zhruba u poloviny nemocných (O'Connor OA. 2014) Primární manifestací choroby je u  $\frac{3}{4}$  pacientů lymfadenomegálie. U zbylé  $\frac{1}{4}$  nemocných je prvotním projevem postižení extranodální lokality (Argatoff LH et al. 1997). Typickými místy vstupního postižení lymfomem jsou lymfatické uzliny, slezina či kostní dřeň. V případech vyplavování nádorových lymfocytů do periferní krve hovoříme o leukemizující formě MCL. Infiltrace kostní dřeně u MCL je častá (50-82 %). Ve 20-30 % případů je přítomná infiltrace kostní dřeně v kombinaci s detekcí nádorových lymfocytů v periferní krvi. Tyto projevy jsou známky tzv. leukemické prezentace MCL (Adam Z et al. 2008). Kolem 30 % pacientů se v době diagnózy prezentuje lehkou lymfocytózou, splenomegálií a nevýraznou lymfadenopatií při absenci bulku lymfatických uzlin. Tito nemocní mají obvykle indolentní průběh onemocnění (tzv. CLL-like) často bez nutnosti okamžitého zahájení protinádorové terapie (Martin P et al. 2011).

Kromě výše popsaných lokalit jsou dalšími možnými projevy postižení gastrointestinálního traktu či Waldeyerova okruhu. Výjimkou není ani mnohočetná lymfomatoidní polypóza jako prvotní manifestace MCL (Adam Z et al. 2008). Postižení centrálního nervového systému v době diagnózy bývá přítomno v méně než 5 % případů (Cheah CY et al. 2013).

Agresivní formy nemoci se můžou projevovat infiltrací v atypických lokalitách jako je například postižení očí a přilehlých struktur (obr. č.3) (Rašić MD et al. 2017).



Obrázek č. 3. Bilaterální infiltrace očí včetně přilehlých struktur u nemocného s blastickou variantou MCL (obr. A) včetně zobrazení počítačovou tomografií (obr. B). (Rašić MD et al. 2017).

## 1.6 Diagnóza a diferenciální diagnostika

---

Diagnostika MCL je postavena zejména na histologickém vyšetření dostatečně reprezentativního vzorku nádorově pozměněné tkáně. Stran diagnostických odběrů vzorku postupujeme vždy od méně invazivních (exstirpace periferní lymfatické uzliny) až po operační výkony v celkové anestezii (laparotomie nebo laparoskopie, thorakotomie nebo thorakoskopie). Až v případě neadekvátního operačního rizika nebo v situaci, kdy není

možné operační výkon provézt, volíme biopsii za asistence CT anebo ultrasonografie. V krajních případech je možné použít k diagnostice imunohistologické vyšetření kostní dřeně. Imunofenotypizace průtokovou cytometrií (flowcytometrie, FCM) anebo cytologické vyšetření aspirátu kostní dřeně jsou k diagnostice postačující jenom v případech CLL-like MCL, kdy není k dispozici jiný diagnostický biologický materiál.

Základem diagnostiky lymfomů je imunohistochemické vyšetření nádorové tkáně fixované ve formolu a zalité do parafínu. V indikovaných případech je metodou volby doplňující in situ hybridizace vyšetřovaného materiálu. Z nativního vzorku je možné genetické a FCM vyšetření. Tito vyšetřovací techniky můžou doplnit a upřesnit stávající imunohistologickou diagnostiku. Diagnóza by měla být vždy stanovena specialistou na hematologické malignity – hematopatologem. K objektivizaci výsledku a potvrzení jeho validity by měl být původní vzorek podstoupen nezávislému referenčnímu hematopatologovi ke druhému čtení.

V případě, že z odebraného vzorku nelze stanovit jednoznačnou diagnózu anebo v případě nereprezentativního či zhmožděného vzorku, by měl být vyšetřovaný indikován k opakovanému odběru validního vzorku ze suspektní nádorové tkáně (Mayer J et al. 2016).

Punkce mozkomíšního moku je indikována jen v rámci došetřování rozsahu vysoce rizikového onemocnění zejména u blastické anebo pleomorfní varianty MCL. K definitivní diagnostice je analýza mozkomíšního moku nepostačující.

Výsledek vyšetření vzorku odebrané tkáně je vydáván hematopatologem v písemné podobě. Text pozůstává z makroskopického, mikroskopického popisu a z výsledku imunohistochemického vyšetření. Závěr obsahuje definitivní diagnózu anebo v některých případech diferenciálně diagnostickou rozvahu (Mayer J et al. 2016).

Pro určení druhu lymfomu je závazné užití aktuální revize klasifikace Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) z roku 2016, která vznikla na základě konsenzu genetiků, hematopatologů a kliniků. Aktuální vydání navazuje na WHO klasifikaci z roku 2008 (Swerdlow SH et al. 2016, Campo E et al. 2011). Verze z roku 2016 upřesňuje jednotlivé kategorie lymfoproliferací se zohledněním nových poznatků v oblasti cytogenetiky a molekulární biologie. MCL řadí mezi zralé B-buněčné neoplázie. *Klasický lymfom z pláštěových buněk* je tvořený IGHV nemutovanými anebo minimálně mutovanými B-buňkami, které obvykle exprimují SOX11. Přidatné cytogenetické a molekulárně biologické abnormality mohou vést až k *blastické a/nebo pleomorfní variantě MCL*. Lymfom tvořený mutovanými IGHV a SOX11 negativními B-buňkami vede ke vzniku *nonnodální leukemické varianty MCL*. Novou diagnostickou jednotku tvoří in situ neoplázie z buněk pláště (in situ mantle cell neoplasia, ISMCN), která je typická pozitivitou cyklinu D1. Nádorové lymfocyty ISMCN jsou nejčastěji tvořeny buňkami vnitřní pláštěové zóny lymfatických folikulů. Často se jedná o náhodný diagnostický nález (Swerdlow SH et al. 2016).

Imunofenotyp nádorové populace odpovídá původu nádorových B-buněk. Typická je pozitivita CD19, CD20, CD22, CD79a a CD79b. Buňky MCL na svém povrchu dále exprimují imunoglobuliny třídy IgM a IgD. Negativní bývají CD3, CD11c, CD10. Nepřítomnost CD23 a CD200 má diferenciálně diagnostický význam a pomáhá k odlišení MCL od CLL. U blastické nebo pleomorfní varianty často nacházíme méně obvyklý imunofenotyp patologických lymfocytů. Ve 12 % případů je nepřítomen znak CD5. Přítomny bývají znaky CD10 (8 %), CD23 (21 %) a MUM1 (35 %) (Swerdlow SH et al. 1983, Weisenburger DD et al. 1982).

Pro MCL je charakteristická, jak bylo již výše popsáno, přítomnost translokace t(11;14)(q13;q32) a jaderná pozitivita cyklinu D1. U cyklin D1 negativních případů mohou být specifickými diagnostickými ukazateli pozitivita cyklinu D2, cyklinu D3 anebo SOX11 (Aqel N et al. 2008).

Neoplastickou populaci MCL je nutno odlišit od jiných lymfoproliferativních onemocnění jako jsou chronická lymfocytární leukémie/lymfom z malých lymfocytů (CLL/SLL), lymfom marginální zóny (MZL), lymfoplazmocytární lymfom (LPL), LBL a BL. Jak již bylo uvedeno výše zásadním prvkem diagnostiky je u MCL cytogenetické vyšetření s průkazem přítomnosti translokace t(11;14)(q13;q32), popřípadě vyšetření zvýšené exprese cyklinu D1 imunohistochemicky či molekulárně biologicky. Nejčastěji působí diferenciálně diagnostické problémy odlišení MCL od CLL/SLL. Pro imunofenotyp MCL je ve srovnání s CLL/SLL typická negativita znaků CD23 a CD200. Naopak u MCL bývá silně exprimován cyklin D1, který je u CLL/SLL negativní. Pro buňky LPL jsou typická pravidelná jádra, negativita znaku CD5 a chybějící exprese cyklinu D1. Pro MZL může být ve srovnání s MCL přítomné rozšíření marginální i plášťové zóny lymfatické uzliny, polymorfní buněčná populace, negativita CD5 i cyklinu D1. U MZL bývá slabě exprimován znak CD43, který se u MCL nachází ve většině případů. Pro folikulární lymfom (FL) je typická intaktní síť folikulů, jejichž struktura bývá u MCL často změněná. U FL je negativní znak CD5, cyklin D1 není exprimován, naopak CD10 bývá přítomen. Rozdíl mezi LBL a MCL je zejména ve věku v době diagnózy. LBL bývá nově diagnostikován zejména u mladších nemocných (15-25 let). U blastického MCL je věk v čase diagnózy nižší než u klasického typu MCL, ale nedosahuje tak nízkých hodnot jako u LBL. Zásadní rozdíl je v původu nádorových buněk, jejich fenotypu a genetických změnách. U BL chybí negativní znak CD5 a není přítomna exprese cyklinu

D1. Naopak jsou přítomny CD10 a translokace zahrnující gen MYC. A nakonec je nutné v některých případech odlišit MCL od neklonální reaktivní lymfocytární hyperplázie. Tu tvoří smíšená populace malých kulatých lymfocytů bez klonální přestavby, obvykle bez koexprese CD43 a CD5. Translokace t(11;14)(q13;q32) ani zvýšená exprese cyklinu D1 nejsou přítomny. Základní diferenciálně diagnostické znaky jsou shrnuty v tabulce (tab.č. 1).



|                | Cyklin D1 | CD5 | CD23 | CD200 | CD43                 | CD10 | Specif. genet. změny | Věk při dg. (roky)  |
|----------------|-----------|-----|------|-------|----------------------|------|----------------------|---------------------|
| <b>MCL</b>     | +         | +   | -    | -     | + ve většině případů | -    | t(11;14)             | 50 – 70             |
| <b>CLL/SLL</b> | -         | +   | +    | +     | +                    | -    | N/A                  | 60 - 75             |
| <b>LPL</b>     | -         | -   | +/-  | -     | -                    | -    | N/A                  | 55 - 70             |
| <b>MZL</b>     | -         | -   | -    | -     | Slabě pozitivní      | -    | N/A                  | 60 - 80             |
| <b>FL</b>      | -         | -   | -    | -     | -                    | +    | t(14;18)             | 65 - 80             |
| <b>LBL</b>     | -         | -   | -    | +/-   | +/-                  | +/-  | N/A                  | 15 – 25             |
| <b>BL</b>      | -         | -   | -    | -     | -                    | +    | Zahrnující MYC       | 45 – 55 a 75 a více |

(**MCL** lymfom z buněk pláště, **CLL/SLL** chronická lymfocytární leukémie/lymfom z malých lymfocytů, **LPL** lymfoplazmocytární lymfom, **MZL** lymfom marginální zóny, **FL** folikulární lymfom, **LBL** lymfoblastický lymfom, **BL** Burkittův lymfom; + znak přítomen, - znak nepřítomen)

Tabulka č. 1. Základní diferenciálně diagnostické znaky lymfomu z buněk pláště a dalších vybraných lymfoproliferativních onemocnění

## 1.7 Stážování

---

K popisu rozsahu nemoci je používán stážovací systém dle doporučení z Ann Arbor, resp. rozšířená Ann Arbor klasifikace při infiltraci lymfatického systému (lymfatické uzliny, Waldeyerův okruh, slezina, thymus, appendix a Peyerovy plaky) (Greene FL et al. 2002, Lister TA et al. 1989).

Při extranodálním postižení byly základní pojmy týkající se rozsahu nemoci definovány českou Kooperativní lymfomovou skupinou (KLS). Podle doporučení KLS rozlišujeme lokalizované, diseminované a difuzní postižení extranodálního orgánu. Z praktického hlediska jsou extranodální orgány rozděleny na „velké“ a „malé“. Mezi „velké“ extranodální orgány patří plíce, játra, kostra, měkké tkáně a mezotel – pleura, perikard, pobřišnice. Mezi „malé“ patří štítná žláza, děloha, slinivka břišní, jednostranné postižení slinné žlázy, nadledviny, ledviny, prsu, varlete, očních adnex, atd. (Sýkorová A et al. 2010). Nejcitlivějším zobrazovacím vyšetřením k určení stádia choroby je pozitronová emisní tomografie kombinovaná s výpočetní tomografií (PET/CT), které v sobě slučuje vyhodnocení jak metabolické aktivity choroby pomocí PET s použitím fluorodeoxyglukózy značené izotopem  $^{18}\text{F}$  ( $^{18}\text{F}$  - fluorodeoxyglukóza), tak přesné anatomické lokalizace postižení pomocí CT (obr č. 4). Indikace PET/CT je doporučena zejména u nemocných s limitovaným stádiem MCL (I/II) v rámci iniciálního vyšetření (Dreyling M et al. 2014) nebo u nemocných s extranodálním postižením. Toto vyšetření je dobře využitelné k diagnostické cílené biopsii či excizi z nádorové masy (Barrington SF et al. 2014). Metodami volby zobrazovacího vyšetření rozsahu onemocnění mohou být CT, sonografické vyšetření či RTG. Endoskopické vyšetřovací metody mají své místo zejména v případech mnohočetné lymfomatózní polypózy u MCL primárně infiltrujících GIT.

Kromě stanovení rozsahu choroby slouží i jako diagnostické vyšetření. Součástí stážovacích vyšetření jsou i odběry kostní dřeně – aspirace i trepanobiopsie. Součástí zhodnocení aspirátu je morfologické vyšetření nátěrů kostní dřeně. Dále by měl být aspirát odeslán k vyšetření průtokovou cytometrií, molekulárně biologickému a cytogenetickému vyšetření. Při vyšetření vzorku z trepanobiopsie je nutno při vyhodnocování imunohistochemických parametrů brát ohled i na možnou, ne zcela raritní, atypii profilu MCL. Při podezření na leukemizující MCL je možné flowcytometrické vyšetření punktátu periferní krve. Lumbální punkce se iniciálně rutinně neprovádí. Výjimkou jsou případy se vstupní neurologickou symptomatologií při podezření na infiltraci CNS anebo u vysoce rizikových nemocných. Týká se to zejména blastických forem MCL.



Obrázek č. 4. Vyšetření  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglukóza PET/CT k zhodnocení rozsahu nádorového postižení (nádorová infiltrace označena šipkami). Vstupní snímky pacienta s novou diagnózou lymfomu z buněk pláště původně došetřovaného pro dyspepsie a váhový úbytek (Obr A et al. 2016)

## 1.8 Prognostické faktory

---

Prognóza nemocných s MCL je velmi heterogenní. Asi u 30 % nemocných je popisován indolentní průběh choroby (Martin P et al. 2009, Martin P et al. 2011). Na druhé straně může dynamika průběhu nemoci připomínat chování agresivních rychle

proliferujících lymfoidních malignit. K odhadu vyhlídek je nutná co možná nejpreciznější prognostická stratifikace.

Pracovní skupina European MCL Network (EMCLN) stanovila MIPI (MCL international prognostic index) jako první specifický prognostický index pro nemocné s MCL. Zohledňuje věk, stav tělesné kondice dle Eastern Cooperative Oncology Group Performance (ECOG), hladinu laktát-dehydrogenázy (LDH) a celkový počet bílých krvinek v periferní krvi. Výsledné skóre získáme výpočtem poměrně složité rovnice:  $[0,03535 \times \text{věk (roky)}] + 0,6978$  (když ECOG > 1) +  $[1,367 \times \log_{10}(\text{LDH/horní limit normy LDH})] + [0,9393 \times \log_{10}(\text{absolutní počet leukocytů})]$ . Podle dosaženého skóre rozdělujeme pacienty do tří prognostických skupin - s nízkým (MIPI < 5,7), středním (MIPI  $\geq 5,7 < 6,2$ ) a vysokým rizikem (MIPI  $\geq 6,2$ ). Ke zjednodušení výpočtu je dostupná jedna z více online internetových aplikací (např. [http://www.european-mcl.net/en/clinical\\_mipi.php](http://www.european-mcl.net/en/clinical_mipi.php)), ve kterých je pacient rovnou po určení výsledného MIPI zařazen do jedné z prognostických (Hoster E et al. 2008).

V běžném klinickém použití je praktičtější stratifikovat nemocné pomocí zjednodušeného MIPI (sMIPI), kde jsou bodově specifikovány jednotlivé hodnoty nezávislých prognostických ukazatelů (tab. č. 2).

Jako zásadní prognostický ukazatel byla popsána intenzita proliferace nádorových buněk hodnocená pomocí antigenu Ki-67 (Klapper W et al. 2009). Index Ki-67 je definován jako procentuální poměr dělících se buněk v hodnotitelných polích tkáňového řezu histopatologického vzorku. Hodnota indexu se podle doporučení EMCLN počítá ze dvou zorných polí po 100 buněk (Dreyling M et al. 2014). Vysoká hodnota proliferačního indexu Ki-67 silně koreluje s horší prognózou choroby. Jako nezávislý ukazatel je dokonce silnějším prediktor prognózy než cytologický obraz (blastická vs „ne-blastická“

varianta MCL) nebo charakter růstu MCL (difuzní vs „ne-difuzní“ růst). Jeho význam je zohledněn i ve specifitějším prognostickém indexu pro MCL – MIPIb (kombinovaný biologický MIPI). MIPIb rozděluje pacienty do tří rizikových skupin podobně jako tomu je u MIPI (Hoster E et al. 2008).

Výše popsané prognostické indexy se vážou na období diagnózy před zahájením terapie. Validita MIPI a prognostického významu indexu Ki-67 byly potvrzeny i analýzou dat 235 neselektovaných nemocných s MCL v prostředí české populace (Šálek D et al. 2014). Výpovědní hodnota MIPI ale může klesat v období relapsu nebo progresu choroby. Sekundární MIPI (secMIPI), na rozdíl od výše popsaných prognostických indexů, vyhodnocuje prognózu v období relapsu nemoci. Rozděluje pacienty podle rizika do tří skupin (nízké, střední a vysoké riziko) se signifikantně rozdílnou prognózou (Trněný M et al. 2014).

U starších nemocných může k celkovému hodnocení fyzických možností dopomoci určení indexu fragility (frailty index). Pro běžnou klinickou praxi by mohla být postačující jeho zjednodušená 9 stupňová škála (Rockwood K et al. 2005).

Zdá se, že nádorové mikroprostředí hraje zásadní roli v prognóze MCL. Byl popsán vliv mezenchymálních stromálních buněk a monocyto-makrofágového systému na růst a přežití nádorových lymfocytů. Vzájemné působení neoplastické populace a stromálních buněk vede k jejich zvýšené sekreci IL-6. Tento interleukin je úzce spjatý s expresí negativního prognostického ukazatele SOX11 (Sehgal L et al. 2015). Kokultura monocytů s nádorovými lymfocyty vede k diferenciaci CD68+ pozitivních makrofágů spojených s lymfomem (lymphoma-associated macrophages, LAM), které kromě potenciace buněčného růstu a přežití nádorových lymfocytů vedou i k rezistenci nádoru na vybrané léky (Pham LV et al. 2014). Proto je snaha o určení významu vlivu počtu

monocytů na průběh MCL. Absolutní počet monocytů periferní krve v čase diagnózy byl popsán jako nezávislý prediktor prognózy. Vyšší počet monocytů je spojen s kratším celkovým přežitím i přežitím pacientů bez známek progresu MCL (Porrata LF et al. 2013). K validaci významu tohoto poměrně jednoduchého potenciálně prognostického ukazatele jsou ale nutné další robustní randomizované studie a jeho zařazení do rutinní praxe je pořád kontroverzní.

V kapitole věnované patogenézi byl již zmíněn významu zvýšené exprese SOX11, respektive jeho negativita. Nepřítomnost SOX11 u MCL je spojena s pozvolným, indolentním průběhem nemoci (Fernandez V et al. 2010). S agresivním průběhem nemoci bývají spojovány genové mutace p53 a delece p16 (Bernard M et al. 2001)

| <b>Body</b> | <b>Věk, roky</b> | <b>ECOG</b> | <b>LDH nad horní hranici normy (μkat/l)</b> | <b>WBC, 10<sup>9</sup> /l</b> |
|-------------|------------------|-------------|---|-------------------------------|
| 0           | < 50             | 0 - 1       | < 0,67                                      | < 6,700                       |
| 1           | 50 - 59          | -           | 0,67 – 0,99                                 | 6,700 – 9,999                 |
| 2           | 60 - 69          | 2 - 4       | 1,000 – 1,49                                | 1,000 – 14,999                |
| 3           | ≥ 70             | -           | ≥ 1,5000                                    | ≥ 15000                       |

(**ECOG** Eastern Cooperative Oncology Group, **LDH** laktátdehydrogenáza, **WBC** počet leukocytů)

Tabulka č. 2. Zjednodušené MIPI (simplified MIPI, sMIPI) - bodová specifikace hodnot nezávislých prognostických ukazatelů



Součtem bodů uvedených v tabulce č. 2 získáváme hodnotu sMIPI, která rozděluje nemocné do tří prognostických skupin: s nízkým, středním a vysokým rizikem (tab. č. 3) (Hoster E et al. 2008).

| <b>Riziko</b>  | <b>MIPI skóre</b> | <b>Medián přežití</b> | <b>5-leté OS</b> |
|----------------|-------------------|-----------------------|------------------|
| Vysoké riziko  | 6 - 12            | 37 měsíců             | 20 %             |
| Střední riziko | 4 - 5             | 58 měsíců             | 35 %             |
| Nízké riziko   | 0 - 3             | nedosažen             | 60 %             |

(OS - celkové přežití)

Tabulka č. 3. Rozdělení pacientů do 3 rizikových skupin podle dosaženého skóre mezinárodního prognostického indexu pro lymfom z buněk pláště (MIPI)

Rozvoj profilování genové exprese vedl i k hodnocení 20 genů spojených s proliferací (Rosenwald A et al. 2003). U 73 pacientů bylo pomocí qRT-PCR identifikováno 5 genů (RAN, MYC, TNFRSF10B, POLE2 a SLC29A2) s vlivem na přežití pacientů s MCL (Hartmann E et al. 2008). K potvrzení výsledků analýzy a definitivním závěrům prognostického významu těchto genů jsou nutné další studie.

## 1.9 Terapie

---

MCL zůstává nevléčitelným onemocněním i v éře moderní imunochemoterapie včetně cílené léčby inovativními léky. Většina pacientů dosáhne léčebnou odpověď na 1. linii různých terapeutických režimů. Obvykle jsou to ale jenom krátkodobé remise s častou progresí či relapsem lymfomu. Ideální léčebný protokol s ohledem k biologické variabilitě MCL zatím neexistuje. Léčebné doporučení pro tento typ malignity se často zakládají na výsledcích studií s nízkým počtem pacientů. Robustních prospektivní randomizované studie fáze III bylo zatím publikováno jen několik.

Medián celkového přežití nemocných s MCL je poměrně krátký. Po iniciační indukční léčbě dosahuje 3-5 let. A to i přesto, že jsou zde zahrnuty údaje léčených kombinovanou imunochemoterapií včetně autologní transplantace kostní dřeně či periferních kmenových buněk (ASCT) (Dreyling M et al. 2014, 2017). Základní rozdělení přístupu k léčbě nemocných s MCL jsou prakticky dvojí. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) doporučení pro USA rozděluje terapii na “agresivní” a “neagresivní”, zatímco evropské doporučení kategorizují léčbu podle věku pacientů: < 65 let a  $\geq$  65 let (McKay P et al. 2012, Dryeling M et al. 2017). Pro potřeby této dizertační práce se budeme dále věnovat doporučením pro pacienty s MCL v ČR, tedy evropským léčebným standardům.

### 1.8.1 Léčba první linie

U asymptomatických nemocných s indolentním MCL lze iniciačně s léčbou vyčkávat a pacienta pečlivě observovat. Přínos tohoto přístupu ale musí převyšovat eventuální komplikace pozdějšího zahájení systémové léčby.

Malá skupina pacientů s MCL je v době diagnózy s nízkým stádiem podle Ann Arbor (I-II). U těchto nemocných, při lokalizovaném postižení, je doporučována „involved field“ radioterapie 30–36 Gy (Leitch HA et al. 2003). Tímto šetrným přístupem lze dosáhnout dlouhodobé remise bez významných nežádoucích následků systémové léčby. U pacientů s limitovaným stádiem lymfomu s větším nádorovým postižením anebo s přidatnými rizikovými faktory lze kombinovat redukovanou systémovou léčbu následovanou radioterapií.

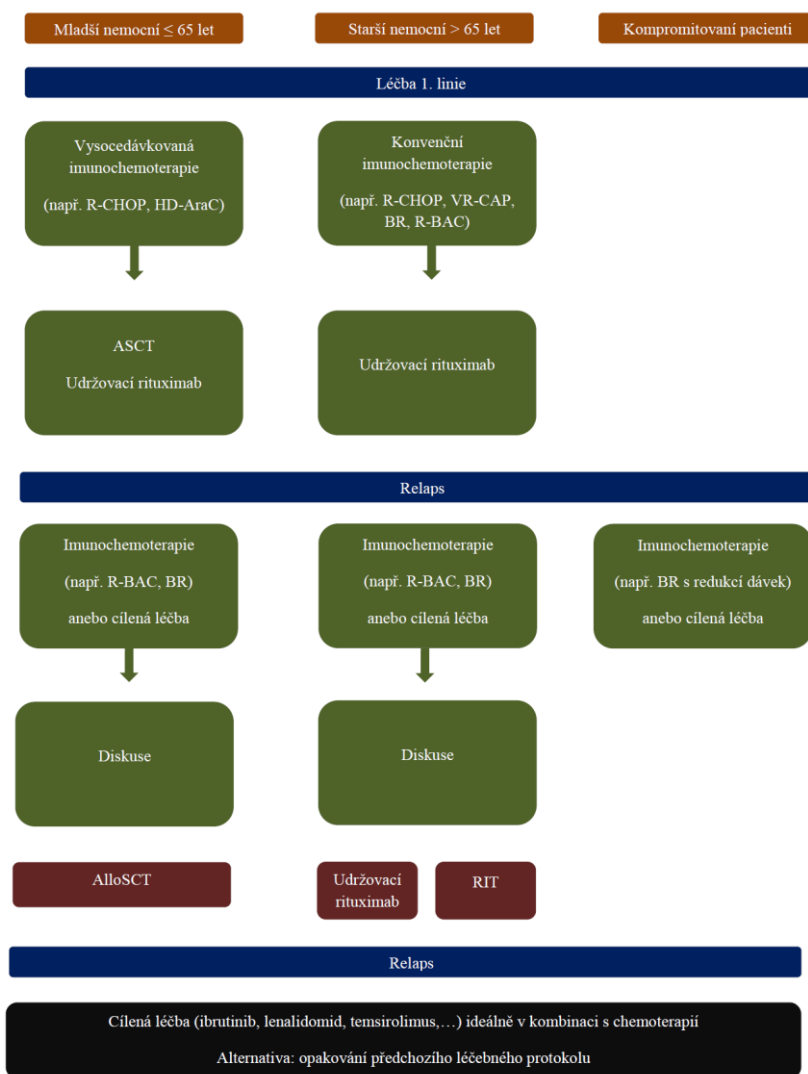
Většina pacientů je ale v době diagnózy se systémovými příznaky či pokročilým stádiem onemocnění. U této skupiny nemocných je nutné okamžité zahájení protinádorové terapie. Schéma doporučované léčby je znázorněné na grafu číslo 2.

U nemocných s pozitivní serologií na hepatitidu B nelze opomenout profylaktickou antivirotickou léčbu s pravidelnou monitorací virové nálože (Mallet V et al. 2016).

Základem kombinované imunochemoterapie je přidání monoklonální protilátky rituximab proti povrchovým antigenům CD20, typickým pro B-lymfocyty, k chemoterapii. Rituxmab významně zvyšuje celkové přežití (OS) i přežití bez progresu lymfomu (PFS). Starší nemocné, anebo ty, které nelze léčit intenzivně, indikujeme k imunochemoterapii R-CHOP, BR, R-BAC anebo kombinací s bortezomibem (Lenz G et al. 2005, Kluin-Nelemans HC et al. 2012, Rummel MJ et al. 2013, Visco C et al. 2017, Robak T et al. 2015). Slibné léčebné výsledky pro danou skupinu pacientů má i alternace R-CHOP a R-Ara-C (Klener P et al. 2017).

U fragilnějších anebo komorbidních pacientů lze vybírat mezi nejlepší paliativní a symptomatickou péčí anebo přísně individualizovanou systémovou cytoredukční režimou obsahujícími vincristin, procarbazin, chlorambucil a dalšími (Dreyling M et al. 2017).

Zlepšení kvality života může pro komorbidní nemocné znamenat i redukovaná terapie inovativními léky (Ruan J et al. 2015).



(**AlloSCT** alogenní transplantace kmenových buněk, **ASCT** autologní transplantace kmenových buněk, **BAC** bendamustin a cytarabin, **BR** bendamustin a rituximab, **Ara-C** cytarabin, **CHOP** cyklofosfamid, doxorubicin, vincristin a prednison, **CVP** cyklofosfamid, vincristin a prednison, **R** rituximab, **VR-CAP** rituximab, cyklofosfamid, doxorubicin a prednison s bortezomibem, **RIT** radioimunoterapie)

Graf č. 2. Léčebné schéma pro nemocné s nově diagnostikovaným i relabovaným MCL (zpracováno podle ESMO doporučení, Dreyling M et al. 2017)

Intenzifikace léčby včetně konsolidace ASCT u mladších fit pacientů vedla ke zlepšení léčebné odpovědi a prodloužení přežití nemocných (Dreyling M et al. 2005, Hoster E et al. 2009, Le Gouill S et al. 2017). Signifikantně významné prodloužení času do selhání léčby bylo popsáno u pacientů léčených intenzivním indukčním režimem s přidáním vysokých dávek cytosin-arabinosidu (Hermine O et al. 2016). Jako slibný se jevil léčebný protokol R-hyper-CVAD, který navozoval vysokou léčebnou odpověď a významně delší přežití. Nevýhodou tohoto přístupu byla jeho vysoká toxicita (Romaguera JE et al. 2005, Merli F et al. 2012, Bernstein SH et al. 2013). Proto nefiguruje jako vhodný indukční režim v evropských, na rozdíl od NCCN, doporučeních pro léčbu MCL.

Alogenní transplantace krvetvorných buněk není, vzhledem k nedostatku relevantních dat, indikována v rámci první linie léčby u nemocných s MCL (Krüger WH et al. 2014).

### 1.8.2 Udržovací terapie po 1. linii léčby

Časté relapsy anebo progrese lymfomu po dosažení uspokojivé léčebné odpovědi po první linii léčby vedou ke snaze o nalezení ideální udržovací terapie vedoucí k zachování dlouhodobé remise onemocnění. Cílem udržovací terapie je eliminace cirkulujících nádorových lymfocytů a eradikace minimální zbytkové nemoci. Udržovací terapie rituximabem (maintenance rituximab, MR) významně prodlužuje OS i PFS u nemocných s folikulárním lymfomem ve srovnání s nemocnými s observací po ukončení indukční léčby (Vidal L et al. 2017). Srovnatelné prodloužení přežití po MR jsou dosahovány i u MCL. Tento typ udržovací léčby se jeví jako slibný terapeutický přístup jak u starších, tak u mladších nemocných po různých léčebných režimech včetně intenzivní indukční léčby s konsolidací ASCT (Kluin-Nelemans HC et al. 2012, Inoue N

et al. 2015, Le Gouill S et al. 2017). MR je součástí standardních léčebných doporučení ESMO (European Society for Medical Oncology) jak po konvenční imunochemoterapii, tak po režimech s ASCT (Dreyling M et al. 2017). Výsledky populačních analýz z reálného života chybějí. Doporučení jsou sestaveny na základě výsledků studií přísně selektovaných pacientů. Udržovací terapie rituximabem se nezdá být univerzálním klíčem k dlouhodobé remisi u všech režimů 1. linie protinádorové terapie. Význam MR po režimu BR nebyl potvrzen (Rummel MJ et al. 2017). K nalezení ideální indikace MR jsou nevyhnutné další robustní populační analýzy.

### 1.8.3 Léčba relapsu

Léčebná strategie relapsu MCL závisí od délky trvání léčebné odpovědi po 1. linii terapie. Při časném relapsu (do 12-24 měsíců od ukončení první léčby) by měla být zvažována reindukce imunochemoterapií s jinými cytostatiky jako v 1. linii k vyloučení křížové rezistence (např. bendamustin, R-BAC u pacientů s předchozí léčbou R-CHOP, atd.) (Dreyling M et al. 2017).

U nemocných s časným relapsem anebo refrakterním lymfomem by měla být volbou cílená léčba inovativními léky jako jsou proteasomové inhibitory, mTOR (mammalian target of rapamycin) inhibitory, inhibitory BCR (B-cell receptor) signalizace, bcl2 inhibitory, protilátky a imunomodulační léky jako lenalidomid (Goy A et al 2009, Hess G et al. 2016, Trněný M et al. 2016, Ferrero S et al. 2016, Wang ML et al. 2013, Davids MS et al. 2017).

Mezi inovativními léky se zatím jeví ibrutinib (inhibitor BCR signalizace) jako nejúčinnější stran celkové léčebné odpovědi. V některých případech relabovaných či refrakterních MCL je dokonce schopen navodit dlouhodobou remisi lymfomu. Časná

rezistence na ibrutinib ale obvykle vede k velice nepříznivému průběhu onemocnění (Wang ML et al. 2013). U pacientů s kontraindikací ibrutinibu je doporučována terapie lenalidomidem ideálně v kombinaci s rituximabem, které mají také potenciál navození déletrvající remise (Wang M et al. 2012).

Z udržovací terapie rituximabem po léčbě relabovaného MCL můžou pacienti profitovat v délce celkového přežití i přežití bez progresu nemoci (Forstpointner R et al. 2006). Data analýz udržovací terapie rituximabem v době relapsu MCL po MR v rámci první linie léčby ale chybějí.

U komorbidních anebo starších nemocných s recidivou MCL, u kterých nelze využít intenzifikace léčebného režimu, lze zvážit konsolidační radioimunoterapii. Ta může vést k prodloužení trvání remise (Ferrero S et al. 2016).

Pacienti s relapsem MCL po konvenční imunochemoterapii můžou být indikováni k intenzivní imunochemoterapii s autologní transplantací krevetvorných buněk (ASCT). Nicméně význam provedení druhé ASCT je přinejmenším diskutabilní (Cassaday RD et al. 2013).

U mladších pacientů bez významné komorbidity je nutné zvážit indikaci alogenní transplantace krevetvorných buněk. Tato léčebná modalita je potenciálně kurabilní. I v případě potřeby redukce přípravného režimu u pokročilého stádia lymfomu v době relapsu (Robinson S et al. 2015).

## 2. Praktická část

### 2.1. Cíle dizertační práce

---

- a. Analýza významu PET/CT vyšetření u nemocných s MCL
- b. Identifikace významu  $\beta$ -2 mikroglobulinu a sérová thymidin kinázy v predikci osudu nemocných s MCL
- c. Zhodnocení vlivu kumulace cytogenetických změn a mutace genu TP53 na biologické chování MCL
- d. Vliv postremisní udržovací terapie rituximabem na přežití nemocných s MCL



## 2.2. Soubory pacientů a metodika

---

### Kohorty pacientů

Cílem naší práce byla analýza vlivu vybraných laboratorních, cytogenetických a klinických parametrů na prognózu a predikci osudu nemocných s lymfomem z pláštěvých buněk. Laboratorní, cytogenetické a některé klinické parametry s předpokládaným prognostickým či prediktivním významem byly statisticky zpracovávány z údajů databáze nemocných s MCL léčených na Hemato-onkologické klinice Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc (HOK).

Analýza udržovací terapie rituximabem u MCL byla zpracována z databáze Kooperativní lymfomové skupiny České republiky. Projekt národního registru nemocných s NHL je součástí Observational Epidemiological and Clinical Study (NiHiL; GovTrial No NCT03199066). Do databáze jsou zařazováni pacienti s NHL od roku 1999 s pokrytím přibližně  $\frac{3}{4}$  pacientů nově diagnostikovaných v České republice (Trněný M et al. 2007). Bližší detaily projektu viz v příslušných kapitolách publikací Janikova A et al. 2018 a Prochazka V et al. 2017.

Všichni analyzovaní pacienti podepsali informovaný souhlas se zařazením do databáze. Nemocní z registru NiHiL, kteří byli vybráni ke studii, měli referenčním hematopatologem centrálně revidovanou diagnózu MCL.

### Statistická analýza

Údaje byly vyhodnocovány pomocí softvérového programu Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS Statistics pro Windows, Verze 21.0. Armonk, NY: IBM

Corp.). Pravděpodobnosti přežití byly počítány pomocí Kaplan-Meierovy metody. OS bylo definováno jako čas od určení diagnózy do posledního data sledování anebo úmrtí z jakékoli příčiny. PFS bylo hodnoceno jako čas od určení diagnózy do relapsu, progresse anebo smrti z jakékoli příčiny. Ke srovnání rozdílů časů přežití mezi podskupinami pacientů byl použitý log-rank test. Léčebná odpověď byla hodnocena pomocí Chesonových kritérií z roku 1999 a 2007 (Cheson BD et al. 1999 a 2007). Vztah mezi vybranými parametry byl vyhodnocován pomocí Pearsonova chi-squared testu, případně T-testů. Úroveň signifikance byla stanovena na  $p=0,05$ . Prediktivní významy jednotlivých parametrů byly počítány pomocí Cox regresní analýzy. Podskupiny nemocných s různým mutačním stavem TP53 a s přítomností anebo absence komplexního karyotypu byly srovnávány pomocí Pearsonova chi-kvadrát testu.

## 2.3. Unicentrická analýza vybraných laboratorních a klinických prognostických ukazatelů

---

### 2.3.1. Celkový objem nádorové masy v čase diagnózy a dosažení kompletní metabolické odpovědi po léčbě

#### *Úvod*

Význam vyšetření pomocí PET/CT u pacientů s MCL není zatím zcela jednoznačný. Výsledky analýz jeho přínosu se často rozcházejí. Kromě jednoduchého

zhodnocení metabolické aktivity nádorové masy a učení rozsahu nádorového postižení PET/CT umožňuje i měření celkového objemu nádorové masy (total metabolic tumor volume, TMTV). TMTV v době diagnózy Hodgkinova lymfomu má vysokou prediktivní hodnotu (Kobe C et al. 2014). Jeho význam u MCL ale nebyl ještě dostatečně analyzován.

### *Soubor a metody*

Hodnotili jsme data 46 pacientů s MCL léčených na HOK od dubna 2006 do dubna 2014. Medián věku v době diagnózy byl 65,4 (40,9-81,7) roku. Poměr zastoupení pohlaví byl 2,1:1 ve prospěch mužů. Klinické stádium I podle Ann Arbor bylo u 2, stádium II u 4, III u 3 a stádium IV u 37 pacientů. S nízkým rizikem podle MIPI skóre byli 2 (4 %) pacienti, se středním 18 (39 %) a s vysokým 26 (57 %) pacientů. Většina pacientů (n=27, 59 %) byla léčena režimem R-CHOP-21 (rituximab, cyklofosamid, doxorubicin, vincristin a prednison). 18 pacientů (39 %) dostávalo intenzivní sekvenční imunochemoterapeutický protokol (SQ) složený z 3 cyklů etoposidového režimu s alternací 1 cyklem metothrexátového režimu a 1 cyklem režimu obsahujícího HD-AraC. Z nich 16 (35 %) pacientů bylo konsolidováno vysocedávkovanou imunochemoterapií s ASCT. 5 (11 %) analyzovaných bylo léčeno režimem s alternací R-AraC/R-CHOP-21 a dva nemocní (4 %) FCR (fludarabin, cyklofosofamid, rituximab) režimem.

Finální celotělové PET/CT vyšetření (fPET/CT) pacienti absolvovali po ukončení protinádorové terapie. Výsledky PET/CT byly hodnoceny jako pozitivní anebo negativní podle kritérií Mezinárodního harmonizačního projektu (Cheson BD et al. 2007) a podle 5-bodové Deauvillské škály (D1-5; Meignan M et al. 2014). Odpověď na léčbu byla vyhodnocována podle revidovaných Chesonových kritérií z roku 2007 (Cheson BD et al. 2007).

### *Výsledky*

Kompletní léčebnou odpověď (CR) dosáhlo 26 (57 %) nemocných, částečnou odpověď (PR) 14 (30 %) a stabilní chorobu (SD) měli 2 (4 %) pacienti. 4 (9 %) nemocní progredovali na terapii. V mediánu sledování 27,9 měsíců 28 (61 %) pacientů zrelabovalo anebo zprogredovalo a 24 (52 %) z nich zemřelo. 5-leté celkové přežití (5-y OS) dosáhlo 32,6 % (95% CI 0,49-0,82) pacientů a 5-leté přežití bez progresu choroby (5-y PFS) dosáhlo 19,6 % (95% CI 0,22-0,56) analyzovaných pacientů. U všech 46 případů byla pomocí fPET/CT hodnotitelná léčebná odpověď. Celkový objem nádorové masy (TMTV) byl měřitelný v 36 případech. Podle vizuálních kritérií bylo fPET/CT negativní u 28/46 (61 %) pacientů.

Podle Deauvillských kritérií hodnocení fPET byli pacienti rozděleni do dvou skupin:

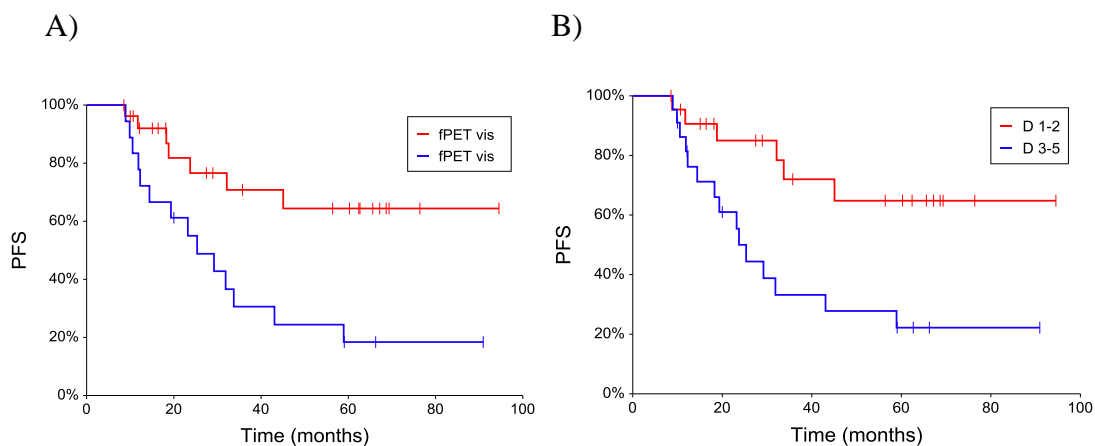
- D1-2 u 23 (50 %) pacientů
- D3-5 u 22 (47,8 %) pacientů

Jeden (2,2 %) pacient nebyl zařazen pro ztracení z pozorování. Všichni vizuálně fPET negativní pacienti měli Deauville skóre 1 – 3. Vizually fPET negativní nemocní s Deauville skóre 1 – 2 měli delší 5-y PFS než zbytek pozorované skupiny nemocných (9 % vs 30 %;  $p < 0,01$ ), viz graf č. 3. Celkově nemocní s fPET negativní léčebnou odpovědí měli statisticky významně delší 5-y PFS (11 % vs 26 %;  $p = 0,014$ ) než fPET pozitivní pacienti (graf č. 3). V délce OS byl zaznamenán trend delšího přežití u nemocných

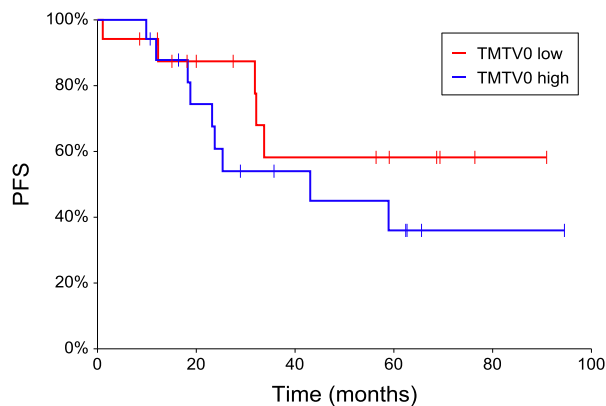
s Deauville skóre 1 – 2 a u vizuálně fPET negativních pacientů ( $p=0,10$ ; respektive  $p=0,086$ ).

K potřebám analýzy celkového objemu nádorové masy v čase diagnózy (TMTV0) jsme pacienty rozdělili do dvou skupin („TMTV0 low“ a „TMTV0 high“). Hraniční hodnota dělení byla průměr odečítaných objemů nádorových infiltrací ( $810.8 \pm 871.7 \text{ cm}^3$ ). Pacienti s větším objemem jsou označeni jako „TMTV0 high“ a s menším jako „TMTV0 low“. TMTV v době diagnózy neměl žádný vliv na délku přežití, viz graf č. 4.

Výsledky naší analýzy potvrzují negativní vliv pozitivivity fPET na prognózu pacientů s MCL. TMTV v době diagnózy se nejeví jako zásadní prediktivní či prognostický ukazatel u MCL. fPET/CT byl pomocí Cox regresní analýzy identifikován jako prediktor relapsu anebo progresu nezávislý na skóre MIPI (HR 0,49;  $p=0,018$ ).



Graf č. 3. A) Srovnání křivek přežití bez progresu MCL u nemocných fPET negativních (fPET vis-) vs fPET pozitivních (fPET vis+) ( $p=0,005$ ). B) Srovnání křivek přežití bez progresu MCL u nemocných D1 - 2 vs D3 – 5 ( $p=0,007$ ).



Graf č. 4. Vliv celkového objemu nádorové masy pod (TMTV0 low) a nad (TMTV0 high) průměrem odečítaných objemů nádorových infiltrací (810.8cm<sup>3</sup>) v době diagnózy MCL na přežití (p=0,284)

### 2.3.2. $\beta$ -2 mikroglobulin a sérová thymidin kináza

#### *Úvod*

$\beta$ -2 mikroglobulin ( $\beta$ 2m), je polypeptid o relativní molekulové hmotnosti 11,8 kDa, je součástí histokompatibilních antigenů (HLA) povrchu buněk. Hladina  $\beta$ 2m v séru/plazmě odráží aktivaci buněčné imunity. Jeho vyšší koncentrace může být i u některých hematologických malignit včetně MCL (Yoo C et al. 2016).

Thymidinkináza (2'-deoxythymidine kináza) je enzym katalyzující fosforylaci thymidinu na thymidinmonofosfát. Nacházíme ho ve většině živých buněk. Typicky vyšší je v proliferující tkáni. Elevace hladiny sérové thymidinkinázy (sTK) byla hodnocena jako negativní prognostický ukazatel u NHL (Procházka V et al. 2012).

Význam těchto dvou laboratorních parametrů v době diagnózy MCL je nutné opakovaně validovat před jejich rutinním užíváním jako důležitých prognostických a prediktivních ukazatelů.

### *Soubor a metody*

Retrospektivně jsme analyzovali 80 pacientů s lokálně revidovanou diagnózou MCL. Pacienti, diagnostikováni od března 2005 do listopadu 2015, byli na HOK léčeni imunochemoterapií s rituximabem. Poslední aktualizace databáze před analýzou proběhla v prosinci 2016. Léčebná odpověď byla hodnocena pomocí International Workshop to Standardize Response Criteria for non-Hodgkin Lymphoma (Cheson BD et al. 1999).

Medián věku v době diagnózy byl 66 let, častěji byli nemocní muži v poměru 2,5:1 k ženám. 64 (80,0 %) nemocných bylo vstupně s pokročilým stádiem onemocnění. Dobrou kondici podle ECOG performance statu mělo 67 (83,8 %) nemocných. 44 (55,0 %) pacientů mělo iniciálně podle MIPI indexu vysoké riziko, 25 (31,3 %) střední a 11 (13,8 %) nízké riziko. 79 pacientů bylo léčeno imunochemoterapií s monoklonální protilátkou rituximab, 1 byl v době analýzy observován bez nutnosti zahájení terapie. 43 (53,8 %) pacientů dostalo CHOP/CHOP-like režim, 27 (33,8 %) intenzivní indukci a 8 (10,0 %) nemocných chemoterapií bez obsahu antracyklinů. Celkově 22 (27,5 %) pacientů podstoupilo ASCT.

K analýze prognostických vlivů zvýšených hladin  $\beta$ 2m a sTK v séru byly jako cut-off stanoveny hodnoty horní hranice normy lokální laboratoře u  $\beta$ 2-mikroglobulinu (2,34 mg/l) a sérové thymidinkinázy (9 IU/l). Vyšší hladinu  $\beta$ 2m mělo 49 (61,3 %) a sTK 58 (72,5 %) pacientů. Bližší charakteristiku souboru viz v tab. č. 4.

| <b>Charakteristika</b>               | <b>N=80 (100%)</b> |
|--------------------------------------|--------------------|
| <b>Pohlaví, no. mužské (%)</b>       | 57 (71.3)          |
| <b>Medián věku, roky (rozmezí)</b>   | 66 (41-88)         |
| <b>Ann Arbor</b>                     |                    |
| <b>I</b>                             | 2 (2.5)            |
| <b>II</b>                            | 7 (8.8)            |
| <b>III</b>                           | 7 (8.8)            |
| <b>IV</b>                            | 64 (80.0)          |
| <b>ECOG performance status</b>       |                    |
| <b>0 - 1</b>                         | 67 (83.8)          |
| <b>2 - 4</b>                         | 13 (16.3)          |
| <b>MIPI</b>                          |                    |
| <b>Nízké riziko</b>                  | 11 (13.8)          |
| <b>Střední riziko</b>                | 25 (31.3)          |
| <b>Vysoké riziko</b>                 | 44 (55.0)          |
| <b>LDH nad normu</b>                 | 42 (52.5)          |
| <b>Beta-2 mikroglobulín</b>          |                    |
| <b>Zvýšen</b>                        | 49 (61.3)          |
| <b>N/A</b>                           | 14 (17.5)          |
| <b>Sérová thymidinkináza</b>         |                    |
| <b>Zvýšena</b>                       | 58 (72.5)          |
| <b>N/A</b>                           | 9 (11.3)           |
| <b>Indukční terapie</b>              |                    |
| <b>Observace</b>                     | 1 (1.3)            |
| <b>CHOP/CHOP-like</b>                | 43 (53.8)          |
| <b>Intenzivní režim</b>              | 27 (33.8)          |
| <b>Ne-anthracyklínový režim</b>      | 8 (10.0)           |
| <b>N/A</b>                           | 1 (1.3)            |
| <b>ASCT</b>                          | 22 (27.5)          |
| <b>Léčebná odpověď (Cheson 1999)</b> |                    |
| <b>CR</b>                            | 36 (45.0)          |
| <b>PR</b>                            | 25 (31.3)          |
| <b>SD+PD</b>                         | 11 (13.8)          |
| <b>N/A</b>                           | 8 (10.0)           |

(**ECOG** Eastern Cooperative Oncology Group, **MIPI** mezinárodní prognostický index pro MCL, **LDH** laktát dehydrogenáza, **ASCT** autologní transplantace kmenových buněk, **CR** kompletní remise, **PR** parciální remise, **SD** stabilní choroba, **PD** progredující choroba)

Tabulka č. 4. Charakteristika souboru

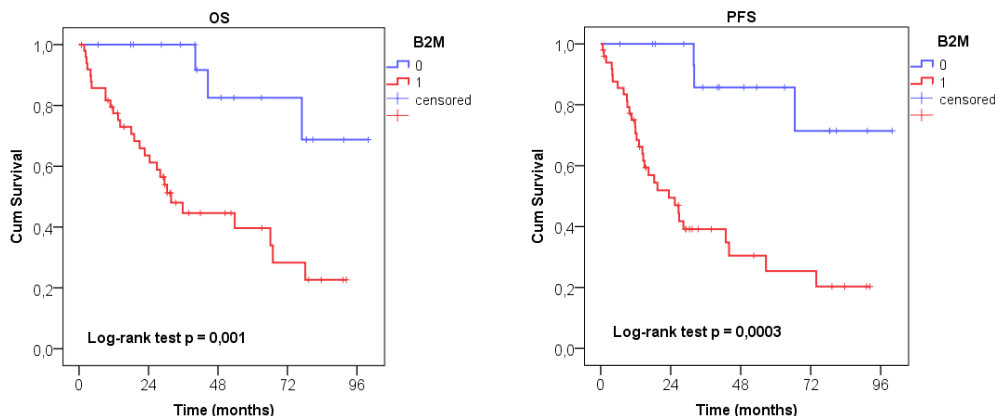


## Výsledky

Třicetšest (45,0 %) pacientů dosáhlo CR a PR 25 (31,3 %) pacientů. Celkově 11 (13,8 %) mělo neuspokojivou léčebnou odpověď (SD+PD) po ukončení léčby první linie.

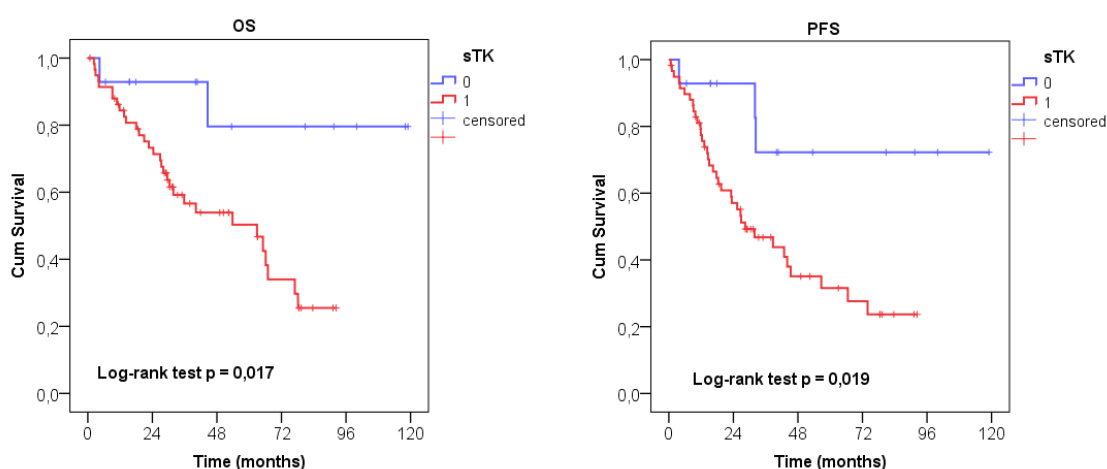
V mediánu sledování 31,5 měsíců žilo 44 (55 %) pacientů. Odhadovaný medián OS pro celý soubor byl 65,1 měsíců (95% CI 49,5-80,8). Medián PFS byl 38,7 měsíce (95% CI 23,4-54,1).

Pro pacienty s normální hladinou  $\beta$ 2m nebyly mediány OS a PFS dosaženy. V kontrastu s pacienty s hladinou  $\beta$ 2m nad normu, kteří měli předpokládaný medián délky OS 31,8 měs. (95% CI 21,9-41,7) a medián PFS 23,4 měs. (95% CI 11,3-35,5). Odhady OS i PFS byly signifikantně delší u nemocných s normální hladinou  $\beta$ 2m ve srovnání s pacienty s její hladinou nad hranicí normy ( $p < 0,05$ ) (graf č. 5).



Graf č. 5. Srovnání délky přežití nemocných s vyšší (1) a normální (0) hladinou  $\beta$ 2m v době diagnózy MCL

U pacientů s normální hladinou sTK nebyly, stejně jako u analýzy  $\beta 2m$ , dosaženy mediány délky přežití (ani OS, ani PFS). U pacientů s vyšší hladinou sTK než určená „cut-off“ hodnota byl očekávaný medián OS 62,9 měsíců (95% CI 31,2-94,6). Medián PFS u rizikové skupiny byl 28,4 měs. (95% CI 12,6-44,1). Pacienti s normální hladinou sTK měli významně delší OS i PFS ( $p=0,017$ ; respektive  $p=0,019$ ) (viz graf č. 6).



Graf č. 6. Srovnání délky přežití nemocných s vyšší (1) a normální (0) hladinou sTK v době diagnózy MCL

Podle výsledků Cox regresní analýzy je vyšší hladina  $\beta 2m$  v době diagnózy spojena s vyšším rizikem relapsu anebo progresu MCL (HR 7,71;  $p=0,006$ ). Vyšší hladina sTK nebyla statisticky významným prediktorem rizika relapsu/progrese choroby.

### 2.3.3. Komplexní karyotyp a mutace genu TP53

#### *Úvod*

Komplexní karyotyp (complex karyotype, CK), definován jako 3 a více cytogenetických změn, se vyskytuje asi u 20 % pacientů s MCL a je spojen s agresivním průběhem MCL a s kratším OS i PFS (Gazzo S et al. 2005, Cohen JB et al. 2015, Sarkozy C et al. 2014, Greenwell IB et al. 2018). Určitá kontroverze ale zůstává v jeho validaci jako nezávislého prognostického ukazatele. Součástí CK je často i mutace genu TP53, která je jednou z nejfrekventnějších genových aberací u nádorových onemocnění. Tato mutace byla vyhodnocena jako silný prediktor špatné prognózy u více malignit včetně MCL (Petitjean A et al. 2007, Eskelund CHW et al. 2017). Tumor supresorový gen TP53 se nachází na chromozomu 17 (17p13.1). Jeho funkcí je produkce transkripčního proteinu p53, který působí jako senzor poškození DNA. Poškození DNA navodí produkci tohoto proteinu zástavu buněčného cyklu v G1 fázi. Během tohoto období dochází k opravě poškozené DNA. V případě, že je reparace neúspěšná, dochází k aktivaci apoptózy cestou signalizační kaskády proteinu BAX (Novotná B et al. 2005). Právě delece del(17p) může inaktivovat lokus TP53. Zhruba u 5 % pacientů s CLL se vyskytuje mutace TP53 bez prokazatelné delece del(17p). Průběh nemoci u této skupiny je ale stejně nepříznivý jako u del(17p) pozitivních (Rossi D et al. 2009, Zenz T et al. 2010). Výsledky analýzy Eskelunda CHW a kolektivu z roku 2017 ale naznačují, že u MCL by mohla být situace odlišná. Delece del(17p) i TP53 měly různý vliv na prognózu. Z uvedeného tedy vyplývá, že vyšetření mutace TP53 pomocí NGS i konvenční cytogenetické vyšetření můžou přinášet různé informace o prognóze nemocných s MCL. Potřebu současného vyšetření

cytogenetiky i mutace TP53 je nutné validovat pomocí analýzy neselektované populace pacientů s MCL.

#### *Soubor a metody*

Analyzovali jsme soubor 74 nemocných s MCL, kteří byli diagnostikováni od března 2005 do listopadu 2015. Poslední aktualizace sledování nemocných v databázi proběhla v březnu 2018. Všichni analyzovaní pacienti měli dostupný biologický materiál k vyšetření RNA i DNA. Vyšetřovanými materiály byly periferní krev, kostní dřeň, lymfatická uzlina anebo nádorová tkáň jiného původu (střevo). Buněčné suspenze vzniklé z odebraného biol. materiálu v době diagnózy byly skladovány v chladicím boxu Carnoye při teplotě -20 °C. Po přípravě před analýzou byly buněčné suspenze vyšetřovány pomocí sekvenování nové generace (NGS) s citlivostí na 10 % buněk k vyšetření mutačního stavu genu TP53 a pomocí metody FISH.

Medián věku pacientů v době diagnózy byl 66 let (41-88). Necelých 72 % pacientů tvořili muži. 67 (90,5 %) pacientů bylo vstupně s pokročilým stádiem onemocnění.

Dostupný materiál (RNA/DNA) k analýze mutace TP53 jsme měli od 64 pacientů, k analýze komplexního karyotypu od 59 pacientů. Z nich 48 (64,9 %) nemocných mělo dostatečné množství RNA i DNA k vyšetření obou znaků. Patnáct (20,3 %) nemocných mělo potvrzenou mutaci v genu TP53. Delece 17p byla přítomna u 11 (14,9 %) pacientů. Minimálně 4 z nich měli negativní mutaci TP53 pomocí NGS, u 2 pacientů nebyla dostupná RNA k analýze. Komplexní karyotyp byl identifikován u 13 (17,6 %) z celkem 59 nemocných.

Celkem bylo léčeno 73 ze 74 pacientů, 1 pacient bez mutace TP53 a bez CK je již 4,5 roku v režimu observace bez nutnosti protinádorové terapie.

Všichni nemocní byli léčeni režimem obsahujícím rituximab: 40 (54,1 %) pacientů bylo léčeno režimem R-CHOP nebo jemu příbuzným (CHOP-like). 26 (35,1 %) dostávalo intenzivní vysocedávkovanou terapii a 7 (9,5 %) bylo léčeno protokoly bez obsahu anthracyklinů (fludarabinový nebo bendamustinový režim). 24 (32,4 %) nemocných podstoupilo konsolidaci pomocí ASCT. Udržovací imunoterapie rituximabem byla aplikována u 19 (25,7 %) pacientů. Léčebná odpověď byla hodnocena pomocí International Workshop to Standardize Response Criteria for non-Hodgkin Lymphoma (Cheson BD et al. 1999). Bližší popis souboru viz v tab. č. 5.

| Charakteristika                      | N=74 (100%) |
|--------------------------------------|-------------|
| <b>Pohlaví, no. mužské (%)</b>       | 56 (75.7)   |
| <b>Medián věku, roky (rozmezí)</b>   | 66 (41-88)  |
| <b>Ann Arbor</b>                     |             |
| <b>I</b>                             | 2 (2.7)     |
| <b>II</b>                            | 5 (6.8)     |
| <b>III</b>                           | 5 (6.8)     |
| <b>IV</b>                            | 62 (83.8)   |
| <b>ECOG performance status</b>       |             |
| <b>0 - 1</b>                         | 62 (83.8)   |
| <b>2 - 4</b>                         | 12 (16.2)   |
| <b>LDH elevované</b>                 | 39 (50.0)   |
| <b>MIPI</b>                          |             |
| <b>Nízké riziko</b>                  | 9 (12.2)    |
| <b>Střední riziko</b>                | 22 (29.7)   |
| <b>Vysoké riziko</b>                 | 43 (58.1)   |
| <b>Beta-2 mikroglobulín</b>          |             |
| <b>Zvýšen</b>                        | 46 (62.2)   |
| <b>N/A</b>                           | 10 (13.5)   |
| <b>Sérová thymidinkináza</b>         |             |
| <b>Zvýšena</b>                       | 55 (74.3)   |
| <b>N/A</b>                           | 7 (9.5)     |
| <b>Indukční terapie</b>              |             |
| <b>Observace</b>                     | 1 (1.4)     |
| <b>CHOP/CHOP-like</b>                | 40 (54.1)   |
| <b>Intenzivní režim</b>              | 26 (35.1)   |
| <b>Ne-anthracyklinový režim</b>      | 7 (9.5)     |
| <b>Udržovací terapie rituximabem</b> | 19 (25.7)   |
| <b>ASCT</b>                          | 24 (32.4)   |
| <b>TP53</b>                          |             |
| <b>Mutovaný</b>                      | 15 (20.3)   |
| <b>Nemutovaný</b>                    | 49 (66.2)   |
| <b>N/A</b>                           | 10 (13.5)   |
| <b>Komplexní karyotyp</b>            |             |
| <b>+</b>                             | 13 (17.6)   |
| <b>-</b>                             | 46 (62.2)   |
| <b>N/A</b>                           | 15 (20.3)   |
| <b>Léčebná odpověď (Cheson 1999)</b> |             |
| <b>CR</b>                            | 34 (45.9)   |
| <b>PR</b>                            | 21 (28.4)   |
| <b>SD+PD</b>                         | 10 (13.5)   |
| <b>N/A</b>                           | 9 (12.2)    |

(**ECOG** Eastern Cooperative Oncology Group, **MIPI** mezinárodní prognostický index pro MCL, **LDH** laktát dehydrogenáza, **ASCT** autologní transplantace kmenových buněk, **CR** kompletní remise, **PR** parciální remise, **SD** stabilní choroba, **PD** progredující choroba)

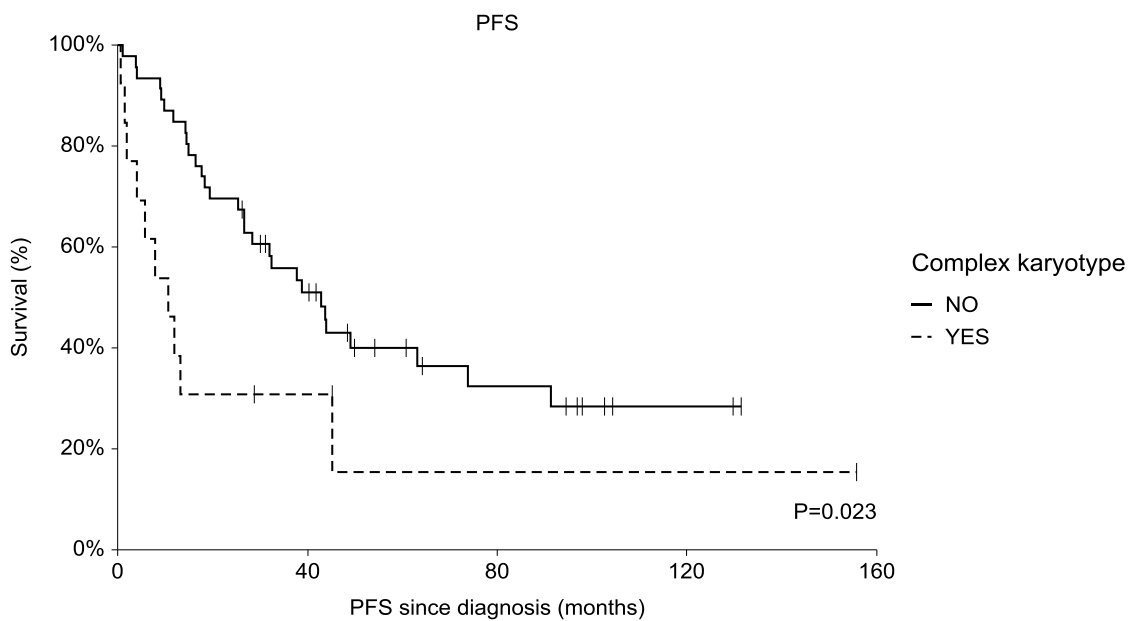
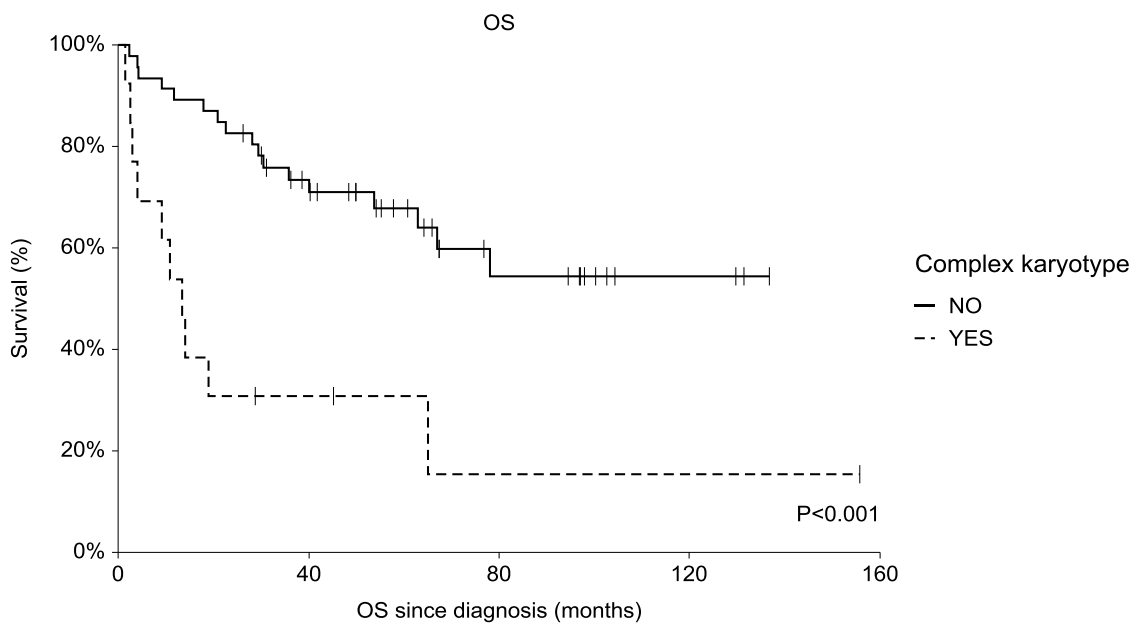
Tabulka č. 5. Charakteristika souboru

## *Výsledky*

Kompletní remisi dosáhlo 34 (45,9 %) a PR dosáhlo 21 (28,4 %) pacientů. 3 (4,1 %) mělo stabilní chorobu po ukončení terapie. 7 (9,5 %) pacientů progredovalo na terapii. Zajímavým je, že pouze jeden z pacientů s nedostatečnou léčebnou odpovědí (SD+PD) měl současně CK s delecí del(17p) a mutaci genu TP53.

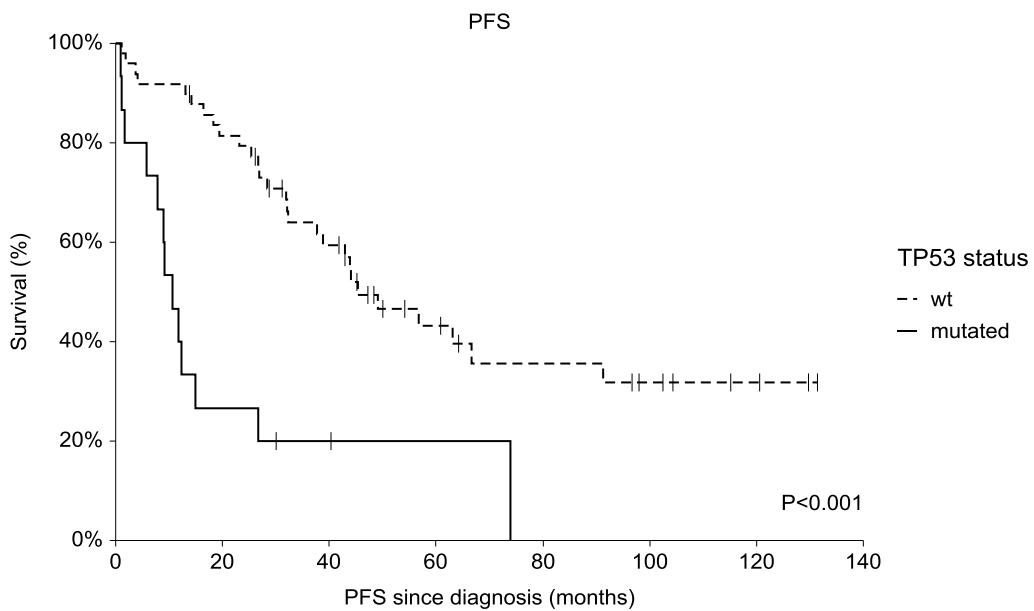
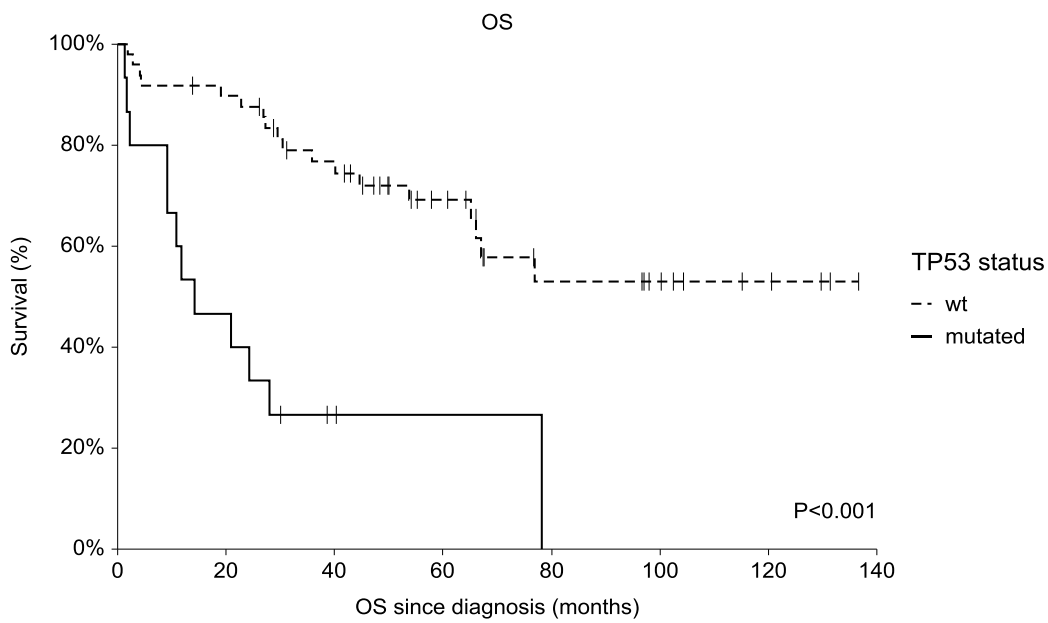
Při mediánu sledování 3,6 roku 40 (51,3 %) pacientů žije. 3-y OS a 3-y PFS všech analyzovaných pacientů jsou 62,7 % (95% CI 0,51-0,74) a 50,2 % (95% CI 0,39-0,62). 3-y OS pacientů s CK dosáhlo 30,8 % (95% CI 0,06-0,56). 3-y OS pacientů bez CK dosáhlo 73,5 % (95% CI 0,61-0,86) analyzované kohorty. Mezi sledovanými kohortami byl rozdíl i na úrovni PFS. 3-y PFS u nemocných s CK bylo 30,8 % (95% CI 0,06-0,56), u pacientů bez CK to bylo 51,0 % (95% CI 0,36-0,66). Pacienti s CK měli signifikantně kratší OS ( $p=0,001$ ) i PFS ( $p=0,02$ ) ve srovnání s nemocnými bez komplexních cytogenetických změn (graf č. 7).

3-y OS u pacientů s mutací TP53 dosáhlo 26,7 % (95% CI 0,04-0,49). 3-leté PFS ve stejné skupině pacientů bylo 20,0 % (95% CI 0-0,40). Předpokládané 3-y OS a 3-y PFS dosáhlo 74,5 % (95% CI 0,62-0,87), respektive 59,4 (95% CI 0,45-0,74) nemocných bez mutace TP53. Mutace genu TP53 byl silný prediktor špatné prognózy s významným zkrácením OS i PFS u nemocných s MCL (u obou  $p<0,001$ ; graf č. 8).



Graf č. 7. OS a PFS u pacientů bez (NO) a s (YES) komplexním karyotypem



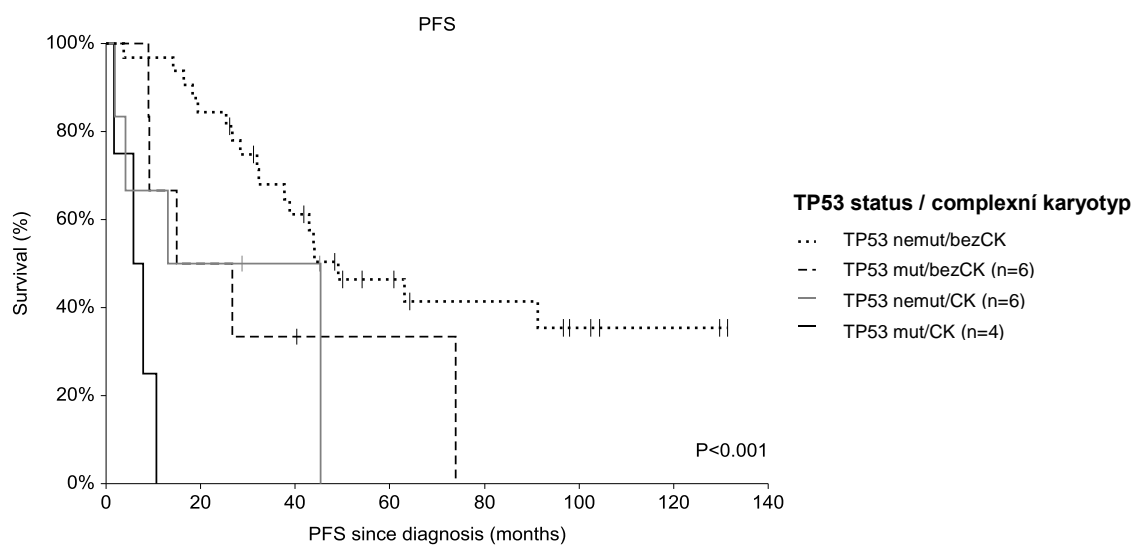
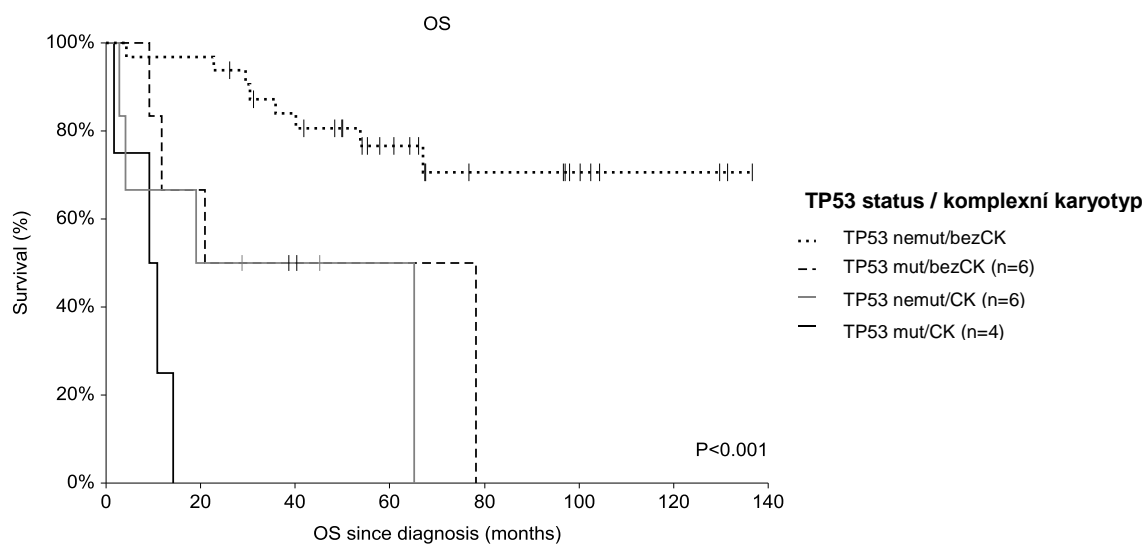


Graf č. 8. OS a PFS u pacientů s nemutovaným (wild type, wt) a mutovaným (mutated) genem TP53

Následně jsme analyzovali možný vztah mezi vybranými klinickými a laboratorními parametry a mutací TP53 či CK. Pearsnův test nepotvrdil vztah mezi TP53 mutací a pohlavím, věkem, elevovanou hladinou laktát-dehydrogenázy (LDH), stádiem dle Ann Arbor, MIPI anebo  $Ki67 \geq 30$  %. Překvapivě mutace genu TP53 také nekorelovala s delecí del(17p). Na druhé straně byl potvrzen statisticky významný vztah mutace TP53 s elevací sérové thymidinkinázy ( $p=0,03$ ) a beta-2 mikroglobulinu ( $p=0,03$ ).

Výskyt komplexní karyotypu neměl žádný vztah s distribucí pohlaví, věku, vyšší LDH či hladinou sérové thymidinkinázy, Ann Arbor stádiem, hodnotou MIPI skóre anebo proliferační aktivitou buněk, definovanou jako  $Ki67 \geq 30$  %. Přítomnost CK korelovala s vyšší hladinou beta-2 mikroglobulinu ( $p=0,02$ ). Výskyt mutace genu TP53 neměl statisticky významný vztah s výskytem CK ( $p=0,24$ ). Kaplan-Meierova analýzy přežití identifikovala na základě přítomnosti anebo absence CK a mutace TP53 3 rizikové skupiny (TP53 nemutovaný/bez CK vs TP53 mutovaný/bez CK + TP53 nemutovaný/s CK vs TP53 mutovaný/s CK) s různou délkou jak PFS tak i OS. Pacienti s kombinací mutace TP53 a přítomností CK měli nejkratší OS i PFS. Naproti tomu nemocní s nemutovaným TP53 a bez CK žili nejdéle ( $p<0,001$ ). Všichni čtyři pacienti s konkomitantním komplexním karyotypem a mutací TP53 zemřeli do 2 let od diagnózy. Pacienti bez komplexního karyotypu a bez mutace TP53 měli 80,6% pravděpodobnost přežití ve 3 letech od diagnózy (graf č. 9).

Multivariační Cox regresní analýza identifikovala přítomnost komplexního karyotypu a mutaci genu TP53 jako nezávislé prediktory kratších PFS i OS na věku a skóre MIPI. HR pro PFS bylo 2,35 ( $p=0,0241$ ) u pacientů s komplexním karyotypem a 4,50 ( $p<0,001$ ) u pacientů s mutací genu TP53. HR pro OS bylo 4,31 ( $p<0,001$ ) a 5,46 ( $p<0,001$ ) u pacientů s komplexním karyotypem a mutací genu TP53.



Graf č. 9. Stratifikace pacientů do tří prognostických skupin podle mutačního stavu TP53 a podle přítomnosti anebo absence CK

## 2.4. Multicentrická analýza významu udržovací terapie rituximabem u MCL v ČR

---

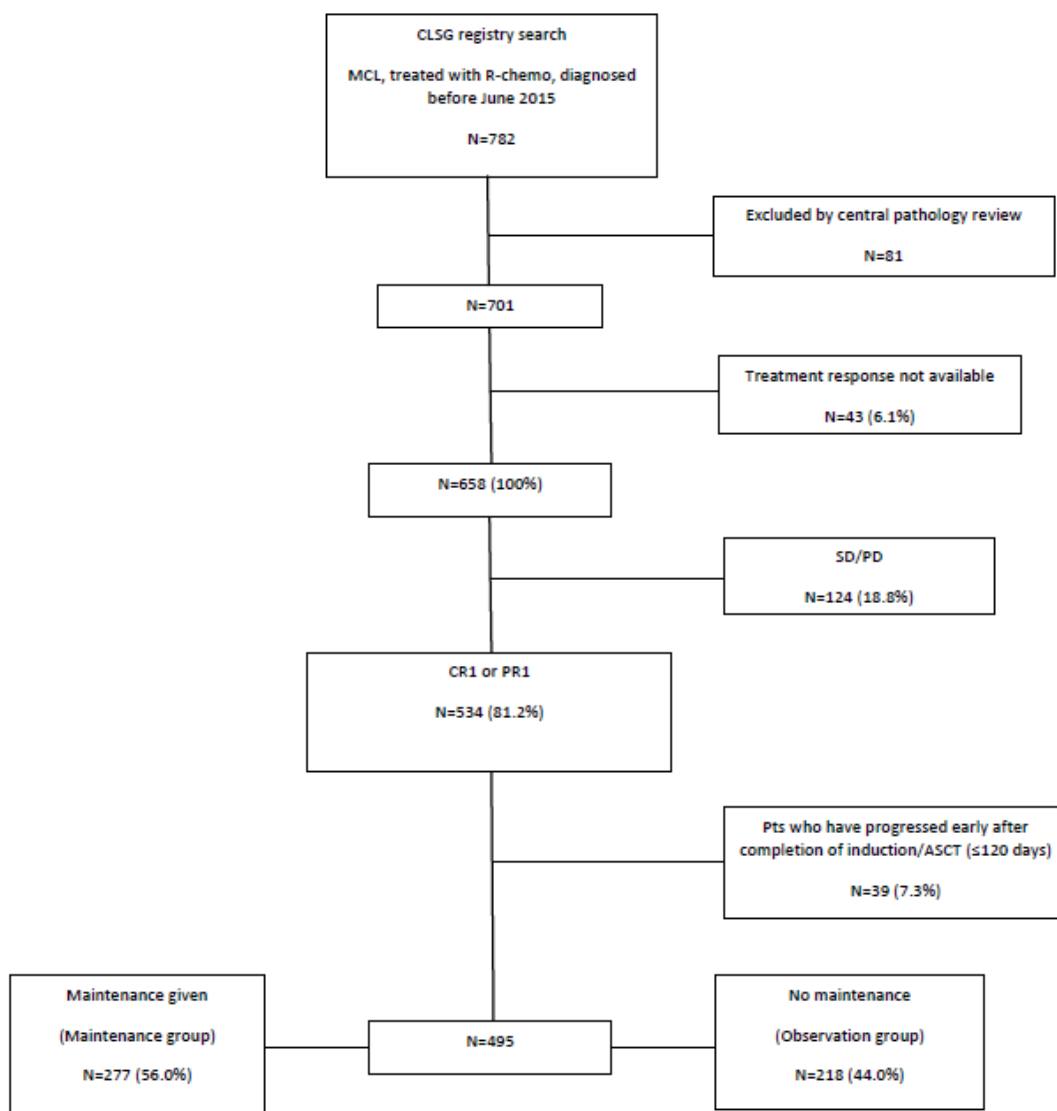
### *Úvod*

Udržovací terapie monoklonální antiCD20 protilátkou rituximab je standardně doporučována u nemocných s MCL léčených konvenční imunochemoterapií, a to i u nemocných po ASCT (Dreyling M et al. 2017). Nicméně data, o která se opírají léčebná doporučení, jsou výsledkem analýz selektovaných pacientů z klinických studií. Populační analýza přínosu udržovací imunoterapie rituximabem dosud nebyla provedena. Nejasnosti zůstávají i ohledně skupin nemocných s MCL, kteří z MR profitují nejvíce. Na druhé straně je potřebná identifikace těch, kteří mají vyšší riziko selhání léčby a z MR profitují jen omezeně.

### *Soubor*

Analyzovali jsme pacienty s nově diagnostikovaným MCL v období od července 2000 do června 2015. Všichni pacienti absolvovali indukční imunochemoterapii obsahující rituximab. Poslední aktualizace databáze proběhla v únoru 2017. Zařazení pacienti měli národním referenčním hematopatologem centrálně revidovanou diagnózu. Ze 782 případů zadaných v registru NiHiL s dg. MCL byla po centrální revizi potvrzena správnost diagnózy u 701 nemocných. Z nich byli k analýze vybráni jenom ti, kteří dosáhli léčebnou odpověď (CR nebo PR) po 1. linii léčby. Toto kritérium splňovalo 534 nemocných. Tito pacienti byli poté rozděleni do dvou skupin podle toho, zda dostávali udržovací terapii rituximabem (MAINT) anebo ne (OBS). Indikace MR u daného pacienta

byla v dikci ošetřujícího hematologa. Pacienti tedy nebyli do těchto dvou skupin randomizováni. Vyřazení byli nemocní s časným relapsem anebo progresí lymfomu po posledním cyklu předchozí léčby. Časný relaps anebo časná progresse byly definovány jako událost v období do 120 dní od data poslední chemoterapie včetně ASCT. 120 dní bylo vybráno z důvodu blízkosti k hodnotě 111 dnů a zjednodušení analýzy. 111 dní byl medián období od data posledního cyklu protinádorové terapie po první aplikaci MR. Finální dvě kohorty měly 277 pacientů ve skupině MAINT a 218 pacientů ve skupině OBS. Detailní algoritmus selekce pacientů k analýze je naznačen v grafu č. 7.



Graf č. 7. Consort diagram selekčního procesu pacientů

Analyzovaná kohorta pozůstávala ze 495 pacientů a splňovala kritéria popsané výše. 67 % pacientů byli muži, medián věku v době diagnózy byl 65 let. Převážná většina pacientů (92 %) měla iniciálně pokročilé stádium nemoci (Ann Arbor III + IV) a necelá polovina (42,6 %) z nich byla s vysokým rizikem podle MIPI skóre. Bližší popis analyzovaných viz v tabulce č. 5.

| Charakteristika  | Observace    | Maintenance  | P hodnota |
|--|--------------|--------------|-----------|
|  | N=218 (100%) | N=277 (100%) |           |
| <b>Pohlaví, no. mužské (%)</b>                         | 147 (67.4)   | 185 (66.8)   | 0.88      |
| <b>Medián věku, roky (range)</b>                       | 64 (28-87)   | 66 (40-87)   | 0.06      |
| <b>Klinické stádium (Ann Arbor)</b>                    |              |              | 0.09      |
| <b>I</b>   | 8 (3.7)      | 5 (1.8)      |           |
| <b>II</b>  | 18 (8.3)     | 11 (4.0)     |           |
| <b>III</b>   | 22 (10.1)    | 34 (12.3)    |           |
| <b>IV</b>  | 169 (77.5)   | 227 (81.9)   |           |
| <b>N/A</b>   | 1            |              |           |
| <b>Performance status dle ECOG/WHO</b>                 |              |              | 0.28      |
| <b>0</b>   | 82 (37.6)    | 108 (39.0)   |           |
| <b>1</b>   | 92 (42.2)    | 133 (48.0)   |           |
| <b>2</b>   | 27 (12.4)    | 29 (10.5)    |           |
| <b>3</b>   | 12 (5.5)     | 6 (2.2)      |           |
| <b>4</b>   | 1 (0.5)      | 1 (0.4)      |           |
| <b>N/A</b>   | 4            |              |           |
| <b>MIPI</b>  |              |              | 0.55      |
| <b>Nízké riziko</b>                                    | 57 (26.1)    | 62 (22.4)    |           |
| <b>Střední riziko</b>                                  | 68 (31.2)    | 94 (33.9)    |           |
| <b>Vysoké riziko</b>                                   | 89 (40.8)    | 121 (43.7)   |           |
| <b>N/A</b>   | 4            |              |           |
| <b>Indukční režim</b>                                  |              |              | 0.86      |
| <b>CHOP/CHOP-like</b>                                  | 112 (51.4)   | 142 (51.3)   |           |
| <b>Intenzivní režim</b>                                | 71 (32.6)    | 87 (31.4)    |           |
| <b>Ne-anthracyklínový režim</b>                        | 35 (16.1)    | 48 (17.3)    |           |
| <b>ASCT</b>  |              |              | 0.07      |
|  | 56 (25.7)    | 92 (33.2)    |           |
| <b>Léčebná odpověď po 1. linii léčby (Cheson 1999)</b> |              |              | 0.45      |
| <b>CR</b>  | 149 (68.3)   | 191 (69.0)   |           |
| <b>CRu</b>   | 14 (6.4)     | 11 (4.0)     |           |
| <b>PR</b>  | 55 (25.2)    | 75 (27.1)    |           |

(**ECOG** Eastern Cooperative Oncology Group, **MIPI** mezinárodní prognostický index pro MCL, **LDH** laktát dehydrogenáza, **ASCT** autologní transplantace kmenových buněk, **CR** kompletní remise, **PR** parciální remise, **SD** stabilní choroba, **PD** progredující choroba)

Tabulka č. 5. Charakteristika souboru

Mezi sledovanými subpopulacemi (MAINT a OBS) nebyly žádné zásadní rozdíly kromě věku v době diagnózy a délky sledování. Pacienti v rameni s udržovací léčbou měli medián věku v době diagnózy o dva roky vyšší ( $p=0,045$ ) a kratší sledování (medián délky sledování 3,88 vs 6,83 let,  $p<0,001$ ) než pacienti v observačním rameně. Rozdíl v délce sledování byl způsoben historickými důvody: většina nemocných léčených před rokem 2009 nedostávala udržovací terapii a jejich sledování bylo proto delší.

### *Léčba*

Všichni pacienti byli léčeni podle v té době platných doporučení (Dreyling M et al. 2009, 2013, 2014, 2017). Nejčastější léčebnou kombinací byl režim R-CHOP anebo R-CHOP-like (254; 51,3 % léčených). Intenzivní léčebný protokol s obsahem vysocedávkovaného cytosin-arabinosidu a rituximabu (Nordický protokol, Hyper-CVAD) dostávalo 158 (31,9 %) pacientů. 83 (16,8 %) starších anebo komorbidních pacientů bylo léčeno ne-anthracyklinovými režimy (fludarabin-cyklofosamid-rituximab, FCR; bendamustin-rituximab, BR). Sto čtyřicet osm (29,9 %) nemocných dostalo konsolidační vysokodávkovanou chemoterapii BEAM s následnou ASCT.

V ramenu MAINT dostávali nemocní, podle rozhodnutí ošetřujícího hematologa, každé 2 anebo 3 měsíce udržovací terapii rituximabem v dávce  $375 \text{ mg/m}^2$ . Doba podávání MR byla maximálně 2 roky anebo do progresu či relapsu lymfomu, podle toho, co nastalo dříve. Medián doby od poindukčního zhodnocení léčebné odpovědi do zahájení MR byl 71 dní (2,3 měsíců), medián času od poslední chemoterapie (anebo ASCT) do první podání MR byl 111 dní. Medián počtu podaných cyklů MR byl 8 měsíců, medián trvání MR terapie byl 20,5 (1–24) měsíců.



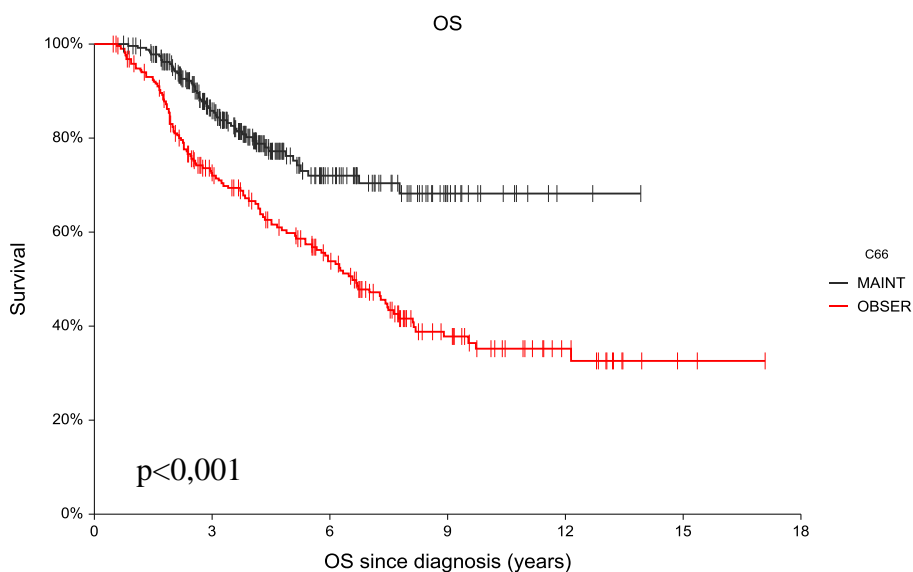
## *Výsledky*

Léčebná odpověď byla hodnotitelná u všech 495 nemocných. Třista šedesát pět (73,7 %) dosáhlo kompletní nebo nejistou kompletní remisi (CR anebo CRu) a 130 (26,3 %) PR.

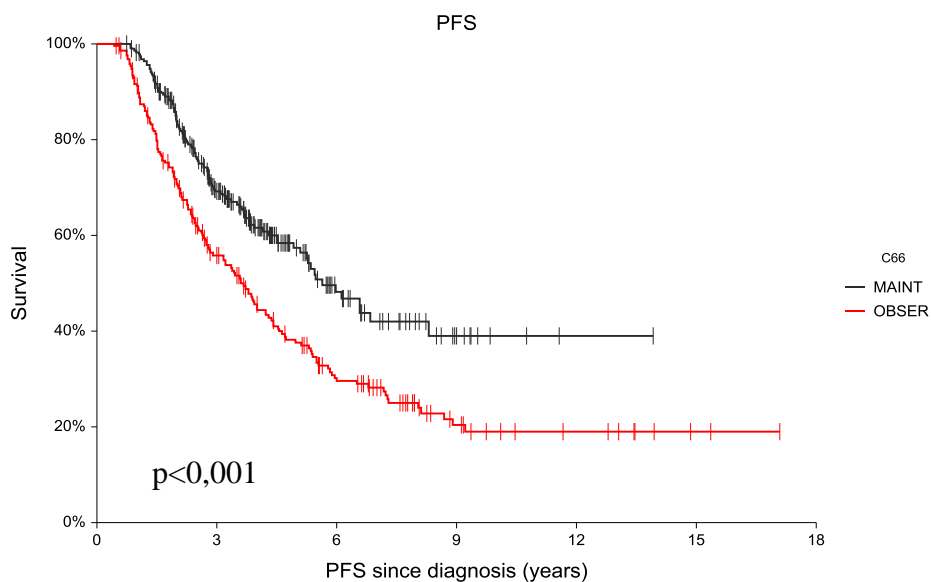
V období sledování 256 (51,7 %) pacientů zprogredovalo anebo zrelabovalo a 169 (34,1 %) zemřelo. 5-y OS dosáhlo 65,3 % (95% CI 0,51–0,80) a 5-y PFS 44,1 % (95% CI 0,28–0,61) z celé sledované kohorty.

5-y OS v observační podskupině bylo 57,5 % ve srovnání se 73,1 % v podskupině s udržovacím rituximabem ( $p < 0,001$ ; HR=0,46) (graf č. 8). Významný rozdíl byl i v předpokládaném 5-y PFS v prospěch nemocných s MR: 35,2 % (OBS) a 53,0 % (MAINT) ( $p < 0,001$ ) (graf č. 9). Podle výsledků subanalýzy pacientů s autologní transplantací periferních kmenových buněk nebyl potvrzen významný benefit v délce přežití u nemocných v rameni s MR ve srovnání s transplantovanými v observačním rameni ani u 5-y OS ( $p = 0,18$ ) ani u 5-y PFS ( $p = 0,06$ ). 5-y OS a 5-y PFS v observačním rameni byly 74,5 % a 44,6 %. 5-y OS a 5-y PFS v rameni s udržovací terapií byly 89,4 % a 61,8 % (viz graf č. 10).

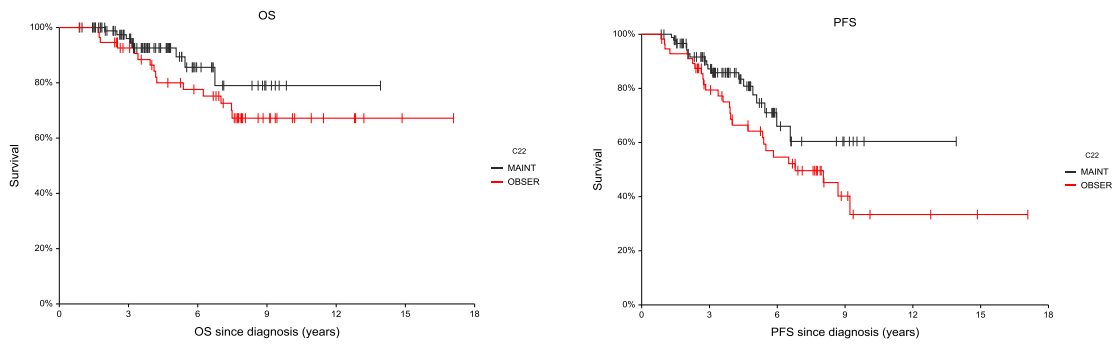
Následně jsme provedli “post hoc” analýzu s využitím Cox modelů proporcionálních rizik. Jediný dichotomický prediktor bylo zařazení do MAINT podskupiny pacientů. V grafech č. 11 a 12 je znázorněn pozitivní vliv MR na hodnocenou populaci a charakteristiky onemocnění.



Graf č. 8. Srovnání délky celkového přežití nemocných s MR (MAINT) a bez MR (OBS)



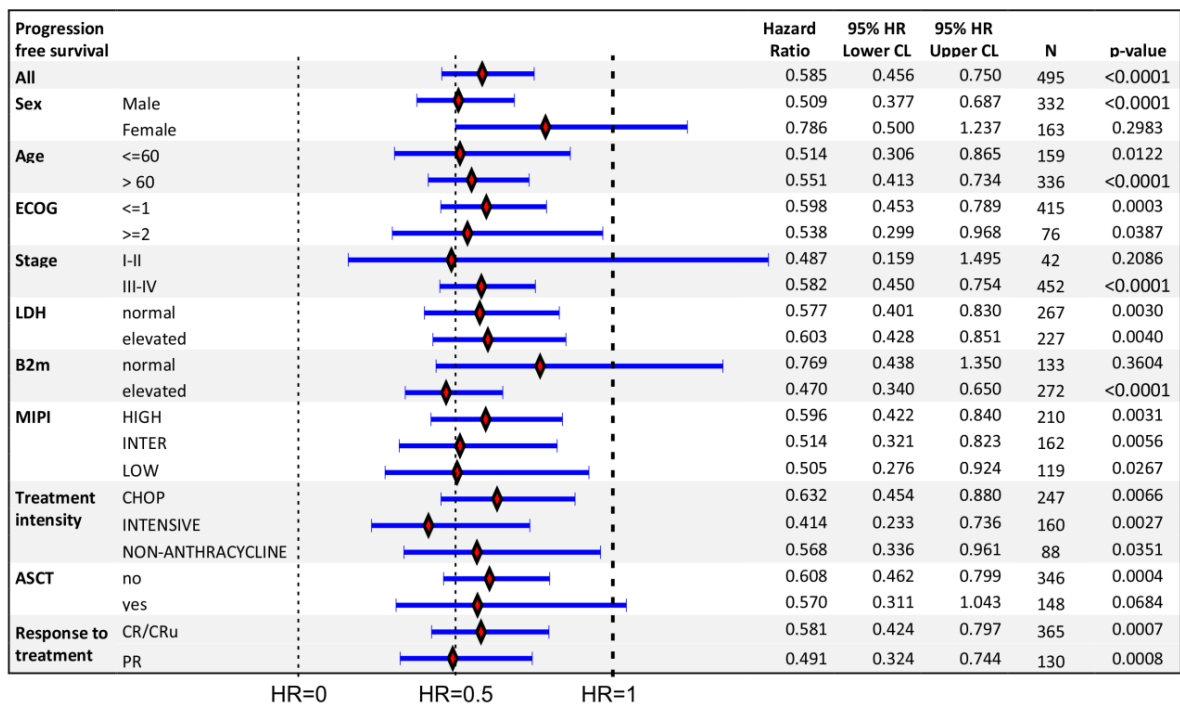
Graf č. 9. Srovnání délky přežití bez progresu lymfomu u nemocných s MR (MAINT) a bez MR (OBS)



Graf č. 10. Srovnání předpokládané délky celkového přežití ( $p=0,18$ ) a přežití bez progresu lymfomu ( $p=0,06$ ) u autologně transplantovaných nemocných s (MAINT) a bez MR (OBS)

| Overall survival      |                   | Hazard Ratio | 95% Lower CL | 95% Upper CL | N   | p-value |
|-----------------------|-------------------|--------------|--------------|--------------|-----|---------|
| All                   |                   | 0.45         | 0.33         | 0.62         | 495 | <.0001  |
| Sex                   | Male              | 0.37         | 0.25         | 0.56         | 332 | <.0001  |
|                       | Female            | 0.67         | 0.38         | 1.18         | 163 | 0.1700  |
| Age                   | <= 60             | 0.44         | 0.21         | 0.95         | 159 | 0.0360  |
|                       | > 60              | 0.40         | 0.28         | 0.57         | 336 | <.0001  |
| ECOG                  | <=1               | 0.45         | 0.31         | 0.65         | 415 | <.0001  |
|                       | >=2               | 0.52         | 0.26         | 1.01         | 76  | 0.0521  |
| Stage                 | I-II              | 0.13         | 0.02         | 1.01         | 42  | 0.0513  |
|                       | III-IV            | 0.47         | 0.34         | 0.65         | 452 | <.0001  |
| LDH                   | normal            | 0.42         | 0.26         | 0.69         | 267 | 0.0005  |
|                       | elevated          | 0.48         | 0.31         | 0.75         | 227 | 0.0012  |
| B2m                   | normal            | 0.53         | 0.24         | 1.19         | 133 | 0.1259  |
|                       | elevated          | 0.41         | 0.28         | 0.62         | 272 | <.0001  |
| MIPI                  | HIGH              | 0.47         | 0.31         | 0.71         | 210 | 0.0003  |
|                       | INTER             | 0.44         | 0.23         | 0.83         | 162 | 0.0117  |
|                       | LOW               | 0.19         | 0.05         | 0.64         | 119 | 0.0077  |
| Treatment intensity   | CHOP              | 0.39         | 0.25         | 0.62         | 247 | <.0001  |
|                       | INTENSIVE         | 0.31         | 0.14         | 0.73         | 160 | 0.0069  |
|                       | NON-ANTHRACYCLINE | 0.64         | 0.35         | 1.19         | 88  | 0.1569  |
| ASCT                  | no                | 0.44         | 0.31         | 0.63         | 346 | <.0001  |
|                       | yes               | 0.55         | 0.23         | 1.33         | 148 | 0.1858  |
| Response to treatment | CR/CRu            | 0.38         | 0.24         | 0.59         | 365 | <.0001  |
|                       | PR                | 0.47         | 0.28         | 0.77         | 130 | 0.0027  |

Graf č. 11. “post hoc” analýza s využitím Cox regresního modelu proporcionálních rizik (celkové přežití)



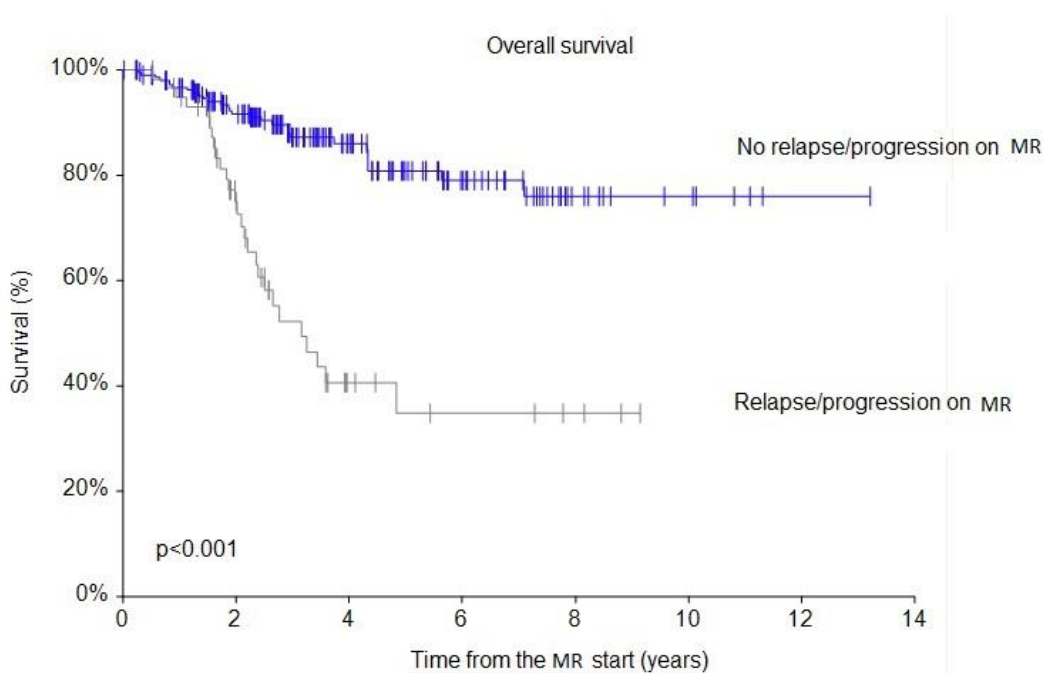
Graf č. 12. “post hoc” analýza s využitím Cox regresního modelu proporcionálních rizik (přežití bez progresse lymfomu)

Provedli jsme univariační a multivariační analýzu prediktorů selhání udržovací terapie rituximabem. Kritéria selhání MR (relaps/progrese/úmrť z jakékoli příčiny do 24 měsíců od první aplikace MR) splnilo 56 pacientů. Se selháním MR byly spojeny následující proměnné: elevovaný beta-2-mikroglobulin ( $p=0,003$ ), přítomnost systémových příznaků ( $p=0,0024$ ), ECOG>0 ( $p=0,0033$ ), věk ( $p=0,014$ ) a MIPI ( $p<0,001$ ). Pacienti, kteří nedosáhli kompletní remisi po první linii léčby, měli 2-krát vyšší riziko selhání udržovací terapie ( $HR = 2,23$ ;  $p<0,001$ ). Konsolidační ASCT snižuje o 69 % riziko selhání MR ( $HR=0,31$ ;  $p<0,001$ ). MIPI index a beta-2-mikroglobulin byly multivariační logistickou regresní analýzou identifikovány jako nezávislé prediktory

selhání MR. „Odds ratio“ (OR) je u zvýšeného beta-2 mikroglobulinu OR=2,9 (p=0,03).

Vzestup hodnoty indexu MIPI o 1 bod koresponduje s OR=1,9 (p=0,02).

Selhání udržovací terapie rituximabem je velice nepříznivá událost v souvislosti s následním zkrácením OS. Pacienti, kteří zrelabovali/zprogredovali anebo umřeli v průběhu MR měli významně skrácenou délku celkového přežití od zahájení MR. Dvouleté OS u nemocných se selháním MR dosáhlo jenom 70,3 % souboru ve srovnání s 91,7 % pacientů, kteří absolvovali celou MR bez události (p<0,001; HR=15,0; viz graf č. 13).



Graf č. 13. Srovnání celkového přežití nemocných se selháním MR (šedá křivka) s pacienty bez selhání MR (modrá křivka)

## 2.5. Závěr

---

Lymfom z pláštěvých buněk zůstává raritní lymfoproliferací i přes jeho stoupající incidenci. Stanovení diagnózy bývá někdy obtížné. Vzhledem k časté atypii cytomorfologického, antigenního a genetického profilu MCL je nutné vést pečlivou diferenciálně-diagnostickou rozvahu před uzavřením definitivní diagnózy. Při své biologické i klinické variabilitě zůstává MCL konvenční imunochemoterapií nevléčitelným onemocněním. Skóre MIPI či jiné významné prognostické ukazatele aktuálně nemají, i přes svou spolehlivou stratifikaci nemocných podle rizika, vliv na zvolenou léčebnou strategii. Už teď je ale jasné, že nelze všem pacientům indikovat podobný léčebný algoritmus bez ohledu na nové prognostické ukazatele, které se opírají o preciznější pochopení biologie MCL. Je téměř jisté, že dříve zaužívané dogma intenzivní indukce s obsahem vysocedávkovaného cytosin-arabinosidu s konsolidací ASCT není nejlepší možnost pro všechny mladé pacienty bez komorbidity (Eskelund CHW et al. 2017, Le Gouill S et al. 2017). Stejně se dá uvažovat i o plošné indikaci udržovací terapie rituximabem, která není stejně účinná po všech indukčních režimech (Rummel MJ et al. 2017). Zavádění nových prognostických faktorů nám výhledově umožní spolehlivě rozpoznat nemocné, kteří nebudou profitovat z konvenční imunochemoterapie anebo ASCT. Anebo naopak bude možné identifikovat pacienty s vyšším rizikem relapsu i přes dobrou léčebnou odpověď na indukci. Určení výše rizika selhání udržovací terapie rituximabem nám zase najde vhodné kandidáty pro jiný typ udržovací terapie anebo jiný typ kombinace indukce s udržovací léčbou.

## *Naplnění cílů dizertační práce*

### a. Analýza významu PET/CT vyšetření u nemocných s MCL

Analýzou pacientů léčených na naší klinice jsme identifikovali nepříznivý vliv pozitivita finálního PET/CT na prognózu u MCL. Nemocní s pozitivním nálezem fPET/CT měli významně kratší PFS ve srovnání s fPET/CT negativními ( $p=0,005$  při vizuálním hodnocení,  $p=0,007$  při hodnocení podle Deauville skóre 1-2 vs 3-5). Výsledek fPET/CT predikoval relaps anebo progresi nezávisle na skóre MIPI (HR 0,49;  $p=0,018$ ). TMTV v době diagnózy se nezdá být zásadním prediktivním či prognostickým ukazatelem u MCL.

### b. Identifikace významu $\beta$ -2 mikroglobulinu a sérové thymidin kinázy v predikci osudu nemocných s MCL

Studii vybraných laboratorních parametrů jsme prokázali statisticky význam vyššího  $\beta$ 2m v souvislosti s kratším OS i PFS ve srovnání s MCL pacienty s jeho normální hladinou ( $p<0,05$ ). Patologická vstupní hodnota  $\beta$ 2m byla také spojena s vyšším rizikem relapsu anebo progresu MCL (HR 7,71;  $p=0,006$ ). Vyšší sTK byla asociována s kratším přežitím (OS i PFS) ve srovnání s pacienty bez elevace sTK (obě  $p<0,02$ ).

c. Zhodnocení vlivu kumulace cytogenetických změn a mutace genu TP53 na biologické chování MCL

Další studie byla zaměřena na cytogenetické změny. Pacienti s komplexním karyotypem s  $\geq 3$  genetickými změnami měli významně kratší přežití než pacienti bez komplexních cytogenetických změn (u OS  $p=0,001$ , u PFS  $p=0,02$ ). Nosiči mutace genu TP53 měli horší prognózu OS i PFS (u obou  $p<0,001$ ). Kombinací analýz přežití podle přítomnosti anebo absence CK a mutace TP53 byli pacienti stratifikováni do 3 rizikových skupin (TP53 nemutovaný/bez CK vs TP53 mutovaný/bez CK + TP53 nemutovaný/s CK vs TP53 mutovaný/s CK) s různou délkou přežití. Nejkratší přežití (OS i PFS) měli pacienti s mutací genu TP53 a s komplexním karyotypem ( $p<0,001$ ). Nikdo z pacientů v této rizikové skupině se nedožil 2 let od stanovení diagnózy. Multivariační analýza potvrdila přítomnost komplexního karyotypu a mutaci genu TP53 jako nezávislé prediktory kratšího přežití (OS i PFS) na věku a prognostickém skóre MIPI.

d. Vliv postremisní udržovací terapie rituximabem na přežití nemocných s MCL

Podle naší multicentrické populační analýzy bez selekce pacientů jsme potvrdili delší OS i PFS u nemocných s udržovacím rituximabem bez ohledu na indukční režim ( $p<0,001$ ). Ale pacienti, kteří podstoupili ASCT neprofitovali z udržovací terapie rituximabem ve srovnání s transplantovanými v observačním rameni. Podle výsledků univariační a multivariační analýzy byly se selháním MR spojeny elevovaný  $\beta 2m$  ( $p=0,003$ ), přítomnost systémových příznaků ( $p=0,0024$ ), ECOG $>0$  ( $p=0,0033$ ), věk ( $p=0,014$ ) a MIPI ( $p<0,001$ ). 2-krát vyšší riziko selhání udržovací terapie rituximabem



měli pacienti, kteří nedosáhli kompletní remisi po první linii léčby (HR = 2,23;  $p < 0,001$ ). Konsolidační ASCT snížilo riziko selhání MR o 69 % (HR=0,31;  $p < 0,001$ ). MIPI index a  $\beta 2m$  byly multivariační logistickou regresní analýzou identifikovány jako nezávislé prediktory selhání MR. „Odds ratio“ (OR) je u zvýšeného beta-2 mikroglobulinu OR=2,9 ( $p=0,03$ ). Vzestup hodnoty indexu MIPI o 1 bod koresponduje s OR=1,9 ( $p=0,02$ ).

Selhání udržovací terapie rituximabem významně zkracuje OS ( $p < 0,001$ ; HR=15,0).

Výsledky analýzy souboru pacientů s MCL léčených na naší klinice potvrzují důležitý prognostický význam finálního zhodnocení léčebné odpovědi pomocí PET/CT. Neméně důležitý se jeví prognostický význam stanovení vstupní hladiny beta-2 mikroglobulinu či sérové thymidinkinázy a iniciační vyšetření konvenční cytogenetiky se současným vyšetřením mutačního stavu genu TP53 pomocí sekvenování nové generace. Závěrečná PET/CT pozitivita, elevace beta-2 mikroglobulinu a sérové thymidinkinázy, přítomnost komplexního karyotypu a současná mutace genu TP53 byly spojeny s nepříznivým vývojem osudu nemocného. Na robustním souboru neselektovaných pacientů s MCL léčených napříč celou Českou republikou jsme potvrdili pozitivní vliv udržovací terapie rituximabem na délku jejich přežití. Díky udržovací terapii touto monoklonální protilátkou jsou vyhlídky nemocných s MCL porovnatelné s nemocnými s indolentními lymfomy. Navíc se nám podařilo identifikovat prediktory selhání udržovací terapie rituximabem. Jejich nositelé by mohli být výhledově vhodní kandidáti na inovativní indukční či udržovací léčebné strategie.

### 3. Seznam použitých zkratk

|                |  |
|----------------|--|
| MCL            | mantle cell lymphoma, lymfom z plášťových buněk                                      |
| NHL            | nehodgkinovy lymfomy   |
| CLL            | chronická lymfocytární leukémie  |
| MTC            | major translocation cluster  |
| mtr            | minor translocation regions  |
| PCR            | polymerázová řetězová reakce   |
| FISH           | fluorescenční in situ hybridizace  |
| DNA            | deoxyribonukleová kyselina   |
| BCR            | B-buněčný receptor   |
| BL             | Burkittův lymfom   |
| LBL            | lymfoblastický lymfom  |
| NF- $\kappa$ B | nukleární faktor-kappa B   |
| PI3K           | fosfatidylinositol-3-kináza  |
| STAT3          | signální transduktor a aktivátor transkripce 3                                       |
| NOTCH          | rodina transmembránových heterodimerních receptorů                                   |
| WNT            | signální dráha uplatňující se při embryonálním vývoji, i během celého života jedince |
| ATM            | ataxia telangiectasia mutated gen  |
| CT             | výpočetní tomografie   |
| FCM            | imunofenotypizace průtokovou cytometrií  |
| ISMEN          | in situ mantle cell neoplasia, in situ neoplázie z buněk pláště                      |

|         |  |
|---------|--|
| SLL     | lymfom z malých lymfocytů  |
| MZL     | lymfom marginální zóny   |
| LPL     | lymfoplazmocytární lymfom  |
| FL      | folikulární lymfom   |
| KLS     | Kooperativní lymfomová skupina   |
| PET/CT  | pozitronová emisní tomografie kombinovaná s počítačovou tomografií           |
| EMCLN   | European MCL Network   |
| MIPI    | MCL international prognostic index, mezinárodní prognostický index pro MCL   |
| ECOG    | Eastern Cooperative Oncology Group Performance                               |
| LDH     | laktát-dehydrogenáza   |
| WBC     | počet leukocytů  |
| qRT-PCR | kvantitativní polymerázová řetězová reakce spojená s reverzní transkriptázou |
| NCCN    | National Comprehensive Cancer Network  |
| HD      | vysocedávkovaná/ý (např. terapie)  |
| AlloSCT | alogenní transplantace kmenových buněk                                       |
| ASCT    | autologní transplantace kmenových buněk                                      |
| OS      | celkové přežití  |
| PFS     | přežití bez progresu (lymfomu)   |
| BAC     | bendamustin a cytarabin  |
| BR      | bendamustin a rituximab  |
| Ara-C   | cytarabin  |

|              |   |
|--------------|---|
| CHOP         | cyklofosfamid, doxorubicin, vincristin a prednison  |
| CVP          | cyklofosfamid, vincristin a prednison   |
| R            | rituximab   |
| VR-CAP       | rituximab, cyklofosfamid, doxorubicin a prednison s bortezomibem  |
| R-hyper-CVAD | rituximab, hyperfrakcionovaný cyklofosfamid, vincristin, doxorubicin, dexamethason alernovány s vysocedávkovanými cykly methotrexat/cytarabin |
| MR           | udržovací terapie rituximabem   |
| mTOR         | mammalian target of rapamycin   |
| BCR          | B-cell receptor   |
| HOK          | Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc   |
| KLS          | Kooperativní lymfomová skupina  |
| SQ           | 3 cykly etoposidového režimu s alternací 1 cyklem metothrexatového režimu a 1 cyklem HD-AraC obsahujícím režimu                               |
| FCR          | fludarabin, cyklofosfamid, rituximab  |
| CR           | kompletní remise  |
| PR           | parciální remise  |
| SD           | stabilní choroba  |
| PD           | progredující choroba  |
| TMTV         | celkový objem nádorové masy   |
| β2m          | β-2 mikroglobulin   |
| sTK          | sérová thymidinkináza   |
| NGS          | sekvenování nové generace   |

|    |                         |
|----|-------------------------|
| CK | komplexní karyotyp      |
| OR | odds ratio, poměr šancí |

## 4. Seznam použité literatury

Raffeld M, Jaffe ES. bcl-1, t(11;14), and mantle cell-derived lymphomas. *Blood*, 1991,78:259-263

Banks PM, Chan J, Cleary ML, et al.. Mantle cell lymphoma. A proposal for unification of morphologic, immunologic, and molecular data. *Am J Surg Pathol*, 1992, 16:637-640

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127:2893–917

Smedby KE, Hjalgrim H. Epidemiology and etiology of mantle cell lymphoma and other non-Hodgkin lymphoma subtypes. *Semin Cancer Biol*. 2011 Nov;21(5):293-8

Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010;116:3724–34.

Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992–2001. *Blood* 2006;107:265–76

Jaffe ES, Stein H, Vardiman JW, editors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2001

Schollkopf C., Melbye M., Munksgaard L., et al. Borrelia infection and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2008 Jun 15; 111(12): 5524–5529

Clapp RW, Jacobs MM, Loechler EL. Environmental and occupational causes of cancer: new evidence 2005–2007. *Rev Environ Health*. 2008;23:1–37

Eriksson M, Hardell L, Carlberg M, Akerman M. Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis. *Int J Cancer*. 2008;123:1657–1663

Zhang Y, Dai Y, Zheng T, Ma S. Risk factors of Non-Hodgkin lymphoma. *Expert Opinion on Medical Diagnostics*. 2011;5:539–5

Tort F, Camacho E, Bosch F, Harris NL, Montserrat E, Campo E. Familial lymphoid neoplasms in patients with mantle cell lymphoma. *Haematologica* 2004 Mar;89(3):314-9

Ondrejka SL, Lai R, Kumar N, Smith SD, Hsi ED. Indolent mantle cell leukemia: clinicopathological variant characterized by isolated lymphocytosis, interstitial bone marrow involvement,  $\kappa$  light chain restriction, and good prognosis. *Haematologica* 2011;96:1221–7

Vogt N, Klapper W. Variability in morphology and cell proliferation in sequential biopsies of mantle cell lymphoma at diagnosis and relapse: clinical correlation and insights into disease progression. *Histopathology*. 2013; 62(2): 334–342

Bernard M, Gressin R, Lefrère F, et al. Blastic variant of mantle cell lymphoma: a rare but highly aggressive subtype. *Leukemia*. 2001; 15(11): 1785–1791

Duggan MJ, Weisenburger DD, Ye YL, et al. Mantle zone lymphoma. A clinicopathologic study of 22 cases. *Cancer* 1990;66:522–9

Gao J, Peterson L, Nelson B, Goolsby C, Chen YH. Immunophenotypic variations in mantle cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2009;132:699–706

Gualco G, Weiss LM, Harrington Jr WJ, Bacchi CE. BCL6, MUM1, and CD10 expression in mantle cell lymphoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:103–8.

Fu K, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study based on gene expression profiling. *Blood*. 2005;106:4315-4321

Obr A, Mikešová M, Jarošová M, Procházka V, Tessoulin B, Papajík T. Diagnostika a prognostické faktory lymfomu z buněk pláště. *Transfuzie Hematol. dnes*,22, 2016, No. 3, p. 190-200

Wlodarska I, Dierickx D, Vanhentenrijk V, et al. Translocations targeting CCND2, CCND3, and MYCN do occur in t(11;14)-negative mantle cell lymphomas. *Blood*. 2008;111(12):5683-90

Vogt N, Dai B, Erdmann T, Berdel WE, Lenz G. The molecular pathogenesis of mantle cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2017 Jul;58(7):1530-1537

Beà S, Ribas M, Hernández JM, et al. Increased number of chromosomal imbalances and high-level DNA amplifications in mantle cell lymphoma are associated with blastoid variants. *Blood*. 1999;93(12):4365-74

Pinyol M, Hernandez L, Cazorla M, et al. Deletions and loss of expression of p16INK4a and p21Waf1 genes are associated with aggressive variants of mantle cell lymphomas. *Blood*. 1997;89(1):272-80



Espinet B, Salaverria I, Beà S, et al. Incidence and prognostic impact of secondary cytogenetic aberrations in a series of 145 patients with mantle cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2010;49(5):439-51

Eskelund CHW, Dahl CH, Hansen JW, et al.. TP53 mutations identify younger mantle cell lymphoma patients who do not benefit from intensive chemoimmunotherapy. *Blood* 2017 :blood-2017-04-779736; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-04-779736>

Hernández L, Beà S, Pinyol M, et al. CDK4 and MDM2 gene alterations mainly occur in highly proliferative and aggressive mantle cell lymphomas with wild-type INK4a/ARF locus. *Cancer Res*. 2005;65(6):2199-206

Greiner TC, Dasgupta C, Ho VV, et al. Mutation and genomic deletion status of ataxia telangiectasia mutated (ATM) and p53 confer specific gene expression profiles in mantle cell lymphoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(7):2352-7

Martinez-Climent JA, Vizcarra E, Sanchez D, et al. Loss of a novel tumor suppressor gene locus at chromosome 8p is associated with leukemic mantle cell lymphoma. *Blood*. 2001;98(12):3479-82

Mozos A, Royo C, Hartmann E, et al. SOX11 expression is highly specific for mantle cell lymphoma and identifies the cyclin D1-negative subtype. *Haematologica*. 2009;94(11):1555-62.

Narurkar R, Alkayem M, Liu D. SOX11 is a biomarker for cyclin D1-negative mantle cell lymphoma. *Biomark Res*. 2016 Mar 3;4:6. Review

O'Connor OA. Mantle Cell Lymphoma Facts. FS4 Mantle Cell Lymphoma Facts I. [www.LLS.org](http://www.LLS.org). November 2014; page 1-9

Argatoff LH, Connors JM, Klasa RJ, et al. Mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study of 80 cases. *Blood* 1997; 89:2067

Hao S, Sanger W, Onciu M, Lai R, Schlette EJ, and Medeiros LJ. Mantle cell lymphoma with 8q24 chromosomal abnormalities: a report of 5 cases with blastoid features. *Mod Pathol*. 2002;15(12):1266-72.

Michaux L, Wlodarska I, Theate I, et al. Coexistence of BCL1/CCND1 and CMYC aberrations in blastoid mantle cell lymphoma: a rare finding associated with very poor outcome. *Ann Hematol*. 2004;83(9):578-83

Adam Z., Krejčí M., Vorlíček J. et al. Hematologie. Přehled maligních hematologických nemocí 2., doplněné a zcela přepracované vydání. Praha: Grada Publishing a.s., 2008. 390 s, ISBN 978-80-247-2502-4

Martin P, Leonard J. Is there a role for "watch and wait" in patients with mantle cell lymphoma? *Semin Hematol*. 2011 Jul;48(3):189-93

Cheah CY, George A, Giné E, et al. Central nervous system involvement in mantle cell lymphoma: clinical features, prognostic factors and outcomes from the European Mantle Cell Lymphoma Network. *Ann Oncol* 2013; 24:2119

Rašić MD, Knežević M, Terzić T et al. Bilateral ocular paraneoplastic mass as initial presentation of systemic blastoid variant of mantle-cell lymphoma. *Survey of Ophthalmology*. Volume 62, Issue 1, Jan–Feb 2017, p 83-88

Mayer J, Trněný M, Čermák J et al. Léčebné postupy v hematologii. První vydání. Nové Město nad Metují, 2016. 413 s, ISBN 978-80-260-9718-1

Campo E, Swerdlow SH, Harris NL et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011 May 12; 117(19): 5019–5032

Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127:2375-2390

Swerdlow SH, Habeshaw JA, Murray LJ, et al. Centrocytic lymphoma: a distinct clinicopathologic and immunologic entity. A multiparameter study of 18 cases at diagnosis and relapse. *AmJ Pathol* 1983;113:181–97.

Weisenburger DD, Kim H, Rappaport H. Mantle-zone lymphoma: a follicular variant of intermediate lymphocytic lymphoma. *Cancer* 1982;49:1429–38

Aqel N, Barker F, Patel K, Naresh KN. In-situ mantle cell lymphoma—a report of two cases. *Histopathology* 2008;52:256–60

Greene FL, Page DL, Fleming ID et al. American Joint Committee on Cancer. Lymphoid neoplasms. *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th ed. New York: Springer 2002: 393–406

Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds Meeting. *J Clin Oncol* 1989; 7(11): 1630–1636

Sýkorová A., Belada D., Smolej L. et al. Určování rozsahu onemocnění u non-Hodgkinových lymfomů – doporučení Kooperativní lymfomové skupiny. *Klin Onkol* 2010; 23(3): 146–154

Dreyling M, Geisler C, Hermine O, et al.. Newly Diagnosed and Relapsed Mantle Cell Lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* (2014) 25 (suppl 3): iii83-iii92

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. *JCO*. September 20, 2014 vol. 32 no. 27 3048-3058

Martin P, Chadburn A, Christos P, et al. Outcome of deferred initial therapy in mantle-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2009;27:1209–1213

Hoster E, Dreyling M, Klapper W, et al. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood* 2008; 111:558

Klapper W, Hoster E, Determann O, et al.; European MCL Network. Ki-67 as a prognostic marker in mantle cell lymphoma-consensus guidelines of the pathology panel of the European MCL Network. *J Hematop* 2009;2:103-111

Dreyling M, Ferrero S, Vogt N, and Klapper W; European MCL Network. New Paradigms in MCL: Is It Time to Risk-Stratify Treatment Based on the Proliferative Signature? *Clin Cancer Res* 2014, 20:5194

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 Apr;55(4):802-10

Trněný M, Klener P, Campr V et al. The Outcome of Mantle Cell Lymphoma patients after Treatment Failure and Prognostic value of Secondary Mantle Cell International Prognostic Index (sec MIPI). Oral and Poster Abstracts, ASH 2014

Rockwood K, Song X, MacKnight C et al. A global clinical measure of fitness and frailty in elderly people. *CMAJ* 2005;173:489-495

Sehgal L, Tamer K, Wang X, et al. Tumor Microenvironment Regulates Survival of Mantle Cell Lymphoma Cells through Various Signaling Pathways. *Blood* 2015 126:4775;

Pham LV, Tamayo AT, Pogue E, et al. The Tumor Microenvironment in Mantle Cell Lymphoma (MCL): Novel Targets to Overcome Chemo-Resistance in MCL. *Blood* 2014 124:494;

Porrata LF, Ristow K, Markovic SN. Absolute monocyte count at diagnosis and survival in mantle cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2013 Nov; 163(4): 545-7

Fernandez V, Salamero, O, Espinet B, et al. Genomic and geneexpression profiling defines indolent forms of mantle cell lymphoma. *Cancer Res*.2010;70:1408–1418

Hartmann E, Fernandez, V, Moreno V, et al. Five-gene model to predict survival in mantle-cell lymphoma using frozen or formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *J Clin Oncol*.2008;26:4966–4972

Rosenwald A, Wright, G, Wiestner A, et al. The proliferation gene expression signature is a quantitative integrator of oncogenic events that predicts survival in mantle cell lymphoma. *Cancer Cell*. 2003;3:185–197

Dreyling M, Hiddemann W. Current treatment standards and emerging strategies in mantle cell lymphoma. *American Society of Hematology Education Program Book, Hematology*, 2009 (pg. 542-554)

Dreyling M, Thieblemont C, Gallamini A, et al. ESMO Consensus Guidelines: Marginal Zone Lymphoma, Mantle Cell Lymphoma, Peripheral T-cell Lymphoma. *Ann Oncol* (2013) 24 (4): 857-877

Dreyling M, Jerkeman M, Hermine O, et al. Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment, and follow-up. *Ann Oncol*. 2017;28(Suppl 4):iv62–iv71

McKay P, Leach M, Jackson R, British Committee for Standards in H, et al. Guidelines for the investigation and management of mantle cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2012;159:405–426

Dreyling M, Aurer I, Cortelazzo S et al. (2017): Treatment for patients with relapsed/refractory mantle cell lymphoma: European-based recommendations, *Leukemia & Lymphoma*, DOI:10.1080/10428194.2017.1403602

Leitch HA, Gascoyne RD, Chhanabhai M et al. Limited-stage mantle-cell lymphoma. *Ann Oncol* 2003; 14: 1555–1561

Mallet V, van Bömmel F, Doerig C et al. Management of viral hepatitis in patients with haematological malignancy and in patients undergoing haemopoietic stem cell transplantation: recommendations of the 5th European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-5). *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 606–617

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: 1984–1992

Kluin-Nelemans HC, Hoster E, Hermine O et al. Treatment of older patients with mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2012; 367: 520–531.

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: 1203–1210

Robak T, Huang H, Jin J et al. Bortezomib-based therapy for newly diagnosed mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372: 944–953

Visco C, Chiappella A, Nassi L et al. Rituximab, bendamustine, and low-dose cytarabine as induction therapy in elderly patients with mantle cell lymphoma: a multicentre, phase 2 trial from Fondazione Italiana Linfomi. *Lancet Haematol* 2017; 4: e15–e23

Klener P, Fronkova E, Belada D et al. Alternating R-CHOP and R-cytarabine is a safe and effective regimen for transplant-ineligible patients with a newly diagnosed mantle cell lymphoma. *Hematol Oncol*. 2017 Oct 30. doi: 10.1002/hon.2483

Ruan J, Martin P, Shah B et al. Lenalidomide plus rituximab as initial treatment for mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 373: 1835–1844

Dreyling M, Lenz G, Hoster E et al. Early consolidation by myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission significantly prolongs progression-free survival in mantle-cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the European MCL Network. *Blood* 2005; 105: 2677–2684

Hoster E, Metzner B, Forstpointner R et al. Autologous Stem Cell Transplantation and Addition of Rituximab Independently Prolong Response Duration in Advanced Stage Mantle Cell Lymphoma. *Blood* 2009; (ASH Annual Meeting Abstracts); 114: 880.

Le Gouill S, Thieblemont C, Oberic L et al. Rituximab after Autologous Stem-Cell Transplantation in Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2017 Sep 28;377(13):1250-1260

Hermine O, Hoster E, Walewski J et al. Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomised, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network. *Lancet* 2016; 388: 565–575



Romaguera JE, Fayad L, Rodriguez MA et al. High rate of durable remissions after treatment of newly diagnosed aggressive mantle-cell lymphoma with rituximab plus hyper-CVAD alternating with rituximab plus high-dose methotrexate and cytarabine. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7013–7023

Merli F, Luminari S, Ilariucci 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: 346–353.

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: 1587–1593

Krüger WH, Hirt C, Basara N et al. Allogeneic stem cell transplantation for mantle cell lymphoma-final report from the prospective trials of the East German Study Group Haematology/Oncology (OSHO). *Ann Hematol* 2014; 93: 1587–1597

Vidal L, Gafter-Gvili A, Salles G et al. Rituximab maintenance improves overall survival of patients with follicular lymphoma-Individual patient data meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2017 May;76:216-225

Inoue N, Nishimura N, Takahashi A et al.. Rituximab Maintenance Therapy Is an Effective Therapy in over-Sixties with Mantle Cell Lymphoma. *Blood* 2015 126:5081

Rummel MJ, Maschmeyer G, Ganser A et al. Bendamustine plus rituximab (B-R) versus CHOP plus rituximab (CHOP-R) as first-line treatment in patients with indolent

lymphomas: Nine-year updated results from the StiL NHL1 study. *J Clin Oncol* 35, 2017 (suppl; abstr 7501)

Goy A, Bernstein SH, Kahl BS et al. Bortezomib in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma: updated time-to-event analyses of the multicenter phase 2 PINNACLE study. *Ann Oncol* 2009; 20: 520–525

Hess G, Karola W, LaRosee P et al. Temsirolimus in combination with bendamustine and rituximab (BeRT) for the treatment of relapsed mantle cell and follicular lymphoma: final phase I/II results. *Blood* 2016; (ASH Annual Meeting Abstracts) 128: 2977

Trněný M, Lamy T, Walewski J et al. Lenalidomide versus investigator's choice in relapsed or refractory mantle cell lymphoma (MCL-002; SPRINT): a phase 2, randomised, multicentre trial. *Lancet Oncol* 2016; 17: 319–331

Ferrero S, Pastore A, Scholz CW et al. Radioimmunotherapy in relapsed/refractory mantle cell lymphoma patients: final results of a European MCL network phase II trial. *Leukemia* 2016; 30: 984–987

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: 507–516

Dauids MS, Roberts AW, Seymour JF et al. Phase I first-in-human study of venetoclax in patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2017; 35: 826–833

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: 716–723

Forstpointner R, Unterhalt M, Dreyling M et al. Maintenance therapy with rituximab leads to a significant prolongation of response duration after salvage therapy with a combination of rituximab, fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone (R-FCM) in patients with recurring and refractory follicular and mantle cell lymphomas: results of a prospective randomized study of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG). *Blood* 2006; 108: 4003–4008

Ferrero S, Pastore A, Scholz CW et al. Radioimmunotherapy in relapsed/refractory mantle cell lymphoma patients: final results of a European MCL network phase II trial. *Leukemia* 2016; 30: 984–987

Cassaday RD, Guthrie KA, Budde EL et al. Specific features identify patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma benefitting from autologous hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19: 1403–1406

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: 464–473

Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME et al. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007 Feb 10;25(5):579-86

Meignan M, Barrington S, Itti E, Gallamini A et al. Report on the 4th International Workshop on Positron Emission Tomography in Lymphoma held in Menton, France, 3-5 October 2012. *Leuk Lymphoma*. 2014 Jan;55(1):31-7

Trneny M, Vasova I, Pytlik R, et al.. The Non-Hodgkin\_s Lymphoma subtype distribution and survival in Czech Republic. *Klin Onkol* 2007; 20(5): 341-348

Janikova A, Bortlicek Z, Campr V et al. The incidence of biopsy-proven transformation in follicular lymphoma in the rituximab era. A retrospective analysis from the Czech Lymphoma Study Group (CLSG) database. *Ann Hematol*. April 2018, Volume 97, Issue 4, pp 669–678

Prochazka V, Papajik T, Janikova A, et al.. Frontline intensive chemotherapy improves outcome in young, high-risk patients with follicular lymphoma: pair-matched analysis from the Czech Lymphoma Study Group Database. *Leuk Lymphoma*. 2017 Mar;58(3):601-613

Kobe C, Kuhnert G, Kahraman D et al. Assessment of tumor size reduction improves outcome prediction of positron emission tomography/computed tomography after chemotherapy in advanced-stage Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol*. 2014 Jun 10;32(17):1776-81

Obr A, Prochazka V, Henzlova L et al. Complete metabolic response after therapy independently predicts outcome in Mantle cell lymphoma. *Hematol Oncol* 2015; 33: p 270, abstract 355

Yoo C, Yoon DH, Kim S et al. Serum beta-2 microglobulin as a prognostic biomarker in patients with mantle cell lymphoma. *Hematol Oncol*. 2016 Mar;34(1):22-7

Procházka V, Faber E, Raida L et al. High baseline serum thymidine kinase 1 level predicts unfavorable outcome in patients with follicular lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2012 Jul;53(7):1306-10

Cohen JB, Ruppert AS, Heerema NA, et al.. Complex karyotype is associated with aggressive disease and shortened progression-free survival in patients with newly diagnosed mantle cell lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2015 May;15(5):278-285

Sarkozy C, Terré C, Jardin F, et al.. Complex karyotype in mantle cell lymphoma is a strong prognostic factor for the time to treatment and overall survival, independent of the MCL international prognostic index. *Genes Chromosomes Cancer*. 2014 Jan;53(1):106-16

Petitjean A, Achatz MIW, Borresen-Dale AL, et al.. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene* volume26, pages2157–2165 (02 April 2007)

Novotná B, Mareš J. *Vývojová biologie pro mediky*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2005. 99 s. ISBN 80-246-1023-X

Zenz T, Eichhorst B, Busch R, et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28:4473–9.

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 Feb 1;15(3):995-1004

Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, et al.. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol*. 1999;17:1244

Gazzo S, Felman P, Berger F, et al. Atypical Cytogenetic Presentation Of T(11;14) In Mantle Cell Lymphoma. *Haematologica* January 2005 90: 1708-1709

Sarkozy C, Terré C, Jardin F, et al.. Complex karyotype in mantle cell lymphoma is a strong prognostic factor for the time to treatment and overall survival, independent of the MCL international prognostic index. *Genes Chromosomes Cancer*. 2014 Jan;53(1):106-16

Greenwell IB, Staton AD, Lee MJ et al. Complex karyotype in patients with mantle cell lymphoma predicts inferior survival and poor response to intensive induction therapy. *Cancer*. 2018 Mar 26. doi: 10.1002/cncr.31328

## **5. Webové zdroje**

<http://globocan.iarc.fr>

[http://www.european-mcl.net/en/clinical\\_mipi.php](http://www.european-mcl.net/en/clinical_mipi.php)