

Univerzita Palackého v Olomouci

Lékařská fakulta

Prognostické faktory u myelodysplastického syndromu

Disertační práce

MUDr. Eva Kadlčková

Olomouc 2018

Jméno a příjmení autora:

MUDr. Eva Kadlčková

Název disertační práce:

Prognostické faktory u myelodysplastického syndromu

Pracoviště:

Hematologicko-transfuzní oddělení Krajské nemocnice Tomáše Bati ve Zlíně

Školící pracoviště:

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Školitel: doc. MUDr. Peter Rohoň, Ph.D.

Rok obhajoby disertační práce: 2018

Anotace: Myelodysplastický syndrom je různorodý soubor neoplastických onemocnění, charakterizovaných selháním kostní dřeně a rizikem klonální progresie. Pro výběr terapeutické modality je nejdůležitější stratifikovat pacienty podle rizika vzniku akutní leukémie a smrti. Přes významné pokroky v léčbě tohoto onemocnění zůstává více než polovina nemocných závislých na transfúzích erytrocytů s následnou hrozbou poškození orgánů při přetížení organismu nadbytečným železem. Těžiště této práce spočívá ve verifikaci účinnosti prediktorů přežívání a sledování markerů přetížení organismu nadbytečným železem u transfúzně závislých MDS pacientů v běžné hematologické praxi ve vybraných regionech České republiky.

Klíčová slova: myelodysplastický syndrom, chronická myelomonocytární leukémie, prediktor přežívání, transfúze erytrocytů, přetížení železem, chelatační terapie.

Disertační práce byla zpracována v rámci řešení výzkumného záměru IGA_LF_2013_004, IGA_LF_2014_001, IGA_LF_2015_001, IGA_LF_2016_001, IGA_LF_2017_007.

The autor's first name and surname: Eva Kadlčková, M.D.

The title of the doctoral thesis:

Prognostic factors in myelodysplastic syndromes

Department:

Hematology and Blood Transfusion Department, Tomáš Baťa Hospital in Zlín
Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký
University Olomouc

Supervisor: Associate professor Peter Rohoň, M.D., Ph.D.

The year of presentation: 2018

Annotation: Myelodysplastic syndrome is a diverse set of neoplastic diseases characterized by bone marrow failure and the risk of clonal progression. To select therapeutic modality is important to stratify patients according to a risk of developing acute leukemia and death. Despite significant advances in the treatment of this disease, more than half of the patients remain dependent on red blood cell transfusions, with a consequent threat of organ damages due to iron overload. The aim of this work is to verify the effectiveness of survival predictors and follow markers of iron overload in transfusion-dependent patients in routine haematology practice within selected regions of the Czech Republic.

Keywords: myelodysplastic syndrome, chronic myelomonocytic leukemia, survival predictor, red blood cell transfusion, iron overload, chelation therapy.

Supported by research projects IGA_LF_2013_004, IGA_LF_2014_001, IGA_LF_2015_001, IGA_LF_2016_001, IGA_LF_2017_007.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci zpracovala samostatně pod vedením doc. MUDr. Petera Rohoně, Ph.D., uvedla jsem všechny použité literární zdroje a dodržovala jsem zásady vědecké etiky.

Souhlasím s půjčováním disertační práce v rámci knihovních služeb.

Ve Zlíně, 21.2.2018

MUDr. Eva Kadíčková

Poděkování a věnování

Upřímný dík patří především mému školiteli panu doc. MUDr. Peteru Rohoňovi, Ph.D., odbornému lékaři Hemato-onkologické kliniky LF UP a FN Olomouc, za vedení během celé doby postgraduálního studia, za cenné rady a připomínky při tvorbě disertační práce a také za dlouhodobou plodnou spolupráci při diagnostice a léčbě pacientů s nemocemi krvev tvorby.

Děkuji panu prof. MUDr. Karlu Indrákovi, DrSc., bývalému přednostovi Hemato-onkologické kliniky LF UP a FN Olomouc, který mě inspiroval k zahájení postgraduálního studia a byl mým školitelem spolu p. doc. Rohoněm v prvním roce mého studia.

Chci poděkovat panu RNDr. Tomáši Fürstovi, Ph.D. z Katedry matematické analýzy a aplikací matematiky PŘF UP v Olomouci v Olomouci za neocenitelnou pomoc se statistickým zpracováním dat využitých v disertační práci.

Poděkování patří i odb. as. Mgr. Pavlu Kurfürstovi, vedoucímu Centra pro výuku cizích jazyků LF UP, za pomoc s anglicky psanou pasáží této práce.

Tento spis by nemohl vzniknout bez obětavé práce mých kolegů a spolupracovníků – lékařů, VŠ specialistů, laborantů a sester z Hematologicko-transfuzního oddělení i dalších navazujících oddělení Krajské nemocnice T. Bati ve Zlíně, za což jim náleží mé upřímné poděkování.

Nemalý dík patří i kolegům hematologům, cytogenetikům, molekulárním biologům, patologům a pracovníkům z oddělení zobrazovacích metod FN Olomouc, FN Brno-Bohunice, VFN Praha, ÚHKT Praha a MOÚ Brno-Žlutý Kopec, kteří se podíleli na diagnostice a léčbě našich společných pacientů a v nejednom případě byli i spoluautory článků, jež jsou součástí disertační práce.

V neposlední řadě děkuji manželovi a mým dětem za morální podporu během celého studia a pomoc s grafickým zpracováním mé práce.

Moje poděkování patří i paní Ing. Helze Hromádkové ze studijního oddělení za vstřícnost a ochotu při vyřizování organizačních záležitostí během celého studia.

Děkuji srdečně i paní Mgr. Veronice Toralové za jazykovou korekturu celé disertační práce.

Práci věnuji paní doc. MUDr. Radaně Neuwirtové z I. Interní kliniky VFN Praha a I. LF UK Praha, která ve mně před lety vzbudila zájem o problematiku myelodysplastického syndromu a která mi s laskavostí a nezištností sobě vlastní vždy pomáhala radou i povzbuzením.

Obsah

Prohlášení.....	4
Poděkování a věnování	5
Obsah	6
1. Teoretická část.....	8
1.1. Definice MDS.....	8
1.2. Historie MDS	8
1.3. Epidemiologie MDS	9
1.4. Patogeneze MDS	10
1.4.1 MDS s del(5q) a 5q- syndrom	12
1.5. Klinický obraz	14
1.6. Základní diagnostika MDS.....	15
1.7. Chronická myelomonocytární leukémie.....	23
1.8. Klasifikace a prognostické faktory MDS a CMML.....	26
1.8.1. Subklasifikace MDS a CMML	26
1.8.2. Prognostické skórovací systémy.....	32
1.9. Terapeutické možnosti MDS a CMML	35
1.9.1. Léčebná strategie watch and wait.....	39
1.9.2. Substituční terapie a chelatace	39
1.9.3. Růstové faktory hemopoézy	43
1.9.4. Imunosupresivní léčba	43
1.9.5. Léčba trombocytopenie	44
1.9.6. Imunomodulační léčba	44
1.9.7. Nízkodávkovaná monochemoterapie a kombinovaná chemoterapie.....	46
1.9.8. Epigenetická léčba	46
1.9.9. Alogenní transplantace krvetvorných buněk	48
1.9.10. Nové směry v terapii MDS a CMML.....	49
2. Cíle práce	50
3. Materiál a metodika.....	51
3.1. Základní soubor MDS a CMML.....	51
3.1.1 Statistické metody	53
3.2. Soubor CMML	53
3.2.1. Statistické metody	54

4. Výsledky.....	54
4.1. Základní soubor pacientů MDS a CMML.....	54
4.1.1. Popis souboru pacientů	54
4.1.2. Prediktory přežití	58
4.2. Soubor CMML	62
4.2.1. Popis souboru pacientů	62
4.2.2. Prediktory přežívání.....	63
5. Diskuse	64
5.1. K základnímu souboru MDS a CMML	64
5.1.1. Mezinárodní prognostická skóre (IPSS, IPSS-R, WPSS)	64
5.1.2. WHO subtyp jako náhradní prediktor OS a EFS.....	65
5.1.3. CACI a PS jako alternativní prediktory	66
5.1.4. Cytogenetické aberace	66
5.1.5. Sekundární MDS	68
5.1.6. Follow up transfúzně závislých pacientů	68
5.1.7. Kazuistika nechelatovaného polytransfundovaného pacienta	69
5.2. K souboru CMML.....	70
5.2.1. Prediktory přežívání.....	70
5.2.2. Vliv terapeutické modality na OS	70
6. Závěr.....	71
7. Reference	73
8. Zkratky.....	90
9. Seznam obrázků, tabulek a grafů.....	95
9.1. Seznam obrázků	95
9.2. Seznam tabulek.....	95
9.3. Seznam grafů.....	97
10. Fulltexty vlastních prací.....	97

1. Teoretická část

1.1. Definice MDS

Myelodysplastický syndrom (MDS) je definován jako heterogenní skupina klonálních onemocnění krvetvorby, která se vyznačuje dysplastickými změnami prekursorů v kostní dřeni, periferní cytopenií a zvýšeným rizikem progresu do akutní myeloidní leukémie (AML) (1). Jiná definice charakterizuje MDS jako různorodý soubor neoplastických onemocnění charakterizovaných selháním kostní dřene a rizikem klonální progresu (2). Nemocní se liší počtem a tíží cytopenií a průběhem choroby: MDS může mít průběh zcela indolentní, kdy pacienti dosahují téměř normální očekávané délky života a není u nich potřebná žádná péče. Druhým protipólem jsou nemocní, u nichž MDS během několika málo měsíců transformuje do akutní leukémie (3).

1.2. Historie MDS

V literatuře se popis symptomů odpovídajících MDS poprvé objevil v samém počátku 20. století. Luzzatto v něm nazýval anémii nereagující na tehdejší dostupnou léčbu *pseudoplastickou anémií* (4). Zhruba o 20 let později byl v USA publikován první soubor pacientů s *refrakterní anémií* (5). Když byla odhalena skutečnost, že tento typ anémie v čase progreduje do akutní leukémie, objevil se v literatuře název *preleukémie* (6,7) nebo *doutnající leukémie* a další názvy (tab. 1).

Tab. 1. Historické názvy pro myelodysplastický syndrom (upraveno podle 3).

Rok	Autor	Název MDS
1907	Luzzatto A	Anemia pseudoblastica
1938	Rhoades CP, Barker WH	Refractory anemia
1949	Hamilton-Paterson JL	Pre-leukemia anemia
1953	Block M et al.	Preleukemic acute human leukemia
1969	Dreyfus B	Anemies refractaires
1974	Linman JW	Preleukemia
1974	Pierre RV	Preleukemic states
1974	Van den Berghe H	5q- syndrome
1976	Greenberg P	Smouldering leukemia
1978	Linman JW	Preleukemic syndrome (hemopoietic dysplasia)
1980	Koeffler P	Human Preleukemia
1981	Rowley JD; Coiffier B et al.	Dysmyelopoietic syndrome
1982	Bennett JM et al.	Myelodysplastic syndromes
1983	Coiffier B et al.	Dysmyelopoietic syndrome

V tehdejší Československu publikoval v r. 1975 v časopise Vnitřní lékařství prof. MUDr. Dionýz Dieška práci s názvem Preleukemický syndrom. V 70. letech minulého století Saarni a Linman správně rozpoznali, že jde primárně o onemocnění kostní dřene charakterizované sníženou maturací hemopoetických prekursorů a hypercelularitou kostní dřene (8). Francouzsko-americko-britská skupina (FAB) zavedla koncem 70. let v sérii textů k tématu akutní leukémie pojem *myelodysplastický syndrom* a v roce 1982 publikovala první MDS klasifikaci, která třídila MDS případy do 5 známých podtypů: refrakterní anémie (RA), refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty (RARS), refrakterní anémie s excesem blastů (RAEB), refrakterní anémie s excesem blastů v transformaci (RAEB-T) a chronická myelomonocytární leukémie (CMML) (1, 9). Současně s dalšími významnými pracemi navazujícími na FAB klasifikaci (10, 11, 12) vyšel v našich zemích v časopise Vnitřní lékařství článek M. Šteruské, V. Izakoviče, M. Hrubíška a kol. Súčasná možnosti

diagnostiky myelodysplastického syndromu. Zároveň byly publikovány práce přispívající k objasnění patogeneze MDS, rozvíjely se poznatky o cytogenetických změnách (**13, 14**). Po vzoru FAB vznikla v českých zemích MDS kooperativní skupina, která se záhy prezentovala v českém odborném tisku prvními pracemi: Neuwirtová R, Malasková V, Šteruská M. *Myelodysplastický syndrom*, Vnitřní lékařství, 1986, Neuwirtová R, Šteruská M, Lukášová M. *Naše zkušenosti s léčbou MDS*, Vnitřní lékařství, 1987 a *Rozbor 259 nemocných s MDS* v Čas. lék. čes., 1990 (**15**). První zpracování cytogenetických nálezů našich MDS nemocných publikovali Musilová, Michalová a Chrz (**16, 17, 18**). Průlomovou prací v pochopení patogeneze časného MDS se stala Yoshidova práce, která vysvětlovala možnou příčinu hyperplastické KD a pancytopenie v periferní krvi tím, že prekursori podléhají předčasné apoptóze, což je v rozporu s obecnou představou o nádorové buňce, která naopak může přežívat nekonečně dlouho (**19**). Důležitými milníky pro klinickou praxi a léčbu MDS se stala prognostická skóre, která budou zmíněna v dalším textu. Zavedení transplantace krvetvorných buněk, chelatačních látek, imunomodulancií a epigenetické léčby do rutinní praxe změnilo tristní prognózu nemocných. Podnítilo také zájem hematologů o toto onemocnění a iniciovalo další výzkumné práce vedoucí k pochopení etiopatogeneze MDS. Současné těžiště výzkumu na tomto poli spočívá v molekulární genetice a biologii a jejich sofistikovaných metodách.

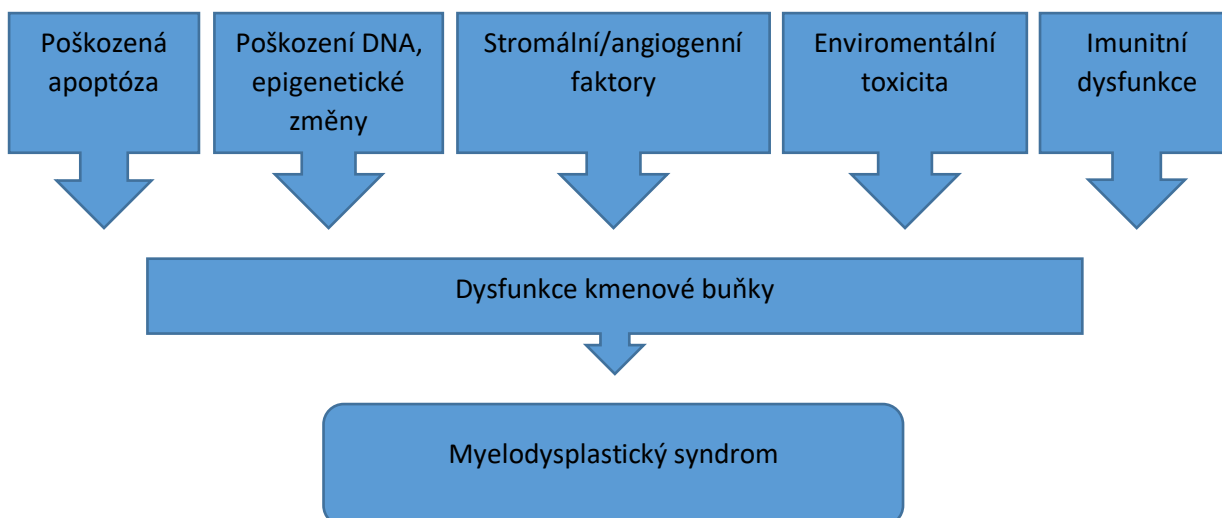
1.3. Epidemiologie MDS

Roční incidence MDS se v celkové populaci vyspělých zemí pohybuje kolem 4–5 pacientů na 100 000 obyvatel (**20, 21**). Tato data, získaná z registrů nádorových onemocnění, mohou být významně podhodnocena, neboť v praxi vážně diagnostika i systematické epidemiologické sledování tohoto onemocnění (**22, 23**). MDS je onemocněním starších osob, medián věku pacientů se pohybuje kolem 72 let. Roční incidence nemoci kolísá od cca 0,1 případů v populaci mladší 40 let přes asi 30 nemocných v populaci nad 70 let až k přibližně 50 nově diagnostikovaným pacientům na 100 000 obyvatel za rok v populaci nad 80 let věku (**24**). MDS je, s výjimkou 5q- syndromu, častější u mužů než u žen (**25**). Počet onemocnění MDS stoupá nejen vlivem prodlužujícího se věku a zlepšující se diagnostiky, ale také v důsledku toho, že žijeme v industriálním světě s různými toxickými vlivy. Nově diagnostikované případy MDS můžeme rozdělit na primární a sekundární (sMDS), které vznikly po předchozí expozici nejrůznějšími mutageny – nejčastěji v souvislosti s chemoterapií alkylačními látkami, antracykliny, inhibitory topoizomerázy-II nebo radioterapií předchozího maligního onemocnění (s terapií asociovaný MDS, t-MDS). T-MDS vzniklý po léčbě alkylačními látkami, jež se vážou pevně k DNA a mají za následek denaturaci DNA, je charakterizovaný abnormalitami chromozomů 5 a 7. Naproti tomu t-MDS následující po inhibitorech topoizomerázy, jež se váží na jeden nebo oba řetězce DNA a mají za následek zlomy DNA, je charakterizován translokacemi zahrnujícími 11q23 (**26, 27**). Sekundární MDS představuje asi 10 % nově diagnostikovaných případů MDS a má celkově horší prognózu (**28, 29**). Obecně uznávaným environmentálním rizikovým faktorem pro vznik sMDS je profesní expozice benzenu a jeho derivátům (**28, 30**). Benzen je těkavá organická látka, která se do lidského organismu dostává dýchacím traktem nebo kůží. Mezi tři nejvýznamnější zdroje benzenových par patří spalování fosilních paliv, cigaretový kouř a rozpouštědla nebo lepidla. Vysoká lipofilita benzenu a jeho nízká rozpustnost ve vodě způsobuje jeho přednostní rozdělování do tkání bohatých na tuk, mezi něž patří kostní dřeň. Benzen je nejprve přeměněn v játrech cestou cytochromu P450E1 na metabolity. Konjugace hydrochinonu s glutationem podporuje vznik hydroxylových skupin, jež vedou k produkci kyslíkových radikálů (reactive oxygen species, ROS). Dochází k poškození DNA a denaturaci bílkovin, inhibici erythropoézy. Předpokládá se také, že metabolity benzenu a/nebo ROS mohou interferovat se signálními transdukčními drahami a přispět tak ke vzniku leukemického klonu (**31**). Na vzniku sMDS se podílí také individuální citlivost k mutagenům daná genetickými dispozicemi jedince (například polymorfismy detoxikačních enzymů nebo polymorfismy ve schopnosti DNA oprav) Tím, že sMDS je indukován přesně definovanými látkami se známými účinky na buněčné úrovni a zároveň se

vyznačuje klinickým a laboratorním nálezem totožným s primárním MDS, může sledování sMDS pacientů taktéž napomoci objasnění patogeneze MDS (32).

1.4. Patogeneze MDS

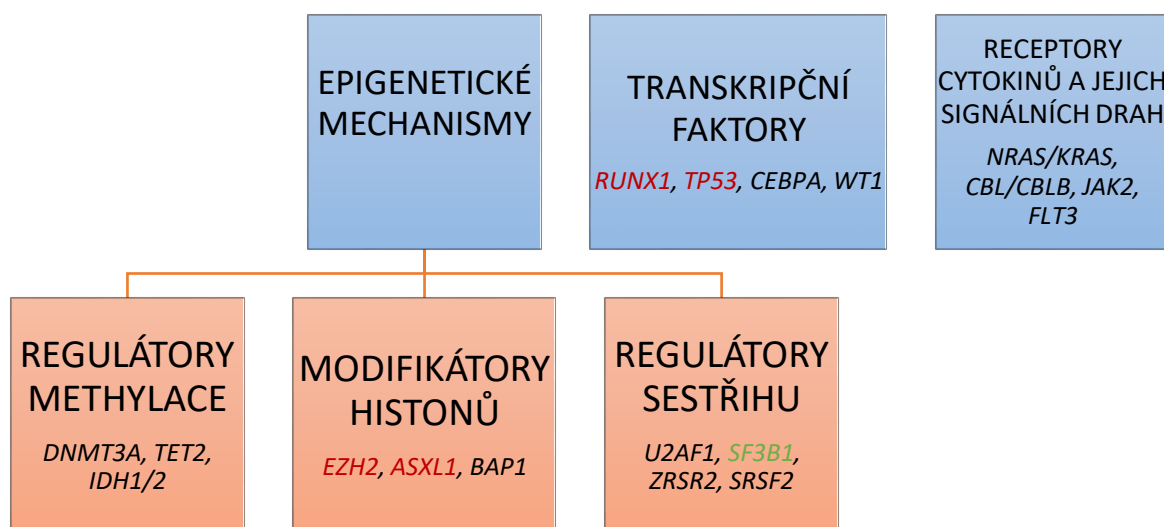
V současné době je vznik MDS považován za mnohastupňový, ne zcela probádaný proces, při kterém dochází ke změnám hemopoetické kmenové buňky a mikroprostředí kostní dřeně a interakci mezi nimi (33) (obr. 1).



Obr. 1. Patogeneze MDS (upraveno podle 33).

Na počátku vzniku MDS stojí defekt v genomu kmenové buňky. Tato mutace vede jednak k proliferační výhodě (tzv. „driver mutace“) a vzniku patologického klonu, jednak k nestabilitě genomu. Patologický klon se stává antigenním podnětem a vyvolává abnormální odpověď imunitního systému. Aktivace cytotoxických T-lymfocytů a proliferace dřevňových makrofágů je spojena se zvýšenou sekrecí cytokinů (TNF- α , TGF- β , Fas ligand, IL 1- β a další), jež jsou schopny současně stimulovat proliferaci časných progenitů a indukovat apoptózu u zralejších buněk. Dochází zejména k indukci signální dráhy CD 95 (Fas) po vazbě Fas ligandu, následně k aktivaci systému buněčných proteolytických enzymů kaspáz a k fragmentaci a degradaci DNA. Tyto děje poté vedou ke zvýšené apoptóze zralejších prekursorů s korelátém (pan)cytopenie v periferní krvi. Nestabilita genomu bývá spojována s mutacemi genů *TET2*, *ASXL1* nebo genů regulujících funkci telomer/telomerázového komplexu. Nestabilita genomu přispívá k přibývání dalších mutací, které mají za následek zvýšenou expresi onkogenů, nebo naopak ztrátu fyziologické funkce tumor supresorových genů, jež je často dána jejich epigenetickou modifikací. Výsledkem je akcentace abnormální proliferace a útlum přirozené diferenciaci časných prekursorů a rozvoj akutní leukémie. Akcelerovaná apoptóza je tedy hlavní známkou časně choroby, zatímco proliferace a klonální evoluce jsou rysy pokročilé choroby (34, 35, 3). K poškození DNA kmenové buňky může dojít buď spontánně, nebo vlivem nejrůznějších enviromentálních vlivů. Vyšetřením metafázických jader konvenčním cytogenetickým vyšetřením byly detekovány chromozomální abnormality asi u 50 % případů MDS (33). Nejčastějšími cytogenetickými abnormalitami u MDS nemocných jsou del(5q), del(7), del(7q), trizomie 8, del(20q) (36, 37). Využitím fluorescenční in situ hybridizace (FISH), která dovoluje vyšetření interfázických jader, lze detekovat chromozomální aberaci u 15–30 % MDS pacientů, kteří měli při vyšetření konvenční cytogenetikou normální karyotyp (38, 39). U MDS bylo popsáno více než 40 rekurentních mutací, alespoň 1 mutaci má asi 80 % MDS pacientů. Nejčastěji mutovanými geny u MDS jsou *TET2*, *SRSF2*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *U2AF1*, *TP53* a *EZH2* (40). Většina mutací se týká genů ovlivňujících nastavení genetického programu, který umožňuje diferenciaci krevních elementů (33) (obr. 2). Některé mutace úzce korelují s odlišnými rysy nebo

klinickým fenotypem jednotlivých subtypů MDS. Například mutace *TP53* bývá pravidelně spojena s nepříznivou prognózou, komplexním karyotypem, vysokým počtem blastů v kostní dřeni a trombocytopenií (41, 42); mutace *SF3B1*, postihující sestřih mRNA, je asociována s přítomností prstenčitých sideroblastů (43). K hlavním epigenetickým změnám u MDS patří hypermetylace DNA a deacetylace histonů, které vedou k poruše v oblasti promotoru genů a tvorbě DNA/histonových komplexů, jež zabraňují transkripci. Dochází tak k zeslabení genů důležitých pro apoptózu, proliferaci a diferenciaci a tumor supresi, a to navzdory tomu, že nejsou mutované (33). Důležitou roli při rozvoji MDS mohou hrát také změny micro RNA, které se podílejí na regulaci genové exprese na posttranslační úrovni, kupříkladu u 5q- syndromu (viz dále).



Obr. 2. Genetické a epigenetické mechanismy a příslušné geny mutované u MDS. Legenda: Mutace červeně vyznačených genů jsou negativními prediktory přežívání, zeleně zvýrazněné jsou pozitivní.

Proces rozvoje MDS je také spojen se změnami v mikroprostředí kostní dřene, neoangiogenezí a změnami produkce cytokinů. Myeloidní a myelomonocytární prekursorů MDS nemocných produkují jak VEGF (vascular endothelial growth factor), tak také exprimují receptory pro VEGF. VEGF pak působí stimulačně na tvorbu TNF- α a IL1- β buňkami stromatu, podporuje sebeobnovu a expanzi granulocyto-makrofágových progenitorů patologického klonu a současně inhibuje růst fyziologické kmenové buňky a prekursorů červené řady (35). Vedle již zmíněné patologické aktivace cytotoxických T-lymfocytů hraje u MDS úlohu i porušená humorální imunita (34).

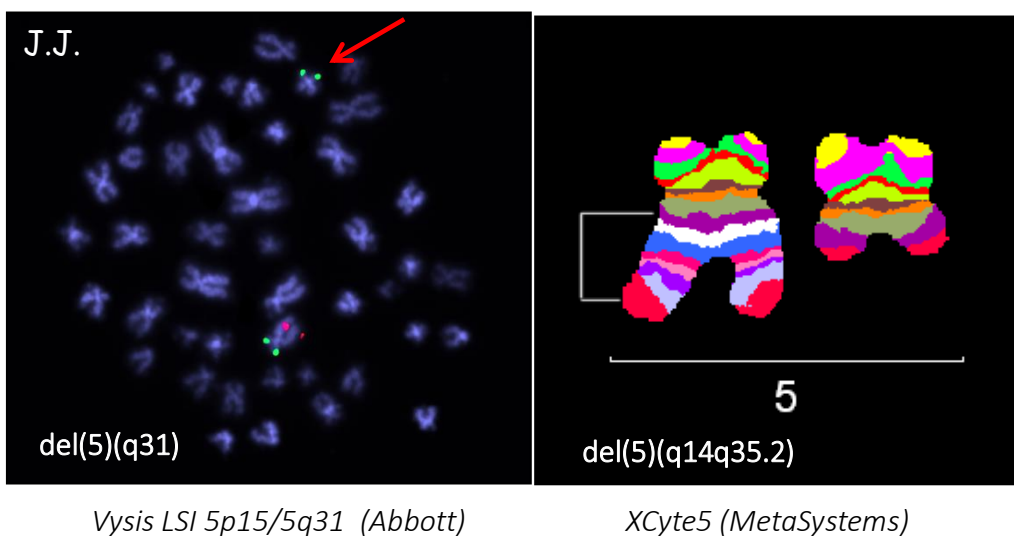
1.4.1 MDS s del(5q) a 5q- syndrom

K částečnému objasnění patogeneze MDS s del(5q) a jeho podjednotky 5q- syndromu přispělo mimo jiné studium karyotypově specifického účinku lenalidomidu (44). Dotčenou deletovanou oblast na 5. chromozomu můžeme podle současných znalostí rozdělit na distální common deleted region (CDR) (5q32-33), která je typická pro 5q- syndrom, a na proximální CDR (5q31), která je konsistentní s AML nebo pokročilým MDS (45, 46) (obr. 3). Řada pacientů s izolovanou delecí 5q- a méně příznivou prognózou má intersticiální delecí zasahující do obou CDR (47). Základních šest kritérií charakterizujících 5q- syndrom popsal již v r. 1974 významný cytogenetik van den Berghe (13) (tab. 2) (obr. 4). U žen je zaznamenán 10x častější výskyt (48).

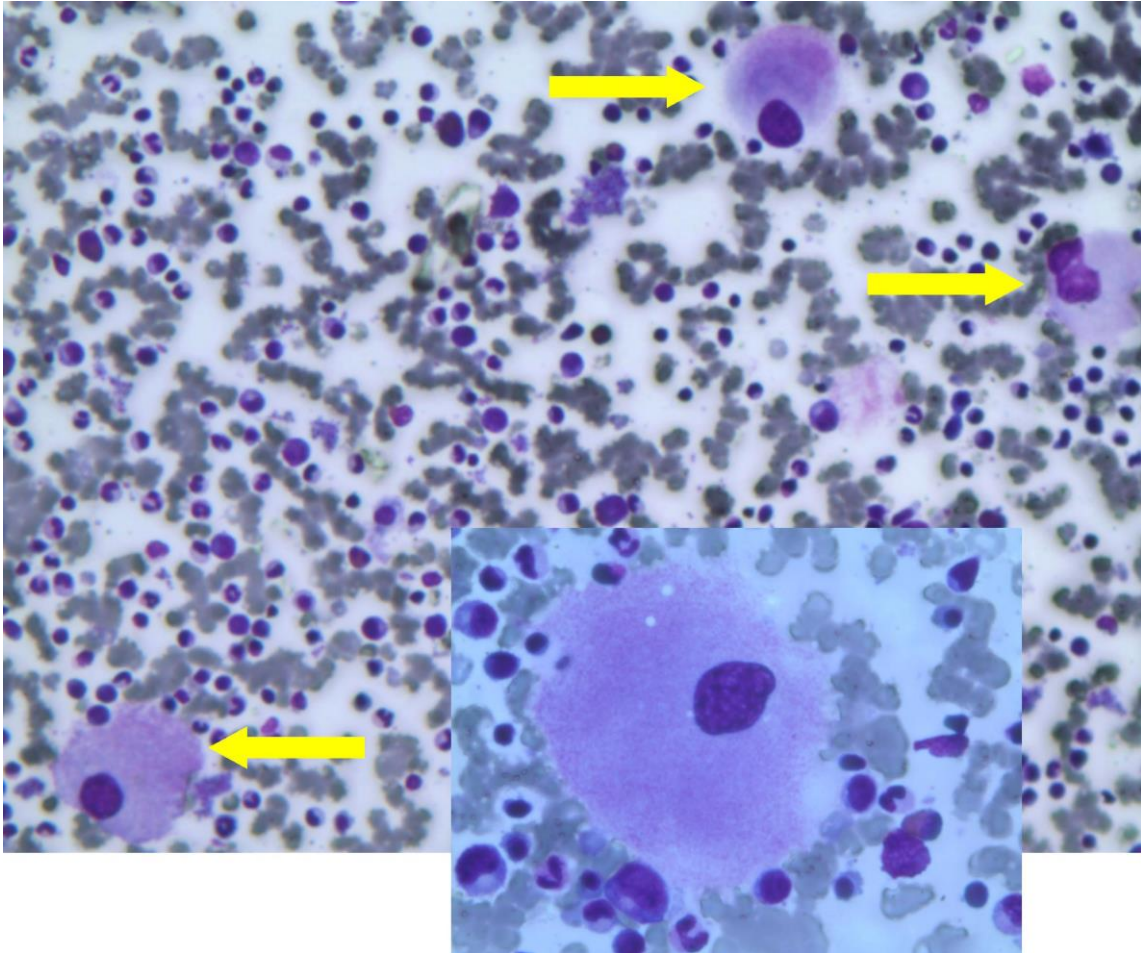
Tab 2. Základních šest kritérií charakterizujících 5q- syndrom.

Kritérium charakterizující 5q- syndrom	
1.	izolovaná del(5q)
2.	makrocytární anémie
3.	hypoplazie červené řady
4.	normální počet blastů
5.	normální nebo zvýšený počet trombocytů
6.	zvláštní, hypolobulizované megakaryocyty

Centrum nádorové cytogenetiky ÚKBLD, VFN a 1. LF UK v Praze



Obr. 3. Vyšetření del(5q) metodou FISH u pacienta ze Zlína (s laskavým svolením prof. Ing. Kyry Michalové, DrSc.).



Obr. 4. Unilobulární megakaryocyty u pacienta s 5q- syndromem. Z archivu autorky.

5q- syndrom patří k podtypům MDS s nejpříznivější prognózou, dlouhou celkovou délkou života a pozdní transformací do AML. Pokud jsou ale pacienti s touto diagnózou dlouhodobě závislí na transfúzích a zároveň rezistentní na erythropoetin, zkracuje jim život sideróza důležitých orgánů (zejména jater a srdce) (49). V distální CDR bylo identifikováno 40 genů (46). Haploinsuficienci jednoho z nich, genu *RP14* pro ribozomální protein 14 malé S podjednotky ribozomu, se vysvětluje refrakterní anémií u 5q- syndromu (50). Absence ribozomálního proteinu 14 vede ke snížené syntéze ribozomů a k hromadění ribozomálních proteinů (tzv. ribozomální stres). Nekonzumované ribozomální proteiny se pak váží na ligázu HDM2 (human double minute 2) a potlačují její aktivitu. HDM2 za normálních okolností reguluje hladinu proapoptotického p53 jednak tím, že se účastní degradace p53 v ubiquitin-proteazomovém systému, tak také tím, že se váže v transaktivační oblasti *TP53* a inhibuje tak transkripci p53. Pokud je HDM2 inhibovaná, p53 v buňkách stoupá a vede k předčasné apoptóze erytroidních elementů a rozvoji anémie (51, 52). Mechanismus vzniku anémie je podobný jako u Diamond Blackfanovy anémie, při níž dochází k ribozomálnímu stresu na podkladě vrozené mutace genů pro ribozomální proteiny (53). Patogeneze trombocytózy a mírné neutropenie u 5q- syndromu není zcela do důsledku uspokojivě objasněna. Řada prací podporuje teorii založenou na deficienci miRNA, což jsou krátké jednořetězcové nepřepisované úseky RNA, které se podílejí na regulaci genové exprese na postranlační úrovni (35). Cílovým genem pro mikro RNA 145 je gen pro Fli 1 (54). Při haploinsuficienci mikro RNA 145, jejíž gen je lokalizován na deletovaném úseku 5q- CDR, dojde tedy k odblokování transkripce mRNA pro Fli 1 (55). Zvýšená hladina proteinu Fli 1 má za následek jak zvýšenou diferenciaci společného megakaryocytoerytroidního progenitoru do megakaryocytární řady, tak také chrání HDM2 před ribozomálním

stresem v buňkách destičkové řady, které nemají zvýšenou hladinu p53 a nepodléhají pak předčasné apoptóze (56, 57, 58). Podobně haploinsuficience genu pro mikro RNA146a má zřejmě za následek zvýšenou expresi *TRAF 6*, která byla nalezena v pokusu na myších s fenotypem 5q- syndromu (59). Zcela nezodpovězenou otázkou nadále zůstává, kde se zvýšené množství trombocytů u pacientů s 5q- syndromem tvoří, když jsou v kostní dřeni přítomny dysplastické megakaryocyty s unilobulárním jádrem, které téměř neodštěpují trombocyty (51). Del(5q) patří k nejčastějším chromozomálními aberacím u MDS. Proliferační výhodu del(5q) klonu přináší haploinsuficience genu *EGR1*, který redukuje proliferaci buněk a reguluje expresi tumor supresorových genů, dále *APC* genu, který je angažovaný v sebeobnově kmenových buněk, a konečně *SPARC* genu, který má antiproliferační, antiangiogenní a antiadhezivní vlastnosti (60, 61, 62, 63). MDS s del(5q) se jako subtyp poprvé objevuje až ve WHO klasifikaci 2008 (64). Navzdory vzrůstu znalostí o prognostické závažnosti genetických nálezů u MDS zůstává del(5q) jedinou cytogenetickou abnormalitou, která definuje a specifikuje MDS subtyp. Podle WHO klasifikace 2016 může být entita MDS s izolovanou del(5q) diagnostikována, jestliže je přítoma jedna další přídavná cytogenetická abnormalita kromě del(5q) s výjimkou monozomie 7 nebo del(7q). Dále je pro diagnózu vyžadována signifikantní dysplazie v 1–3 hemopoetických buněčných řadách a blasty v obvodové krvi nižší než 1 %, v kostní dřeni (KD) nižší než 5 % (43). Skupina nemocných splňující diagnózu MDS s del(5q) je ale nesourodá a může na rozdíl od 5q- syndromu vykazovat různou prognózu. Jak prokázala multivariantní analýza, asi 40 % MDS pacientů, kteří vykazují tuto chromozomální odchylku, mají blasty v KD ≥ 5 %, což je spojeno s kratším přežíváním a vyšším rizikem progresu do AML (65). Proto je vhodné u tohoto subtypu provádět vždy trepanobiopsické vyšetření kostní dřene ke zpřesnění počtu blastů, a tím i prognózy. K dalším negativním prognostickým znakům u MDS s del(5q) patří závislost na transfúzích v době diagnózy, trombocytopenie a dysgranulopoéza (48, 65, 66). Rutinním vyšetřením by se měla stát detekce mutace *TP53*. Přes 70 % těchto mutací jsou jednobodové substituční mutace, jsou často lokalizovány do CpG ostrůvků v kodónech, které kódují sekvence nutné pro správnou vazbu p53 na DNA. Důsledkem je ovlivnění transkripční aktivity p53 a mnoha dalších genů, které p53 ovlivňuje. Kromě toho mutace *TP53* narušuje i regulaci řízení HDM2. Proto dochází ke zvyšování poločasu života p53 a vyšší koncentraci mutovaného p53. Mutace vedoucí ke ztrátě funkce vede k prodloužení poločasu života mutovaného p53 a postupnému nahrazení wild-type formy p53. Dochází k narušení normálních funkcí p53. Protein p53 může také mutací získat nové funkce, tedy může začít působit na nové geny a přestat ovlivňovat geny, na které má vliv wild-type forma. Dochází k inhibici tumor supresorové funkce (67). Somatické mutace genu *TP53* jsou popsány u téměř všech typů rakovinových onemocnění včetně MDS, která byla nalezena asi u 20 % u pacientů s MDS s del(5q) a která je spojena také a nepříznivou prognózou včetně časně transformace do AML (68, 69).

1.5. Klinický obraz

Klinický obraz MDS nemocného se odvíjí hlavně od typu a tíže přítomné pan(cytopenie) (tab. 3). Fyzikální nález bývá často chudý, zvětšení lymfatických uzlin nepatří do typického obrazu MDS a hepatosplenomegalie je spíše příznakem CMML a dalších overlap syndromů MPN/MDS (70). Někdy mohou být přítomny paraneoplastické autoimunní projevy.

Tab. 3. Klinické projevy MDS vyplývající z nedostatku krevních elementů.

Typ cytopenie		
Anémie	Trombocytopenie	Neutropenie
únava, slabost, palpitace	snadná tvorba modřin, petechie	recidivující infekce s rizikem sepse
bledost, tachykardie, dušnost	epistaxe, krvácení z dásní, hematurie, meno/metrorrhagie	
srdeční selhávání, angina pectoris		

1.6. Základní diagnostika MDS

Diagnostika MDS se opírá hlavně o mikroskopický nálezný signifikantních dysplastických změn v jedné nebo více buněčných liniích, zvýšené procento myeloblastů v nátěru kostní dřeně a identifikaci cytogenetických abnormalit typických pro MDS u pacientů s trvalou nebo progredující cytopenií (71). Podezření na MDS může kliník získat již z vyšetření krevního obrazu u pacientů s makrocytární anémií a/nebo leukopenií (neutropenií) a/nebo trombocytopenií, a to zvláště tehdy, jsou-li přítomny morfologické odchylky erytrocytů, trombocytů, granulocytů a monocytů (tab. 4). Diferenciálně diagnostická rozvaha vyšetření cytopenie by se měla opírat o důkladný odběr anamnézy a fyzikální vyšetření doplněných dalšími krevními testy (24) (tab. 5).

Tab. 4. Charakteristika dysplazie v periferní krvi a kostní dřeni (podle 24).

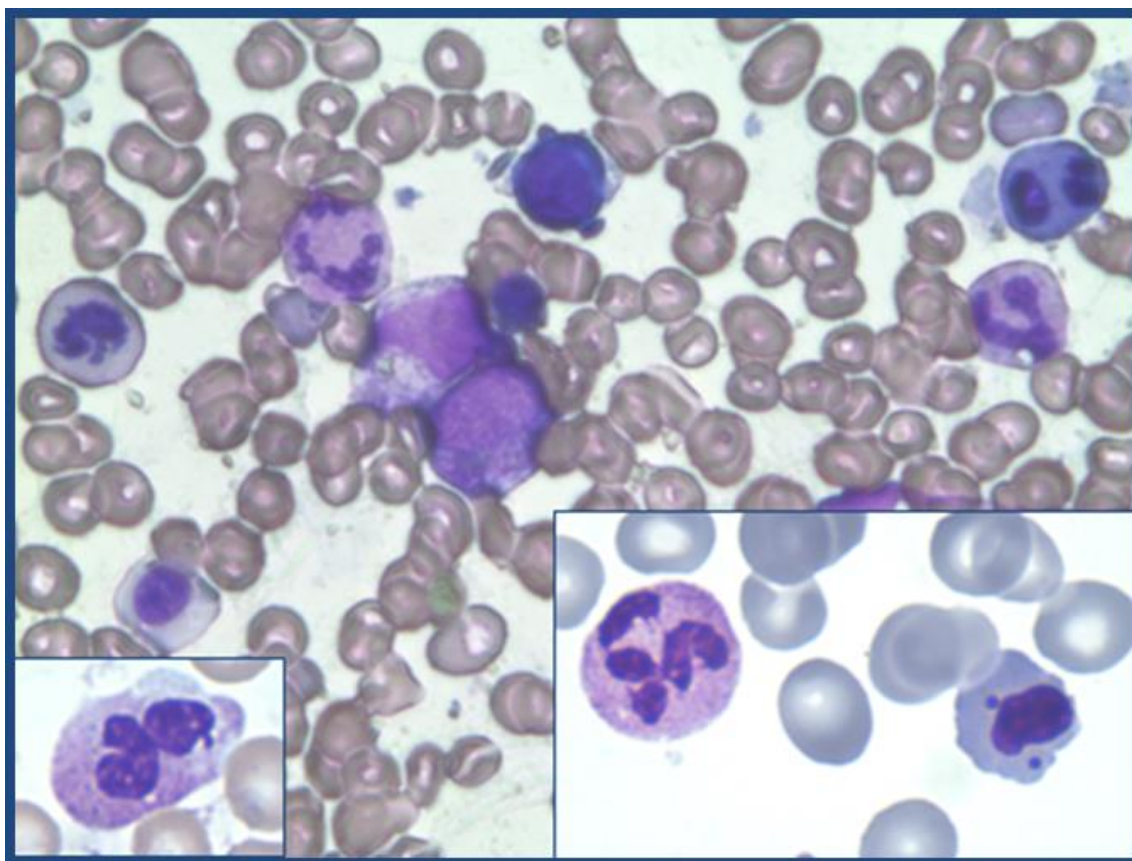
Buněčná linie		
Erytroidní	Myeloidní	Megakaryocytární
Periferní krev		
anizocytóza	pseudo Pelger-Huetova anomálie	gigantické destičky
poikilocytóza	hypogranulace/degranulace cytoplasmy	anizocytóza destiček
basofilní tečkování	blasty	
Kostní dřeň		
vícejaderné eryroblasty	bizardní tvary jader	velké monolobulární formy
internukleární můstky	pseudo Pelger-Huetova anomálie	malé dvojjaderné elementy
nepravidelný tvar jádra	hypersegmentace neutrofilů	disperzní (obláčkovitá) jádra
megaloblastoidní změny	pseudo Chediak-Higashiho granulace	mikromegakaryocyty
prstenčité sideroblasty	cytoplasmatická hypo/degranulace	degranulace
cytoplasmatické inkluze	anizocytóza	
cytoplasmatické můstky		
poruchy hemoglobinizace		
vakuolizace		
nehomogenní cytoplasma		

Tab. 5. Krevní testy doporučené při suspiciu na MDS (podle 24).

Název testu	Specifikace testu
Markery metabolismu Fe	Fe v séru, transferin, TIBC, saturace transferinu, transferinové receptory, feritin
Foláty v séru	
Vitamin B12 v séru	
Jaterní testy	bilirubin, ALT, AST, GMT, ALP, LDH
Hemolytické markery	přímý antiglobulinový (přímý Coombsův) test, haptoglobin, retikulocyty
β2-mikroglobulin	
C-reaktivní protein	
Metabolický soubor	celková bílkovina, albumin, kreatinin, kyselina močová
TSH	
ELFO bílkovin	
ELFO hemoglobinu	
Virologie	HIV, parvovirus B19, CMV, hepatitida B, C
PNH-klon	

Legenda: Fe...železo; TIBC...total iron blood capacity, celková vazebná kapacita Fe; ALT, AST...jaterní transaminázy; GMT...gama-glutamyltransferáza; ALP...alkalická fostatáza; LDH...laktátdehydrogenáza; ELFO...elektroforéza; TSH...thyreostimulační hormon; PNH...paroxysmální noční hemoglobinurie; CMV...cytomegalovirus; HIV...Human Immunodeficiency Virus, virus lidské imunitní nedostatečnosti.

Všeobecně přijímanými prahovými hodnotami definujícími cytopenie jsou: hemoglobin <100g/l, trombocyty <100 x10⁹/l, absolutní počet neutrofilů <1,8 x10⁹/l (**72**). Ve vzácných případech může být diagnóza MDS stanovena i při mírnější cytopenii, ale minimálně musí být přítomna alespoň jedna. Některé etnické skupiny mohou mít referenční mez pro normální absolutní počet neutrofilů nižší než 1,8 x10⁹/l, a tak je třeba opatrnosti v interpretaci neutropenie, a to zvláště, jestliže je jedinou cytopenií (**43**). Při suspiciu na MDS musí po vyšetření kompletního krevního obrazu na analyzátoru krevních elementů s retikulocyty a mikroskopického diferenciálního rozpočtu leukocytů vždy následovat analýza panopticky obarveného nátěru kostní dřeně s hodnocením alespoň na 500 buněk (**obr. 5**). Při hodnocení dřevňového nátěru se vyjadřuje procentuální zastoupení základních krevních řad a popisuje se maturace a morfologie jednotlivých krevních precursorů, „retikulárních buněk“, lymfocytů a plasmocytů. Nedílnou součástí vyšetření kostní dřeně je hodnocení nátěrů Perlovou reakcí za užití berlínské (pruské) modři k vyloučení/potvrzení prstenčitých (neboli věnečkových) sideroblastů. K usnadnění zařazení dřevňových precursorů do základních hemopoetických řad, které může být pro dysplazii jádra i cytoplasmu obtížné, jsou s výhodou používána další cytochemická barvení, jako je myeloperoxidázová reakce, PAS reakce, případně nescifická esteráza v kombinaci s NaF a butyrátsteráza. Barvením na myeloperoxidázu se také zvýší pravděpodobnost identifikace Auerových tyček (**73**). Prahem pro signifikantní dysplazii je 10 % dysplastických buněk v kterékoliv hemopoetické linii kostní dřeně (**64**) (**tab. 4**).



Obr. 5. Ukázka dysplastických změn v červené a bílé řadě v kostní dřeni u pacientky s MDS-MLD. Panoptické barvení, 100x. Z archivu autorky.

Avšak dysplazie nad 10 % se může objevit u některých zdravých jedinců. Navíc její identifikace není vždy reprodukovatelná ani mezi zkušenými hematopatologi (74, 75). Možnost reaktivní etiologie dysplazie by měla být vždy pečlivě zvažována před vyřčením diagnózy MDS, zvláště když je dysplazie lehká a limitována na jednu linii (43). Povinným testem u jakéhokoliv nově diagnostického případu MDS je kompletní karyotyp aspirátu kostní dřene doplněný případně o interfázickou FISH, která může být provedena jak z kostní dřene, tak z periferní krve. Při konvenčním cytogenetickém vyšetření musí být hodnoceno nejméně 20 metafázických jader a popsáno podle doporučení International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) (76). Chromozomální aberace, které jsou asociované s MDS, mohou být MDS-definující dokonce i při nepřítomnosti diagnostické morfologické dysplazie (77) (tab. 6).

Tab. 6. Chromozomální abnormality považované za předpokládaný důkaz MDS při absenci signifikantní dysplazie (podle 77).

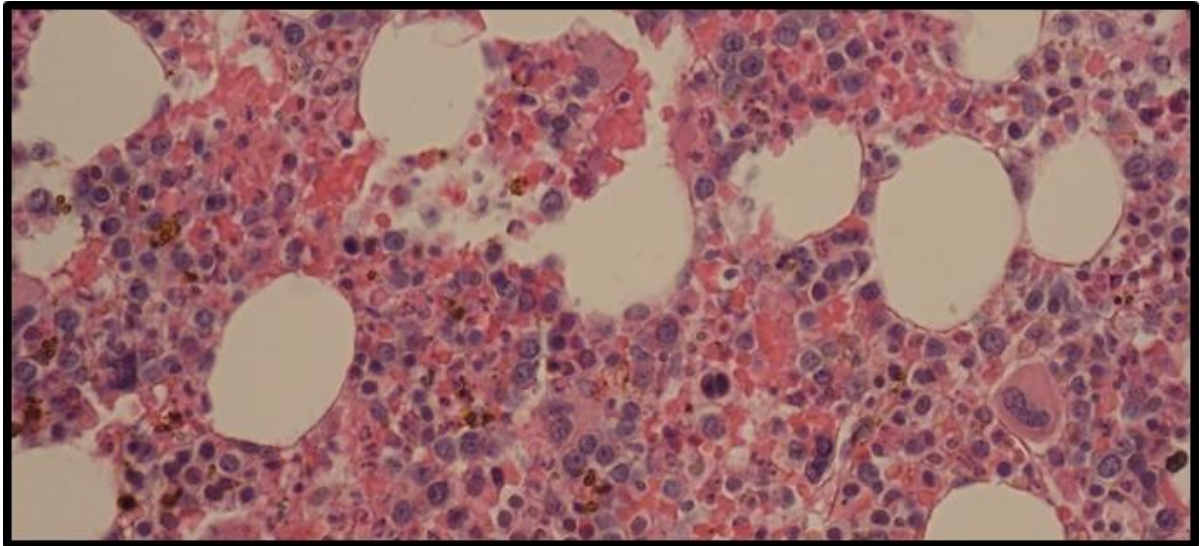
Nebalancované abnormality	Balancované abnormality
-5 nebo del(5q)	inv(3)(q21q26.2)
i(17q) nebo t(17p)	t(3;21)(q26.2;q22.1)
-7 nebo del(7q)	t(6;9)(p23;q34)
del(12p) nebo t(12p)	t(1;3)(p36.3;q21.2)
del(11q)	t(11;16)(q23;p13.3)
-13 nebo del(13q)	t(2;11)(p21;q23)
del(9q)	t(2;11)(p21;q23)
idic(X)(q13)	

V takových případech musí být abnormalita demonstrována pomocí konvenčního karyotypování, ne FISH nebo sekvenčními technologiemi. Přítomnost +8, -Y nebo del(20q) není považována za MDS definující, pokud chybí signifikantní morfologické rysy MDS. Ke stanovení diagnózy MDS přispívá identifikace exprese povrchových buněčných antigenů pomocí průtokové cytometrie, biopsie kostní dřeně, kultivace kostní dřeně na přítomnost tzv. colony forming cells a v poslední době také vyšetření genových mutací pomocí molekulárněgenetických studií (34). Průtoková cytometrie (FCM) může nejen upřesnit procento CD34+ buněk, ale také odhalit aberantní expresi diferenciačních antigenů v jedné či více hemopoetických buněčných liniích (78). Patologická exprese antigenů v granulocytární linii se týká jak exprese antigenů, které nejsou u myeloidní linie za fyziologických podmínek přítomny (například antigeny lymfocytární linie), tak alterované exprese myeloidních antigenů (79) (tab. 7).

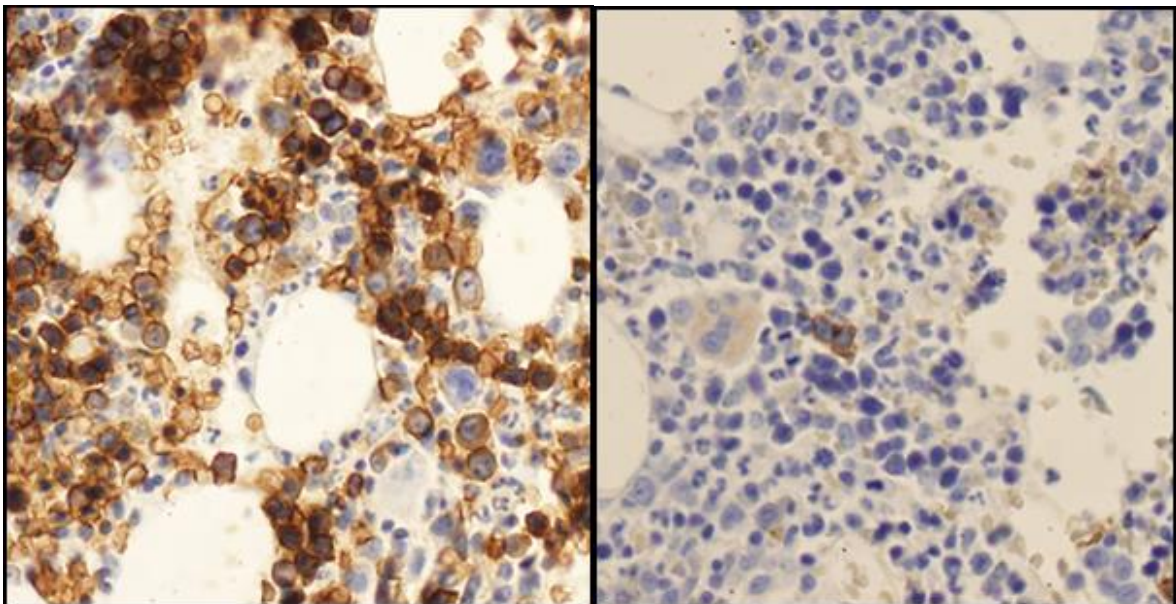
Tab. 7. FCM aberace myeloidních blastů, granulocytů a monocytů (podle 79).

Myeloidní blasty	Granulocyty (maturované myeloidní buňky)	Monocyty
zvýšené procento	snížený poměr mezi myeloidním a lymfoidním kompartmentem	snížený nebo zvýšený počet ve srovnání s lymfocyty
abnormální granularita	abnormální granularita	abnormální granularita
abnormální exprese CD45+	abnormální exprese CD45+	abnormální exprese CD45+
abnormální exprese CD34+	abnormální poměr CD11b/CD13	abnormální exprese CD14
abnormální exprese CD117	abnormální poměr CD16/CD13	abnormální poměr CD11b/HLA-DR
abnormální exprese CD13	abnormální exprese CD15	abnormální exprese CD13
abnormální exprese CD33	abnormální exprese CD33	abnormální exprese CD33
abnormální exprese HLA-DR	exprese HLA-DR	abnormální exprese CD36
exprese CD11b	exprese CD34	abnormální exprese HLA-DR
exprese CD15		
exprese <i>infidelity</i> antigenů CD5, CD7, CD19, CD56	exprese <i>infidelity</i> antigenů CD5, CD7, CD19	exprese <i>infidelity</i> antigenů CD5, CD7, CD19
exprese <i>infidelity</i> antigenů CD5, CD7, CD19, CD56	zvýšená exprese CD56	zvýšená exprese CD56

Počet aberantních expresí je pak základem pro MDS flow-skóre, které s vysokou citivostí a přijatelnou specifitou pomůže odlišit MDS od cytopenií jiného původu (24) a může mít také prognostický význam (80). FCM je navíc užitečná i pro rozlišení refrakterní anémie od refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií na podkladě identifikace imunofenotypických abnormalit v myeloidní a monocytární linii (81). Standardní metody pro odběr vzorků, manipulaci a zpracování buněk a minimální kombinace protilátek pro průtokovou cytometrickou analýzu dysplazie u MDS stanovila pracovní skupina International Flow Cytometry v rámci evropské LeukemiaNet (82). FCM je zatím jen doporučovanou vyšetřovací metodou, protože dosud chybí prospektivní validace markerů a imunofenotypických vzorků proti kontrolním pacientům se sekundární dysplazií a další standardizace v multicentrických studiích (24). Přestože diagnóza a subklasifikace MDS je postavena na cytologickém vyšetření kostní dřeně, přináší histologické vyšetření trepanobiopsie upřesnění buněčnosti kostní dřeně, údaje o přítomnosti fibrotizace kostní dřeně, ALIP fenomenu a ev. přítomnosti fokálního zvýšení blastů (24) (obr. 6 A–C). Histologie kostní dřeně je dle algoritmu ELN z roku 2013 povinným vyšetřením (tab. 8).



Obr. 6 A.



Obr. 6 B.

Obr. 6 C.

Obr. 6.: A. Ukázka hypercelulární kostní dřeně v trepanobioptickém vzorku od pacientky s MDS-MLD ze Zlínska, He, 100x.; B. Ukázka hyperplázie červené řady v trepanobioptickém vzorku od téže pacientky s MDS-MLD, Glykoforin, 100x.; C. Upřesnění počtu a rozložení blastů v trepanobioptickém vzorku od stejné pacientky s MDS-MLD, CD34+, 100x. Obrázky 6 A–C s laskavým svolením MUDr. P. Flodra, Ph. D., ÚKMP, FN Olomouc.

Diferenciální diagnostika MDS oproti cytopeniím nejrůznějšího původu je široká (**obr. 7**) a v některých případech může být velmi komplikovaná. I při splnění vyšetřovacího algoritmu dle ELN může v některých případech MDS zůstat diagnózou *per exclusionem* (**83**). Proto také v posledních letech přicházejí na pomoc molekulárně genetické metody (**tab. 9**).

Tab. 8. Vyšetření u MDS povinná a doporučená dle ELN (podle 24).

Metoda	Diagnostická hodnota	Doporučení ELN
Hodnocení nátěru periferní krve	dysplastické změny nejméně v jedné řadě počet blastů	povinné
Punkce kostní dřeně	dysplastické změny nejméně v jedné řadě počet blastů počet prstenčitých sideroblastů	povinné
Trepanobiopsie	vyšetření celularity, CD34+ buněk a přítomnosti fibrózy	povinné
Cytogenetická analýza	získané chromozomální abnormality	povinné
Flowcytometrické typování	detekce abnormalit u erytroidního, nezralého myeloidního, zralého granulocytárního, monocytárního, nezralého a zralého lymfoidního kompartmentů	doporučené
FISH	cílená detekce chromozomálních abnormalit v interfázických jádrech, která následuje po opakované neúspěšné detekci abnormalit standardním G-pruhováním	doporučené
SNP array	detekce chromozomálních defektů ve vysokém rozlišení v kombinaci s cytogenetikou na metafázických jádrech	ke zvážení
Mutační analýza kandidátních genů	detekce kandidátních somatických mutací	ke zvážení

Legenda: SNP...single nucleotide polymorphism, jednonukleotidový polymorfismus;
FISH...fluorescenční in situ hybridizace

deficit B12, AF	hypersplenismus	nádorová infiltrace kostní dřeně
infekce (HIV, septikemie, miliární TBC)	myelodysplastický sy, aplastická anémie	imunitní cytopenie (ITP, AIHA, Evansův syndrom)
léky (cytostatika)	alkohol a jiné toxiny	ICUS, CHIP, CCUS, IDUS

Obr. 7. Různé příčiny (pan)cytopenie. Legenda: AF...acidum folicum; HIV...Human Immunodeficiency Virus, virus lidské imunitní nedostatečnosti; TBC...tuberkulóza; ITP...imunitní trombocytopenie; AIHA...autoimunní hemolytická anémie; ICUS...idiopathic cytopenia of undetermined significance, idiopatická cytopenie nejasného významu; CHIP... clonal hematopoiesis of indeterminate potential, klonální hemopoéza nejasného významu; CCUS... clonal cytopenia of undetermined significance, klonální cytopenie nejasného významu; IDUS...idiopathic dysplasia of undetermined significance, idiopatická dysplazie nejasného významu.

Tab. 9. Molekulárně genetické metody u MDS.

Vyšetření	Metoda	Využití	Výhody/nevýhody
Studium genového polymorfismu	1. detekce polymorfismu restričních fragmentů X-chromozomu nebo bodového polymorfismu; 2. vyš. polymorfismu V β regionu T-buněčného recept.	dg klonality, dosažení klonální remise	ad 1. lze jen u žen ad 2. lze i u mužů, ale klonální subpopulace T-lymfo nalézány v malém procentu případů
Molekulární cytogenetika *	FISH	dg klonality, prognostická klasifikace, dosažení klonální remise	možnost vyšetření interfázických jader
Vyšetření změn telomer/telomerázového komplexu		vyšetření klonální nestability a progresu choroby	zatím spíše experimentální metoda
1. vyšetření délky telomer	TRF (terminal repeat fragment) metoda, stanovení TRF indexu		
2. vyšetření telomerázové aktivity	TRAP (telomeric repeat amplification protocol) esej		
3. vyšetření mutace genů telomerázového nukleotidového komplexu	kvantitativní nebo kvalitativní RT-PCR		
Ztráta heterozygosity (LOH, loss of heterozygosity)	RT-PCR krátkých tandemových opakujících se sekvencí (short tandem repeats) mikrosatelitní DNA	vyšetření genetické nestability	časný detektor genetické nestability ještě před detekcí mutace sledovaného genu
Vyšetření exprese jednotlivých genů *	kvantitativní nebo kvalitativní RT-PCR	↑ exprese onkogenů a ↓ exprese tumor supresorových genů	
Vyšetření genového expresního profilu		vyšetření změny exprese jednotlivých genů	
1. SNP (single nucleotide polymorphism) array *	sledování stupně polymorfismu jednotlivých nukleotidů ve vysoce variabilních úsecích genomu		detekuje i malé změny v genomu, které signalizují genomovou nestabilitu
2. array komparativní genomové hybridizace (CGH)	chybějící nebo nadbytečné úseky DNA jsou hodnoceny jako delece nebo amplifikace genu		analýza celého genomu a všech nebalancovaných genomových změn během 1 hybridizace
3. microRNA array		vyš. exprese miRNA	
Vyšetření proteomového profilu	hmotnostní spektrofotometrie	nepřímé vyš. změny exprese jednotlivých genů	

Legenda: *... metoda doporučovaná ELN při vyšetření MDS; *... metoda navrhaná ELN při vyšetření MDS; RT-PCR...reverzní transkriptázová polymerázová řetězová reakce; FISH...fluorescenční in situ hybridizace; RNA... ribonucleid acid, ribonukleová kyselina; DNA... deoxyribonucleid acid, deoxyribonukleová kyselina

Negativní mutační status u cytopenie nejasného významu tedy spíše nepodporuje diagnózu MDS (84). Molekulární genetika může také upřesnit prognostickou klasifikaci nemocných nebo posloužit jako indikátor dosažení klonální remise choroby po léčbě. Nicméně i při využití všech výše uvedených vyšetřovacích metod zůstává skupina pacientů s inkompletní triádou/tetrádou MDS znaků (cytopenie, dysplastická krvetvorba, cytogenetické aberace/mutace asociované s MDS), tzv. *pre-MDS* nebo *inkompletní MDS*. Jde o stavy, které ještě nelze označit jako MDS, ale je třeba je správně pojmenovat a sledovat, protože vývoj do MDS může následovat s různou pravděpodobností. Jedná se o klonální hemopoézu nejasného významu (clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP), idiopatickou cytopenii nejasného významu (idiopathic cytopenia of undetermined significance, ICUS), klonální cytopenii nejasného významu (clonal cytopenia of undetermined significance, CCUS) a idiopatickou dysplazii nejasného významu (idiopathic dysplasia of undetermined significance, IDUS) (tab. 10). CHIP je ve vztahu k možnému vývoji do MDS podobně jako MBL (monoklonální B-lymfocytóza) k B-CLL (B-chronické lymfatické leukemii) nebo MGUS (monoklonální gamapatie nejasného významu) k MM (mnohočetnému myelomu). CHIP je pravděpodobnější u diabetiků a u pacientů s CHIP se častěji rozvíjí nejen MDS, ale i další lymfoidní, myeloidní i nehematologické malignity ve srovnání s populací s polyklonální hemopoézou (85). Osoby s CHIP vykazují zvýšené riziko rozvoje MDS, zejména pokud mají patologické RDW nebo rozvinou cytopenii, a měly by být proto dispenzarizovány (84).

Tab 10. Charakteristiky syndromů *pre-MDS* (upraveno podle 85).

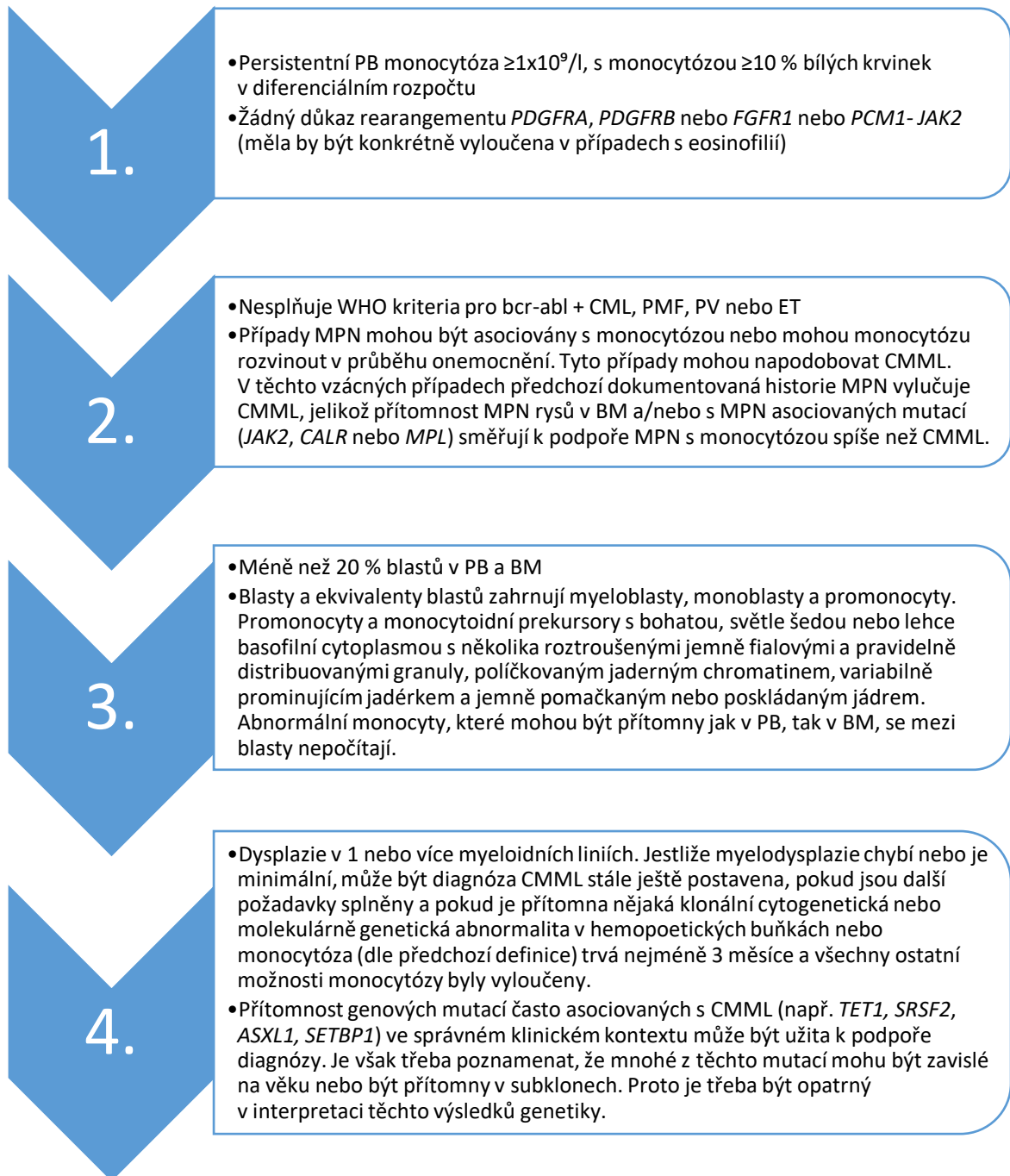
Syndrom	Cytopenie	Klonalita	Dysplazie	Mutace	Blasty >5 %	Patolog. karyotyp	Vývoj do MDS
CHIP	-	+	-	+	-	-	možný
ICUS	+	-	-	-	-	-	nepravděpodobný
CCUS	+	+	-	+/-	-	-	možný
IDUS	+/-	-	+	-	-	-	pravděpodobný

Legenda: + znak přítomen; - znak nepřítomen; ICUS...idiopathic cytopenia of undetermined significance, idiopatická cytopenie nejasného významu; CHIP... clonal hematopoiesis of indeterminate potential, klonální hemopoéza nejasného významu; CCUS... clonal cytopenia of undetermined significance, klonální cytopenie nejasného významu; IDUS...idiopathic dysplasia of undetermined significance, idiopatická dysplazie nejasného významu.

1.7. Chronická myelomonocytární leukémie

Chronická myelomonocytární leukémie patří podle současné klasifikace do skupiny smíšených myelodysplasticko-myeloproliferativních neoplazií (MDS/MPN) spolu s juvenilní myelomonocytární leukémií (JMML), atypickou chronickou myeloidní leukémií (aCML) a refrakterní anémií se zmnožením prstenčitých sideroblastů s trombocytózou (RARS-T) (43). MDS/MPNs jsou definovány jako klonální myeloidní neoplazie, které mají v době iniciální prezentace některé klinické, laboratorní a morfologické znaky, jenž podporují diagnostiku myelodysplastického syndromu, a současně znaky, které jsou konsistentní s diagnózou myeloproliferativního onemocnění (86). CMML, která je nejčastější a nejvýraznější entitou této skupiny, byla původně dle FAB klasifikace řazena mezi MDS, až později byla dle WHO klasifikace 2001 přeřazena do skupiny myelodysplasticko-myeloproliferativních syndromů (MDS/MPN) (1, 64). CMML je stejně jako MDS také onemocněním staršího věku s mediánem kolem 70 let při diagnóze, častějším výskytem u mužů a incidencí 1,5-3,5/100 000 obyvatel za rok. Pravděpodobnost transformace do AML je asi 20 %, medián celkového přežívání nepřesahuje 20 měsíců u neléčených pacientů. Klinické projevy stejně jako u MDS vyplývají z cytopenie, ale navíc bývá u těchto pacientů přítomna organomegalie, orgánové infiltrace patologickými monocyty a systémové příznaky (87). Zatímco klonální cytogenetické abnormality

vyšetřené konvenční cytogenetikou jsou detekovatelné asi ve 20 %, molekulární a epigenetické změny jsou přítomny asi v 90 % případů. Nejčastější cytogenetické abnormality jsou společné s MDS a zahrnují trizomii 8, del(Y), abnormality chromozomu 7 (monozomie 7 a del(7q)), trizomii 21, del(20q) a komplexní karyotyp. (88). Pro patogenezi CMML je důležitá mutace genů *TET2* a *SRSF2* na úrovni kmenové buňky, což pravděpodobně vede k časně dominanci klonální proliferace s myelomonocytární dysplazií na úkor erytroidní a megakaryocytární řady (89). Tyto dvě mutace spolu s mutací *ASXL1* patří k nejčastějším mutacím nalézáným u CMML. Mutace *ASXL1* je prediktorem agresivního chování choroby a byla inkorporována do prognostického skórovacího systému CMML vedle karyotypu a klinickopatologických parametrů (90). Následné mutace dalších genů (*NRAS*, *KRAS*, *CBL*) mohou podporovat myelomonocytární proliferaci se zvýšenou citlivostí buněk na G-CSF. Mutace, které se objevují méně často, zahrnují *SETBP1*, *NRAS/KRAS*, *RUNX1*, *CBL* a *EZH2* (88). *NPM1* mutace je pozorována u vzácné podskupiny CMML (3–5 %) a podobně jako *ASXL1* značí také agresivnější klinický průběh (43). Pro diagnózu CMML je vyžadována jak přítomnost monocytózy $\geq 1 \times 10^9/l$ v periferní krvi, tak podíl monocytů ≥ 10 % bílých krvinek v diferenciálním rozpočtu persistující nejméně 3 měsíce. Dalším kritériem je počet blastů v kostní dřeni i obvodové krvi nižší než 20 %. Za blasty a ekvivalenty blastů jsou považovány myeloblasty, monoblasty a promonocyty. Promonocyty a monocytoidní prekursorů jsou buňky s bohatou, světle šedou nebo lehce basofilní cytoplasmou s několika roztroušenými jemně fialovými a pravidelně distribuovanými granuly, políčkovaným jaderným chromatinem, variabilně prominujícím jádrem a jemně pomačkaným nebo poskládaným jádrem. Abnormální monocyty, které mohou být přítomny jak v periferní krvi, tak v kostní dřeni, se mezi blasty nepočítají. Z hlediska důležitosti odlišení promonocytů (buňky ekvivalentní blastům) od monocytů, které mohou mít u CMML abnormální rysy, je nezbytná precizní morfologická evaluace s odpovídající integrací imunofenotypizačního, cytogenetického a molekulárně genetického vyšetření. Protože před stanovením diagnózy CMML musí být vyloučeny jiné nemoci, měla by být eliminována *bcr-abl* přestavba ve všech případech a *PDGFRA*, *PDGFRB*, *FGFR1* přestavba nebo *PCM1-JAK-2* fúze v případě, že je přítomna eosinofilie. Případy myeloproliferativních neoplazií (MPN) mohou být asociovány s monocytózou nebo mohou monocytózu rozvinout v průběhu onemocnění, takže mohou simulovat CMML. V těchto vzácných případech předchozí dobře dokumentovaná historie MPN vylučuje CMML, jelikož přítomnost MPN rysů v kostní dřeni a/nebo s MPN asociovaných mutací (*JAK2*, *CALR* nebo *MPL*) směřují k podpoře MPN s monocytózou spíše než CMML. Jestliže chybí myelodysplazie alespoň v jedné dřeňové linii, může být diagnóza CMML stanovena, pokud jsou splněny výše uvedené podmínky a pokud byly vyloučeny všechny ostatní příčiny monocytózy nebo pokud je přítomna nějaká klonální cytogenetická nebo molekulárně genetická abnormalita v hemopoetických buňkách. Výše uvedené genové mutace mohou být pouze pomocnými přídatnými kritérii u obtížných případů, ale neměly by být užity samostatně jako důkaz neoplazie, protože některé z těchto mutací se objevují u zdravých starších pacientů jako takzvaná klonální hemopoéza nejasného významu (CHIP) (43) (obr. 8).



Obr. 8. Diagnostická kritéria pro CMML dle WHO 2016 (podle 19). Legenda: PB...periferní krev; BM...kostní dřeň; CML...chronická myeloidní leukémie; PV...polycytemia vera; PMF...primární myelofibróza; ET...esenciální trombocytémie; CMML...chronická myelomonocytární leukémie; MPN...myeloproliferativní neoplazie.

1.8. Klasifikace a prognostické faktory MDS a CMML

1.8.1. Subklasifikace MDS a CMML

Potřeba další subklasifikace vyplývá už ze samotné definice MDS jako heterogenního onemocnění. Prvním pokusem o systematickou klasifikaci nemoci byla FAB klasifikace, která vycházela ze znalostí o MDS v té době (porucha maturace prekursorů všech tří linií resultující v pancytopenii a různě dlouhá doba do rozvinutí AML). Původní FAB klasifikace zahrnovala 2 subtypy, které odpovídají RAEBu a CMML (9). Revidovaná FAB klasifikace z roku 1982 obsahuje již pět dobře známých subtypů (1) (tab. 11).

Tab. 11. Revidovaná FAB klasifikace (podle 1).

Subtyp	Blasty ve dřeni	Blasty v periférii	Prstenčité sideroblasty
refrakterní anémie (RA)	<5 %	<1 %	<15 %
refrakterní anémie s věnečkovými sideroblasty (RARS)	<5 %	<1 %	>15 %
refrakterní anémie s excesem blastů (RAEB)	5–20 %	<5 %	různé
refrakterní anémie s excesem blastů v transformaci (RAEB-T)	21–30 %	5–20 %	různé
chronická myelomonocytární leukémie (CMML) *	<20 a zvýšený počet monocytárních buněk	monocyty >1x10 ⁹ /l	různé

Legenda: * chronická myelomonocytární leukémie: myelodysplastický podtyp (MD-CMML)... leu <13x10⁹, myeloproliferativní podtyp (MP-CMML)...leu ≥13x10⁹

Revidovaná FAB klasifikace už je schopna jasně diferencovat mezi MDS low risk (RA, RAS) s mediánem celkového přežívání (OS) kolísajícím mezi 5–6 lety a MDS high risk (RAEB, RAEB-T) s mediánem OS kratším než 1 rok (91). Nevýhodou této klasifikace je příliš široké rozpětí počtu blastů v podskupině RAEB a absence rozlišení mezi unilineární a multilineární dysplazií. Také rozlišení subtypů CMML není dostatečné. WHO klasifikace 2002 vznikla jako konsensus panelu více než 100 významných hematologů a hematopatologů pod záštitou Světové zdravotnické organizace (World Health Organisation, WHO) (64, 92, 93) (tab. 12).

Tab. 12. WHO klasifikace MDS 2002.

MDS subtyp	Nález v periferní krvi	Nález v kostní dřeni
refrakterní anémie (RA)	anémie, blasty <1 %, monocyty <1x10 ⁹ /l	dysplazie pouze v červené řadě, <5 % blastů, <15 % sideroblastů, <10 % dysplastických buněk granulocytární a megakaryocytární řady
refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty (RARS)	anémie, žádné blasty	dysplazie pouze v červené řadě, ≥15 % prstenčitých sideroblastů
refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií (RCMD)	bi- nebo pancytopenie, blasty <1 %, žádné Auerovy tyče, <1x10 ⁹ /l monocyty	dysplazie ≥10 % buněk ve ≥2 myeloidních liniích, <5 % blastů, žádné Auerovy tyče, <15 % prstenčitých sideroblastů
refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií a prstenčitými sideroblasty (RCMD-RS)	bi- nebo pancytopenie, blasty < 1 %, žádné Auerovy tyče, <1x10 ⁹ /l monocyty	dysplazie ≥10 % buněk ve ≥2 myeloidních liniích, <5 % blastů, žádné Auerovy tyče, ≥15 % prstenčitých sideroblastů
refrakterní anémie s nadbytkem blastů-I (RAEB-I)	cytopenie, <5 % blastů, žádné Auerovy tyče, <1x10 ⁹ /l monocyty	dysplazie v jedné nebo více myeloidních liniích, 5–9 % blastů, žádné Auerovy tyče
refrakterní anémie s nadbytkem blastů-II (RAEB-II)	cytopenie, 5–19 % blastů ±Auerovy tyče, <1x10 ⁹ /l monocyty	dysplazie v jedné nebo více myeloidních liniích, 10–19 % blastů, ± Auerovy tyče
MDS neklasifikovatelný (MDS-U)	cytopenie, ≤1 % blastů, žádné Auerovy tyče	dysplazie jedné myeloidní linie, <5 % blastů, žádné Auerovy tyče
5q- syndrom	anémie, normální nebo zvýšený počet tr, <5 % blastů	normální nebo zvýšený počet mgc s hypolobulovanými jádry, <5 % blastů, izolovaná del(5q), žádné Auerovy tyče
chronická myelomonocytární leukémie-I (CMML-I)	monocyty >1x10 ⁹ /l, blasty <5 %	blasty <10 %
chronická myelomonocytární leukémie-II (CMML-II)	monocyty >1x10 ⁹ /l, blasty 5–19 %	blasty 10–19 %

Pokrok WHO 2002 spočívá v tom, že zavedla rozlišení uni versus multilineární dysplazie. Pozdější validační studie potvrdily rozdíl v OS a době do AML progresu u těchto subtypů (91). Dále tato klasifikace vylepšila arbitrární cut-off pro procento blastů k lepší predikci prognózy tím, že rozdělila skupinu RAEB na RAEB I a RAEB II a původní RAEB-T přiřadila k akutní myeloidní leukémii. WHO 2002 také poprvé implementovala cytogenetické změny u MDS do klasifikace MDS tím, že etablovala podskupinu 5q- syndromu. Zavedla novou překryvnou skupinu chorob myelodysplasticko-myeloproliferativních nemocí (MDS/MPD), kam spadá CMML, juvenilní myelomonocytární leukémie a atypická chronická myeloidní leukémie. WHO 2002 změnila klasifikaci CMML podle % blastů a promonocytů v periferní krvi a kostní dřeni.

Revidovaná WHO klasifikace 2008 (**tab. 13**) poprvé nabídla diagnózu MDS bez signifikantní dysplazie. Případy takového „presumptivního“ MDS vyžadují přítomnost persistující cytopenie a chromozomální abnormality asociované s MDS a spadají do subtypu MDS-U (**94**).

Tab. 13. Revidovaná WHO klasifikace 2008 (podle 94).

MDS subtyp	Nález v periferní krvi	Nález v kostní dřeni
refrakterní cytopenie s unilineární dysplazií (RCUD): refrakterní anémie refrakterní neutropenie refrakterní trombocytopenie	cytopenie v jedné řadě anebo bicytopenie žádné nebo ojedinělé blasty (<1 %)	unilineární dysplazie ≥10 % buněk jedné myeloidní řady, <5 % blastů, <15 % prstenčitých sideroblastů
refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty (RARS)	anémie, žádné blasty	pouze erytroidní dysplazie, <5 % blastů, ≥15 % prstenčitých sideroblastů
refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií (RCMD)	(pan)cytopenie, blasty < 1 %, žádné Auerovy tyče, <1x10 ⁹ /l monocytů	dysplazie ≥10 % buněk ve ≥2 myeloidních liniích, <5 % blastů, žádné Auerovy tyče, ± prstenčité sideroblasty
refrakterní anémie s nadbytkem blastů-I (RAEB-I)	(pan)cytopenie, <5 % blastů, žádné Auerovy tyče, <1x10 ⁹ /l monocytů	dysplazie v jedné nebo více myeloidních liniích, 5–9 % blastů, žádné Auerovy tyče
refrakterní anémie s nadbytkem blastů-II (RAEB-II)	(pan)cytopenie, 5–19 % blastů, ± Auerovy tyče, <1x10 ⁹ /l monocytů	dysplazie v jedné nebo více myeloidních liniích, 10–19 % blastů, ± Auerovy tyče
MDS neklasifikovatelný (MDS-U)	pancytopenie, ≤1 % blastů	jednoznačná dysplazie <10 % buněk v ≥ myeloidní linii, pokud je doprovázena cytogenetickou abnormalitou typickou pro MDS, blasty <5 %
MDS s izolovanou delecí (5q)	anémie, normální nebo zvýšený počet trombocytů, blasty <1 %	normální nebo zvýšený počet megakaryocytů s hypolobulovanými jádry, <5 % blastů, izolovaná del(5q), žádné Auerovy tyče

Přínosem WHO 2008 je zavedení kategorie refrakterní cytopenie s unilineární dysplazií (RCUD), která zahrnuje nejen refrakterní anémii (RA), ale také refrakterní neutropenii (RN) a RT, které podle WHO 2002 patřily do MDS-U. Významnou změnou je, že nález Auerových tyček bez ohledu na procento blastů určují diagnózu RAEB II nebo CMML-2. Krokem zpět ve WHO 2008 je nahrazení kompaktního, dobře charakterizovaného 5q- syndromu s příznivou prognózou nesourodým MDS s izolovanou delecí (5q), který může na rozdíl od 5q- syndromu vykazovat různou prognózu (podrobně viz kapitola 1.3.1). Chybou bylo zřejmě i odstranění kategorie RCMD-RS, neboť tento subtyp může mít odlišnou odpověď na léčbu a může také progredovat do zcela odlišných entit než klasické RCMD (**95**). V kategorii MDS/MPD, která je přejmenována na MDS/MPN, je zavedena prozatímní subjednotka RARS-T. Pacienti s RARS-T mají v 60 % pozitivní mutaci *JAK-2 V617F*, trombocyty nad 450 x 10⁹/l a obvykle indolentní průběh choroby (**96**). CMML s eosinofilií vykazující abnormality *PDGFR* je přesunuta do kategorie myeloidních neoplazií s eosinofilií, protože tito pacienti mohou odpovídat na léčbu imanitibem (**97**).

Revidovaná WHO klasifikace MDS 2016 změnila základní terminologii pro dospělé MDS tak, že nahradila termíny, jako jsou refrakterní anémie a refrakterní cytopenie, termínem MDS následovaným příslušným modifikátorem: uni versus multilineární dysplazie, prstenčité sideroblasty, exces blastů nebo del(5q) (43). Autoři revize to zdůvodňují tím, že cytopenie jsou sice nepostradatelné pro diagnózu MDS, ale WHO klasifikace spoléhá hlavně na stupeň dysplazie a procento blastů při klasifikaci nemoci a specifické cytopenie mají jen minoritní vliv na MDS klasifikaci. Navíc linie manifestující signifikantní morfologickou dysplazii často nekoreluje se specifickou cytopenií (cytopeniemi) v individuálních případech MDS (tab. 14).

Tab. 14 a. Revidovaná WHO klasifikace 2016 (podle 43).

Subtyp	Dysplazie	Cytopenie*	Prstenčité sideroblasty	BM/PB blasty	Cytogenetika
MDS s dysplazií v 1 buněčné linii (MDS-SLD)	1	1 nebo 2	<15 % / <5 % **	<5 % / <1 %, žádné Auerovy tyčky	Jakákoliv kromě †
MDS s dysplazií ve více liniích (MDS-MLD)	2 nebo 3	1–3	<15 % / <5 % **	<5 % / <1 %, žádné Auerovy tyčky	Jakákoliv kromě †
MDS s prstenčitými sideroblasty (MDS-RS)					
MDS s dysplazií v 1 linii a prstenčitými sideroblasty (MDS-RS-SLD)	1	1 nebo 2	≥15 % / ≥5 % **	<5 % / <1 %, žádné Auerovy tyčky	Jakákoliv kromě †
MDS s dysplazií ve více liniích a prstenčitými sideroblasty (MDS-RS-MLD)	2 nebo 3	1–3	≥15 % / ≥5 % **	<5 % / <1 %, žádné Auerovy tyčky	Jakákoliv kromě †
MDS s izolovanou del(5q)	1–3	1–2	Žádné nebo jakékoliv	<5 % / <1 %, žádné Auerovy tyčky	Del(5q) ‡

Legenda: PB...periferal blood, obvodová krev; BM...bone marrow, kostní dřev; * cytopenie definovaná jako: hgb <100 g/l; destičky <100 x10⁹/l; absolutní počet neutrofilů <1,8 x10⁹/l; vzácně se MDS může projevovat mírnější anémií nebo trombocytopenií nad tyto limity. PB monocyty musí být <1x10⁹/l; ** jestliže je přítomna mutace *SF3B1*; *** 1 % PB blastů musí být zaznamenáno v nejméně 2 různých měřeních; ****případy s ≥15 % prstenčitými sideroblasty mají signifikantní erytroidní dysplazii a jsou klasifikovány jako MDS-RS-MLD; †kromě splnění všech kritérií pro MDS s izolovanou del(5q); ‡izolovaná nebo s 1 přídatnou abnormalitou kromě -7 nebo del(7q).

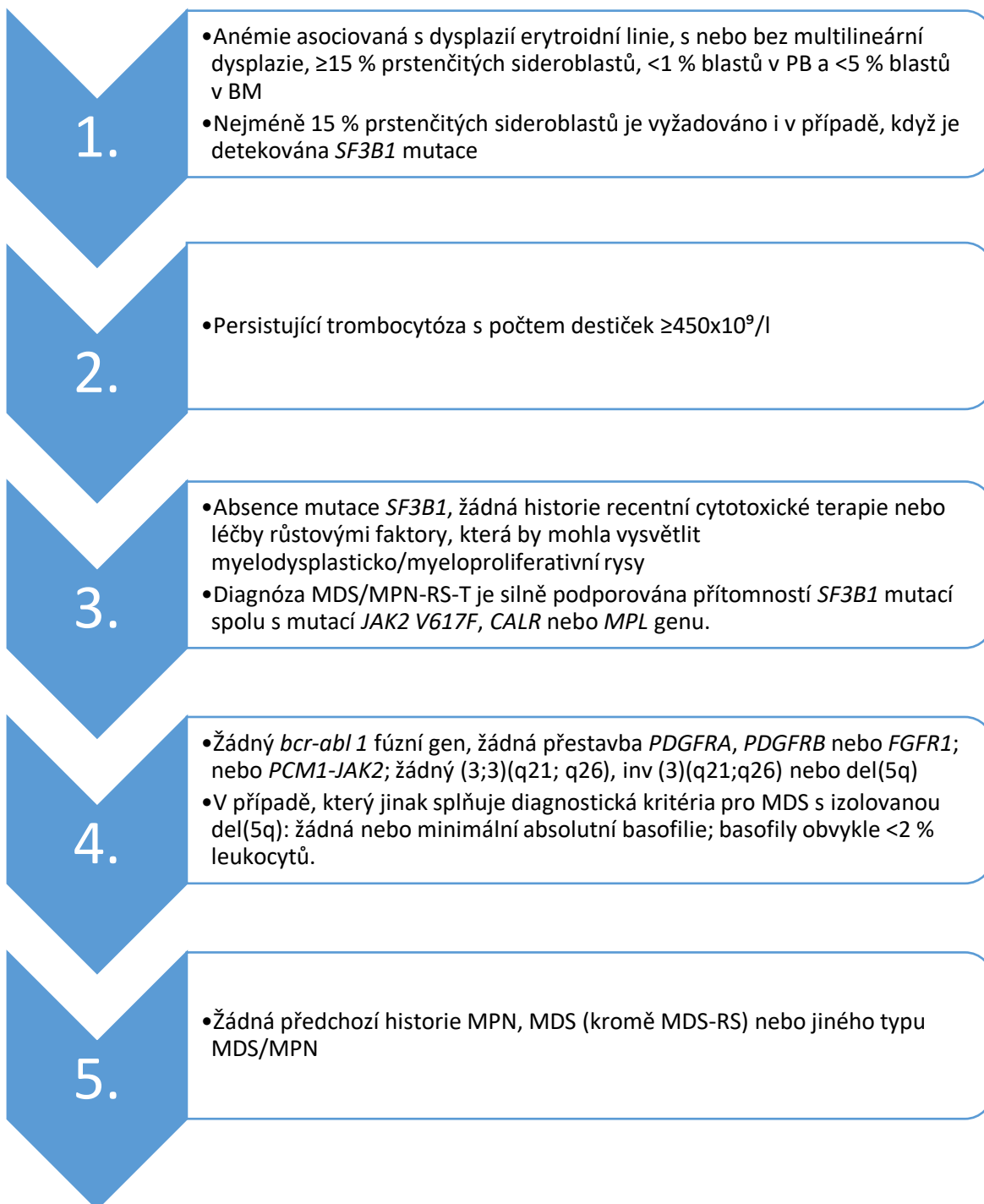
Tab. 14 b. Revidovaná WHO klasifikace 2016 (podle 43)

Subtyp	Dysplazie	Cytopenie*	Prstenčité sideroblasty	BM/PB blasty	Cytogenetika
MDS s excesem blastů (MDS-EB)					
MDS-EB1	0–3	1–3	Žádné nebo jakékoliv	BM 5–9 % nebo PB 2–4 % žádné Auerovy tyčky	Jakákoliv
MDS-EB2	0–3	1–3	Žádné nebo jakékoliv	BM 10–19 % nebo PB 5–19 % nebo Auerovy tyčky	Jakákoliv
MDS, neklasifikovatelný (MDS-U)					
S 1 % blastů v periferní krvi	1–3	1–3	Žádné nebo jakékoliv	<5 % / =1 %, žádné Auerovy tyčky***	Jakákoliv
S dysplazií v 1 linii a pancytopenií	1	3	Žádné nebo jakékoliv	<5 % / <1 %, žádné Auerovy tyčky	Jakákoliv
Založený na definované cytogenetické abnormalitě	0	1–3	<15 %****	<5 % / <1 %, žádné Auerovy tyčky	Cytogenetická abnormalita spojená s MDS
Refrakterní cytopenie dětského věku	1–3	1–3	Žádné	<5% / <2%	Jakákoliv

Legenda: PB...periferal blood, obvodová krev; BM...bone marrow, kostní dřeň; * cytopenie definovaná jako: hgb <100 g/l; destičky <100 x10⁹/l; absolutní počet neutrofilů <1,8 x10⁹/l; vzácně se MDS může projevovat mírnější anémií nebo trombocytopenií nad tyto limity. PB monocyty musí být <1x10⁹/l; ** jestliže je přítomna mutace *SF3B1*; *** 1 % PB blastů musí být zaznamenáno v nejméně 2 různých měřeních; ****případy s ≥15 % prstenčitými sideroblasty mají signifikantní erytroidní dysplazii a jsou klasifikovány jako MDS-RS-MLD.

Největší změnou WHO 2016 je diagnostické kritérium pro myeloidní neoplazie s erytroidní predominancí (erytroidní prekursorů ≥50 % všech BM buněk). Dle aktualizované klasifikace je jmenovatelem užívaným pro výpočet procenta blastů u všech myeloidních neoplazií počet všech dřevných jaderných buněk, ne nonerytroidních buněk jako u WHO 2008. To povede k tomu, že většina dříve diagnostikovaných případů jako erytroidní/myeloidní subtyp leukémie bude nyní klasifikováno jako MDS s excesem blastů. Také ve WHO 2016 zůstává del(5q) jedinou cytogenetickou abnormalitou, která definuje a specifikuje MDS subtyp. Protože recentní studie prokázaly, že jedna přídatná abnormalita k del(5q) nemění signifikantně prognózu pacienta, může být diagnóza MDS s izolovanou del(5q) splněna i v přítomnosti jedné přídatné cytogenetické abnormality s výjimkou monozomie 7 nebo del(7q) (65, 98). WHO 2016 mezi substypy MDS navrácí podtyp RCMD-RS přejmenovaný na MDS-RS s multilineární dysplazií (MDS-RS-MLD). Revidovaná WHO 2016 je první MDS klasifikací, která přímo začleňuje genovou mutaci. Jde o rekurentní mutace ve spliceozomálním genu *SF3B1*, které jsou asociovány s přítomností prstenčitých sideroblastů. Zdá se, že tento typ mutace je časnou událostí v MDS patogenezi, projevuje výrazný genový expresní profil a koreluje s příznivou prognózou (99–103). Proto je v revidované klasifikaci nově zavedeno, že pokud je identifikována *SF3B1* mutace, může být diagnóza MDS-RS stanovena, i když prstenčité

sideroblasty činí jen 5 % z nukleárních eryroidních buněk, zatímco v případech s chybějící *SF3B1* mutací je vyžadováno nejméně 15 % prstenčitých sideroblastů. To ale neplatí pro nově zavedenou entitu MDS/MPN-RS-T (dříve RARS-T), která k diagnóze stále vyžaduje více než 15 % prstenčitých sideroblastů i při přítomnosti mutace *SF3B1* (43) (obr. 9).



Obr. 9. Diagnostická kritéria pro myelodysplasticko-myeloproliferativní neoplazii s prstenčitými sideroblasty a trombocytózou (MDS/MPN-RS-T) (podle 43). Legenda: PB...periferiální krev, periferní krev; BM...bone marrow, kostní dřeň.

V kategorii MDS/MPN přibyla nová podjenotka v diagnóze CMML, a to CMML-0 pro případy s <2 % blastů v periferní krvi a <5 % blastů v kostní dřeni a nepřítomností Auerových tyček. Za CMML-1 je nadále označena CMML s 2 % až 4 % blastů v periferní krvi a 5 až 9 % blastů v kostní dřeni; diagnóza CMML-2 je vyhrazena pro případy s 5 až 19 % blastů v PB (periferní krev), 10 až 19 % v BM (kostní dřeň) a/nebo pokud jsou přítomny Auerovy tyčky.

1.8.2. Prognostické skórovací systémy

Prvním mezinárodně uznávaným kritériem pro stanovení prognózy pacienta se stal Mezinárodní prognostický skórovací systém (International Prognostic Scoring System – IPSS) (72) (tab. 15).

Tab. 15. IPSS (mezinárodní prognostický skórovací systém) (podle 72).

Body	0	0,5	1	1,5	2
% blastů v KD	<5	5–10	-	11–20	21–30
Počet cytopenií	0/1	2/3			
Karyotyp	Příznivý	intermediární	Nepříznivý		

Legenda: KD...kostní dřeň; kritéria cytopenie: neutrofilů <1,8 x 10⁹/l, trombocyty <100 x 10⁹/l, hemoglobin <100 g/l; karyotyp: příznivý – normální, del(5q), del(20q), -Y; nepříznivý – komplexní změny (3 a více abnormalit), abnormality chromozomu 7; intermediární – ostatní nálezy

Tab. 16. Rizikové skupiny dle IPSS (podle 63).

Riziko	Skóre	Medián přežití (roky)	AML progresse (roky)
Nízké	0	5,7	9,4
střední I	0,5 –1,0	3,5	3,3
střední II	1,5 –2,0	1,2	1,1
vysoké	> 2	0,4	0,2

IPSS vzešel z mezinárodního workshopu pro analýzu MDS rizika, který pooloval data ze sedmi dřívějších studií, v nichž bylo zařazeno 816 pacientů. Prognostický model a skórovací systém byly vybudovány na základě počtu blastů, stupně cytopenie a cytogenetických změn, riziková skóre byla vážena ve vztahu k jejich statistické síle. Na základě sumace rizikových skóre byli pacienti rozděleni do čtyř rizikových skupin (tab. 16). Nevýhodou IPSS je to, že byl postaven na kohortě neléčených pacientů a že nepočítá s multilineární dysplazií ani stupněm cytopenie. Byl navržen pro skórování nově diagnostikovaných pacientů, není tedy flexibilní v čase.

WHO prognostický skórovací index (WPSS) je modifikací IPSS a obsahuje další parametry, jako např. transfúzní závislost nebo implementaci morfologických nálezů (multilineární dysplazii) (104) (tab. 17 a 18).

Tab. 17. WPSS (WHO prognostický skórovací systém) (podle 104).

Počet bodů	0	1	2	3
WHO klasifikace 2002	RA, RARS, 5q-	RCMD, RCMD-RS	RAEB-I	RAEB-II
Karyotyp	příznivý	intermediární	nepříznivý	
Potřeba transfúzí*	ne	ano		

Legenda: * potřeba transfúzí = alespoň jedna transfúze erytrocytů každých 8 týdnů v průběhu 4 měsíců; karyotyp: příznivý – normální, del(5q), del(20q), -Y; nepříznivý – komplexní změny (3 a více abnormalit), abnormality chromozomu 7; intermediární – ostatní nálezy; RA...refrakterní anémie; RARS...refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty; RCMD...refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií; RCMD-RS...refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií s prstenčitými sideroblasty; 5q- ... 5q- syndrom; RAEB-I, II...refrakterní anémie s excesem blastů I, II.

Tab. 18. Rizikové skupiny dle WPSS skóre (podle 104).

počet bodů	WPSS skóre	OS (měsíce)	progrese do AML –2 roky	progrese do AML –5 let
0	velmi nízké (VL)	103	0 %	6 %
1	nízké (L)	72	11 %	24 %
2	intermediární (INT)	40	28 %	48 %
3-4	vysoké (H)	21	52 %	63 %
5-6	velmi vysoké (VH)	12	79 %	100 %

Legenda: OS...overall survival, celkové přežití; AML...akutní myeloidní leukémie

WPSS je dynamický ukazatel a je použitelný v jakémkoliv čase. Jeho nevýhodou je, že sice nepřímo zohledňuje další cytopenie nebo jejich stupeň, ale používá dnes již zastaralou klasifikaci WHO 2002. Ve snaze odstranit limitace IPSS a WPSS byly navrhovány jiné prognostické modely (105, 106). Nakonec zvítězil revidovaný mezinárodní prognostický index (IPSS-R), který byl publikován v roce 2012. Místo původních 3 uvádí nyní 5 cytogenetických prognostických podskupin a novou klasifikaci celé řady méně obvyklých cytogenetických podjednotek a zpřesňuje význam nízké hladiny dřevných blastů a hloubky cytopenií. Tento prognostický model definuje 5 prognostických kategorií a tím dále zpřesňuje predikci klinických výsledků dosud neléčených pacientů (107) (tab. 19–21).

Tab. 19. Výpočet celkového IPSS-R skóre.

Prognostická proměnná/skóre	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Cytogenetika (dle tab. 15)	velmi dobrá		dobrá		Střední	nepříznivá	velmi nepříznivá
% blastů v kostní dřeni	≤ 2		> 2 – < 5		5–10	> 10	
Hemoglobin v g/l	≥ 100		80 – < 100	< 80			
Trombocyty x10⁹/l	≥ 100	50 - <100	< 50				
Absolutní počet neutrofilů x10⁹/l	≥ 0,8	<0,8					

Tab. 20. Cytogenetické rizikové skupiny dle IPSS-R.

Cytogenetická skupina	Cytogenetické abnormality
Velmi dobrá	-Y, del(11q)
Dobrá	Normál, del(5q), del(12p), del(20q), dvojí aberace zahrnující del(5q)
Střední	Del(7q), +8, +19, i(17q), jiné samostatné aberace či dvojice aberací
Nepříznivá	-7, inv(3)/t(3)/del(3q), dvojí aberace s -7/del(7q), komplexní: 3
Velmi nepříznivá	Komplexní > 3 abnormality

Tab. 21. Stanovení výsledné prognostické kategorie dle IPSS-R

Kategorie rizika	hodnota skóre (dle tab. 14)	Medián OS/medián do AML u 25% pacientů
Velmi nízké	≤ 1,5	8,8 let/doba do AML nedosažena
Nízké	> 1,5–3	5,3 roku/10,8 let
Střední	> 3–4,5	3 roky/3,2 let
Vysoké	> 4,5–6	1,6 let/1,4 roku
Velmi vysoké	> 6	0,8 roku/0,7 roku

V současnosti se očekává uvedení IPSS-Rm, který bude začleňovat do prognostického schématu také genové mutace. Protože se IPSS nedá použít pro skórování proliferativní CMML, bylo pro tento subtyp MDS/MPN navrženo a testováno několik prognostických modelů (108). Dva poslední z nich jsou CPSS (CMML-specific prognostic scoring systém) a GFM (Groupe Francophone des Myelodysplasies) prognostické skóre (109, 90) (tab. 22–25).

Tab. 22. CPSS skórovací systém.

	Skóre		
	0	1	2
WHO podtyp	CMML-1	CMML-2	
FAB podtyp	MD-CMML	MP-CMML	
Karyotyp	příznivý	intermediární	nepříznivý
Transfúzní závislost	Ne	ano	

Legenda: karyotyp: příznivý – normální, -Y; nepříznivý – komplexní změny, trizomie 8, abnormality chromozomu 7; intermediární – ostatní nálezy; transfúzní závislost: minimálně 1 T.U. erytrocytů během 8 týdnů ve sledovaném intervalu 4 měsíců; MD-CMML...myelodysplastický podtyp chronické myelomonocytární leukémie; MP-CMML...myeloproliferativní podtyp chronické myelomonocytární leukémie.

Tab. 23. Výsledné rizikové kategorie CPSS.

Kategorie rizika	Hodnota skóre (dle tab. 22)	Medián OS	Riziko evoluce AML ve 2 letech od dg v %
Nízké	0	72	7
Nižší střední	1	31	14
Vyšší střední	2–3	13	37
Vysoké	4–5	5	100

Tab. 24. GFM skórovací systém.

Prognostická proměnná	skóre
Věk >65 let	2
Leukocyty >15	3
Hemoglobin v g/l <100 (ženy), <110 (muži)	2
Trombocyty x 10 ⁹ /l <100	2
ASXL1 pozitivita	2

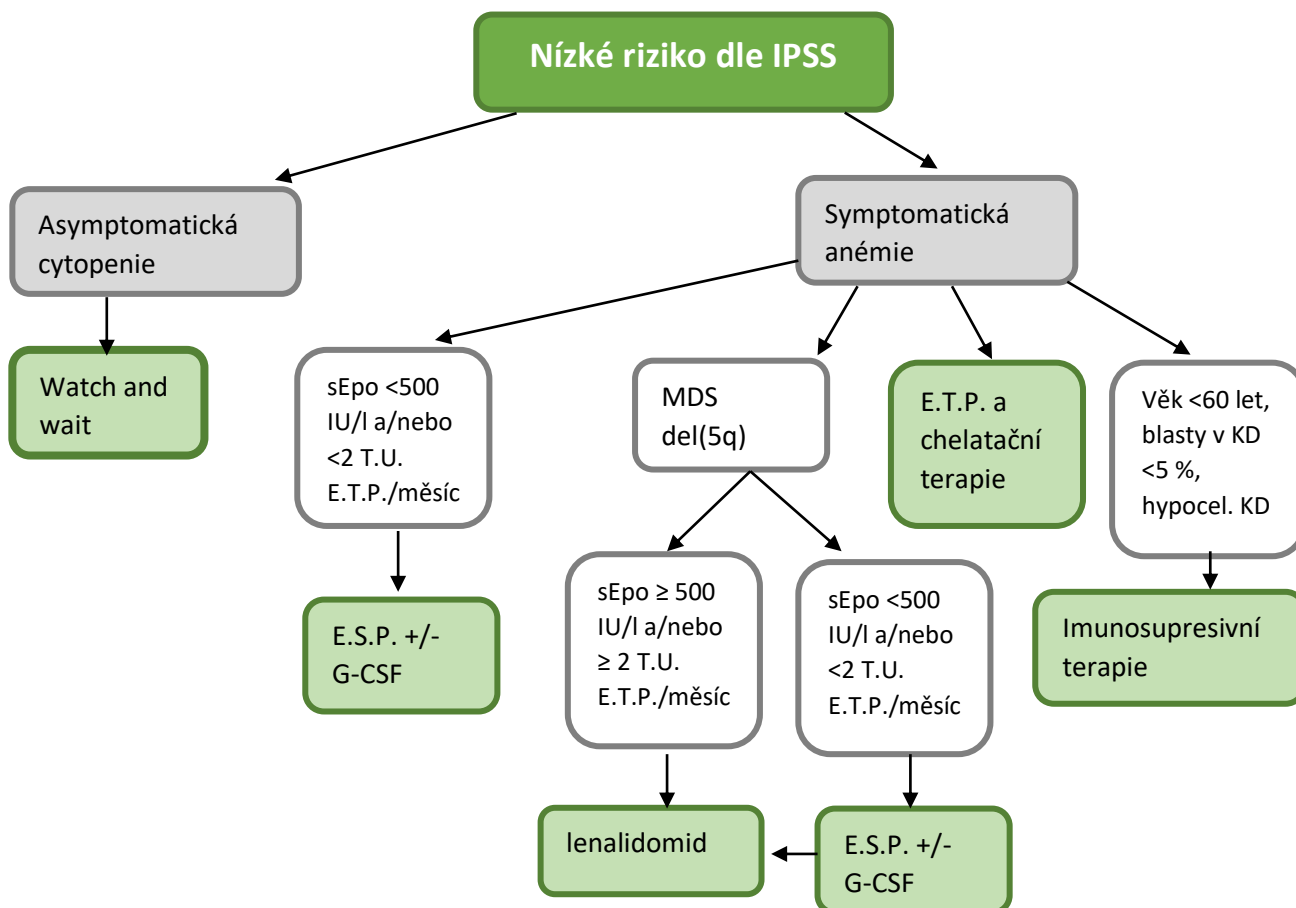
Tab. 25. Výsledné rizikové kategorie GMF.

Kategorie rizika	Hodnota skóre	Medián OS v měsících	AML FS v měsících
Low	0–4	nebyl dosažen	56
Intermediate	5–7	38,5	27,4
High	8–12	14,4	9,2

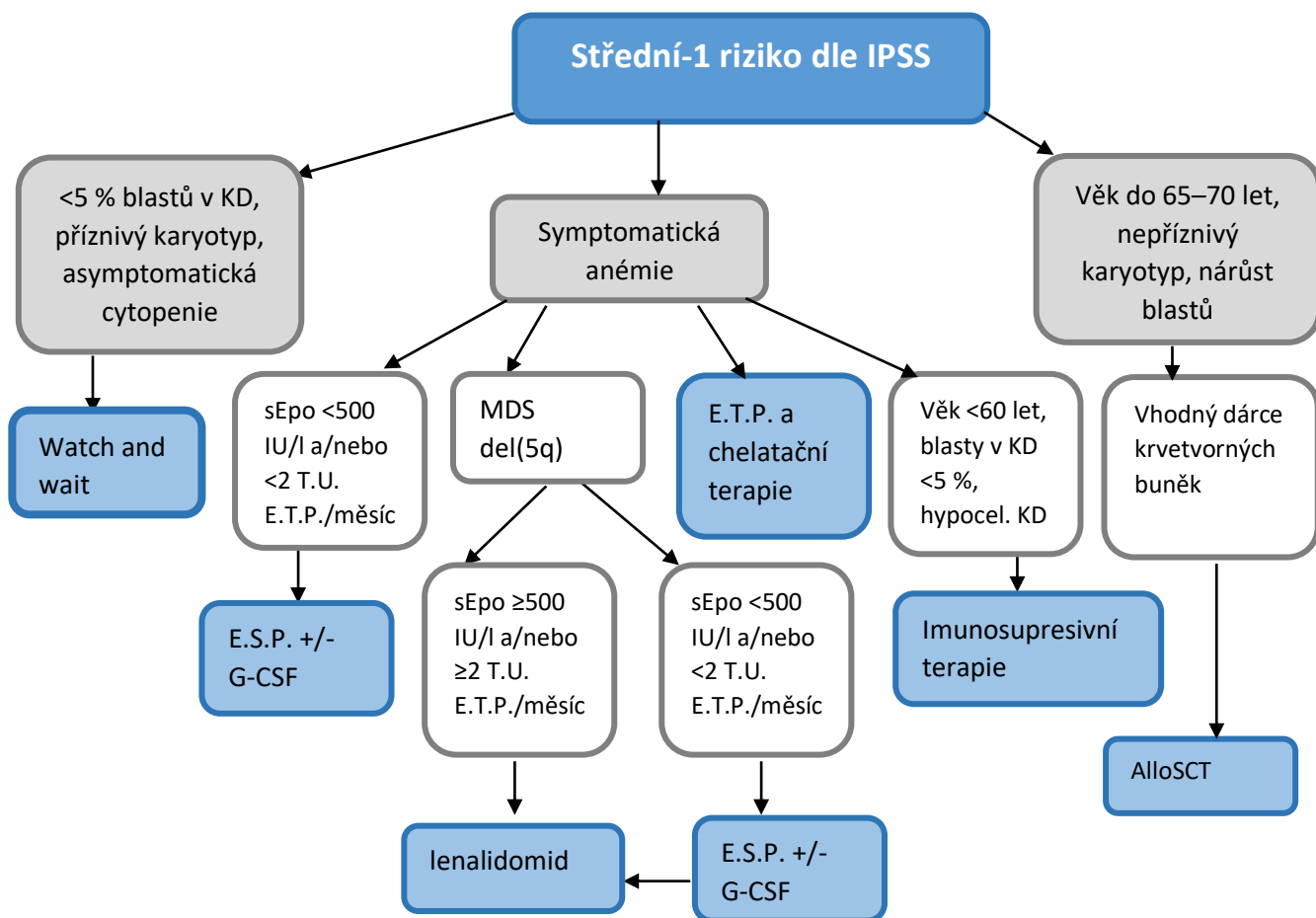
Na závěr této kapitoly je třeba se zmínit o MDS s myelofibrózou (MDS-F) a hypoplastickém MDS. Je zajímavé, že obě tyto varianty MDS jsou mezi hematolog a hematopatolog všeobecně známy, ale žádná z nich není součástí ani jedné z výše uvedených klasifikací. MDS s fibrózou je možné diagnostikovat jen pomocí trepanobiopsie a histologického vyšetření kostní dřeně. V případě primárního MDS bývá fibrotizace pouze jemná, retikulární. U t-MDS je výrazná fibrotizace, často kolagenní, téměř pravidlem (**73**). Stanovení přesného počtu blastů je obtížné, většina MDS-F jsou ve skutečnosti případy high risk MDS (RAEB). MDS-F se vyskytuje asi ve 20 % a je spojen s nepříznivou prognózou a vysokým rizikem transformace do AML. V rámci stratifikace pacientů dle IPSS nebo WPSS znamená fibróza kostní dřeně grade 2 až 3 posun o jeden stupeň do pokročilejší rizikové skupiny (**110**). Hypoplastický MDS se vyskytuje asi v 10 % případů. Celularita kostní dřeně u hypoplastického MDS je nižší než 20 % oproti téměř 100 % buněčnosti hyperplastické kostní dřeně u většiny MDS. Je třeba ho odlišit od aplastické anémie a hypoplastické formy akutní leukémie. Potvrzení diagnózy hypoplastického MDS se obvykle neobejde bez histologie KD (**73**). Hypoplastický MDS lze považovat za overlap syndrom MDS a AA, a zdá se proto být logické, že někteří pacienti mohou profitovat z imunopresivní terapie (**111, 112**).

1.9. Terapeutické možnosti MDS a CMML

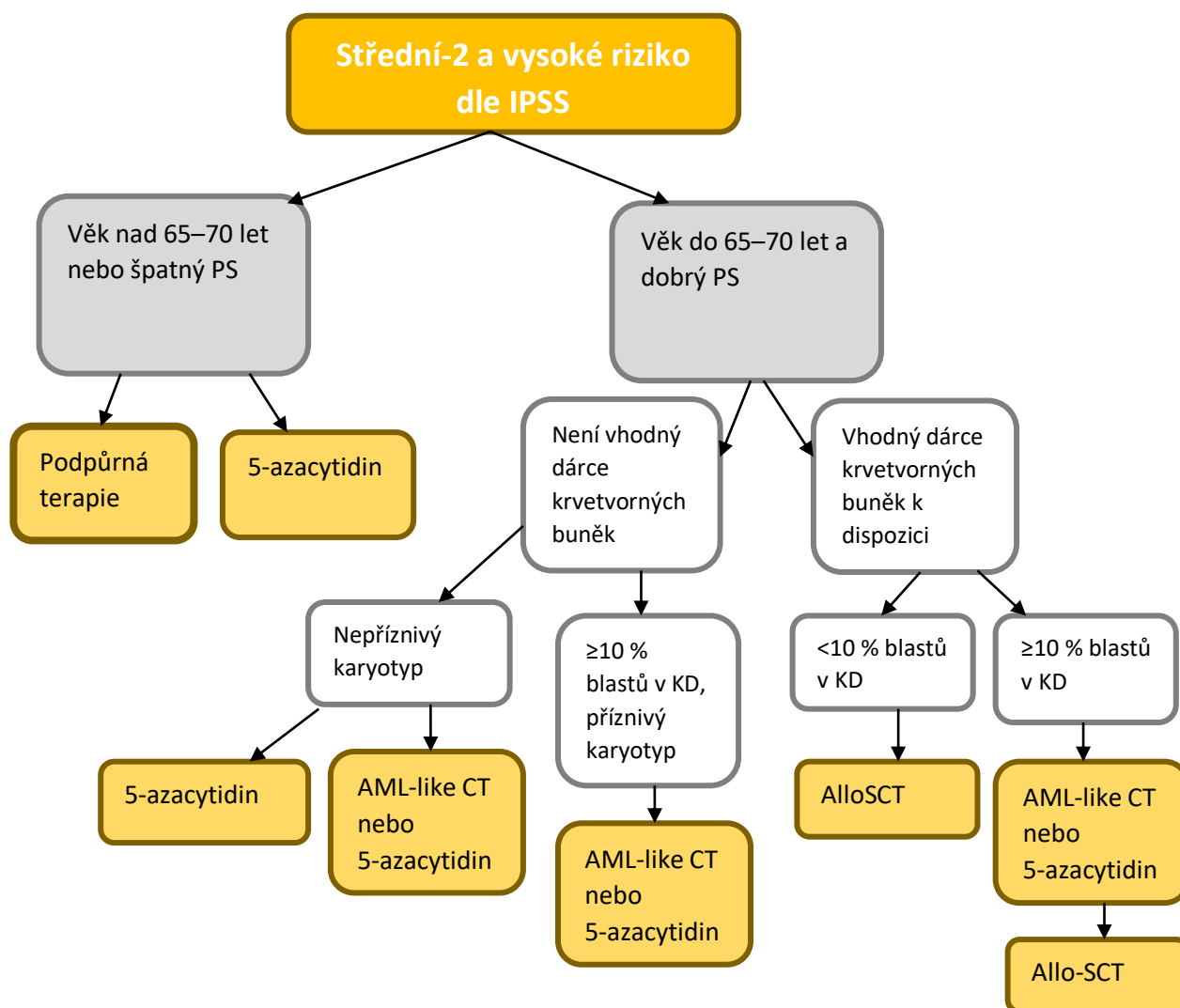
Pro léčbu pacientů s MDS je důležitá nejen přesná klasifikace subtypu choroby, ale hlavně zařazení pacienta do rizikové skupiny podle některého ze tří výše uvedených skórovacích systémů. IPSS-R se zdá být nejcitlivějším a nejpresnějším kritériem pro stanovení prognózy (**113**). Ta je pak podstatná pro rozhodování o léčebné strategii konkrétního pacienta. Obecně lze říci, že pro nízké rizikové pacienty (LR a INT-1) volíme spíše konzervativní přístup a u výše rizikových (INT-2 a HR) dáváme přednost intenzivní léčbě. To ale neplatí absolutně: i pro nízké rizikového, zejména mladšího pacienta můžeme volit intenzivní léčbu, zvláště pokud se jedná o t-MDS nebo má pacient těžkou hypoplazii, fibrózu kostní dřeně či významné obtíže pramenící z cytopenie. Naopak i pro výše rizikového pacienta velmi vysokého věku nebo výrazně komorbidního či ve špatném klinickém stavu můžeme indikovat podpůrnou léčbu (**3**). **Obr. 10–12** zobrazují terapeutické algoritmy pro jednotlivé rizikové skupiny IPSS tak, jak je doporučuje ELN. V těchto schématech nejsou uvedeny vitaminy skupiny B, acidum folicum a antioxidanta v podobě N-acetylcysteinu a potraviny bohaté na flavonoidy, které byly na přelomu tisíciletí podávány pacientům v časně fázi choroby jako pokus ovlivnit vystupňovanou apoptózu prekursorů krvinek v kostní dřeni. Tato terapie je dnes již obsolentní, ale je třeba dodat, že pokud nebyla efektivní, tak jistě splňovala nihil nocere (**114**). V současnosti se léčba MDS pacientů s nízkým rizikem opírá o substituční terapii erytrocytárními transfúzními přípravky (E.T.P.) doplněnou o chelatační léčbu, podávání růstových faktorů s důrazem na erytropoézu stimulující proteiny (E.S.P.), imunopresivní a v posledních letech také o imunomodulační léčbu. Epigenetická léčba, nízkodávkovaná nebo kombinovaná chemoterapie a alogenní transplantace krvetvorných buněk (alloSCT) se uplatňují hlavně u nemocných s výše rizikovým MDS. Jednotlivé léčebné modalit budou podrobně zmíněny v dalších subkapitolách.



Obr. 10. Terapeutický algoritmus pro MDS pacienty nízkého rizika dle IPSS podle doporučení ELN (24). Legenda: sEpo...erythropoetin v séru; KD...kostní dřeň; E.T.P. ...erytrocytární transfúzní přípravky; E.S.P. ...erytropézu stimulující proteiny; G-CSF...granulocytární kolonie stimulující faktor.



Obr. 11. Terapeutický algoritmus pro MDS pacienty středního-1 rizika dle IPSS podle doporučení ELN (24). Legenda: sEpo...erythropoetin v séru; KD...kostní dřeň; E.T.P....erytrocytární transfúzní přípravky; E.S.P. ...erythropézu stimulační proteiny; G-CSF...granulocytární kolonie stimulační faktor; alloSCT...alogení transplantace krvetočných buněk.



Obr. 12. Terapeutický algoritmus pro MDS pacienty středního-2 a vysokého rizika dle IPSS podle doporučení ELN (24). Legenda: KD...kostní dřeň; alloSCT...alogení transplantace krvetvorných buněk; AML-like CT...chemoterapie používaná při léčbě akutní myeloidní leukémie.

Léčba CMML by obecně měla být zahájena při progredující leukocytóze, monocytóze, cytopenii, při vzestupu počtu blastů v periferní krvi a přítomnosti cytogenetické evoluce. Příčinou zahájení terapie mohou být také obtěžující B-příznaky, symptomatická splenomegalie a extramedulární infiltrace nebo koagulopatie (115, 116). Léčebné možnosti CMML shrnuje tab. 26 a podrobně budou také zmíněny v dalších subkapitolách.

Tab. 26. Léčebná strategie CMML.

	CMML- 0, 1	CMML-2
MD-CMML	nízce riziková cytogenetika: symptomatická léčba, E.S.P. vysoce riziková cytogenetika: HSCT	HMA, HSCT, klinické studie (rigosertib)
MP-CMML	HU, E.S.P.	(HMA), HU, AML-like chemo, HSCT, klinické studie (rigosertib)

Legenda: MD-CMML...myelodysplastický podtyp chronické myelomonocytární leukémie; MP-CMML...myeloproliferativní podtyp chronické myelomonocytární leukémie; E.S.P....erytropoézu stimulující proteiny; HSCT....transplantace krvetvorných buněk; HU...hydroxyurea; HMA...hypometylační látky; AML-like chemo....chemoterapie používaná při léčbě akutní myeloidní leukémie.

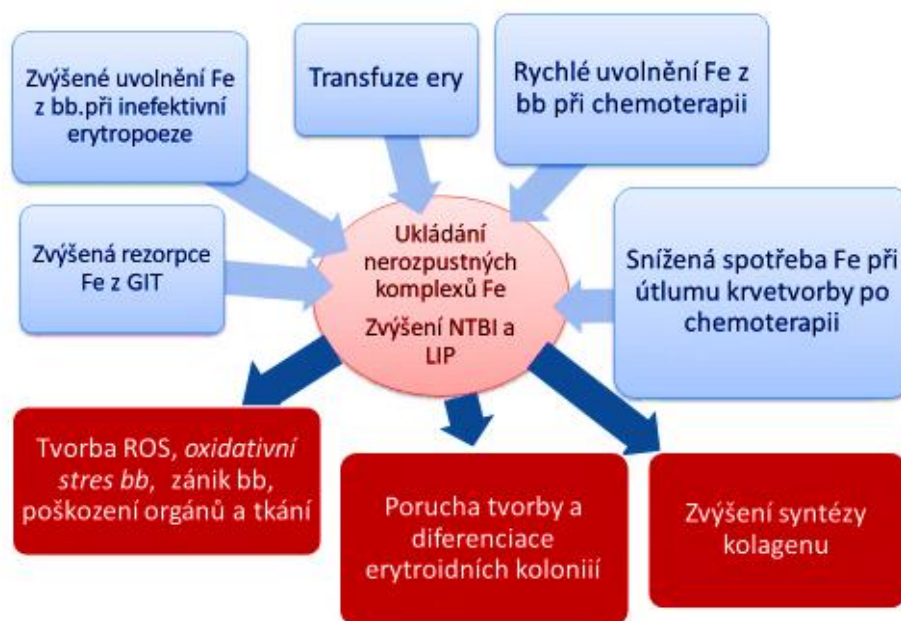
1.9.1. Léčebná strategie watch and wait

Prospěšnost strategie watch and wait (watchful-waiting strategy, W+W) je podpořena studii, které prokázaly, že mortalita a životní expektance 70letých low risk MDS pacientů se neliší od zbytku populace (**117**, **104**). Tato léčebná modalita může být uplatňována u pacientů bez symptomatické cytopenie, bez excesu blastů a bez nepříznivé cytogenetiky (**118**). Tito nemocní by měli být dispenzarizováni a úkolem hematologa je včas zachytit známky progresu MDS a nasměřovat je k léčbě.

1.9.2. Substituční terapie a chelatace

Přes 90 % nemocných s MDS trpí anémií, z toho asi polovina pacientů má těžkou anémii vyžadující opakované krevní převody (**3**). Substituce erytrocytárními transfúzními přípravky (E.T.P.) je doporučována u nemocných s hgb <80 g/l nebo při anemických symptomech nemocným s hgb 80–90 g/l. Účelem podávání transfúzí trombocytů je léčba nebo profylaxe krvácení. Kritéria pro profylaktickou aplikaci trombokoncentrátů nejsou stanovena, obecně se doporučuje podávat trombocyty při přechodném poklesu hladiny trombocytů pod $10 \times 10^9/l$ nebo pod $20 \times 10^9/l$ při současné aktivaci koagulačního systému, jako je tomu například při febriliích nebo infektu. U nemocných s dlouhodobě nízkými počty trombocytů je třeba postupovat přísně individuálně (**118**). Opakovaně transfundovaný pacient je ohrožen nejen akutními potransfúzními reakcemi, z nichž vůbec nejčastější jsou febrilní imunní nehemolytická potransfúzní reakce a oběhová reakce, ale také pozdními nežádoucími účinky transfúzí, jako jsou přenos infekčního agens, aloimunizace nebo přetížení organismu Fe. Aloimunizace proti erytrocytárním antigenům ztěžuje a prodlužuje výběr kompatibilního erytrocytárního transfúzního přípravku a může si vyžádat hledání kompatibilního dárce v národních nebo dokonce mezinárodních registrech. Postihuje asi 10 % chronicky transfundovaných hematologických pacientů (**119**). Aloprotilátky proti HLA antigenům mohou být jednou z příčin refrakternosti k trombokoncentrátům, dále mohou způsobit febrilní nehemolytickou potransfúzní reakci, vzácně také akutní nebo pozdní hemolytické reakce a akutní dechové tísně asociované s transfúzí (transfusion-related acute lung injury, TRALI). Jejich vznik je častější než u antierytrocytárních protilátek (**120**). Deleukotizace korpuskulárních transfúzních přípravků kromě jiného redukuje jak riziko přenosu některých intracelulárních parazitů, tak i HLA imunizace. Ozáření transfúzních přípravků 40 Gy je nutné u kandidátů alloSCT (**118**), vhodné je také u současně neutropenických pacientů jako prevence s transfúzí asociované nemoci štěpu proti hostiteli (transfusion-associated graft-versus-host disease, TA-GVHD). Potransfúzní hemosideróza představuje u polytransfundovaných pacientů závažný problém. Každá T.U. E.T.P. představuje přísun 200–250 mg volného železa, což při denní exkreci 1–2 mg vede nevyhnutelně k hromadění Fe

v organismu pacienta (121). Železo je sice důležitým biogenním prvkem, ale ve volné formě je pro lidský organismus vysoce toxické. Proto se hned po vstupu do krevního oběhu váže na transferin. Avšak po překročení vazebné kapacity transferinu stoupá v plasmě hladina netransferinového železa (NTBI – non-transferin bound iron). Nejtoxičtější frakcí NTBI je labilní Fe (LIP – labile iron pool), které působí přímo v buňkách. Zde toto volné Fe katalyzuje vznik kyslíkových radikálů (ROS – reactive oxygen species). Nejnebezpečnější frakcí ROS jsou hydroxylové radikály, které vedou k oxidativnímu stresu buňky a narušení makromolekul proteinů, DNA a peroxidaci lipidů (Fentonova a Haber-Weissova reakce) (122). Následuje poškození buněčných organel, membrán, zánik buňky a poškození tkání a orgánů. Současně dochází ke zvýšené syntéze kolagenu v důsledku indukce tvorby transformačního růstového faktoru $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) (123) a ukládání nerozpustného hemosiderinu v tkáních a orgánech (122). Cílovými orgány při poškození jsou játra, ve kterých dochází ke vzniku hemosiderózy, fibrózy a cirhózy; srdce s rozvíjející se kardiomyopatií; endokrinní orgány s možnou tvorbou bronzového diabetu; pohlavní orgány a klouby (122, 123). Klíčovým proteinem ovlivňujícím metabolismus Fe je bílkovina hepcidin. Exprese tohoto hormonu, který se tvoří v játrech, se zvyšuje při dostatku Fe v organismu a v rámci reakce akutní fáze. To následně vede ke snížení transportu Fe z enterocyty do krve a zadržení železa v monocyto/makrofágovém systému. Naopak při deficitu Fe v organismu a u stavů s akcelerovanou erytropoézou (jako jsou anémie, hypoxie a inefektivní erytropoéza) je syntéza hepcidinu snížena, což vyvolá nekontrolované uvolnění železa do cirkulace, jeho zvýšený odsun do jater a monocyto/makrofágového systému a sekundární stimulaci resorpce Fe z trávicího traktu. Celý tento důmyslný mechanismus má dvě slabá místa: neschopnost organismu zbavit se přebytečného Fe a nadřazenost signálů monitorujících erytropoézu nad signály o hladině Fe. Obojí se negativně projevuje u MDS pacienta: zatímco se v jeho organismu hromadí NTBI z opakovaných převodů červených transfúzních přípravků, dochází ještě navíc ke zvýšené resorpci Fe z GIT při snížené hladině hepcidinu při inefektivní erytropoéze (49) (Obr. 13). Akumulace nadbytečného Fe může pravděpodobně vést i k dalšímu prohloubení inefektivní erytropoézy, jak dokládá japonská studie *in vitro*, která dokazuje, že nadbytečné Fe vede k blokadě tvorby a diferenciaci erytroidních kolonií a k akceleraci apoptózy. K ní přistupuje další studie s obdobným výsledkem na myším modelu (124, 125).



Obr. 13. Příčiny a následky přetížení železem u MDS.

Pro stanovení množství Fe v organismu jsou k dispozici přímé a nepřímé metody. Nejpřesnější a nejspolehlivější metodou, jak spolehlivě kvantifikovat stupeň přetížení železem (LIC – liver iron concentration), je jaterní biopsie. Jde sice o invazivní výkon spojený s rizikem závažných komplikací, umožňuje ale navíc určit typ postižení jaterního parenchymu, případně i doprovodnou fibrózu nebo cirhózu. Avšak limitujícím orgánem při poškození organismu Fe je myokard. Vyšetření srdce pomocí magnetické rezonance metodou T2* umožňuje semikvantitativní určení obsahu Fe v myokardu, stanoví funkci srdečních komor a může být argumentem pro včasné zahájení chelatační terapie nezávisle na hladině feritinu, která jen velmi přibližně vypovídá o skutečném stupni přetížení Fe (122). Ve studii se 75 chronicky transfundovanými MDS pacienty nízkého rizika byli nemocní s hladinou T*MRI pod 20 ms identifikováni jako vysoce riziková strana rozvoje srdečního selhání (126). Zde však narážíme na rozpor ohledně přetížení Fe u chronicky transfundovaných MDS pacientů: transfúzní závislost je jasným negativním prognostickým faktorem, který je zakotven ve WPSS, a srdeční selhání je nejčastější neleukemickou příčinou smrti pacientů s MDS low risk ve většině klinických studií (127, 128). Příčina srdečního selhání však není zcela jednoznačná, protože do hry kromě toxického poškození myokardu nadbytkem železa vstupují také strukturální změny myokardu při anemii s hypoxií a také současné poškození koronárních tepen, které je u pacientů s MDS poměrně časté vzhledem k věkovému mediánu cca 65 let. Navíc ve stávajících studiích nebyla zatím jasně prokázána korelace dysfunkce myokardu, závislosti na transfúzích a přetížení Fe. Je možné, že tuto závislost potvrdí/vyvrátí právě probíhající long term multicentrická prospektivní randomizovaná studie TELESTO, ve které pacienti s MDS low/int-1 rizikem dle IPSS užívají deferasirox nebo placebo (ClinicalTrials.gov identifikátor: NCT00940602). Její první výsledky se očekávají v únoru 2018. Přestože sérový feritin jen volně koreluje se skutečným stupněm přetížení Fe, neboť je jeho hladina ovlivňována dalšími faktory, jako jsou zánět, poškození jater nebo neoplazie, je stále užíván jako jednoduchý, dostupný a levný marker ve vyspělých zemích celého světa. V otázce, od jaké hladiny feritinu zahájit chelataci, však panuje nejednotnost. Například podle doporučení americké National Comprehensive Cancer Network (NCCN) je vhodné přistoupit k chelataci při koncentraci feritinu nad 2500 µg/l (129). European Leukemia Net (ELN), s níž korespondují i doporučení České hematologické společnosti, doporučuje zvážit chelatační terapii u transfúzně závislých pacientů s RA, RARS nebo MDS s izolovanou delecí 5q- a sérovým feritinem vyšším než 1000 µg/l po obdržení asi 25 T.U. erytrocytů (24). Mezinárodní panel expertů, který se zabýval transplantací krevetvorných buněk (HSCT) u MDS a CMML v roce 2017 a který zahrnoval odborníky z Evropy i USA, hladinu feritinu nezmiňoval a doporučoval, aby MDS pacienti s historií transfúze více než 20 jednotek erytrocytů, kteří jsou potenciálními kandidáty k HSCT, byli vhodně chelatováni ještě před conditioningem k transplantaci. Přetížení železem může být léčeno jak flebotomiemi, tak chelatačními látkami (130). V současnosti jsou pro klinickou praxi dostupné tři chelatační látky. Deferoxamin je aplikován v kontinuální nebo alespoň 10–12 hodinové iv. nebo sc. infúzi v dávce 25 mg/kg/den v jedné denní dávce, dle efektu je možné dávku zvyšovat až na 60 mg/kg/den. Deferasirox je indikován tam, kde je léčba deferoxaminem kontraindikována nebo není dostatečně účinná, dávka činí 20–30 mg/kg/den p.o. a může být upravena dle účinku a snášenlivosti pacienta. Deferipron není pro užití u nemocných s MDS registrován, je ho možné použít (za pravidelné kontroly krevního obrazu) individuálně v případě kontraindikace nebo nesnášenlivosti deferasiroxu v dávce 75–100 mg/kg/den rozděleně do tří denních p.o. dávek po 8 hodinách v monoterapii nebo v kombinaci s deferoxaminem při přetížení železem těžkého stupně (118). Největší nevýhodou deferoxaminu je způsob aplikace, který zřejmě podstatně ovlivňuje compliance a adherenci pacienta k léku, jak dokládá například observační multicentrická studie, která byla vedena v 81 španělských nemocnicích v roce 2007 ještě před udělením licence pro deferasirox. Tato studie zahrnovala 549 pacientů s MDS nízkého rizika, z nichž se u 86 % prokazatelně rozvinulo

přetížení železem, ale jen 38 % dostávalo chelatační terapii, avšak pouhých 21 pacientů dostávalo skutečně účinné dávky chelátoru (131). Další charakteristiky všech tří chelátorů jsou k dispozici v tabulce 27.

Tab. 27. Charakteristiky chelátorů užívaných v současnosti.

Lék	Deferioxamin	Deferipron	Deferasirox
Indikace	chronické přetížení Fe jakékoliv etiologie	thalasemie major od věku nad 10 let	thalasemie major, chronické přetížení Fe u jiných typů anémie od 2 let věku
Poločas	20–30 minut	3–4 hodiny	12–16 hodin
Lipofilie	Nízká	vysoká	vysoká
Vylučování	stolicí i močí	močí	stolicí
Výhody	dlouhodobá zkušenost 20–30 let	ověřený účinek na odstranění Fe z myokardu	p.o. aplikace v jedné denní dávce
Nežádoucí účinky	lokální reakce v místě vpichu, poruchy zraku, sluchu, růstu	GIT příznaky, agranulocytosa, artalgie, otoky, elevace transamináz, deplece Zn	lehká porucha renálních fcí, vzácně elevace transamináz, GIT příznaky, vyrážky, poruchy sluchu, vzácně katarakta
Poznámka k aplikaci	v 8–12 hodinové sc. infúzi po 5–7 dní v týdnu, při těžkém přetížení kontinuálně iv. po několik týdnů		podávat rozpuštěné ve 100–200 ml vody nebo džusu, nejlépe 30 minut před snídaní se zvýšeným obsahem tuku

Nedávno byla do klinické praxe uvedena potahovaná forma deferasiroxu s upravenou silou a vyšší biologickou dostupností v porovnání s dispergovatelnými tabletami. Dávka ve formě potahovaných tablet by měla být tedy o 30 % nižší a může se užívat zároveň s lehkým jídlem (tab. 28).

Tab. 28. Porovnání dispergovatelné a potahované tablety deferasiroxu.

	deferasirox dispergovatelné tablety	deferasirox potahované tablety
Síla	500 mg	360 mg
Způsob podání	užívat nalačno, nejméně 30 minut před jídlem, rozpuštěné ve vodě nebo džusu, tbl se nesmějí kousat ani polykat celé	užívat nalačno nebo spolu s lehkým jídlem, tablety polykat celé s trochou vody, ale mohou být rozdrceny a nasypány na měkké jídlo (jogurt, jablečné pyré)
Přídavné látky	obsahuje laktózu	neobsahuje laktózu
Doporučená úvodní dávka	20 mg/kg/den	14 mg/kg/den
Rozmezí dávky	10–40 mg/kg/den	7–28 mg/kg/den
Úprava dávky	krok 5–10 mg/kg	krok 3,5–7 mg/kg

Podle randomizované studie fáze II měli pacienti, kteří užívali potahovanou tabletu, lepší adherenci k léčbě a nežádoucí účinky se u nich vyskytovaly s menší frekvencí a nižší intenzitou ve srovnání s nemocnými užívajícími dispergovanou formu léku (132). Nejúčinnější prevencí potransfúzních

reakcí a dlouhodobých následků opakovaných krevních převodů je odstranění nebo alespoň redukce transfúzní závislosti. To je jeden z cílů následujících terapeutických modalit.

1.9.3. Růstové faktory hemopoézy

Léčba erytropoézu stimulačními faktory (E.S.P.) je postavena na faktu, že u MDS pacientů vzniká relativní nedostatek erytropoetinu (epo) kvůli inefektivní hyperplastické erytropoéze a snížené citlivosti dysplastické populace na erytropoetin. Epo je navíc, zejména ve spojení s granulocytární kolonie stimulačním faktorem (G-CSF), schopen inhibovat apoptózu na úrovni BFU-E (burst-forming unit erythroid) a CFU-E (colony-forming unit erythroid) (**133**). Doporučení pro léčbu byla vytvořena na základě četných klinických studií a metaanalýz, které se zabývaly užitím E.S.P. v monoterapii i v kombinaci s G-CSF nebo GM-CSF (granulocyto-makrofágové kolonie stimulační faktor) (**134-139**). Léčba E.S.P. je indikována u nemocných nízkého a středního -1 rizika dle IPSS, s hladinou hgb <90 g/l nebo vyšší při manifestních příznacích anémie a hladinou sérového epo <500 IU/l. Doporučena iniciační dávka je 30–60 kU/týdně pro rHuEPO (rekombinantní lidský erytropoetin) a 150–300 µg/týdně pro darbopoetin (**140**). Pokud není dosaženo léčebné odpovědi do 8 týdnů, lze původní dávku E.S.P. kombinovat s G-CSF 300 µg/týdně rozdělenou do 2–3 dílčích dávek. Pokud není zaznamenán terapeutický efekt po dalších 4–8 týdnech, má být léčba ukončena (**24, 118**). Predikce léčebné odpovědi se odvíjí od hladiny sérového erytropoetinu a tíže transfúzní závislosti (**141**) (**tab. 29**).

Tab. 29. Predikce erytroidní odpovědi na EPO a G-CSF u MDS pacientů (podle 109).

Parametr	Hodnota	Skóre	Σ skóre	Pravděpodobnost odpovědi	Slovní hodnocení
Počet T.U. E.T.P./měsíc	<2	0	0	74 %	dobrá odpověď
	≥2	1			
Erytropoetin v séru v U/l	<500	0	1	23 %	střední odpověď
	≥500	1	2	7 %	špatná odpověď

Hodnocení léčebné odpovědi se doporučuje provádět podle revidovaných standardizovaných kritérií dle International Working Group z roku 2006, přičemž za velkou odpověď je považován vzestup hemoglobinu o více než 20 g/l nebo ztráta závislosti na transfúzích erytrocytů. Malá odpověď znamená zvýšení hemoglobinu o 10–20 g/l nebo 50 % redukce počtu T.U. E.T.P. (**142**).

1.9.4. Imunosupresivní léčba

Pacienti, u kterých selhala léčba E.S.P. a u kterých není zvažována alloSCT, jsou indikováni k imunosupresivní léčbě (IST) (**24**). Prediktivními faktory účinku této léčby jsou nízký věk (pod 60, resp. 65 let), hypoplastická kostní dřeň, low risk subtyp MDS, normální karyotyp, HLA- DR 15 fenotyp, trizomie chromozomu 8, krátká doba od diagnózy a mírná transfúzní dependence (<2 T.U. E.T.P./měsíc) (**24, 143, 144**). Antithymocytární globulin (ATG) je doporučován zejména u hypoplastické formy MDS v dávce 3,75 mg/kg/den – 5 dní (králíčí) a 40 mg/kg/den – 4 dny (koňský) v kombinaci s prednisonem 1–2 mg/kg/den – 14 dní a následným dlouhodobým podáváním cyklosporinu A (Cs-A) (iniciační dávka činí 3–5 mg/kg/den, je upravována dle hladiny Cs-A v séru a přípravek je podáván dlouhodobě – nejméně 12 měsíců). U nemocných s přítomností dalších autoimunních fenoménů a/nebo při přítomnosti PNH klonu může mít efekt samotná kombinace metylprednizolonu (0,5–1 mg/kg/den) s Cs-A 3–5 mg/kg/den (**145**). Před započítím terapie ATG se doporučuje vyloučit přítomnost del(7) a/nebo del(7q), neboť někteří autoři hodnotí přítomnost změn na 7. chromozomu jako důležitý nepříznivý faktor vedoucí k progresi choroby (**146, 147**). Některé práce z poslední doby potvrzují v léčbě nízké rizikového MDS účinek alemtuzumabu (**148, 149**).

1.9.5. Léčba trombocytopenie

Trombocytopenie u pacientů s MDS je významným klinickým problémem – zčásti kvůli krvácivým komplikacím a zčásti proto, že odráží nepříznivé biologické rysy základního onemocnění kostní dřeně (150, 151). Léčba trombocytopenie u MDS je zatím neuspokojivá. Kromě substituce trombocytárními koncentráty lze vyzkoušet, zejména v případě přítomnosti autoimunních fenoménů, imunosupresivní terapii. Dočasnou léčebnou odpověď mohou přinést vysoké dávky androgenů (danazol) (152). Proto se v poslední době pozornost soustředila na trombopoetinové agonisty – romiplostin a eltrombopag. Oba léky se používají s úspěchem při léčbě ITP, eltrombopag je schválen také pro léčbu aplastické anémie a chronické hepatitidy C s trombocytopenií, proto byly a jsou oba léky testovány v klinických studiích u MDS pacientů nízkého a středního -1 rizika (153-156). V poslední době se také objevila zpráva, že eltrombopag se jeví jako silný chelátor železa, který snižuje celulární železo a dále zvyšuje mobilizaci železa v kombinaci s klinicky dostupnými chelatačními látkami (157).

1.9.6. Imunomodulační léčba

Jedním z léčebných přístupů používaných u pacientů s MDS nižšího rizika je podání imunomodulačních látek, z nichž první testovanou molekulou byl thalidomid. U tohoto léku byly zaznamenány robustní a dlouhotrvající odpovědi, ale omezené pouze na erytrocytární řadu. Thalidomid ale připravil cestu pro užití nového analogu – lenalidomidu, který je mnohonásobně účinnější a nemá typické nežádoucí účinky thalidomidu (44). LEN představuje první cílenou terapii (targeted therapy) u pacientů s MDS nižšího rizika s transfúzní závislostí a intersticiální delecí segmentu dlouhého raménka chromozomu 5 (del(5q)), kterou povolila FDA (Food and Drug Administration) v roce 2005. V Evropě (kromě Švýcarska) nebyla dlouhou dobu léčba LEN schválena s odůvodněním, že nelze vyloučit spojitost mezi terapií a leukemickou transformací. Následně se však ukázalo, že toto riziko souvisí pravděpodobně s individuální predispozicí pacienta před zahájením aplikace a LEN *per se* není leukemogenní (158). Jak už bylo zmíněno v kapitole 1.4.1., je třeba ještě před léčbou všechny nemocné vyšetřit na možný výskyt mutace genu *TP53*, protože její přítomnost je obecně nepříznivým prognostickým faktorem a při léčbě lenalidomidem je spojena s vysokým rizikem progresu choroby (159). Klíčovým krokem pro schválení lenalidomidu FDA byla multicentrická randomizovaná studie MDS-003, ve které bylo zařazeno 148 pacientů s del(5q), z nichž 67 % dosáhlo transfúzní nezávislosti a 45 % kompletní cytogenetické remise. Nejčastějším nežádoucím účinkem byla neutropenie a trombocytopenie. Rozvoj léčbou indukované cytopenie v prvních 8 týdnech léčby byl asociován s vysokou četností hematologické a cytogenetické odpovědi. Tato data ukazují, že časná cytopenie mohou být pomocným ukazatelem suprese del(5q) klonu (160). Dalšími nežádoucími účinky LEN jsou raš, průjem, svalové křeče a svědění kůže. Incidence venózního trombembolismu (VTE) u MDS pacientů léčených LEN v monoterapii je obecně nízká, VTE byla pozorována u 3 % pacientů s del(5q) ve studii MDS-003 a u 1 % non-del(5q) pacientů v klinické studii MDS-002 (161). LEN má pleiotropní účinek: ovlivňuje imunokompetentní buňky (T-lymfocyty, NK buňky), produkci cytokinů (IL-2, IFN- γ , TNF- α), blokuje angiogenezi, především je ale jeho působení karyotypově specifické. To se vysvětluje haploinsuficiencí několika genů v oblasti 5q. Současně dochází k aktivaci normální residuální erytropoézy – ztráta transfúzní závislosti předchází dosažení cytogenetické remise o 1–2 měsíce (162). V případě non del(5q) MDS dochází po podání LEN ke zvýšené odpovědi erytroidních prekursorů na E.S.P. (163). V posledních letech je pozornost upřena na cereblon (CRBN), tj. protein, který je vazebným místem pro imunomodulační látky (164, 165). Po vazbě LEN na CRBN tento váže proteiny buňky do ligázového komplexu, následuje ubiquitinace těchto proteinů a jejich degradace v proteazomu. Studie prováděné u myelomu ukázaly, že snížená exprese CRBN je spojena s rezistencí na imunomodulační látky (165), zatímco vysoká exprese koreluje s dobrou odpovědí (166, 167). Naši čeští vědci, kteří zkoumali úlohu CRBN u MDS, identifikovali vysoké hladiny mRNA CRBN u pacientů s del(5q) ve srovnání s převážně nízkými

hladinami u non del(5q) nemocných a téměř nulovými hladinami u zdravých dárců. Vysoké hladiny mRNA CRBN u nemocných s 5q- korelovaly s odpovědí na LEN. U pacientů, kteří přestali na terapii LEN odpovídat, došlo k prudkému poklesu hladiny CRBN mRNA (168). Vazbou LEN na CRBN dochází k ubiquitinaci a následné degradaci kasein kinázy 1A1. Kasein kináza 1A1 je důležitá pro myeloidní proliferaci. Zatímco haploinsuficience genu pro kasein kinázu vede k proliferační výhodě klonu s del(5q), tak úplná delece genu vede k apoptóze klonu 5q-. LEN tedy směřuje k dramatickému snížení uvedené kasein kinázy na proteinové úrovni a tím k apoptóze klonu del(5q) (169). Nedávné výzkumy na buněčných kulturách naznačily, že LEN je schopen zvýšit expresi a stabilizaci erythropoetinových receptorů asociovaných s JAK-2 (JAK2/EpoR) zřejmě cestou modulace hladiny Really Interesting New Gene (RING) finger protein 41 (RNF41), která je nezávislá na cereblonu a která funguje také u erytroidních buněk části non-5q- MDS pacientů. Schopnost lenalidomidu redukovat expresi RNF41 by se tak mohla v budoucnu stát důležitým biologickým markerem terapeutické účinnosti u non 5q- pacientů (170). V současnosti je v USA LEN terapií volby pro pacienty s nízkým rizikovým MDS s del(5q), kteří jsou závislí na transfúzi a jsou refrakterní k E.S.P. U nízkých rizikových non del(5q) transfúzně dependentních MDS pacientů může být léčba zvažována po selhání E.S.P. nebo hypometylační látky. Podle EMEA a českého SPC je LEN indikována v léčbě pacientů s anémií závislou na transfúzi, která vznikla v důsledku myelodysplastických syndromů s nízkým rizikem nebo středním rizikem 1. stupně spojených s cytogenetickou abnormalitou izolované delece 5q v případech, kdy jsou ostatní léčebné možnosti nedostatečné nebo neadekvátní. Pacienti by měli mít odpovídající hladinu trombocytů, neutrofilů a clearance kreatininu nad 50 ml/min. Jako startovací je doporučena dávka 10 mg p.o. denně, přičemž musí probíhat týdenní kontrola krevního obrazu v prvních 8 týdnech, při poklesu hladiny trombocytů nebo neutrofilů je nutné dávku snížit nebo přerušit léčbu a případně podávat G-CSF. Není-li zaznamenána žádná odpověď po 4 měsících, je doporučeno léčbu ukončit (44). Dostupné jsou i výsledky studie, která porovnává účinnost LEN u pacientů s del(5q) a dalšími cytogenetickými aberacemi. V případě, že je identifikována pouze izolovaná delece 5q, je zaznamenána cytogenetická odpověď u 63 % pacientů, při jedné přídatné změně u 9 % a v případě identifikace komplexního karyotypu není cytogenetická odpověď dosažena (171). V r. 2015 byla publikována analýza dat nemocných z lenalidomidové lišty Českého MDS registru, která zahrnovala celkem 34 nemocných s MDS s del(5q) léčených od r. 2008 v 7 českých hematologických centrech (172). Ve srovnání se studií MDS 003 (160) a MDS 004 (173) bylo u českých pacientů dosaženo výrazně vyššího procenta transfúzní nezávislosti (90,4 % vs. 67 % vs. 56 %), což bylo zřejmě způsobeno výrazně vyšším zastoupením pacientů s 5q- syndromem v české studii. Naopak jen 16 % pacientů z českého registru dosáhlo kompletní cytogenetické odpovědi oproti 45 % a 24 % pacientů z MDS 003 a MDS 004. Na vině pravděpodobně byly obecně nižší dávky lenalidomidu (převážně 5 mg a douhodobě i 2,5 mg denně) u českých nemocných. Mezinárodní klinická studie fáze II, MDS 002 (161) a randomizovaná, dvojitě zaslepená studie fáze III, MDS 005 (174) shodně prokázaly dosažení transfúzní nezávislosti u cca 25 % MDS pacientů s nízkým rizikem a bez del(5q). Mezi faktory výrazně spojenými s dosažením transfúzní nezávislosti v MDS 005 figurovala předchozí léčba E.S.P. Tento fakt byl zřejmě jedním z důvodů iniciace randomizované studie s pacienty MDS low risk rezistentními k E.S.P., u kterých kombinace LEN a E.S.P. výrazně zlepšila erytroidní odpověď v porovnání se samotným LEN (39,4 % vs. 23,1 %) (175). V léčbě pokročilých forem MDS je zřejmá snaha využít kombinace 5-AZA a LEN. Jejich racionální podklad vychází z biologického potenciálu obou molekul (176). LEN inhibuje aktivitu fosfatáz, stabilizuje MDM2 a způsobuje degradaci p53 prostřednictvím zvýšené aktivity miRNA 145 (microRNA – posttranskripční modulátor genové exprese) (177). Jde o nepřímý cytotoxický vliv a zásah do dřevňového mikroprostředí. 5-AZA inhibuje DNMTs a působí přímo cytotoxicky.

1.9.7. Nízkodávkovaná monochemoterapie a kombinovaná chemoterapie

Využití konvenční terapie pokročilých forem MDS neprokázalo zlepšení přežití, transfúzní závislost a oddálení doby transformace do AML (178). Přesto zůstává low dose cytosinarabinosid (ARA-C) v dávce 20 mg/m²/den x 14 možnou alternativou k hypometylačním látkám (HMA) u starších pacientů s high risk MDS. Je však třeba počítat s tím, že HMA mají signifikantně delší OS, zejména v případě nepříznivé cytogenetiky (179). Kombinovaná chemoterapie v podobě klasického 7+3 (ARA-C: 100–200 mg/m²/den x7 + 3x buď daunorubicin v dáce 45–60 mg/m²/den, nebo idarubicin v dáce 9–12 mg/m²/den či mitoxantron v dáce 8–12 mg/m²/den) následovaná 2–3 cykly konsolidační léčby (v případě dosažení kompletní remise) je indikována u nemocných mladších 65 let s více než 10 % blastů v kostní dřeni bez závažnějších komorbidit (118). Kombinovaná chemoterapie však nemá lepší výsledky ve srovnání s HMA a měla by být vyhrazena pro případy, kdy ji následuje alogenní SCT (179). Pro užití monoterapie p.o. cytostatiky, jako je melphalan nebo hydroxyurea či 6-merkaptopurin, není dostatek vědeckých důkazů (24, 118). Jiná situace nastává v případě diagnózy CMML, u níž jsou hydroxyurea nebo etoposid doporučovány k cytoredukci u MP-CMML s výraznou leukocytózou (180).

1.9.8. Epigenetická léčba

Mezi hlavní molekulární mechanismy, které nesou epigenetickou informaci, patří metylace DNA, modifikace histonů a RNA interference (181). Jak už naznačila předchozí subkapitola, v minulých letech byly zaznamenány významné pokroky v léčbě pokročilých forem MDS pomocí epigenetických regulátorů. Tato léčba je definována jako modulace genové exprese bez zásahu do kódujících sekvencí DNA (182, 183). V epigenetické terapii MDS se dosud uplatňovaly inhibitory histondeacetylázy a především inhibitory metyltransferázy, tzv. hypometylační látky (HMA). Hypermetylace genů zapojených do kontroly buněčného cyklu a apoptózy je totiž častá v progenitorových buňkách pacientů s MDS. Jde především o regulační geny kódující inhibitory cyklin-dependentních kináz *p15* a *p16*. Kódující geny raritně podléhají mutacím, ale transkripce genu *p15* je tlumena abnormální metylací promotorové oblasti asi u 50 % pacientů s pokročilou formou MDS (181). Methylace DNA je reverzibilní proces a lze ji změnit pomocí specifických molekul, inhibitorů DNA metyltransferáz (DNMTs), jako jsou např. 5-azacytidin (5-AZA), decitabin (DAC) a analogy S-adenosylhomocysteinu (184). DNMTs jsou odpovědné za metylaci cytosinu v oblasti CpG dinukleotidového motivu (CpG ostrůvky) promotorů, způsobují tím hypermetylací některých genů zapojených do progresu MDS a tzv. epigenetický „silencing“. Je ale nutné dodat, že příčina aberantní metylace není spolehlivě vysvětlena. Uvažuje se, že může být indukována somatickou mutací genů (např. *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*) nebo jsou spouštěčem progresu MDS *per se* (185) epigenetické abnormality. Klinicky nejvýznamnější molekulou ze skupiny HMA se stal 5-AZA, který se dostal do 1. linie léčby pro pokročilé formy MDS. 5-AZA je analogem cytidinu, ale místo pyrimidinového obsahuje triazinový skelet. Byl objeven roku 1964 českými vědci Pískalou a Šormem a v témže roce bylo na experimentální myši leukémii zjištěno, že má významnou antiproliferační aktivitu (186). 5-AZA prostupuje do buněk a ovlivňuje metabolismus DNA i RNA. V prvním kroku dochází v buňce k jeho fosforylaci pomocí uridin-cytidinkinázy, další fosforylace vede až ke vzniku trifosfátu (5-aza-CTP), který je inkorporován do RNA (187). Takto probíhá metabolizace 80 až 90 % 5-AZA a v konečném důsledku narušuje syntézu mRNA, metabolismus proteinů a vede k navození apoptózy (188). Pouze malá část (10–20%) z difosfátového meziproduktu je pomocí ribonukleotidové reduktázy převedena na deoxyformu a následně fosforylována za vzniku 5-azaC-dCTP (DAC-TP) (187). DAC-TP je inkorporován do DNA a kovalentně váže DNMTs. Dochází tak k inhibici aktivity těchto enzymů. Účinek hypometylačních molekul na „DNA cestu“ je částečně vysvětlen, ovlivnění mRNA a proteosyntézy zůstává doposud nejasné. 5-AZA má pleiotropní účinek a nepůsobí pouze jako hypometylační agens, ale má i významné imunomodulační účinky – zvyšuje zastoupení FoxP3+ T-lymfocytů (T-regulačních buněk) a snižuje celkový počet T_H17 buněk (189). V laboratorních

podmínkách byl kromě proapoptického, antiproliferačního a imunomodulačního účinku popsán také efekt pro-diferenční. Posledně jmenovaný způsob účinku 5-AZA se uplatňuje například prostřednictvím aktivace transkripčního faktoru pro erytroidní a megakaryocytární linii GATA-1 (190) nebo cestou klíčového myeloidního transkripčního faktoru PU.1, který je zapotřebí pro normální krvetvornou diferenciaci. Experimenty na primárních MDS buňkách prokázaly, že PU.1 a jeho program je významně inhibován na úrovni metylace DNA. Působením 5-AZA dochází k aktivaci PU.1 a jeho programu. Cytokiny stimulující diferenciaci a proliferaci kolonií tvořících buňky (G-CSF, GM-CSF, M-CSF) mají potencující vliv k působení 5-AZA (191). G-CSF se tak nabízí jako potenciální adjuvans k 5-AZA, zatím však chybí kontrolovaná studie. V současné době je 5-AZA schválen v ČR pro léčbu pokročilých stádií MDS bez možnosti alloSCT, AML s 20–30 % blastů a dysplazií ve více buněčných liniích a konečně pro chronickou myelomonocytární leukémii (CMML) s 10–29 % blastů v kostní dřeni bez myeloproliferativního onemocnění. Nemocní s pokročilými formami MDS, u kterých není indikována transplantace krvetvorných buněk, měli v minulosti velmi špatnou prognózu s výrazným zkrácením OS. Podání 5-AZA umožnilo u části pacientů dosažení kompletní (CR) či partiální remise (PR), ztrátu transfúzní závislosti a oddálilo přechod do AML. 5-AZA se podává formou subkutánní injekce do horní části paže, stehna nebo břicha v počáteční dávce 75mg/m² nejčastěji po dobu 7 dnů, po kterých následuje období 21 dnů bez podávání. Doporučuje se, aby pacienti byli léčeni minimálně 6 cykly. Léčba by měla trvat tak dlouho, dokud je přínosem pro pacienta, nebo do progresu onemocnění. Mezi nejčastěji nežádoucí účinky patří trombocytopenie a neutropenie (obvykle 3.–4. stupně), které jsou pak důvodem redukce dávkování. K dalším nežádoucím účinkům patří lokální kožní reakce v místě vpichu injekce, nevolnost a zvracení (obvykle 1.–2. stupně). Randomizovaná studie AZA-001 srovnávající efekt 5-AZA s konvenční léčbou (zahrnující standardní chemoterapii, chemoterapii nízkými dávkami cytosinarabosidu či podpůrnou léčbu) prokázala rozdíl v OS u pacientů léčených 5-AZA v porovnání s ostatními léčebnými režimy (25 vs. 15 měsíců) – a to i u pacientů, kteří dosáhli pouze stabilizace nemoci (192). Bylo pozorováno i oddálení přechodu choroby do AML (26 vs. 12 měsíců). 5-AZA signifikantně zlepšuje celkové přežití starších nemocných s pokročilými formami MDS (nad 75 let), tato analýza zahrnuje i nemocné s komorbiditami (193). Výsledky studie podávání 5-AZA 92 pacientům z terapeutické vidazové lišty Českého MDS registru publikované v r. 2013 byly srovnatelné s registrační studií AZA-001 (194). 5-AZA se stal lékem volby pro starší komorbiditní nemocné s výše rizikovým MDS. Relativní nevýhodou je parenterální aplikace léku. Dobrou biologickou dostupnost i dobrou toleranci p.o. 5-AZA prokázala klinická studie fáze I vedená u 41 pacientů s MDS, CMML a AML (195). V klinické studii fáze 1/2 užívalo 55 pacientů s MDS nízkého a středního-1 rizika dle IPSS 300 mg 5-AZA p.o. 14 nebo 21 dní v 28denních cyklech s dosažením celkové odpovědi 36 % a 41 % (196). Zatímco v USA a Japonsku jsou 5-AZA nebo decitabin povoleny pro léčbu nízké rizikových MDS, v Evropě tomu tak není. Naději na rozšíření indikačních kritérií v EU přináší právě probíhající multicentrická, randomizovaná, dvojitě zaslepená studie fáze III, ve které transfúzně závislí pacienti s MDS low risk a trombocytopenií dostávají 300 mg 5-AZA/placebo p.o. a nejlepší podpůrnou terapii po 21 dní v 28týdenních cyklech (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01566695). Jedinou kurativní léčbou MDS stále zůstává alloSCT. 5-AZA získává postavení i při této indikaci jako tzv. přemostující léčba (bridging therapy), jejímž cílem je stabilizace nemoci s nižším počtem nežádoucích účinků v porovnání s klasickou chemoterapií a současně bez negativního vlivu na potransplantační výsledek (197, 198). V současnosti je diskutován 5-AZA v terapii po alloSCT. Výsledky studií na myších ukázaly, že imunomodulační účinky HMA vedou ke zmírnění GvHD při zachování reakce štěpu proti leukémii (199). Ve studii s 20 pacienty s poklesem dárcovského chimérismu pod 80 % a hodnotou dřevňových blastů do 5 % po alloSCT pro MDS nebo AML bylo prostřednictvím potransplantační udržovací léčby 5-AZA docíleno prevence nebo signifikantního oddálení hematologického relapsu (200). V recentní klinické studii s 37 pacienty po alloSCT pro AML, kteří užívali 5-AZA jako

posttransplantační udržovací léčbu, bylo snížení rizika relapsu signifikantně spojeno s indukcí CD8+ cytotoxických T-lymfocytů namířených proti nádorovým antigenům (201). Protože 5-AZA je nejčastěji podáván v ambulantním režimu a je obecně dobře snášen, bývá často užíván při léčbě relapsu ať už v monoterapii, nebo v kombinaci s podáním dárcovských lymfocytů (202, 203). Jednoznačné doporučení mezinárodního panelu expertů ohledně užívání HMA po alloSCT pro MDS a CMML však nebylo vydáno, protože dosud chybí prospektivní randomizovaná studie (132). Přestože se u decitabinu (DAC) nepodařilo prokázat signifikantní efekt na OS (10 vs. 6 měsíců) v porovnání s podpůrnou léčbou (204), může být DAC užitečný při selhání 5-AZA a naopak. Důvodem je, že azacytidin (5-azacytidin) a decitabin (5-aza-2-deoxycytidin) se sice od sebe liší jen v jediné hydroxylové skupině v cukerné části molekuly, ale mají odlišný celulární metabolismus. Decitabin je po vstupu do buňky na rozdíl od 5-AZA fosforylován deoxycitidinovou kinázou a inkorporován přímo do DNA (183). Nízká exprese deoxycitidinové kinázy koreluje s nedostatečnou senzitivitou nádorových buněčných linií k DAC (205). Navíc globální model hypometylace indukované in vitro 5-AZA je odlišný od toho, který je navozen DAC (206). DAC byl schválen americkou FDA pro léčbu myelodysplastických syndromů v r. 2006 na podkladě registrační studie D-007, ve které byl lék podáván intravenózně v dávce 15 mg/m² po 8 hodinách 1.–3. den (celkem 9 dávek) (207). Nyní převažuje podávání v 5denním ambulantním režimu v dávce 20mg/m² intravenózně 1.–5. den (celkem 100 mg/ m² v jednom cyklu), které vychází z multicentrické studie DACO-020 (ADOPT) a MD Andersonovy studie (208, 209). Na EHA 2017 byly představeny předběžné výsledky studie fáze II s guadecitabinem, který patří do nové generace HMA. 53 pacientů s MDS nebo CMML klasifikovaných jako střední -2 nebo vysoké riziko dle IPSS dostávalo lék v 5denním sc. režimu v 28denních cyklech. Lék byl shledán jako dobře tolerovatelný a účinný u výše rizikových MDS a CMML dokonce i v případě nepříznivých biologických rysů choroby, jako je komplexní karyotyp, t-MDS nebo přítomnost *TP53* mutace (210).

1.9.9. Alogenní transplantace krvetvorných buněk

Přes všechny úspěchy a pokroky v diagnostice a léčbě MDS zůstává alogenní SCT jedinou kurabilní léčebnou modalitou. Díky transplantačním režimům s redukovanou intenzitou (RIC) se tato léčebná možnost otevřela pro komorbiditní pacienty nebo nemocné v horším klinickém stavu, než jaké by vyžadovalo provedení transplantace v myeloablativním režimu. Na častější provádění alloSCT má vliv i vzrůstající využití nepříbuzenských nebo částečně shodných příbuzenských dárců. Recentní doporučení vydal mezinárodní panel expertů, který pracoval v rámci European Society for Blood and Marrow Transplantation, European LeukemiaNet, Blood and Marrow Transplant Clinical Trial Group a International Myelodysplastic Syndromes Foundation (211). Podle jeho závěrů má být vhodnost provedení alloSCT u MDS pacienta posuzována podle rizikového skóre dle IPSS-R a výše HCT Comorbidity Indexu (HCT-CI). Kandidáty transplantace jsou fit pacienti (very) high IPSS-R a (very) low risk fit nemocní s nepříznivou cytogenetikou, život ohrožujícími cytopeniemi a těžkou transfúzní závislostí. Pacienti s kombinací pokročilého věku, vysokého HCT-CI, velmi nepříznivé cytogenetiky a molekulárních charakteristik a vysokého IPSS-R skóre sice nedosáhnou na transplantaci, ale měli by být směřováni do klinických studií. Optimální timing alloSCT u MDS nemocných by měl využívat efektivní netransplantační strategie, jako jsou například imunomodulační nebo epigenetická léčba. Cytoreduktivní léčba před transplantací je doporučována pro pacienty s více než 10 % blastů v kostní dřeni. Panel expertů nedospěl k jednoznačnému doporučení pro intenzitu přípravného režimu před transplantací na podkladě dosažitelných prospektivních randomizovaných studií. V případě vysokého rizika potransplantačního relapsu je vhodné profylaktické podání infúze dárcovských lymfocytů (DLI). DLI je spolu s rozvahou o další transplantaci doporučována při relapsu za více než 6 měsíců. V případě CMML má být rizikové skóre stanoveno dle CPSS (proliferativní typ)

nebo podle IPSS-R (dysplastický typ). K alloSCT by měli být směřováni fit nemocní s CPSS intermediate -2 a vyšším. Podle velké evropské retrospektivní studie je pro výsledek transplantace rozhodující kvalita dosažené remise před transplantací (212). Někteří experti doporučují v případě CMML-2 nejdříve pacienta předléčit hypometylačními látkami a poté směřovat k transplantaci (211).

1.9.10. Nové směry v terapii MDS a CMML

Ve světě aktuálně probíhají stovky klinických studií s desítkami experimentálních sloučenin ve snaze zlepšit kvalitu života pacientů s MDS a zvrátit přirozený průběh choroby. V současnosti k nejvýznamnějším z těchto látek patří sotatercept a luspatercept, inhibitory aktivinových receptorů – antagonistů TGF β a SMAD signálních drah. Jde o fúzní chimérické IgG proteiny, které mají potenciál zlepšovat diferenciaci a vyžrávání erytroidních prekursorů nezávisle na erythropoetinu (213). Sotatercept byl testován ve studii fáze II (PACE-MDS), která nabrala 53 pacientů s MDS nebo non-proliferativní CMML nízkého nebo středního-1 rizika dle IPSS, kteří byli refrakterní k E.S.P. a kteří dostávali testovanou látku v různé dávce sc. 1x za 3 týdny. Celkové hematologické zlepšení v erytroidní linii (HI-E) dle IWG 2006 kritérií bylo pozorováno u 21 pacientů (40 %), u 3 pacientů musela být léčba ukončena pro rozvoj závažných projevů toxicity (hemolytické anémie, arteriální hypertenze nebo svalové slabosti) (214). Luspatercept byl testován v klinické studii fáze II u pacientů s MDS nízkého a středního-1 rizika refrakterním na erythropoetin bez předchozí aplikace HMA. Pacienti dostávali lék v eskalované dávce sc. á 3 týdny buď v základní studii trvající 3 měsíce, nebo v extendované 24měsíční studii. HI-E dle IWG 2006 bylo dosaženo u 51 % pacientů v základní studii a u 81 % v extendované studii. Protože vyšší míra odezvy jak pro HI-E, tak pro dosažení transfúzní nezávislosti byla pozorována u pacientů s přítomností prstenčitých sideroblastů a/nebo s mutací *SF3B1*, byla zahájena randomizovaná, dvojitě zaslepená studie Medalist, do které investigátoři chtějí zařadit 210 pacientů very low, low nebo intermediate risk dle IPSS-R s prstenčitými sideroblasty, závislých na transfúzích, refrakterních k erythropoetinu, kterým budou podávat luspatercept nebo placebo (215). Rigosertib je multikinázový inhibitor zacílený hlavně na PI3K (fosfatidylinositol-3-kinázu) a PLK (polo-like kinázu), který je zamýšlen zejména jako lék pro MDS pacienty vyššího rizika po selhání HMA. Výhodou je, že existuje i v perorální formě (216). V klinické studii fáze III byl testován u pacientů s pokročilým subtypem MDS nebo s CMML oproti BSC s/bez LD ARA-C. Studie bohužel neprokázala benefit v OS ve prospěch rigosertibu. Při detailnější analýze se ukázalo, že největší prospěch z tohoto léku mají pacienti, kteří vykazují časně selhání léčby HMA, nebo pacienti s nepříznivým karyotypem (217). Proto byla iniciována kontrolovaná studie (INSPIRE) pro pacienty s pokročilým MDS subtypem, u kterých selhala léčba HMA během prvních 9 cyklů. Pacienti dostávají rigosertib + BSC (best supportive therapy, nejlepší podpůrnou léčbu) oproti PC (volbě lékaře, Physician's Choice) + BCS (5-AZA a deoxyazacytidin povoleny). Výsledky zatím nejsou známy. Další novou léčebnou modalitou je protinádorová imunoterapie, která je obecně založena na schopnosti nádorových buněk navodit imunotoleranci hostitelského organismu. V principu je totiž nádorová buňka schopna produkovat látky podobné ligandě (PD-L1), jež je schopna po připojení na receptor programované buněčné smrti (imunní checkpoint PD-1) na cytotoxickém T-lymfocyту tento inaktivovat. Bylo prokázáno, že exprese imunoinhibičního receptoru PD-1 na T-buňkách je regulována metylací DNA (218). Nedávné studie s CD 34+ buňkami MDS, CMML a AML pacientů léčených 5-AZA nebo DAC naznačují, že tyto léky indukují expresi PD-1 na T buňkách pacientů s MDS, což pravděpodobně brání imunitní odpovědi proti MDS blastům. Nabízí se tak řešení, že by aktivace PD-1 během léčby HMA, jež je potenciálním mechanismem rezistence na tyto léky, mohla být překonána kombinovanou terapií HMA s inhibitorem dráhy PD-1 (219, 220). Na EHA 2017 byly představeny předběžné výsledky studie fáze I B testující atezolizumab. Tato humanizovaná IgG1 monoklonální protilátka, namířená proti PD-L1, byla podávána MDS pacientům refrakterním nebo

relabujícím na léčbě 5-AZA. Bohužel žádný z nich nedosáhl léčebné odpovědi, pouze pacienti v kohortě, kteří užívali současně atezolizumab a 5-AZA, dosáhli stabilizace choroby a v kohortě pacientů užívajících samotnou protilátku byla pozorována tendence ke zmírnění transfúzní závislosti (221).

2. Cíle práce

MDS patří k nejčastějším myeloidním malignitám, avšak v minulosti byl často výrazně poddiagnostikován. Se zavedením nových diagnostických možností a léků vzrostl zájem odborné lékařské veřejnosti o tuto diagnózu. Pro správné terapeutické rozhodnutí je důležité nejen určení subtypu onemocnění, ale především stratifikace pacientů podle rizika vzniku akutní leukémie a celkového přežití nemocných. Jedním z dosavadních velkých terapeutických úspěchů 21. století bylo užití lenalidomidu u MDS s del(5q) a HMA u výše rizikových MDS. Navzdory těmto pokrokům rozvine řada nemocných závislost na transfúzích s následnou hrozbou poškození orgánů a tkání z ukládání nadbytečného Fe. CMML byla původně jedním ze subtypů MDS, nyní patří do skupiny překryvných syndromů MDS/MPD. Současné výsledky léčby CMML jsou neuspokojivé, proto probíhá testování nových léků a jejich kombinací.

Cílem práce proto bylo:

1. zmapovat diagnostiku a léčbu MDS a CMML v běžné hematologické praxi ve vybraných regionech ČR a porovnat získaná data s literaturou;
2. za užití statistických metod ověřit v těchto souborech účinnost:
 - a. mezinárodních prognostických skóre pro MDS a CMML (IPSS, WPSS, IPSS-R a CPSS),
 - b. markerů obecně užívaných v onkologii (komorbiditní index, PS),
 - c. alternativních prediktorů přežívání (WHO subtyp, FAB subtyp);
3. sledovat markery přetížení organismu Fe u transfúzně závislých pacientů a jejich dopad na přežívání pacientů;
4. analyzovat vliv dostupných léčebných modalit na přežívání nemocných s CMML ve vybraných hematologických centrech.

3. Materiál a metodika

3.1. Základní soubor MDS a CMML

Základní soubor sestává ze 73 pacientů s myelodysplastickým syndromem a chronickou myelomonocytární leukemií, kteří byli v období od 1. 1. 2002 do 30. 6. 2015 diagnostikováni a léčeni v Hematologické ambulanci Hematologicko-transfúzního oddělení Krajské nemocnice Tomáše Bati ve Zlíně (HA HTO KNTB Zlín), často ve spolupráci s pracovišti v Brně (IHOK FN Brno Bohunice), Olomouci (HOK FN Olomouc) a Praze (I. Interní klinika VFN Praha, ÚHKT Praha) (113). Pacienti s CMML byli do souboru zahrnuti z historických důvodů, neboť dle starší Francouzsko-americko-britské klasifikace MDS (FAB klasifikace) patřili tito nemocní do MDS skupiny chorob (1). Teprve později byli dle WHO klasifikace přeřazeni do zvláštní skupiny myelodysplasticko/myeloproliferativního syndromu (MDS/MPS) (94). Všichni pacienti pocházeli z okresu Zlín, který čítá cca 200 000 obyvatel. Data všech MDS a CMML nemocných byla a jsou uchovávána v kartotéce nebo archívu Hematologicko-transfúzního oddělení Krajské nemocnice Tomáše Bati, a.s. (HTO KNTB Zlín) a také v celostátním MDS registru, později MYDYS II registru Czech MDS group České lékařské společnosti J.E.Purkyně. Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas s zpracováním údajů, schválený etickou komisí KNTB Zlín.

Údaje vybrané ke statistickému zpracování zahrnovaly pohlaví, věk v době diagnózy, datum diagnózy a datum úmrtí nebo posledního kontaktu, určení subtypu MDS dle WHO klasifikace 2008, zařazení pacienta do rizikové skupiny dle IPSS (72) (tab. 15, 16), IPSS-R (107) (tab. 19, 20, 21) a WPSS (104) (tab. 17, 18), přítomnost/nepřítomnost cytogenetických změn, hodnocení karyotypu dle IPSS a IPSS-R (72, 107) (tab. 15, 20), přítomnost/nepřítomnost fibrózy kostní dřene v trepanobiopstickém vzorku kostní dřene, přítomnost/nepřítomnost sekundárního MDS, datum progresu, transfúzní závislost dle WPSS (104) (tab. 17), celkovou spotřebu erytrocytárních a trombocytárních transfúzních přípravků, performance status (PS) (222) (tab. 30), přidružené choroby vyjádřené komorbiditním skóre se zohledněním věku (Charlson Age-Comorbidity Index, CACI) (223) (tab. 31), využití léčebné modality a přítomnost/nepřítomnost progresu k 30. 6. 2015 (142). Za datum diagnózy byl považován den, kdy byla provedena sternální punkce a/nebo trepanobiopstické vyšetření KD, které vedlo ke stanovení diagnózy.

Tab 30. Posuzování tělesné výkonnosti podle bodovací škály ECOG a WHO.

Stupeň	Popis stavu tělesné aktivity dle ECOG/WHO
0	Plně aktivní, je schopen všech běžných aktivit bez omezení/ Plně aktivní, více méně ve stejné míře jako před nemocí
1	Omezení fyzicky náročných aktivit, ambulantní, schopen lehčí práce např. domácí práce, kancelářská práce/ Neschopnost těžké fyzické práce, ale možnost vykonávat cokoli jiného
2	Ambulantní, schopen péče o sebe, ale neschopen jakékoli práce, mimo lůžko více než 50 % denní doby/ Mimo lůžko více než polovinu dne, schopen péče o sebe, neschopen práce
3	Schopen omezené péče o sebe, upoután na lůžko více než 50 % denní doby/ Na lůžku nebo v křesle více než polovinu dne, při péči o sebe nutná pomoc
4	Zcela neschopný, neschopen péče o sebe, upoután na lůžko nebo do křesla/ Po celou dobu upoután na lůžko nebo křeslo, výrazná potřeba pomoci
5	Mrtvý

Tab 31. Charlson Age-Comorbidity Index – výpočet.

Bodové ohodnocení	Věková hranice, komorbidity
1	věk 50-59 let diabetes melitus bez orgánového postižení onemocnění pojiva chronické plicní onemocnění lehké postižení jater demence cerebrovaskulární onemocnění onemocnění periferních cév městnavé srdeční selhání infarkt myokardu
2	věk 60-69 let diabetes melitus s orgánovým postižením středně těžké až těžké postižení ledvin maligní lymfom leukémie
3	věk 70-79 let středně těžké až těžké onemocnění jater
4	věk 80-89 let
5	věk 90-99 let
6	generalizovaný solidní tumor AIDS

Legenda: Charlson Age-Comorbidity Index vznikne součtem bodového ohodnocení pacienta.

K diagnostice bylo využíváno hodnocení nátěrů periferní krve, panopticky obarvených sternálních punktátů (May-Grünwald, Giemsa-Romanowski) (224), hodnocení sternálních punktátů obarvených na železo (Perlsova reakce) (225), histopatologické vyšetření kostních dřenin získaných trepanobiopsií, klasické vyšetření karyotypu a identifikace cytogenetických abnormalit typických pro MDS z kostní dřene metodou FISH. U části pacientů chybí výsledek cytogenetického vyšetření a výsledek trepanobiopsie, protože nebyly vůbec provedeny (zejména u pacientů diagnostikovaných na počátku sledovaného období) nebo nebyl získán validní vzorek.

U 37 pacientů, kteří byli závislí na transfúzích erytrocytů, byl proveden follow-up po 3, 6, 12, 24 měsících a dále vždy po celých rocích od začátku transfuzní závislosti. Byly sledovány feritin a sérové markery možného poškození jater, srdce a ledvin (tj. bilirubin, ALT, AST, GMT a ALP, troponin, kreatinin) nadbytečným železem. Pokud byla u těchto pacientů zachycena proteinurie, byla provedena elektroforéza bílkovin moči ve snaze specifikovat poškození určitého ledvinného kompartmentu, přičemž albumin byl považován za marker poškození glomerulů, α -1 mikroglobulin za poškození tubulů a imunoglobulin třídy G (IgG) za poruchu ledvinného intersticia. Bílkovina α -2 makroglobulin byla použita jako kontrolní údaj – pokud je zvýšena bílkovina v moči a z ní je zvýšen hlavně α -2 makroglobulin, jde o poruchu mimo ledvinu (např. v močovém měchýři) (226). Hodnoty byly vztaheny k datům naměřeným v době diagnózy. Biochemické analýzy krve a moči byly provedeny na Oddělení klinické biochemie KNTB Zlín. Ze souboru pacientů byla vyčleněna malá kohorta 4 pacientů, u kterých byla (vedle stanovení sérového feritinu a uvedených laboratorních markerů poškození organismu železem) provedena i magnetická rezonance srdce metodou T2* a magnetická rezonance jater.

U pacientů byly použity hlavně ambulantní léčebné modality od watch and wait, substituční léčby transfúzními přípravky s chelatací, přes aplikaci erythropoézu stimulujících proteinů (E.S.P.), vitaminů a antioxidantů, imunosupresiv, nízkodávkovanou chemoterapii (hydroxyurea, LD ARA-C) až po imunomodulační léčbu lenalidomidem a léčbu hypometylační látkou 5-azacytidinem ve spolupráci s pracovišti v Brně, Olomouci a Praze.

Chelatace byla podávána u nízké rizikových, transfúzně závislých pacientů s feritinem nejméně nad 1000 µg/l, často byla ale zahájena až při mnohem vyšších hodnotách. V prvních letech byla tato léčba realizována pouze parenterálním deferoxaminem, pak v rámci studie organizované Českou kooperativní MDS skupinou deferipronem (**227**, **121**) a v druhé polovině sledovaného období deferasiroxem. Erythropoézu stimulující proteiny, případně i v kombinaci s G-CSF, byly ordinovány u nízké rizikových pacientů ve snaze zmírnit nebo zcela zrušit jejich závislost na transfúzích. Vitaminy skupiny B, acidum folicum a antioxidantia v podobě N-acetylcysteinu a potravy bohaté na flavonoidy byly podávány pacientům v časně fázi choroby jako pokus ovlivnit vystupňovanou apoptózu prekurzorů krvinek v kostní dřeni. Imunosupresivní terapie prednisonem a/nebo cyklosporinem A byla realizována u pacientů s hypoplastickým MDS prokázaným v trepanobiopsickém vzorku a/nebo u MDS sdružených s autoimunní cytopenií. Kombinovaná chemoterapie v podobě kombinace 7+3 (cytosinarabinosid + daunorubicin nebo idarubicin) a alogenní transplantace krvetvorných buněk probíhala v navazujících fakultních pracovištích.

3.1.1 Statistické metody

Celkové přežití (OS) je definováno jako doba od diagnózy do smrti z jakékoliv příčiny (událost) nebo do data poslední kontroly (censoring). Doba přežití bez události (EFS) je definována jako doba do progresu onemocnění (prohloubení cytopenie, nárůst počtu blastů v kostní dřeni, progresu ve FAB klasifikaci) nebo úmrtí z jakékoliv příčiny (událost) nebo do data poslední kontroly (censoring) (**142**). Vliv jednotlivých prognostických faktorů na OS a EFS byl evaluován pomocí Coxova modelu proporcionálních rizik. Prediktivní síla skórovacích indexů (IPSS, WPSS, IPSS-R) byla měřena takzvanou konkordancí. Konkordance měří pravděpodobnost souladu časů přežití náhodně vybrané dvojice pacientů s hodnotami jejich skóre. Za soulad se považuje, pokud pacient s kratší dobou přežití má zároveň méně příznivou hodnotu skóre. Konkordance je vždy číslo mezi 0,5 (pokud skóre nemá žádnou prediktivní hodnotu pro přežití) a 1,0 (pokud jsou skóre všech dvojic pacientů v souladu s jejich přežitím). Vzájemný vztah dvou kategorických prediktorů (např. přítomnosti sekundární MDS a některého prognostického indexu) byl zkoumán pomocí kontingenčních tabulek a testu nezávislosti v nich. Analýzy byly vesměs provedeny v softwaru Statistica, Coxův regresní model byl implementován v softwaru R. Efekty s p-hodnotami pod 0.05 byly považovány za statisticky významné.

3.2. Soubor CMML

Pacienti s CMML ze základního souboru (kapitola 3.1.) byli zahrnuti do retrospektivní analýzy, která hodnotila 55 CMML nemocných léčených v letech 2000-2015 na hematologických pracovištích v Olomouci, Hradci Králové, Zlíně a Českých Budějovicích (**228**). Diagnóza CMML byla stanovována na podkladě morfologického nálezu v kostní dřeni v korelaci s perzistující monocytózou $\geq 1 \times 10^9/l$, ≥ 10 % monocytů diferenciálním rozpočtu leukocytů a myelogramu dle kritérií FAB a revidovaných kritérií WHO 2008 (**97**, **229**). Velikost sleziny byla hodnocena palpačně. U většiny pacientů byl stanoven karyotyp G-pruhováním, případně provedena interfázická FISH s provedením cíleného panelu vyšetření. K prognostické stratifikaci byl využíván CPSS (**109**) (**tab. 22, 23**). K hodnocení léčebné odpovědi byla použita IWG kritéria pro MDS (pro pacienty s MD-CMML) (**142**) a pro primární myelofibrózu (pro nemocné s MP-CMML) (**230**).

V případě, že byli pacienti léčeni v rámci klinických studií, podepsali informovaný souhlas schválený příslušnou etickou komisí.

3.2.1. Statistické metody

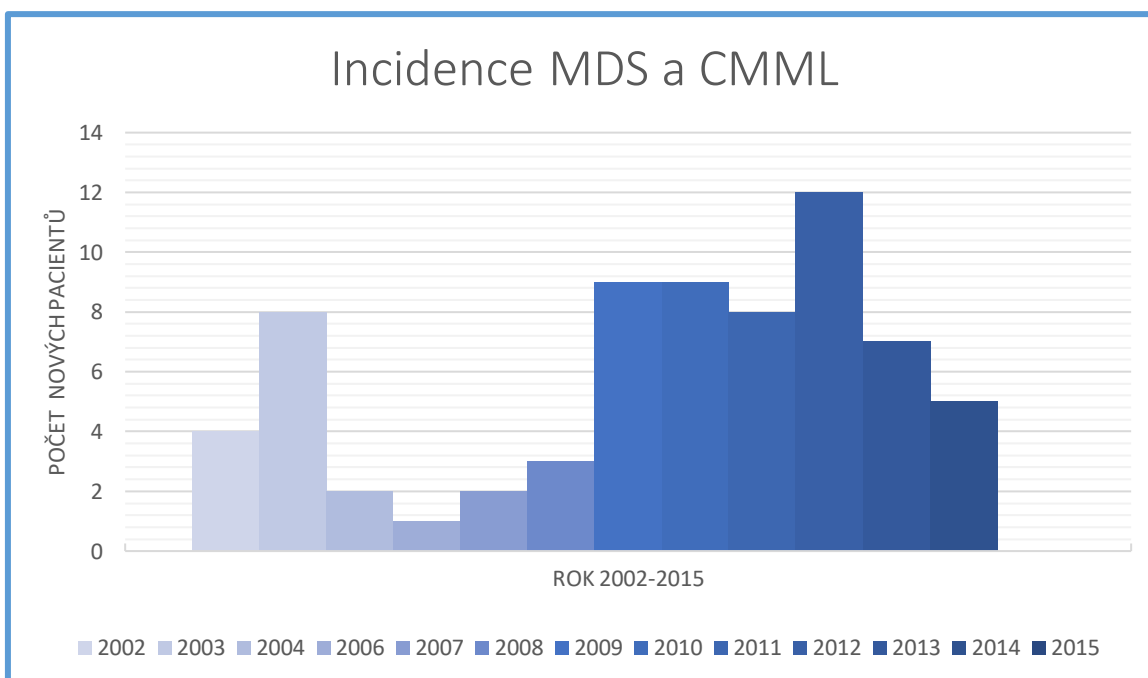
K analýze byly využity stejné statistické metody jako pro základní soubor MDS a CMML (kapitola 3.1.1.). K multivariantním analýzám byly vybrány klasické skórovací systémy a jejich dopad na přežívání pacientů v kombinaci s alternativními prediktory OS. Pro párovou analýzu byly vytvořeny unifikované kohorty pacientů.

4. Výsledky

4.1. Základní soubor pacientů MDS a CMML

4.1.1. Popis souboru pacientů

Soubor 73 pacientů tvořilo 50 případů (68,5 %) MDS low risk, kam příslušely refrakterní anémie (RA), refrakterní cytopenie s unilineární dysplazií (RCUD), refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty (RARS), refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií (RCMD), neidentifikovatelný MDS (MDS-U) a MDS s izolovanou delecí 5q-. Dále 17 pacientů (23,3 %) spadalo do skupiny MDS high risk, tj. subtypy refrakterní anémie s excesem blastů I a II (RAEB I a II) a u 6 pacientů (8,2 %) byla diagnostikována chronická myelomonocytární leukémie (CMML). Při počtu 200 000 obyvatel zlínského okresu vychází průměrná incidence 2,92 případů MDS a CMML ročně, rozpětí 1-12 pacientů ročně (**graf 1**).



Graf 1. Incidence MDS v HA KNTB Zlín v letech 2002-2015.

V celém souboru lehce převládaly ženy (39 pacientek, 53 %) nad muži (34 pacientů, 47 %). Medián věku při diagnóze byl 69,5 roku (rozpětí 38–87 let). 13 pacientů (18 %) mělo sekundární MDS nebo CMML. Přítomnost cytogenetických aberací byla zaznamenána u 28 pacientů (42 %) z 66

hodnotitelných pacientů. Fibróza kostní dřeně byla přítomna u 5 z 54 pacientů, kteří měli validní trepanobiopsický vzorek v době diagnózy. Stratifikace pacientů podle jednotlivých prognostických skórovacích systémů IPSS, IPSS-R a WPSS je uvedena v **tabulce 32**.

Tab. 32. Rozdělení pacientů dle rizika progresu do AML podle tří prognostických indexů.

	VLR [%]	LR [%]	INT [%]	INT1 [%]	INT2 [%]	HR [%]	VHR [%]	Počet pacientů
IPSS	-	49	-	28	15	8	-	65
IPSS-R	39	31	11	-	-	5	14	64
WPSS	20	35	17	-	-	18	10	60

Legenda: IPSS... International Prognostic Scoring Systém; IPSS-R...Revised International Prognostic Scoring Systém; WPSS... World Health Organization Prognostic Scoring Systém. Kategorie od very low risk (VLR) po very high risk (VHR). Čísla v jednotlivých skupinách jsou v procentech, celkový počet je však skutečný počet pacientů, které bylo lze klasifikovat.

4.1.1.1. Transfúzně závislí pacienti

29 pacientů ze všech 73 sledovaných bylo závislých na transfuzích E.T.P. (podle WPSS) v období 2 měsíců od diagnózy, dalších 8 pacientů závislých na transfuzích k nim přibýlo během follow up. Jen 7 pacientů z 37 transfúzně závislých dostávalo chelatační terapii (**tab. 33**). Sedm ze zbývajících 30 pacientů nedostávalo chelatační léčbu proto, že k 30.6.2016 ještě nedosáhlo hladiny sérového feritinu a/nebo počtu obdržených T.U. E.T.P. při kterých je vhodné zahájit chelataci (**118**). Dalších 10 pacientů nebylo chelatováno pro krátkou životní expektaci (IPSS kategorie INT-2 nebo HR bez intenzivní léčby, závažné komorbidity). Zbývajících 13 pacientů nebylo chelatováno z ekonomických nebo logistických důvodů, případně chelataci odmítli.

Tab. 33. Transfúzně závislí a zároveň chelatovaní pacienti.

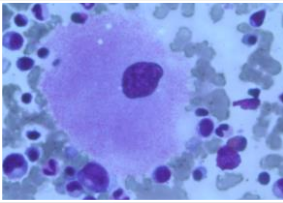
Číslo pacienta	Pohlaví	Subtyp WHO 2008	IPSS-R skóre	WPSS skóre	Spotřeba T.U. E.T.P.	Chelátory	Další léčba
1	M	RCMD	VL	L	110	E, F, E	VIT, E.S.P. + G-CSF
2	M	RAEB-1	H	H	188	E	5-AZA
3	F	CMML-1	L	nelze	107	E	VIT, E.S.P., MEG, 5-AZA
4	M	MDS s del(5q)	L	L	244	F, D, E	VIT, zvažován LEN, 5-AZA
5	F	RCMD	nelze	nelze	56	D	VIT, Před, CsA
6	F	RCMD	L	INT	86	E	VIT
7	F	MDS s del(5q)	VL	VL	226	F, E	VIT, E.S.P., Před, zvažován LEN

Legenda: M...mužské; F...ženské; IPSS-R...Revised International Prognostic Scoring Systém; WPSS... World Health Organization Prognostic Scoring Systém; WHO... World Health Organization; H...high, vysoké; L...low, nízké; INT...intermediate, střední; VL...very low, velmi nízké; T.U....transfúzní jednotka; E.T.P...erytrocytární transfúzní přípravek; D...deferexamín; F...deferipron; E...deferasirox; VIT...vitaminy a antioxidanty; E.S.P...erytropoézu stimulační proteiny; GCS-F...granulocytární kolonie stimulační faktor; 5-AZA...5-azacytidin; MEG...megestrol acetát; PRED...prednison; LEN...lenalidomid; CsA...cyclosporin A. U páté pacientky v tabulce jsme neměli k dispozici validní cytogenetiku, proto také nemohla být zařazena do žádné rizikové skupiny.

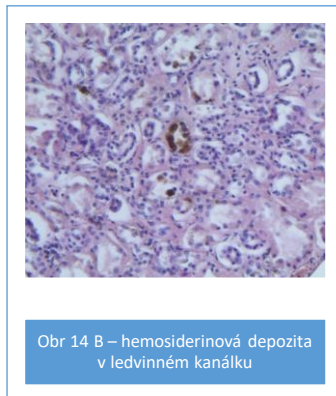
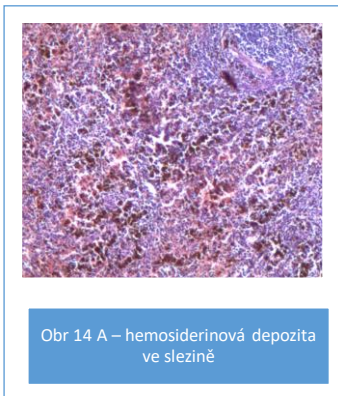
4.1.1.2. Kazuistika nechelatovaného polytransfundovaného pacienta

Z tabulky 33 je zřejmá snaha odstranit u všech sedmi pacientů závislost na transfúzích další vhodnou léčbou. U pacientů 4 a 7 byl deferipron nasazen v rámci studie České kooperativní MDS skupiny, které se účastnilo 8 center ČR v letech 2005-2007 (227, 121). U obou těchto pacientů s izolovanou del(5q) byl deferipron vysazen pro leukopenii a neutropenii. **Pacient 4**, v době diagnózy teprve 60-letý, měl PS 1, CACI 2, vysokou hladinu endogenního erythropoetinu ((560 IU/l) a od počátku byl výrazně závislý na transfúzích (cca 4 T.U. E.T.P. měsíčně). Beze zbytku splňoval všech 6 Van den Bergheho kritérií pro „pravý“ 5q- syndrom (13) (tab. 34). Po ukončení terapie deferipronem další 2 chelátory po krátkém užívání odmítl. Lenalidomid se pro pacienta opakovaně nedařilo získat; zprvu je žádost o povolení léčby pojišťovnou zamítnuta, pak není pacient zařazen do studie s lenalidomidem pro progredující trombocytopenii. Pacient byl tedy nadále pouze chronicky substituován E.T.P., dosahoval dlouhodobě hladiny feritinu nad 5 000 µg/l a rozvinul pak cirhózu jater na podkladě poškození jater železem. Zemřel po 53 měsících od diagnózy nikoli na progresi MDS do akutní leukémie, ale pod obrazem hepatorenálního selhání. Pitevni protokol zmiňuje na prvním místě makroskopické známky difúzní mikronodulární jaterní cirhózy a restriktivní kardiomyopatie, dále poškození sleziny, pankreatu a známky hemorhagické diatézy při trombocytopenii a koagulopatii. Mikroskopický nálezní dokládá krom jaterní cirhózy také mohutná hemosiderinová depozita v životně důležitých orgánech (obr. 14 a 15).

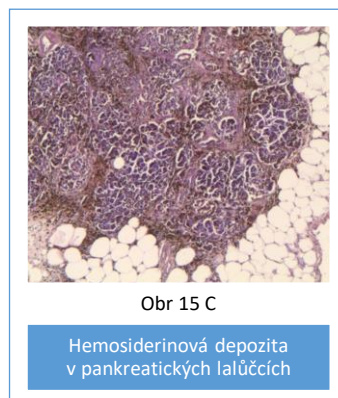
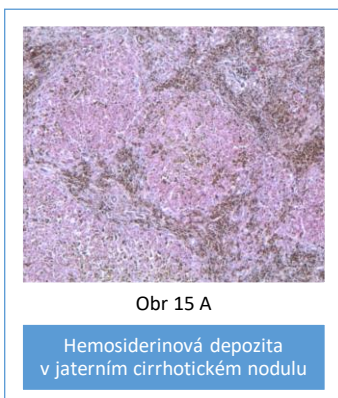
Tab. 34. Základních šest kritérií dle Van den Bergha, charakterizujících 5q- syndrom, a výsledky našeho pacienta.

Kritérium 5q- sy dle Van den Bergha	Výsledky našeho pacienta
1. izolovaná del(5q)	karyotyp: 46, XY, del(5) (q14; q 35.2); FISH 5q31: delece obl. 5q31 v 82% interfázických jádrech
2. makrocytární anémie	htc 0,254; hgb 87 g/l; MCV 101 fl
3. hypoplázie červené řady	z myelogramu: červená řada činí 7 %
4. normální počet blastů	z myelogramu: myeloblasty činí 1,6 %
5. normální nebo zvýšený počet trombocytů	trombocyty 903 x 10 ⁹ /l
6. zvláštní, hypolobulizované megakaryocyty	 <p>Kadlčková a kol. <i>Kazuistika (ne)chelatovaného polytransfundovaného pacienta s 5q minus syndromem</i> (49).</p> <p>Hypolobulizovaný megakaryocyt. Z archivu autorky.</p>

Legenda: htc...hematokrit; hgb...hemoglobin; MCV...střední objem erytrocytu.



Obr. 14. Sekční histologické nálezy od polytransfundovaného nechelatovaného pacienta s del(5q). Hematoxillin, eosin.



Obr. 15. Sekční histologické nálezy od polytransfundovaného nechelatovaného pacienta s del(5q). Hematoxillin, eosin.

4.1.1.3. Použité léčebné modalitty a jejich kombinace
- shrnuje **tabulka 35**.

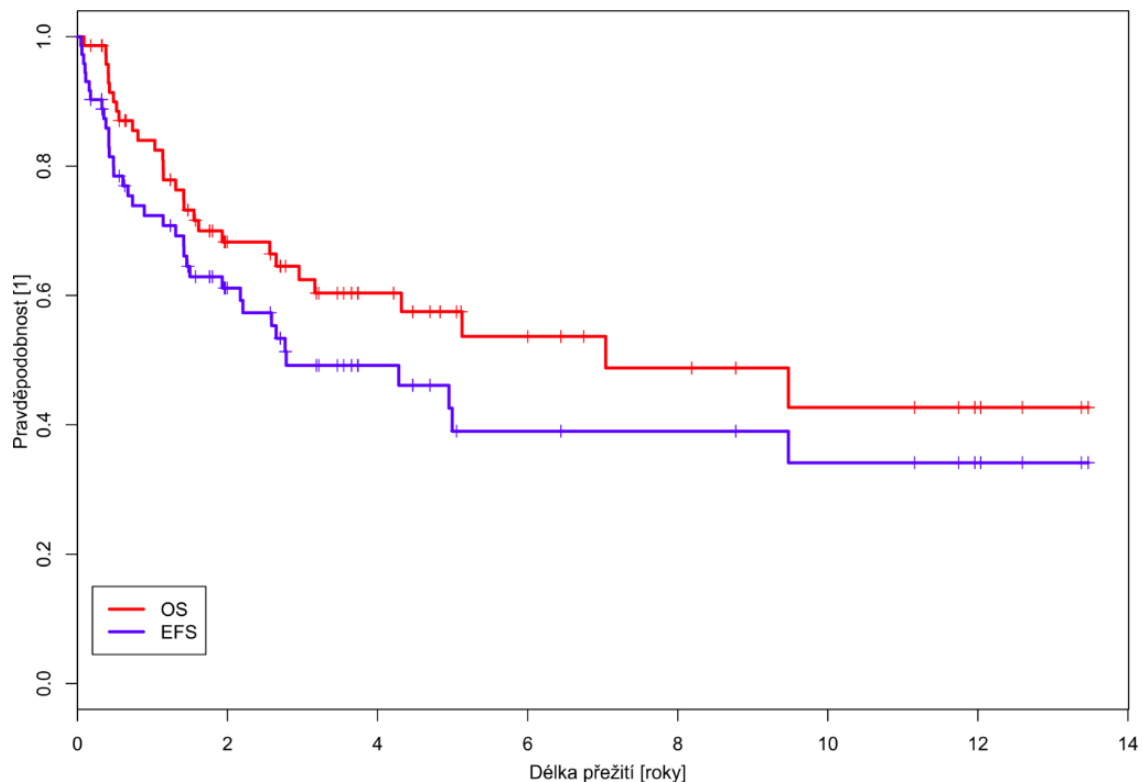
Tab. 35. Shrnutí léčebných modalit.

Léčebná modalita		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	pouze watch and wait	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	transfúze E.T.P.	0	46	7	17	23	12	9	1	5	3	7	1
3	chelatační léčba	0	7	7	3	6	3	2	0	0	0	2	0
4	transfúze trombocytů	0	17	3	19	5	3	4	0	5	2	6	1
5	vitaminy a antioxidanta	0	23	6	5	42	12	4	0	1	0	3	0
6	E.S.P.	0	12	3	3	12	14	2	0	1	0	2	0
7	imunosupresivní léčba	0	9	2	4	4	2	10*	0	1	0	0	0
8	imunomodulační léčba	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
9	nízkodávkovaná chemoterapie	0	5	0	5	1	1	1	0	6	1	2	0
10	kombinovaná chemoterapie	0	3	0	2	0	0	0	0	1	3	0	1
11	epigenetická léčba	0	7	2	6	3	2	0	0	2	0	7	0
12	alogenní SCT	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1

Legenda: E.T.P...erytrocytární transfuzní přípravky; E.S.P....erytropoézu stimulující proteiny. Červená čísla na diagonále udávají celkový počet pacientů, kteří využili příslušný typ léčby. Černá čísla ve sloupci a řádku, která náleží k červenému číslu, udávají sdružené léčebné modalitty. Například celkem 46 pacientů dostalo v době sledování transfuzi E.T.P., 7 z nich dostávalo zároveň i chelatační léčbu, 17 z nich zároveň dostávalo i transfúze trombocytů, 23 vitaminy a antioxidanta, atd.
*) Z 10 pacientů, kteří dostávali imunosupresivní léčbu, měli jen 2 diagnostikovaný hypoplastický MDS. Zbýlých 8 pacientů dostávalo imunosupresiva pro přidruženou autoimunní cytopenii nebo pozitivitu přímého Coombsova testu, jež bránila v pokračování hemosubstituce.

4.1.2. Prediktory přežití

Medián přežití všech našich 73 MDS pacientů je 7,04 roků pro OS a 2,78 roků pro EFS (**obr. 16**).



Obr. 16. Délka celkového přežití (OS) a přežití bez události (EFS) MDS pacientů v HA KNTB Zlín.

4.1.2.1. Mezinárodní prognostická skóre (IPSS, IPSS-R, WPSS)

Nejdůležitějším pro určení rizika MDS pacienta a následně volbu správné terapie je zařazení nemocného do rizikové skupiny dle některého z prognostických skórovacích systémů. Proto byla nejprve testována prediktivní síla prognostických skóre IPSS, WPSS a IPSS-R v naší neselektované kohortě pacientů. Sledována byla jak konkordance těchto tří skóre (viz sekce Statistické metody), tak jejich schopnost statisticky významně odlišit jednotlivé prognostické skupiny. K tomuto testování byl použit Coxův model proporcionálních rizik tak, že byl postaven model, ve kterém je jediným prediktorem délky přežití (OS nebo EFS) to, do jaké kategorie (dle IPSS, WPSS nebo IPSS-R) pacient patří. Za referenční skupinu byli vždy považováni pacienti s IPSS (IPSS-R, WPSS) = 0. Pro OS jsou konkordance IPSS, IPSS-R a WPSS rovny 0,812, 0,892 a 0,889, z čehož by mohlo vyplývat, že WPSS je stejně dobrým prediktorem OS jako IPSS-R. Avšak první tři kategorie WPSS (VLR, LR a INT) nejsou statisticky významně odlišitelné, takže nejlepším prediktorem pro OS našich pacientů zůstává podle očekávání IPSS-R, ve kterém jsou všechny kategorie statisticky významně odlišné, a navíc s rostoucí kategorií roste riziko rozumně rovnoměrně (**tab. 36, 37**). Je třeba zdůraznit, že IPSS má o jednu kategorii méně než IPSS-R, tedy i při stejné vhodnosti těchto dvou skóre by IPSS mělo mít vyšší konkordanci. Nižší hodnota konkordance u IPSS tedy ukazuje, že IPSS-R je zřetelně lepší prediktor OS v naší kohortě. Podobně i v případě EFS je IPSS-R nejlepším prognostickým skóre.

Tab. 36. Vliv kategorizace dle IPSS-R na OS.

prediktor	coef	HR	p-value
IPSS_R=1	2.35	10.5	0.03
IPSS_R=2	3.99	53.89	6.00E-04
IPSS_R=3	4.23	68.55	1.00E-03
IPSS_R=4	5.91	368.14	1.00E-06

Tab. 37. Vliv kategorizace dle WPSS na OS.

prediktor	coef	HR	p-value
WPSS=1	0.72	2.1	0.53
WPSS=2	1.67	5.3	0.18
WPSS=3	3.85	47	1.00E-03
WPSS=4	5.02	151	8.00E-05

4.1.2.2. WHO subtyp jako prediktor OS a EFS

V našem souboru u několika pacientů chybí validní cytogenetické vyšetření, takže tyto pacienty není možné zařadit do prognostické skupiny dle IPSS, IPSS-R nebo WPSS. Proto bylo testováno, zda i v našem souboru je pouhé určení subtypu MDS účinným prediktorem pro OS a EFS. Pro účely analytické statistiky byly nejprve MDS subtypy dle WHO 2008 rozčleněny na tři diagnostické kategorie: *MDS low risk*, kam patří RA, RCMD, RUD, MDS s izolovanou delecí (5q), dále *MDS high risk*, která zahrnuje RAEB I a II a konečně *CMML*, zahrnující CMML I a II. Opět byla použita příslušnost ke skupině jako jediný prediktor v Coxově modelu proporcionálních rizik. V případě OS je HR = 7,4 pro *MDS high risk* oproti *MDS low risk* a HR = 11,9 pro *CMML* oproti *MDS low risk*. V případě EFS je HR = 8.2 pro *MDS high risk* oproti *MDS low risk* a HR = 13.2 pro *CMML* oproti *MDS low risk*. Ve všech čtyřech případech jsou rozdíly statisticky významné. Zařazení pacienta k WHO subtypu je tedy vcelku dobrým prediktorem přežívání pacientů v případě, že není k dispozici validní cytogenetický náleze.

Nicméně platí, že nález cytogenetických aberací typických pro MDS je důležitým pilířem diagnostiky tohoto onemocnění a typ cytogenetického nálezu je také součástí všech uvedených prognostických skórovacích systémů. Proto byla testována hypotéza, že karyotyp dle IPSS, WPSS i IPSS-R má větší vliv na OS a EFS než zařazení k prognostické skupině a diagnostické skupině. Z hlediska rozdělení cytogenetických nálezů dle IPSS a WPSS není pro OS ani EFS odlišitelná skupina intermediární cytogenetiky od skupiny příznivé cytogenetiky. Konkordance karyotypu jako jediného prediktoru OS je 0,706 a 0,662 pro EFS, takže zařazení k cytogenetické skupině dle IPSS a WPSS není lepším prediktorem OS a EFS než zařazení k diagnostické skupině nebo IPSS. Dle cytogenetických nálezů rozdělených dle IPSS-R jsou výsledky obdobné a také tedy platí, že zařazení k cytogenetické skupině dle IPSS-R není lepším prediktorem OS a EFS než samotné IPSS-R nebo zařazení k diagnostické skupině.

Někteří autoři považují za negativní prognostický faktor přítomnost fibrózy kostní dřeně (**110, 231**). Avšak fibróza kostní dřeně byla detekována jen u 5 z 57 našich pacientů, kteří měli validní trepanobiopsické vyšetření, takže nebylo možné tuto hypotézu testovat s dostatečnou silou. Stejně tak se nepodařilo na kohortě našich 13 nemocných ověřit hypotézu, že u pacientů se sekundárním MDS převažuje intermediární nebo nepříznivý karyotyp dle IPSS i IPSS-R.

4.1.2.3. CACI a PS jako alternativní prediktory přežívání

MDS je onemocněním staršího věku, který bývá spojen s polymorbiditou. Medián a průměrná hodnota Charlson Age-Comorbidity Index (CACI) našich pacientů byly 3,0 a 3,74. Při statistickém vyhodnocení bylo zjištěno, že CACI se ukazuje jako významný prediktor jak pro OS (poměr rizik u pacientů, kteří se liší v CACI o jeden stupeň, je HR = 1.22, p=0.02), tak pro EFS (HR = 1.20 na jeden stupeň, p=0.02). Při rozdělení CACI do pěti kategorií (za účelem srovnání s IPSS-R) se ukazuje, že tento prediktor má výrazně menší sílu než IPSS-R, jak pro OS, tak pro EFS. Obdobně statická analýza ukázala, že ani hodnota performance status (PS) není lepší v predikci OS a EFS než kterýkoliv z trojice prognostických indexů.

4.1.1.4. Prediktory přežívání u transfúzně závislých nemocných

Nadpoloviční většina našich pacientů byla závislá na podání E.T.P. a většina z nich nebyla z nejrůznějších důvodů chelatována. Follow up těchto 30 polytransfundovaných nechelatovaných pacientů odkryl negativní vliv počtu podaných T.U.E.T.P. na OS nemocných. Za tímto účelem proběhla kategorizace počtu podaných erymas na 4 skupiny: 0, 1–10, 11–20, >20. Skupina 1–10 má oproti baseline (0) významně vyšší riziko smrti (HR=8.4, p=0.01) a skupina 11–20 dokonce HR=22, p<0.0001. Zajímavé ovšem je, že při obdržení více než 20 erymas se již riziko dále nezvyšuje. Pro EFS platí velmi podobné výsledky (HR=9.1, p=0.001 pro skupinu 1–10, HR=20, p<0.0001 pro skupinu 11–20) (**tab. 38**).

Tab. 38. Vliv počtu podaných T.U.E.T.P. na OS a EFS transfúzně závislých nechelatovaných pacientů.

OS	coef	HR	p-value
erymasy 1-10	2.14	8.4	0.01
erymasy 11-20	3.01	22	4.00E-04
erymasy >20	2.84	17	4.00E-04
EFS			
erymasy 1-10	2.21	9.1	0.001
erymasy 11-20	3.01	20	5.00E-05
erymasy >20	2.92	18	1.00E-05

Podobně se ukázalo, že hladina feritinu negativně ovlivňuje OS i EFS. V případě OS je HR=1.2 (p<0.0001) mezi skupinami lišícími se v hladině feritinu o 100 jednotek, v případě EFS je toto číslo HR=1.14 (p=0.001). Korelace mezi hladinou feritinu a počtem podaných T.U.E.T.P. byla sice kladná (r=0.22), ale velmi malá a navíc statisticky nevýznamná.

4.1.1.5. Detekce známek poškození orgánů při přetížení Fe

Statistické šetření neprokázalo korelaci mezi stoupajícím počtem obdržených T.U.E.T.P a známkami poškození jater (progredující elevace bilirubinu a JAS – tj. ALT, AST, GMT, ALP), ledvin (progredující elevace kreatininu a změny jednotlivých parametrů diferenciální diagnostiky proteinurie: celková bílkovina v g/l, poměr celková bílkovina/kreatinin v g/mol, albumin v mg/l, poměr albumin/kreatinin v g/mol, α -1 mikroglobulin v mg/l, poměr α -1 mikroglobulin/kreatinin v g/mol, IgG v mg/l, poměr IgG/kreatinin v g/mol, α -2 makroglobulin v mg/l, poměr α -2 makroglobulin/kreatinin v g/mol, kreatinin v mmol/l) a srdce (progredující elevace troponinu). V kohortě čtyř vybraných pacientů byly vedle stanovení sérového feritinu a uvedených laboratorních markerů poškození organismu železem provedeny i magnetická rezonance srdce metodou T2* a magnetická rezonance jater. U

všech 4 pacientů byly patrné známky přetížení jater a naopak nebyly shledány známky přetížení myokardu železem, zatímco hladina feritinu se v době vyšetření pohybovala mezi 502 a 1342 µg/l (tab. 39).

Tab. 39. Pacienti s provedenou magnetickou rezonancí jater a srdce.

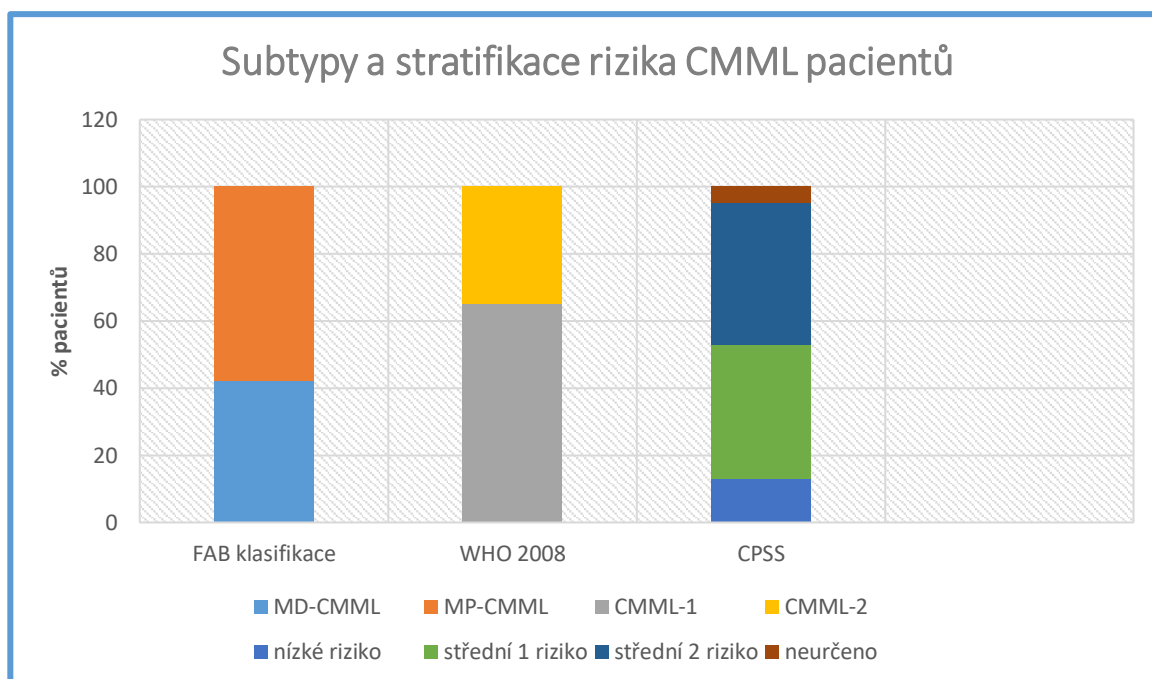
Číslo pacienta	Pohlaví	IPSS-R skóre	WHO 2008	Feritin v µmol/l	Přetížení jater	Přetížení srdce	počet T.U.E.T.P.	chelatace
1	M	VL	RCMD	1342	ano	ne	110	ano
2	F	L	RCMD	450	ano	ne	4 (+ 41)	ne
3	M	H	RAEB-I	1116	ano	ne	188	ano
4	M	VL	RCMD	502	ano	ne	0	ne

Legenda: : M...mužské; F...ženské; IPSS-R...Revised International Prognostic Scoring Systém; WPSS... World Health Organization Prognostic Scoring Systém; WHO... World Health Organization; H...high, vysoké; L...low, nízké; INT...intermediate, střední; VL...very low, velmi nízké; T.U....transfúzní jednotka; E.T.P...erytrocytární transfúzní přípravek; RCMD...refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií; RAEB-I...refrakterní anémie s excesem blastů-I. Pacient 4 vykazoval hladinu feritinu zvýšenou na 502 µg/l přestože nedostával žádné transfúze. Dodatečným vyšetřením byla zjištěna hemochromatóza S65C v heterozygotní kombinaci. Provedená magnetická rezonance prokázala lehké poškození jater z přetížení Fe. Tento pacient naštěstí při poklesu hematokritu zareagoval na podání E.S.P. a nepotřeboval substituci E.T.P. Pacientka 2 měla v době provedení MR jater poměrně nízkou hladinu feritinu (450 µg/l). K poškození jater z přetížení Fe došlo zřejmě už rok před tímto vyšetřením, kdy byla pacientka akutně operována pro hemoperitoneum s rozvojem hemorhagického šoku při benigním tumoru pankreatu. Tato operace a následné operační revize si v průběhu 2 měsíců vyžádaly aplikaci celkem 41 T.U. E.T.P. V dalším průběhu již pacientka nevyžadovala transfúze, ani nevykazovala jiné známky progresu MDS. U pacienta 1 se rozvinula závislost na E.T.P. v průběhu sledování, selhala u něj léčba E.S.P. a to i v kombinaci s GFS-F, a tak byl opakovaně transfundován a úspěšně chelátován deferasiroxem: i přes celkovou spotřebu 110 T.U. E.T.P. v průběhu 27 měsíců nepřesáhl u něj sérový feritin 2600 µg/l a při vyšetření srdce MRI T2*nebyly zaznamenány známky přetížení myokardu. Pacient 3 byl od počátku závislý na transfúzích E.T.P. Od října 2012 až dosud je léčen 5-AZA sc. v režimu 5+2+2 s výsledkem stabilní choroby. Závislost na transfúzích se u něj nepodařilo odstranit, tak byl úspěšně chelátován deferasiroxem: přes celkovou spotřebu 188 T.U. E.T.P. v průběhu 40 měsíců nepřesáhly hladiny sérového feritinu 1200 µg/l a při vyšetření srdce MRI T2*nebyly zaznamenány známky přetížení myokardu.

4.2. Soubor CMML

4.2.1. Popis souboru pacientů

V souboru 55 pacientů s CMML převažovali muži nad ženami (36 vs.19). Medián věku při diagnóze byl 66 let, u 45 pacientů byl identifikován normální karyotyp. Zastoupení subtypů dle FAB a WHO 2008 klasifikace a stratifikace pacientů podle CPSS jsou uvedeny v grafu 2.



Graf 2. Subtypy a stratifikace rizika CMML pacientů.

Nejvýše 1 komorbiditu mělo 19 pacientů, 2 komorbidity byly identifikovány u 10 nemocných, 3 a více komorbidit u 26 pacientů. Závislost na transfúzích erytrocytů, definovanou jako ≥ 1 T.U. E.T.P. v průběhu 8 týdnů v intervalu 4 měsíců, rozvinulo 29 pacientů (53%). Kromě substituce erytrocyty byly v léčbě pacientů užity hydroxyurea (20 pacientů), nízce dávkovaný cytosinarabinosid (2 pacienti) a etoposid (2 pacienti), erythropoetin (3 pacienti), 5-AZA (5 pacientů) a alloSCT (4 pacienti).

4.2.2. Prediktory přežívání

Medián celkového přežívání v souboru pacientů byl 14 měsíců od diagnózy. V univarianní analýze byl sledován vliv jednotlivých prediktorů na OS (**tab. 40**).

Tab. 40. Vliv jednotlivých prediktorů na OS.

Sledovaný prediktor	HR	p-hodnota
MD-CMML/MP-CMML	2,2	0,03
CMML-1/CMML-2	1,7	0,09
CPSS-LR/střední nižší riziko	4,9	0,04
CPSS-LR/střední vyšší riziko	9,0	0,04

Legenda: MD-CMML...myelodysplastický podtyp chronické myelomonocytární leukémie; MP-CMML...myeloproliferativní podtyp chronické myelomonocytární leukémie; CMML-1,2...podtypy chronické myelomonocytární leukémie dle WHO klasifikace 2008; CPSS...CMML-specific prognostic scoring systém; LR...nízké riziko; HR...hazard ratio.

Z tabulky je zřejmé, že nejlepším prediktorem OS pro naše CMML pacienty byl CPSS. Zařazení k podtypu dle FAB klasifikace je také účinným prediktorem, zařazení k WHO subtypu je pro stratifikaci rizika zcela nevyhovující.

V multivarianní analýze byl testován vliv věku a komorbidit na OS v kombinaci s CPSS. Ani v jednom případě nebyl prokázán statisticky významný efekt.

Za účelem testování vlivu jednotlivých léčebných modalit na OS byly jednotlivé terapeutické modalit srušeny do 3 kategorií (**tab. 41**).

Tab. 41. Rozdělení terapeutických modalit do 3 kategorií.

Kategorie č.	Název kategorie	Terapeutické modality
1	BSC	HU, etoposid, LD ARA-C, transfúze E.T.P.
2	HMA	5-AZA
3	alloSCT	

Legenda: BSC...best supportive care, nejlepší podpůrná terapie; HMA...hypometylační látky; alloSCT...alogenní transplantace krvetvorných buněk; HU...hydroxyurea; LD ARA-C...nízkodávkovaný cytosinarabinosid; E.T.P. ...erytrocytární transfúzní přípravky; 5-AZA...5-azacytidin

Statistická analýza ukázala benefit pro transplantované pacienty po dobu přibližně 2 let od provedení transplantace. Zdálo se také, že léčba 5-AZA vykazuje lepší výsledky než BSC. Log-rank test však nepotvrdil statistickou významnost těchto jevů ($p = 0,27$). Rovněž ani párová analýza při výběru homogenějších skupin neprokázala statisticky signifikantní rozdíl ($p = 0,18$) mezi jednotlivými léčebnými přístupy.

5. Diskuse

5.1. K základnímu souboru MDS a CMML

Většina základních charakteristik základního MDS a CMML souboru, jako jsou věkový medián v době dg (69,5 roku), zastoupení sekundárního MDS (18 %), podíl pacientů s detekovanými cytogenetickými abnormalitami typickými pro MDS (42 %) nebo přítomnost fibrózy kostní dřeně u 9,3 % MDS pacientů, korespondují s literárními údaji (**24, 25, 28, 29, 33, 88, 110**). Podle literatury je MDS stejně jako CMML, která je nejčastějším typem MDS/MPN, častější u mužů než u žen (**25, 87**). Jedinou výjimku tvoří 5q- syndrom, který se častěji vyskytuje u žen (**13**). Na rozdíl od zahraničních literárních dat v našem souboru lehce převažují ženy nad muži (53 % vs. 47 %). Je zajímavé, že k podobnému výsledku došel také Starostka a kol. ve své práci *Projekt myelodysplastický syndrom na severní a střední Moravě* (**232**). Tato práce, do které byla vtělena data také od 12 našich MDS nemocných, pojednává o výsledcích sběru a statického zpracování dat od 107 nově diagnostikovaných případů MDS a MDS/MPD rekrutovaných ze 2,2 milionu obyvatel severní a střední Moravy v roce 2013. V tomto souboru lehce převažují ženy nad muži (52 % vs. 48 %) i navzdory velmi nízkému výskytu MDS s del(5q) (0,09 %). Autoři z košického centra udávají ve své práci dokonce podíl 14 žen vs. 5 mužů (**233**). Počet nových případů v našem souboru (2,92 MDS nebo CMML za rok) mírně zaostává za incidencí v USA nebo EU (3-5 případů MDS na 100 000 obyvatel za rok) (**24, 25, 234**). Z **grafu 1** lze vyčíst, že je to způsobeno hlavně nižší incidencí v první polovině sledovacího období, zatímco ve druhé polovině periody se záchyt onemocnění zvýšil zřejmě vlivem lepší dostupnosti některých vyšetřovacích metod (např. cytogenetická vyšetření) a zvýšením povědomí a zájmu o MDS v řadách lékařů první linie, kteří pak častěji odesílali do hematologické ambulance pacienty k došetření nejasné cytopenie. S ohledem na poměrně vysoké zastoupení jak low risk WHO subtypů, tak i (very) low IPSS, IPSS-R a WPSS (**72, 104, 107**) kategorií v našem souboru nepřekvapí poměrně dlouhé OS (7,04 roku) i EFS (2,78 roku) (**142**).

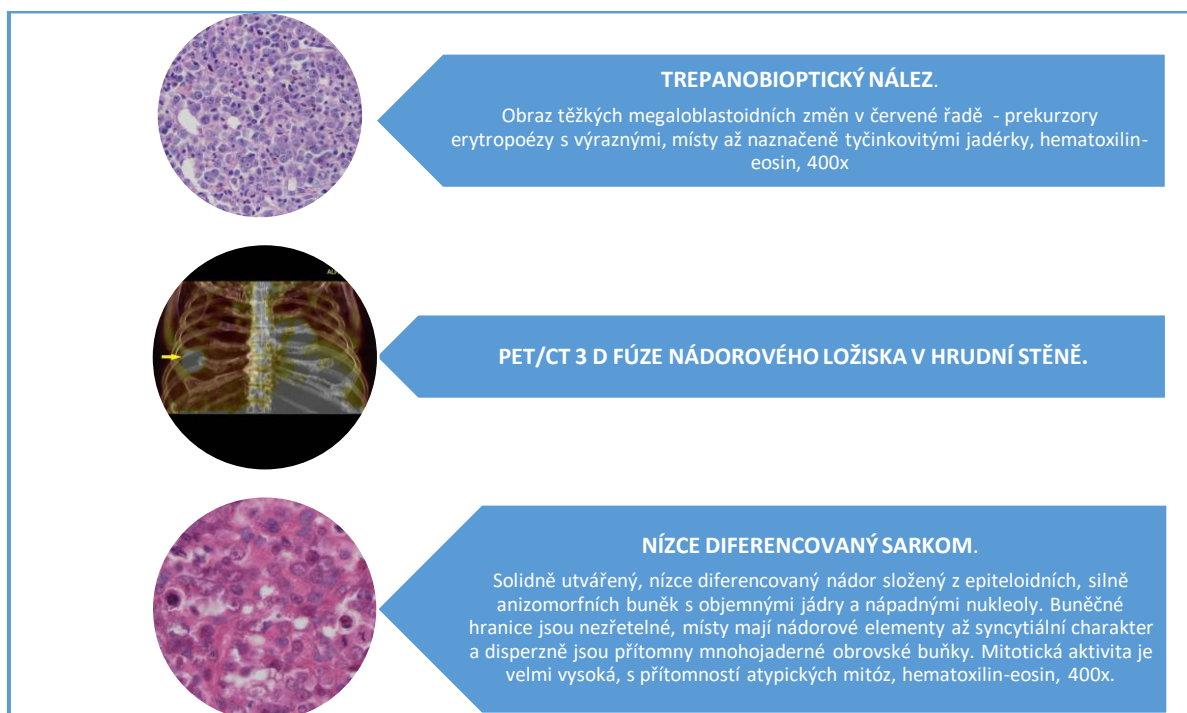
5.1.1. Mezinárodní prognostická skóre (IPSS, IPSS-R, WPSS)

Pro léčbu pacienta s MDS je důležitá nejen přesná klasifikace subtypu choroby, ale předpověď rizika progresu do akutní leukémie a smrti. Prvním, a dosud široce používaným prognostickým skórovacím systémem je IPSS (**72**) (**tab. 15-16**), které člení pacienty do 4 rizikových skupin podle % dřeňových blastů, počtu periferních cytopenií a změn karyotypu. Jeho modifikace, WPSS (**104**) (**tab. 17-18**), stratifikuje pacienty do 5 skupin, nahrazuje % blastů WHO subtypy a přidává závislost na transfúzích

erytrocytů jako další rizikovou proměnnou. Dá se říci, že nejnovější z mezinárodně užívaných prognostických indexů, IPSS-R (107) (tab. 19-21), je dnes považován za zlatý standard. Rozděluje MDS pacienty také do 5 rizikových skupin a oproti IPSS zpřesňuje význam hladiny nízké hladiny blastů v kostní dřeni, periferních cytopenií a zavádí novou klasifikaci cytogenetických prognostických jednotek. Za pomoci statistických metod bylo prokázáno, že všechna tři výše jmenovaná mezinárodně uznávaná prognostická skóre jsou účinnými prediktory přežívání i pro náš neselektovaný soubor pacientů, pocházejících z jediného lokálního pracoviště v ČR. Podle očekávání byl za nejlepší skórovací systém pro naše pacienty označen IPSS-R.

5.1.2. WHO subtyp jako náhradní prediktor OS a EFS

Při podezření na MDS patří podle doporučení ELN z roku 2013 k povinným vyšetřením provedení kompletního krevního obrazu, vyhodnocení mikroskopického diferenciálního rozpočtu leukocytů, analýza panopticky obarveného nátěru kostní dřene, histologie a cytogenetické vyšetření kostní dřene (24) (tab. 8). V běžné hematologické praxi se však stává, že se opakovaně nedaří získat validní vzorek pro cytogenetickou analýzu. Také u 7 našich pacientů chybělo validní cytogenetické vyšetření a nebylo tedy možné dopočítat rizikové skóre. Avšak i tyto pacienty je třeba stratifikovat a následně učinit terapeutické rozhodnutí. Statistické šetření prokázalo, že pouhé zařazení pacienta k WHO subtypu je použitelným prediktorem OS a EFS našich pacientů. Zdálo by se tedy, že tím je problém s inkompletním vyšetřením MDS vyřešen, protože k určení subtypu MDS obvykle dostačuje řádné mikroskopické hodnocení nátěru periferní krve a kostní dřene. Co se ale stane, když se opakovaně nedaří získat sternální punktát, dokládá případ mimořádně komplikované diferenciální diagnózy pancytopenie pacienta vyšetřovaného v HA KNTB Zlín. Tato kazuistika mimo jiné názorně ukazuje, že absence validního sternálního punktátu znemožňuje nejen určení MDS subtypu, ale i samo potvrzení/vyloučení diagnózy myelodysplastického syndromu (obr. 17).



Obr 17. Kadlčková a kol. Případ diferenciální diagnostiky pancytopenie (83). Legenda: 47-letý pacient byl vyšetřován pro nejasnou pancytopenii. V krevním obraze měl náš nemocný prominující normocytární normochromní anemii s hemoglobinem 46 g/l, bez deficitu základních hematinik, retikulocytózy, s negativními markery hemolýzy. Dále byla patrná trombocytopenie $66 \times 10^9/l$ a leukopenie $2,9 \times 10^9/l$ s neutropenií $1,6 \times 10^9/l$, bez signifikantních změn v diferenciálním rozpočtu

leukocytů a průtokové cytometrii z periferní krve. Punkce kostní dřeně byla opakovaně suchá, vyšetření trepanobiopsického vzorku opakovaně prokázalo hyperplastickou kostní dřeň a extrémně zmnoženou erythropoézu s megaloblastoidními změnami. Granulopoéza i megakaryopoéza byly potlačeny do té míry, že je nebylo možné hodnotit. Při žádném z opakovaných vyšetření kostní dřeně se nepodařilo odebrat materiál pro cytogenetické a cytoflowmetrické vyšetření, ani provést validní nátěr nebo otisk kostní dřeně. Diagnózu zvažovaného myelodysplastického syndromu tedy nebylo možné potvrdit ani vyvrátit. Pacient se rychle stal závislým na transfúzích erytrocytů a později i trombocytů, diferenciálně diagnostický postup komplikoval opakovanými negativními reversy stran hospitalizace na interně. V dalším průběhu vedly výsledky vyšetření k podezření na malignitu zažívacího traktu s kostními metastázami nebo na agresivní lymfom. Při PET/CT vyšetření odhaleno rozsáhlé ložisko viabilní nádorové tkáně v hrudní stěně a proveden odběr histologie. Ve snaze předléčit agresivní lymfom byla podána přefáze kortikoidy, která byla následovaná syndromem nádorového rozpadu a renálním selháním. Pacient zemřel pod obrazem multiorgánového selhání a disseminované intravaskulární koagulopatie v den stanovení diagnózy nediferencovaného/dediferencovaného (rhabdomyo) sarkomu.

5.1.3. CACI a PS jako alternativní prediktory

Výskyt maligních onemocnění, tedy i MDS, stoupá s věkem. Průměrný věk našich MDS pacientů při diagnóze byl 67,5 roku, což odpovídá údajům z literatury (24, 25). Přirozeným projevem stárnutí je vyšší výskyt komorbidit, ve věku nad 65 let je průměrný výskyt konkomitantních nemocí 3 a více, což platí i pro pacienty s MDS. Přestože komorbidity nepříznivě ovlivňují celkové přežívání pacientů s malignitou a významně ovlivňují terapeutické záměry (235, 236), není komorbiditní skóre součástí IPSS, IPSS-R nebo WPSS. Jak dokazují čísla uvedená v předchozí kapitole, Charlson Age-Comorbidity Index (CACI) (223) (tab. 30) našich nemocných se ukazuje jako významný prediktor jak pro OS tak pro EFS. Avšak tento prediktor má výrazně menší sílu než IPSS-R, jak pro OS, tak pro EFS. Obdobně statická analýza ukázala, že ani hodnota performance status (PS) (222) (tab. 31) našich pacientů není lepší v predikci OS a EFS než kterýkoliv z trojice prognostických indexů. Shrnutí vlastních výsledků statistického šetření významnosti testovaných prediktorů přežití uvádí tabulka 42.

Tab. 42. Shrnutí statistického šetření významnosti testovaných prediktorů.

Název prediktoru OS a EFS	Hodnocení
IPSS-R	nejlepší z testovaných
IPSS, WPSS	dostatečně silné
WHO subtypy	dostatečný v případě, že chybí cytogenetika
PS, CACI	jen pomocné

Legenda: IPSS-R...Revised International Prognostic Scoring Systém; IPSS...International Prognostic Scoring Systém; WPSS...World Health Organization Prognostic Scoring Systém; PS...Performance Status; CACI... Charlson Age-Comorbidity Index.

5.1.4. Cytogenetické aberace

Potvrzení/vyloučení cytogenetických aberací ve vzorku kostní dřeně je tedy mandatorním vyšetřením při podezření na MDS a je také nezbytným krokem v určení prognostického skóre. Statistické šetření v našem souboru prokázalo, že zařazení pacienta do rizikové cytogenetické skupiny dle IPSS nebo IPSS-R je dobrým prediktorem přežívání, který ale není lepší než stratifikace nemocných dle příslušných skórovacích systémů IPSS a IPSS-R. Nejčastější cytogenetickou změnou u MDS je delece dlouhých ramen chromozomu 5. Náhled na tuto aberaci prodělal dlouhý vývoj. Přesto, že Van den Berghe formuloval svých 6 kritérií 5q- syndromu již v roce 1974, do FAB klasifikace (ani do té revidované z roku 1982) se tato entita nepromítá (1, 9). Zato ve WHO 2002 se 5q- syndrom objevuje jako samostatná subjednotka (64). WHO klasifikace 2008 tuto podjednotku

ruší a místo ní zavádí entitu MDS s delecí 5q- (94). Následně někteří autoři ve svých pracích tyto dva rozdílné pojmy volně zaměňují. Do tohoto období spadá práce Neuwirtové a kol. *Analýza nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) s delecí dlouhého ramene 5. chromozomu (del(5q)), sledovaných Českou MDS pracovní skupinou. Význam pro diagnostické zařazení a určení prognózy*, do které se promítla data také našich MDS pacientů s del(5q) (48). Tato retrospektivní analýza shromáždila data od 68 nemocných s del(5q) z 12 různých hematologických pracovišť v ČR a kladla si za cíl zpřesnit prognózu nemocných s perspektivou racionalizace léčby lenalidomidem a indikace k alloSCT. Za tímto účelem byli pacienti rozděleni do 4 skupin A-D podle toho, do jaké míry splňovali kritéria pro 5q- syndrom (obr. 18). Vzhledem k vysoké závislosti na transfúzích erytrocytů napříč všemi skupinami pacientů (80-87 %) nepřekvapí větší spolehlivost WPSS než IPSS. Práce také zdůrazňuje význam trombocytopenie jako negativního prognostického faktoru. Nejdůležitějším výstupem analýzy jsou rozdíly v OS a LFS mezi jednotlivými skupinami, které jsou pádným argumentem pro potřebu odlišovat 5q- syndrom od MDS s del(5q). Nejkratší přežívání pacientů ze skupiny D bylo pravděpodobně způsobeno přítomností několika pacientů s velmi nepříznivou cytogenetikou (monosomie 7, komplexní změny karyotypu). Tato skutečnost dobře koreluje s později vedenými studiemi, které prokázaly, že jedna přídatná abnormalita k del(5q) nemění signifikantně prognózu pacienta s výjimkou abnormalit chromozomu 7 (65, 98). Tyto práce pak vedly ke změně definice MDS s izolovanou del(5q) dle revidované WHO klasifikace 2016, která připouští diagnózu i v přítomnosti jedné přídatné cytogenetické abnormality kromě monozomie 7 nebo del(7q) (43).

<p>Skupina A</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. izolovaná del(5q) 2. makrocytární anémie 3. hypoplázie červené řady 4. normální počet blastů 5. normální počet trombocytů (do $400 \times 10^9/l$) 6. zvláštní, hypolobulizované megakaryocyty 	<p>Skupina B</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. izolovaná del(5q) 2. makrocytární anémie 3. hypoplázie červené řady 4. normální počet blastů 5. zvýšený počet trombocytů (nad $400 \times 10^9/l$) 6. zvláštní, hypolobulizované megakaryocyty
<p>Skupina C</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. izolovaná del(5q) <p>+ nesplňuje ≥ 2 kritéria pro 5q-sy</p> <p>nebo</p> <p>přítomna trombocytopenie</p>	<p>Skupina D</p> <p>Del(5q)</p> <p>+</p> <p>≥ 1 další chromozomální aberace</p>

Obr. 18. Rozdělení pacientů s del(5q) do skupin. Legenda: zeleně jsou vyznačeny vzájemné odchylky ve skupinách, které splňují kritéria 5q- syndromu; červeně jsou zvýrazněny odchylky od

kritérií 5q-syndromu. OS se zkracovalo ve směru B-A-C-D (54 vs. 42 vs. 29 vs. 7,5 měsíce), LFS se zkracovalo na ose A-B-C-D ((50 vs. 38 vs. 31 vs. 10,5 měsíců).

5.1.5. Sekundární MDS

K rozvoji sekundárního MDS dochází po předchozí expozici lidského organismu nejrůznějším mutagenům, nejčastěji v souvislosti s chemoterapií a radioterapií maligního onemocnění s mediánem výskytu po primární expozici kolísajícím mezi 60-100 měsíci. Vyznačuje se krátkým přežíváním (OS kolem 10 měsíců) ve srovnání s primárním MDS a představuje tak obávanou pozdní komplikaci léčby nádorového onemocnění. Častější výskyt byl zaznamenán u žen, což se dá vysvětlit nejčastějším zastoupením karcinomu prsu a gynekologických tumorů jako primární malignity (**237, 238**). Možnosti léčby sMDS jsou tristní, protože k omezením, které platí pro léčbu primárního MDS (věk, komorbidita, klinický stav), přistupují navíc ještě i přetrvávající původní maligní onemocnění a orgánové poškození po předchozí protinádorové léčbě. Jedinou kurativní léčbou sMDS je HSCT, na kterou dosáhne jen malá část těchto nemocných. Neuralgickým bodem statistické analýzy sMDS je všeobecná nejednotnost panující mezi hematology, zda případy, kdy při léčbě primárního tumoru byla použita jen chirurgická léčba nebo kdy MDS byl diagnostikován současně se solidním tumorem, považovat za sekundární MDS či nikoliv. Kohorta našich 13 sMDS nemocných byla tak malá, že nebylo možno tyto literární údaje ověřit pomocí statistických metod. Část těchto našich pacientů však byla zahrnuta do práce Bělohávkové a kol. *Sekundární myelodysplastický syndrom: retrospektivní analýza dat z registru České pracovní MDS skupiny*, která zařadila 111 nemocných, kteří byli diagnostikováni a léčeni na různých hematologických pracovištích Čech a Moravy v průběhu více než 25 let a jejichž MDS vznikl v souvislosti s předchozí malignitou a/nebo protinádorovou léčbou (**29**). Těžiště práce spočívalo nejen v testování klasických rizikových faktorů na OS nemocných, ale i v pokusu o nalezení korelace mezi typem primárního tumoru, způsobem jeho léčby a průběhem samotného sMDS. Statistická analýza prokázala, že i pro tuto zvláštní podjednotku MDS lze jako prediktor přežívání použít klasické prognostické markery jako je IPSS nebo zařazení k WHO subtypu či % blastů v KD, kdežto typ primární malignity ani druh léčby nejsou ve vztahu k OS statisticky významné (**tab. 43**).

Tab 43. Výsledky statistické analýzy a vhodnost prediktorů OS pro sMDS.

Prediktor	IPSS	% blastů v KD	WHO subtyp	Typ cytogenetické aberace	Typ primárního tumoru	Typ léčby primárního tumoru
p value	<0,001	<0,001	<0,001	0,139	0,936	0,383

Legenda: **vhodný** prediktor, **nehodný** prediktor

5.1.6. Follow up transfúzně závislých pacientů

Literární prameny uvádějí, že přes 90 % MDS nemocných trpí anémií, z toho 50 až 60 % má anémii těžkou. Téměř 80 % v průběhu svého onemocnění dostává krevní převody a asi u 40 % nemocných jsou transfúze erytrocytů jedinou možnou terapií (**121**). Ani náš soubor s 37 transfúzně závislými pacienty není výjimkou. Opakované transfúze erytrocytů však s sebou přinášejí problém přetížení železem s hrozbou poškození životně důležitých tkání a orgánů, jak bylo podrobně rozebráno v kapitole 1.9.2. Statistická analýza dat z follow up 30 našich transfúzně závislých a zároveň nechelatovaných pacientů jasně prokázala negativní vliv počtu podaných T.U.E.T.P. na OS nemocných. Riziko smrti u těchto pacientů stoupalo plynule s počtem přijatých T.U. E.T.P. a je pozoruhodné, že při obdržení více než 20 jednotek erytrocytů se již dále nezvyšovalo. Feritin je široce používán jako laciný a dostupný marker přetížení organismu železem i přes to, že patří mezi tzv. *proteiny akutní fáze*, takže jeho hladina jen volně koreluje se stupněm přetížení železem (**122**). Tento fakt dobře koresponduje s velmi malou a statisticky nevýznamnou korelací hladiny feritinu

a počtu podaných erymas u našich nechelatovaných pacientů. Přesto se samotná hladina sérového feritinu ukázala být dobrým prediktorem přežívání, protože signifikantně negativně ovlivňovala OS i EFS. Přesnější metodou ke stanovení přetížení Fe kritických orgánů je magnetická rezonance jater nebo myokardu metodou MRI T2* R2*, která dovoluje semikvantitativní určení obsahu Fe v myokardu a také stanoví funkci srdečních komor (**122, 239**). Proto mezi původními záměry studie bylo také u transfúzně závislých pacientů (vedle stanovení sérového feritinu a uvedených laboratorních markerů poškození organismu železem) provést magnetickou rezonanci (MR) srdce metodou T2* a MR jater. Tato vyšetření se bohužel podařilo realizovat jen u 4 pacientů a nebylo tedy přínosné je jakkoli statisticky hodnotit. Přesto data z těchto vyšetření přinášejí zajímavé informace – například pozorování, že známky přetížení jater Fe byla zaznamenána u 2 pacientů s feritinem jen kolem 500 µg/l. Tato jednotlivá pozorování naznačují, že k přetížení orgánů může docházet již při výrazně nižších hladinách sérového feritinu, než jaké doporučují guidelines u nás i ve světě pro zahájení chelatace (**24, 118, 240**). Pokud by se tato zjištění potvrdila na větších souborech pacientů, je možné, že se kriteria pro zahájení chelatace oproti stávajícím ještě dále zpřísní.

Při zpracování výsledků follow up všech našich třiceti transfúzně závislých a zároveň nechelatovaných pacientů jsme nezaznamenali žádnou významnou korelaci mezi počtem podaných T.U. E.T.P. a nárůstem hodnot biochemických markerů poškození srdce, jater a ledvin. Výsledky mohly být alterovány jednak chybějícími daty řady pacientů, jednak i tím, že jaterní a ledvinové funkce jsou často ovlivněny komorbiditymi a konkomitantní medikací jednotlivých pacientů.

5.1.7. Kazuistika nechelatovaného polytransfundovaného pacienta

Zato kazuistika našeho (ne)chelatovaného pacienta s 5q- syndromem (kapitola 4.1.1.2.) jasně dokumentuje poškození jater, srdce, pankreatu a sleziny v souvislosti s ukládáním nadbytečného Fe na makro i mikroskopické úrovni. Za příčinu smrti je v pitevním protokole označeno hepatorenálního selhání. Selhání jater je podloženo difúzní mikronodulární cirhózou jater vzniklou v původně intaktních járech na podkladě hemosiderózy u polytransfundovaného pacienta (**obr. 15**). Mikroskopický sekční nále z a fotodokumentace k němu sice dokládají hemosiderinová depozita v ledvinných kanálcích i glomerulech (**obr. 14**), ale makroskopicky byly obě ledviny popsány jako intaktní. K ledvinnému selhání zřejmě tedy došlo na podkladě hepatorenálního syndromu, který je definován jako funkční selhání ledvin při jaterním onemocnění s portální hypertenzí (**241**). Za příčinu postupného rozvoje trombocytopenie, která sehrála tak důležitou roli pro OS našeho pacienta (nebyl podán lenalidomid), lze považovat selhávající kostní dřeň a rozvíjející se poškození jater při přetížení Fe, možné HLA alloprotilátky u polytransfundovaného pacienta (**120**) nebo také hypersplenismus, který byl popisován jak při vyšetření pacienta zobrazovacími metodami, tak v pitevní zprávě. Uveřejnění této kazuistiky obsahující podrobný pitevní nále z poškozených tkání a orgánů spolu s fotodokumentací histologických preparátů s mohutnými hemosiderinovými depozity v samostatném recenzovaném článku bylo zamýšleno jako důrazné varování pro každého hematologa ošetřujícího podobného nízké rizikového MDS pacienta závislého na transfúzích. Tato práce je jistě i pádným argumentem pro zahájení včasné a účinné chelatace pacientů, u kterých se nedaří odstranit jejich závislost na transfúzích jinou léčbou jako jsou například růstové faktory hemopoézy nebo lenalidomid.

5.2. K souboru CMML

Základní charakteristiky našeho CMML souboru se shodují s literárními údaji (87, 88) (tab. 44).

Tab. 44. Základní charakteristiky souboru pacientů s CMML.

	Medián věku při diagnóze	Muži/ženy	Overall survival	Změny karyotypu *
Hodnoty v našem souboru	66 let	1,9:1	14 měsíců	14 % případů
Hodnoty literaturě	65-75 let	2:1	max. 20 měsíců	cca 20 % případů

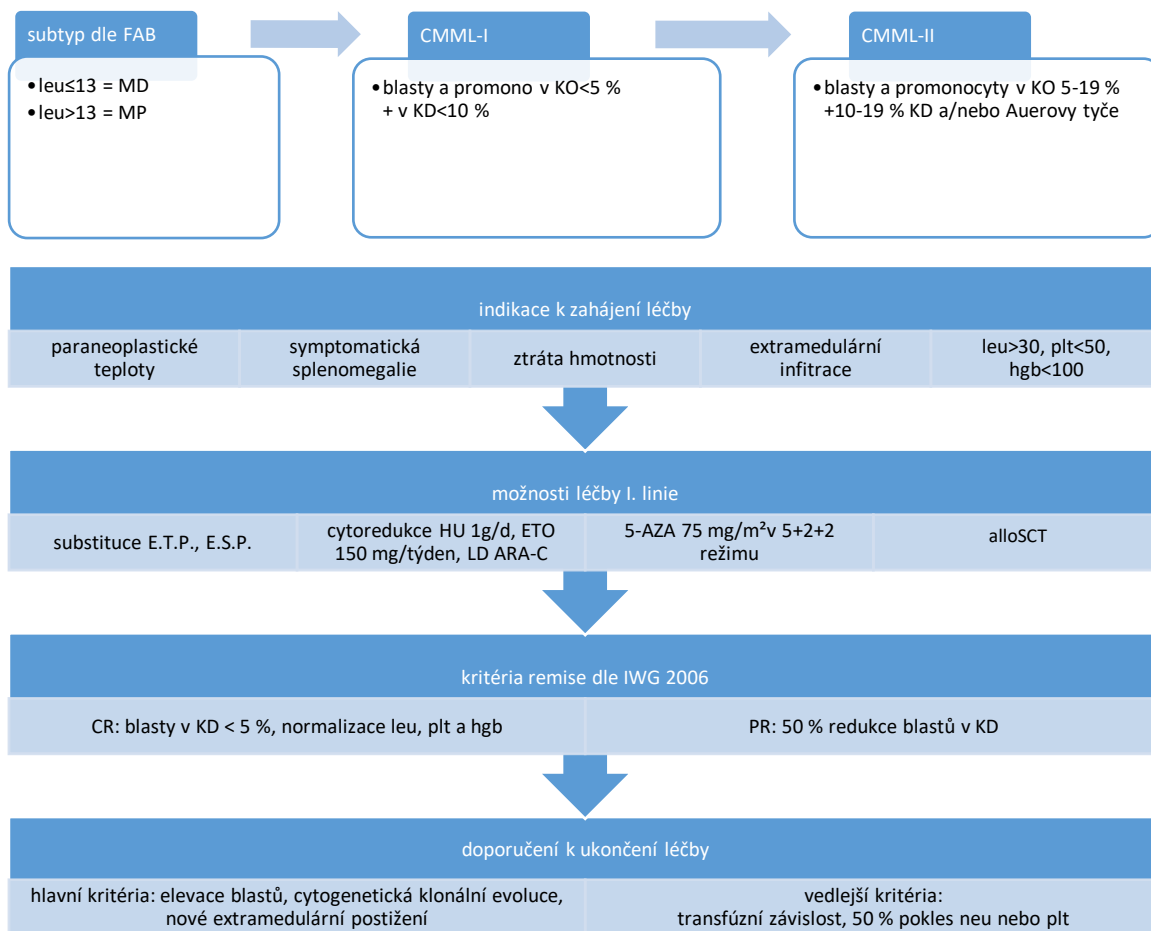
Legenda: *...konvenční cytogenetika

5.2.1. Prediktory přežívání

Pro výběr správné léčebné modalit je také důležité stratifikovat nemocné dle rizika progresu onemocnění a smrti. K mezinárodně uznávaným prognostickým indexům patří CPSS a GFM (109, 90) (tab. 22-24). Při statistické analýze našich byl za nejlepší prediktor přežívání v našem souboru označen CPSS. Dalším, i když méně účinným prediktorem OS, se překvapivě ukázalo být rozlišení MD a MP podtypu v rámci FAB klasifikace z roku 1982 (tab. 11), zatímco zařazení k CMML-1 a CMML-2 subtypům dle WHO (tab. 12) nedosáhlo v našem souboru statistické významnosti. Vzhledem k tomu, že CMML patří k myeloidním neoplaziím staršího věku, není překvapením, že téměř polovina našich nemocných (47 %) měla tři a více významných komorbidit. Proto se multivariální analýza věnovala efektu věku a komorbidit v kombinaci s CPSS. Ani v jednom případě však nebyl prokázán vliv těchto parametrů na OS.

5.2.2. Vliv terapeutické modalit na OS

Vyhodnocení léčebných přístupů vážlo pro malý počet pacientů užívajících určitý typ léčby a pro heterogenitu definovaných skupin, přesto však přineslo zjevný trend ve zlepšení OS u našich pacientů léčených alloSCT a HMA. To zcela koresponduje s faktem, že jedinou kurativní léčbou CMML je alloSCT, která je ale omezena na úzký okruh mladších pacientů. HMA dokážou u některých pacientů restartovat normální krve tvorbu a jsou doporučovány pro CMML- 2, MD podtyp (242) (tab. 26), 5-AZA je užíván jako bridging k alloSCT (197, 198). Naděje na zlepšení plyne z dosavadního testování nových molekul jako jsou například IDH inhibitory (243) nebo rigosertib (217), který by mohl pomoci zvláště u starších, výše rizikových pacientů, kteří nejsou vhodní k transplantaci a u kterých selhala léčba HMA. Dá se tedy říci, že výsledky léčby CMML jsou i v současnosti neuspokojivé, což souvisí s biologickou podstatou a heterogenitou nemoci i poměrně vysokým mediánem věku při diagnóze. Nemocní s CMML vyžadují individuální přístup s důrazem na terapeutickou rozvahu v závislosti na podtypu choroby, rizikovém skóre a dominujících klinických obtížích s přihlédnutím k věku pacienta, komorbiditám a jeho přání. Praktické naplnění těchto zásad výstižně demonstuje na souboru tří kazistik pacientů s CMML Rohoň a kol. v článku *Manažment diagnostiky a léčby chronickej myelomonocytovej leukémie – pohľad z klinickej praxe*. Tato práce je také zvláště užitečná tím, že jsou zde postupně podávaná stručná a jasně formulovaná doporučení pro diagnosticko-terapeutický proces u CMML nemocných v každodenní hematologické praxi (244) (obr. 19).



Obr. 19. Praktické informace z článku. Legenda: MD...myelodysplastický typ; MP...myeloproliferativní typ; KD...kostní dřeň; HU...hydroxyurea; LD ARA-C...nízkodávkovaný cytosinarabiosid; ETO...etoposid; 5-AZA...5-azacytidin; alloSCT...alogenní transplantace kostní dřeně; CR...kompletní remise; PR...parciální remise; neu...neutrofily; plt...trombocyty; leu...leukocyty; hgb...hemoglobin; E.T.P...erytrocytární transfúzní přípravky; E.S.P....erytropoézu stimulující proteiny.

6. Závěr

Závěrem lze konstatovat, že incidence onemocnění a další demografické ukazatele a charakteristiky v obou souborech (tj. základní soubor MDS a CMML, soubor samotné CMML) převážně korespondovaly s literárními údaji. Z toho lze dovozovat, že záchyt a úroveň základní diagnostiky MDS a CMML v ČR jsou srovnatelné s ostatními zeměmi EU nebo s USA.

Význam analýzy základního souboru MDS a CMML pacientů tkví hlavně v tom, že do ní byli zahrnuti i ti nemocní, kteří například pro velmi pokročilý věk a/nebo výraznou komorbiditu nebyli referováni na vyšší pracoviště fakulního typu. Do práce také nebyla zařazena žádná zprostředkovaná data; dá se říci, že všichni pacienti prošli rukama autorky. Díky tomu tento soubor vypovídá o výskytu a zastoupení MDS a CMML a jejich jednotlivých subtypů v české populaci tak, jak se s nimi setkávají kolegové na okresních hematologických pracovištích. Proto je tak cenné zjištění, že i v tomto relativně malém souboru jsou statisticky signifikantními prediktory přežití všechny tři hlavní prognostické indexy (IPSS, WPSS a IPSS-R), které původně vznikly na velkých poolovaných

souborech v zahraničí. Nejlepší výpovědní hodnotu má i v našem souboru nejnovější z nich, IPSS-R. Pro lokálního hematologa je významné i zjištění, že určení samotného WHO subtypu je relevantním prediktorem a lze ho v nouzi (například pokud se opakovaně nedaří získat validní vzorek pro cytogenetické vyšetření) použít pro stratifikaci pacienta při diagnóze, zatímco PS nebo CACI je vhodné používat při terapeutickém rozhodování jen jako pomocné kritérium. Follow up nemocných závislých na transfúzích potvrdil, že počet obdržených transfúzí erytrocytů a narůstající hladina sérového feritinu jsou negativními prediktory přežívání. V této souvislosti je přiložená kazuistika s fotodokumentací poškození orgánů z ukládání nadbytečného železa u 5q- pacienta opravdu důrazným připomenutím nezbytnosti chelatace u transfúzně závislých pacientů. Díky poměrně dlouhému sledovacímu období je vedlejším produktem práce také zmapování rozvoje léčby MDS nemocných za posledních více než 10 let v rutinní hematologické praxi – například užívání pouze deferoxaminu v samém počátku sledovacího období, přes deferipron, který byl dostupný uprostřed periody, až po deferasirox, který je favoritem chelatační terapie v posledních letech. Z práce je také patrná rozvíjející se spolupráce s kolegy z hematologických center fakulturního typu jak na poli diagnostiky (druhá čtení cytologií nátěrů kostních dříví, hodnocení trepanobiopsií, cytogenetická vyšetření apod.), tak hlavně v oblasti terapie výše rizikových MDS (5-AZA, kombinovaná chemoterapie, transplantace kostní dřívě).

Je potěšující, že i pro poměrně malý a neselektovaný soubor samotného CMML funguje jako účinný prediktor mezinárodně uznávaný CPSS, který byl též vytvořen na velkých kohortách nemocných v zahraničí. Důležitý je i statistický důkaz, že v případě chybějící validní cytogenetiky lze určení CPSS kategorie nahradit zcela jednoduchým zařazením pacienta k MD a MP podtypu. Práce se souborem CMML pacientů bohužel nepřinesla jasný statistický důkaz o pozitivním vlivu určité terapeutické modality na přežívání pacientů. To zcela koresponduje s faktem, že výsledky léčby CMML jsou obecně neuspokojivé a že tito nemocní vyžadují individuální přístup. Nutnost hledání nových léčebných postupů a zavádění nových léků do praxe je tak v případě CMML ještě naléhavější než u samotného MDS.

7. Reference

1. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51: 189–199.
2. Steensma DP. Novel Therapies for Myelodysplastic Syndromes. *Hematol Oncol Clin North Amer* 2010; 24(2): 423–441.
3. Neuwirtová R, Jonášová A, Voglová J, a kol. Myelodysplastický syndrom a jeho léčba. *Farmakoterapie*. 2010, roč. 6, speciální příloha – červen 2010, s. 3–11, 37–38. ISSN 1801-1209. Dostupné z: <http://www.farmakoterapie.cz/v384/myelodysplasticky-syndrom>. Dosaženo 19.3.2018.
4. Luzzatto AM. Sull anemia grave megaloblastica senza reporto ematologico corrisponente (anemia pseudoblastica). *Riv Veneta di sc Med Venezia* 1907; 47: 193–212.
5. Rhoades CP, Barker WH: Refractory anemia: an analysis of one hundred cases. *JAMA* 1938, 110: 794–796.
6. Hamilton-Paterson JL: Pre-leukemia anemia. *Acta Haematologica* 1949; 2: 309–316.
7. Block M, Jacobson LO, Bethard WF. Preleukemic acute human leukemia. *JAMA* 1953; 152: 1018–1028. doi:10.1001/jama.1953.03690110032010.
8. Saarni MI, Linman JW. Preleukemia: the hematological syndrome preceding acute leukemia. *Am J Med* 1973; 55: 38–48.
9. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of acute leukaemias. French-American-British (FAB) Co-operative Group. *Br J Haematol* 1976; 33(4): 451–458.
10. Tricot G, Vlietinck R, Boogaerts MA, et al. Prognostic factors in the myelodysplastic syndromes: importance of initial data on peripheral blood counts, bone marrow cytology, trephine biopsy and chromosome analysis. *Br J Haematol* 1985; 60: 19–32.
11. Mufti GJ, Stevens JR, Oscier DG, et al. Machin Myelodysplastic Syndromes: a scoring system with prognostic significance. *Br J Haematol* 1985; 59: 425–433.
12. Jacobs A. Myelodysplastic syndromes: Pathogenesis, functional abnormalities and clinical implications. *J Clin Pathol* 1985; 38(11), 1201–1207.
13. Van den Berghe H, Cassiman JJ, David G, et al. Distinct haematological disorder with deletion of long arm of no. 5 chromosome. *Nature* 1974; 251: 437–438.
14. Musilová J, Michalová K. Chromosome study of 85 patients with myelodysplastic syndrome. *Cancer Cytogenet* 1988; 33: 39–50.
15. Československá MDS kooperativní skupina: Rozbor 259 nemocných myelodysplastickým syndromem. *Čas. Lék. čes.*, 129, č. 28, s. 871–965, 1990.
16. Musilova J, Michalova K, Chrz R. Deletion of chromosome 5 in the myelodysplastic syndrome and in acute nonlymphocytic leukemia. *Vnitr Lek* 1984; 30(10): 984–992.
17. Musilová J, Michalová K, Chrz R, et al. Chromosome findings in the myelodysplastic syndrome. *Vnitr Lek* 1986, 32(3): 216-221.
18. Musilova J, Michalova K. Chromosome study of 85 patients with myelodysplastic syndrome. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 33(1): 39–50.
19. Yoshida Y. Hypothesis: Apoptosis may be the mechanism responsible for the premature intramedullary cell death in the myelodysplastic syndrome. *Leukemie* 1993; 7: 144–146.

20. Breccia M, Molica M, Zacheo I, et al. Azacitidine for myelodysplastic patients aged >65 years: a review of clinical efficacy. *Expert Opin Pharmacother* 2014; 15(11): 1621–1630.
21. Cogle CR, Craig BM, Rollinson DE, et al. Incidence of the myelodysplastic syndromes using a novel claims-based algorithm: high number of uncaptured cases by cancer registries. *Blood* 2011; 117: 7121–7125.
22. Guralnik JM, Eisenstaedt RS, Ferrucci L, et al. Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood* 2004; 104: 2263–2268.
23. McQuilten ZK, Wood EM, Polizzotto MN, et al. Underestimation of myelodysplastic syndrome incidence by cancer registries. *Cancer* 2014; 120(1): 1686–1693.
24. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Cermak J, Cazzola M; European Leukemia Net. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European Leukemia Net. *Blood* 2013; 122(17): 2943–2964.
25. Rollinson DE, Howlander N, Smith MT, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001–2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood* 2008; 112: 45–52.
26. Pedersen-Bjergaard J, Andersen MT, Andersen MK. Genetic Pathways in the Pathogenesis of Therapy-Related Myelodysplasia and Acute Myeloid Leukemia. *Hematology, ASH Education Book* 2007; 2007(1): 392–397.
27. Pedersen-Bjergaard J, Rowley JD. The balanced and the unbalanced chromosome aberrations of acute myeloid leukemia may develop in different ways and may contribute differently to malignant transformation. *Blood* 1994; 83: 2780–2786.
28. Sekeres MA, Schoonen WM, Kantarjian H et al. Characteristics of US patients with myelodysplastic syndromes: results of six cross-sectional physician surveys. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 1542–1551.
29. Bělohávková P, Neuwirtová R, Čermák J, a kol. Sekundární myelodysplastický syndrom: retrospektivní analýza dat z registru České pracovní MDS skupiny. *Transfuzie Hematol. dnes*, 15, 2009, No. 4, p. 237–243. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuzie-hematologie-dnes-clanek/analyza-nemocnych-s-myelodysplastickym-syndromem-mds-s-deleci-dlouheho-ramene-5-chromozomu-del-5q-30901>. Dosaženo 19.3.2018.
30. Schnatter RA, Glass DC, Tang G, et al. Myelodysplastic Syndrome and Benzene Exposure Among Petroleum Workers: An International Pooled Analysis. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104(22): 1724–1737.
31. Snyder R. Leukemia and Benzene. *Int J Environ Res Public Health* 2012; 9(8): 2875–2893.
32. Mufti GJ. Pathobiology, classification, and diagnosis of myelodysplastic syndrome. *Best Pract Res Clin Haematol* 2004; 17(4): 543–557.
33. Tóthová E. Myelodysplastický syndróm – klasifikácia a patofyziológia. *Onkológia*. Bratislava 2014; roč. 9 (1). 39–44. Dostupné z: http://www.onkologiapreprax.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=6758&magazine_id=10. Dosaženo 20.3.2018.

34. Čermák J. Myelodysplastický syndrom-novinky v diagnostice a léčbě. *Postgraduální medicína* 2010; 12(6): 712–720. Dostupné z <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/myelodysplasticky-syndrom-novinky-v-diagnostice-a-lecbe-452340>. Dosaženo 20.3.2018.
35. Pospíšilová Š, Dvořáková D, Mayer J, a kol. *Molekulární hematologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2013, s. 194–208. ISBN 978-80-7262-942-8.
36. Schanz J, Steidl C, Fonatsch C, et al. Coalesced multicentric analysis of 2,351 patients with myelodysplastic syndromes indicates an underestimation of poor-risk cytogenetics of myelodysplastic syndromes in the international prognostic scoring system. *J Clin Oncol* 2011; 29(15): 1963–1970.
37. Schanz J, Tüchler H, Solé F, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol* 2012; 30(8): 820–829.
38. Rigolin GM, Bigoni R, Milani R, et al. Clinical importance of interphase cytogenetics detecting occult chromosome lesions in myelodysplastic syndromes with normal karyotype. *Leukemia* 2001; 15(12): 1841–1847.
39. Bernasconi P, Cavigliano PM, Boni M, et al. Is FISH a relevant prognostic tool in myelodysplastic syndromes with a normal chromosome pattern on conventional cytogenetics? A study on 57 patients. *Leukemia* 2003; 17(11): 2107–2112.
40. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, et al. Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2013; 122(22): 3616–3627.
41. Lindsley R, Ebert BL. Molecular Pathophysiology of Myelodysplastic Syndromes. *Annu Rev Pathol* 2013; 8: 21–47.
42. Kulasekararaj AG, Smith AE, Mian SA, et al. TP53 mutations in myelodysplastic syndrome are strongly correlated with aberrations of chromosome 5, and correlate with adverse prognosis. *Br J Haematol* 2013; 160: 660–672.
43. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127(20): 2391–2405; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>.
44. Komrokji RS, List A. Lenalidomide for Treatment of Myelodysplastic Syndromes: Current Status and Future Directions. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 24(2): 377–388.
45. Horrigan SK, Westbrook CA, Kim AH, et al. Polymerase chain reaction-based diagnosis of del (5q) in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome identifies a minimal deletion interval. *Blood* 1996; 88(7): 2665–2670.
46. Boulwood J, Fidler C, Strickson AJ, et al. Narrowing and genomic annotation of the commonly deleted region of the 5q syndrome. *Blood* 2002; 99(12): 4638–4641.
47. Padron E, Komrokji R, List AF. Biology and treatment of the 5q- syndrome. *Expert Rev Hematol* 2011; 4(1): 61–69.

48. Neuwirtová R, Jonášová A, Čermák J, a kol. Analýza nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) s delecí dlouhého ramene 5. chromozomu (del(5q)), sledovaných Českou MDS pracovní skupinou. Význam pro diagnostické zařazení a určení prognózy. *Transfuze Hematol. dnes*, 15, 2009, No. 4, p. 204–209. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuze-hematologie-dnes-clanek/analyza-nemocnych-s-myelodysplastickym-syndromem-mds-s-deleci-dlouheho-ramene-5-chromozomu-del-5q-30901?confirm-gdpr=1>. Dosaženo 16.3.2018.
49. Kadlčková E, Neuwirtová R, Salajka P, a kol. Kazuistika (ne)chelatovaného polytransfundovaného pacienta s 5q minus syndromem. *Transfuze Hematol. dnes*, 21, 2015, No. 3, p. 136–142. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuze-hematologie-dnes-clanek/kazuistika-ne-chelatovaneho-polytransfundovaneho-pacienta-s-5q-minus-syndromem-56127>. Dosaženo 16.3.2018.
50. Ebert BL, Pretz J, Bosco J, et al. Identification of RPS as a 5q-syndrome gene by interference screen. *Nature* 2008; 451: 335–339.
51. Neuwirtová R, Fuchs O, Jonášová A. Novinky v patogenezi dvou podtypů myelodysplastického syndromu: 5q minus syndromu a sideroblastické anemie, částečně platné i u jiných onkohematologických onemocnění. *Transfuze Hematol. dnes* 18, 2012, No. 4, p. 154–161. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuze-hematologie-dnes-clanek/novinky-v-patogenezi-dvou-podtypu-myelodysplastickeho-syndromu-5q-minus-syndromu-a-sideroblasticke-anemie-40211>. Dosaženo 16.3.2018.
52. Giagounidis A, Mufti GJ, Fenaux P, et al. Lenalidomide as a disease-modifying agent with del (5q) myelodysplastic syndromes: linking mechanism of action to clinical outcomes. *Ann Hematol* 2014; 93(1): 1–11.
53. Cmejla R, Cmejlova J, Handrkova H, et al. Ribosomal proteins S 17 gene (RPS 17) is mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutant* 2007; 28: 1178–1182.
54. Kumar MS, Narla A, Nonami A, et al. Coordinate loss of a microRNA and protein-coding gene cooperate in the pathogenesis of 5q- syndrome. *Blood* 2011; 118(17): 4666–4673.
55. Neuwirtova R, Fuchs O, Holicka M, et al. Transcription factors Fli1 and EKLF in the differentiation of megakaryocytic and erythroid progenitor in 5q- syndrome and Diamond – Blackfan anemia. *Ann Hematol* 2013; 92: 11–18.
56. Mousa O, LaRue AC, Abangan RS Jr, et al. Thrombocytopenia in mice lacking the carboxy-terminal regulatory domain of the Ets transcription factor Fli 1. *Mol Cell Biol* 2010; 30(21): 5194–5206.
57. Truong AH, Cervi D, Lee J, et al. Direct transcriptional regulation of MDM2 by Fli-1. *Oncogene* 2005; 24: 962–969.
58. Dutt S, Narla A, Lin K, et al. Haploinsufficiency for ribosomal protein genes causes selective activation of p53 in human erythroid progenitor cells. *Blood* 2011; 117(9): 2567–2576.
59. Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5qsyndrome phenotype. *Nat Med* 2010; 16(1): 49–58.
60. Matsuoka A, Tochigi A, Kishimoto M, et al. Lenalidomide induces cell death in an MDS-derived cell line with deletion of chromosome 5q by inhibition of cytokinesis. *Leukemia* 2010; 24(4): 748–755.

61. Lane SW, Sykes SM, Al-Shahrour F, et al. The Apc(min) mouse has altered hematopoietic stem cell function and provides a model for MPD/MDS. *Blood* 2010; 115(17): 3489–3497.
62. Wang J, Fernald AA, Anastasi J, et al. Haploinsufficiency of Apc leads to ineffective hematopoiesis. *Blood* 2010; 115(17): 3481–3488.
63. Pellagatti A, Jadersten M, Forsblom AM et al. Lenalidomide inhibits the malignant clone and up-regulates the SPARC gene mapping to the commonly deleted region in 5q- syndrome patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(27): 11406–11411.
64. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organisation (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002; 100(7): 2292–2302.
65. Mallo M, Cervera J, Schanz J, et al. Impact of adjunct cytogenetic abnormalities for prognostic stratification in patients with myelodysplastic syndrome and deletion 5q. *Leukemia* 2011; 25(1): 110–120.
66. Patnaik MM, Lasho TL, Finke CM et al. WHO-defined myelodysplastic syndrome with isolated del(5q) in 88 consecutive patients: survival data, leukemic transformation rates and prevalence of JAK2, MPL and IDH mutations. *Leukemia* 2010; 24(7): 1283–1289.
67. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 Mutations in Human Cancers: Origins, Consequences, and Clinical Use. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(1): 1–17.
68. Jadersten M, Saft L, Smith A, et al. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol* 2011; 29(15): 1971–1979.
69. Belickova M, Vesela J, Jonasova A, et al. TP53 mutation variant allele frequency is a potential predictor for clinical outcome of patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *Oncotarget* 2016; 7(24): 36266–36279.
70. Čermák J. Myelodysplastický syndrom. In: Mayer J, Starý J a kol. *Leukemie*. Grada Publishing, s.r.o., Praha 2002, ISBN 80-7169-991-8, s. 221–234.
71. Komrokji RS, Zhang L, Bennett JM. Myelodysplastic Syndromes classification and risk stratification. *Hematol Oncol Clin North Amer* 2010; 24(2): 443–457.
72. Greenberg PL, Cox C, Le Beau MM et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997, 89: 2079–2088.
73. Hochová I, Neuwirtová R, Vodičková E. *Myelodysplastický syndrom*. Praha: Maxdorf, 2006, s. 22-24. ISBN 80-7345-088-7.
74. Senent L, Arenillas L, Luno E, et al. Reproducibility of the World Health Organization 2008 criteria for myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2013; 98(4): 568–575.
75. Parmentier S, Schetelig J, Lorenz K, et al. Assessment of dysplastic hematopoiesis: lessons from healthy bone marrow donors. *Haematologica* 2012; 97(5): 723–730.
76. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M. *ISNC 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013)*. Basel: S Karger; 2013.
77. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009(5); 114: 937–951.
78. Van de Loosdrecht AA, Alhan C, Béné MC, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2009; 94(8): 1124–34.

79. Van de Loosdrecht AA, Westers TM, Westra AH. Identification of distinct prognostic subgroups in low–and intermediate-1 – risk myelodysplastic syndromes by flow cytometry. *Blood* 2008; 111: 1067–1077; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-098764>.
80. Wells DA, Benesch M, Loken MR et al. Myeloid and monocytic dyspoiesis as determined by flow cytometric scoring in myelodysplastic syndrome correlates with the IPSS and with outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2003; 102(1): 394–403. doi:10.1182/blood-2002-09-2768.
81. Della Porta MG, Picone C. Diagnostic Utility of Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2017; 9(1): e2017017, DOI: <http://dx.doi.org/10.4084/MJHID.2017.017>.
82. Westers TM, Ireland R, Kern W, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group. *Leukemia* 2012; 26(7): 1730–1741.
83. Kadlčková E, Rohoň P, Navrátil M, a kol. Příklad diferenciální diagnostiky pancytopenie. *Transfuze Hematol. dnes*, 20, 2014, No. 3, p. 59–66. Dostupné z <http://www.prolekare.cz/transfuze-hematologie-dnes-clanek/pripad-diferencialni-diagnostiky-pancytopenie-50323>. Dosaženo 16.3.2018.
84. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood* 2015; 126(1): 9–16.
85. Neuwirtová R. Jaké novinky v diagnostice MDS přináší klonální křetvorba a mutace. *Syndromy předcházející MDS a jak je diagnostikovat. Myelodysplastic syndrome news* 2015; 3(2): 11–14.
86. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. Myelodysplastic/Myeloproliferative neoplasms in: *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues* Lyon, Ed., IARC, Lyon, 2008; 75–86.
87. Parikh SA, Tefferi A. Chronic myelomonocytic leukemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2012; 87: 610–619.
88. Patnaik MM, Tefferi A. Cytogenetic and molecular abnormalities in chronic myelomonocytic leukemia. *Blood Cancer J* 2016; 6: e393.
89. Itzykson R, Solary E. An evolutionary perspective on chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2013; 27: 1441–1450.
90. Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, et al. Prognostic score including gene mutations in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2013; 31(19): 2428–2436.
91. Germing U, Strupp C, Kuendgen A, et al. Prospective validation of the WHO proposals for the classification of myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2006; 91(12): 1596–1604.
92. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. World Health Organization classification of neoplastic disease of hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting–Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17(12): 3835–49, 1999(12): 3835–3849.
93. Bennett JM. World Health Organization classification of the acute leukemias and myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol* 2000; 72(2): 131–133.

94. Brunning RD, Orazi A, Germing U, et al. Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon 2008, p. 87–108.
95. Neuwirtová R. Komentář k článku: Žídková M, Voglová J, Bělohávková P, a kol. Novinky v klasifikaci MDS a stanovení prognózy dle WPSS. Žídková M, Voglová J, Bělohávková P, Vrbacký F. Transfuze a Hematologie dnes 2010, 16: 42-46. Transfuze Hematol. dnes, 16, 2010, No. 3, p. 181–182. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuze-hematologie-dnes-clanek/komentar-k-clanku-novinky-v-klasifikaci-mds-a-stanoveni-prognozy-dle-wpss-zidkova-m-voglova-j-belohlavkova-p-33363>. Dosaženo: 16.3.2018.
96. Vardiman JW, Bennett JM, Bain BJ. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edition. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon 2008, p. 85–86.
97. Orazi A, Bennett Jm, Germing U. Chronic myelomonocytic leukemia. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4 th edition. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon 2008, p. 76–79.
98. Schanz J, T'uchler H, Soñ e F, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol* 2012; 30(8): 820–829.
99. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, et al; Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med* 2011; 365(15): 1384–1395.
100. Cazzola M, Rossi M, Malcovati L; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative. Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. *Blood* 2013; 121(2): 260–269.
101. Malcovati L, Karimi M, Papaemmanuil E, et al. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood*. 2015; 126(2): 233–24.
102. Del Rey M, Benito R, Fontanillo C, et al. Deregulation of genes related to iron and mitochondrial metabolism in refractory anemia with ring sideroblasts. *PLoS One* 2015; 10(5): e0126555.
103. Gerstung M, Pellagatti A, Malcovati L, et al. Combining gene mutation with gene expression data improves outcome prediction in myelodysplastic syndromes. *Nat Commun* 2015; 6: 5901. Published online 2015 Jan 9. doi: 10.1038/ncomms6901.
104. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3503–3510.
105. Garcia-Manero G, Shan J, Faderl S et al. A prognostic score for patients with lower risk myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2007; 22(3): 538–543.

106. Kantarjian H, O'Brien S, Ravandi F, et al. Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring system. *Cancer* 2008; 113(6): 1351–1361.
107. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012; 120: 2454–2465.
108. Germing U, Kundgen A, Gatterman N. Risk assessment in chronic myelomonocytic leukemia (CMML). *Leuk Lymphoma* 2004; 45(7): 1311–1318.
109. Such E, Germing U, Malcovati L. Development and validation of prognostic scoring system for patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2013; 121(15): 3005–3015.
110. Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, et al. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD 34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2009; 27(5): 754–762.
111. Lim ZY, Killick S, Germing U, et al. Low IPSS score and bone marrow hypocellularity in MDS patients predict hematological responses to antithymocyte globulin. *Leukemia* 2007; 21(7): 1436–1441.
112. Passweg JR, Giagounidis AA, Simcock M, et al. Immunosuppressive therapy for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized multicenter phase III trial comparing antithymocyte globulin plus cyclosporine with best supportive care--SAKK 33/99. *J Clin Oncol* 2011; 29(3): 303–309.
113. Kadlčková E, Rohoň P, Fürst T et al. Verification of Survival Predictors in Elderly Patients with Myelodysplastic Syndrome from Outpatient Clinical Practice, *International Journal of Gerontology* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijge.2017.06.001>.
114. Neuwirtová R. Přehled konservativní léčby myelodysplastického syndromu v průběhu dvaceti let a nové léky pro zítřek. *Transfuze Hematol. dnes*, 2004, No. 4, p. 161-168.
115. Guidelines for the diagnosis and treatment of Myelodysplastic. Syndrome and Chronic Myelomonocytic Leukemia. Nordic MDS Group. 8th update, May 2017. Dostupné z: https://www.nmds.org/attachments/article/92/Guidelines%20for%20the%20diagnosis%20and%20treatment%20of%20MDS%20and%20CMML_17.pdf. Dosaženo 16.3.2018.
116. Savona MR, Malcovati L, Komrokji R, et al. An international consortium proposal of uniform response criteria for myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN) in adults. *Blood* 2015; 125(12): 1857–1865.
117. Malcovati L, Porta MG, Pascutto C et al. Prognostic factors and life expectancy in myelodysplastic syndromes classified according to WHO criteria: a basis for clinical decision making. *J Clin Oncol* 2005; 23(30): 7594–7603.
118. Čermák J. Myelodysplastický syndrom. *Transfuze a hematologie dnes: Doporučené postupy v hematologii supplementum-* 2010; 16(3): 40–41. ISSN 1213-5763.
119. Fluit CR, Kunst VA, Drenthe-Schonk AM. Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion. *Transfusion* 1990; 30(6): 532–535.

120. Bolcková HT, Matějková E, Písačka M a kol. Senzibilizace polytransfundovaných hematologických pacientů alogenními erytrocytárními a HLA antigeny. *Transfuze Hematol. dnes*, 18, 2012, No. 1, p. 25-30. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuze-hematologie-dnes-clanek/senzibilizace-polytransfundovanych-hematologickych-pacientu-alogennimi-erytrocytovymi-a-hla-antigeny-37885>. Dosaženo 16.3.2018.
121. Jonášová A. Přetížení železem u chronicky transfundovaných nemocných a jeho terapie. *Postgraduální medicína* 2012; 14: 879–886.
122. Pospíšilová D. Současný přístup k léčbě přetížení železem. *Farmakoterapie* 2010; 6(1): 84–90. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/farmakoterapie-clanek/soucasny-pristup-k-lecbe-pretizeni-zelezem-31367>. Dosaženo 16.3.2018.
123. Čermák J. Přetížení železem-novinky v patogenezi a léčbě. 90 let doc. MUDr. Dušana Mrkose, CSc., XXVIII. dny mladých internistů – sborník abstrakt. *Vnitřní lékařství (Supplementum 1)*: 2009; 55: 59–63. Dostupné z: <http://www.vnitrnilekarstvi.eu/vnitri-lekarstvi-clanek/pretizeni-zelezem-novinky-v-patogenezi-a-lecbe-34384>. Dosaženo 16.3.2018.
124. Kazuki T, Keiki K, Fumihiko N, et al. The effect of iron overload and chelation on erythroid differentiation. *Int J Hematol* 2012; 95: 2: 149–159.
125. Chai X, Li D, Cao X et al. ROS-mediated iron overload injures the hematopoiesis of bone marrow by damaging hematopoietic stem/progenitor cells in mice, *Sci. Rep.* 5 (2015) 10181; doi: 10.1038/srep10181 (2015).
126. Pascal L, Beyne-Rauzy O, Brechignac S, et al. Cardiac iron overload assessed by T2* magnetic resonance imaging and cardiac function in regularly transfused myelodysplastic syndrome patients. *Br J Haematol* 2013; 162: 413–415.
127. Malcovati L, Porta MG, Pascutto C, et al. Prognostic factors and life expectancy in myelodysplastic syndromes classified according to WHO criteria: a basis for clinical decision making. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7594–7603.
128. Dayyani F, Conley AP, Strom SS, et al. Cause of Death in Patients With Lower-Risk Myelodysplastic Syndrome. *Cancer* 2010; 116(9): 2174–2179.
129. NCCN (National Comprehensive Cancer Network), NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Myelodysplastic Syndromes. Version 1, 2016, Available at: <https://www.nccn.org>.
130. Witte T, Bowen D, Robin M, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for MDS and CMML: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017; 129(13): 1753–1762.
131. Remacha AF, Arrizabalaga B, Del Canizo C, et al. Iron overload and chelation therapy in patients with low-risk myelodysplastic syndromes with transfusion requirements. *Ann Hematol* 2010; 89(2): 147–154. Dostupné z: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00535080/document>. Dosaženo 16.3.2018.
132. Taher AT, Origa R, Perrotta S, et al. New film-coated tablet formulation of deferasirox is well tolerated in patients with thalassemia or lower-risk MDS: Results of the randomized, phase II ECLIPSE study. *Am J Hematol* 2017; 92(5): 420–428.
133. Šišková M. Léčba anémie erythropoézu stimulačními proteiny u pacientů s myelodysplastickým syndromem. *Onkologie* 2010; 4(2): 101–105.

134. Hellström-Lindberg E. Efficacy of erythropoietin in the myelodysplastic syndromes: a meta-analysis of 205 patients from 17 studies. *Br J Haematol* 1995; 89(1): 67–71.
135. Italian Cooperative Study Group for rHuEpo in Myelodysplastic Syndromes. Ferrini PR, Grossi A, Vannucchi AM, et al. A randomized double-blind placebo-controlled study with subcutaneous recombinant human erythropoietin in patients with low-risk myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1998; 103(4): 1070–1074.
136. Moyo V, Lefebvre P, Duh MS, et al. Erythropoiesis-stimulating agents in the treatment of anemia in myelodysplastic syndromes: a meta analysis. *Ann Hematol* 2008; 87: 527–536.
137. Casadevall N, Durieux P, Dubois S, et al. Health, economic, and quality-of-life effects of erythropoietin and granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of myelodysplastic syndromes: a randomized, controlled trial. *Blood* 2004; 104(2): 321–327.
138. Balleari E, Rossi E, Clavio M, et al. Erythropoietin plus granulocyte colony-stimulating factor is better than erythropoietin alone to treat anemia in low-risk myelodysplastic syndromes: results from a randomized single-centre study. *Ann Hematol* 2006; 85(3): 174–180.
139. Greenberg PL, Sun Z, Miller KB, et al. Treatment of myelodysplastic syndrome patients with erythropoietin with or without granulocyte colony-stimulating factor: results of a prospective randomized phase 3 trial by the Eastern Cooperative Oncology Group (E1996). *Blood* 2009; 114(12): 2393–2400.
140. Platzbecker U, Symeonidis A, Oliva EN, et al. A phase 3 randomized placebo-controlled trial of darbepoetin alfa in patients with anemia and lower-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2017; 31(9): 1944–1950.
141. Hellström-Lindberg E, Negrin R, Stein R, et al. Erythroid response to treatment with G-CSF plus erythropoietin for the anaemia of patients with myelodysplastic syndromes: proposal for a predictive model. *Br J Haematol.* 1997; 99(2): 344–351.
142. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2006; 108(2): 419–425.
143. Passweg JR, Giagounidis AA, Simcock M, et al. Immunosuppressive therapy for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized multicenter phase III trial comparing antithymocyte globulin plus cyclosporine with best supportive care — SAKK 33/99. *J Clin Oncol* 2011; 29(3): 303–309.
144. Sauntharajah Y, Nakamura R, Nam JM, et al. HLA-DR15 (DR2) is over represented in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia and predicts a response to immunosuppression in myelodysplastic syndrome. *Blood* 2002; 100: 1570–1574.
145. Čermák J. Myelodysplastický syndrom v roce 2016. *Onkologie* 2016; 10(3): 114–119.
146. Sloand EM, Wu CO, Greenberg P, et al. Factors affecting response and survival in patients with myelodysplasia treated with immunosuppressive therapy. *J Clin Oncol* 2008; 26(15): 2505–2511.
147. Čermák J. Myelodysplastický syndrom. Pokroky v diagnostice a léčbě během 30 let trvání registru nemocných s myelodysplastickým syndromem v ÚHK. *Vnitř Lék* 2012; 58 (Suppl 2): 8–15. Dostupné z: <http://www.vnitrnilekarstvi.eu/vnitri-nilekarstvi-clanek/myelodysplasticky-syndrom-pokroky-v-diagnostice-a-lecbe-behem-30-let-trvani-registru-nemocnych-s-38866>. Dosaženo 17.3.2018.

148. Sloand EM, Olnes MJ, Shenoy B, et al. Alemtuzumab treatment of intermediate-1 myelodysplasia patients is associated with sustained improvement in blood counts and cytogenetic remissions. *J Clin Oncol* 2010; 28: 5166–5173.
149. Neukirchen J, Platzbecker U, Sockel K, et al. Real life experience with alemtuzumab treatment of patients with lower-risk MDS and a hypocellular bone marrow. *Ann Hematol* 2014; 93(1): 65–69. doi: 10.1007/s00277-013-1859-1. Epub 2013 Aug 10. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00277-013-1859-1>. Dosaženo 17.3.2018.
150. Neukirchen J, Blum S, Kuendgen A, et al. Platelet count and haemorrhagic diathesis with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2009; 83(5): 477–482. doi: 10.1111/j.1600-0609.2009.01299.x. Epub 2009 Jun 22. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19548919>. Dosaženo 17.3.2018.
151. Jonasova A, Cermak J, Vondrakova J, et al. Thrombocytopenia at diagnosis as an important negative prognostic marker in isolated 5q- MDS (IPSS low and intermediate-1). *Leukemia Research* 2012; 36(12): e222-e 224, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2012.08.002>. Dostupné z: [http://www.lrjournal.com/article/S0145-2126\(12\)00335-9/fulltext](http://www.lrjournal.com/article/S0145-2126(12)00335-9/fulltext). Dosaženo 17.3.2018.
152. Hebbbar M, Kaplan C, Caulier MT, et al. Low incidence of specific anti-platelet antibodies detected by the MAIPA assay in the serum of thrombocytopenic MDS patients and lack of correlation between platelet autoantibodies, platelet lifespan and response to danazol therapy. *Br j Haematol* 1996; 94(1): 112–115.
153. Sekeres MA, Kantarjian H, Fenaux P, et al. Subcutaneous or intravenous administration of romiplostim in thrombocytopenic patients with lower risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2011; 117: 992–1000.
154. Giagounidis A, Mufti GJ, Fenaux P, et al. Results of a randomized, double-blind study of romiplostim versus placebo in patients with low/intermediate-1-risk myelodysplastic syndrome and thrombocytopenia. *Cancer* 2014; 120(12): 1838–1846.
155. Kantarjian HM, Mufti GJ, Fenaux P, et al. Romiplostim in thrombocytopenic patients (pts) with Low-risk or Intermediate-1 (Int-1)-risk myelodysplastic syndrome (MDS) results in reduced bleeding without impacting leukemic progression: updated follow-up results from a randomized, double-blind, placebo(PBO)-controlled study. *Blood* 2015; 126, abstract 2863. Dostupné z: <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/2863?sso-checked=true>. Dosaženo 20.3.2018.
156. Oliva EN, Santini V, Alati C, et al. Eltrombopag for the treatment of thrombocytopenia of Low and Intermediate-1 IPSS risk myelodysplastic syndromes: interim results on efficacy, safety and quality of life of an international, multicenter prospective, randomized, trial. *Blood* 2015; 126, abstract 91. Dostupné z: <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/91?sso-checked=true>. Dosaženo 20.3.2018.
157. Vlachodimitropoulou E., Chen YL, Garbowski M, et al. Eltrombopag: a powerful chelator of cellular or extracellular iron(III) alone or combined with a second chelator. *Blood* 2017; 130: 1923–1933.

158. Komrokji RS, List AF. Lenalidomide for treatment of myelodysplastic syndromes. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 3198–3203. Dostupné z: <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpd/2012/00000018/00000022/art00008>. Dosaženo 17.3.2018.
159. Kuendgen A, Lauseker M, List AF, et al. Lenalidomide does not increase AML progression risk in RBC transfusion-dependent patients with Low- or Intermediate-1-risk MDS with del(5q): a comparative analysis. *Leukemia* 2013; 27(5): 1072–1079.
160. List A, Dewald G, Bennett J, et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med* 2006; 355(14): 1456–1465.
161. Raza A, Reeves JA, Feldman EJ, et al. Phase 2 study of lenalidomide in transfusion-dependent, low-risk, and intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes with karyotypes other than deletion 5q. *Blood* 2008; 111(1): 86–93.
162. Kotla V, Goel S, Nischal S, et al. Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies. *J Hematol Oncol* 2009; 2: 36–42.
163. Giagounidis AA. Lenalidomide for del (5q) and non-del (5q) myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 2012; 49: 312–322.
164. Ito T, Ando H, Suzuki T, et al. Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity. *Science* 2010; 327: 1345–1350.
165. Lopez-Girona A, Mendy D, Ito T et al. Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide. *Leukemia* 2012; 26: 2326–2335.
166. Heintel D, Rocci A, Ludwig H, et al. High expression of cereblon (CRBN) is associated with improved clinical response in patients with multiple myeloma treated with lenalidomide and dexamethasone. *Br J Haematol* 2013; 161: 695–700.
167. Schuster SR, Kortuem KM, Zhu YX, et al. The clinical significance of cereblon expression in multiple myeloma. *Leukemia research* 2014; 38(1): 23–28.
168. Jonasova A, Bokorova R, Polak J, et al. High level of full-length cereblon mRNA in lower risk myelodysplastic syndrome with isolated 5q deletion is implicated in the efficacy of lenalidomide. *Eur J Haematol* 2015; 95(1): 27–34.
169. Krönke J, Fink EC, Hollenbach PW, et al. Lenalidomide induces ubiquitination and degradation of CK1 alpha in del(5q) MDS. *Nature* 2015; 532(7559): 183–188.
170. Basiorka AA, McGraw KL, De Ceuninck L, et al. Lenalidomide Stabilizes the Erythropoietin Receptor by Inhibiting the E3 Ubiquitin Ligase RNF41. *Cancer Res* 2016; 76(12): 3531–3540.
171. Ades L, Boehrer S, Prebet T, et al. Efficacy and safety of lenalidomide in intermediate-2 or high risk myelodysplastic syndrome with 5q del: results of a phase 2 study. *Blood* 2009; 113: 3947–3952.
172. Jonášová A, Červínek L, Bělohávková P, a kol. První české zkušenosti s lenalidomidem v terapii anemických nemocných s myelodysplastickým syndromem s delecí dlouhého ramene 5. chromozomu. *Vnitř Lék* 2015; 61(12): 1028–33. Dostupné z: <http://www.vnitrnilekarstvi.eu/vnitрни-lekarstvi-clanek/prvni-ceske-zkusenosti-s-lenalidomidem-v-terapii-anemickych-nemocnych-s-myelodysplastickym-syndromem-s-deleci-57214>. Dosaženo 17.3.2018.

173. Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, et al. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q. *Blood* 2011; 118 (14): 3765–76.
174. Santini V, Almeida A, Giagounidis A, et al. Randomized Phase III Study of Lenalidomide Versus Placebo in RBC Transfusion-Dependent Patients With Lower-Risk Non-del(5q) Myelodysplastic Syndromes and Ineligible for or Refractory to Erythropoiesis-Stimulating Agents. *Journal of Clinical Oncology* 2016; 34(25): 2988–2996.
175. Toma A, Kosmider O, Chevret S, et al. Lenalidomide with or without erythropoietin in transfusion-dependent erythropoiesis-stimulating agent-refractory lower-risk MDS without 5q deletion. *Leukemia* 2016; 30(4): 897–905.
176. Sekeres MA, List AF, Cuthbertson D, et al. Phase I combination trial of lenalidomide and azacitidine in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2010, 28: 2253–2258.
177. Venner CP, Woltoz JW, Nevill TJ, et al. Correlation of clinical response and response duration with miR-145 induction by lenalidomide in CD34+ cells from patients with del(5q) myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 2013, 98: 409–413.
178. Stone RM. How I treat patient with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2009; 113(25): 6296–6303.
179. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, et al. International Vidaza High-Risk MDS Survival Study Group. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; 10(3): 223–232.
180. Pardon E, Steensma DP. Cutting the cord from myelodysplastic syndromes: chronic myelomonocytic leukemia – specific biology and management strategies. *Curr Opin Hematol* 2015; 22: 163–170.
181. Issa JP. Epigenetic Changes in the Myelodysplastic Syndrome. *Hematol Oncol Clin North Amer* 2010; 24(2): 317–330.
182. Jiang Y, Dunbar A, Gondek LP, et al. Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in MDS progression to AML. *Blood* 2009; 113(6): 1315–1325.
183. Weber M, Hellmann I, Stadler MB, et al. Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nat Genet* 2007; 39(4): 457–466.
184. Teixeira da Rocha S, Ferguson-Smith AC. Genomic imprinting. *Curr Biol* 2004; 14: 646–649.
185. Esteller M. DNA methylation and cancer therapy: new developments and expectations. *Curr Opin Oncol* 2005; 17: 55–60.
186. Sorm F, Piskala A, Cihak A, et al. 5-Azacitidine, a new, highly effective cancerostatic. *Experientia* 1964; 20(4): 202–203.
187. Issa JP, Kantarjian HM. Targeting DNA methylation. *Clin Cancer Res* 2009; 15(12): 3938–3946.
188. Kuykendall JR. 5-azacytidine and decitabine monotherapies of myelodysplastic disorders. *Ann Pharmacother* 2005; 39(10): 1700–1709.

189. Bontkes HJ, Ruben JM, Alhan C, et al. Azacitidine differentially affects CD4pos T-cell polarization in vitro and in vivo in high risk myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2012; 36(7): 921–930.
190. Visvader J, Adams JM. Megakaryocytic differentiation induced in 416B myeloid cells by GATA-2 and GATA-3 transgenes or 5-azacytidine is tightly coupled to GATA-1 expression. *Blood* 1993; 82(5): 1493–1501.
191. Curik N, Burda P, Vargova K et al. 5-azacitidine in aggressive myelodysplastic syndromes regulates chromatin structure at PU.1 gene and cell differentiation capacity. *Leukemia* 2012; 26(8): 1804–1811.
192. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of high-risk myelodysplastic syndromes: a randomized, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 223–232.
193. Seymour JF, Fenaux P, Silverman LR, et al. Effects of azacitidine compared with conventional care regimens in elderly (≥ 75 years) patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010; 76: 218–227.
194. Jonášová A, Čermák J, Červinek L, a kol. První zkušenosti České MDS skupiny s terapií 5-azacytidinem u nemocných s myelodysplastickým syndromem s vyšším rizikem (IPSS střední 2 a vysoké riziko), akutní myeloidní leukemií do 30 % myeloblastů a chronickou myelomonocytární leukemií II. *Transfuze Hematol dnes* 19, 2013, No. 3, p. 125–133. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuzehematologie-dnes-clanek/prvni-zkusenosti-ceske-mds-skupiny-s-terapii-5-azacytidinem-u-nemocnych-s-myelodysplastickym-syndromem-s-vyssim-46896>. Dosaženo 17.3.2018.
195. Garcia-Manero G, Gore SD, Cogle C, et al. Phase I study of oral azacitidine in myelodysplastic syndromes, chronic myelomonocytic leukemia, and acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2521–2527.
196. Garcia-Manero G, Gore SD, Kambhampati S, et al. Efficacy and safety of extended dosing schedules of CC-486 (oral azacitidine) in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2016; 30: 889–896.
197. Field T, Perkins J, Huang Y, et al. 5-Azacitidine for myelodysplasia before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 255–260.
198. Gerds AT, Gooley TA, Estey EH, et al. Pretransplantation therapy with azacitidine vs. induction chemotherapy and posttransplantation outcome in patients with MDS. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 1211–1218.
199. Choi J, Ritchey J, Prior JL, et al. In vivo administration of hypomethylating agents mitigate graft-versus-host disease without sacrificing graft-versus-leukemia. *Blood* 2010; 116: 129–139.
200. Platzbecker U, Wermke M, Radke J, et al. Azacitidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial. *Leukemia* 2012; 26: 381–389.
201. Craddock C, Jilani N, Siddique S, et al. Tolerability and clinical activity of posttransplantation azacitidine in patients allografted for acute myeloid leukemia treated on the RICAZA trial. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(2): 385–390.
202. Tessoulin B, Delaunay J, Chevallier P, et al. Azacitidine salvage therapy for relapse of myeloid malignancies following allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49: 567–571.

203. Schroeder T, Rachlis E, Bug G, et al. Treatment of acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome relapse after allogeneic stem cell transplantation with azacitidine and donor lymphocyte infusions—a retrospective multicenter analysis from the German Cooperative Transplant Study Group. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 21(4): 653–660.
204. Kantarjian H, Oki Y, Garcia-Maneiro G, et al. Results of a randomized study of three schedules of low-dose decitabine in higher risk myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2007; 109: 52–57.
205. Quin T, Jelinek J, Si J, et al. Mechanisms of resistance to 5-aza-2'-deoxycytidine in human cancer cell lines. *Blood* 2009; 113: 659–67.
206. Flotho C, Claus R, Batz C, et al. The DNA methyltransferase inhibitors azacytidine, decitabine, and zebularine exert differential effects on cancer gene expression in acute myeloid leukemia cells. *Leukemia* 2009; 23: 1019–1028.
207. Kantarjian H, Issa JP, Rosenfeld CS, et al. Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study. *Cancer* 2006; 106: 1794–1803.
208. Steensma DP, Baer MR, Slack JL, et al. Multicenter study of decitabine administered daily for 5 days every 4 weeks to adults with myelodysplastic syndromes: the alternative dosing for outpatient treatment (ADOPT) trial. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3842–3848.
209. Kantarjian H, Oki Y, Garcia-Manero G, et al. Results of a randomized study of 3 schedules of low-dose decitabine in higher-risk myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2007; 109: 52–57.
210. Montalban-Bravo G, Bose P, Alvarado Y, et al. Updated results from phase 2 study of guadecitabine for patients with untreated int-2/high risk myelodysplastic syndrome or chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2017; 35 (15): suppl. 7020-7020. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.7020.
211. De Witte T, Bowen D, Robin M, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for MDS and CMML: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017; 129(13): 1753–1762.
212. Symeonidis A, van Biezen A, de Wreede L, et al. Chronic Malignancies Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Achievement of complete remission predicts outcome of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in patients with chronic myelomonocytic leukaemia. A study of the Chronic Malignancies Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation [published online ahead of print 26 July 2015]. *Br J Haematol*.
213. Platzbecker U, Fenaux P. Recent Frustration and innovation in myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 2016; 101(8): 891–893.
214. Komrokji RS, Garcia-Manero G, Ades L, et al. An Open-Label, Phase 2, Dose-Finding Study of Sotatercept (ACE-011) in Patients with Low or Intermediate-1 (Int-1) – Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS) or Non-Proliferative Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML) and Anemia Requiring Transfusion. *Blood* 2014; 124(21): 3251 abstr. Dostupné z: <http://www.bloodjournal.org/content/124/21/3251?sso-checked=true>. Dosaženo 17.3.2018.

215. Platzbecker U, Germing U, Götze KS, et al. Luspatercept for the treatment of anaemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes (PACE-MDS): a multicentre, open-label phase 2 dose-finding study with long-term extension study. *Lancet Oncol.* 2017; 18(10): 1338–1347.
216. Komrokji RS, Raza A, Lancet JE, et al. Phase I clinical trial of oral rigosertib in patients with myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2013; 162: 517–524.
217. Garcia-Manero G, Fenaux P, Al-Kali A, et al. Rigosertib versus best supportive care for patients with high-risk myelodysplastic syndromes after failure of hypomethylating drugs (ONTIME): a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(4): 496–508.
218. Youngblood B, Oestreich KJ, Ha S-J, et al. Chronic virus infection enforces demethylation of the locus that encodes PD-1 in antigen-specific CD8(+) T cells. *Immunity* 2011; 35: 400–412.
219. Yang H, Bueso-Ramos C, Dinardo C, et al. Expression of PD-L1, PD-L2, PD-1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents. *Leukemia* 2014; 28(6): 1280–1288.
220. Orskov AD, Treppendahl MB, Skovbo A, et al. Hypomethylation and up-regulation of PD-1 in T cells by azacytidine in MDS/AML patients: A rationale for combined targeting of PD-1 and DNA methylation. *Oncotarget* 2015; 6(11): 9612–9626.
221. Gerds AT, Scott BL, Greenberg P et al. A phase IB study evaluating the safety and clinical activity of atezolizumab alone and in combination with azacitidine in patients with relapsed or refractory myelodysplastic syndromes. Poster 662. Learning Center. Gerds AT. Jun 23, 2017; 181949. Available from <https://learningcenter.ehaweb.org/eha/2017/22nd/181949/aaron.t.gerds.a.phase.ib.study.evaluting.the.safety.and.clinical.activity.of.html?f=m3>.
222. Oken, M.M., Creech, R.H., Tormey, D.C., et al. Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982; 5: 649–655.
223. Koppie TM., Serio AM, Vickers AJ, et al. Age-adjusted Charlson comorbidity score is associated with treatment decisions and clinical outcomes for patients undergoing radical cystectomy for bladder cancer. *Cancer* [online]. 2008, 112(11), 2384–2392 [cit. 2016-01-12]. DOI: 10.1002/cncr.23462. ISSN 0008543x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.23462>.
224. Jirkovská M. Histologická technika. 1. vydání. Praha: Galén, 2006. s. 27–32. ISBN 80-7262-263-3.
225. Rath CE, Finch CA. Sternal marrow haemosiderin: a method for the determination of available iron stores in man. *J Lab Clin Med* 1948; 33: 81–86.
226. Hofmann W, Guder WG. A diagnostic programme for quantitative analysis of proteinuria. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 1989; 27(9): 589-600.
227. Jonášová A, Neuwirtova R, Vondráková J et al. Použití perorálního chelátoru Fe Ferriproxu (deferiprone) u nemocných s myelodysplastickým syndromem: Poster. Olomoucké hematologické dny, 2007.
228. Rohoň P, Bělohávková P, Kadlčková E a kol. Dlouhodobé výsledky léčby chronické myelomonocytární leukemie ve vybraných hematologických centrech. *Transfuzie Hematol. dnes*, 23, 2017, No. 3, p. 127-133. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuzie-hematologie-dnes-clanek/dlouhodobé-výsledky-lečby-chronické-myelomonocytární-leukemie-ve-vybraných-hematologických-centrech-62214>. Dosaženo 17.3.2018.

229. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. The chronic myeloid leukaemias: guidelines for distinguishing chronic granulocytic, atypical chronic myeloid, and chronic myelomonocytic leukaemia. Proposals by the French-American-British Cooperative Leukaemia Group. *Br J Haematol* 1994; 87(4): 746-754.
230. Tefferi A, Barosi G, Mesa RA, et al. International Working Group (IWG) consensus criteria for treatment response in myelofibrosis with myeloid metaplasia for the IWG for Myelofibrosis Research and Treatment (IWG-MRT). *Blood* 2006; 108(5): 1497-1503.
231. Malcovati L, Della Porta MG, Cazolla M. Predicting survival and leukemic evolution in patient with myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 2006; 91(12):1588-90.
232. Starostka D, Rohoň P, Holzerová M, a kol. Projekt myelodysplastický syndrom na severní a střední Moravě. *Transfuze Hematol. Dnes*, 21, 2015, No. 2, p. 92-100. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/transfuze-hematologie-dnes-clanek/projekt-myelodysplasticky-syndrom-na-severni-a-stredni-morave-52485>. Dosaženo 17.3.2018.
233. Single center experience with the treatment of older patients with myelodysplastic syndrome, not eligible for intensive therapy and its financial consequences. *Transfuze Hematol. Dnes* 22, 2016, No. 2, p. 106-114.
234. Sekeres MA. The Epidemiology of Myelodysplastic Syndromes. *Hematol Oncol Clin North Amer* 2010; 24(2): 287-294.
235. Della Porta MG, Malcovati L. Clinical relevance of extra-hematologic comorbidity in the management of patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 2009; 94: 602-606.
236. Naqvi K, Garcia-Manero G, Sardesai S, et al. Association of comorbidities with overall survival in myelodysplastic syndrome: development of a prognostic model. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2240-2240.
237. Smith SM, Le Beau MM, Huo D, et al. Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: the University of Chicago series. *Blood* 2003; 102: 43-52.
238. Mauritzson N, Albin M, Rylander L, et al. Pooled analysis of clinical and cytogenetic features in treatment-related and de novo adult acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes based on a consecutive series of 761 patients analyzed 1976-1993 and on 5098 unselected cases reported in the literature 1974-2001. *Leukemia* 2002; 16(12): 2366-78.
239. Penka M, Buliková A. *Neonkologická hematologie: 2.doplňené a zcela přepracované vydání. 2. vyd.* Praha: Grada Publishing, 2009, s. 25-38. ISBN 978-80-247-2299-3.
240. Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2011; 86: 491-498.
241. Wadei HM, Mai ML, Ahsan N, et al. Hepatorenal syndrome: pathophysiology and management. *CJASN* 2006; 1(5): 1066-1079.
242. Rohoň P, Jarošová M, Indrák K. Chronická myelomonocytová leukémie – přehľad súčasných diagnostických a liečebných možností. *Transfuze Hematol. dnes* 20, 2014, No. 2, p. 58-64.
243. Mondesir J, Willekens C, Touat M, et al. IDH1 and IDH2 mutations as novel Therapeutic targets: current perspectives. *J Blood Med* 2016; 7: 171-180.

244. Rohoň P, Bělohávková, Rusiňáková Z, a kol. Manažment diagnostiky a liečby chronickej myelomonocytovej leukémie – pohľad z klinickej praxe. *Onkologie* 2015; 9(6): 298–302. Dostupné z: https://www.onkologiecs.cz/artkey/xon-201506-0009_Manazment_diagnostiky_a_liecby_chronickej_myelomonocytovej_leukemie-pohlad_z_klinickej_praxe.php. Dosaženo 17.3.2018.

8. Zkratky

5-AZA	5-azacytidin
5q-sy	5q-syndrom, syndrom s delecí dlouhého ramene chromozomu 5
AA	aplastická anémie
aCML	atypická chronická myeloidní leukémie
AF	acidum folicum
AIHA	autoimunní hemolytická anémie
ALIP	abnormal localization of immature precursors, abnormálně lokalizované shluky nezralých prekursorů (blastů) v kostní dřeni
alloSCT	alogenní transplantace krvetvorných buněk
ALP	alkalická fosfatáza
ALT, AST	jaterní transaminázy
AML	akutní myeloidní leukémie
AML-like CT	chemoterapie používaná při léčbě akutní myeloidní leukémie
APC gen	Adenomatous polyposis coli gen
ASXL1	additional sex-comb like 1
ATG	antithymocytární globulin
<i>BAP1</i>	gen pro ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase <i>BAP1</i>
B-CLL	B-chronická lymfatická leukémie
<i>Bcr/Abl</i>	fúzní gen Breakpoint cluster region-Abelson murine leukemia
bcr-abl	chimérický protein
BFU-E	burst-forming unit erythroid
BM	bone marrow, kostní dřeň
BSC	best supportive care, nejlepší podpůrná péče
c	konkordance
CACI	Charlson Age-Comorbidity Index
<i>CALR</i>	gen pro calreticulin
<i>CBL/CBLB</i>	gen pro Cbl (Casitas B-cell lymphoma)-ubiquitin ligáza
CCUS	clonal cytopenia of undetermined significance, klonální cytopenie nejasného významu
CD	Cluster of Differentiation
CDR	common deleted region
<i>CEBPA</i>	gen pro CCAAT/enhancer-binding protein alpha
CFU-E	colony-forming unit erythroid
CGH	komparativní genomová hybridizace
CML	chronická myeloidní leukémie
CMML	chronická myelomonocytární leukémie
CMML-I, II	chronická myelomonocytární leukémie-I, II

CMV	cytomegalovirus
CPSS	CMML-specific prognostic scoring systém
CR,PR	kompletní, parciální remise
CRBN	cereblon
CRP	C-reaktivní protein
Cs-A	cyclosporin A
CT	computerová tomografie
ČR	Česká republika
DAC	decitabin, 5-aza-2'-deoxycytidin
DAC-TP	5-azaC-dCTP, 5-aza-2'-deoxycytidin trifosfát
DLI	donor leukocyte infusion, infúze dárcovských lymfocytů
DNA	deoxyribonucleid acid, deoxyribonukleová kyselina
<i>DNMT3A</i>	gen pro DNA methyltransferázu 3A
DNMTs	DNA-methyltransferázy
E.S.P.	erythropoézu stimulující proteiny
E.T.P.	erytrocytárními transfuzními přípravky
EFS	event free survival
EFS	Event Free Survival
<i>EGR1</i>	Early Growth Response 1
EHA	European Hematology Association, Evropská hematologická asociace
ELFO	elektroforéza
ELN	European Leukemia Net
EMA	Evropská léková agentura, European Medicines Agency
ET	esenciální trombocytémie
ETO	etoposid
<i>EZH2</i>	gen pro Enhancer of zeste homolog 2
FAB	Francouzsko-americko-britská skupina
Fas ligand	first apoptosis signal ligand
FCM	průtoková cytometrie
FDA	Food and Drug Administration
Fe	železo
<i>FGFR1</i>	gen pro fibroblast growth factor receptor 1
FISH	fluorescenční in situ hybridizace
Fli 1	Friend leukemia virus integration 1
<i>FLT3</i>	gen pro fms-like tyrosine kinázu 3
FN	fakultní nemocnice
FTO	fakultní transfuzní oddělení
FW	sedimentace erytrocytů
GATA- 1	GATA-binding factor 1
G-CSF	granulocytární kolonie stimulující faktor
GFM	Groupe Francophone des Myelodysplasies
GM-CSF	granulocyto-makrofágové kolonie stimulující faktor
Gy	gray
HA HTO KNTB	Hematologicko-transfuzního oddělení Krajské nemocnice Tomáše Bati ve Zlíně
HCT-CI	Hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index
hgb	hemoglobin

HI-E	hematologické zlepšení v erytroidní linii
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA	human leukocyte antigen
HMA	hypometylační látky
HOK	Hematoonkologická klinika
HR	high risk, vysoké riziko
HSCT	transplantace krvetvorných buněk
htc	hematokrit
HU	hydroxyurea
CHIP	clonal hematopoiesis of indeterminate potential, klonální hemopoéza nejasného významu
ICUS	idiopathic cytopenia of undetermined significance, idiopatická cytopenie nejasného významu
<i>IDH1/2</i>	gen pro Isocitrate dehydrogenasa 1 and 2
IDUS	idiopathic dysplasia of undetermined significance, idiopatická dysplazie nejasného významu
IFN- γ	interferon gama
IgG	imunoglobulin G
IHOK FN BB	Interní hematoonkologická klinika Fakultní nemocnice Brno-Bohunice
IL 1- β	interleukin 1- β
IL-2	interleukin 2
INT-1	intermediate-1, střední 1-riziko
INT-2	intermediate-2, střední 2-riziko
IPSS	International Prognostic Scoring Systém, mezinárodní prognostický skórovací systém
IPSS-R	Revised International Prognostic Scoring Systém, revidovaný mezinárodní prognostický index
ISCN	International Systém for Human Cytogenetic Nomenclature
IST	immunosuppressive therapy, imunosupresivní léčba
ITP	imunitní trombocytopenie
IWG	International Working Group
<i>JAK2</i>	Janussova kináza 2
JAK2/EpoR	erythropoetinový receptor asociovaný s JAK-2
JMML	juvenilní myelomonocytární leukémie
KD	kostní dřeň
LD ARA-C	nízkodávkovaný cytosar
LDH	laktátdehydrogenáza
LEN	lenalidomid
leu	leukocyty
LFS	leukemia free survival, doba do rozvinutí (akutní) leukémie
LIC	liver iron concentration
LOH	loss of heterozygosity, ztráta heterozygosity
LPI	labile iron pool
LR	low risk, nízké riziko
MCV	střední objem erytrocytu
MD-CMML	myelodysplastický podtyp chronické myelomonocytární leukémie
<i>MDM2/HDM2</i>	murine/human double minute 2

MDS	myelodysplastický syndrom
MDS/MPN	myelodysplasticko-myeloproliferativní neoplazie
MDS/MPN-RS-T	myelodysplasticko-myeloproliferativní neoplázií s prstenčitými sideroblasty a trombocytózou
MDS/MPN-U	neklasifikovatelný myelodysplasticko-myeloproliferativní neoplazie
MDS-EB1,2	MDS s excesem blastů 1, 2
MDS-F	MDS s myelofibrózou
MDS-MLD	MDS s dysplázií ve více liniích
MDS-RS	MDS s prstenčitými sideroblasty
MDS-RS-MLD	MDS s dysplázií ve více liniích a prstenčitými sideroblasty
MDS-RS-SLD	MDS s dysplázií v 1 linii a prstenčitými sideroblasty
MDS-SLD	MDS s dysplázií v 1 buněčné linii
MDS-U	MDS neklasifikovatelný
MGUS	monoklonální gamapatie nejasného významu
MCH	střední množství hemoglobinu v erytrocytu
MM	mnohočetný myelom
MP-CMML	myeloproliferativní podtyp chronické myelomonocytární leukémie
<i>MPL</i>	gen pro trombopoetinový receptor
MPN	myeloproliferativní neoplazie
mRNA	messenger RNA
NaF	fluorid sodný
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
neu	neutrofily
NK	přirozený zabíječ, natural killer
<i>NRAS/KRAS</i>	neuroblastoma v-ras oncogene homolog/kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
NTBI	non-transferin bound iron
OS	overall survival, celkové přežití
p53	protein 53
PB	peripheral blood, periferní krev
PC	Physician's Choice, volba lékaře
PD-1	receptor programované buněčné smrti
<i>PDGFRA</i>	gen pro platelet-derived growth factor receptor A
<i>PDGFRB</i>	gen pro platelet-derived growth factor receptor B
PET	pozitronová emisní tomografie
plt	platelets, trombocyty
PMF	primární myelofibróza
PNH	paroxysmální noční hemoglobinurie
PS	performance status
PU.1	transkripční faktor PU.1
PV	polycytemia vera
RA	refrakterní anémie
RAEB	refrakterní anémie s excesem blastů
RAEB-I, II	refrakterní anémie s nadbytkem blastů-I, II
RAEB-T	refrakterní anémie s excesem blastů v transformaci
RARS	refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty
RARS-T	refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty a trombocytózou

RCMD	refrakterní cytopenie s multilineární dysplázií
RCMD-RS	refrakterní cytopenie s multilineární dysplázií a prstenčitými sideroblasty
RCUD	refrakterní cytopenie s unilineární dysplázií
rHuEPO	rekombinantní lidský erythropoetin
RN	refrakterní neutropenie
RNA	ribonucleid acid, ribonukleová kyselina
RNF41	Really Interesting New Gene (RING) finger protein 41
ROS	reactive oxygen species
<i>RP 14</i> gen	gen pro ribozonální protein 14 malé S podjednotky ribozomu
RT	refrakterní trombocytopenie
rtc	retikulocyty
RT-PCR	reverzní transkriptázová polymerázová řetězová reakce
<i>RUNX1</i>	gen pro Runt-related transcription factor 1
sEPO	erythropoetin v séru
<i>SF3B1</i>	gen pro Splicing Factor 3b Subunit 1
sMDS	sekundární myelodysplastický syndrom
SNP	single nucleotide polymorphism, jednonukleotidový polymorfismus
<i>SPARC</i> gen	Secreted Protein, Acidic and Rich in Cystein gen
SPC	souhrn údajů o (léčivém) přípravku
<i>SRSF2</i>	gen pro Serine And Arginine Rich Splicing Factor 2
T.U.	transfusion unit, transfuzní jednotka
TA-GVHD	s transfuzí asociované nemoci štěpu proti hostiteli, transfusion-associated graft-versus-host disease
TBC	tuberkulóza
<i>TET2</i>	tet oncogene family member 2 gen
TGF	transforming growth factor
TIBC	total iron blood capacity, celková vazebná kapacita Fe
tMDS	s terapií asociovaný myelodysplastický syndrom
TNF- α	tumor necrosis alfa
<i>TP53</i>	tumor fosfoprotein 53 gen
<i>TRAF 6</i>	gen pro TNF receptor associated factor 6
TRALI	akutní dechové tíseň asociovaná s transfuzí, transfusion-related acute lung injury
TRAP	telomeric repeat amplification protocol
TRF	terminal repeat fragment
TSH	thyreostimulační hormon
<i>U2AF1</i>	gen pro U2 Small Nuclear RNA Auxiliary Factor 1
ÚHKT	Ústav hematologie a krevní transfúze
VEGF	vascular endothelial growth factor
VFN	Všeobecná fakultní nemocnice
VHR	very high risk
VTE	venózní trombembolismus
W+W	watchful-waiting strategy
WHO	Světová zdravotnická organizace, World Health Organisation
WPSS	WHO prognostický skórovací index
<i>WT1</i>	gen pro Wilmsův tumor 1
ZRSR2	Zinc Finger CCCH-Type, RNA Binding Motif And Serine/Arginine Rich 2

9. Seznam obrázků, tabulek a grafů

9.1. Seznam obrázků

Obr. 1. Patogeneze MDS.

Obr. 2. Genetické a epigenetické mechanismy a příslušné geny mutované u MDS.

Obr. 3. Vyšetření del(5q) metodou FISH u pacienta ze Zlína.

Obr. 4. Unilobulární megakaryocyty u pacienta s 5q- syndromem.

Obr. 5. Ukázka dysplastických změn v červené a bílé řadě v kostní dřeni u pacientky s MDS-MLD.

Obr. 6. A.Ukázka hypercelulární kostní dřene v trepanobiopstickém vzorku od pacientky s MDS-MLD ze Zlínska; B. Ukázka hyperplázie červené řady v trepanobiopstickém vzorku od téže pacientky s MDS-MLD; C. Upřesnění počtu a rozložení blastů v trepanobiopstickém vzorku od stejné pacientky s MDS-MLD

Obr. 7. Různé příčiny (pan)cytopenie.

Obr. 8. Diagnostická kritéria pro CMML dle WHO 2016.

Obr. 9. Diagnostická kritéria pro myelodysplasticko-myeloproliferativní neoplazii s prstenčitými sideroblasty a trombocytózou (MDS/MPN-RS-T).

Obr. 10. Terapeutický algoritmus pro MDS pacienty nízkého rizika dle IPSS podle doporučení ELN.

Obr. 11. Terapeutický algoritmus pro MDS pacienty středního-1 rizika podle doporučení ELN.

Obr. 12. Terapeutický algoritmus pro MDS pacienty středního-2 a vysokého rizika dle IPSS podle doporučení ELN (6).

Obr. 13. Příčiny a následky přetížení železem u MDS.

Obr. 14. Sekční histologické nálezy od polytransfundovaného nechelatovaného pacienta s del(5q).

Obr. 15. Sekční histologické nálezy od polytransfundovaného nechelatovaného pacienta s del(5q).

Obr. 16. Délka celkového přežití (OS) a přežití bez události (EFS) MDS pacientů v HA KNTB Zlín.

Obr. 17. Kadlčková a kol. Příklad diferenciatní diagnostiky pancytopenie.

Obr. 18. Rozdělení pacientů s del(5q) do skupin.

Obr. 19. Praktické informace z článku.

9.2. Seznam tabulek

Tab. 1 Historické názvy pro myelodysplastický syndrom.

Tab. 2. Základních šest kritérií charakterizujících 5q- syndrom.

Tab. 3 Klinické projevy MDS vyplývající z nedostatku krevních elementů.

Tab. 4. Charakteristika dysplazie v periferní krvi a kostní dřeni.

Tab. 5. Krevní testy doporučené při suspiciu na MDS.

- Tab. 6. Chromozomální abnormality považované za předpokládaný důkaz MDS při absenci signifikantní dysplazie.
- Tab. 7. FCM aberace myeloidních blastů, granulocytů a monocytů.
- Tab. 8. Vyšetření u MDS povinná a doporučená dle ELN.
- Tab. 9. Molekulárně genetické metody u MDS.
- Tab. 10. Charakteristiky syndromů pre-MDS.
- Tab. 11. Revidovaná FAB klasifikace.
- Tab. 12. WHO klasifikace MDS 2002.
- Tab. 13. Revidovaná WHO klasifikace 2008.
- Tab. 14. a,b. Revidovaná WHO klasifikace 2016.
- Tab. 15. IPSS (mezinárodní prognostický skórovací systém).
- Tab. 16. Rizikové skupiny dle IPSS.
- Tab. 17. WPSS (WHO prognostický skórovací systém).
- Tab. 18. Rizikové skupiny dle WPSS skóre (podle 85).
- Tab. 19. Výpočet celkového IPSS-R skóre.
- Tab. 20. Cytogenetické rizikové skupiny dle IPSS-R.
- Tab. 21. Stanovení výsledné prognostické kategorie dle IPSS-R
- Tab. 22. CPSS skórovací systém.
- Tab. 23. Výsledné rizikové kategorie CPSS.
- Tab. 24. GFM skórovací systém.
- Tab. 25. Výsledné rizikové kategorie GMF.
- Tab. 26. Léčebná strategie CMML.
- Tab. 27. Charakteristiky chelátorů užívaných v současnosti.
- Tab. 28. Porovnání dispergovatelné a potahované tablety deferasiroxu.
- Tab. 29. Predikce erytroidní odpovědi na EPO a G-CSF u MDS pacientů.
- Tab. 30. Posuzování tělesné výkonnosti podle bodovací škály ECOG a WHO.
- Tab. 31. Posuzování tělesné výkonnosti podle bodovací škály ECOG a WHO.
- Tab. 32. Rozdělení pacientů dle rizika progresu do AML podle tří prognostických indexů.
- Tab. 33. Transfúzně závislí a zároveň chelatovaní pacienti.
- Tab. 34. Základních šest kritérií dle Van den Bergha, charakterizujících 5q- syndrom, a výsledky našeho pacienta.
- Tab. 35. Shrnutí léčebných modalit.

Tab. 36. Vliv kategorizace dle IPSS-R na OS.

Tab. 37. Vliv kategorizace dle WPSS na OS.

Tab. 38. Vliv počtu podaných T.U.E.T.P. na OS a EFS transfuzně závislých nechelatovaných pacientů.

Tab. 39. Pacienti s provedenou magnetickou rezonancí jater a srdce.

Tab. 40. Vliv jednotlivých prediktorů na OS.

Tab. 41. Rozdělení terapeutických modalit do 3 kategorií.

Tab. 42. Shrnutí statistického šetření významnosti testovaných prediktorů.

Tab. 43. Výsledky statistické analýzy a vhodnost prediktorů OS pro sMDS

Tab. 44. Základní charakteristiky souboru pacientů s CMML.

9.3. Seznam grafů

Graf 1. Incidence MDS v HA KNTB Zlín v letech 2002-2015.

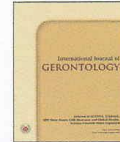
Graf 2. Subtypy a stratifikace rizika CMML pacientů.

10. Fulltexty vlastních prací



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Gerontology

journal homepage: www.ijge-online.com

Original Article

Verification of Survival Predictors in Elderly Patients with Myelodysplastic Syndrome from Outpatient Clinical Practice

Eva Kadlčková^{a*}, Peter Rohoň^b, Tomáš Füst^c, Libor Červínek^d, Anna Jonášová^e, Tomáš Šálek^f, Jiří Tesař^g, Yvetta Stavařová^a

^a Hematology and Blood Transfusion Department, Tomáš Baťa Hospital in Zlín, Czech Republic, ^b Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Czech Republic, ^c Department of Mathematical Analysis and Applications of Mathematics, Faculty of Science, Palacký University Olomouc, Czech Republic, ^d Department of Internal Medicine-Hematology and Oncology, Faculty Hospital Brno, Masaryk University, Brno, Czech Republic, ^e 1st Department of Medicine, General University Hospital, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, ^f Department of Clinical Biochemistry, Tomáš Baťa Hospital in Zlín, Czech Republic, ^g Radiological Department, Tomáš Baťa Hospital in Zlín, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:
Received 22 October 2016
Received in revised form
8 May 2017
Accepted 2 June 2017
Available online xxx

Keywords:
chelation therapy,
myelodysplastic syndrome,
prognostic scoring system,
transfusion

SUMMARY

Background: Myelodysplastic syndrome (MDS) is a clonal disorder affecting older persons. We aimed to analyze the effectiveness of the scoring systems and of the number of received red blood cell (RBC) units in predicting survival.

Methods: The study included an unselected group of 73 patients with MDS who were diagnosed and treated in a single hospital over a period of 12 years. International Prognostic Scoring System (IPSS), revised IPSS (IPSS-R), WHO-Prognostic Scoring System (WPSS), Charlson Age-Comorbidity Index (CACI), and impact of performance status (PS) on overall survival (OS) and event free survival (EFS) were tested. The follow-up of received RBC units was conducted.

Results: The median age at diagnosis was 69.5 years, the median CACI was 3.0. The median survival times of the group were 7.04 and 2.78 years for OS and EFS, respectively. The concordance values of the IPSS, IPSS-R and WPSS are 0.812, 0.892 and 0.889 for OS; 0.785, 0.847 and 0.827 for EFS. The comorbidity index and PS were the only auxiliary criteria when determining the risk and selecting the therapeutic approach in MDS patients. In transfusion-dependent unchelated patients, both OS and EFS were negatively influenced by both higher ferritin levels and the numbers of RBC units; however, the risk does not continue to increase after more than 20 RBC units are administered.

Conclusions: IPSS-R is best suited as a predictor of survival. CACI and PS present auxiliary criteria for determining the risk. Number of received RBC units was detected as a significant predictor of survival. Copyright © 2017, Taiwan Society of Geriatric Emergency & Critical Care Medicine. Published by Elsevier Taiwan LLC. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Myelodysplastic syndrome is a heterogeneous group of hematopoietic disorders characterized by dysplastic changes in blood cell precursors in bone marrow, (pan) cytopenia in peripheral blood, and by various levels of risk for progression into acute leukemia¹. MDS develops either de novo or secondarily due to previous chemo- or radiotherapy. Diagnosis is based mainly on

microscopically detected significant dysplastic changes, an increased percentage of myeloblasts in a bone marrow smear, and identification of cytogenetic aberrations typical for MDS in patients with persistent or progressive cytopenia². Patient survival varies from several months to many years, depending on the MDS subtype, cytogenetic aberrations and depth of cytopenias³. Annual incidence in general population of developed countries is approximately five per 100,000, ranging from approximately 0.1 in patients aged under 40 years to more than 30 in those over 70 years of age and to approximately 50 per 100,000 in the 80+ age category. Thus, MDS represents a serious issue in geriatric hematology⁴.

The key to selecting the proper treatment modality is the classification of the patient into a risk group according to IPSS, IPSS-R or

* Corresponding author. Hematology and Blood Transfusion Department, Tomáš Baťa Hospital in Zlín, Havlíčkovo nábřeží 600, 760 01, Zlín, Czech Republic. Fax: +420 577552327.
E-mail address: kadlcikova@tiscali.cz (E. Kadlčková).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijge.2017.06.001>

1873-9598/Copyright © 2017, Taiwan Society of Geriatric Emergency & Critical Care Medicine. Published by Elsevier Taiwan LLC. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Please cite this article in press as: Kadlčková E, et al., Verification of Survival Predictors in Elderly Patients with Myelodysplastic Syndrome from Outpatient Clinical Practice, International Journal of Gerontology (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijge.2017.06.001>

WPSS⁵⁻⁷. Patient's age and comorbidities play an important role in selecting adequate therapy.

For many years, MDS management was mainly based on two modalities: supportive care including transfusions, and allogeneic stem cell transplantation. Novel drugs routinely used in clinical practice include hypomethylating agents, immunomodulators, or new chelating agents that may affect the natural course of the disease and prolong the survival of MDS patients⁸.

The objectives of the study were to provide a picture of the diagnosis and treatment of an unselected group of MDS patients cared for in the Zlín hospital in the setting of daily hematology practice over a long-term period (2002–2015) and to compare the results with the literature data. Frequently, data in literature is influenced by selection of certain patient groups (e.g. allogeneic transplantation, administration of hypomethylating agents), stemming from the fact that highly specialized hematology centers typically care for patients requiring curative or intensified therapy while those suitable for palliative therapy continue to be cared for in local hematology centers. Therefore, we aimed to determine which of the three prognostic indices is best for predicting OS and EFS. As MDS is mainly an old age disease usually accompanied by multiple comorbidities, we wanted to determine whether or not CACI⁹ is a stronger predictor of OS and EFS than the prognostic indices.

Transfusion of blood products remains the basis of MDS treatment even at the present time. Therefore, special attention is paid to the follow-up of the number of RBC units and serum ferritin levels in the subgroup with RBC transfusion-dependent patients.

2. Material and methods

Between January 1, 2002 and June 30, 2015, a total of 73 patients with MDS and chronic myelomonocytic leukemia (CMML) were diagnosed and treated in the outpatient center of the Hematology and Blood Transfusion Department of Tomáš Baťa Hospital in Zlín, often in collaboration with centers in Brno, Olomouc and Prague. The reason for including patients with CMML is a historical one since the older French-American-British (FAB) classification categorized the condition as belonging to the MDS groups of diseases¹. All patients came from the Zlín District with a population of approximately 200,000 inhabitants. Patient data has been kept in both the Zlín center and the MyDyS Registry 2.0 of the Czech MDS Group, a part of the Czech Medical Association of J. E. Purkyně.

Data selected for statistical analyses comprise sex, age at diagnosis, date of diagnosis and date of death or the last visit, 2008 WHO classification MDS subtype, risk groups according to the IPSS⁵, IPSS-R⁶ and WPSS⁷, presence/absence of cytogenetic aberrations, karyotype according to the IPSS and IPSS-R^{5,6}, presence/absence of bone marrow fibrosis in a bone marrow trephine biopsy sample, presence/absence of secondary MDS, date of progression, transfusion dependence according to the WPSS⁷, total RBC and platelet transfusions, performance status¹⁰, comorbidities expressed as the CACI⁹, treatment modalities used, and presence/absence of progression as of 30 June 2015¹¹. Diagnoses were made based on assessing peripheral blood smears, panoptic staining of sternal puncture samples (May-Grünwald, Giemsa-Romanowski)¹², sternal puncture samples stained to evaluate iron (Perls' reaction)¹³, classical karyotyping, and identification of cytogenetic aberrations typical for MDS in bone marrow using fluorescence in situ hybridization. For some patients, cytogenetic examination and trephine biopsy results are missing as they were not performed at all or valid samples were not obtained.

In 37 patients dependent on RBC transfusions, the follow-up was at 3, 6, 12 and 24 months and then at yearly intervals, starting from the onset of transfusion dependence. The parameters

followed were: ferritin and received RBC units. The data was related to those obtained at the time of diagnosis. Among the subjects, a small cohort of four patients was selected who underwent magnetic resonance imaging (MRI) of the heart using the T2* approach and MRI of the liver.

The patients mainly received outpatient treatment modalities, ranging from a watch and wait approach, transfusions with chelation, to erythropoiesis-stimulating protein (ESP) support, vitamins, immunosuppressants, low-dose chemotherapy (hydroxyurea, low-dose cytarabine), to immunomodulatory therapy with lenalidomide and administration of the hypomethylating agent 5-azacytidine (5-AZA), in cooperation with the centers in Brno, Olomouc and Prague.

Chelating agents were administered to low-risk transfusion-dependent patients with ferritin levels of at least 1000 µg/L. In the first years, only parenteral deferoxamine was used; later, patients included in a study carried out by the Czech MDS Group received deferiprone¹⁴; in the second part of the study period, deferasirox was administered. To reduce or completely eliminate their dependence on transfusions, low-risk patients received ESPs, either alone or in combination with granulocyte colony-stimulating factor. Immunosuppressive therapy with prednisone and/or cyclosporine A was instituted in patients with hypoplastic MDS confirmed by trephine biopsy. Combination chemotherapy (7 + 3) and allogeneic stem cell transplantations were carried out in the referral university hospitals.

All participants signed an informed consent form. This study was approved by the medical ethics committee of the Tomáš Baťa Hospital in Zlín, Czech Republic.

2.1. Statistical methods

Overall survival is defined as the time from diagnosis to death from any cause (event) or the last visit (censoring). Event-free survival is defined as the time from diagnosis to disease progression (a higher degree of cytopenia, higher number of blasts in the bone marrow, progression in the FAB classification) or death from any cause (event) or the last visit (censoring)¹¹. The impact of individual prognostic factors on OS and EFS was assessed by the Cox proportional hazard model. Concordance was used to determine the predictive power of the prognostic indices IPSS, WPSS and IPSS-R. Concordance measures the probability of agreement between survival times in a randomly selected pair of patients and their scores. Agreement means that a patient with a shorter survival time also has a less favorable score. Concordance always ranges from 0.5 (if the score has no predictive value for survival) to 1.0 (if all patient pair scores agree with their survival times). The relationship between two categorical predictors (e.g. the presence of secondary MDS and a prognostic index) was analyzed using contingency tables and a test of independence. The analyses were mostly performed with the Statistica software package; the Cox regression model was implemented in the R software. Effects with p-values below 0.05 were considered statistically significant.

3. Results and discussion

3.1. Sample characteristics

Of the 73 patients, 50 cases (68.5%) had low-risk MDS, comprising refractory anemia (RA), refractory cytopenia with unilineage dysplasia (RCUD), refractory anemia with ring sideroblasts (RARS), refractory cytopenia with multilineage dysplasia (RCMD), unidentified MDS (MDS-U), and MDS with isolated deletion 5q. Another 17 patients (23.3%) were in the high-risk MDS group, that is, subtypes of refractory anemia with excess blasts I and II (RAEB I

and II). The remaining six patients (8.2%) were diagnosed with CMML. In the entire sample, there was a slight preponderance of females (39 patients, 53%). The median age at diagnosis was 69.5 years (range, 38–87 years). Thirteen patients (18%) had secondary MDS or CMML. Cytogenetic aberrations were noted in 28 (42%) out of 66 evaluable patients. Bone marrow fibrosis was present in five of 54 patients who had a valid trephine biopsy sample at the time of diagnosis. Stratification of patients according to the IPSS, IPSS-R and WPSS is shown in Fig. 1. Further, 37 out of all 73 patients were dependent on RBC transfusions, seven of them received chelation therapy (Table 1). All treatment modalities and their combinations are summarized in Fig. 2.

3.2. Predictors of survival

The median survival times of all 73 patients were 7.04 and 2.78 years for OS and EFS, respectively. We first investigated the predictive power of the IPSS, WPSS and IPSS-R in the unselected cohort of patients. Both concordance of the three indices (see 2.1) and their ability to find statistically significant differences between prognostic groups were assessed. The Cox proportional hazard model was used to create a model in which the only predictor of survival (OS or EFS) is the patient's category according to the IPSS, WPSS or IPSS-R. Patients with IPSS (IPSS-R, WPSS) equal to 0 are always considered as the reference group. For OS, the concordance rates of the IPSS, IPSS-R and WPSS were 0.812, 0.892 and 0.889, suggesting that the WPSS is as good a predictor of OS as the IPSS-R. However, there were no statistically significant differences between the first three WPSS categories (i.e. very low, low and intermediate risk). Thus, the best predictor of OS in our patients continued to be, as expected, the IPSS-R, with statistically significant differences between all categories and a reasonable stratification of risk among the categories. It must be stressed that the IPSS has one category less than the IPSS-R, meaning that even if both indices were equally suitable, the IPSS concordance value should be higher. Therefore, the lower concordance value of the IPSS shows that the IPSS-R is a considerably better predictor of OS in this cohort. Similarly, the IPSS-R is the best prognostic index for EFS.

In the present study, valid cytogenetic data for several patients are missing. Those patients could not be classified into prognostic categories according to the IPSS, IPSS-R or WPSS. That is why we decided to verify whether the MDS subtype alone is an effective predictor of OS and EFS. For the purposes of analytical statistics, the 2008 WHO MDS subtypes were first divided into three diagnostic categories as follows: low-risk MDS comprising RA, RCMD, RCUJ and MDS with isolated deletion 5q; high-risk MDS including RAEB I

Table 1
Transfusion-dependent patients receiving chelation therapy.

Patient	IPSS-R	RBC units	Chelating agents	Other treatments
1	Very low	110	DES; FER; EXJ	VIT; ESP + G-CSF
2	High	188	EXJ	5-AZA
3	Low	107	EXJ	VIT; ESP; 5-AZA
4	Low	244	FER; EXJ	VIT; ESP; PRED; LEN cons.
5	NA	56	DES	VIT; PRED; cyclosporine A
6	Low	86	EXJ	VIT
7	Very low	226	FER, DES, EXJ	VIT; LEN cons.; 5-AZA cons.

Cons.: considered; DES: deferoxamine; ESP: erythropoiesis-stimulating protein; EXJ: deferasirox; FER: deferiprone; G-CSF: granulocyte colony-stimulating factor; IPSS-R: Revised International Prognostic Scoring System; LEN: lenalidomide; NA: not available; PRED: prednisone; RBC: red blood cell; VIT: vitamins; 5-AZA: 5-azacytidine.

and II; and CMML, including CMML I and II. Once again, the category was the only predictor in the Cox proportional hazard model. In case of OS, HR = 7.4 for high-risk MDS vs. low-risk MDS, while HR = 11.9 for CMML vs. low-risk MDS. As for EFS, HR = 8.2 for high-risk MDS vs. low-risk MDS, while HR = 13.2 for CMML vs. low-risk MDS. In all four cases, the differences were statistically significant. Thus, the WHO subtype is a relatively good predictor of patient survival if valid cytogenetic data are not available.

In the present study, the median and mean ages of MDS patients at diagnosis were 69.5 and 67.5 years, respectively, which is consistent with literature data^{4,15}. People aged older than 65 years normally have three or more comorbid conditions; the same is true for MDS patients. Comorbidities generally adversely affect survival of patients with malignancies, and considerably influence therapeutic goals^{16,17}. Yet comorbidity scores are not included in the IPSS, IPSS-R or WPSS. In the present study, the median and mean CACI scores were 3.0 and 3.74, respectively. Statistical analysis showed that the CACI score was a significant predictor of both OS (a hazard ratio of 1.22 in patients having a difference of 1 between their CACI scores, $p = 0.02$) and EFS (HR = 1.20, $p = 0.02$). Classification of the CACI scores into five categories to match with the IPSS-R showed that this predictor has less power than the IPSS-R for both OS and EFS. Similarly, the statistical analysis failed to show that the PS score is better at predicting OS and EFS than any of the three prognostic indices.

Despite all the advances in pharmacological therapy of MDS, such as the use of lenalidomide or hypomethylating agents, supportive care including transfusion of blood products remains the cornerstone of treatment¹⁸. Repeated RBC transfusions, however, are associated with iron overload. The amount of iron in the body may be determined by both direct and indirect methods. The

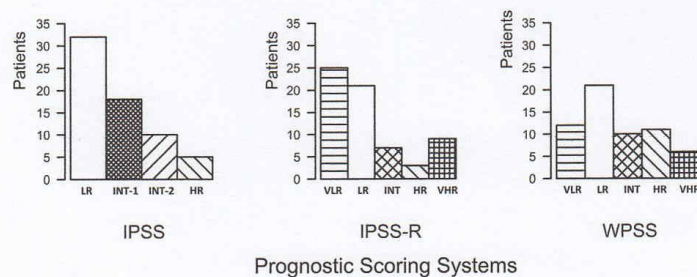


Fig. 1. Stratification of patients by the risk of progression to acute myeloid leukemia. HR: high risk; INT: intermediate risk; INT-1: intermediate-1 risk; INT-2: intermediate-2 risk; IPSS: International Prognostic Scoring System; IPSS-R: Revised International Prognostic Scoring System; LR: low risk; VHR: very high risk; VLR: very low risk; WPSS: World Health Organization Prognostic Scoring System.

Please cite this article in press as: Kadlčková E, et al., Verification of Survival Predictors in Elderly Patients with Myelodysplastic Syndrome from Outpatient Clinical Practice, International Journal of Gerontology (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijge.2017.06.001>

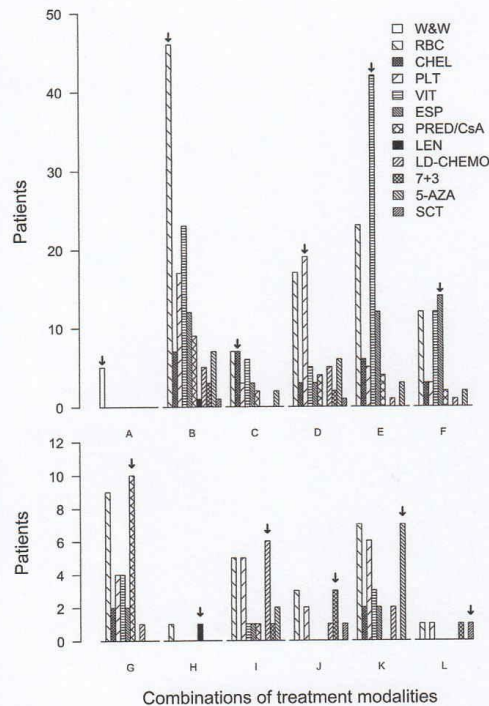


Fig. 2. Overview of treatment modalities. A–L: combinations of treatment modalities. The arrows show the total number of patients that received the particular therapy. ESP: erythropoiesis-stimulating proteins (darbepoetin alfa or recombinant human erythropoietin-rHuEPO); CHEL: chelation therapy (deferioxamine and/or deferasirox and/or deferasirox); LD-CHEMO: hydroxyurea or low-dose cytarabine; LEN: lenalidomide; PLT: platelet transfusion; PRED/CsA: prednisone and/or cyclosporine A; RBC: red blood cell transfusion; SCT: stem cell transplantation; VIT: vitamins and antioxidants (B-group vitamins, folic acid and antioxidants in the form of N-acetylcysteine and flavonoid-rich foods); W&W: watch and wait; 5-AZA: 5-azacytidine; 7 + 3: combination chemotherapy (cytarabine + daunorubicin or idarubicin).

simplest, most available and least expensive approach is the measurement of serum ferritin levels. However, these are only loosely correlated with the degree of iron overload as they are influenced by other factors, such as inflammation, liver damage or neoplasms¹⁹. This is well evidenced by the correlation between ferritin levels and numbers of RBC units received by unchelated patients in the present study. Although the correlation of both variables is positive ($r = 0.22$), it is very small and statistically insignificant. However, ferritin levels were shown to negatively influence both OS and EFS. In the case of OS, the hazard ratio was 1.2 ($p < 0.001$) in groups having a difference of 100 units between their ferritin levels; in the case of EFS, the HR was 1.14 ($p = 0.001$).

The indirect method used in the study for measuring iron overload was MRI of the liver and the myocardium using the T2* R2* approach, allowing semiquantitative assessment of both iron content in the myocardium, and of ventricular function¹⁹. Thus, the small cohort of four patients was selected among subjects in the present study. Observations of individuals suggest that iron overload of organs may occur with serum ferritin levels as low as approximately 500 $\mu\text{g/L}$ (Table 2).

Table 2

Patients undergoing MRI of the liver and heart.

Patient	HIO	CIO	Ferritin	HH	IPSS-R	RBC units	Chelation
1	Yes	No	1342	No	Very low	110	Yes
2	Yes	No	450	No	Low	45	No
3	Yes	No	1116	No	High	188	Yes
4	Yes	No	502	Yes	Very low	0	No

CIO: cardiac iron overload; FERRITIN: ferritin level [$\mu\text{g/L}$]; HH: hemochromatosis S65C heterozygosity; HIO: hepatic iron overload; IPSS-R: Revised International Prognostic Scoring System; RBC: red blood cell.

Iron chelation therapy has been included in all recommendations for treatment of MDS patients in the developed world. There is no consistent answer to the question of when chelation should be initiated. For example, the US National Comprehensive Cancer Network recommends to start chelation when ferritin concentration exceeds 2500 $\mu\text{g/L}$ ²⁰. According to the Czech guidelines, consistent with European recommendations, chelation therapy should be initiated in MDS patients with serum ferritin levels over 1000 $\mu\text{g/L}$ (after administration of approximately 20–25 RBC units), expected to have long-term transfusion dependence and having stable disease without survival-limiting comorbidities⁴. In the light of these facts, the findings concerning the relationship between OS and number of RBC units administered to unchelated patients identified in the present study are of interest. For that purpose, RBC units were classified into four groups as follows: 0, 1–10, 11–20, >20. Compared with baseline (0), the 1–10 group has a significantly higher risk of death (HR = 8.4, $p = 0.01$); this is even higher in the case of the 11–20 group (HR = 22, $p < 0.001$). Interestingly, the risk does not continue to increase after administering more than 20 RBC units. For EFS, the results were very similar (HR = 9.1, $p = 0.001$ for the 1–10 group; HR = 20, $p < 0.001$ for the 11–20 group).

4. Conclusion

The study showed that even for the unselected sample of MDS and CMML patients, any of the three prognostic indices may serve as a sufficiently effective predictor of survival, with the IPSS-R being the best predictor of both OS and EFS. In cases when valid cytogenetic findings are unavailable and patients therefore cannot be classified into prognostic groups, MDS subtypes according to the 2008 WHO classification remain a relatively good predictor of survival. The comorbidity index and PS were found to be only auxiliary criteria when determining the risk and selecting the therapeutic approach in MDS patients. In transfusion-dependent unchelated patients, both OS and EFS were negatively influenced by both higher ferritin levels and the numbers of RBC units; however, the risk does not continue to increase after more than 20 RBC units are administered.

Conflicts of interest

We have no financial or nonfinancial interests related to the material in the manuscript.

Acknowledgements

Supported by grants IGA-LF-2016-001, IGA-LF-2017-007 and MH CR – RVO (FNOL, 00098892).

Abbreviations

5-AZA 5-azacytidine
ESP erythropoiesis-stimulating protein

EFS	event-free survival
FAB	French-American-British
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor
HR	hazard ratio
CACI	Charlson Age-Comorbidity Index
CMML	chronic myelomonocytic leukemia
IPSS	International Prognostic Scoring System
IPSS-R	Revised International Prognostic Scoring System
MRI	magnetic resonance imaging
MDS	myelodysplastic syndrome
MDS/MPS	myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms
OS	overall survival
PS	performance status
RBC	red blood cell
RA	refractory anemia
RAEB	refractory anemia with excess blasts
RARS	refractory anemia with ring sideroblasts
RCMD	refractory cytopenia with multilineage dysplasia
RCUD	refractory cytopenia with unilineage dysplasia
WHO	World Health Organization
WPSS	World Health Organization Prognostic Scoring System

References

- Bennet J, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 1982;51:189–199.
- Komrokji RS, Zhang L, Bennett JM. Myelodysplastic syndromes classification and risk stratification. *Hematol Oncol Clin N Am*. 2010;24:443–457.
- List AF, Vardiman J, Issa JP, et al. Myelodysplastic syndromes. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2004;297–317.
- Malcovati L, Hellstrom-Lindberg E, Bowen D, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European leukemia net. *Blood*. 2013;122:2943–2964.
- Greenberg PL, Cox C, Le Beau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997;89:2079–2088.
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120:2454–2465.
- Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2007;25:3503–3510.
- Steenma DP. Novel therapies for myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol Clin N Am*. 2010;24:423–441.
- Koppie TM, Serio AM, Vickers AJ, et al. Age-adjusted Charlson comorbidity score is associated with treatment decisions and clinical outcomes for patients undergoing radical cystectomy for bladder cancer. *Cancer*. 2008;112:2384–2392. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.23462>. Accessed 30 October 2016.
- Oken MM, Creech RH, Tormey C, et al. Toxicity and response criteria of the eastern cooperative oncology group. *Am J Clin Oncol*. 1982;5:649–655.
- Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006;108:419–425.
- Begemann H, Rastetter J. Staining Methods. In: Begemann H, Rastetter J, eds. *Atlas of Clinical Haematology*. 2nd ed. Berlin, Heidelberg, PA: Springer Berlin Heidelberg; 1972:9–21. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-96116-8>. Accessed 30 October 2016.
- Rath CE, Finch CA. Sternal marrow haemosiderin: a method for the determination of available iron stores in man. *J Lab Clin Med*. 1948;33:81–86.
- Jonášová A. Iron overload in patients receiving frequent blood transfusions and its therapy. *Postgrad Med*. 2012;14:879–886 [In Czech, English abstract]. Available at: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgraduální-medicína/pretizeni-zelezem-u-chronicky-transfundovanych-nemocnych-a-jeho-terapie-467140>. Accessed 30 October 2016.
- Rollinson DE, Howlader N, Smith MT, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001–2004, using data from NAACCR and SEER programs. *Blood*. 2008;112:45–52.
- Della Porta MG, Malcovati L. Clinical relevance of extra-hematologic comorbidity in the management of patients with myelodysplastic syndrome. *Hematologica*. 2009;94:602–606.
- Naqvi K, Garcia-Manero G, Sardesai S, et al. Association of comorbidities with overall survival in myelodysplastic syndrome: development of a prognostic model. *J Clin Oncol*. 2011;29:2240–2240.
- Rose C, Brechignac S, Vassilief D, et al. Does iron chelation therapy improve survival in regularly transfused lower risk MDS patients? A multicenter study by the GFM (Groupe Francophone des Myelodysplasies). *Leuk Res*. 2010;34:864–870.
- Kadlčková E, Rohoň P. New options in the treatment of myelodysplastic syndromes. *Onkologie*. 2014;8:24–33 [In Czech, English abstract]. Available at: <http://www.onkologiecs.cz/pdfs/xon/2014/01/07.pdf>. Accessed 30 October 2016.
- Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2011;86:491–498.

Kazuistika (ne)chelatovaného polytransfundovaného pacienta s 5q minus syndromem

Kadlčková E.¹, Neuwirtová R.², Salajka P.³, Červínek L.⁴, Jonášová A.²

¹Hematologicko-transfuzní oddělení Krajské nemocnice T. Bati, Zlín

²I. interní klinika hematologie Všeobecné fakultní nemocnice Praha, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

³Patologicko-anatomické oddělení Krajské nemocnice T. Bati, Zlín

⁴Interní hematologická klinika Fakultní nemocnice, Brno-Bohunice

Transfuze Hematol. dnes, 21, 2015, No. 3, p. 136-142

SOUHRN

Autoři předkládají případ 60letého pacienta s náhodně zjištěnou výraznou makrocytovou anémií a trombocytózou. Za pomoci paraklinických vyšetření je diagnostikován myelodysplastický syndrom (MDS) typu 5q- syndromu. Pacient je od počátku závislý na transfuzích erytrocytů, zprvu úspěšná chelatace selhává zejména pro neochotu pacienta spolupracovat. V době, kdy je u pacienta jednoznačně indikován lenalidomid, nedaří se pro něj tento preparát získat. Po 53 měsících od diagnózy choroba progreduje do MDS typu RAEB. Aniž by došlo k rozvoji akutní leukemie, umírá pacient pod obrazem hepatorenálního selhání. Na příčině smrti se podílí těžká sideróza orgánů, především jater a srdce. Součástí sdělení je pitevní zpráva a fotodokumentace histologických preparátů post mortem, které dokládají jak hemosiderózu životně důležitých orgánů, tak i patologicko-anatomické změny vedoucí k jejich selhání. Práce ukazuje těžké poškození orgánů, ke kterému dochází u neléčených pacientů při přetížení železem. Dnes však může hematolog u dlouhodobě transfundovaných nemocných s MDS předejít fatálnímu poškození orgánů včas indikovanou a důsledně dodržovanou terapií chelátory železa a pokusit se odstranit závislost na transfuzích podáním erytopoetinu, případně při neúspěchu této léčby podat lenalidomid.

KLÍČOVÁ SLOVA

5q-syndrom, přetížení železem, chelatace železa

SUMMARY

Kadlčková E., Neuwirtová R., Salajka P., Červínek L., Jonášová A.

Case report: (non)chelated, poly-transfused patient with 5q minus syndrome

The authors present a case of a 60-year-old patient with incidentally uncovered significant macrocytic anaemia and thrombocytosis. Myelodysplastic syndrome, namely 5q- syndrome was diagnosed. From the beginning, the patient was dependent on red blood cell transfusions. Chelation was initially successful, but later it failed especially due to the patient's non compliance. At the time when treatment with lenalidomide was clearly indicated, it was not possible to obtain this medication. At 53 months from diagnosis, the disease progressed to RAEB. The patient died of liver and renal failure without developing acute leukaemia. Severe hemosiderosis of the organs, especially the liver and heart, was one of the causes of death. The article includes the autopsy report and photographs of the relevant histological slides, showing hemosiderosis of the vital organs and pathological-anatomical changes that led to their failure. The paper shows severe organ damage that occurs in patients with untreated iron overload. However, haematologists can currently prevent fatal organ damage in long-term transfused patients suffering from myelodysplastic syndrome with the aid of timely and consistent iron chelator therapy and by attempting to eliminate the dependence on transfusions using erythropoietin or in case of its failure by administering lenalidomide.

KEY WORDS

5q-syndrome, iron overload, iron chelation

ÚVOD

5q- syndróm je podjednotka myelodysplastického syndromu (MDS) charakterizovaná izolovanou delecí dlouhého ramene 5. chromozomu, jež zahrnuje konstantně oblast v místě 5q31-q32 (resp. 33) [1]. Základních šest kritérií, charakterizujících tento podtyp MDS, popsal v r. 1974 van den Berghe [2]. Kromě výše uvedené izolované del(5q) jde o makrocytovou anémii, normální nebo zvýšený počet trombocytů, hypoplazii červené řady, normální počet blastů a zvláštní hypolobulizované megakaryocyty. Častější výskyt je zaznamenán u žen [3]. 5q- syndrom patří k podtypům MDS s nejpříznivější prognózou, dlouhou celkovou délkou života a pozdní transformací do akutní myeloidní leukemie (AML). Pokud jsou ale pacienti s touto diagnózou dlouhodobě závislí na transfuzích a zároveň rezistentní na erythropoetin, zkracuje jim život sideróza důležitých orgánů (zejména jater a srdce). V posledních letech jsou však našťástí k dispozici chelátory železa, kterými dovedeme zmírnit ukládání železa v orgánech. Navíc, zejména u pacientů s 5q- syndromem, představuje v současnosti účinnou cílenou léčbu imunomodulační látka lenalidomid [4, 5]. Uvádíme kazuistiku nemocného jako typický případ pacienta s refrakterní anémií s rozvojem těžké siderózy po opakovaných transfuzích, který nebyl z různých důvodů adekvátně léčen a u kterého je názorně dokumentováno poškození orgánů hromaděním železa.

POPIS PŘÍPADU

Náš pacient (*1946) byl v srpnu 2006 odeslán k vyšetření makrocytové anémie do Hematologické ambulance Krajské nemocnice T. Bati ve Zlíně (HA KNTB). Tou dobou byl hospitalizován na Interním oddělení Městské nemocnice Slavičín k aplikaci analgetických infuzí pro radikulární bolesti. V osobní anamnéze měl tento pacient kromě vertebrogenního algického syndromu také stav po hematemeze při abúzu analgetik a při ezofagitidě a incipientní nefropatii na podkladě

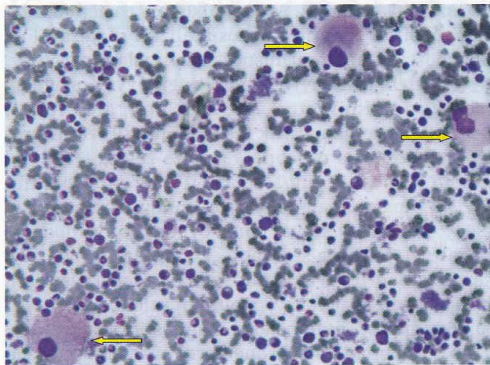
nadužívání analgetik. Abúzus alkoholu pacient opakovaně popíral. Při přijetí k hospitalizaci si stěžoval na únavnost, námahovou dušnost a perimaleolární otoky.

Vyšetření v HA KNTB potvrdilo nejen výraznou makrocytovou anémii (htc 0,254, hgb 87 g/l, MCV 101 fl), bez deficiencie hematinik (Fe 46,9 $\mu\text{mol/l}$, transferin 1,98 g/l, celková vazebná kapacita železa (TIBC) 50 $\mu\text{mol/l}$, feritin 573 $\mu\text{g/l}$, foláty 11,2 ng/ml, vitamin B12 571,9 pg/ml), ale také významnou trombocytózu ($903 \times 10^9/l$). Bílý krevní obraz byl bez pozoruhodností (tab. 1). Hladina sérového erythropoetinu u zvýšena na 560 IU/l. Základní biochemická vyšetření byla v normě, patrná byla pouze hraniční elevace ALT (0,86 mmol/l). Diferenciální diagnosticky bylo zvažováno myeloproliferativní onemocnění s trombocytózou (MPO-T) nebo reaktivní změny v krevním obraze při suspektní malignitě nebo těžším zánětu. Vyšetření na mutaci V617F genu JAK-2 a fúzní gen BCR-ABL byla negativní. Sonografické vyšetření břicha potvrdilo mírnou hepatomegalii, vs. steatózu a drobné korové a intrasinusové cysty pravé ledviny. Echokardiografické vyšetření prokázalo drobný perikardiální výpotek za zadní stěnou levé komory, jinak normální nález s EF 0,67. Vyšetření na protilátky anti-HAV, anti-HCV a HBsAg byla negativní, prokázána byla pozitivita anamnestických protilátek proti EBV a CMV. Výsledek trepanobiopsie nepomohl k určení diagnózy, neboť v poškozeném vzorku dřeni bylo možno stanovit jen silně hypocelulární dřev s redukovanou erytro- a granulocytopenií a zmnoženými megakaryocyty. Zato v nátěru kostní dřeni byly nalezeny charakteristické unilobulární megakaryocyty. Erytropoéza zde činila jen 7 % a byla bez výraznějších morfologických odchylek. Řada bílá byla výrazně hypogranulovaná, ojediněle bylo vidět pseudopelgeroidní tyčky. Blasty nebyly zmnoženy, čítaly jen 1,6 %. Megakaryocyty byly zmnoženy, nebyly v trsech, obsahovaly polymorfni, často dysplastická jádra, nejvíce však převládala malá unilobulární jádra (obr. 1). Diagnózu 5q- syndromu později potvrdil výsle-

Tab. 1 Vývoj krevního obrazu a sérového feritinu u pacienta v čase

Datum	Událost	hgb	tr	leu	ANC	% bl	feritin
8/2006	úvodní KO	87	903	5,4	3,3	0	573
7/2007	nasazení deferipronu	76	562	4,6	2,0	0	2188
4/2008	vysazení deferipronu	79	124	2,5	0,9	0	1607
10/2008	1. pokus o nasazení LEN	78	67	3,8	1,7	0	2977
3/2010	2. pokus o nasazení LEN	83	22	4,4	1,9	0	5244
3/2011	pokus o nasazení 5-AZA	80	11	4,3	2,2	5	5167
9/2011	KO několik dní před smrtí	81	5	5,2	1,4	4	nevyš.

Legenda: KO - krevní obraz, hgb - hemoglobin v g/l, tr - počet trombocytů $\times 10^9/l$, leu - počet leukocytů $\times 10^9/l$, ANC - absolutní počet neutrofilů $\times 10^9/l$, % bl - procento blastů v nátěru obvodové krve, feritin - sérový feritin v $\mu\text{g/l}$, LEN - lenalidomid, 5-AZA - 5-azacytidin



Obr. 1 Unilobulární megakaryocyty v panopticky obarveném nátěru kostní dřeně

dek cytogenetického vyšetření kostní dřeně z Laboratoře molekulární cytogenetiky v Brně: 46, XY, del(5)(q14q35.2), FISH 5q31: delece oblasti 5q31 v 82 % interfázních jader. Toto vyšetření také umožnilo zařadit pacienta do rizikové skupiny podle mezinárodního prognostického skórovacího systému (IPSS 0, WPSS 1, IPSS-R 1,5).

Pacient užíval pyridoxin 3 x 2 tbl a byl od počátku závislý na transfuzích (měsíčně cca 4 T.U. erytrocytových transfuzních přípravků (ETP). Erytropoézu stimulační proteiny (ESP) nebyly v léčbě pacienta použity jednak vzhledem k nízké pravděpodobnosti léčebné odpovědi, jednak z ekonomických důvodů.

V době od července 2007 do dubna 2008 byl úspěšně chelátován preparátem deferipron v dávce 2–6 tbl denně. Feritin klesl z 2 188 na 1 607 $\mu\text{g/l}$. Tato léčba byla bohužel ukončena pro polékovou leukopenii s neutropenií a progredující trombocytopenií (viz tab. 1). Při superkonziliárním vyšetření v červenci 2008 v Hematologické ambulanci Interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Brno-Bohunice byl pacientovi nasazen deferasirox v dávce 2 tbl denně. Kontrolní hodnoty feritinu však byly neuspokojivé (5258...4425...5252...6072 $\mu\text{g/l}$) a při pohovorech v naší ambulanci vyšlo najevo, že si pacient tuto léčbu sám snižoval, až nakonec přestal lék užívat docela a už nikdy se nepodařilo ho přesvědčit, že je tato léčba nutná. Stejně tak opakovaně odmítl i kontinuální infuzi deferoxaminu za hospitalizace.

Ve snaze pacienta zbavit závislosti na transfuzích byla v říjnu 2008 podána prof. Doubkem žádost o povolení lenalidomidu, která byla pojišťovnou zamítnuta s odůvodněním, že je lenalidomid povolen jen pro léčbu myelomu. Pacient byl tedy dále pouze transfundován, při kontrolních vyšetřeních byla pozorována rychle

progredující trombocytopenie, zatímco nález v obvodové krvi zůstával bez záchytu blastů mikroskopicky. V polovině března 2010 byl pacient odeslán k superkonziliárnímu vyšetření a eventuálnímu zahájení léčby lenalidomidem v rámci *companionate use* programu do Hematologické ambulance Všeobecné fakultní nemocnice (HA VFN) v Praze. Při tomto vyšetření byla v krevním obraze zřejmá pokračující bicytopenie (viz tab. 1) a provedená trepanobiopsie prokázala těžce hypocelulární kostní dřeň s myelodysplastickými změnami, bez zmnožení blastů, s přítomností ALIP fenoménu a hypolobulizovaná jádra megakaryocytů. V cytogenetickém nálezu bylo zachyceno: 46, XY, del(5)(q14q35.2) [10], mBAND: del(5)(q14q35.2) [6], FISH bez delece 7, přítomna delece v oblasti 5q31 v 60,5 % interfázních jader. Pacient nebyl do studie s lenalidomidem zařazen pro trombocytopenii. Nadále je tedy transfundován na stacionárii HTO KNTB Zlín, přibývá diagnóza diabetes mellitus II. typu kompenzovaného dietou a primární hypothyreózy v terénu difúzní lymfoidní thyreoiditidy.

Při kontrole v polovině března 2011 bylo nalezeno 5 % blastů v nátěru obvodové krve (viz tab. 1), při vyšetření periferní krve průtokovým cytometrem bylo identifikováno 7 % blastů myeloidní linie. Pacient byl proto objednan k vyšetření a případnému zahájení léčby 5-azacytidinem do HA VFN k dr. Jonášové. Při tomto vyšetření je verifikována progresse do MDS typu RAEB II (10,3 %, resp. 13,8% myeloblastů ve vyšetření kostní dřeně a periferní krve průtokovou cytometrií, podle trepanobiopsie hypoplastická kostní dřeň s dysplastickými změnami ve všech 3 řadách, v cytogenetickém nálezu 0 mitóz, FISH nebyla provedena). Pacient nakonec nesehlasí se zařazením do studie a je dále ambulantně transfundován.

V květnu 2011 je hospitalizován na Interní klinice Krajské nemocnice T. Bati Zlín pro horečnatou infekci a hlubokou trombocytopenií (tab. 1). Při přijetí je zjištěna koagulopatie (aPTT-R 1,4, INR 1,52, fbg 1,8 g/l), patologie jaterních testů (bilirubin celkový 21 $\mu\text{mol/l}$, ALT 2,98 $\mu\text{kat/l}$, AST 1,82 $\mu\text{kat/l}$, GMT 1,6 $\mu\text{kat/l}$, ALP 1,08 $\mu\text{kat/l}$) a lehká hypalbuminemie dosahující 30,7 g/l. Protilátky anti-HAV a anti-HCV, HBsAg a genetická vyšetření na hemochromatózu jsou negativní. Další laboratorní vyšetření identifikují anamnestické protilátky proti CMV a EBV a normální hladinu sérového ceruloplasmínu. Při ultrazvukovém vyšetření břicha je popsáno jednak zvětšení jater na 15–16 cm, s vyšší a zrnitější echogenitou, jednak splenomegalie více než 16 cm v dlouhé ose. CT vyšetření konstatuje hepatomegalii bez zřetelných ložiskových či jiných fokálních změn, splenomegalii dosahující 19 cm v dlouhé ose, známky počínající portální hypertenze a ascites. Biopsie jater

není s ohledem na těžkou trombocytopenii a koagulopatii provedena a diagnóza je uzavřena jako cirhóza jater, v. s. na podkladě hemosiderózy u polytransfundovaného pacienta, stupně B podle Childovy-Pughovy klasifikace. Koncem září 2011 je potom pacient pro progredující ascites, známky metabolického rozvratu a těžkou bicytopenii (viz tab. 1) znovu odeslán k hospitalizaci, během níž odmítá jídlo, tekutiny i veškerou medikaci a po několika dnech umírá.

Patologicko-anatomická pitva

V pitevním protokolu jsou jako základní onemocnění označeny myelodysplastický syndrom typu RAEB II a difúzní mikronodulární cirhóza jater. Játra jsou zde popsána jako velikostí přiměřená, avšak s hrboatým povrchem, tuhé konzistence, se setřelou strukturou na řezu a s malým prokrvením. Mezi komplikacemi jsou na prvním místě uvedeny hemosideróza jater, pankreatu a sleziny vysokého stupně. Makroskopicky je pankreas popisován jako přiměřeně velký, hrubě zrnitý a tukem prorostlý, zatímco slezina je zvětšená na 570 g, s napjatým a ztluštělým pouzdem a nezřetelnými lymfatickými uzlíky. Dále jsou přítomny známky hemoragické diatézy v podobě disperzních kožních petechií a sufuzí, plicních hemoragií a mnohočetných ekchymóz sliznice žaludku. Mezi komplikacemi figurují také edém plic vysokého stupně, kolaps levé plíce, levostranný hydrotorax a ascites. Za příčinu smrti je označeno selhání jater a ledvin. Pitevní nález sledává obě ledviny makroskopicky intaktní, avšak mikroskopický nález dokládá hemosiderinová depozita jak v ledvinných glomerulech, tak i v kanálcích. Depozita hemosiderinu jsou rovněž patrna i v buňkách srdečního svalu, zatímco srdce je popisováno jako velikostí přiměřené, s malým množstvím jantarové tekutiny v perikardu. Chlopně pravého i levého srdce jsou intaktní. Svalovina pravé komory činí 2 mm a je bez ložiskových změn, svalovina levé komory je 10 mm silná, tuhá a má hnědočervenou barvu. Na výstelce hrudní aorty jsou vidět ojedinělé vazivové pláty a většité tepny jsou jemné, bez zúžení průsvitu. V závěrečné epikríze je uvedeno, že 65letý muž s MDS RAEB II a jaterní cirhózou zmírá na selhání jater a ledvin, dále je přítomna hemosideróza jater, sleziny a pankreatu vysokého stupně.

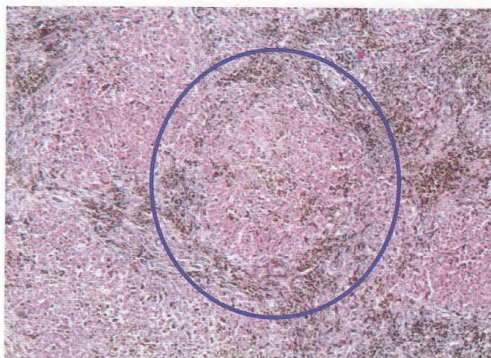
DISKUSE

Navzdory pokrokům ve farmakoterapii MDS, jakými jsou použití lenalidomidu nebo hypometylačních látek, zůstává pilířem léčby podpůrná terapie, včetně podávání transfúzních přípravků [6]. Opakované transfuze erytrocytů však s sebou přinášejí pro-

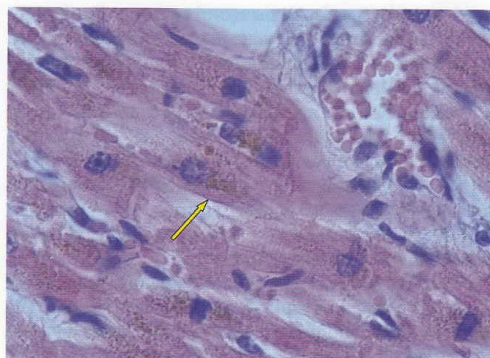
blém přetížení železem. Jedna T. U. ETP totiž představuje přísun asi 200–250 mg volného Fe. Náš pacient, který za svoji transfúzní „kariéru“ dostal 244 T. U. ETP, tedy obdržel neuvěřitelných 48,8–61,0 gramů volného železa, což při denní exkreci Fe 1–1,5 mg a bez chelatační terapie muselo zákonitě vést k těžké sideróze.

Situaci našeho pacienta, stejně jako i mnoha dalších MDS nemocných, mohlo ještě dále zhoršovat zvýšené uvolňování železa z buněk při inefektivní erytropoéze a zvýšená resorpce Fe z gastrointestinálního traktu, která je způsobená sníženou hladinou hepcidinu. Podle některých autorů bývá exprese hepcidinu v případě MDS pacientů blokována dřeňovým růstovým diferenciacním faktorem 15 (GDF 15), jež se zvýšeně uvolňuje v kostní dřeni při inefektivní erytropoéze [7]. Tento mechanismus však u našeho pacienta, který měl hypoplastickou erytropoézu, ustupuje poněkud do pozadí. Na jeho nízké hladině hepcidinu však mohla participovat i postupně se prohlubující hepatopatie. Zde šlo vlastně o bludný kruh: čím méně hepcidinu játra vyprodukovala, tím více se vstřebalo Fe a tím více docházelo k dalšímu poškození jater, až nakonec pacient dospěl od preexistující jaterní steatózy při stavu po prodělaných infekcích EBV a CMV k jaterní cirhóze a selhání jater.

U nemocných s hromaděním železa katalyzuje volné netransferinové Fe vznik kyslíkových radikálů (ROS-reactive oxygen species), které následně vedou k oxidativnímu stresu buňky a narušení makromolekul proteinů, DNA a peroxidaci lipidů [8]. Následuje poškození buněčných organel, membrán, zánik buňky a poškození tkání a orgánů. Současně dochází ke zvýšené syntéze kolagenu v důsledku indukce tvorby transformačního růstového faktoru beta 1 (TCFβ1) [7]. K poškození orgánů u chorob provázených přetížením Fe rovněž přispívá ukládání nadměrného množství nerozpustných komplexů Fe v tkáních a orgánech [8]. V rámci siderózy je v povědomí kliniků dobře známé poškození jater, kde dochází k hemosideróze, fibróze a cirhóze. Méně známé je, že dochází k sideróze myokardu, rozvíjí se kardiomyopatie, která zejména u starších osob přispívá k selhání srdce [7, 8]. Chronická expozice netransferinovému Fe vede totiž k inhibici myokardiálních Tn kanálů, jež má za následek přetížení kalcium, vznik arytmií a rozvoj diastolické a systolické dysfunkce myokardu [9]. V případě našeho pacienta lze tedy na základě histologického průkazu hemosiderinových depozit v buňkách srdečního svalu a tuhé konzistence svaloviny levé komory popsané v pitevním protokolu dovozovat, že se na bezprostřední příčině smrti mohly podílet také arytmie a srdeční selhání při restriktivní



Obr. 2 Cirhotický nodulus s hnědými depozity hemosiderinu, hematoxylin-eosin



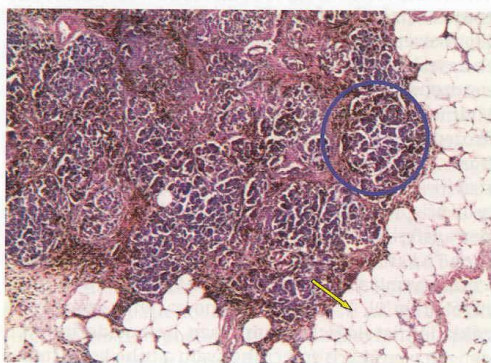
Obr. 3 Depozita hemosiderinu v buňkách srdečního svalu, hematoxylin-eosin

kardiomyopatii. Pohotovost ke vzniku arytmií mohla umocnit i iontová a minerálová dysbalance v rámci metabolického rozvratu, který byl jedním z důvodů poslední hospitalizace pacienta, a také hypoxemie myokardu při anémii. Kromě jater a myokardu se nadbytečné železo ukládá i v pankreatu s rozvojem bronzového diabetu a také v dalších endokrinních orgánech [7, 8, 10]. Je tedy možné, že se na rozvoji diabetu u našeho pacienta mohlo podílet poškození pankreatu netransferinovým železem. Ve shodě s uvedenými údaji jsou fotografie histologických preparátů z jednotlivých orgánů *post mortem* (obr. 2-5).

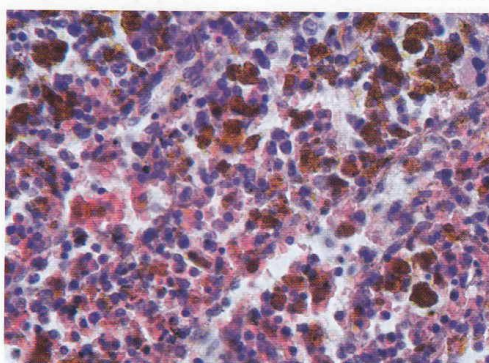
Nad rámec běžných literárních údajů jsou však naše snímky ledvinného glomerulu a tubulu

s depozity hemosiderinu (obr. 6 a 7), které na první pohled korespondují s ledvinným selháním, jež figuruje jako jedna z příčin smrti v pitevní zprávě. Avšak vzhledem k tomu, že byly ledviny makroskopicky zcela intaktní, nabízí se jako další možná příčina selhání ledvin také hepatorenální syndrom, který je definován jako funkční selhání ledvin při jaterním onemocnění s portální hypertenzí [11]. Pro případný společný podíl diabetické a analgetické nefropatie na selhání ledvin našeho pacienta nemáme oporu v pitevním protokolu, chybí histopatologický průkaz.

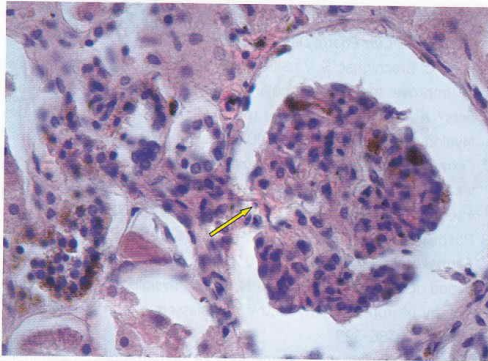
Nicméně, celá tato diskuse dokládá jednak nutnost včasné a účinné chelatace u transfuzně závislých



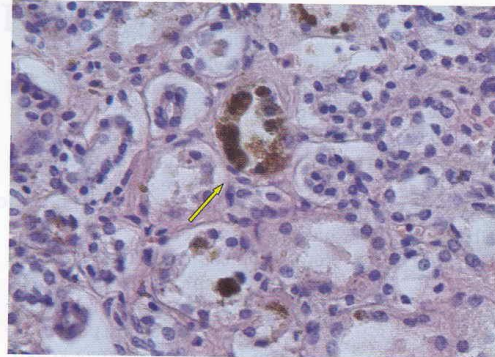
Obr. 4 Hemosiderinová depozita v lalůčku pankreatu (modrá elipsa) a steatóza pankreatu (žlutá šipka), hematoxylin-eosin



Obr. 5 Mohutná depozita hemosiderinu ve slezině, hematoxylin-eosin



Obr. 6 Ledvinný glomerulus s hnědými depozity hemosiderinu, hematoxylin-eosin



Obr. 7 Ledvinný kanálek s hemosiderinovými depozity, hematoxylin-eosin

MDS pacientů, jednak potřebu pokusit se tuto závislost zrušit účinnou léčbou. Léčba ESP (erytropoézu stimulující proteiny) je indikována u nemocných s hladinou hgb < 90 g/l nebo vyššími hodnotami při manifestních příznacích anémie, hladinou sérového erytropoetinu v séru < 500 IU/l (při čemž maximální efekt lze očekávat u nemocných s hladinou erytropoetinu < 150–200 IU/l) a transfuzní závislostí na ≤ 2 T. U. erytrocytů měsíčně [12]. Tato kritéria náš pacient nespĺňoval, takže u něj nebyly ESP v léčbě nasazeny. Zásadním rozhodnutím pro našeho pacienta bylo zamítavé stanovisko pojišťovny k léčbě lenalidomidem, což se odehrálo v době, kdy měl pacient ještě dostatečnou hladinu trombocytů k zahájení léčby tímto preparátem, který mohl odstranit nebo zmírnit jeho závislost na transfuzích. Náš pacient měl v době diagnózy trombocytózu a počátek postupně progredující trombocytopenie spadá do období užívání deferipronu (viz tab. 1). Souhrn údajů o léčivém přípravku (SPC, summary of product characteristics) pro deferipron však trombocytopenii jako nežádoucí účinek neuvádí. Jestliže trombocytopenie nepatří do obrazu 5q- syndromu [2, 3], nabízí se v první řadě jako příčina poklesu destiček progresse do MDS typu RAEB. Náš pacient ale při trepanobioptickém a cytogenetickém vyšetření kostní dřeně, jež bylo provedeno až za 2 roky od započetí poklesu trombocytů, stále vykazuje pouze znaky MDS s nízkým rizikem. Takže za prolomením procesu efektivní megakaryopoézy u pacienta s 5q- syndromem mohly stát buď selhávající kostní dřeň a zhoršující se funkce jater při přetížení Fe, případně rozvoj anti HLA protilátek u polytransfundovaného pacienta, nebo také hypersplenismus, který je popi-

sován jak při vyšetření zobrazovacími metodami, tak v pitevní zprávě.

ZÁVĚR

Náš pacient nezemřel na progresi MDS do akutní leukemie, ale v příčinné souvislosti se selháním životně důležitých orgánů, na jejichž poškození se výraznou měrou podílelo přetížení železem. Originálním pozorováním je fotograficky dokumentovaná těžká hemosideróza ledvin. Uvedená kazuistika dokládá nutnost účinné chelatace těch níže rizikových, polytransfundovaných MDS pacientů, u kterých se nepodaří jejich závislost na transfuzích odstranit cílenou léčbou.

Seznam použitých zkratk

5-AZA	- 5-azacytidin
ABL1	- gen Abelsonovy myši leukemie 1
ALP	- alkalická fosfatáza
ALT	- alanin amino-transferáza
AML	- akutní myeloidní leukemie
aPTT-R	- aktivovaný parciální trombinový čas - poměr
AST	- aspartát amino-transferáza
BCR	- brakepoint cluster region
BCR-ABL	- fúzní gen a protein
CMV	- cytomegalovirus
CT	- počítačová tomografie
EBV	- virus Ebsteina-Barrové
EF	- ejekční frakce
ESP	- erytropoézu stimulující proteiny
ETP	- erytrocytové transfuzní přípravky
fbg	- fibrinogen
Fe	- železo
FISH	- fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace

GDF 15	- growth differentiation factor 15, růstový diferenciační faktor 15
GMT	- gamaglutamyl-transferáza
HA KNTB	- hematologická ambulance Hematologicko-transfuzního oddělení Krajské nemocnice T. Bati
HA VFN Praha	- Hematologická ambulance Všeobecné fakultní nemocnice Praha
HAV, HCV	- virus hepatitidy A, C
HbsAg	- australský antigen
HTO KNTB Zlín	- Hematologicko-transfuzní oddělení Krajské nemocnice T. Bati
INR	- international normalized ratio, mezinárodní normalizovaný poměr pro vyjádření hodnoty Quickova koagulačního testu
IPSS	- international Prognostic Scoring System, Mezinárodní prognostický skórovací systém
IPSS-R	- Revidovaný mezinárodní prognostický systém
JAK-2	- gen pro Janusovu kinázu 2
KO	- krevní obraz
MDS	- myelodysplastický syndrom
MPO-T	- myeloproliferativní onemocnění s trombocytózou
RAEB	- refrakterní anémie s excesem blastů
ROS	- reactive oxygen species, kyslíkové radikály
TGFβ1	- transformační růstový faktor beta 1
TIBC	- total iron blood capacity, celková vazebná kapacita železa
v.s.	- velmi suspektní
WPSS	- WHO Prognostic Scoring System, WHO prognostický skórovací systém

LITERATURA

- Žídková M, Voglová J, Bělohávková P, et al. Novinky v klasifikaci MDS a stanovení prognózy dle WPSS. *Transfúze Hematol dnes*, 2010;16(1):42-46.
- Van den Berghe H, Cassiman JJ, David G, et al. Distinct haematological disorder with deletion of long arm of no. 5 chromosome. *Nature* 1974;251:437-438.
- Neuwirtová R, Jonášová A, Čermák J, a kol. Analýza nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) s delecí dlouhého ramene 5. chromozomu (del(5q)), sledovaných Českou MDS pracovní skupinou. Význam pro diagnostické zařazení a určení prognózy. *Transfúze Hematol dnes*, 2009;15:204-209.
- List A, Dewals G, Bennett J, et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Eng J Med*, 2006;355(14):1456-1465.
- Komrokji RS, List A. Lenalidomide for treatment of myelodysplastic syndromes. *Curr Pharm Des*, 2012;18:3198-3203.
- Rose C, Brechignac S, Vassilief D, et al. Does iron chelation therapy improve survival in regularly transfused lower risk MDS patients? A multicenter study by the GFM (Groupe Francophone des Myelodysplasies). *Leuk Res*, 2010;34(7):864-870.
- Čermák J. Přetížení železem - novinky v patogenezi a léčbě. Vnitřní lékařství; 90 let doc. MUDr. Dušana Mrkose, CSc., XXVIII. dny mladých internistů. *Sborník abstrakt*, 2009;55(Suppl 1):59-63.
- Pospíšilová D. Současný přístup k léčbě přetížení železem. *Farmakoterapie*, 2010;6(1):84-90.
- Wood JC, Enriquez C, Ghugre N, et al. Physiology and pathophysiology of iron cardiomyopathy in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci*, 2005;1054:386-395.
- Penka M, Bulíková A. *Neonkologická hematologie*: 2. doplněné a zcela přepracované vydání. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009, s. 25-38.
- Wadei HM, Mai ML, Ahsan N, et al. Hepatorenal syndrome: pathophysiology and management. *CJASN*, 2006;1(5):1066-1079.
- Čermák J, Jonášová A. *Doporučené diagnostické a léčebné postupy u nemocných s myelodysplastickým syndromem*. Vydala Sekce pro myelodysplastický syndrom České hematologické společnosti ČLS JEP, Praha 2009.

Poděkování

Práce byla podpořena studentským grantem Univerzity Palackého IGA-LF-2015-001.

Podíl autorů na rukopisu

KE - vyšetřování a léčba pacienta, napsání rukopisu
 NR - kontrola a revize rukopisu
 SP - poskytnutí obrazové dokumentace a odborného komentáře k ní
 ČL, JA - vyšetřování a léčba pacienta, poskytnutí dokumentace

Prohlášení autorů

Autorka práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou. Toto prohlášení se týká i všech spoluautorů.

Doručeno do redakce: 16. 3. 2015

Přijato po recenzi: 12. 5. 2015

MUDr. Eva Kadlčková
 Hematologicko-transfuzní oddělení
 Krajské nemocnice T. Bati
 Havlíčkovo nábřeží 600
 760 01 Zlín
 e-mail: kadlckova@bnzlin.cz

Případ diferenciální diagnostiky pancytopenie

Kadlčková E¹, Rohoň P², Navrátil M³, Křen L⁴, Zimová I⁵, Palíšek J⁶, Staniček J⁷, Ryšavý I⁸

¹Hematologicko-transfuzní oddělení Krajské nemocnice T. Bati Zlín,

²Hemato-onkologická klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Palackého Olomouc,

³Interní hematoonkologická klinika (IHOK) Fakultní nemocnice Brno-Bohunice,

⁴Ústav patologie Fakultní nemocnice Brno-Bohunice,

⁵Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny (KARIM) Fakultní nemocnice Brno-Bohunice,

⁶Radiodiagnostické oddělení Krajské nemocnice T. Bati Zlín,

⁷Oddělení nukleární medicíny Masarykova onkologického ústavu Brno, Žlutý kopec,

⁸Interní klinika Krajské nemocnice T. Bati Zlín

Transfuzní Hematol. dnes, 20, 2014, No. 3, p. 59–66

SOUHRN

Náplní sdělení je případ diferenciální diagnostiky 47letého pacienta, který byl v srpnu 2012 přijat na Interní kliniku Krajské nemocnice Tomáše Bati ve Zlíně pro těžkou pancytopenii. Protože úvodní vyšetření směřující k vyloučení zánětu, tumoru, infekce a systémového onemocnění byla negativní, bylo vysloveno podezření na myelodysplastický syndrom. Aspirát kostní dřeně byl nevytěžný, trepanobiopsie však nepotvrdila přítomnost myelodysplastického syndromu. Pacient se rychle stal závislým na transfuzích, opakovaně prodělával infekce. Další diferenciálně diagnostický proces komplikoval sám pacient svými opakovanými negativními reversy stran interní hospitalizace. Na opakovaných vyšetřeních počítačovou tomografií (CT) byla patrná narůstající splenomegalie a poté i vícečetná osteoplastická a smíšená ložiska ve skeletu pánve, která ukazovala na pravděpodobnou malignitu. Pacient byl proto odeslán k dalšímu došetření na Interní hematoonkologickou kliniku Fakultní nemocnice Brno-Bohunice. Zde bylo indikováno celotělové vyšetření pozitronovou emisní tomografií v kombinaci s CT a nalezeno rozsáhlé ložisko viabilní nádorové tkáně v hrudní stěně. Byl proveden odběr histologie a započata prefáze kortikoidy, po které ale následovalo renální selhání při syndromu nádorového rozpadu. Pacient zemřel pod obrazem multiorgánového selhání a diseminované intravaskulární koagulopatie v den stanovení histologické diagnózy diseminovaného nediferencovaného sarkomu.

KLÍČOVÁ SLOVA

myelodysplastický syndrom, (pan)cytopenie, sarkom

SUMMARY

Kadlčková E, Rohoň P, Navrátil M, Křen L, Zimová I, Palíšek J, Staniček J, Ryšavý I
Differential diagnosis of pancytopenia – a case report

The aim of this paper is to report the differential diagnosis undertaken in a 47-year-old patient who was admitted for severe pancytopenia at the Department of Internal Medicine, Tomas Bata Regional Hospital in Zlín in August 2012. As the initial examinations regarding inflammation, tumours, infections and systemic diseases were negative, myelodysplastic syndrome was suspected. Trephine biopsy was performed, but myelodysplastic syndrome was not confirmed. The patient quickly became dependent on transfusions and suffered from recurrent infections. The differential diagnostic process was further complicated by the patient's repeated refusal to be hospitalized at the department of Internal Medicine. Repeated CT scans showed increasing splenomegaly and eventually multiple osteoplastic and mixed deposits in the pelvic bone appeared, pointing to a probable malignancy. The patient was referred for further investigation to the Department of Internal Medicine, Haematology and Oncology Clinic, University Hospital Brno-Bohunice. The indicated whole-body PET/CT found extensive deposits of viable tumour tissue in the chest wall. Histological samples were taken and corticosteroid treatment was started. However, this resulted in tumour lysis syndrome followed by kidney failure. The patient developed multiple organ failure with disseminated intravascular coagulopathy and died on the day that the histological diagnosis of undifferentiated sarcoma was made.

KEY WORDS

myelodysplastic syndrome, (pan)cytopenia, sarcoma

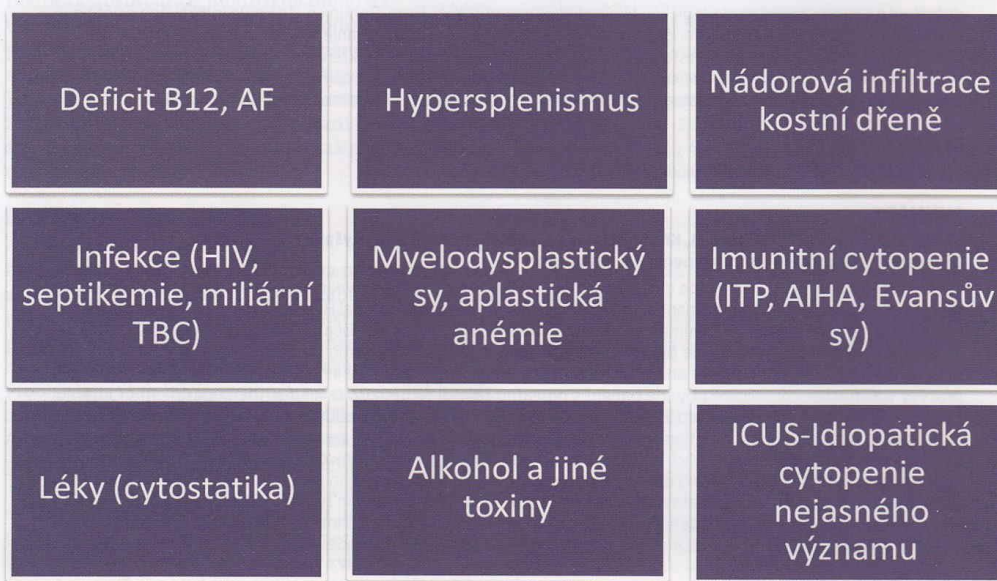
ÚVOD

Jako pancytopenii označujeme stav, při kterém dochází k poklesu počtu všech typů krevních buněk v obvodové krvi pod dolní hranici normálních hodnot. Základním vyšetřením k objasnění příčiny tohoto patologického stavu je vyšetření kostní dřeně pomocí sternální punkce a trepanobiopsie. Podle mechanismu vzniku dělíme pancytopenie na stavy se sníženou buněčností kostní dřeně, kde typickým představitelem je aplastická anémie, a na stavy s normální nebo zvýšenou dřeňovou celularitou, kde nejčastější chorobou je myelodysplastický syndrom. K pancytopenii mohou vést i procesy poškozující normální krvetvorbu infiltrací kostní dřeně, nejčastěji maligní lymfomy (1). Myelodysplastický syndrom (MDS) je potenciálně maligní onemocnění krvetvorby vznikající na podkladě poruchy genomu pluripotentní hemopoetické kmenové buňky. Pro tuto chorobu je ve většině případů typický nepoměr mezi normo- až hypercelulární dysplastickou kostní dřeně a periferní pancytopenií, který je způsoben předčasnou apoptózou prekurzorů dysplastického klonu (2, 3). I přes recentní významné pokroky ve vyšetřování tohoto maligního onemocnění zůstává v některých případech myelodysplastický syndrom diagnózou per exclusionem (4). Jeho odlišení oproti jiným cytopeniím

nejrůznějšího původu může být opravdu náročné, jak dokládá samotná kazuistika (5, 6) (obr. 1).

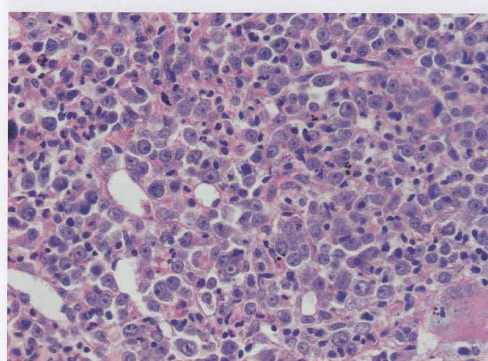
POPIS PŘÍPADU

47letý pacient, narozen 1965, dosud bez vážnějších chorob, otec 5 dětí, toho času nezaměstnaný, přichází v červenci 2012 ke svému praktickému lékaři k prohlídce před vstupem do nového zaměstnání. Protože je u něj zjištěna těžká bicytopenie, je odeslán k hospitalizaci na Interní kliniku Krajské nemocnice T. Bati, a.s. Zlín (IK KNTB Zlín). Pacient se dostavil se čtyřdenním zpožděním poté, co u něj 2 dny přetrvávaly febrilie reagující na paracetamol. V krevním obraze je při přijetí potvrzena pancytopenie (erytrocyty $1,48 \times 10^{12/l}$, hemoglobin 46 g/l, hematokrit 0,124, MCV 84 fl, MCH 31 pg, trombocyty $66 \times 10^9/l$, leukocyty $2,9 \times 10^9/l$, neutrofilie $1,6 \times 10^9/l$, retikulocyty 0,014) bez sideropenie, deficitu vitamínu B12 a folátů, s negativními markery hemolýzy, bez signifikantní patologie v diferenciatním rozpočtu leukocytů mikroskopicky a ve vyšetření z periferní krve průtokovou cytometrií. Sternální punkce je opakovaně suchá, proto je provedena pouze trepanobiopsie. Při vyšetření uzlin krku až malé pánve počítačovou tomografií (CT) ze dne 7. 8. 2012 jsou popsány pouze zvětšené axilární lymfatické uzliny, největší příčné 15–20 mm,

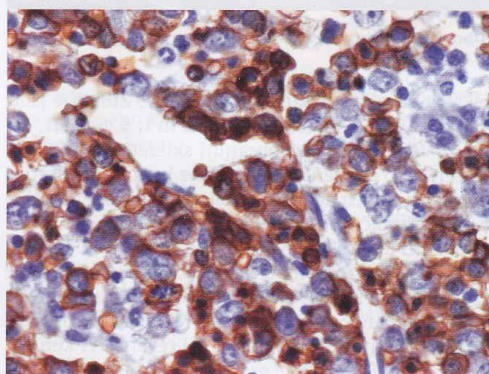


Obr. 1 Diferenciální diagnostika (pan)cytopenií.

tukově degenerované, oválného tvaru, hodnoceny jako benigní. Slezina je zvětšená, velikosti 19 x 7 x 17 cm, bez ložiskových změn. Pacient je přeléčen amoxicilínem/kyselinou klavulanovou s poklesem CRP. Během hospitalizace je podáno celkem 12 transfuzních jednotek (T. U.) erytrocytových transfuzních přípravků (ETP). Pacient naléhá na dimisi z rodinných důvodů, proto je propuštěn jako afebrilní s hodnotou hemoglobinu 93 g/l a objednan ke kontrolám do hematologické ambulance (HA) KNTB Zlín. Ve výsledkovém protokolu vyšetření trepanobiopsie je kostní dřeň popsána jako silně hypercelulární (90–100 %). Poměr mezi myeloidní a erytrocytní řadou je udáván v úseku 5–10 : 1. Erythropoéza je popsána jako silně hyperplastická, megaloblastická, glykoforin +/- . Granulopoéza je potlačena, vyzrávající. Megakaryopoéza je taktéž potlačena, megakaryocyty mají normolobulizovaná jádra a nevykazují přítomnost pleiomorfních, parožnatých či dysplastických forem. Retikulín není v hemopoetické tkáni zvýšen, kostní dřeň se tedy nevyznačuje fibrotickými změnami. Stromální železo je v normě. Plazmatické buňky i lymfocyty činí shodně 2–3 %. Extrinsicke buňky nejsou přítomny, kostní trávce jsou přiměřené stavby. Důvody pro výše popsané změny mohou být následující: a) nedostatek vitamínu B12 a folátů, b) reaktivní změny po předchozím útlumu, c) megaloblastoidie jako dysplastická změna v rámci MDS (vzhledem k potlačení/vytlačení zbylých dvou linií nelze posoudit event. dysplastické změny v nich, vytlačení je rovněž považováno za důvod cytopenie v těchto liniích). Patolog upozorňuje, že nález je nutno korelovat s dalším vývojem, každopádně toho času se jeví bez známek hematologické malignity. K vyšetření trepanobiopsie bylo použito speciální barvení Periodic Acid-Schiff (PAS), Gömöri, barvení Weigert van Gieson, enzymová histochemie chloracetátsterázou a imunohistochemie CD 34, CD 61, myeloperoxidáza, lysozym a glykoforin (obr. 2 a 3). Během ambulantních kontrol pacient popírá jakékoliv obtíže i přes subfebrilie, progredující pancytopenii a nutnost dalších transfuzí. Protože výsledky dalších vyšetření svědčí pro pravděpodobnou malignitu, je dohodnuto pokračování diferenciálně diagnostického procesu za hospitalizace na Interní hematologické klinice (IHOK) FN Brno-Bohunice. Zde je provedena kontrolní trepanobiopsie s totožným výsledkem jako při prvním odběru. Opět se nedaří získat aspirát kostní dřevě ani materiál pro vyšetření cytogenetiky a vyšetření průtokovou cytometrií. Pacient po 3 dnech podepisuje negativní revers. V polovině září je znovu přijat k hospitalizaci na IK KNTB Zlín pro febrilie, tachykardii, závažnou bicytopenii (hemoglobin 64 g/l, trombocyty $27 \times 10^9/l$, leukocyty $3,0 \times 10^9/l$, neutrofilů $1,7 \times 10^9/l$,

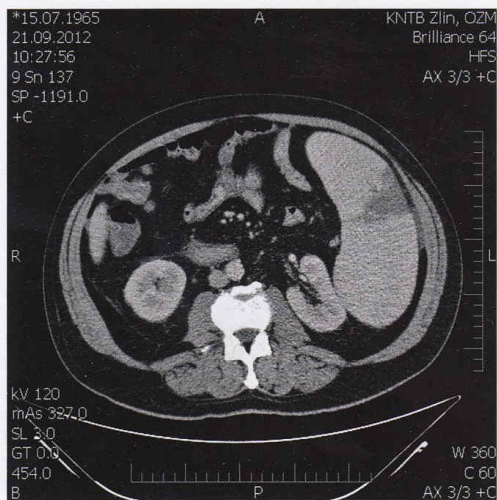


Obr. 2 Trepanobiopsický nález: obraz těžkých megaloblastoidních změn v červené řadě - prekurzory erythropoézy s výraznými, místy až naznačeně tyčinkovitými jádry, hematoxilín-eosin, 400x.



Obr. 3 Trepanobiopsický nález: Imunohistochemické vyšetření na glykoforin (marker erytrocytové linie, hnědé pozitivní), 400x.

elevaci CRP (119,3 mg/l) a k dokončení diferenciální diagnostiky za hospitalizace. Stolice na okultní krvácení je sice pozitivní, ale gastrofibroskopie je bez signifikantní patologie. Na základě revize rentgenu plic ze srpna 2012, která prokazuje sníženou transparenční plicního parenchymu, je provedeno CT plic s vysokým rozlišením, které nevykazuje patologické změny plicních křídel. Nález je také bez lymfadenomegalie v oblasti hrudníku. Okrajově je zachycena splenomegalie s infarktem sleziny (obr. 4) a množení lymfatických uzlin v povodí truncus coeliacus, největší z lymfatických uzlin dosahují velikosti 17,8 x 10 mm. Zobrazený skelet páteře prokazuje vícečetná ložiska obratlových těl, z nichž



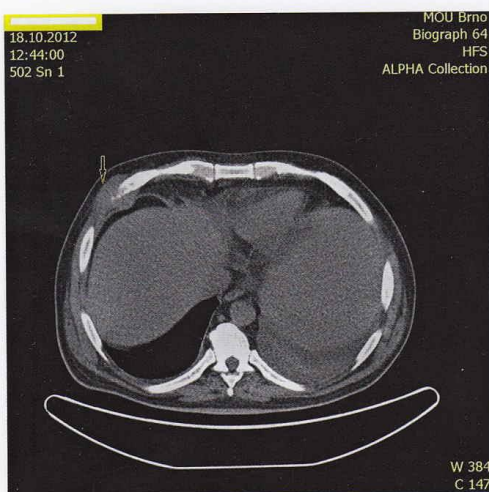
Obr. 4 Splenomegalie s infarktem sleziny.



Obr. 5 Mnohočetná ložiska v obratlových tělech.

některá okrajově zasahují na pedikly. Zřetelné jsou ložiska patrná v obratlových tělech Th 1, 5, 6, 9, 11, 12, L1 a 2. Všechna ložiska obsahují sklerotickou složku, některá jsou smíšená. Nález je bez komprese obratlových těl či jiných destrukcí skeletu. Charakter ložisek je nejednoznačný, vhodné je tedy srovnání s ostatními metodami (obr. 5). Během hospitalizace jsou podány 4 T. U. ETP a zahájena léčba amoxicilinem/klavulanátem intravenózně. Další vyšetření výše uvedených závažných patologií však už není realizováno, protože pacient opět podepisuje negativní revers. Při kontrole v HA KNTB Zlín koncem září 2012 pacient neguje krvácivé projevy, pouze přiznává teploty kolem 37 °C, jinak si na nic nestěžuje. Vzhledem k významným patologiím v laboratorních nálezech (hemoglobin 73 g/l, hematokrit 0,209, trombocyty $26 \times 10^9/l$, leukocyty $1,5 \times 10^9/l$, neutrofilů $0,9 \times 10^9/l$, FW 105/hod., Hemocult 71 $\mu g/l$ (pozitivní)) je pacientu doporučena okamžitá rehospitalizace za účelem provedení dalších vyšetření, což striktně odmítá a po transfuzi ETP odchází domů. K další, v pořadí již třetí hospitalizaci na IK KNTB Zlín je pacient přijat začátkem října 2012. Při přijetí dominuje únavnost, slabost, dušnost, subfebrilie, bi- až pancytopenie s hemoglobinem 46 g/l, trombocyty $23 \times 10^9/l$, leukocyty $2,2 \times 10^9/l$, neutrofilů $1,3 \times 10^9/l$ a CRP 142 mg/l. Při endoskopickém vyšetření tlustého střeva je nalezen pouze tubulózní adenom s hyperplazií a mírnou dysplazií. Po aplikaci celkem 10 T. U. ETP chce pacient opět podepsat negativní revers a odejít domů,

ale nakonec je přeložen na IHOK FN Brno-Bohunice jako pancytopenie nejasné etiologie a splenomegalie v. s. při hematologické malignitě. Zde progreduje pacientova únava, slabost, pro febrilní neutropenii je podávána širokospektrá kombinovaná antibiotická terapie, pro krvácivé projevy jsou aplikovány trombo-cytové transfuzní přípravky, na které je však pacient postupně prakticky refrakterní. Nové CT vyšetření prokazuje jen progredující splenomegalii a levostranný fluidothorax, při druhém čtení CT nálezu je však identifikováno ložisko v oblasti pravé strany hrudníku usurující 6. žebro. Následné vyšetření pozitronovou emisní tomografií (PET) v kombinaci s CT detekuje ložisko hypermetabolismu glukózy svědčící o přítomnosti viabilní nádorové tkáně. V nálezu je popsán tumor hrudní stěny vpravo vetrolaterálně s usurací 5. žebra a suspektní postižení supraklavikulárních lymfatických uzlin vlevo a v levé axile. Přítomna je i splenomegalie s fotopenickou lézí (nekrotické ložisko?) a výrazná aktivace nebo infiltrace kostní dřeně páteře, pánve, proximálních částí obou humerů a femurů (obr. 6, 7 a 8). Plánována je chirurgická excize z nádorového ložiska na hrudi. Ve snaze stabilizovat stav pacienta a předléčit potenciální agresivní lymfom je zahájena preface kortikoidy. Ta je však následována syndromem nádorového rozpadu a renálním selháním. Z vitální indikace je proveden odběr histologického vzorku z tumorózní masy na hrudníku a pacient je přeložen na Kliniku anesteziologie, resuscitace a intenzivní



Obr. 6 CT snímek nádorového ložiska v hrudní stěně.



Obr. 7 PET zobrazení nádorového ložiska v hrudní stěně.

medicíny (KARIM) FN Brno-Bohunice. Zde pak pacient umírá pod obrazem multiorgánového selhání a disseminované intravaskulární koagulopatie (DIC) v den stanovení histologické diagnózy nediferencovaného (dediferencovaného) sarkomu (obr. 9 a 10).

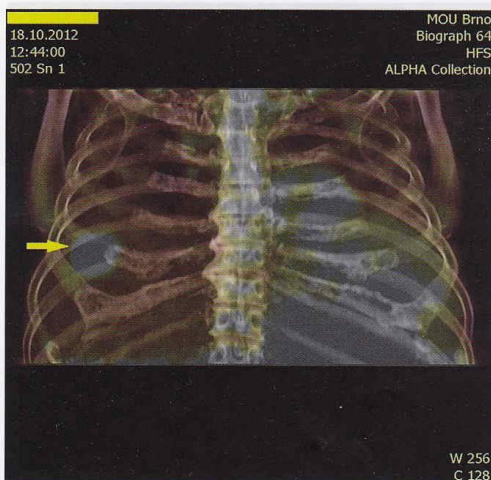
PITEVNÍ ZPRÁVA

V závěru pitevního protokolu je za základní onemocnění označen nízce diferencovaný/dediferencovaný sarkom hrudní stěny vpravo anterolaterálně, který ve výši 5.–6. žebra tvoří vypouklý útvar velikosti 3,5 x 3 cm prominující do hrudní dutiny. Ložisko usuruje žebro a prostupuje až na vnější stranu hrudní stěny. Nekrotické vzorky ze sarkomu jsou bohužel kompletně nekrotické. Mezi jinými závažnými chorobnými stavy souvisejícími se smrtí jsou na prvním místě uvedeny známky disseminované intravaskulární koagulopatie. Dále je přítomna lymfadenopatie mediastinálních a paraaortálních uzlin, mikroskopicky je však nalezena pouze reaktivní histiocytóza v sinusech, ložiska černého pigmentu a prokrvácení. Splenomegalie dosahuje 5 090 g o rozsahu 35 x 25 x 10 cm, s četnými splývajícími infarkty, mikroskopicky jsou patrná ložiska nekroz a prokrvácení. Hepatomegalie s disperzní cholestázou činí 2 830 g. Popsán je také difuzní alveolární edém plic. Za bezprostřední příčinu smrti je označena seps a DIC. Mezi vedlejšími nálezy figurují antrakóza plic a tracheobronchiálních lymfatických uzlin, disperzní myofibróza myokardu levé srdeční

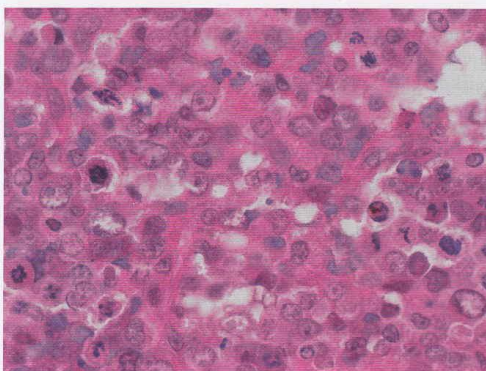
komory, mírná benigní nefroskleróza, stav po operaci vazů levého kolene a defekt sliznice krčního jícnu velikosti 5 x 5 cm.

DISKUSE

Diagnostika myelodysplastického syndromu se opírá hlavně o mikroskopický nálezy signifikantních dysplastických změn a/nebo zvýšeného procenta myeloblastů v nátěru kostní dřeně a/nebo identifikaci cytogenetických abnormalit typických pro MDS u pacientů s trvalou nebo progredující cypopenií (4). Ke stanovení diagnózy MDS může přispět cytochemické vyšetření kostní dřeně a stanovení exprese povrchových buněčných antigenů pomocí průtokové cytometrie (7). V případě našeho pacienta se ale nepodařilo získat reprezentativní dřevový punktát ani při sternální punkci, ani při provádění trepanobiopsie. Biopsie kostní dřeně může doplnit diagnostiku MDS v několika aspektech jako je celularita, dysmegakaryopoéza a identifikace abnormálně lokalizovaných shluků nezralých prekursorů (ALIP) (4). V našem případě však extrémní hyperplázie megaloblastoidně změněné červené řady znemožnila posoudit zbylé dvě linie, takže trepanobiopsie nepotvrdila, ale také nevyvrátila přítomnost primárního nebo sekundárního MDS. Teprve narůstající množství nepřímých důkazů pro přítomnost tumoru nás přivedla k teorii cypopenie při nádorovém bujení. Cypopenie u nádorových onemocnění je komplexní povahy a může vznikat z různých příčin, které se často vzájemně kom-



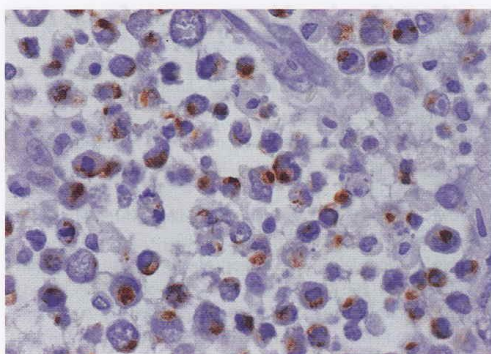
Obr. 8 PET/CT 3 D fúze nádorového ložiska v hrudní stěně.



Obr. 9 Nízce diferencovaný/kulatobuněčný sarkom, hematoxilín-eosin, 400x. Solidně utvářený, nízce diferencovaný nádor složený z epiteloidních, silně anizomorfních buněk s objemnými jádry a nápadnými nukleoly. Buněčné hranice jsou nezřetelné, místy mají nádorové elementy až syncytiální charakter a disperzně jsou přítomny mnohojaderné obrovské buňky. Mitotická aktivita je velmi vysoká, s přítomností atypických mitóz.

binují. Nádorové buňky a buňky imunitního systému produkují četné cytokiny (TNF- λ , IL-1, IL-6 a INT- γ), které potlačují produkci erythropoetinu a stimulují tvorbu feritinu a hepcidinu. Příčinou anémie u nádorových chorob může být také infiltrace kostní dřeně nádorovými buňkami, která je provázená leukoerytroblastickým

obrazem v obvodové krvi. Dalšími možnými příčinami mohou být imunní a neimunní hemolýza, karence železa, vitamínu B12 a folátů a hypoplázie kostní dřeně. Vzácnou příčinou anémie u nádorů bývá erytrofagocytóza (8). Hemofagocytární syndrom je vzácná afekce s fulminantním, často fatálním průběhem, při níž dochází k infiltraci retikuloendotelového systému patologickými histiocyty, které pohlcují a rozkládají krevní elementy. V klinickém obraze dominují zejména febrilie, lymfadenopatie a hepatosplenomegalie. Vyskytuje se jednak jako familiární, jednak jako sekundární syndrom provázející infekce nebo nádorová onemocnění. V případech nádorových chorob může předcházet vlastní manifestaci malignity, kdy spouštěcím mechanismem je obvykle sekundární infekce, nebo může být součástí paraneoplastického syndromu. Pro stanovení diagnózy je rozhodující histopatologický průkaz hemofagocytózy ve slezině a kostní dřeni (9). V případě našeho pacienta byl vyloučen hemolytický stav, karence železa, vitamínu B12 a folátů a hypoplázie kostní dřeně. Pro případný hemofagocytární syndrom chybí histopatologický důkaz. V pozdějším stadiu choroby se na cytopenii mohly podílet i narůstající splenomegalie a aloprotilátky proti trombocytům a leukocytům po opakovaných transfuzích. Nicméně v pitevním protokolu byl jako základní onemocnění pacienta stanoven ne(de)diferencovaný sarkom. Sarkomy měkkých tkání (soft tissue sarcomas, STS) jsou heterogenní skupinou zhoubných nádorů mezenchymálního původu. Mohou vzniknout v kterékoli části těla, nejčastěji však na končetinách. Nemocný obvykle pozoruje nebo hmatá nebolestivé vyklenutí, což vede k relativně pozdní návštěvě lékaře. Proto každá infiltrace měkkých tkání, která neustupuje do 2-3 týdnů, by měla být vyšetřena za pomoci sonografie, CT a punkční biopsie (10). V případě našeho pacienta byla prvním příznakem náhodně zjištěná pancytopenie, zatímco nádorové ložisko zůstávalo velmi dlouho skryto. STS rostou zpočátku spíše expanzivně a působí komplikace až útlakem struktur v okolí, v pokročilejších stadiích nebo při recidivách invadují do cév nebo orgánů (10). Transfasciální šíření, které evidentně proběhlo i u našeho pacienta, je méně časté a má špatnou prognózu. STS metastazují hlavně hematogenní cestou do plic a - jako v případě našeho pacienta - do skeletu, méně často pak do centrálního nervového systému. U sarkomů retroperitonea je častější diseminace do jater. Lymfogenní metastázy jsou vzácné, zvýšené riziko postižení lymfatických uzlin se objevuje jen u některých histologických typů, například u rhabdomyosarkomu (11). U našeho pacienta bylo při vyšetření PET vysloveno podezření na nádorové postižení



Obr. 10 Imunohistochemické vyšetření na desmin (myogenní marker): některé buňky jeví intracytopazmatickou/paranukleární pozitivitu (hnědě), jde tedy o sarkom s parciální myogenní diferenciací, 400x.

supraklavikulárních lymfatických uzlin vlevo a v levé axile. Mírné zvětšení axilárních uzlin benigního charakteru je zmiňováno již při prvním CT vyšetření. Tyto uzliny nebyly post mortem histologicky vyšetřeny a ve zvětšených mediastinálních a paraaortálních uzlinách byly mikroskopicky nalezeny pouze reaktivní změny, tudíž k lymfogenní diseminaci se nelze v tomto případě s jistotou vyjádřit. Podobně také metastázy do sleziny, které by jinak mohly uspokojivě vysvětlit těžkou splenomegalií, nebyly prokázány. PET vyšetření popisuje fopopenickou lézi, což dobře koreluje s mikroskopickým nálezem nekróz a prokrvácení post mortem. Incidence sarkomů měkkých tkání v ČR je 2/100 000 obyvatel, což činí 0,3–0,5 % všech zhoubných nádorů. V Evropě se vyskytují v průměru 5/100 000 obyvatel za rok (10, 12, 13). STS tedy patří k nádorům s nízkou incidencí, a proto je důležitá diagnostika a léčba na specializovaném pracovišti. Histopatologická diagnóza musí být stanovena patologem se zkušeností s mesenchymálními nádory hlavně proto, že sarkomy měkkých tkání jsou jedinými solidními nádory, u nichž o zařazení do klinického stadia rozhoduje nejen velikost ložiska a jeho šíření do lymfatických uzlin a vzdálených orgánů, ale také stupeň diferenciace nádoru (histopatologický grading) (13, 14). Histologický grade, jenž je v současnosti považován za nejvýznamnější prognostický faktor u STS, však v našem případě poněkud ustupuje do pozadí (15). Náš pacient totiž na základě přítomnosti kostních metastáz spadá do čtvrtého, nejpokročilejšího stadia (dle 6. vydání TNM (UICC/AJCC)) (16). V tomto klinickém stadiu se za stěžejní léčebnou metodu považuje paliativní chemoterapie, která je nejčastěji založena na kombi-

naci doxorubicinu a ifosfamidu. Léčebná odpověď se pohybuje mezi 10–15 % a celková doba přežití bývá kolem 12 měsíců (17, 18). Jako lék druhé linie je doporučováno cytostatikum trabectedin (Yondelis firmy Pharma Mar) s celkovým přežitím kolem 12 měsíců (19, 20).

ZÁVĚR

Diferenciální diagnóza pancytopenie byla v tomto případě obtížná, a to zejména pro nespolupráci pacienta, na níž se jistě podílela jeho sociální a rodinná situace. Svou roli sehrál i poměrně vzácný výskyt (rhabdomyo)sarkomu, sugestivní příznaky pro nádorová onemocnění s častějším výskytem (tumory zažívacího traktu a lymfomy) a absence validního sternálního punktátu.

Seznam použitých zkratk

- AJCC** American Joint Committee on Cancer
- ALIP** abnormálně lokalizované shluky nezralých prekurzorů (blastů) v kostní dřeni
- CRP** C-reaktivní protein
- CT** počítačová tomografie
- DIC** disseminovaná intravaskulární koagulopatie
- ETP** erytrocytové transfuzní přípravky
- HA KNTB** Hematologická ambulance Krajské nemocnice Tomáše Bati
- IHOK** Interní hematologická klinika
- IK KNTB** Interní klinika Krajské nemocnice Tomáše Bati
- IL-1,6** interferon 1,6
- INT-γ** interferon gama
- KARIM** Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny
- MCH** střední množství hemoglobinu v erytrocytu
- MCV** střední objem erytrocytu
- MDS** myelodysplastický syndrom
- PAS** Periodic Acid-Schiff, cytochemická reakce pro průkaz glykogenu
- PET** pozitronová emisní tomografie
- STS** soft tissue sarcomas, sarkomy měkkých tkání
- TNF-α** tumor necrosis alfa
- TNM** tumour, nodi, metastases
- T. U.** transfuzní jednotka
- UICC** International Union against Cancer

Podíl autorů na rukopisu

- KE - vyšetřování a léčba pacienta, napsání rukopisu;
- RP - kontrola a revize rukopisu;
- NM, ZI, RI - vyšetřování a léčba pacienta, poskytnutí dokumentace;
- KL, PJ, SJ - poskytnutí obrazové dokumentace a odborného komentáře k ní.

Poděkování

Práce byla podpořena studentským grantem IGA-LF UP-2014-001.

LITERATURA

- Čermák J. Diferenciální diagnostika pancytopenie. Postgraduální medicína 2012; 14(8): 16-20.
- Razza A, Gezer S, Mundle S, et al. Apoptosis in bone marrow biopsy samples involving stromal and hematopoietic cells in 50 patients with myelodysplastic syndromes. Blood 1995; 86: 268-276.
- Hochová I, Neuwirtová R, Vodičková E. Definice MDS. In: Hochová I, Neuwirtová R, Vodičková E, Starý J, Campr V, Housková J. Myelodysplastický syndrom: Diagnostický atlas. 1. vyd. Praha, Maxdorf, 2006; 12.
- Komrokji RS, Zhang L, Bennett JM. Myelodysplastic syndromes classification and risk stratification. Hematol Oncol Clin North Amer 2010; 24(2): 443-457.
- Krejčí M, Šmardová J, Adam Z, Mayer J. Myelodysplastický syndrom (MDS). In: Adam Z, Krejčí M, Vorlíček J et al. Hematologie. Přehled maligních hematologických nemocí: 2. doplněné a zcela přepracované vydání. 2. vyd. Praha, Grada Publishing, 2008; 23-25.
- Malcovati L, Nimer S. Myelodysplastic syndromes: diagnosis and staging. C Cont 2008; 15: 4-13.
- Čermák J. Myelodysplastický syndrom – novinky v diagnostice a léčbě. Postgraduální medicína 2010; 12(6):712-720.
- Klener P. Anémie u nádorových onemocnění a jejich léčba. Remedia 2011; 7(6): 434-436.
- Obořilová A. Hemofagocytární syndrom. In: Adam Z., Vorlíček J. a kolektiv Hematologie II Přehled maligních hematologických nemocí. 1. vyd. Praha, Grada Publishing, 2001; 661-663.
- Žaloudík J. Sarkomy měkkých tkání. In: Adam Z, Vorlíček J a Vaníček J et al. Diagnostické a léčebné postupy u maligních chorob. 2. doplněné vydání. Praha, Grada Publishing, 2004; 313-318.
- Lee B, Gottschalk AR. Soft tissue sarcoma. In: Hansen EK, Roach M III, et al. Handbook of evidence-based radiation oncology. Springer 2007: 409-416.
- Dušek L, Mužík J, et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, [2005], [cit. 2010-8-31]. Dostupný z www: http://www.svod.cz. Verze 7.0 [2007].
- Casal PG, Blay JY. Soft tissue sarcomas: ESMO Clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2010; 21(Suppl 5): v198-v203.
- Benjamin RS. Soft tissue sarcomas. In: Skeel RT, et al. Handbook of cancer chemotherapy, 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins 2007: 420-432.
- Brown FM, Fletcher CD. Problems in grading soft tissue sarcomas. Am J Clin Pathol 2000; 114(Suppl): S82-S89.
- Sobin LH, Wittekind Ch. Nádory kostí a měkkých tkání. In: Sobin LH, Wittekind Ch. UICC Klasifikace zhoubných novotvarů TNM. 6th edition. New York, Wiley-Liss, 2002; česká verze 2004; 93-94.
- Cormier JN, Pollock RE. Soft tissue sarcomas. CA Cancer J Clin 2004; 54: 94-109.
- Hartmann JT, Patel S. Recent developments in salvage chemotherapy for patients with metastatic soft tissue sarcoma. Drugs 2005; 65: 167-178.
- Schoffski P, Wolter P, Clement P, et al. Trabectedin (ET-743): evaluation of its use in advanced soft-tissue sarcoma. Future. Oncol 2007; 3: 381-392.
- Yovine A, Riofrio M, Blay JY, et al. Phase II study of Ecteinascidin-743 in advanced Pretreated soft tissue sarcoma patients. J Clin Oncol 2004; 22: 890-899.

Doručeno do redakce: 11. 5. 2014

Přijato po recenzi: 22. 7. 2014

MUDr. Eva Kadlčková

Hematologicko-transfuzní oddělení

Krajská nemocnice T. Bati Zlín

Havlíčkovo nábřeží 600

760 01 Zlín

kadlckova@bnzlin.cz

Nové možnosti v léčbě myelodysplastického syndromu

Eva Kadlčková¹, Peter Rohoň²

¹Hematologicko-transfuzní oddělení Krajské nemocnice T. Bati Zlín

²Hematoonkologická klinika FN a LF UP Olomouc

Myelodysplastický syndrom (MDS) je heterogenní skupina klonálních onemocnění krvetvorné kmenové buňky, která se vyznačuje dysplastickými změnami prekursorů v kostní dřeni, periferní (pan) cytopenií a zvýšeným rizikem progresu do akutní myeloidní leukemie (AML). V terapii MDS byly dlouhodobě využívány především dvě základní modalitivy: podpůrná péče nebo alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk (ASCT). V poslední době se však léčebné možnosti pro MDS nemocné významně rozšířily. Vedle konvenčně používané terapie se objevily nové léky a jejich kombinace, které mohou ovlivnit přirozený průběh choroby a prodloužit přežití. V klinické praxi nacházejí největší uplatnění hypometylační látky, imunomodulans lenalidomid (LEN) a moderní chelátory.

Klíčová slova: myelodysplastický syndrom, hypometylační látky, imunomodulace, chelatace železa.

New options in the treatment of myelodysplastic syndromes

Myelodysplastic syndromes (MDS) are heterogeneous group of clonal hematopoietic stem cell disorders characterized by dysplastic changes of bone marrow precursors, peripheral (pan) cytopenias and an increased risk of progression to acute myeloid leukemia (AML). Two basic therapeutic approaches were used in the treatment of MDS: supportive care or allogeneic stem cell transplantation (ASCT). Nowadays the treatment options for MDS patients has significantly expanded. In addition to conventional treatment there are new drugs and their combinations which may affect the natural history of the disease and prolong survival. In the clinical practice hypomethylating agents, immunomodulatory drug lenalidomide (LEN) and modern chelators are used.

Key words: myelodysplastic syndromes, hypomethylating agents, immune modulation, iron chelators.

Onkologie 2014; 8(1): 28–33

Seznam zkratk

5-AZA – 5-azacytidin

AL – akutní leukemie

AML – akutní myeloidní leukemie

ATG – antithymocytární globulin

CMML – chronická myelomonocytární leukemie

CMP, CDP, CTP – cytidin-mono-di- trifosfát

CR, PR – kompletní, parciální remise

Cs-A – cyclosporin A

DAC – 5-aza-2'-deoxycytidin, decitabin, Dacogen, Eisai

DNMTs – DNA metyltransferázy

dNTP – dinukleotidfosfát

ESP – erytropoézu stimulující proteiny

Fe – železo

G-CSF – granulocytes-colony stimulating factor, granulocytární kolonie stimulující faktor

GIT – gastrointestinální trakt

IL – interleukin

INF- γ – interferon gama

IPSS – International Prognostic Scoring System, Mezinárodní prognostický skórovací systém

IPSS-R – Revidovaný mezinárodní prognostický index

Iron overload – přetížení železem

LIC – liver iron concentration, množství železa v jaterní sušine

LIP – labile iron pool, labilní železo

MDS – myelodysplastický syndrom

MDS-U – myelodysplastický syndrom neklasifikovatelný

NTBI – non-transferrin bound iron, netransferinové železo

OS – overall survival, celkové přežívání

RAEB – refrakterní anemie s nadbytkem blastů

RARS – refrakterní anemie s prstenčitými sideroblasty

RCUD – refrakterní cytopenie s unilineární dysplazií

ROS – reactive oxygen species, kyslíkové radikály

RRM2 – M2podjednotka ribonukleotidové reduktázy

SCT – transplantace krvetvorných buněk

SPARC – secret protein acid and rich in cysteine

SQUID – superconducting quantum interference device

TNF- λ – tumor necrosis faktor-alfa

T.U. – transfusion unit, transfúzní jednotka

VTE – venózní trombembolizmus

WPSS – WHO Prognostic Scoring System, WHO-prognostický skórovací systém

Zn – Zinek

Úvod

Myelodysplastický syndrom je heterogenní skupina onemocnění vznikajících jako klonální

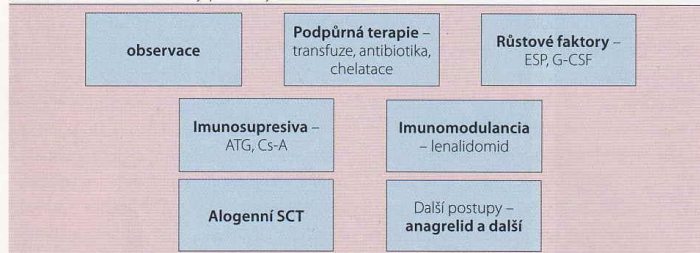
porucha krvetvorby, jež je důsledkem časné mutace postihující hemopoetické progenitory. Společnými rysy těchto chorob jsou dysplastické změny prekursorů v kostní dřeni, periferní cytopenie a zvýšené riziko progresu do AML. MDS vzniká *de novo* nebo jako důsledek předchozí chemoterapie nebo radioterapie. Klinický průběh závisí na subtypu MDS a cytogenetických změnách. Přežití pacientů osciluje mezi několika měsíci až mnoha lety (1). MDS patří k onemocněním staršího věku a jde o nejčastější hematologickou malignitu u pacientů starších 70 let, v USA se incidence pohybuje kolem 20/10⁵ obyvatel/rok (2).

Pro léčbu pacienta s MDS je důležitá nejen přesná klasifikace subtypu choroby (obrázek 1), ale především zařazení pacienta do rizikové sku-

Obrázek 1. Subtypy MDS dle WHO klasifikace 2008



RCUD – refrakterní cytopenie s unilineární dysplazií; RARS – refrakterní anemie s prstenčitými sideroblasty; RAEB – refrakterní anemie s nadbytkem blastů; MDS-U – myelodysplastický syndrom neklasifikovatelný

Obrázek 2. Možnosti léčby pokročilých forem MDS

ESP – erytropoézu stimující proteiny; G-CSF – granulocytární kolonie stimující faktor; ATG – antithymocytární globulin; Cs-A – cyklosporin A; SCT – transplantace krevtvořných buněk

piny dle mezinárodního prognostického skórovacího systému (International Prognostic Scoring System – **IPSS**). IPSS je v současnosti nejužívanějším mezinárodně uznávaným kritériem pro stanovení prognózy pacienta, která je podstatná pro rozhodování o konkrétní léčebné strategii (3). V roce 2012 byl publikován revidovaný mezinárodní prognostický index (**IPSS-R**), který uvádí 5 místo původních 3 cytogenetických prognostických podskupin a novou klasifikaci celé řady méně obvyklých cytogenetických podjednotek, zpřesňuje význam nízké hladiny dřeňových blastů a hloubky cytopenií. Tento prognostický model definuje 5 prognostických kategorií a měl by ještě dále zpřesnit predikci klinických výsledků dosud neléčených pacientů a pomoci při navrhování a analýze klinických studií (4). WHO prognostický skórovací index (WPSS) je modifikací IPSS a obsahuje další parametry jako např. transfuzní závislost nebo implementaci morfologických nálezu (multilineární dysplazii) (5).

Obecně lze říci, že pro nízké rizikové pacienty (low risk a intermediate-1 dle IPSS) volíme spíše konzervativní přístup (obrázek 2) a u rizikovějších, pokročilých (intermediate-2 a high risk dle IPSS) stadií dáváme přednost intenzivní léčbě (obrázek 3) (6). Ve výběru vhodné terapie hraje důležitou roli i věk pacienta a jeho komorbidita.

Epigenetická terapie

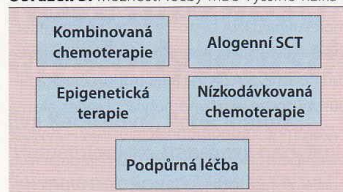
Využití konvenční terapie pokročilých forem MDS neprokázalo zlepšení přežití, transfuzní závislosti a oddálení doby transformace do AML (7). V minulých letech byly zaznamenány významné pokroky v léčbě pokročilých forem MDS pomocí epigenetických regulátorů. Tato léčba je definována jako modulace genové exprese bez zásahu do kódujících sekvencí DNA (8, 9). V dalším textu se budeme podrobně věnovat především klinicky nejvýznamnější molekule z této skupiny – **5-azacytidinu** (5-AZA, Vidaza®, Celgene), který se dostal do 1. linie léčby pro pokročilé formy MDS.

Hypermetylace genů zapojených do kontroly buněčného cyklu a apoptózy je častá v progenitorových buňkách pacientů s MDS. Jde především o regulační geny kódující inhibitory cyklin-dependentních kináz *p15* a *p16*. Kódující geny podléhají raritně mutacím, ale transkripce genu *p15* je tlumena abnormální metylací promotorní oblasti asi u 50 % pacientů s pokročilou formou MDS (10). Methylace DNA je reverzibilní proces a lze ji změnit pomocí specifických molekul, inhibitorů DNA metyltransferáz (DNMTs), jako jsou např. 5-AZA, decitabin (DAC) a analogy 5-adenosylhomocysteinu (11). DNMTs jsou odpovědné za metylaci cytosinu v oblasti CpG dinukleotidového motivu (CpG ostrůvky) promotorů, způsobují tím hypermetylaci některých genů zapojených do progresu MDS a tzv. epigenetický „silencing“. Je ale nutné dodat, že příčina aberantní metylace není spolehlivě vysvětlena. Uvažuje se, že může být indukována somatickou mutací genů (např. *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*) nebo jsou spouštěčem progresu MDS epigenetické abnormality *per se* (12).

5-AZA je analogem cytidinu, ale místo pyrimidinového obsahuje triazinový skelet. Byl objeven roku 1964 českými vědci Piskalou a Šormem a v témže roce bylo na experimentální myši leukémií zjištěno, že má významnou antiproliferační aktivitu (13). 5-AZA postupuje do buněk a ovlivňuje metabolismus DNA i RNA. V prvním kroku dochází v buňce k jeho fosforylaci pomocí uridin-cytidinkinázy, další fosforylace vede až ke vzniku trifosfátu (5-aza-CTP), který je inkorporován do RNA (14). Takto probíhá metabolizace 80 až 90 % 5-AZA a v konečném důsledku narušuje syntézu mRNA, metabolismus proteinů a vede k navození apoptózy (15). Pouze malá část (10–20 %) z difosfátového meziprojektu je pomocí ribonukleotidové reductázy převedena na deoxyformu a následně fosforylována za vzniku 5-azaC-dCTP (DAC-TP) (12). DAC-TP je inkorporován do DNA a kovalentně váže DNMTs. Dochází tak k inhibici ak-

tivity těchto enzymů. Účinek hypometylačních molekul na „DNA cestu“ je částečně vysvětlen, ovlivnění mRNA a proteosyntézy zůstává doposud nejasné. 5-AZA má pleiotropní účinek a nepůsobí pouze jako hypometylační agens, ale má i významné imunomodulační účinky – zvyšuje zastoupení FoxP3+ T-lymfocytů (T-regulačních buněk) a snižuje celkový počet TH17 buněk (16).

V současné době je 5-AZA schválen v ČR pro léčbu pokročilých stadií MDS bez možnosti ASCT, AML s 20–30 % blastů a dysplazii ve více buněčných liniích a konečně pro chronickou myelomonocytární leukemii (CMML) s 10–29 % blastů v kostní dřeni bez myeloproliferativního onemocnění. Nemocní s pokročilými formami MDS, u kterých není indikována transplantace krevtvořných buněk, měli v minulosti velmi špatnou prognózu s výrazným zkrácením celkového přežití (OS). Podání 5-AZA umožnilo u části pacientů dosažení kompletní (CR) či parciální remise (PR), ztrátu transfuzní závislosti a oddálení přechodu do AML. 5-AZA se podává formou subkutánní injekce do horní části paže, stehna nebo břicha v počáteční dávce 75mg/m² nejčastěji po dobu 7 dnů, po kterých následuje období 21 dnů bez podávání. Doporučuje se, aby pacienti byli léčeni minimálně 6 cykly. Léčba by měla trvat tak dlouho, dokud je přínosem pro pacienta, nebo do progresu onemocnění. Mezi nejčastěji nežádoucí účinky patří trombocytopenie a neutropenie (obvykle 3.–4. stupně), které jsou pak důvodem redukce dávkování. K dalším nežádoucím účinkům patří lokální kožní reakce v místě vpichu injekce, nevolnost a zvracení (obvykle stupně 1–2). Randomizovaná studie AZA-001 srovnávající efekt 5-AZA s konvenční léčbou (zahrnující standardní chemoterapii, chemoterapii nízkými dávkami cytosinarabinosidu či podpůrnou léčbu) prokázala rozdíl v OS u pacientů léčených 5-AZA v porovnání s ostatními léčebnými režimy (25 vs. 15 měsíců) – a to i u pacientů, kteří dosáhli pouze stabilizace nemoci (17). Bylo pozorováno i oddálení přechodu choroby do AML (26 vs. 12 měsíců). 5-AZA signifikantně zlepšuje celkové přežití starších nemocných s pokročilými formami MDS (nad 75 let), tato analýza zahrnuje i nemocné s komorbiditami (18). Jedinou kurativní léčbou MDS je ASCT. 5-AZA získává postavení i při této indikaci jako tzv. přemostující léčba (bridging therapy), jejím cílem je stabilizace nemoci s nižším počtem nežádoucích účinků v porovnání s klasickou chemoterapií a současně bez negativního vlivu na potransplantační výsledek. Určité naděje jsou vkládány i do terapie potransplantačního relapsu (19, 20). Byly publikovány i povzbudivé výsledky studií

Obrázek 3. Možnosti léčby MDS vyššího rizika

s využitím 5-AZA v terapii AML a CMML (21, 22) a probíhají studie s perorální formou léku. DAC sice prokázal obdobný účinek na dosažení CR a PR jako při užití 5-AZA, ale nepodařilo se prokázat signifikantní efekt na OS (10 vs. 6 měsíců) v porovnání s podpůrnou léčbou (23).

Imunomodulační léčba

Jedním z léčebných přístupů používaných u pacientů s MDS nižšího rizika je podání imunomodulačních látek. První z nich testovanou molekulou pro léčbu MDS byl thalidomid. U tohoto léku byly zaznamenány výrazné a dlouhotrvající odpovědi omezené ale pouze na erytrocytární řadu. Thalidomid ale připravil cestu pro užití nového analogu – lenalidomidu, který je mnohonásobně účinnější a nemá typické nežádoucí účinky thalidomidu (6). LEN představuje první cílenou terapii (targeted therapy) u pacientů s MDS nižšího rizika s transfúzní závislostí a intersticiální delecí segmentu dlouhého raménka chromozomu 5 (del (5q)), kterou povolila FDA (Food and Drug Administration) v roce 2005. V Evropě (kromě Švýcarska) není léčba LEN schválena, protože nelze vyloučit spojitost mezi terapií a leukemickou transformací, i když se ukazuje, že toto riziko souvisí pravděpodobně s individuální predispozicí pacienta před zahájením aplikace a LEN per se není leukemogenní (24). Před léčbou je třeba všechny nemocné vyšetřit na možný výskyt mutace genu p53, protože její přítomnost je obecně nepříznivým prognostickým faktorem a při léčbě lenalidomidem je spojena s vysokým rizikem progresu choroby (25). Klíčovým krokem pro schválení lenalidomidu FDA byla multicentrická randomizovaná studie MDS-003, ve které bylo zařazeno 148 pacientů s del (5q), z nichž 67 % pacientů dosáhlo transfúzní nezávislosti a 45 % kompletní cytogenetické remise. Nejčastějším nežádoucím účinkem byla neutropenie a trombocytopenie. Rozvoj léčbou indukované cytopenie v prvních 8 týdnech léčby byl asociován s vysokou četností hematologické a cytogenetické odpovědi. Tato data naznačují, že časné cytopenie mohou být pomocným ukazatelem suprese del (5q) klonu (26). Dalšími nežádoucími účinky LEN jsou raš,

průjem, svalové křeče a svědění kůže. Incidence venózního trombembolizmu (VTE) u MDS pacientů léčených LEN v monoterapii je obecně nízké, VTE byla pozorována u 3 % pacientů u del (5q) pacientů v MDS-003 a u 1 % non-del (5q) pacientů v klinické studii MDS-002.

LEN má pleiotropní účinek: ovlivňuje imunokompetentní buňky (T-lymfocyty, NK buňky), produkci cytokinů (IL-2, IFN- γ , TNF- α), blokuje angiogenezi, především je ale jeho působení karyotypově specifické. To se vysvětluje haploinsuficiencí několika genů v oblasti 5q. Současně dochází k aktivaci normální reziduální erythropoézy – ztráta transfúzní závislosti předchází dosažení cytogenetické remise o 1–2 měsíce (27) (obrázek 4). V případě non del (5q) MDS dochází po podání LEN k zvýšené odpovědi erytroidních prekurzorů na ESP (28).

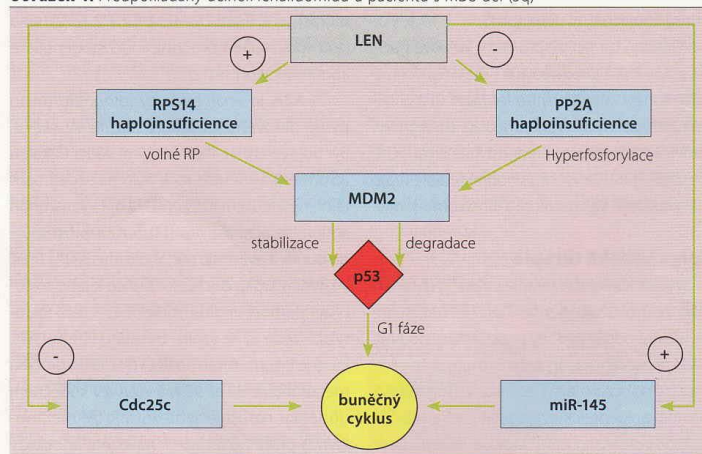
V současnosti je v USA LEN terapií volby pro pacienty s nízkým rizikovým MDS s del (5q), kteří jsou závislí na transfúzích a jsou refrakterní k ESP. U nízkých rizikových non del (5q) transfúzně dependentních MDS pacientů může být léčba zvažována po selhání ESP nebo hypometylační látky. Pacienti by měli mít adekvátní hladinu trombocytů, neutrofilů a klírens kreatininu nad 50 ml/min. Jako startovací je doporučena dávka 10 mg p.o. denně, při čemž musí probíhat týdenní kontrola krevního obrazu v prvních 8 týdnech, při poklesu hladiny trombocytů nebo neutrofilů je nutné snížit dávku nebo přerušit léčbu a případně podávat G-CSF. Neří-li zaznamenána

žádná odpověď po 4 měsících, je doporučeno léčbu ukončit (29). Jsou dostupné i výsledky studie, která porovnává účinnost LEN u pacientů s del (5q) a dalšími cytogenetickými aberacemi. V případech, že je identifikována pouze izolovaná delecce 5q, je zaznamenána cytogenetická odpověď u 63 % pacientů, při jedné přidatné změně u 9 % a v případech identifikace komplexního karyotypu není cytogenetická odpověď dosažena (30). Nyní probíhá studie MDS-005, jež zařazuje vhodné transfúzně dependentní pacienty s nízkým rizikovým MDS non del (5q), kteří dostávají LEN nebo placebo. Součástí této studie je také sledování profilu markerů erytroidní diferenciace, což by mohlo pomoci selektovat pravděpodobně respondenty (31).

V léčbě pokročilých forem MDS je zjevná snaha využít kombinace 5-AZA a LEN. Jejich racionální podklad vychází z biologického potenciálu obou molekul (32). LEN inhibuje aktivitu fosfatáz, stabilizuje MDM2 a způsobuje degradaci p53 prostřednictvím zvýšené aktivity miRNA 145 (microRNA – posttranskripční modulátor genové exprese) (33). Jde o nepřímy cytotoxický vliv a zásah do dřeňového mikroprostředí. 5-AZA inhibuje DNMTs a působí přímo cytotoxicky.

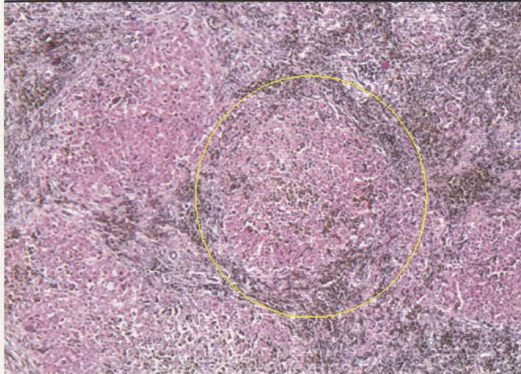
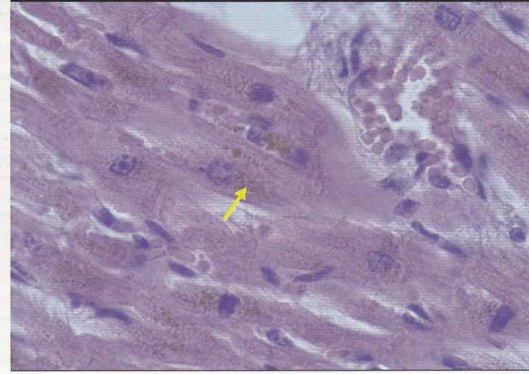
Přetížení železem a chelatační terapie

Železo (Fe) je nejen základní složkou hemoglobinu, myoglobinu, ale je také kofakto-

Obrázek 4. Předpokládaný účinek lenalidomidu u pacientů s MDS del (5q)

LEN způsobuje uvolnění ribosomálních proteinů (RP) z jádra buňky v důsledku jejich poškozené biogeneze. Dochází tak k degradaci proteinu MDM2 a porušení interakce MDM2-p53. To způsobí stabilizaci p53 a dochází ke zpuštění apoptosy del(5q) klonu. LEN inhibuje haploinsuficientní fosfatázu PPA2, je zvýšená fosforylace MDM2 (stabilizace) a postupně je iniciována degradace p53. Souhrnně lze konstatovat, že LEN inhibuje aktivitu fosfatáz (PPA2, Cdc25c), stabilizuje MDM2 a způsobuje degradaci p53.

upraveno podle: Komrokji RS, List A. Lenalidomide for treatment of myelodysplastic syndromes. *Curr Pharm Des* 2012. 18:3198-3203

Obrázek 5. Cirhotický nodule s hnědými depozity hemosiderinu**Obrázek 6.** Buňky srdečního svalu s depozity hemosiderinu

rem důležitých enzymů, které se účastní mitochondriální respirace, syntézy nukleových kyselin a proteinů. Tento biogenní prvek hraje roli v buněčné proliferaci, diferenciaci a apoptóze, plní úlohu v procesech stárnutí tkání, neurodegenerace, maligního bujení, aterosklerózy a má vliv na funkci imunitního systému. Klíčovým proteinem ovlivňujícím metabolismus Fe je **hepcidin**. Expze této bílkoviny se zvyšuje při dostatku Fe v organizmu a v rámci reakce akutní fáze. Hecpidin se pak váže na ferroporin v oblasti bazolaterální membrány enterocyty a cytoplazmatické membrány monocytů/makrofágů a snižuje tak transport Fe z enterocyty do krve a zadržuje železo v monocyto/makrofágovém systému. Expze hepcidinu je kontrolována několika dalšími proteiny (34). Deficit hepcidinu vede na jedné straně k nekontrolovanému uvolnění Fe do cirkulace a k jeho zvýšenému odsunu do jater a monocyto/makrofágového systému, na druhé straně se projevuje v enterocytech, což vede k sekundární stimulaci resorpce Fe z trávicího traktu (34, 35). Protože je volné Fe pro organizmus vysoce toxické, váže se hned po vstupu do krevního oběhu na transferin. Avšak po překročení vazebné kapacity transferinu stoupá v plazmě hladina **netransferinového železa** (NTBI – non-transferin bound iron). Nejtotoxičtější frakcí NTBI je **labilní Fe** (LIP – labile iron pool), které působí přímo v buňkách. Zde toto volné Fe katalyzuje vznik kyslíkových radikálů (ROS-reactive oxygen species). Nejnebezpečnější frakcí ROS jsou hydroxylové radikály, které vedou k oxidačnímu stresu buňky a narušení makromolekul proteinů, DNA a peroxidaci lipidů (Fentonova a Haber-Weissova reakce) (36). Následuje poškození buněčných organel, membrán, zánik buňky a poškození tkání a orgánů. Současně dochází ke zvýšené syntéze kolagenu v dů-

sledku indukce tvorby transformačního růstového faktoru $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) (35). Akumulace Fe tak představuje pro organizmus mnohem závažnější ohrožení než jeho nedostatek, protože v lidském organizmu neexistují pasivní ani aktivní mechanismy k jeho vyloučení. K poškození orgánů u chorob provázených přetížením Fe přispívá vedle přímého toxického působení na buňky i ukládání nadměrného množství nerozpustných komplexů Fe v tkáních a orgánech (36) (obrázek 5 a 6). Cílovými orgány při poškození jsou játra, ve kterých dochází ke vzniku hemosiderózy, fibrózy a cirhózy; srdce, s rozvíjející se kardiomyopatií; endokrinní orgány s možnou tvorbou bronzového diabetu; pohlavní orgány a klouby (35, 36).

Pro stanovení množství Fe v organizmu jsou k dispozici přímé a nepřímé metody. Nejjednodušší, nejdostupnější a nejméně nákladné je měření hladiny sérového feritinu. Avšak jeho hladina jen volně koreluje se stupněm přetížení Fe (iron overload), protože je ovlivňována dalšími faktory jako jsou zánět, poškození jater, neoplazie. **Jaterní biopsie** je sice invazivní výkon spojený s rizikem závažných komplikací, ale umožňuje přesně a spolehlivě kvantifikovat stupeň přetížení železem (LIC – liver iron concentration) a určit typ postižení jaterního parenchymu, případně i doprovodnou fibrózu nebo cirhózu. Nejpřesnější nepřímou metodou kvantifikace přetížení železem je **SQUID** (superconducting quantum interference device), která je založena na měření magnetické vnímavosti jaterní tkáně v konstantním magnetickém poli. Přístroj susceptometr vlastní jen několik málo pracovišť v Evropě a nedá se jím měřit obsah Fe v myokardu. Méně přesná, ale dostupnější je magnetická rezonance jater nebo myokardu metodou MRI T2* R2*, která dovoluje semikvantitativní určení obsahu Fe v myokardu, ale také stanoví funkci srdečních komor (36, 37).

Navzdory pokrokům ve farmakoterapii MDS, jakými jsou použití LEN nebo hypometylačních látek, zůstává základním pilířem léčby stále podpůrná terapie, včetně podávání transfuzních přípravků (38, 39). Opakované transfuze erytrocytů však s sebou přináší problém přetížení železem. Situaci pacientů s MDS ještě dále zhoršuje zvýšené uvolňování železa z buněk při inefektivní erytropoéze a zvýšená resorpce Fe z GIT, která je způsobena sníženou hladinou hepcidinu, jehož expze je blokována dřevňovým faktorem GDF 15, uvolňujícím se ve zvýšeném množství v kostní dřeni při inefektivní erytropoéze (6, 35, 40). Akumulace nadbytečného železa vede pravděpodobně k dalšímu prohloubení inefektivní erytropoézy. Recetní japonská studie prokázala v *in vitro*, že nadbytečné Fe vede jak k blokádě tvorby a další diferenciace erytrocytů, tak také akcentuje apoptózu za účasti ROS. Přitom blokáda i apoptóza byly zrušeny po přidání chelátoru (41).

Korelace mezi hodnotami feritinu před transplantací a samotným výsledkem transplantace krvetvorných buněk byla dokladována v několika velkých studiích (42, 43). Na základě těchto a dalších studií se chelatační terapie Fe stala součástí všech doporučení léčby pacientů s MDS.

Chelatační léčba by měla být zahájena u MDS nemocných s hladinou feritinu v séru více než 1 000 $\mu\text{g/l}$ (přibližně po podání 20–25 T.U. erytrocytárních transfuzních přípravků), u nichž je předpokládána déletrávající závislost na podávání transfuzí a kteří mají stabilní chorobu bez komorbidit limitujících přežití (44). V současnosti jsou pro klinickou praxi dostupné 3 chelatační látky. **Deferoxamin** (Desferal[®], Novartis) je aplikován v kontinuální nebo alespoň 10–12 hodinové iv. nebo sc. infuzi v dávce 25 mg/kg/den v jedné denní dávce, dle efektu je možné dávku zvyšovat až na 60 mg/kg/den. **Deferasirox** (Exjade[®],

Tabulka 1. Charakteristiky chelátorů užívaných v současnosti

Lék	deferioxamin	deferipron	deferasirox
Indikace	chronické přetížení Fe jakékoliv	thalasemie major od věku nad 10 let	thalasemie major, chronické
Poločas	20–30 minut	3–4 hodiny	12–16 hodin
Lipofilie	nízká	vysoká	vysoká
Vylučování	tolici i močí	močí	stolicí
Výhody	dlouhodobá zkušenost 20–30 let	ověřený účinek na odstranění Fe z myokardu	p.o. aplikace v jedné denní dávce
Nežádoucí účinky	lokální reakce v místě vpichu, poruchy zraku, sluchu, růstu	GIT příznaky, agranulocytóza, artralgie, otoky, elevace transamináz, deplece Zn	lehká porucha renálních fci, vzácně elevace transamináz, GIT příznaky, vyrážky, poruchy sluchu, vzácně katarakta
Poznámka k aplikaci	v 8–12 hodinové sc. infuzi po 5–7 dní v týdnu, při těžkém přetížení kontinuálně i. v. po několik týdnů		podávat rozpuštěné ve 100–200 ml vody nebo džusu, nejlépe 30 minut před snídaní se zvýšeným obsahem tuku

Novartis) je indikován tam, kde je léčba deferoxaminem kontraindikována nebo není dostatečně účinná, dávka činí 20–30 mg/kg/den p.o. a může být upravena dle účinku a snášenlivosti pacienta. **Deferipron** (Ferriprox®, Apotex) není pro užití u nemocných s MDS registrován, je ho možné použít (za pravidelné kontroly krevního obrazu) individuálně v případě kontraindikace nebo nesnášenlivosti deferasiroxu v dávce 75–100 mg/kg/den rozdělené do 3 denních p.o. dávek po 8 hodinách v monoterapii nebo v kombinaci s deferoxaminem při přetížení železem těžkého stupně (44). Největší nevýhodou deferoxaminu je způsob aplikace, který zřejmě podstatně ovlivňuje compliance a adheřenci pacienta k léku, jak dokládá například observační multicentrická studie, která byla vedena v 81 španělských nemocnicích v roce 2007 ještě před udělením licence pro deferasirox. Tato studie zahrnuje 549 pacientů s MDS nízkého rizika, z nichž se u 86% prokazatelně rozvinulo přetížení železem, ale jen 38% dostávalo chelatační terapii, avšak pouhých 21 pacientů dostávalo skutečně účinné dávky chelátoru (45). V italské studii byl deferasirox popsán jako silný NF-κ B inhibitor *in vitro* a je tedy možné, že tento perorální chelátor působí také přímo na potlačení maligního klonu, který vykazuje vysokou bazální aktivitu tohto transkripčního faktoru (46). Další charakteristiky všech tří chelátorů jsou k dispozici v tabulce 1.

Budoucnost léčby přetížení železem spočívá ve vývoji nových chelátorů Fe. Nadějným perorálním lékem se zdál být **deferitin**, ale jeho klinický vývoj byl zastaven pro nefrotoxicitu. U derivátů této látky se ale podařilo nefrotoxicitu odstranit, nyní probíhají klinické studie na zvířatech (47).

Jednou z potenciálních léčebných strategií by se mohlo stát ovlivnění exprese hepcidinu prostřednictvím jeho pozitivních a negativních regulátorů, kterými jsou BMP6 a matriptáza 2. Protein BMP6 a membránová serinová proteáza matriptáza 2 jsou součástí signální dráhy pro genovou expresi hepcidinu. Agonisté hep-

cidinu a BMP 6 nebo inhibitory matriptázy 2 mohou tak blokovat nadměrné uvolnění železa z GIT a makrofágů do oběhu a jeho následné ukládání do kritických orgánů zejména u MDS-RARS nebo 5q-syndromu, u nichž byly zjištěny nejnižší hladiny hepcidinu (34, 40).

Dalším možným terapeutickým cílem v léčbě přetížení železem by se mohly stát intracelulární volné kyslíkové radikály (ROS) a ovlivnění exprese proteinu bcl 2. Bylo prokázáno, že přetížení železem zvyšovalo hladinu ROS a suprimovalo expresi bcl 2 v nezralých erytroblastech. Následné uvolnění mitochondriálního cytochromu c vedlo k aktivaci kaspasy 9 a vystupňované apoptóze a výslednému bloku diferenciaci. Deferoxamin v této *in vitro* studii redukoval ROS a obnovil BCL 2 expresi a tím pravděpodobně inhiboval apoptózu (41).

Nové směry v léčbě MDS

Ve světě probíhá aktuálně kolem 300 klinických studií s více než 50 experimentálními sloučeninami ve snaze zlepšit kvalitu života pacientů s MDS a zvrátit přirozený průběh choroby.

K nejvýznamnějším z těchto látek patří **inhibitory histon deacetyláz** (HDACs inhibitory-entostat, belinostat, romidepsin, panobinostat, kyselina valproová, fenylbutyrát sodný, MGCD0103, vorinostat a další), jež se řadí k látkám s epigenetickým účinkem. Acetylace histonů je kontrolována histon-acetylázou a histon-deacetylázou. Zatímco acetylace histonů udržuje chromatin v otevřeném, transkripčně aktivním stavu, který umožňuje vazbu transkripčních faktorů a expresi genu, naopak deacetylované histony se pevně váží k DNA a zabraňují přístupu transkripčních faktorů k určitým genům. Zdá se, že HDACs inhibitory mají omezenou účinnost v monoterapii u MDS. Kombinované režimy jsou v současnosti považovány za mnohem slibnější. Avšak některé HDACs inhibitory mohou způsobovat trombocytopenii, a proto je třeba přistupovat k jejich užití v kombinacích s jinými (cytopenii indukujícími)

látkami opatrně. Tato skutečnost může v konečném důsledku limitovat jejich využití (48, 49, 50).

Z dalších nových látek pro léčbu MDS stojí za zmínku ezatiostat, který zvyšuje apoptózu u leukemických buňkách a indukce senzitivitu transformovaných buněk k diferenciací látkám. Jeho potenciál je v chronické terapii MDS nízkého rizika.

Další zajímavou látkou je **laromustin**, alkylační cytostatikum, které je jedinečné v tom, že nejen alkyluje DNA guaninové báze, ale zároveň zabraňuje opravám této alkylované DNA v nádorových buňkách. I přes obavu z busulfan like plicní toxicity by mohl hodit pro pacienty s vysoce rizikovým MDS, kteří nejsou schopni podstoupit klasický indukční režim 7 + 3.

Tipifarnib je inhibitor farnesyltransferázy. Farnesyltransferáza je enzym, který je důležitý pro upevnění Ras onkogenu v membráně; konstitutivní Ras aktivace a zvýšená exprese Ras přispívá k buněčné proliferaci a přežívání u široké škály neoplázií, včetně některých pacientů s AML nebo MDS. Tipifarnib zřejmě inhibuje P-glykoproteinový genový produkt multirezistence na léky. Počítá se, že by mohl být vhodný pro refrakterní, vysoce rizikový MDS (50).

Závěr

Alogenní transplantace krvetvorných buněk stále zůstává jedinou známou kurativní metodou pro léčbu MDS pacientů. MDS je však typickým onemocněním staršího věku a ASCT nelze provádět rutinně (51). Proto moderní léky (např. hypometylační látky) představují novou naději pro léčbu těchto pacientů. Populace ve vyspělých zemích stárne; očekává se, že v příštích 40 letech se například v USA počet lidí starších 65 let zdvojnásobí, a tudíž se i počet nově diagnostikovaných MDS bude pravděpodobně zvyšovat (52). Proto je kladen důraz na vývoj a výzkum dalších nových látek, které by mohly dále pomoci zvrátit přirozený vývoj této choroby.

Práce byla podpořena grantem LF-2013–004

Literatura

1. List AF, Vardiman J, Issa JP, et al. Myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004; 297–317.
2. Rollinson DE, Howlander N, Smith MT, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001–2004, using data from NAACCR and SEER programs. *Blood* 2008; 112: 45–52.
3. Greenberg PL, Cox C, Le Beau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89: 2079–2088.
4. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012; 120: 2454–2465.
5. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3503–3510.
6. Neuwirtová R, Jonášová A, Voglová J, a kol. Myelodysplastický syndrom a jeho léčba. *Farmakoterapie*. 2010, roč. 6, speciální příloha – červen 2010: 16–22. ISSN 1801–1209.
7. Stone RM. How I treat patient with myelodysplastic syndromes. *Blood* 2009; 113: 6296–6303.
8. Jiang Y, Dunbar A, Gondak LP, et al. Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in MDS progression to AML. *Blood* 2009; 113: 1315–1325.
9. Weber M, Hellmann I, Stadler MB, et al. Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nat Genet* 2007; 39: 457–466.
10. Issa JP. Epigenetic changes in the myelodysplastic syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 317–330.
11. da Rocha ST, Ferguson-Smith AC. Genomic imprinting. *Curr Biol* 2004; 14: 646–649.
12. Esteller M. DNA methylation and cancer therapy: new developments and expectations. *Curr Opin Oncol* 2005; 17: 55–60.
13. Sorm F, Piskala A, Cihak A, et al. 5-Azacytidine, a new, highly effective cancerostatic. *Experientia* 1964; 20: 202–203.
14. Issa JP, Kantarjian HM. Targeting DNA methylation. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3938–3946.
15. Kuykendall JR. 5-azacytidine and decitabine monotherapies of myelodysplastic disorders. *Ann Pharmacother* 2005; 39: 1700–1709.
16. Bontkes HJ, Ruben JM, Alhan C, et al. Azacitidine differentially affects CD4pos T-cell polarization in vitro and in vivo in high risk myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2012; 36: 921–930.
17. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of high-risk myelodysplastic syndromes: a randomized, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 223–232.
18. Seymour JF, Fenaux P, Silverman LR, et al. Effects of azacitidine compared with conventional care regimens in elderly (≥ 75 years) patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010; 76: 218–227.
19. Field T, Perkins J, Huang Y, et al. 5-Azacitidine for myelodysplasia before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 255–260.
20. Gerdts AT, Gooley TA, Estey EH, et al. Pretransplantation therapy with azacitidine vs. induction chemotherapy and posttransplantation outcome in patients with MDS. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 1211–1218.
21. Maurillo L, Venditti A, Spagnoli A, et al. Azacitidine for the treatment of patients with acute myeloid leukemia. *Cancer* 2012; 118: 1014–1022.
22. Costa R, Abdulhaq H, Haq B, et al. Activity of azacitidine in chronic myelomonocytic leukemia. *Cancer* 2010; 117: 2690–2696.
23. Kantarjian H, Oki Y, Garcia-Maneiro G, et al. Results of a randomized study of three schedules of low-dose decitabine in higher risk myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2007; 109: 52–57.
24. Komrokji RS, List A. Lenalidomide for treatment of myelodysplastic syndromes. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 3198–3203.
25. Kuendgen A, Lausker M, List AM, et al. Lenalidomide treatment is not related to AML progression risk but is associated with survival benefit in RBC-dependent transfusion patients with IPSS Low- or Int 1-Risk MDS with del5q. *Blood* 2011; 118: Abstract 119.
26. List A, Dewald G, Bennett J, et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med* 2006; 355: 1456–1465.
27. Kotla V, Goel S, Nischal S, et al. Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies. *J Hematol Oncol* 2009; 2: 36–42.
28. Giagounidis AA. Lenalidomide for del (5q) and non-del (5q) myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 2012; 49: 312–322.
29. Komrokji RS, List AF. Lenalidomide for Treatment of Myelodysplastic Syndromes: Current Status and Future Directions. *Hematology/Oncology Clinics of North America: Myelodysplastic Syndromes*. Philadelphia: Saunders an imprint of Elsevier, Inc., 2010; 24 (2). ISSN 0889–8588.
30. Ades L, Boehres S, Prebet T, et al. Efficacy and safety of lenalidomide in intermediate-2 or high risk myelodysplastic syndrome with 5q del: results of a phase 2 study. *Blood* 2009; 113: 3947–3952.
31. Ebert BL, Gallini N, Tamayo P, et al. An erythroid differentiation signature predicts response to lenalidomide in myelodysplastic syndrome. *PLoS Med* 2008; 5 (2): e35.
32. Sekeres MA, List AF, Cuthbertson D, et al. Phase I combination trial of lenalidomide and azacitidine in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2253–2258.
33. Venner CP, Woltoz JW, Nevill TJ, et al. Correlation of clinical response and response duration with miR-145 induction by lenalidomide in CD34+ cells from patients with del (5q) myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 2013; 98: 409–413.
34. Horváthová M, Pospíšilová D. Nové poznatky o homeostáze železa a jejich důsledky pro klinickou praxi. *Postgraduální medicína*. 2010; 12 (6): 676–681. ISSN 1212–4184.
35. Čermák J. Přetížení železem-novinky v patogenezi a léčbě. *Vnitřní lékařství: 90 let doc. MUDr. Dušana Mrkose, CSc., XXVIII. dny mladých internistů – sborník abstrakt*. 2009; 55 (1): 59–63. ISSN 0042–773X.
36. Pospíšilová D. Současný přístup k léčbě přetížení železem. *Farmakoterapie*. 2010; 6 (1): 84–90. ISSN 1801–1209.
37. Penka M, Bulíková A. *Neonkologická hematologie: 2. doplnění a zcela přepracované vydání*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009; 25–38. ISBN 978–80–247–2299–3.
38. Kyselá J, Jonášová A. Chelatační léčba deferasiroxem u pacientů s myelodysplastickým syndromem s přetížením železem-výsledky observačních studií eXtend a eXjange: komentář ke studii. *Farmakoterapie*. 2012; 8 (3): 349–352. ISSN 1801–1209.
39. Rose C, Brechignac S, Vassilief D, et al. Does iron chelation therapy improve survival in regularly transfused lower risk MDS patients? A multicenter study by the GFM (Group Francophone des Myelodysplasies). *Leukemia Research*, Jul 2010, 34 (7): 864–70 www.elsevier.com/locate/leukres.
40. Jessica Langholtz: Hepcidin Levels Differ Markedly Among MDS Subtypes, *The MDS Beacon*.
41. Kazuki T, Keiki K, Fumihiko N, et al. The effect of iron overload and chelation on erythroid differentiation. *International Journal of Hematology*. 2012, roč. 95, č. 2, s. 149–159. ISSN 0925–5710. DOI: 10.1007/s12185–011–0988–3. Copyright: The Japanese Society of Hematology 2012.
42. Armand P, Kim HT, Cutler CS, et al. Prognostic impact of elevated pretransplantation serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem cell transplantation. *Blood* 2007; 109: 4586–4588.
43. Pullarkat V, Blanchard S, Tegtmeyer B, et al. Iron overload adversely affects outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 799–805.
44. Čermák J. Myelodysplastický syndrom: Chelatační terapie. *Transfuzní a hematologické dny: Doporučené postupy v hematologii supplementum* -2010; 16 (3): 40. ISSN 1213–5763.
45. Remacha AF, Arrizabalaga B, Del Canizo C, et al. Iron overload and chelation therapy in patients with low-risk myelodysplastic syndromes with transfusion requirements. *Annals of Hematology*, Feb 2010; 89 (2): 147–154.
46. Messa E, Carturan S, Maffe C, Pautasso Marisa, et al. Deferasirox is a powerful NF-κB inhibitor in myelodysplastic cells and in leukemia cell lines acting independently from cell iron deprivation by chelation and reactive oxygen species scavenging. *Hematologica*. 2010; 95 (8): 1308–1316. ISSN 0390–6078. DOI: 10.3324/haematol.2009.016824.
47. Bergeron RJ, Wiegand J, Bharti N, et al. Desferriothion analogue iron chelators: iron clearing, efficiency, tissue distribution, and renal toxicity. *Biometals*. 2011; 24 (2): 239–258. ISSN 0966–0844. DOI: 10.1007/s10534–010–9389-y.
48. Cang S, Ma Y, Liu D. New clinical developments in histone deacetylase inhibitors for epigenetic therapy of cancer. *J Hematol Oncol* 2009; 2: 22.
49. Stimson L, Wood V, Khan O, et al. HDAC inhibitor-based therapies and haematological malignancy. *Ann Oncol* 2009; 20: 1293.
50. Steensma DP. Novel Therapies for Myelodysplastic Syndromes. *Hematology/Oncology Clinics of North America: Myelodysplastic Syndromes*. Philadelphia: Saunders an imprint of Elsevier, Inc., 2010; 24 (2). ISSN 0889–8588.
51. Cutler C. Patient Selection for Transplantation in the Myelodysplastic Syndromes. *Hematology/Oncology Clinics of North America: Myelodysplastic Syndromes*. Philadelphia: Saunders an imprint of Elsevier, Inc., 2010; 24 (2). ISSN 0889–8588.
52. Cazzola M, Malcovati L. Prognostic Classification and Risk Assessment in myelodysplastic Syndromes. *Hematology/Oncology Clinics of North America: Myelodysplastic Syndromes*. Philadelphia: Saunders an imprint of Elsevier, Inc., 2010, roč. 24, č. 2, s. 464. ISSN 0889–8588.

Článek přijat redakcí: 23. 5. 2013

Článek přijat k publikaci: 17. 10. 2013

MUDr. Peter Rohoň, Ph.D.

Hematoonkologická klinika FN a LF UP Olomouc
I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
peter.rohon@centrum.cz

Dlouhodobé výsledky léčby chronické myelomonocytární leukemie ve vybraných hematologických centrech

Rohoň P.¹, Bělohávková P.², Kadlčková E.³, Vondráková J.⁴, Fůrst T.⁵, Fůrstová J.⁵, Machová R.¹, Rusiňáková Z.¹, Raida L.¹, Žák P.², Papajík T.¹

¹Hemato-onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc

²IV. interní hematologická klinika, LF UK a FN Hradec Králové

³Hematologicko-transfuzní oddělení, Krajská nemocnice T. Bati ve Zlíně, a. s.

⁴Oddělení klinické hematologie, Nemocnice České Budějovice, a. s.

⁵Katedra matematické analýzy a aplikací matematiky, PříF UP Olomouc

Transfuzní Hematol. dnes, 23, 2017, No. 3, p. 127-133

SOUHRN

Úvod: Chronická myelomonocytární leukemie (CMML) je relativně vzácné nádorové onemocnění, které nese zároveň znaky myelodysplastických i myeloproliferativních chorob. Cílem práce je přinést informace z neselektovaného souboru pacientů léčených ve vybraných hematologických centrech.

Pacienti a metodika: Retrospektivní analýza obsahovala léčebné výsledky získané ze souboru 55 nemocných s diagnózou CMML ze 4 hematologických pracovišť v České republice v letech 2000–2015.

Výsledky: K datu analýzy 1. 6. 2016 žilo 16 pacientů (29 %) s mediánem celkového přežití (OS) 21 měsíců. Největší podíl dlouhodobě přeživších patří podle očekávání pacientům po alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk (alloSCT) – žije 7 osob (celkově 14 transplantovaných). Pravděpodobnost 5letého OS v neselektované skupině pacientů je přibližně 14%. CPSS (CMML specifický prognostický skórovací systém) se jeví jako výhodný prediktor OS (nízké riziko vs. nižší střední riziko vs. vyšší střední riziko; $p = 0,04$). V multivariantské analýze při kombinaci věku nemocných nebo přidružených onemocnění jsme u CPSS nepozorovali dopad těchto parametrů na OS. Nejčastější příčinou úmrtí byla progresse onemocnění (31 %) a infekční komplikace (24 %). Ze základních léčebných modalit jsme hodnotili vliv BSC (nejlepší podpůrné léčby), hypometylačních látek (HMA) a alloSCT na OS. Transplantovaní pacienti mají z této léčby alespoň v úvodu (< 2 roky) významný benefit. Zdá se, že léčba 5-azacytidinem (AZA) vykazuje lepší výsledky než BSC. Toto hodnocení je ale zkráceno malým počtem pacientů a navíc jsou definované skupiny výrazně heterogenní z pohledu ostatních prediktorů. Log-rank test nepotvrdil statistickou významnost jednotlivých léčebných modalit na OS ($p = 0,27$).

Závěr: Výsledky léčby CMML jsou neuspokojivé. Zavedení nových molekul do terapie a posun alloSCT do vyšších věkových skupin je určitým příslibem zlepšení přežití a kvality života pacientů do budoucna.

KLÍČOVÁ SLOVA

chronická myelomonocytární leukemie – celkové přežití – moderní léčba

SUMMARY

Rohoň P., Bělohávková P., Kadlčková E., Vondráková J., Fůrst T., Fůrstová J., Machová R., Rusiňáková Z., Raida L., Žák P., Papajík T.

Long-term treatment results of chronic myelomonocytic leukaemia in selected haematological centres

Backgrounds: Chronic myelomonocytic leukaemia (CMML) is a relatively rare neoplastic disorder with features of both myelodysplastic and myeloproliferative diseases. The aim of this work is to provide information from an unselected group of patients treated in several haematological centres.

Patients and Methods: This retrospective analysis included the treatment results obtained in a cohort of 55 patients with CMML treated at 4 Czech haematological centres from 2000 to 2015.

Results: 16 patients (29%) are still alive with median overall survival (OS) of 21 months (to the date 1st of June 2016). Patients undergoing allogeneic stem cell transplantation (alloSCT) demonstrated the best survival – 7 out of 14 allografted patients remain alive. 5-year OS in this unselected patient population was approx. 14%. CPSS appears to be a suitable OS predictor (low risk vs. lower intermediate risk vs. higher intermediate risk, $p = 0.04$). In multivariate analysis combining patient age and comorbidities with CPSS, we did not see any further impact of these additional parameters on the OS. Disease progression was the most common cause of death (31%) followed by infections (24%). We evaluated the effects of BSC (best supportive care), hypomethylating agents (HMA) and alloSCT on OS. Transplanted patients appeared at least initially to benefit from this treatment (< 2 years). It appears that treatment with 5-azacytidine (AZA) shows better results than BSC. However, these conclusions relate to a small patient cohort and also the subgroups are significantly heterogeneous with respect to other the predictors. The log-rank test did not confirm the statistical significance of different treatment approaches ($p = 0.27$).

Conclusion: Treatment results in CMML remain unsatisfactory. Introduction of new molecules into therapy and the shift of alloSCT to older age groups promises to improve patient survival and quality of life in the future.

KEY WORDS

chronic myelomonocytic leukaemia – overall survival – modern therapy

ÚVOD

Chronická myelomonocytární leukemie (CMML) je relativně vzácné, heterogenní nádorové onemocnění krvetvorné kmenové buňky s patofyziologickými i klinickými rysy myeloproliferativních neoplazií a myelodysplastického syndromu (MDS). CMML je charakterizována periferní monocytózou ($\geq 1 \times 10^9/l$ a $\geq 10\%$ monocytů v diferenciálním rozpočtu leukocytů), různým stupněm cytopenie spojenými s dysplazií dřevých elementů a častou hepatosplenomegalií [1, 2]. Pravděpodobnost transformace onemocnění do akutní myeloidní leukemie (AML) se obecně pohybuje kolem 15–20 %, onemocnění postihuje především starší osoby s mediánem věku 65–75 let, častěji muže [3].

Klasifikace CMML podle FAB z roku 1994 byla založená hlavně na počtu leukocytů a rozlišovala „dysplastický“ (CMML-MD, leukocyty $\leq 13 \times 10^9/l$) a proliferativní podtyp (CMML-MP, leukocyty $> 13 \times 10^9/l$). Toto rozdělení má v současnosti i molekulární podklad, protože MP podtyp vykazuje aberace v RAS/MAPK signální dráze [4]. Návrh revidované klasifikace WHO 2016 rozděluje CMML do 3 podskupin: CMML-0 (< 2 % blastů v periférii a < 5 % blastů v kostní dřevě), CMML-1 (2–4 % blastů v periférii a 5–9 % blastů v kostní dřevě) a konečně CMML-2 (5–19 % blastů v periférii a 10–19 % v kostní dřevě a/nebo přítomnost Auerových tyčí). Základ této klasifikace tkví v přesné morfologii blastů a promonocytů (ekvivalentů blastů) a implementaci nových poznatků z průtokové cytometrie, cytogenetiky a molekulární genetiky [5].

Etiologie CMML není zcela objasněná. Klonální změny jsou identifikovány asi u 20–40 % pacientů. V současnosti se předpokládá, že na rozvoji CMML se podílí tzv. časná klonální dominance s granulocytární a monocytární diferenciací nezralých progenitorů –

klíčový podíl pro rozvoj onemocnění má zřejmě mutace *TET2* genu. Terminální fenotyp je pak důsledkem kombinace poškození krvetvorné kmenové buňky (genetické a epigenetické mechanismy), změn dřevého mikroprostředí a imunitní dysregulace [6, 7]. Význam mutací u CMML není zatím zcela jednoznačný: *TET2* mutace se vyskytuje asi u 46 % pacientů a nemá pravděpodobně přímý vliv na prognózu nemoci; *JAK2* mutace se vyskytuje především u CMML-MP. Mutace *SRSF2* a *ASXL1* zřejmě zhoršují prognózu CMML [8]. Mutační stav je i součástí některých skórovacích systémů [9]. Z klinického a biologického pohledu je nezdívka velmi obtížné přistupovat k MDS s monocytózou (často obraz CMML-MD s variabilní hladinou monocytů) s dobrou nebo částečnou odpovědí na terapii erythropoetinem (EPO) nebo hypometylačními látkami (HMA).

Léčba CMML je svízelná, její výsledky jsou i v současnosti neuspokojivé a souvisí s biologickou podstatou a výraznou heterogenitou nemoci. Zatím není jednoznačný konsenzus na indikačních kritériích pro zahájení terapie, obecně lze uvést: nárůst počtu leukocytů a blastů, prohloubení cytopenie, splenomegalií, B-příznaky, extramedulární infiltrací a často opomíjenou koagulopatií (nejčastěji fibrinolýzu). U mladších pacientů s CMML by měla být vždy, s přihlédnutím k přidruženým nemocem, zvažována alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk (alloSCT) jako jediná kurativní možnost léčby [10, 11]. U pacientů s CMML-0 nebo CMML-1 lze při symptomech podat hydroxyureu (MP podtyp) a u anémie EPO. V případě CMML-1 (MD podtyp) lze postupovat analogicky jako u MDS nižšího rizika (aplikace EPO, symptomatická léčba). Pro pacienty s CMML vyššího rizika (CMML-2) je v případě MD podtypu doporučeno podání HMA, u MP

Tab. 1. CPSS skórovací systém

	Skóre		
	0	1	2
WHO podtyp	CMML-1 (blasty a promonocyty < 5 % v periferní krvi a < 10 % v kostní dřeni)	CMML-2 (blasty a promonocyty 5–19 % v periferní krvi a 10–19 % v kostní dřeni)	–
FAB podtyp	CMML-MD (leukocyty < 13 x 10 ⁹ /l)	CMML-MP (leukocyty ≥ 13 x 10 ⁹ /l)	–
CMML specifické cytogenetické riziko	nízké	střední	vysoké
transfuzní závislost	ne	ano	

Cytogenetika:

nízké riziko (normální karyotyp, izolovaná delece Y)

střední riziko (jiné změny)

vysoké riziko (trizomie 8, komplexní karyotyp (≥ 3 změny), změny chromozomu 7)

Transfuzní závislost: ≥ 1 TU erymasy v průběhu 8 týdnů v intervalu 4 měsíců**Zhodnocení:** 0 (nízké riziko), 1 (střední nižší riziko), 2–3 (střední vyšší riziko), 4–5 (vysoké riziko)

Vysvětlivky: CPSS – CMML specifický skórovací systém, MD – myelodysplastický, MP – myeloproliferativní

podtypu lze využít hydroxyureu nebo AML-„like“ chemoterapii [11]. U vysoce rizikových pacientů lze zvážit zařazení do klinických studií. Pozitivní výsledky jsou uváděny u rigosertibu – multikinázový inhibitor, který je zacílen především na PI3K (fosfatidylinozitol-3-kinázu) a PLK (polo-like kinázu). Podává se i v kombinaci s 5-azacytidinem (AZA), se kterým vykazuje synergický účinek [12].

Naše práce sleduje dlouhodobé výsledky léčby CMML v několika hematologických centrech v ČR (fakultní pracoviště a hematologická oddělení krajských nemocnic) s cílem ukázat reálná data získaná z neselektovaných souborů pacientů.

PACIENTI A METODIKA

V našem souboru jsme provedli retrospektivní analýzu pacientů léčených v letech 2000–2015 ze 4 hematologických pracovišť v České republice (Olomouc, Hradec Králové, Zlín a České Budějovice). Do hodnocení bylo zahrnuto celkem 55 osob. V případě, že byli pacienti léčení v rámci klinických studií, podepsali informovaný souhlas schválený příslušnou etickou komisí. Diagnóza CMML byla stanovena na základě morfologického nálezu v kostní dřeni v korelaci s opakovaně potvrzenou monocytózou (≥ 1 x 10⁹/l a ≥ 10 % monocytů v diferenciálním rozpočtu leukocytů) podle kritérií FAB a revidovaných kritérií WHO z roku 2008 [13, 14]. Velikost sleziny byla hodnocena palpačně se stanovením přesahu pod žeberním obloukem v levé medioklavikulární čáře. Při diagnóze, před zahájením epigenetické léčby/alloSCT nebo při progresi nemoci bylo obligatorně doplněno cytogenetické vyšetření (stanovení karyotypu G-pruhováním a interfázová FISH s provedením cíleného panelu vyšetření). U části pacientů byla provedena

trepanobiopsie především s důrazem na zhodnocení stupně dřevné fibrózy. CPSS skórovací systém (CMML – specific prognostic scoring system) sloužil pro prognostickou stratifikaci pacientů, tabulka 1 [15]. CPSS se jeví jako vhodný prognostický ukazatel a při porovnání s IPSS nebo revidovaným IPSS využívaným v skórování MDS je pro účely CMML jednodušší a zahrnuje i transfuzní závislost. Při hodnocení léčebné odpovědi se v případě CMML-MD využila kritéria IWG pro MDS a pro CMML-MP kritéria IWG pro primární myelofibrózu [16, 17].

Analýza celkového přežití (OS) byla provedena pomocí Kaplanovy-Meierovy metody. Působení různých faktorů (prediktorů) na OS bylo hodnoceno Coxovým modelem proporcionálních rizik.

Výsledkem Coxovy analýzy je HR (*hazard ratio*) neboli poměr rizik mezi základní skupinou a skupinou s danou hodnotou prediktoru. Do multivariantních analýz jsme zahrnuli ověřené skórovací systémy a jejich dopad na OS v kombinaci s často diskutovanými prediktory (např. věk nemocného, přidružené nemoci). S ohledem na významnou heterogenitu jednotlivých podskupin (např. léčebné modality) jsme vybrali výrazněji unifikované kohorty pro účely *matched pairs* analýzy OS. Pro všechny analýzy byla použita hladina statistické významnosti $p \leq 0,05$. Statistické evaluace dat proběhla pomocí programu Statistica 9.0.

VÝSLEDKY**Charakteristika pacientů (tabulka 2)**

V kohortě analyzovaných osob byla převaha mužů (2 : 1). Věkový medián byl 66 let. Medián celkového přežívání v souboru pacientů byl 14 měsíců od diagnózy, převládali pacienti s nižším počtem blastů v kostní dřeni i periferní krvi (CMML-1, respektive CMML-0/1 po-

Tab. 2. Charakteristika souboru pacientů s CMML

Celkový počet pacientů, n (%)	55 (100)
Pohlaví, muži/ženy, n (%)	36/19 (65/35)
Věk při diagnóze, medián (min – max), roky	66 (37–85)
FAB klasifikace, n (%)	
CMML-MD	23 (42)
CMML-MP	32 (58)
WHO 2008 klasifikace^a, n (%)	
CMML-1	36 (65)
CMML-2	19 (35)
Cytogenetika^b, n (%)	
normální karyotyp	45 (82)
změny chromozomu 7	2 (4)
komplexní karyotyp	2 (4)
jiné změny	3 (5)
neurčeno/nevyšetřeno	3 (5)
Riziko podle CPSS, n (%)	
nizké	7 (13)
střední 1	22 (40)
střední 2	23 (42)
neurčeno	3 (5)
Velikost sleziny při diagnóze, normální/hmatná, n (%)	6/49 (11/89)
hemoglobin (g/l) při diagnóze, medián (min – max)	92 (38–144)
leukocyty (10⁹/l) při diagnóze, medián (min – max)	19,9 (2,3–94,1)
Trombocyty (10⁹/l) při diagnóze, medián (min – max)	80 (6–948)
Blasty při diagnóze v periférii, medián (min – max)	1 (0–12)
Blasty při diagnóze v kostní dřeni, medián (min – max)	4 (0–17)
Léčba, n (%)	
BSC ^c	36 (66)
hypometylační látky	5 (9)
alloSCT	14 (25)
Závislost na substituci erytrocytárních TP^d, n (%)	29 (53)
Komorbidity, n (%)	
0–1	19 (35)
2	10 (18)
≥ 3	26 (47)
Celkové přežití^e od diagnózy, medián (min – max), měsíce	14 (1–134)

Vysvětlivky: alloSCT – alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk, BSC – nejlepší podporná léčba, CPSS – CMML specifický skórovací systém, dg. – diagnóza, EPO – erytropoetin, HU – hydroxyurea, MD – myelodysplastický, MP – myeloproliferativní, TP – transfuzní přípravek
^avyšší zastoupení MP podtypu u obou skupin

^bcytogenetické vyšetření zahrnuje G-pruhování a v indikovaných případech FISH
^cBSC zahrnuje podání HU (20 pacientů), etoposidu (2 pacientů), nízké dávkované cytosinarabinosidu (2 pacientů), EPO (3 pacientů). Izolované podání transfuzí bylo u 9 pacientů, v ostatních případech byla hemosubstituce kombinovaná s dalšími uvedenými modalitami.

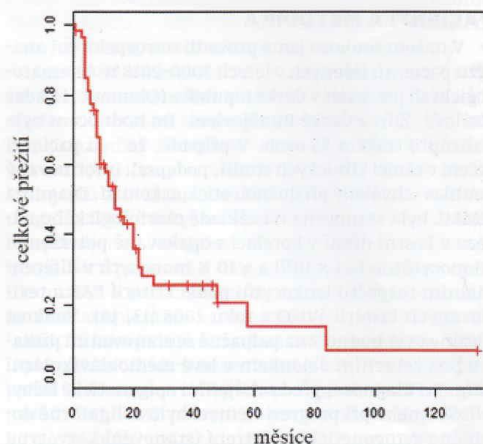
^dtransfuzní závislost je definována jako ≥ 1 TU erymasy v průběhu 8 týdnů v intervalu 4 měsíců
^eu všech pacientů; k 1. 6. 2016 žilo 16 pacientů (29 %) s mediánem OS 21 měsíců

dle návrhu klasifikace WHO 2016). Ve většině případů (86 %) byl cytogeneticky potvrzený normální karyotyp.

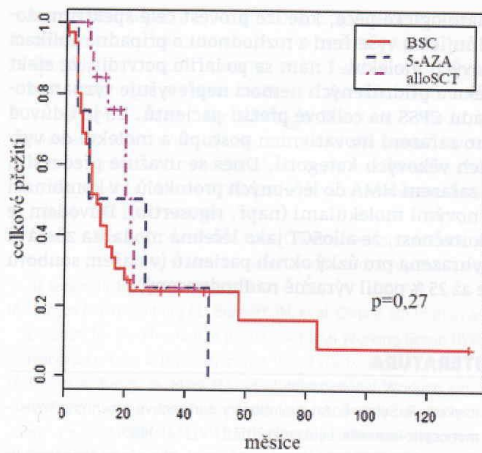
U 2/3 pacientů byla v léčbě použita hemosubstituce, zřídka EPO. Pro cytoredukci se nejčastěji využívala hydroxyurea, ojediněle nízké dávkovaný cytosinarabinosid nebo etoposid – souhrnně označeno jako BSC (*best supportive care*). V ostatních případech byla podána terapie HMA (5 pacientů) nebo alloSCT (14 pacientů). Pro hypometylační léčbu se používal AZA v dávce 75 mg/m² s. c. v průběhu 7 dnů (5-2-2) v opakovacím intervalu 28 dnů, v některých případech s nutností redukce dávky v dalších cyklech v důsledku neutropenie nebo trombocytopenie. Hodnocení léčebné odpovědi se realizovalo po podání 6 cyklů léčby, maximální počet léčebných cyklů byl 13. V současnosti žije pouze 1 pacient ze souboru léčených pomocí HMA. AZA byl podán jako součást přemosťující léčby (*bridging*) před alloSCT u 4 pacientů.

Celkové přežití pacientů

K 1. 6. 2016 žilo 16 pacientů (29 %), s mediánem OS 21 měsíců. Ve skupině osob léčených BSC (celkově 36) žilo 8 pacientů (medián OS 35 měsíců, dlouhodobě žijí pouze pacienti nízkého nebo středního nižšího rizika podle CPSS), HMA (celkově 5) žil 1 pacient a konečně po alloSCT (celkově 14) žilo 7 pacientů (medián OS 16 měsíců). Nejčastější příčinou úmrtí v celém souboru pacientů byla progresse onemocnění do akutní hemoblastózy (17 pacientů, 31 %), infekční komplikace – sepse, pneumonie (13 pacientů, 24 %), u 9 osob (16 %) nebyla příčina úmrtí přesně identifikována nebo byla jiná (embolizace do arteria pulmonalis, extramedulár-



Graf. 1. Celkové přežití pacientů s CMML



Graf 2. Celkové přežití pacientů podle zvolené léčebné modalit
Vysvětlivky: alloSCT – alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk, BSC – nejlepší podpůrná léčba, 5-AZA – 5-azacitidin

ní relaps nemoci v orbitě). U většiny pacientů nebylo možné jednoznačně oddělit progresi CMML a infekční komplikace. Pravděpodobnost 3letého a 5letého OS v neselektovaném souboru pacientů je ~ 26 % a ~ 14 %, graf 1. V další části analýzy jsme sledovali vliv jednotlivých prediktorů na OS. Souhrn nejvýznamnějších

Tab. 3. Vliv vybraných klasických prediktorů na celkové přežití pacientů s CMML

Sledovaný prediktor	HR (hazard ratio)	p-hodnota
FAB klasifikace (MD/MP podtyp)	2,2	0,03
WHO klasifikace 2008 (CMML-1/CMML-2)	1,7	0,09
Cytogenetika ^a		
normální karyotyp/abnormality chromozomu 7	2,4	0,1
normální karyotyp/komplexní karyotyp	2,6	0,09
CPSS		
nízké/střední nižší riziko	4,9	0,04
nízké/střední vyšší riziko	9,0	0,04

Coxův model proporcionalních rizik: jediným prediktorem přežití je vždy jeden konkrétní parametr. Výsledkem je HR (hazard ratio) neboli poměr rizik mezi základní skupinou (s nejnižší hodnotou prediktoru – *baseline*) a skupinou s danou hodnotou prediktoru.
^anerovnoměrná distribuce jednotlivých karyotypů, v celém souboru převažuje normální karyotyp (G-pruhování, ověřeno metodou FISH). Komplexní cytogenetické změny a monosomie/delece chromozomu 7 jsou nezávislým negativním prognostickým faktorem.
Vysvětlivky: CPSS – CMML specifický skórovací systém, MD – myelodysplastický, MP – myeloproliferativní.

prediktorů, které dosáhly v univariantské analýze statistické významnosti, je uveden v tabulce 3. Je zřejmé, že CPSS je pravděpodobně nejlepším prediktorem OS. V multivariantské analýze jsme se zaměřili na efekt věku a komorbidit v kombinaci s CPSS. Věk jsme hodnotili jako spojitou veličinu nebo jsme provedli kategorizaci (≤ 65 let/ > 65 let). Ani v jednom případě jsme neprokázali statisticky významný efekt ($p = 0,4$). Analogická situace se objevuje i při zohlednění komorbidit.

Nakonec jsme prozkoumali vliv základních léčebných modalit na OS. Lze usuzovat, že transplantovaní pacienti z této léčby alespoň v úvodu (~ 2 roky) profitují v porovnání s jinými léčebnými postupy. Následně je dosaženo plateau s dlouhodobým přežitím pacientů. Tento efekt je ale důsledkem výběru pacientů pro alloSCT s přihlédnutím k věku a přidruženým nemocem. Taktéž se zdá, že efekt léčby AZA je lepší než BSC. Tyto jevy jsou ale zkráceny malým počtem pacientů a navíc jsou jednotlivé podskupiny výrazně heterogenní v ostatních prediktorech. Log-rank test nepotvrdil statistickou významnost tohoto efektu ($p = 0,27$), graf 2. Ani pomocí *matched pairs* analýzy při výběru více homogenních podskupin jsme neprokázali statisticky signifikantní rozdíl ($p = 0,18$) mezi jednotlivými léčebnými přístupy. Zjevný je ale trend ve zlepšení OS u pacientů léčených alloSCT a HMA.

Doplňující údaje

U 6 pacientů (11 %) předcházela rozvoji CMML primární tumor (1krát karcinom ovaria, 1krát karcinom močového měchýře, 1krát adenokarcinom ledviny, 1krát karcinom štítné žlázy, 1krát karcinom prostaty a 1krát karcinom prsu). Extramedulární infiltrace byla klinicky dokumentována u 5 pacientů: ve 2 případech jako leukemická kožní infiltrace s částečnou regresí po podání HU, u 2 pacientů byla pozorována infiltrace tonzil s dobrou odpovědí na podání etoposidu a v 1 případě byla histologicky potvrzena infiltrace podčelistních uzlin bez léčebné odpovědi po podání HU. Kompletní remise nemoci byla pozorována u 8 pacientů (dominantně u pacientů po alloSCT). Ve většině případů docházelo k progresi nemoci. Téměř u poloviny všech pacientů bylo současně s CMML pozorováno 3 a více přidružených onemocnění.

DISKUSE

CMML je klonální hematologické onemocnění, které je charakterizováno periferní monocytózou s důrazem na skutečnost, že tento jev musí být trvalý s vyloučením reaktivních příčin. Onemocnění se téměř nevyskytuje u mladších pacientů a je typické u osob ve věku ~ 70 let. Patogenetické mechanismy vzniku

CMML jsou již částečně identifikovány a lineární model ukazuje, že somatické mutace se částečně podílejí na variabilitě klinického fenotypu. Na druhé straně je zřejmé, že tyto mutace postihují kompartment hemopoetické kmenové buňky a jejich lineární akumulace podmiňuje klonální dominanci s granulocytární a monocytární diferenciací [18, 19]. Klinická a biologická charakteristika nemoci je variabilní a onemocnění může být diagnostikováno s velkou latencí od prvních příznaků [20]. Stratifikace nemoci je obvykle prováděna na základě cytogenetických nálezů s rozdělením do 3 kategorií, které jsou využity pro konstrukci CPSS skóre [15, 21]. V našem souboru jsme prokázali, že CPSS je pravděpodobně nejlepším prediktorem OS. Jistou limitací konvenční cytogenetiky je však skutečnost, že většina pacientů má normální karyotyp (v korelaci s daty z našeho souboru, kde změny chromozomu 7 a komplexní karyotyp podle předpokladů významně zhoršují OS pacientů), a je proto otevřenou otázkou využití molekulárních ukazatelů. Součástí nových skórovacích systémů je implementace mutací v genu *ASXL1* (*frameshift* a *nonsense*) – jako nezávislého prediktoru zhoršení OS [22]. Moderní principy terapie CMML směřují k supresi/eradikaci iniciálního klonu s mutací/mutacemi a obnovou normální krvetvorby. Toho lze dosáhnout pouze pomocí alloSCT. HMA v některých případech dokážou částečně restartovat normální krvetvorbu, zvyšují expresi tzv. *immune checkpoint* proteinů na povrchu buněk, ale nesnižují zastoupení mutovaných progenitorů – to naznačuje, že epigenetické změny se podílejí hlavně na terminálním fenotypu CMML. K rozvoji nemoci dále přispívá cytokinová dysregulace [23, 24]. Role mikroprostředí není zatím zcela objasněna [25]. Nové molekuly v léčbě CMML jsou odvozeny od klinických hodnocení u MDS. Základem je kombinace HMA s dalšími molekulami [26, 27]. V posledním období se objevují informace o použití guadecitabinu (dinukleotidu decitabinu a deoxyguanosinu), který je rezistentní k deaminaci. U části CMML pacientů jsou identifikovány mutace genů *IDH1*, *IDH2* (jejich přítomnost koreluje se sérovou hladinou 2-hydroxyglutarátu) a jsou vhodným cílem IDH inhibitorů [28]. Pro pacienty nižšího rizika s dominující anémií se jeví jako výhodná aplikace modulátoru TGF-β (sotaterceptu).

ZÁVĚR

Vzhledem k tomu, že většina pacientů s CMML je v seniorském věku a má často přidružená onemocnění, vyžaduje tato skupina specifický léčebný přístup. Výsledky léčby CMML jsou i v současnosti neuspokojivé. V posledním období dochází k zpřesnění diagnostiky nemoci a k časnějšímu odeslání pacientů do center he-

matologické péče, kde lze provést celé spektrum doplňujících vyšetření a rozhodnout o případné aplikaci nových molekul. I nám se podařilo potvrdit, že efekt věku a přidružených nemocí nepřevyšuje význam dopadu CPSS na celkové přežití pacientů. To je i důvod pro zařazení inovativních postupů a molekul do vyšších věkových kategorií. Dnes se uvažuje především o zařazení HMA do léčebných protokolů i v kombinaci s novými molekulami (např. rigosertib). Důvodem je skutečnost, že alloSCT jako léčebná modalita zůstává vyhrazena pro úzký okruh pacientů (v našem souboru je až 25 % podíl výrazně nadhodnocený).

LITERATURA

1. Itzykson R, Solary E. An evolutionary perspective on chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2013;27(7):1441-1450.
2. Patnaik MM, Parikh SA, Hanson CA, et al. Chronic myelomonocytic leukaemia: a concise clinical and pathophysiological review. *Br J Haematol* 2014;165(3):273-286.
3. Dinmohamed AG, Brink M, Visser O, et al. Trends in incidence, primary treatment and survival in chronic myelomonocytic leukaemia: a population-based study of 1359 patients diagnosed in the Netherlands from 1989 to 2012. *Br J Haematol* 2015;171(3): 436-439.
4. Cervera N, Itzykson R, Coppin E, et al. Gene mutations differently impact the prognosis of the myelodysplastic and myeloproliferative classes of chronic myelomonocytic leukemia. *Am J Hematol* 2014;89(6):604-609.
5. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20): 2391-2405.
6. Bacher U, Haferlach T, Kern W, et al. Conventional cytogenetics of myeloproliferative diseases other than CML contribute valid information. *Ann Hematol* 2005;84(4):250-257.
7. Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, et al. Clonal architecture of chronic myelomonocytic leukemias. *Blood* 2013;121(12):2186-2198.
8. Cui Y, Tong H, Du X, et al. Impact of TET2, SRSF2, ASXL1 and SETBP1 mutations on survival patients with chronic myelomonocytis leukemia. *Experimental Hematology & Oncology*. *Blood* 2015;4:14.
9. Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, et al. Prognostic score including gene mutations in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2013;31(19):2428-2436.
10. Liu HD, Ahn KW, Hu ZH, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult chronic myelomonocytic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23(5):767-775.
11. Guidelines for the diagnosis and treatment of Myelodysplastic Syndrome and Chronic Myelomonocytic Leukemia. Nordic MDS Group, 8th update, May 2017. Dostupné na [www: www.nmds.org/index.php/guidelines](http://www.nmds.org/index.php/guidelines).
12. Garcia-Manero G, Fenaux P, Al-Kali A, et al. Rigosertib versus best supportive care for patients with high-risk myelodysplastic syn-

- dromes after failure of hypomethylating drugs (ONTIME): a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(4):496–508.
13. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues Lyon: IARC Press, 2008.
 14. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. The chronic myeloid leukaemias: guidelines for distinguishing chronic granulocytic, atypical chronic myeloid, and chronic myelomonocytic leukaemia. Proposals by the French–American–British Cooperative Leukaemia Group. *Br J Haemat* 1994;87(4):746–754.
 15. Such E, Germing U, Malcovati L, et al. Development and validation of a prognostic scoring system for patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2013;121(15):3005–3015.
 16. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2006;108(2):419–425.
 17. Tefferi A, Barosi G, Mesa RA, et al. International Working Group (IWG) consensus criteria for treatment response in myelofibrosis with myeloid metaplasia, for the IWG for Myelofibrosis Research and Treatment (IWG-MRT). *Blood* 2006;108(5):1497–1503.
 18. Elena C, Galli A, Such E, et al. Integrating clinical features and genetic lesions in the risk assessment of patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2016;128(10):1408–1417.
 19. Itzykson R, Solary E. An evolutionary perspective on chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2013;27(7):1441–1450.
 20. Solary E, Itzykson R. How I treat chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2017;130:126–136.
 21. Such E, Cervera J, Costa D, et al. Cytogenetic risk stratification in chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 2011;96(3):375–383.
 22. Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, et al. Prognostic score including gene mutations in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2013;31(19):2428–2436.
 23. Patnaik MM, Barraco D, Lasho TL, et al. DNMT3A mutations are associated with inferior overall and leukemia-free survival in chronic myelomonocytic leukemia. *Am J Hematol* 2017;92(1):56–61.
 24. Zhang Q, Zhao K, Shen Q, et al. TET2 is required to resolve inflammation by recruiting Hdac2 to specifically repress IL-6. *Nature* 2015;525(7569):389–393.
 25. Zambetti NA, Ping Z, Chen S, et al. Mesenchymal inflammation drives genotoxic stress in hematopoietic stem cells and predicts disease evolution in human pre-leukemia. *Cell Stem Cell* 2016;19(5):613–627.
 26. Yang H, Bueso-Ramos C, DiNardo C, et al. Expression of PD-L1, PD-L2, PD-1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents. *Leukemia* 2014;28(6):1280–1288.
 27. Sekeres MA, Othus M, List AF, et al. Randomized phase II study of azacitidine alone or in combination with lenalidomide or with vorinostat in higher-risk myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia: North American Intergroup Study SWOG S1117. *J Clin Oncol* 2017; publikováno elektronicky 9. května 2017; DOI: 10.1200/JCO.2015.66.2510.
 28. Mondesir J, Willekens C, Touat M, et al. IDH1 and IDH2 mutations as novel therapeutic targets: current perspectives. *J Blood Med* 2016;7:171–180.
- Podíl autorů na přípravě rukopisu**
 PR, PB, EK, JV – napsání rukopisu, příprava analýz, léčba pacientů; společný podíl na přípravě rukopisu
 RM, ZR, LR – léčba pacientů
 TF, JF – statistické analýzy
 PŽ, TP – revize rukopisu
- Prohlášení autorů o konfliktu zájmů**
 PR, PB – Celgene, řečník, cestovní granty
 RM, JV – Celgene, konzultant, cestovní granty
 EK, LR, TF, PŽ, TP – autoři prohlašují, že nemají žádný relevantní konflikt zájmů
- Poděkování**
 Poděkování patří paní K. Sičové, která se podílí na zpracování údajů z databáze pacientů s CMML, pracovníkům laboratoří cytogenetiky a morfologie.
 Práce byla podpořena grantem IGA_LF_2017_007.
- Doručeno do redakce dne 1. 7. 2017.*
Přijato po recenzi dne 8. 8. 2017.
- doc. MUDr. Peter Rohoň, Ph.D.**
 Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc
 I. P. Pavlova 6
 775 20 Olomouc
 e-mail: peter.rohon@fnol.cz