

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Klonální myeloproliferativní expanze leukocytů

Bakalářská práce

2023

Veronika Macková

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Clonal Myeloproliferative Expansion of Leukocytes

Bachelor Thesis

2023

Veronika Macková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Veronika Macková**
Osobní číslo: **C19261**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Klonální myeloproliferativní expanze leukocytů**
Téma práce anglicky: **Clonal Myeloproliferative Expansion Of Leukocytes**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Bakalářskou práci na téma klonální myeloproliferativní expanze leukocytů zpracujte na základě literární rešerše. V úvodní části práce klasifikujte maligní onemocnění krve. Podrobněji se zaměřte a charakterizujte myeloproliferativní onemocnění.
2. V hlavní části bakalářské práce se věnujte zejména chronické myeloidní leukémii (CML), její diagnostice, klinickému obrazu, etiologii včetně podrobného popisu molekulárně genetických mechanismů jejího vzniku. Dále definujte současné terapeutické možnosti a konkrétní nejčastěji užívaná léčiva. V neposlední řadě se pokuste shrnout aktuální prognostické informace a současné výzkumné cíle u CML.
3. Jako zdroj informací pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce využijte odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Jiří Handl, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Jan Čapek, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem „Klonální myeloproliferativní expanze leukocytů“ jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 29.6.2023

Veronika Macková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří RNDr. Jiřímu Handlovi, Ph.D. a Mgr. Janu Čapkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, vstřícný přístup a trpělivost při vedení mé bakalářské práce. Děkuji také své rodině a přátelům za obrovskou podporu při studiu.

ANOTACE

Bakalářská práce na téma Klonální myeloproliferativní expanze leukocytů je aktuální kompilací odborné literatury týkající se problematiky myeloproliferativních onemocnění. V práci jsou klasifikována maligní onemocnění krve, přičemž nejprve jsou charakterizována lymfoproliferativní onemocnění a poté je důraz kladen především na myeloproliferativní onemocnění, konkrétně na chronickou myeloidní leukemii. V hlavní části práce jsou vedle charakterizace chronické myeloidní leukemie shrnuty i aktuální informace týkající se její diagnostiky, klinického obrazu a podrobněji je popsáno molekulárně genetické pozadí jejího vzniku. Vedle běžně využívaných terapeutických možností jsou v práci shrnuty i moderní terapeutické možnosti, současně používaná léčiva a nové výzkumné cíle související především právě s chronickou myeloidní leukemií.

KLÍČOVÁ SLOVA

myeloproliferativní expanze; chronická myeloidní leukemie; onkogen *BCR-ABL1*; tyrozinkináza

TITLE

Clonal Myeloproliferative Expansion of Leukocytes

ANNOTATION

The bachelor thesis on Clonal Myeloproliferative Leukocyte Expansion is an up-to-date compilation of the literature on myeloproliferative diseases. The thesis classifies malignant blood diseases, first characterizing lymphoproliferative diseases and then focusing on myeloproliferative diseases, specifically chronic myeloid leukemia. In the main part of the thesis, in addition to the characterization of chronic myeloid leukemia, current information regarding its diagnosis, clinical picture, and molecular genetic background of its occurrence are summarized. In addition to the commonly used therapeutic options, the bachelor thesis also summarizes modern therapeutic options, currently used drugs, and new research goals related mainly to chronic myeloid leukemia.

KEYWORDS

myeloproliferative expansion; chronic myeloid leukemia; *BCR-ABL1* oncogene; tyrosine kinase

OBSAH

SEZNAM ZKRATEK	11
SEZNAM OBRÁZKŮ	14
ÚVOD.....	15
1 Nádorová onemocnění krve	17
1.1 Hematopoéza	17
1.1.1 Embryonální křevetvorba	17
1.1.2 Křevetvorba dospělých	18
1.1.3 Hematopoetické kmenové buňky.....	20
1.2 Klasifikace hematologických malignit	21
2 Lymfoproliferativní onemocnění.....	24
2.1 Lymfomy	24
2.1.1 Hodgkinův lymfom.....	24
2.1.2 Non-Hodgkinské lymfomy	26
2.2 Leukemie	27
2.2.1 Akutní lymfoblastická leukemie.....	29
2.2.2 Chronická lymfocytární leukemie	30
2.2.3 Prolymfocytární leukemie.....	31
2.2.4 Vlasatobuněčná leukemie	32
3 Myeloproliferativní onemocnění	35
3.1 Pravá polycytemie.....	36
3.2 Esenciální trombocytémie.....	37
3.3 Primární myelofibróza	39
4 Chronická myeloidní leukemie	41
4.1 Klinický obraz.....	42
4.2 Diagnostika	43
4.2.1 Vstupní vyšetření	43
4.2.2 Krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů	43
4.2.3 Biochemický rozbor krve.....	45

4.2.4	Cytologické a histologické vyšetření kostní dřeně	45
4.2.5	Cytogenetické vyšetření krve i kostní dřeně	46
4.2.6	Molekulárně genetické vyšetření krve i kostní dřeně	48
4.3	Molekulárně genetické pozadí	49
4.4	Prognóza	51
5	Léčba chronické myeloidní leukemie	52
5.1	Vývoj léčby	52
5.2	Chemoterapie	53
5.2.1	Medikamentózní terapie	54
5.2.2	Přístrojová metoda	54
5.3	Podpůrná léčba	54
5.4	Interferon alfa	55
5.5	Alogenní transplantace	55
5.6	Inhibitory tyrozinkinázy	57
5.6.1	Imatinib	58
5.6.2	Dasatinib	60
5.6.3	Nilotinib	60
5.6.4	Bosutinib	61
5.6.5	Ponatinib	61
6	Nové terapeutické přístupy	63
6.1	Mechanismy rezistence na inhibitory tyrozinkinázy	63
6.2	Cílená léčba na <i>BCR-ABL1</i>	64
6.3	Necílená léčba na <i>BCR-ABL1</i>	65
6.3.1	Inhibitory farnesyltransferázy	65
6.3.2	Inhibitory savčího cíle rapamycinu	65
6.3.3	Inhibitory JAK2	66
6.3.4	Inhibitory histon deacetylázy	66
6.3.5	Inhibitory Aurora kinázy	67
6.3.6	Aktivátory PPARgamma	67
6.3.7	Inhibitor translace proteinů	68

6.3.8 Hypomethylační činidla.....	68
6.3.9 Imunoterapie	68
ZÁVĚR	70
POUŽITÁ LITERATURA.....	71

SEZNAM ZKRATEK

ALCL	anaplastický velkobuněčný lymfom (<i>Anaplastic Large Cell Lymphoma</i>)
ALL	akutní lymfoblastická leukemie (<i>Acute Lymphoblastic Leukemia</i>)
alo-TKB	alogenní transplantace krvetvorných buněk
AML	akutní myeloidní leukemie (<i>Acute Myeloid Leukemia</i>)
ATCLL	akutní T-buněčná leukemie/lymfom (<i>Acute T-cell Leukemia/Lymphoma</i>)
ATP	adenosintrifosfát (<i>Adenosine Triphosphate</i>)
BM	kostní dřev (<i>Bone Marrow</i>)
BPDCN	blastická neoplazie z plazmocytoïdních dendritických buněk (<i>Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm</i>)
B-PLL	B-prolymfocytární leukemie (<i>B-cell Prolymphocytic Leukemia</i>)
CCgR	kompletní cytogenetická odpověď (<i>Complete Cytogenetic Response</i>)
CFU	kolonie formující jednotky (<i>Colony Forming Unit</i>)
CHR	kompletní hematologická odpověď (<i>Complete Hematological Response</i>)
CLL	chronická lymfocytární leukemie (<i>Chronic Lymphocytic Leukemia</i>)
CML	chronická myeloidní leukemie (<i>Chronic Myeloid Leukemia</i>)
CMR	kompletní molekulární odpovědi (<i>Complete Molecular Response</i>)
CTCL	kožní T-buněčný lymfom (<i>Cutaneous T-cell Lymphoma</i>)
CTLA-4	cytotoxický T-lymfocytární antigen 4 (<i>Cytotoxic T-lymphocyte Antigen 4</i>)
DLBCL	difúzní velkobuněčný B-lymfom (<i>Diffuse Large B-cell Lymphoma</i>)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
EKG	elektrokardiografie
ET	esenciální trombocytémie (<i>Essential Thrombocythemia</i>)
FISH	fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace (<i>Fluorescent In Situ Hybridization</i>)
FL	folikulární lymfom (<i>Follicular Lymphoma</i>)

GM-CSF	růstový faktor pro granulocytární řadu leukocytů a makrofágů (<i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Receptor</i>)
HCL	vlasatobuněčná leukemie (<i>Hairy Cell Leukemia</i>)
HDAC	histon deacetyláza (<i>Histone Deacetylase</i>)
HL	Hodgkinův lymfom (<i>Hodgkin's Lymphoma</i>)
HLA	hlavní histokompatibilní komplex (<i>Human Leucocyte Antigens</i>)
HSC	hematopoetická kmenová buňka (<i>Hematopoietic Stem Cell</i>)
IFN- α	interferon α
LSC	leukemické kmenové buňky (<i>Leukemic Stem Cells</i>)
MCL	lymfom z plášťových buněk (<i>Mantle Cell Lymphoma</i>)
MM	mnohočetný myelom (<i>Multiple Myeloma</i>)
MMR	velké molekulární odpovědi (<i>Major Molecular Response</i>)
MPD	myeloproliferativní choroby (<i>Myeloproliferative Diseases</i>)
MPN	myeloproliferativní novotvary (<i>Myeloproliferative Neoplasms</i>)
mRNA	messenger RNA
mTOR	inhibitory savčího cíle rapamycinu (<i>Mammalian Target of Rapamycin</i>)
NHL	Non-Hodgkinův lymfom (<i>Non-Hodgkin's Lymphoma</i>)
NK	buňky schopné „zabíjení“ jiných buněk (<i>Natural Killer Cells</i>)
PCR	polymerázová řetězová reakce (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PD-1	programovaná smrt (<i>Programmed Death</i>)
PDGF	destičkový růstový faktor (<i>Platelet Derived Growth Factor</i>)
PEG-IFN- α	pegylovaný interferon α
Ph	Philadelphský
PLL	prolymfocytární leukemie (<i>Prolymphocytic Leukemia</i>)
PMF	primární myelofibróza (<i>Primary Myelofibrosis</i>)

PPAR γ	receptor gamma aktivovaný peroxisomovým proliferátorem (<i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma</i>)
PV	pravá polycytemie (<i>Polycythaemia Vera</i>)
RNA	ribonukleová kyselina (<i>Ribonucleic Acid</i>)
STAT5	signální přenašeč a aktivátor transkripce 5 (<i>Signal Transducer and Activator of Transcription 5</i>)
TKI	inhibitory tyrozinkinázy
TNF- α	tumor nekrotizující faktor α (<i>Tumor Necrosis Factor α</i>)
T-PLL	T-prolymfocytární leukemie (<i>T-cell Prolymphocytic Leukemia</i>)
WHO	světová zdravotnická organizace (<i>World Health Organization</i>)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Schéma hematopoézy	19
Obr. 2: Hematologické malignity	21
Obr. 3: Centrálně umístěná buňka Sternberga-Reedové s okolními lymfocyty	25
Obr. 4: Gumprechtovy jaderné stíny a zralé lymfocyty v periferní krvi	30
Obr. 5: Leukemické buňky vlasatobuněčné leukemie	33
Obr. 6: Rozdělení myeloproliferativních onemocnění	35
Obr. 7: Nadbytek erytrocytů a trombocytů v nátěru periferní krve	37
Obr. 8: Vznik Philadelphského chromozomu a fúzního genu <i>BCR-ABL1</i>	41
Obr. 9: Krevní obraz pacienta s chronickou fází chronické myeloidní leukemie	44
Obr. 10: Nátěr periferní krve s četnými myeloidními buňkami (A) a nátěr kostní dřene s výraznou myeloidní hyperplazií (B)	46
Obr. 11: Průkaz Philadelphského chromozomu	47
Obr. 12: Průkaz fúzního genu <i>BCR-ABL1</i> v interfázi (A) a v mitóze (B) metodou fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace	48
Obr. 13: Philadelphský chromozom a molekulární abnormality <i>BCR-ABL1</i>	51
Obr. 14: Chemické struktury inhibitorů tyrozinkinázy	58
Obr. 15: Mechanismus účinku imatinibu	59

ÚVOD

Hematopoéza je nepřetržitý dynamický proces, při kterém se z hematopoetických kmenových buněk neustále tvoří nové krevní buňky, udržují se jejich optimální počty a dle potřeby a stavu organismu se jejich množství zvyšuje či snižuje. Klonální myeloproliferativní expanze leukocytů představuje stavy, při kterých dochází k malignímu nárůstu jedné, dvou, anebo tří myeloidních linií hematopoézy. Dochází k nim jak v kostní dřeni, tak i mimo ni. V hematopoetických buňkách se hromadí různé epigenetické a genetické odchylky. To vede k poškození zárodečných křetvorných buněk a tím i k propuknutí nádorového bujení a vzniku nádorové populace. Podle typu poškozených hematopoetických buněk a lokalizace nádoru lze hematologické malignity klasifikovat do tří skupin. Leukemie a lymfomy spadající do kategorie lymfoproliferativních onemocnění a myelomy patří do kategorie myeloproliferativních nemocí.

Leukemie se vyznačují zmnožením určitých skupin leukocytů v krvi i v kostní dřeni. Zhoubnost způsobuje nulovou obranyschopnost zasažených bílých krvinek a snižuje počet zdravých buněk v lidském organismu. Dle průběhu onemocnění lze leukemie rozdělit na akutní a chronické. Na základě postižení hematopoetické linie je možné leukemie rozdělit na lymfoidní vycházející zejména z B-lymfocytů a myeloidní postihující elementy granulopoézy. Příkladem lymfoidních leukemií může být akutní lymfoblastická leukemie či vlasatobuněčná leukemie. Mezi myeloidní leukemie lze zařadit chronickou myeloidní leukemii, anebo akutní myeloidní leukemii. Lymfomy jsou definovány jako zhoubné nádory lymfoidní tkáně, které nejčastěji postihují lymfatické uzliny. Člení se do dvou skupin, a to na Hodgkinův lymfom a skupinu non-Hodgkinských lymfomů.

Skupina myeloproliferativních novotvarů je charakterizována klonálními nádorovými onemocněními, která vznikají neoplastickou přeměnou hematopoetické kmenové buňky. Výsledkem je neomezená proliferace buněk. Příkladem je pravá polycytemie, esenciální trombocytémie a především chronická myeloidní leukemie. Výhradní postavení mezi leukemiemi dostala chronická myeloidní leukemie zásluhou známého molekulárně genetického pozadí. Pacienti trpí řadou nepříjemných příznaků, z nichž však ani jeden není specifický pro toto onemocnění. Etiologie nemoci není doposud přesně známá, pravděpodobně však dochází k seskupení účinků několika faktorů, které následně vyvolají nekontrolovatelný děj. Podstatnou roli hraje věk, nesprávná životospráva, anebo stav imunitního systému. Zprvu byla léčba pouze paliativní, ale s postupem času přešla na kurativní. Inhibitory tyrozinkinázy způsobily revoluci v léčbě chronické myeloidní leukemie. Svými účinky, zejména blokací *BCR-ABL1*, získaly

přední postavení v léčebných postupech. Cílem je dosáhnout utlumení, v lepším případě odstranění symptomů nemoci. Zásadní je také kdy, především v jaké fázi nemoci, se začne léčba aplikovat. V případě potvrzení přítomnosti onemocnění je vhodné taktéž upravit životní styl a tím tak zabránit prohlubování nemoci. Důležité je také věnovat pozornost novým terapeutickým přístupům a jejich vývoji. V současné době je alogenní transplantace jedinou léčebnou metodou, která vede k úplnému vyléčení onemocnění.

1 Nádorová onemocnění krve

Krev je jednou z nejregenerativnějších a nejplastičtějších tkání. Životnost zralých krevních buněk se liší, pohybuje se od pár hodin až po několik let, a proto musí docházet k průběžnému doplňování tohoto širokého spektra buněk (Pucella et al., 2020). Během života se každou sekundou miliony starých buněk mění za nové. Počátek všech krevních buněk začíná v hematopoetických kmenových buňkách (HSC), které se nachází v periferní krvi a především v kostní dřeni. Ta je hlavním místem krvetvorby u dospělých (Rieger a Schroeder, 2012).

1.1 Hematopoéza

Hematopoéza je nepřetržitý dynamický proces, při němž se vytvářejí krevní buňky, udržuje se jejich optimální hladina a jejich počet se zvyšuje dle potřeby (Groarke et al., 2019). V naléhavých situacích, jako jsou například začínající či probíhající bakteriální a virové infekce, množství elementů krve rychle stoupá, naopak po zotavení se počty opět vrací k normálu. Je založená na hierarchii progenitorů s postupně se zužujícími diferenciačními potenciály. Startuje od multipotentních progenitorů, postupuje přes specifické buňky až ke specifickým buněčným typům a končí u unipotentních bezprostředních prekurzorů každého buněčného typu. Hematopoézu lze rozdělit podle časové osy na dva typy, a to na embryonální krvetvorbu a krvetvorbu dospělých (Rieger a Schroeder, 2012). Většina tkání je generována během fetálního období a až v dospělosti probíhá buněčná obnova (Weissman et al., 2001).

V odvětví hematologie a onkologie jsou klony definovány jako jednotná populace maligních buněk. Během vývoje nabývají maligní klony dalších subklonů, což může mít za následek propuknutí nemoci. Klonalita se však týká i normální krvetvorby. Klonální krvetvorbou se rozumí proces, kdy kmenové buňky během rozmnožování přirozeně získávají mutace, z nichž některé mohou vést k propuknutí nemoci. Následně jsou tyto mutace předávány na vlastní potomstvo. Aby byla zachována správná funkce hematopoézy, musí HSC projít mnohonásobným dělením. Postupem času jsou náchylnější k akumulaci mutací, které jsou děděny jejich potomky (Groarke a Young, 2019).

1.1.1 Embryonální krvetvorba

Vývoj krevního systému v embryu je značně složitý a dynamický proces. Analýzou první tvorby krevních buněk během embryonálního vývoje je možno získat velmi důležité poznatky o buněčných a molekulárních mechanismech, jenž přispívají ke specifikaci klinicky významných HSC (Rieger a Schroeder, 2012).

Nejranější stadia embryonálního vývoje probíhají za nepřítomnosti jakýchkoliv krevních elementů. Avšak poté, co embryo dosáhne optimálních parametrů na to, aby mohlo být zásobováno kyslíkem a dalšími nezbytnými faktory difúzí, jsou nejprve vytvořeny krevní buňky. Místa tvorby a udržování či rozšiřování hematopoetických kmenových a progenitorových buněk se v embryu neustále mění. Z pohledu anatomie jsou první krvetvorné buňky generovány v extraembryonálním žloutkovém vaku před prvním úderem srdce, později v placentě a alantois, což je jeden z plodových obalů, který u člověka představuje výchlípku entodermu do zárodečného stvolu. Funguje na systému umbilikálních neboli pupečnickových cév spojujících zárodek s placentou. Posléze jsou HSC tvořeny v intraembryonální oblasti aorty, gonád a mezonefros i placenty (Rieger a Schroeder, 2012).

Zajímavostí je, že v raném embryu existuje přechodná populace tzv. primitivních krevních buněk, i přesto, že dospělé a některé pozdější embryonální krevní buňky se vyvíjejí z HSC. Vznik těchto dočasných buněk probíhá v extraembryonálním žloutkovém vaku, placentě a také i v intraembryonálních místech před počátkem prvních HSC. Brzy jsou v embryu substituovány svými definitivními protějšky, jelikož se v dospělosti nerozmnožují. Odlišují se specifickými efektorovými funkcemi. Jako příklad lze uvést primitivní erytrocyty, které si oproti definitivním červeným krvinkám ponechávají svá jádra a také exprimují fetální formy červeného krevního barviva hemoglobinu. Zajišťují přenos kyslíku, který je nezbytný pro přežití embrya. Nejsou však jediným druhem, který se řadí do přechodné populace. Společně s erytrocyty tam patří i makrofágy a megakaryocyty (Rieger a Schroeder, 2012).

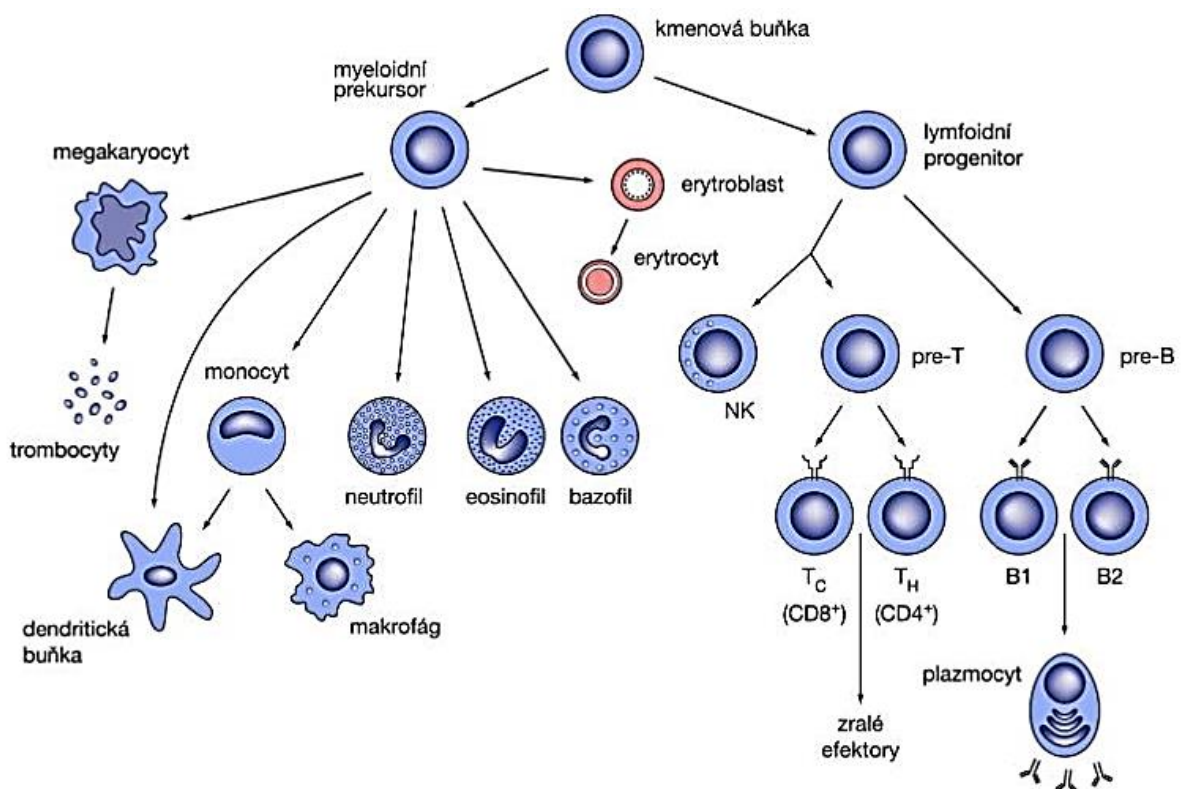
První buňky, které mají funkční vlastnosti dospělých HSC, vykazují počátek zrodu v intraembryonální oblasti aorty, gonád a mezonefros i placentě. Je pozoruhodné, že během svého vývoje neustále migrují z určitého místa na jiné. Jakmile se vytvoří v oblasti aorty, gonád a mezonefros, rychle se přemísťují do placenty a fetálních jater. Tato dvě důležitá místa jsou hlavním působištěm jejich expanze. Brzy poté putují do sleziny a v období porodu do kostní dřeně. Posléze zůstávají klíčovými místy krvetvorby, jež je odvozená od HSC i po narození (Rieger a Schroeder, 2012).

1.1.2 Krvetvorba dospělých

Předpokládá se, že téměř všechny buňky v kterémkoliv progenitorovém stadiu nesou úplný potenciál pro produkci následných buněčných typů. Taktéž se podrobují buněčnému osudu v závislosti na vnějších podnětech zprostředkovaných například cytokiny, ale i na vnitřních podnětech, konkrétně transkripčních faktorech (Pucella et al., 2020).

Na vrcholu hierarchického stromu (Obr. 1) je hematopoetická kmenová buňka charakterizovaná jako buňka schopná produkce všech krevních elementů. Tato vlastnost je označována jako multipotence. Rovněž zvládá udržovat samu sebe neboli je schopná vlastní sebeobnovy (Pucella et al., 2020).

Hematopoetická kmenová buňka je schopna produkovat dva typy prekurzorů. Jedná se o myeloidní progenitorovou buňku a lymfoidní progenitorovou buňku. Myeloidní lze ještě dále kategorizovat na linii megakaryocytární, která zajišťuje tvorbu trombocytů podílejících se na srážení krve a hojení ran, linii erytroidní generující erythrocyty, jež jsou zodpovědné za využití hemoglobinu pro přenos kyslíku do tkání a v rámci myeloidní linie jsou produkovány granulocyty, zejména neutrofil, eozinofil, bazofil a žírné buňky, monocyty a dendritické buňky. Lymfoidní pak zodpovídá za produkci všech lymfocytů, především B a T lymfocytů, které jsou součástí získané imunity a uplatňují somaticky přestavěné lokusy kódující antigenní receptory pro tvorbu specifické imunitní odpovědi a dlouhodobé paměti (Groarke a Young, 2019; Pereira-Veiga et al., 2022; Pucella et al., 2020).



Obr. 1: Schéma hematopoézy (Hořejší et al., 2017)

1.1.3 Hematopoetické kmenové buňky

Kmenové buňky jsou označovány jako individuální buňky s vlastností klonálních prekurzorů pro více kmenových buněk stejného druhu a stejně tak i pro přesně určený soubor diferencovaných potomků. Počátkem 60. let pánové Till a McCulloch, později i Siminovitch a Becker spolupracovali na sérii experimentů využívajících ozařování dárcovské kostní dřeně pro získání náhodných chromozomových markerů a kolonií potomstva buněk vhodných pro produkci všech linií krevních buněk. Výsledkem bylo prokázání existence kmenových buněk (Weissman et al., 2001).

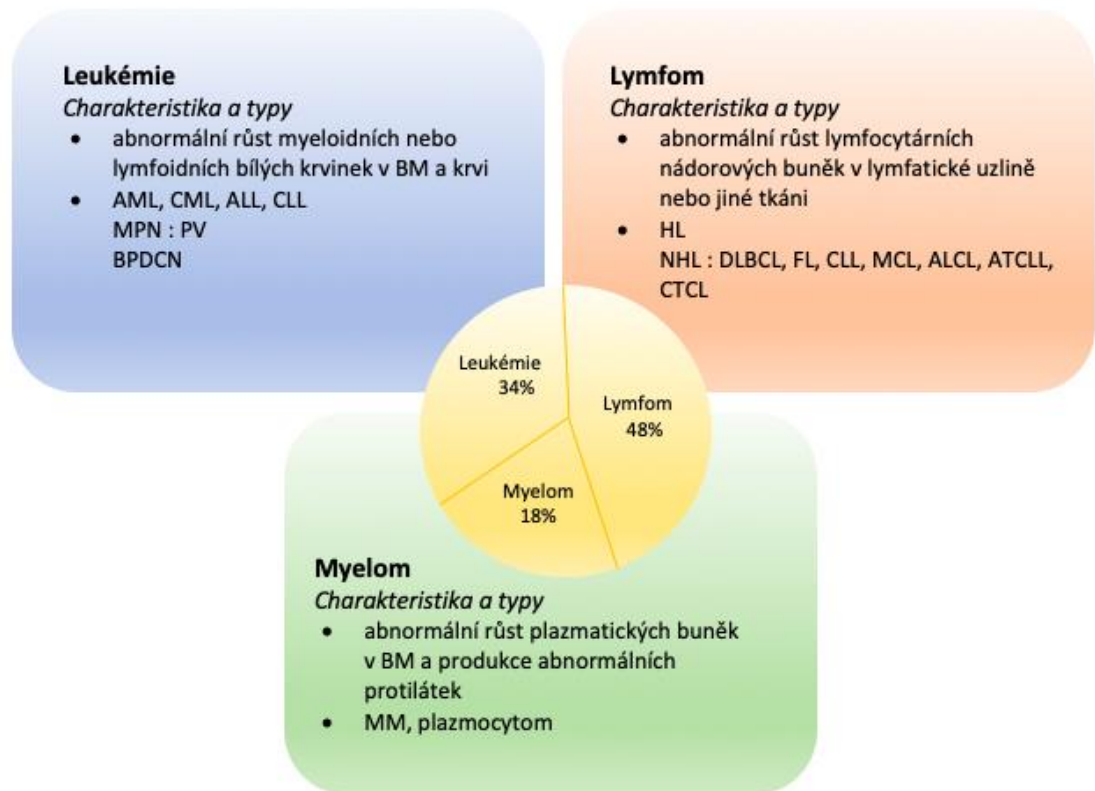
Hematopoetické kmenové buňky mají tři kritické vlastnosti. První je schopnost diferenciaci v progenitory všech linií, dále pak vysoká proliferační schopnost, kdy jako progenitory dávají vzniknout mnoha tisícům zralých krevních buněk. Posledním znakem je pak schopnost sebeobnovy, která umožňuje udržovat zásoby HSC. Důležitou roli v biologii kmenových buněk hrají cévy, stroma a cytokiny prostředí kostní dřeně (Groarke a Young, 2019).

Studium lidských kmenových buněk je velmi složité. K identifikaci se využívá imunofenotypizace. Ta je standardně založena na fluorescenci a počet určovaných povrchových buněčných markerů je značně omezen na jednu buňku. Specifické povrchové buněčné markery HSC jsou rozpoznávány pomocí protilátek. Kvalita výsledků však záleží i na dalších faktorech, z nichž je může nejvíc ovlivnit nesprávná manipulace se vzorkem a místo odběru. Během imunofenotypizace dochází k zachování počtu myeloidních buněk a zároveň ke snížení množství B-lymfoidních buněk. Tím nastává nepoměr mezi myeloidními a lymfoidními buňkami, čímž lze vysvětlit vyšší výskyt myeloidních malignit. Přítomnost lymfopenie související se stárnutím je hlavní predispozicí pro zhoršenou imunitu, za což může snížený počet buněk rozlišených do B-lymfoidní linie v kombinaci s celkovým úbytkem produkce T-buněk (Groarke a Young, 2019).

Je dokázáno, že s přibývajícím věkem, jak u zvířat, tak i u lidí, dochází ke změnám kostní dřeně. Mění se například celkový počet buněk v kostní dřeni, funkce a buněčné složení HSC, procesy související s buněčnou senescencí, ale i vlastní diferenciaci buněk, z čehož mohou vzejít klinické důsledky. Lymfoproliferace vychází ze zralých, anebo nezralých forem všech lymfocytů v různém stadiu jejich vývoje. Myeloproliferace se vyznačuje zvýšenou produkcí jedné či více řad krevních elementů v kostní dřeni (Groarke a Young, 2019; Pereira-Veiga et al., 2022).

1.2 Klasifikace hematologických malignit

Hematoonkologie je vědní disciplína zabývající se nádorovými onemocněními krve a hematopoetických orgánů. Ke krevním malignitám patří nádory, které vycházejí z buněk lymfatických orgánů a kostní dřeně (Pereira-Veiga et al., 2022). Zpravidla dochází ke vzniku těchto hematologických chorob v důsledku genetických a epigenetických změn hromadících se v hematopoetických buňkách, čímž dojde k poškození zárodečných krvetvorných buněk a k následnému rozvinutí nádorové populace buněk. Existují různé typy hematologických malignit s odlišnou etiologií. Lze je klasifikovat podle typu poškozených krvetvorných buněk a místa výskytu nádoru. Skupina nádorových onemocnění krve se dělí na leukemie, lymfomy a myelomy (Obr. 2) (Gills, 2022; Noh et al., 2020).



Obr. 2: **Hematologické malignity**

AML – akutní myeloidní leukemie, CML – chronická myeloidní leukemie, ALL – akutní lymfoblastická leukemie, CLL – chronická lymfocytární leukemie, MPN – myeloproliferativní novotvary, PV – pravá polycytemie, BPDCN – blastická neoplazie z plazmocytoïdních dendritických buněk, HL – Hodgkinův lymfom, NHL – Non-Hodgkinův lymfom, DLBCL – difúzní velkobuněčný B-lymfom, FL – folikulární lymfom, MCL – lymfom z plášťových buněk, ALCL – anaplastický velkobuněčný lymfom, ATCLL – akutní T-buněčná leukemie/lymfom, CTCL – kožní T-buněčný lymfom, MM – mnohočetný myelom, BM – kostní dřeň (upraveno dle Noh et al., 2020)

Leukemie představují heterogenní skupinu zhoubných onemocnění hematopoézy, jenž se od sebe liší etiologií, patogenezí, prognózou i různou odpovědí na léčbu. Vyvíjí se z maligní transformace hematopoetické kmenové buňky. Jedná se o vícestupňovou reakci, kterou může vyvolat přeměna jedné či více hematopoetických kmenových buněk. Poté se v lidském organismu identifikují jak zdravé, tak i převládající leukemické buňky. Nedostatkem postižené buněčné populace je diferenciacní porucha dospívajících elementů a zároveň i zvýšená proliferace. Leukemie se dělí podle poškození různých buněčných linií leukocytární řady na myeloidní a lymfoidní (Adam et al., 2008). Myeloidní postihují především granulocyty a monocyty, lymfoidní pak tvorbu lymfocytů. Podle rychlosti průběhu nemoci je leukemie označena za akutní či chronickou. Akutní stadia mají neobvykle rychlý průběh a brzy vedou ke smrti pacienta. Naopak chronické formy onemocnění mají pozvolný průběh a postižený může žít i několik let bez léčby. Přesná diagnostika je nezbytná pro identifikaci specifických biologických jednotek a současně pro navržení optimální léčby (Pecka, 2006). Typickým příkladem je akutní myeloidní leukemie (AML), která je charakterizována nahromaděním nezralých myeloidních progenitorů v kostní dřeni a periferní krvi. Vzniku této nemoci předchází somatická mutace v hematopoetických kmenových buňkách. Mutované buňky se intenzivně množí, dochází tedy ke klonální hematopoéze, což je proces, který se podílí na seskupení mutací během stárnutí (Noh et al., 2020).

Lymfomy jsou maligní nádory pocházející z lymfocytů. Postihují především místa častého výskytu zdravých leukocytů tohoto specifického druhu, tedy kostní dřev a lymfatické uzliny. V současnosti se nejčastěji užívá klasifikace na dvě hlavní skupiny, Hodgkinův lymfom (HL) a non-Hodgkinův lymfom (NHL), pojmenované anglickým lékařem Thomasem Hodgkinem, jenž toto onemocnění popsal (Pereira-Veiga et al., 2022). Dle poškozené části lymfatického systému se dělí na uzlinové a mimouzlinové. Vzhledem k průběhu nemoci se rozlišují na indolentní a agresivní (Gills, 2022). Hodgkinův lymfom vzniká v lymfatickém systému a vyskytuje se pouze u 10 % případů spojených s lymfomy. Také může souviset s virem Epstein-Barr nebo HIV/AIDS, kdy vychází z lymfatických uzlin. U pacientů, kteří onemocněli klasickým HL, lze najít v lymfatické uzlině maligní Reedovy-Sternbergovy buňky (Noh et al., 2020). Non-Hodgkinův lymfom představuje nádorové onemocnění, jehož počátek se rodí v lymfocytech. Narodil od leukemií, které postihují především kostní dřev a krev, lymfomy postihují lymfatické uzliny nebo jiné orgány, zkraye mohou zasáhnout i kostní dřev. NHL lze rozdělit do několika kategorií podle intenzity postižení lymfocytů a agresivity lymfomu. Je známo pět tříd NHL, a to difuzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL), malý lymfocytární lymfom též známý pod pojmem chronická lymfocytární leukemie (CLL),

folikulární lymfom (FL), lymfom z pláštěvých buněk a lymfom z marginální zóny B-buněk. DLBCL je nejvíce agresivním typem lymfomu, a naopak CLL i FL jsou pomalu rostoucími lymfomy. Až 10 % všech případů NHL tvoří T-buněčný lymfom postihující právě T-buňky (Noh et al., 2020).

Mezi myelomy patří myeloproliferativní novotvary (MPN). Jedná se o krevní nádory vyskytující se v kostní dřeni (Noh et al., 2020). Myeloproliferativní nemoci se vyznačují nadměrnou tvorbou krevních elementů určité jedné řady a zároveň sníženým množstvím prvků dalších linií. Následkem je zahuštění krve či poruchy regulace kostní dřene. K tomuto procesu dochází vlivem působení maligní transformace kmenové hematopoetické buňky (Adam et al., 2008). MPN zahrnují sedm typů, a to pravou polycytemii neboli *polycytemii vera* (PV), esenciální trombocytemii (ET), primární myelofibrózu (PMF), chronickou myeloidní leukemii (CML), chronickou neutrofilní leukemii, chronickou eozinofilní leukemii a neklasifikovatelné myeloproliferativní novotvary. Na základě přítomnosti mutace *BCR-ABL1* je diagnostikována CML. Naopak PV, ET a PMF jsou na průkaz *BCR-ABL1* negativní a vykazující jiné mutace, konkrétně *JAK2/CALR/MPL* (Noh et al., 2020). Skupinu myelomů doplňuje také mnohočetný myelom (MM). Reprezentuje klonální expanzi aberantních plazmatických buněk v kostní dřeni, jenž vede k produkci nadměrného množství monoklonálních imunoglobulinů nazývaných M protein. M proteiny atakují většinou ledviny a kosti, jejichž poškození způsobuje defekt koncových orgánů. MM je nejčastěji diagnostikovanou hematologickou malignitou a nejvíce prokázaným myelomem (Noh et al., 2020).

Typ léčby hematologických malignit závisí především na rozsahu onemocnění a jeho včasném rozpoznání, věku a fyziologickém stavu pacienta i na mnoha dalších rizikových faktorech, které musí lékař posoudit ještě před zahájením léčby. Nejvíce se uplatňuje transplantace kostní dřene, chemoterapie, imunoterapie a radioterapie. Indikace léčby se dodržuje dle daných doporučených postupů. Ve většině případů se dá léčba zajistit ambulantně, naopak při hospitalizaci pacient již podstupuje intenzivnější chemoterapie a do postupů terapie se zapojují i specializovaná hematoonkologická pracoviště (Gills, 2022).

2 Lymfoproliferativní onemocnění

Skupina lymfoproliferativních nádorových onemocnění je způsobená mutací v některém vývojovém stupni lymfocytu. Malignity vycházejí ze zralých či nezralých forem B a T lymfocytů nebo NK buněk. Postižená buňka pozmění své chování, a to tak, že přestane reagovat na regulační mechanismy organismu a zahájí nekontrolovatelné množení. Společným znakem nemocí tohoto původu je vznik z lymfoidní tkáně a zároveň i přítomnost receptorů určených pro kortikosteroidy, které svojí stimulací mohou vyvolat v buňkách apoptotickou smrt (Adam et al., 2001). Leukemické nádorové buňky se nacházejí převážně v kostní dřeni a krvi, kdežto u lymfomů jsou již zmíněné buňky obsaženy v orgánech či tkáních. Hranice mezi leukemiemi a lymfomy je však velmi tenká, lymfomy totiž mohou při svém průběhu leukemizovat, a naopak leukemie tvořit tumoriformní léze (Watson, 2022).

2.1 Lymfomy

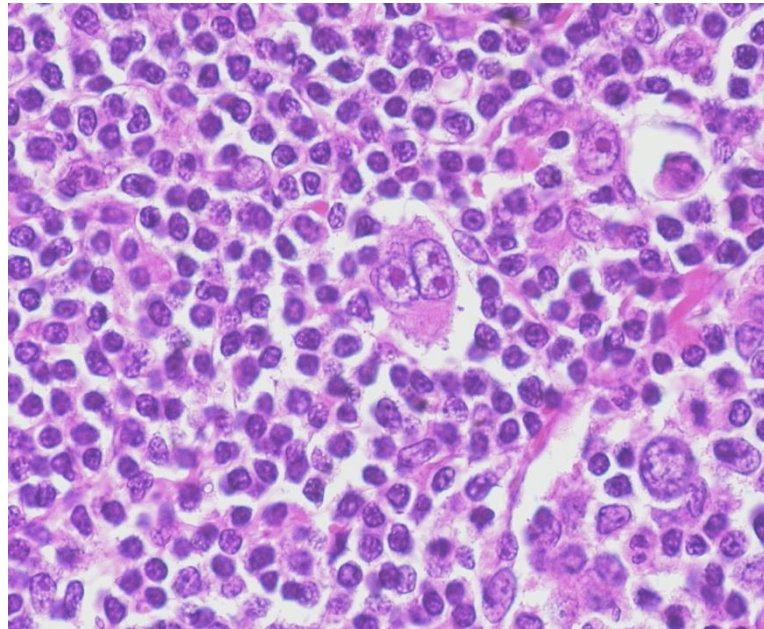
Lymfomy jsou definovány jako maligní nádory lymfoidní tkáně, kdy jsou nejčastěji postiženy lymfatické uzliny. Dnes lze s nadsázkou říci, že tyto zhoubné útvary, ale i jiné tumory, smíme pokládat za geneticky získanou poruchu, která se vytvoří poškozením, ztrátou nebo nesprávnou regulací genů odpovědných za růst a vývoj buněk. Proces vzniku lymfomu, kdy se nemoc rozvíjí postupně neboli střádá genetické změny, se nazývá vícestupňový děj (Pecka, 2006).

Historicky se lymfoproliferativní onemocnění klasifikují na Hodgkinův lymfom a skupinu non-Hodgkinských lymfomů. Existuje asi pět takových členění, podle nichž se stanovují právě již zmíněné choroby. Známost je především klasifikace světové zdravotnické organizace (WHO) vycházející z principů, které říkají, že jednotlivá nozologická jednotka je ideálně definována kombinací cytogenetických a morfologických znaků, klinických projevů i imunofenotypu (Adam et al., 2001).

2.1.1 Hodgkinův lymfom

Hodgkinův lymfom je vzácná hematologická malignita, jenž zajímavě spojuje příznaky neoplazie a zánětlivé reakce. Jde o onemocnění lymfatického systému, kdy jsou převážně postiženy lymfatické uzliny, a pak následně i další orgány obsahující lymforetikulární tkáň. Nádorové buňky pronikají z původní mízní uzliny skrz přilehlé lymfatické cesty do jiné lymfatické tkáně a příležitostně mohou prostupovat i do krevního řečiště. Nádorovou populací u Hodgkinovy nemoci jsou mnohojaderné buňky Sternberga-Reedové (Obr. 3), jejichž méně zralé prekurzory se označují jako Hodgkinovy buňky. Častá je také přítomnost reaktivních

lymfocytů (Pecka, 2006). Tato lymfoidní malignita má incidenci asi 2,4 osob na 100 000 obyvatel za rok. Prevalence u žen vrcholí po třicátém roce života a poté klesá, kdežto u mužů bývá stále konstantní (Yung a Linch, 2003).



Obr. 3: **Centrálně umístěná buňka Sternberga-Reedové s okolními lymfocyty**
(upraveno dle Uthman, 2009)

Prvním krokem pro určení správné diagnózy HL by měla být excizní biopsie podezřelé mizní uzliny. Posuzování rozsahu onemocnění se provádí pomocí čtyřstupňové Cotswoldsové modifikace, která je součástí klasifikace Ann Arbor. Zahrnuje různé informace ohledně prognostických faktorů, jako je rozsah subdiafragmatického onemocnění, jiné rozsáhlé nemoci uzlin i mediastinální masa (Diehl, et al., 2004). Je možno ji rozdělit na čtyři fáze, z nichž první charakterizuje postižení jednoho extralymfatického místa, jedné oblasti lymfatických uzlin nebo lymfoidní struktury, pod níž si lze představit slezinu i brzlík. Druhé stadium se vyznačuje zasažením dvou či více zón mizních uzlin na identické straně bránice nebo lokalizovaným zásahem pouze jednoho extranodálního orgánu, místa eventuálně i oblasti lymfatických uzlin na totožné straně hlavního nádechového svalu. Třetí stupeň vystihuje poruchu regionů uzlin mizní soustavy na obou stranách bránice, jenž může být doprovázeno poškozením sleziny a jednoho či dvou extranodálních orgánů. Poslední etapa, tedy čtvrtá, popisuje rozptýlené postižení jednoho i více mimouzlinových orgánů nebo tkání (Diehl et al., 2004).

Větší procento pacientů má zvětšenou, ale jinak asymptomatickou bulku vyskytující se v dolní části krku či supraklavikulární oblasti. Častý je také výskyt mediastinálních mas, obvykle patrné již při rutinním rentgenovém vyšetření. Pacienti si mohou stěžovat

na nekomfortní bolest hrudi s doprovázejícím kašlem a dušností. Asi čtvrtina postižených osob trpí systémovými příznaky, pro které je typická horečka, únava, noční pocení i ztráta hmotnosti (Yung a Linch, 2003). Pro laboratorní nález je v krevním obraze charakteristická mikrocytová či normocytární hypochromní anémie, lehká trombocytóza a u pokročilejších stadií mírná leukocytóza. Pod mikroskopem se sleduje značná eozinofilie a lymfopenie. Chromatin jádra je růžovofialové barvy, řídké a síťovité struktury. Cytoplazma obsahuje vakuoly, má šedomodrou barvu a je bohatá na buněčné elementy (Pecka, 2006).

Podle anatomického stadia a B-symptomů onemocnění je možno pacienty rozdělit do tří kategorií a přiřadit jim odpovídající druh léčby. Pacienti s časnou příznivou diagnózou jsou léčeni středně těžkou chemoterapií, zahrnující dva až čtyři cykly, a radiačním polem. Pacienti s brzkým nepříznivým stanovením choroby by měli podstoupit alespoň čtyři periody chemoterapií a následně i ozáření v příslušném poli. Osoby v pokročilém stadiu onemocnění se podrobí minimálně šesti až osmi cyklům léčby. Na základě předchozí léčby jsou u pacientů s recidivou nemoci indikovány různé terapeutické možnosti obsahující radioterapii, chemoterapii a vysokodávkovou chemoterapii s následnou autologní transplantací kmenových buněk, která se v některých případech osvědčila jako lepší způsob léčby (Diehl et al., 2004).

2.1.2 Non-Hodgkinské lymfomy

Non-Hodgkinské lymfomy jsou heterogenní skupinou lymfoproliferativních onemocnění vyznačující se odlišnou epidemiologií, etiologií, genetickými, imunofenotypovými, klinickými rysy a odpovědí na léčbu. Na základě prognózy ji lze rozdělit do dvou skupin, indolentní lymfomy mají nízký stupeň malignity a agresivní lymfomy naopak vysoký. Vznikají nádorovou přeměnou v kterémkoliv stupni vývoje buněk lymfoidních tkání. Vychází z prekurzorů, anebo zralých B- a T-lymfocytů. Od Hodgkinovy nemoci se odlišují svým histopatogenovým původem, biologickým chováním a klinickým projevem. Také zde nejsou přítomny Sternberga-Reedové a Hodgkinovy buňky. Postihuje starší populaci, především osoby ve věku 65 až 74 let (Sapkota a Shaikh, 2021).

Většina pacientů trpí bezbolestnou lymfadenopatií a mohou se u nich projevit systémové příznaky, jako je například noční pocení, horečka, ztráta hmotnosti, únava a svědění. Vzhledem k tomu, že toto onemocnění je schopné postihnout jakýkoliv orgán v těle, je pravděpodobný výskyt nespočetného množství projevů a příznaků napodobujících širokou stupnici jiných stavů. Diagnóza by měla být stavěna na adekvátním vzorku biopsie (Armitage et al, 2017). Laboratorní diagnostika se opírá o histologická vyšetření postižené tkáně. Bere v úvahu imunohistochemii, genetické a molekulárně genetické změny nádorové buňky (Pecka,

2006). Měl by být vyšetřen také krevní obraz, pro něhož je typická anémie, trombocytóza, lymfocytóza, trombocytopenie, leukopenie i pancytopenie. Tato reorganizace počtů krevních elementů může být způsobena rozsáhlou infiltrací kostní dřeně, ztrátou krve z důvodu postižení gastrointestinálního traktu nebo hypersplenismem zapříčiněným poškozením sleziny. Chemické testy séra pomohou vyloučit syndrom rozpadu nádoru (Sapkota a Shaikh, 2021).

Non-Hodgkinské lymfomy mohou být spojeny s různými faktory, včetně infekcí, environmentálních faktorů, stavů imunodeficiencie a chronického zánětu (Sapkota a Shaikh, 2021). Nejvíce rizikovým faktorem pro rozvoj nemoci je imunosuprese. HIV pozitivní pacienti mají vysoký stupeň nebezpečí vývoje této malignity lymfoidního systému. Dalšími osobami, pro které platí zvýšené riziko vzniku non-Hodgkinského lymfomu, jsou příjemci transplantovaných orgánů, nemocní, kteří podstoupili vysokodávkovou chemoterapii s transplantací kmenových buněk, a pacienti se syndromem dědičné imunodeficiencie nebo autoimunitním onemocněním (Shankland et al., 2012). Léčba NHL se výrazně liší v závislosti na stadiu nádoru, stupni a typu lymfomu, histopatologických rysech, různých faktorech pacienta, jako je věk, symptomy i výkonnostní stav. Nejčastější léčbou je chemoterapie, radioterapie, imunoterapie, transplantace kmenových buněk a ve vzácných případech i operace. Značně využívaná je chemoimunoterapie, což je kombinace léku rituximab s chemoterapií. Podle typu lymfomu je pacientům indukován odpovídající postup léčby (Sapkota a Shaikh, 2021).

2.2 Leukemie

Pojem leukemie vznikl ze dvou řeckých slov, *leukos* a *haima*, což v překladu znamená bílá krev nebo bělokrevnost. Termín leukemie byl poprvé použit v roce 1847 německým patologem Rudolfem Virchowem, který jako jeden z prvních lékařů toto onemocnění rozpoznal. Jedná se o zhoubné hematologické onemocnění bílých krvinek projevující se množstvím určitých skupin bílých krvinek v kostní dřeni i v krvi, kde vlivem utlumení funkce hematopoézy komplikují obnovu také erytrocytů a trombocytů. Zhoubnost je charakterizovaná nulovou obrannou funkcí postižených leukocytů a jejich potlačováním zdravých buněk lidského organismu (Doubek, 2017). Příčina vzniku leukemií není doposud známa. Pravděpodobně dochází k seskupení více nežádoucích účinků, jenž následně způsobí nekontrolovatelný proces. Příkladem negativních faktorů jsou kouření, radioaktivní záření, anebo práce s chemikáliemi. Leukemie také může propuknout u lidí, kteří se již vyléčili z onkologického onemocnění (Pecka, 2006).

Podle průběhu onemocnění se dá nemoc rozdělit na akutní a chronickou (Penka et al., 2011). Pokud počet blastů v kostní dřeni nebo periferní krvi přesahuje 20 až 30 %, hovoří se o akutní leukemii. Naopak jestliže tuto procentuální hranici nepřevyšuje, jde o chronické proliferace (Šebek, 2020). Akutní formy leukemií mají velmi rychlý průběh (Doubek, 2017). Začínají z plného zdraví pacienta a ve většině případů se neobjevují žádné příznaky. Pokud pacient nepodstoupí léčbu včas, může zemřít již během několika dnů až týdnů. Patologickým znakem je zástava zrání buněk na úrovni blastů a jejich následné zmnožení. Chronické formy se vyznačují nadměrnou tvorbou vývojových stadií granulocytů. Mají pomalý průběh a pro pacienta představují přežití v řádu měsíců až let (Penka et al., 2011).

Původní klasifikační systémy akutních i chronických leukemií se zakládaly pouze na cytomorfoloických a cytochemických vyšetřeních. Současné uspořádání klade důraz i na imunofenotypizaci, imunogenetiku a molekulární cytogenetiku. Počáteční diagnózu tohoto onemocnění určuje morfolgie, která však nestačí k identifikaci klinicky i biologicky důležitých podskupin. Pro přesnější určení hematopoetické linie a stupně diferenciaci u jednotlivých leukemií se využívá imunofenotypizace. Ta hraje ústřední roli v klasifikaci zralých lymfoidních malignit a taktéž je nezbytná pro rozpoznání některých podtypů akutní myeloidní leukemie, které jasně signalizují chromozomové aberace. Aby byla identifikace těchto aberací spolehlivá, je zapotřebí využít molekulární či cytogenetické studie. Takovéto kombinované diagnostické informace jsou základním stavebním kamenem současné WHO klasifikace nádorů krvetvorné i lymfatické tkáně. Předpokládá se, že do budoucna bude tato určitá kategorizace doplněna o další nová kritéria, která budou odhalena pomocí profilování genové exprese prostřednictvím mikročipů (Penka et al., 2011; Šebek, 2020).

Leukemie lze částečně zahrnout i do myeloproliferativních onemocnění. Příkladem je právě druhá hlavní skupina leukemií, a to myeloidní leukemie. Tou první důležitou skupinou jsou leukemie lymfoidní. Lymfoidní leukemie vznikají především z prekurzorů B-lymfocytů (Penka et al., 2011). Postihují lymfoidní linie a jejich průběh probíhá pod obrazem leukemie nebo lymfomu, u kterého nádorová masa nesetrvává v krvi, ale především infiltruje do lymfatických tkání (Šebek, 2020). Mezi tento druh onemocnění se řadí akutní lymfoblastická leukemie (ALL), chronická lymfocytární leukemie, prolymfocytární leukemie (PLL), vlasatobuněčná leukemie (HCL). Myeloidní leukemie pak vycházejí z elementů granulocytopoézy v kostní dřeni, nejčastěji z neutrofilů. Patří sem akutní myeloidní leukemie a chronická myeloidní leukemie (Doubek, 2017).

2.2.1 Akutní lymfoblastická leukemie

Akutní lymfoblastická leukemie je heterogenní hematologické onemocnění charakterizované proliferací nezralých lymfoidních buněk v periferní krvi, kostní dřeni a dalších orgánech (Alvarnas et al., 2012). Spolu s lymfoblastickým lymfomem tvoří skupinu geneticky různorodých lymfoidních novotvarů odvozených od B- a T-lymfoidních progenitorů (Onciu, 2009). Patří mezi nejčastější formu dětské leukemie, protože postihuje až 80 % jedinců (Pui et al., 2004). U dospělých představuje přibližně 20 % všech leukemií. Medián věku při stanovení nemoci činí 13 let (Alvarnas et al., 2012).

Klinickými projevy může být letargie neboli chorobná spavost, únava, závratě, dušnost, krvácení, snadná tvorba modřin a konstituční symptomy, jež zahrnují váhový úbytek, noční pocení, horečky (Alvarnas et al., 2012; Onciu, 2009). U dětí obvykle nastane i bolest kloubů či končetin. Při fyzikálním vyšetření je zhruba u 20 % pacientů diagnostikována přítomnost splenomegalie, lymfadenopatie vyznačující se zvětšením lymfatických uzlin nebo zvětšení jater, tzv. hepatomegalie. Na základě imunofenotypizace lze ALL obecně klasifikovat do tří odlišných skupin, jež zahrnují ALL prekurzorových B-buněk, ALL zralých B-buněk a ALL T-buněk (Alvarnas et al., 2012).

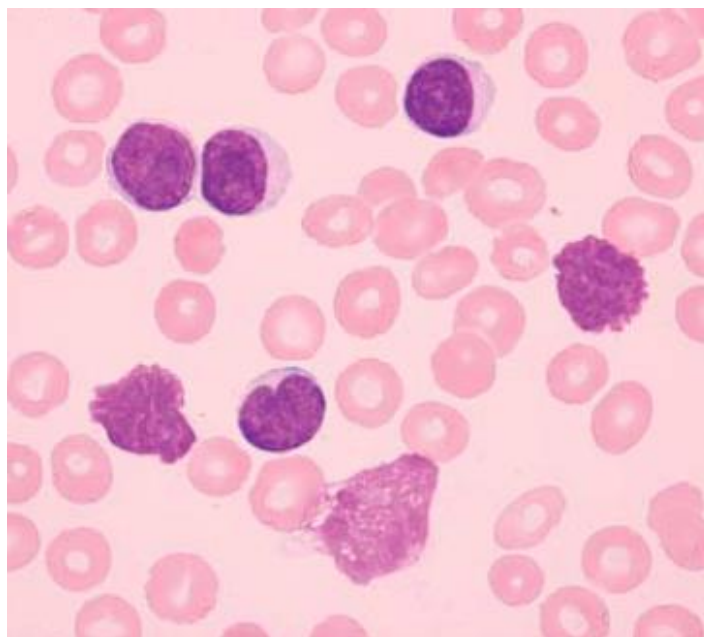
Obecně lze léčbu rozdělit na tři léčebné fáze, indukční, konsolidační a udržovací. První fáze indukční má za cíl odstranit co nejvíce leukemických buněk z kostní dřene a tím pádem snížit nádorovou zátěž. Záměrem fáze konsolidace je eliminovat potenciální leukemické buňky, které nebyly vyloučeny již během indukční fáze. Udržovací terapie, tedy třetí fáze, má za úkol zabránit relapsu onemocnění. Většinou se denně podává merkaptopurin a jednou týdně metotrexát po dobu 2 až 3 let (Alvarnas et al., 2012).

Velký vliv na prognóze mají různé faktory specifické pro pacienta a související s onemocněním. Především se jedná o věk, množství leukocytů, cytogenetický nebo imunofenotypový podtyp a odpověď na indukční terapii (Alvarnas et al., 2012; Hoelzer et al., 2002). V současné době se pravděpodobnost vyléčení ALL a prodloužení života zvýšila, jelikož věda pokročila v chápání molekulární genetiky i patogeneze onemocnění (Alvarnas et al., 2012). Došlo především k přizpůsobení terapie rizika relapsu, zlepšení podpůrné péče a optimalizaci stávajících chemoterapeutických léků (Onciu, 2009). Výsledky intenzivní chemoterapie dosáhly míry vyléčení 85 až 90 % dětských pacientů a u dospělých 40 až 50 %, přičemž účinek protinádorové léčby závisí na klinických příznacích a genetickém podtypu onemocnění (Hoelzer et al., 2002; Onciu, 2009)

2.2.2 Chronická lymfocytární leukemie

Chronická lymfocytární leukemie se vyznačuje akumulací zralých B-lymfocytů v kostní dřeni, periferní krvi a sekundárních lymfatických orgánech, což jsou lymfatické uzliny a slezina (Ghia et al., 2007). Je to nejvíce se vyskytující leukemie u dospělých, zahrnuje až 30 % pacientů všech typů tohoto hematologického onemocnění (Hallek a Pflug, 2010). Incidence je asi 2-6 případů na 100 000 jedinců za rok, průměrný věk v čase diagnózy bývá 65 let a muži jsou touto nemocí postiženi častěji než ženy (Ghia et al., 2007).

Po zhotovení krevního nátěru z periferní krve pacienta se provede morfologická analýza, jenž prokáže shromažďování malých zralých lymfocytů. Charakteristickým znakem CLL jsou tzv. „Gumprechtovy jaderné stíny“ nebo „šmouhové buňky“ (Obr. 4). Ty vznikají díky křehkosti buněčné membrány, která vede k praskání leukemických buněk. Část pacientů má indolentní neboli utlumenou formu leukemie s delším přežitím, jiní si zase prochází agresivní formou, kdy je zapotřebí rychlá a často i opakovaná léčba. V některých případech je CLL asymptomatickým jedincům diagnostikována při rutinním vyšetření krevního obrazu. Naopak u nemocných osob se mohou projevit příznaky, které jsou způsobeny nežádoucími účinky maligního bujení buněk v periferní krvi a kostní dřeni. Pacienti pak pociťují únavu, také dochází ke zvětšení sleziny, jater a povrchových lymfatických uzlin v důsledku infiltrace sekundárních lymfatických orgánů nebo i systémových příznaků jako je úbytek hmotnosti, noční pocení, horečka. Může se rozvíjet anémie, trombocytopenie i autoimunitní onemocnění (Ghia et al., 2007).



Obr. 4: Gumprechtovy jaderné stíny a zralé lymfocyty v periferní krvi (Starostka a Mikula, 2014)

Během posledního desetiletí došlo k výraznému pokroku v oblasti léčby CLL. Byla vyvinuta řada nových léků, například fludarabin, idelalisib, venetoklax, bendamustin, ibrutinib (Hallek a Pflug, 2010; Parikh, 2018), a také monoklonálních protilátek zejména rituximab a alemtuzumab (Byrd et al., 2004; Hallek a Pflug, 2010). Existuje spousta možných léčebných procesů pro dosažení remisí. Jednočinné ošetření je první možností léčby založené na bázi alkylátorů, druhým typem jsou analogy purinů působící buď jako samostatné činidlo, anebo v kombinaci. Třetí možností je monoklonální chimérická myši protilátka rituximab proti lidskému CD20 prezentována na zdravých i maligních B-lymfocytech. Další schopností je kombinovaná chemoterapie či transplantace hematopoetických kmenových buněk, jenž je prozatím jedinou strategií na potenciální vyléčení onemocnění (Byrd et al., 2004; Ghia et al., 2007).

2.2.3 Prolymfocytární leukemie

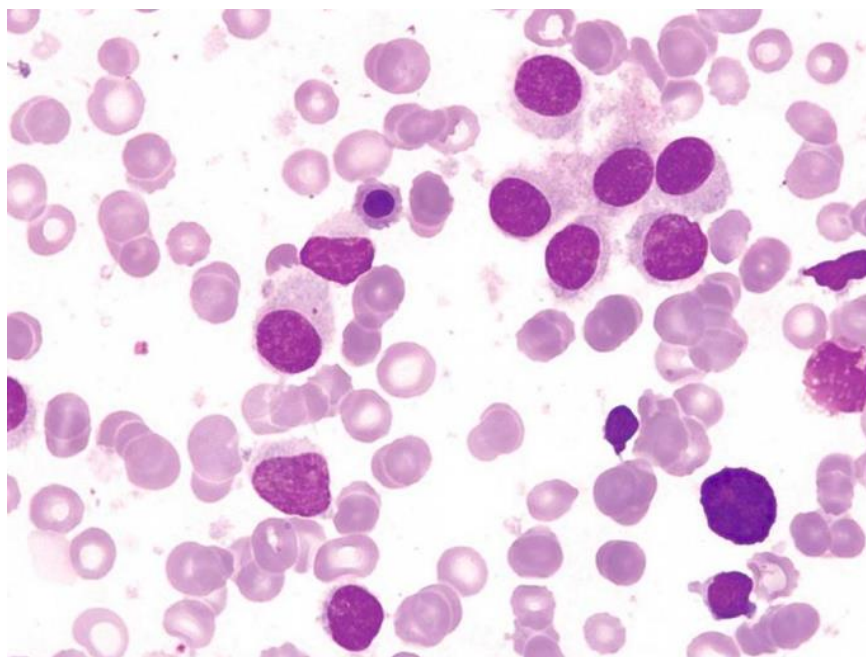
Prolymfocytární leukemie jsou vzácné zralé lymfoidní novotvary tvořící méně než 2 % lymfoidních leukemií. B-prolymfocytární leukemie (B-PLL) je neobvyklá chronická lymfoproliferativní porucha představující méně než 1 % zralých B-lymfocytárních malignit. Hematoonkologické onemocnění zralých T-lymfocytů je velmi neobvyklé. Poprvé bylo popsáno u pacienta se stejnými klinickými příznaky jako se nachází u B-PLL, avšak následná imunofenotypizace prokázala T-imunofenotyp. Oba podtypy mají specifický klinický obraz i podobnou morfoloii, nicméně se od sebe odchyľují svou patologií. Analýzy cytogenetiky a molekulární biologie ukazují rozdíl mezi oběma subtypy prolymfocytární leukemie, kdy jsou u více jak 90 % pacientů s T-prolymfocytární leukemií (T-PLL) přítomny komplexní opětovně se vracející chromozomální odchylky. Nejčastěji je postižen chromozom 14 a gen receptoru α T buněk situovaný v 14q11 (Collignon et al., 2017). Genetickými abnormalitami u B-PLL jsou TP53 a MYC. Poškození TP53 vzniká mutací nebo delecí a je pozorováno u poloviny pacientů, aberace u MYC je diagnostikována u více než 50 % případů a nemusí nutně souviset s agresivním klinickým chováním. PLL postihuje osoby starší dospělé populace s mediánem věku 60 let a je pozorována častěji u mužů než u žen (Dearden, 2015).

Typickým znakem PLL je nález prolymfocytů v krevním nátěru. Prolymfocytární buňky se vyznačují větší velikostí, středově uloženým jádrem s nápadným centrálním jádérkem obklopeným bledou cytoplazmou bez granulí. Již zmíněné buňky pocházejí z 80 % z B-řady, zbylých 20 % připadá na T-řadu. Malignita onemocnění je dána výskytem prolymfocytů v periferní krvi, a to v množství nad 55 % ze všech jaderných buněk (Pecka, 2006).

Dvě třetiny pacientů trpí masivní splenomegalií, vysokou lymfocytózou ($>100 \times 10^9/l$), zřídka i méně objemnou lymfadenopatií (Dearden, 2012). Asi u poloviny pacientů se vyskytuje hepatomegalie a u 20 % postižených pleuroperitoneální výpotky, pro které je typické nahromadění většího množství tekutiny v pleurální dutině. Dále i edémy, kožní léze, jenž mohou být různého typu. Například infiltrace lokalizovaná na obličejí a uších, difúzní infiltrovaný erytém, pro něhož je charakteristické červené zbarvení kůže způsobené rozšířením cév a vyšším prokrvením, noduly neboli uzlíky a vzácně i erythrodermie postihující kůži celého těla (Collignon et al., 2017; Dearden, 2012). Existují i pacienti, u nichž se žádné symptomy neobjeví a prochází tzv. indolentní fází nemoci. V takových případech se doporučuje průběh onemocnění sledovat a vyčkávat, jelikož nebylo prokázáno, že by včasná léčba mohla být užitečná (Dearden, 2015). Alkylační látky i kombinovaná chemoterapie jsou účinné pouze na velmi krátkou dobu. Lepší efektivitu dokazují purinová analoga a také monoklonální protilátky. Jedinou kurativní metodou se jeví autologní nebo allogenní transplantace kostní dřeně (Collignon et al., 2017). Prognóza je špatná, léčebnými terapiemi málo ovlivnitelná, tudíž pacienti většinou do roka zemřou (Dearden, 2012).

2.2.4 Vlasatobuněčná leukemie

Vlasatobuněčná leukemie je vzácná chronická B-buněčná malignita, která postihuje kostní dřeň, slezinu a periferní krev (Naing et al., 2022). Patologické lymfoidní buňky vychází z vývojové linie B-lymfocytů, mají průměr cca 10 až 25 μm , jsou většího tvaru s modrošedou cytoplazmou, jádra jsou nejčastěji vejčitá, ale mohou být kulatá, oválná nebo ve tvaru podkovy a na celém svém povrchu nosí vilózní výběžky, které jsou dobře viditelné pod mikroskopem (Obr. 5) (Naing et al., 2022; Pecka, 2006).



Obr. 5: **Leukemické buňky vlasatobuněčné leukemie** (Bulíková, 2011)

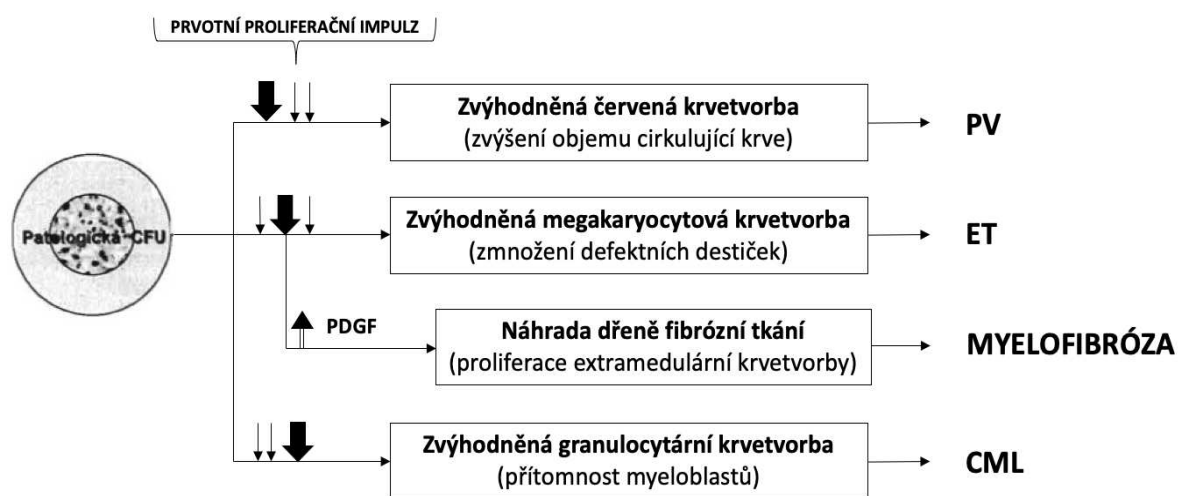
HCL představuje 2 % ze všech leukemií, poměr postižení 4 : 1 pro muže a medián věku při diagnóze 55 let (Maitre et al., 2019; Naing et al., 2022). Buňky HCL produkují početné množství cytokinů, jež jsou zodpovědné za původ pancytopenie. O potlačení krvetvorby se značnou měrou zaslouhuje infiltrace kostní dřeně maligními buňkami a jimi produkovaný tumor nekrotizující faktor α (TNF- α) (Bohn et al., 2021; Pecka, 2006). Toto onemocnění se manifestuje únavou, nechutenstvím, slabostí, váhovým úbytkem, v některých případech i tlakem pod levým žeberním obloukem. Při těžké trombocytopenii dochází ke krvácivým projevům. Dominují také splenomegalie s hepatomegalií. Až 80 % pacientů trpí významnými cytopeniemi, náročnou pancytopenií do 10 %. Vzácně se vyskytují záněty cév, tzv. vaskulitidy, zánětlivá onemocnění kloubů neboli artritidy, infiltrace centrální nervové soustavy či oční rohovky (Naing et al., 2022).

Asymptomatictí pacienti jsou léčeni strategií sledování a vyčkávání (Naing et al., 2022). Naopak pacienti vykazující příznaky se stále klesajícími hematologickými hodnotami léčbu podstupují (Maitre et al., 2019). Léky první volby jsou kladribin a pentostatin, což jsou dva purinové analogy. Nedávná metaanalýza ukázala, že nejúčinnější terapií u dosud neléčených pacientů s prvním relapsem je kombinace kladribinu s rituximabem. Ideální volbou léčby během těhotenství je interferon-alfa (IFN- α). Po léčbě by měla být provedena opakovaná biopsie kostní dřeně k potvrzení kompletní remise. Kompletní remise je definována jako nepřítomnost vlasatých buněk v krvi a kostní dřeni, vymizení splenomegalie a obnovení fyziologického obrazu periferní krve (Naing et al., 2022). Mezi nejslibnější terapeutické

možnosti pro pacienty s relapsem HCL patří inhibitory BRAF a rekombinantní imunokonjugáty zacílené na CD22 (Maitre et al., 2019).

3 Myeloproliferativní onemocnění

Skupina myeloproliferativních onemocnění je charakterizovaná klonálními nádorovými změnami vznikající neoplastickou přeměnou hematopoetické kmenové buňky. Výsledkem transformace je neomezená proliferace s následným odlišením změněné buňky (Pecka, 2006). Vlivem bujení jedné nebo více erytroidních, granulocytárních a megakaryocytárních buněčných linií dochází ke zvýšení počtu červených krvinek, granulocytů nebo krevních destiček v periferní krvi (Obr. 6), (Murray, 2005; Pecka, 2006). Pojem myeloproliferativní znamená, že se v kostní dřeni tvoří nadměrný počet krevních buněk, jiným slovem dochází k proliferaci v již zmíněném orgánu (Pecka, 2006). V roce 1951 William Dameshek, americký hematolog, zdůraznil fenotypové podobnosti mezi chronickou myeloidní leukémií, pravou polycytemií neboli *polycytemií vera*, esenciální trombocytemií a primární myelofibrózou a seskupil je pod rubriku myeloproliferativních poruch (MPD). Ačkoli mají velmi podobnou genetickou podstatu, odlišuje se od nich chronická myeloidní leukémie již prokázanou mutací *BCR-ABL*. Svou genetickou odchylkou si vysloužila význačné postavení mezi MPD, a proto jí bude podrobněji věnována kapitola 4. (Tefferi a Gilliland, 2007).



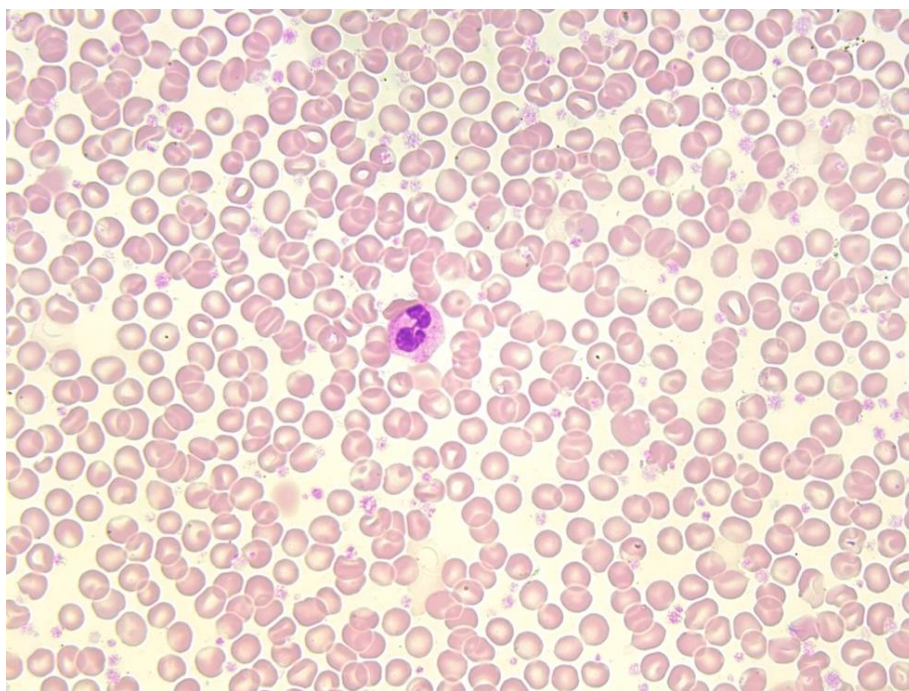
Obr. 6: Rozdělení myeloproliferativních onemocnění

CFU – progenitorová kmenová buňka, PDGF – destičkový růstový faktor, CML – chronická myeloidní leukémie, PV – pravá polycytemie, ET – esenciální trombocytemie (upraveno dle Pecka, 2006)

Myeloproliferativní onemocnění společně sdílí molekulární patogenezi vedoucí k nadprodukci zralých krvinek. CML je již snadno rozpoznatelná díky charakteristické přítomnosti získané genetické abnormality – Philadelphského chromozomu (Ph-chromozomu) a průkazem specifického molekulárního markeru, narušené proteinkinázy *BCR-ABL*. Navzdory nedávnému popisu mutace $JAK2^{V617F}$ u podskupiny pacientů s PV, ET a PMF je však mechanismus, který je základem molekulární patogeneze těchto myeloproliferativních poruch, stále předmětem diskuse. Jsou proto obecně spojeny pod společným označením Ph-negativní MPD. Přítomnost mutace poskytuje proliferační výhodu tím, že činí buňky citlivějšími na příchozí stimulační signály, což způsobuje klonální expanzi hematopoetických progenitorů u myeloproliferativních poruch (Brière, 2007).

3.1 Pravá polycytemie

Pravá polycytemie neboli *polycytemia vera* je klonální porucha vznikající v multipotentní hematopoetické progenitorové buňce, která způsobuje akumulaci morfologicky zdravých krevních destiček, červených a bílých krvinek (Spivak, 2002). Od ostatních polycytemií se liší právě trilineární proliferací hematopoézy, kdy převažuje erytroidní řada (Indrác et al., 2006). Expanze klonu vede k nadbytku erytroidních elementů (Obr. 7) s vysokým hematokritem a zvýšeným objemem celkové erytrocytové masy a krve. Z důvodu nadměrného objemu krve a její hyperviskozity se až u 70 % pacientů vyskytují zpočátku nespecifické příznaky. Například bolest hlavy, poruchy zraku, dušnost, závratě či svědění kůže (Indrác et al., 2006; Stuart a Viera, 2004). Mohou se objevit také zažívací potíže, především gastroduodenální vředová choroba (Stuart a Viera, 2004). Při vyšetření se nachází také pletorické neboli načervenalé zbarvení kůže (Indrác et al., 2006). U pacientů s PV je sklon ke krvácivým komplikacím a trombózám (Stuart a Viera, 2004).



Obr. 7: Nadbytek erytrocytů a trombocytů v nátěru periferní krve (Kwon a To, 2018)

První popsaná PV byla v roce 1892 a má incidenci alespoň 2 na 100 000 obyvatel za rok (Spivak, 2018). Medián věku pacientů s diagnostikovanou PV je 55 až 60 let, přestože se může vyskytnout u osob ve všech věkových skupinách (Stuart a Viera, 2004). Ačkoliv molekulární základ této nemoci zůstává nejasný, patofyziologie pravé polycytemie je dobře definovatelná a při včasné nastavení adekvátní léčby, může dojít k prodloužení pacientova života o více než deset let (Spivak, 2006). Neléčení pacienti pak většinou umírají do osmnácti měsíců (Stuart a Viera, 2004). Principem léčby je snížení nebezpečí trombohemoragických komplikací, utlumit příznaky zvýšeného množství erytroidních elementů v periferní krvi a omezit šíření PV do myelofibrózy a leukemické transformace (Indrák et al., 2006).

3.2 Esenciální trombocytémie

Esenciální trombocytémie je klonální onemocnění odvozené z kmenových buněk s expanzí linie megakaryocytů charakterizované trvalým zvýšením počtu krevních destiček vyšším než $600 \times 10^9/l$ a tendencí k rozvoji tromboembolismu a krvácení (Fabris a Randi, 2009). U trombocytů se může objevit pokles citlivosti na trombopoetin, proto se nachází zvýšené hladiny již zmíněného glykoproteinu, což způsobuje právě vzestupnou tvorbu megakaryoblastů i megakaryocytů. V kostní dřeni stoupá megakaryocytová masa a střední objem megakaryocytů (Tefferi et al., 2000).

Mezi chronickými myeloproliferativními onemocněními byla ET popsána jako poslední (Fabris a Randi, 2009). V běžné populaci je prevalence asi 30 na 100 000 osob a incidence 1-2 na 100 000 obyvatel za rok (Indrák et al., 2006). ET postihuje převážně ženy ve středním nebo vyšším věku. Medián věku při diagnóze je 65 až 70 let, ale onemocnění se může objevit v jakékoli věkové kategorii. U dětí je výskyt nemoci extrémně vzácný. Často je ET diagnostikována ve třetí až čtvrté dekádě života. Vzhledem k tomu, že je nemoc zjištěna již v časně fázi a incidence onemocnění je přibližně dvakrát vyšší u žen než u mužů, je těhotenství související s ET obvyklé. U pacientek je však riziko potratů třikrát až čtyřikrát vyšší než u zdravých gravidních žen (Fabris a Randi, 2009).

Onemocnění má chronický průběh, někteří pacienti jsou asymptomatictí, jiní mohou trpět vazomotorickými, trombotickými nebo hemoragickými poruchami (Fabris a Randi, 2009). Symptomy vazomotorického poškození jsou například bolest a točení hlavy, atypické bolesti na hrudi, poruchy vidění, erytromelalgie, pro kterou je charakteristická záchvatovitá bolest nohou provázená otokem a zčervenáním kůže i distální parestázie neboli porucha cití. Hlavním rizikem pro pacienty s ET jsou venózní a arteriální trombózy, krvácení a trombocytární přechodné okluze mikrocirkulace (Tefferi et al., 2018; Wilkins et al., 2008). Převážná část pacientů se dožívá normální délky života s minimálním nebezpečím pro vznik leukemické transformace či fibrotické progresse (Tefferi et al., 2018).

Léčba ET se koncentruje na profylaxi cévních potíží (Indrák et al., 2006). Před zahájením léčby by pacienti s ET měli být rozděleni podle jejich vysokého, středního nebo nízkého rizika na základě jejich věku, symptomů souvisejících s onemocněním, předchozích trombotických příhod nebo krvácení v anamnéze, kardiovaskulárních rizikových faktorů, včetně kouření, hypertenze, hypercholesterolémie, diabetu mellitu (Beer et al., 2011), a počtu krevních destiček. Terapeutickým cílem je dosáhnout počtu trombocytů pod $400 \times 10^9/l$, potlačení příznaků, fyziologických rozměrů sleziny a počtu bílých krvinek $10 \times 10^9/l$ (Fabris a Randi, 2009). V rámci léčby lze indikovat léky s cytoreduktivními nebo tromboreduktivními účinky, a to anagrelid, interferon α , hydroxyureu, okrajově také busulfan, pipobroman. Dále i léky s antitrombotickým účinkem jako třeba kyselinu acetylsalicylovou, indobufen, tiklopidin. Případně i antitrombotika, konkrétně heparin a kumariny, či symptomatika řadící se mezi doplňkové léky (Beer et al., 2011; Tefferi et al., 2000).

3.3 Primární myelofibróza

Metaplazie je charakterizovaná přeměnou z jedné diferencované tkáně na jinou diferencovanou tkáň. Extramedulární metaplazie je jedním z více typů metaplazií, pod níž si lze představit myeloidní metaplazii. Vyznačuje se poškozením kostní dřeně, kdy vzniká ložisková erytropoéza v lymfatických uzlinách, játrech a slezině. Není však vždy spojena s myelofibrózou neboli fibrózou kostní dřeně. Jeden nebo druhý proces se může vyskytnout i v případech mimo klonální hematologické poškození, nicméně u chronických myeloidních poruch je možné objevit oba děje. Termín „myelofibróza s myeloidní metaplazií“ je rezervován pro pacienty s agnogení myeloidní metaplazií, též známé pod pojmem idiopatická myelofibróza, dále i pro osoby s anamnézou pravé polycytemie či esenciální trombocytémie, jelikož se u nich vyvine podobný fenotyp (Tefferi, 2000).

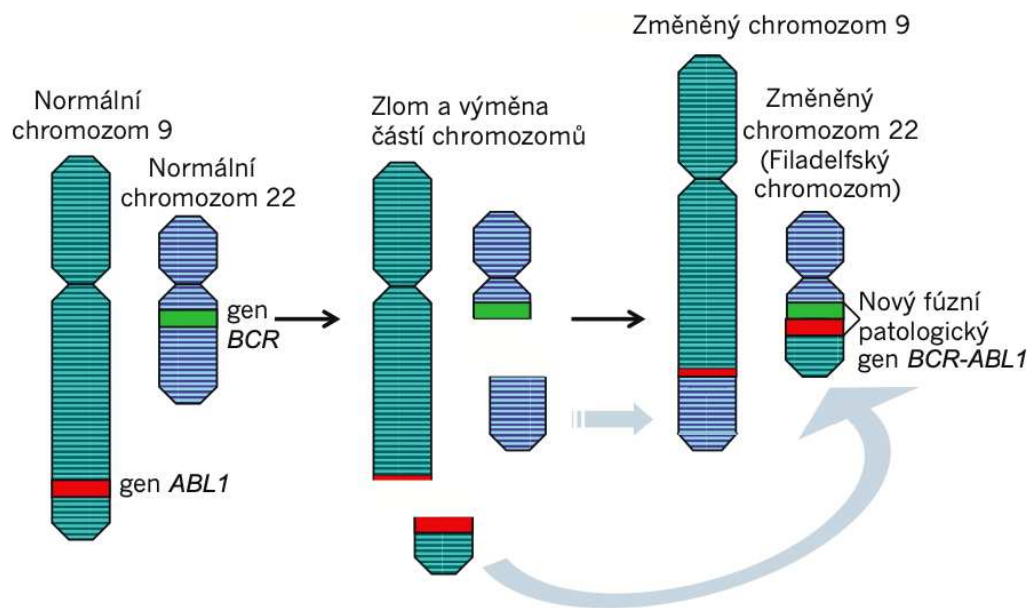
Primární idiopatická myelofibróza je myeloproliferativní novotvar charakterizovaný klonální myeloproliferací odvozenou z kmenových buněk, která je často, ale ne vždy, doprovázená mutacemi JAK2, CALR nebo MPL (Tefferi et al., 2018). Důležitým charakteristickým znakem PMF je hluboká fibróza dřeně. Kolagen typu 1 a kolagen typu 3 neboli retikulín jsou převažujícími extracelulárními prvky vazivové přestavby dřeně. Tyto složky jsou produkovány fibroblasty, jež nepatří k malignímu klonu. Výsledkem ukládání kolagenu je uvolňování fibrogenních cytokinů megakaryocytů a monocytů z kmenových buněk maligní populace (Hoffman a Rondelli, 2007). Onemocnění se vyvíjí během několika let a jeho příčina není přesně známa, je tedy idiopatická. Většina diagnostikovaných pacientů se nachází ve věkové hranici nad 50 let a vyskytuje se dvakrát více u mužů než u žen (Abdel-Wahab a Levine, 2009). Průměrné přežití pacientů od rozpoznání choroby je 5 let (Hoffman a Rondelli, 2007).

Chronická hematologická malignita je charakterizovaná splenomegalií, leukoerytroblastickým krevním obrazem, pro něhož je typické vyplavování mladších forem erytroblastů a granulocytů do periferní krve (Indrák et al., 2006), cytopeniemi, nepravidelným tvarem červených krvinek, tzv. slzovitou poikilocytózou, dřevnou fibrózou, extramedulární hematopoézou (Cervantes et al., 2009), zvýšenou hustotou mikrocév v dřeni a konstitutivní mobilizací hematopoetických progenitorových buněk a kmenových buněk (Hoffman a Rondelli, 2007). Klinické projevy jsou obvykle způsobeny zvětšující se slezinou, která následně zasahuje až do oblasti pánve, což vyvolá silné bolesti břicha nebo problémy se zažíváním. Častými příznaky jsou horečka, únava, noční pocení i váhová ztráta (Abdel-Wahab a Levine 2009).

Alogenní transplantace kmenových buněk je v současné době jedinou léčebnou modalitou, která je schopna prodloužit život. Podstatným bodem pro indikaci je vyvážení rizika této transplantace s očekávaným přežitím u každého pacienta bez jejího provedení, jelikož míra úmrtí související s transplantací je minimálně 50 %. Je tedy preferovanou léčbou u onemocnění s velmi vysokým a vysokým rizikem, kdy odhadovaným přežitím 10 let je 0 až 13 % (Tefferi et al., 2018). Účast v klinických studiích je ideálním řešením pro pacienty se středním rizikem, kteří mají odhadované 30% desetileté přežití. Jestliže není jasně daná léčebná indikace, je zakázáno používat jakýkoli paliativní postup. Thalidomid, prednison, danazol, androgeny, to vše jsou léky a hormony používané při konvenční léčbě anémie. Pro symptomatickou splenomegálii se užívají ruxolitinib a hydroxyurea a pro konstituční symptomy pouze ruxolitinib (Tefferi, 2000).

4 Chronická myeloidní leukemie

Chronická myeloidní leukemie je hematopoetická porucha charakterizovaná maligní expanzí kmenových buněk kostní dřeně (Melo et al., 2003). Výsadní postavení CML mezi leukemiemi vyplývá z toho, že je známé molekulárně genetické pozadí tohoto onemocnění. Typickým cytogenetickým znakem je získaná genetická odchylka vyvolaná reciproknou translokací mezi dlouhými rameny chromozomů 9 a 22 (Obr. 8). Řeč je o Philadelphském chromozomu neboli Ph-chromozomu (Osman a Deininger, 2021). Na již zmíněné specifické buněčné struktuře eukaryot je umístěn fúzní gen *BCR-ABL*, jehož působením se spustí nekontrolovatelné množení granulocytů (Copland, 2021). Každoročně se vyskytne 1-2 nových případů na 100 000 obyvatel. Střední věk pacientů při prezentaci je 45 až 55 let. Může postihovat jedince libovolné věkové kategorie, nejčastěji však osoby starší šedesáti let, což je důležitý faktor pro terapeutické strategie, jako jsou transplantace kmenových buněk i léčba interferonem alfa. Asi 85 % případů je diagnostikováno v chronické fázi a téměř 50 % se odhalí pouhými rutinními testy (Faderl et al., 1999). CML reprezentuje 15–20 % leukemií (Jabbour a Kantjarian, 2018).



Obr. 8: Vznik Philadelphského chromozomu a fúzního genu *BCR-ABL1* (Žáčková, 2012)

4.1 Klinický obraz

CML je první onkologické onemocnění zapříčiněné chromozomální změnou. Etiologie, jinak řečeno původ onemocnění, není doposud známá. Pravděpodobně může být způsobena mnoha faktory. Mezi ně řadíme například nesprávnou životosprávu, stres i stav imunitního systému. Z hlediska genetické abnormality je jediným potvrzeným vyvolávajícím zevním faktorem ionizační záření. Příkladem je výbuch v Hirošimě, kdy po určité době byla zvýšená četnost výskytu této nemoci (Penka et al., 2011).

Pro určení nemoci lékař provádí fyzikální vyšetření, kdy palpací může najít zvětšenou slezinu a mízní uzliny. Viditelná je také anémie projevující se bledostí sliznic a kůže. Základním bodem je laboratorní vyšetření krevního obrazu. CML je charakteristická leukocytózou nad $25 \times 10^9/l$, která je zastoupena především blasty, myelocyty, metamyelocyty a promyelocyty. Jejich nadměrná přítomnost omezuje tvorbu ostatních krevních buněk. Tím se snižuje i počet červených krvinek a dochází k anémii. Počet trombocytů bývá lehce zvýšený. Důležitým ověřujícím vyšetřením je cytogenetické vyšetření (Penka et al., 2011).

Z medicínského hlediska lze příznaky rozdělit na objektivní neboli ty, které pociťuje sám pacient a na subjektivní, které při vyšetření objeví lékař (Žáčková, 2012). Zpočátku jsou symptomy dosti nespecifické. CML se u 30 % pacientů zjistí náhodně při vyšetření krevního obrazu. Pacienti trpí pocením, ztrátou výkonnosti, nechutenstvím, únavou a váhovým úbytkem hmotnosti. Někteří také uvádějí bolest v levém podžebří způsobenou splenomegalií. Vlivem výskytu většího množství leukocytů dojde k vzestupu viskozity krve a tím i ke zpomalení průtoku orgány. Výsledkem tohoto nedostatku může být trvalá bolest při erekci, tzv. priapismus u mužů (Copland, 2021).

Vzácně se může objevit krvácení spojené s nedostatkem nebo dysfunkcí krevních destiček, trombóza zapříčiněná zvýšeným počtem trombocytů v periferní krvi, ulcerace i krvácení v horní části gastrointestinálního traktu způsobené vyšší hladinou histaminu v důsledku bazofilie a dnavá artritida z nálezů nefyziologických hodnot kyseliny močové. Nejčastějším fyzickým příznakem diagnostikovaným u 40 až 50 % případů, je splenomegalie. Ojedinele se u necelých 10 % pacientů vyskytuje také hepatomegalie. Výjimečný je i nález lymfadenopatie a infiltrace různých tkání, například kůže (Jabbour a Kantarjian, 2018).

CML probíhá ve třech fázích. První fází je fáze chronická, v níž dochází ke shromažďování nádorových buněk v krvi a kostní dřeni. Příznaky jsou mírné, příkladem může být únava či zvýšené pocení. Pacient je schopen vykonávat běžné aktivity. Téměř u 90 % pacientů je CML diagnostikována již v této fázi. Délka první fáze může být několik měsíců

nebo dokonce až let. Následuje fáze akcelerace, při které se zvyšuje leukocytóza a přibývají další symptomy. Patří mezi ně třeba zvětšení sleziny, bolesti kostí a noční pocení. Při léčbě tato fáze přetrvává maximálně šest měsíců. Pokud pacient zvládne akcelerovanou fázi, dochází zpravidla k transplantaci kostní dřeně. Poslední fází je blastický zvrát, kdy choroba přestává reagovat na léčbu. Převažuje tvorba a výskyt méně zralých blastických buněk, které se následně vyplavují do krve. Již zmíněné příznaky v předchozích fázích navíc ještě doprovází infekce a závažné krvácení. Tato poslední fáze trvá několik měsíců (Copland, 2021).

4.2 Diagnostika

Ani jeden z uvedených příznaků není specifický pro diagnózu CML. Je třeba dále pátrat po příčině vzniku nefyziologických nálezů či symptomů (Longo et al., 1978). Využívá se několika léčebných postupů. Nejprve pacient podstoupí anamnézu spojenou s fyzikálním vyšetřením, poté se provede vyšetření krevního obrazu společně i se zjištěním diferenciálního rozpočtu bílých krvinek, následuje biochemický rozbor krve, poté cytologické, popřípadě i histologické vyšetření kostní dřeně, taktéž cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření krve i kostní dřeně. V neposlední řadě se využívá i jiných doplňujících vyšetření, příkladem je ultrazvuk břicha (Žáčková, 2012).

4.2.1 Vstupní vyšetření

Vzhledem ke genetickým predispozicím onemocnění je pacient dotazován na rodinnou anamnézu, především na stav svých rodičů a sourozenců. Dříve byly údaje o sourozencích obzvláště významné, jelikož první volbou léčby u mladých pacientů byla transplantace krevtvoorných buněk, a tudíž se mohli sourozenci postiženého stát vhodnými dárči (Žáčková, 2012).

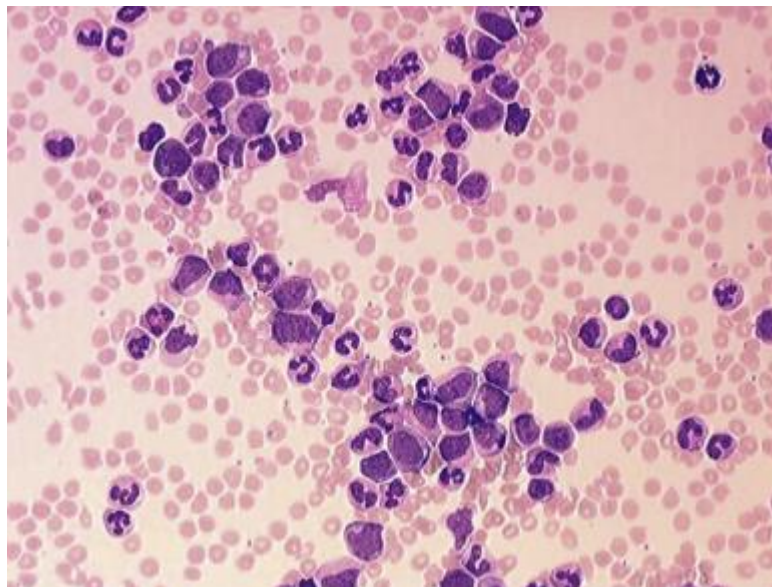
Fyzikální vyšetření se provádí pomocí vlastních smyslů a jednoduchých zdravotnických pomůcek. Jeho principem jsou čtyři P, konkrétně pohled, pohmat, poklep a poslech, jejichž prostřednictvím lze objevit určité známky onemocnění. Charakteristickým znakem je bledost kůže a její krvácivé projevy, také i zvětšená slezina nebo játra. Výhodou takového vyšetření je bezbolestnost a relativně krátká doba trvání (Adam et al., 2008; Žáčková, 2012).

4.2.2 Krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů

Krevní obraz nám poskytuje informace o počtu a základních vlastnostech krevních buněk. Mikroskopické vyšetření diferenciálního rozpočtu leukocytů zase popisuje vzhled a počet jednotlivých typů bílých krvinek. V obou případech značí patologický nález vysokou pravděpodobnost výskytu CML. Zprvu se odebere pacientovi žilní krev do předem připravené

zkumavky. Poté je vyšetřena na krevním analyzátoru a pod světelným mikroskopem pomocí krevního nátěru na podložním sklíčku. Častým znakem je nález leukocytózy. Udávají se hodnoty v rozmezí $20\text{--}500 \times 10^9/l$. Stejně zásadní je i výskyt trombocytózy neboli trombocytémie. Naopak pokles krevních destiček, jinak řečeno trombocytopenie, nastává minimálně a je registrována především v pokročilém stadiu nemoci. Červené krvinky jsou v normě, pouze v ojedinělých případech mohou být lehce zvýšeny či sníženy (Adam et al., 2008; Meis et al., 2004; Žáčková, 2012).

V diferenciálním rozpočtu leukocytů se vyskytují veškerá vývojová stadia granulocytární řady, včetně těch, která se obvykle nacházejí pouze v kostní dřeni. Příkladem mohou být promyelocyty, myelocyty i metamyelocyty. Blasty zaujímají výhradně 5 % v chronické fázi. Jejich množství se však v souvislosti s progresivitou onemocnění zvyšuje, tím pádem se jich v blastické fázi stanovuje více jak 20 %. Vyšší zastoupení mají eozinofily a bazofily (Obr. 9) (Adam et al., 2008; Žáčková, 2012). Diferenciální diagnostika má za úkol odlišit CML od leukemoidních reakcí. Ty označují stav, při němž se v krvi vyskytuje vysoká hladina méně zralých bílých krvinek připomínající nález leukemie. Typickým znakem je nález leukocytů v počtu nižším než $50 \times 10^9/l$, přítomnost Döhleho tělísek, toxické vakuolizace v granulocytech a chybějící bazofilie (Jabbour a Kantarjian, 2018).



Obr. 9: Krevní obraz pacienta s chronickou fází chronické myeloidní leukemie (Copland, 2021)

4.2.3 Biochemický rozbor krve

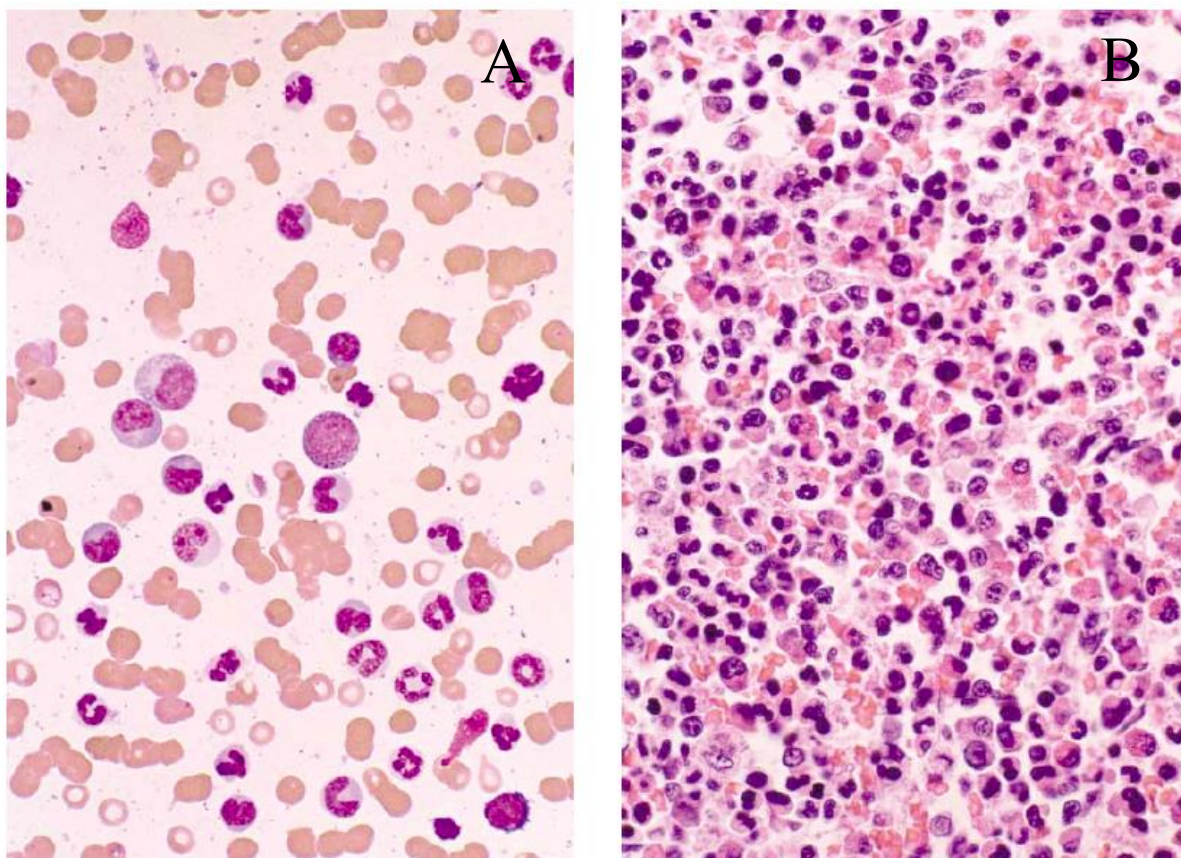
Podobně jako u vyšetření krevního obrazu, tak i biochemický rozbor krve začíná odběrem krve ze žíly pacienta. Poté následuje její bioanalytické vyhodnocení na přístrojích. V důsledku zvýšeného množství bílých krvinek bývají vyšší hodnoty laktátdehydrogenázy a kyseliny močové (Žáčková, 2012).

4.2.4 Cytologické a histologické vyšetření kostní dřeně

Pro přesné určení správného druhu leukemie je nutné vhodně vyšetřit kostní dřeň (Adam et al., 2008). Odběr biologického materiálu se provádí jehlou ze znečistivěného místa na hrudní nebo pánevní kosti (Žáčková, 2012). Sternální punkce neboli odběr z kosti hrudní a taktéž trepanobiopsie čili odběr z kosti pánevní se provádí speciální tenkou jehlou, kdy je kostní dřeň nasáta do stříkačky (Jabbour a Kantarjian, 2018). Kvůli tenkosti hrudní kosti není možné odejmout větší množství požadovaného vzorku. Naopak při trepanobiopsii lze získat úplný vzorek v podobě tzv. válečku (Žáčková, 2012).

Z odsáté kostní dřeně se vytvoří nátěry na podložní sklíčka a provede se mikroskopické vyhodnocení, tedy cytologické vyšetření. Pro histologické vyšetření se odebraná tkáň fixuje konzervačními roztoky a následně je zakomponovaná do zalévacího média, nejčastěji do parafínu. Takto upravený vzorek se krájí na velmi tenké řezy, které jsou barveny různými technikami dle použité struktury. Připravená tkáň se vyšetřuje pod světelným mikroskopem. Jiná část odejmuté kostní dřeně se dopraví do specializovaných laboratoří, kde se provede vyšetření cytogenetické, molekulárně cytogenetické a molekulárně genetické (Žáčková, 2012).

Jestliže pacient trpí CML, obě specifická vyšetření podkryjí její typický symptom. Tím je zvýšený počet buněk, především granulocytů, oproti vývojovým stadiím erytrocytů. Podobně jako u krevních nátěrů, tak i u nátěrů kostní dřeně (Obr. 10) počet blastů s progresivitou onemocnění stoupá (Adam et al., 2008; Jabbour a Kantarjian, 2018).



Obr. 10: Nátěr periferní krve s četnými myeloidními buňkami (A) a nátěr kostní dřene s výraznou myeloidní hyperplazií (B) (Sawyers, 1999)

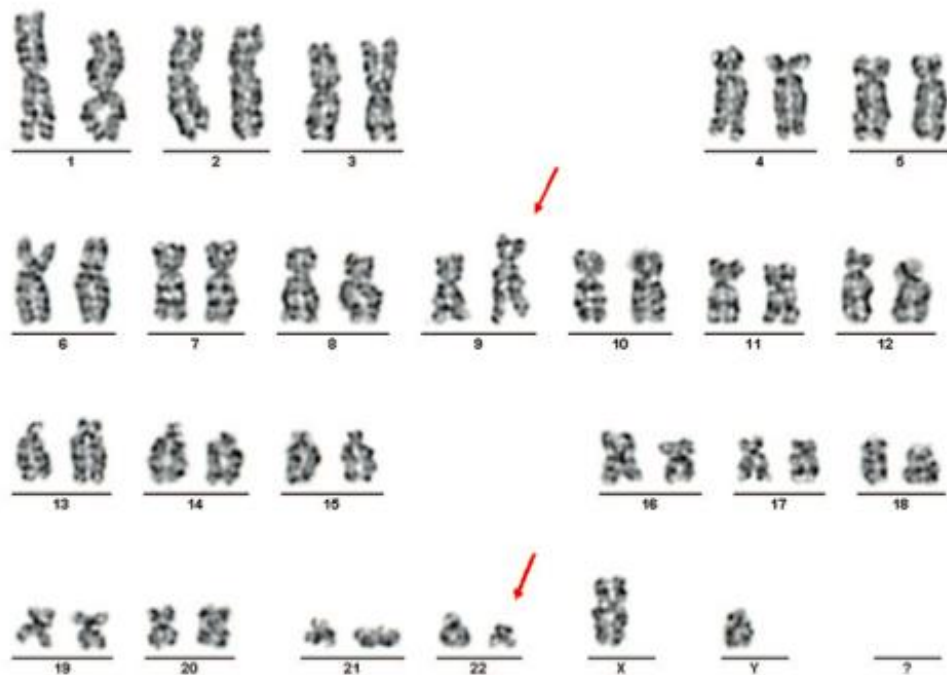
Sternální punkce trvá asi 6–10 minut a pacient cítí pouze mírnou bolest. Bolestivost u trepanobiopsie je střední až intenzivní, zejména při pronikání kostí. Je však možno pacientovi aplikovat léky tlumící bolest. Vlastní odběr trvá cca 15 minut. Rizikem může být krvácení či infekce v místě vpichu, proto je pacient sledován, aby se předešlo nežádoucím komplikacím. Samotné cytologické vyšetření trvá 24 hodin, histologické pak 10–14 dní (Žáčková, 2012).

4.2.5 Cytogenetické vyšetření krve i kostní dřene

Cytogenetické vyšetření je jedním ze základních stavebních kamenů diagnostiky u CML. Jako jediné dokáže zobrazit i jiné chromozomální odchylky, jež mohou mít vliv na prognózu nemoci. Průkaz Philadelphského chromozomu je důležitý pro potvrzení přítomnosti CML. Vyskytuje se až u 95 % pacientů, u zbylých 5 % nelze prokázat jeho existenci (Jabbour a Kantarjian, 2018; Žáčková, 2012). Příkladem mohou být pacienti s myeloidní hyperplazií, jenž zahrnuje převážně neutrofilní, eosinofilní a bazofilní buněčnou linii. Jsou zasaženi leukemií, jejíž název je odvozen od nejvyššího zastoupení již zmíněných granulocytů. Tito pacienti nemají ani známky po výskytu Ph-chromozomu nebo *BCR-ABL1* genu (Jabbour a Kantarjian, 2018). Avšak fúzní gen *BCR-ABL1* se nachází u každého pacienta trpícího tímto

onemocněním, jen je třeba pro jeho stanovení použít citlivější metodu (Jabbour a Kantarjian, 2018; Žáčková, 2012).

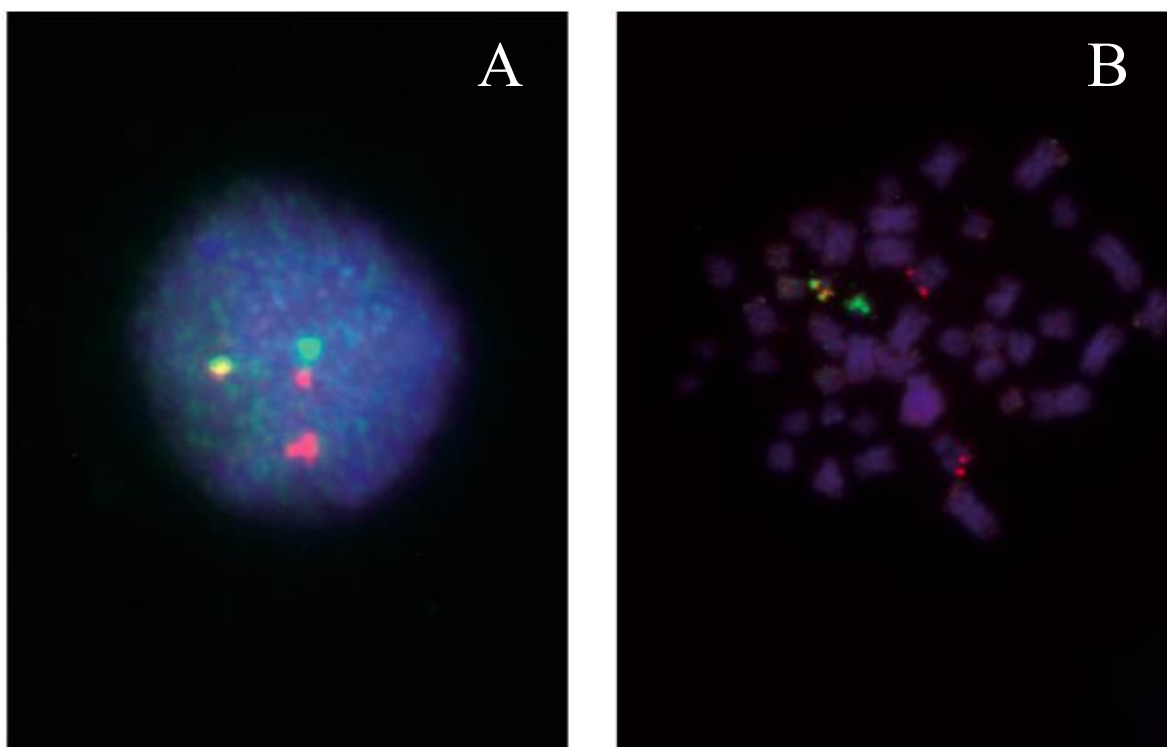
Klasické cytogenetické vyšetření, tzv. karyotypování se provádí ve specializované laboratoři po dobu 2–3 týdnů. Podstatou vyšetření je vhodná kultivace dřevných buněk a jejich následný vstup do buněčného cyklu. Pro kvalitní výsledek je třeba vyhodnotit minimálně dvacet dělících se buněk, tzv. metafází, anebo mitóz. Cytogenetické preparáty jsou speciálně barveny, nejčastěji G-pruhováním, a poté jsou vyšetřeny pod světelným mikroskopem. Dle nomenklatury se přítomnost Ph-chromozomu zapisuje takto: 46, XX, t (9;22)(q34;q11) u žen a 46, XY, t (9;22)(q34;q11) u mužů (Obr. 11). Kompletní cytogenetickou odpovědí se rozumí stav, kdy se téměř všechny buňky zasažené Ph-chromozomem po účinné terapii vrátí do původního postavení. Karyotyp se pak stane fyziologickým, tedy 46, XY u mužů a 46, XX u žen (Jabbour a Kantarjian, 2018; Žáčková, 2012).



Obr. 11: Průkaz Philadelphia chromozomu (Žáčková, 2012)

Další využívanou cytogenetickou metodou je tzv. fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Oproti klasickému cytogenetickému vyšetření je citlivější a dokáže zachytit i Ph-pozitivní buňky (Jabbour a Kantarjian, 2018). Pro vyhodnocení však potřebuje okolo 200–300 buněk, které nemusí procházet buněčným cyklem. Podstatou této metody jsou speciálně obarvené fluorescenční sondy, které se vážou na přesné úseky na chromozomech (Žáčková, 2012). Opírá se o kolokalizaci velkých genomových sond specifických pro geny

BCR a *ABL1* svítících červeně a zeleně (Jabbour a Kantarjian, 2018). V případě přítomnosti fúzního genu *BCR-ABL1* dojde ke splynutí fluorescenčních signálů, což se projeví žlutým zbarvením (Obr. 12). Výsledkem je procentuální záznam pozitivních jader nebo buněk *BCR-ABL1* (Žáčková, 2012). Porovnání vzorků periferní krve a kostní dřeně vykazuje značnou shodu již zmíněnou analýzou. V závislosti na použitých sondách mohou mít studie FISH až 5% falešně pozitivní rozsah (Jabbour a Kantarjian, 2018).



Obr. 12: Průkaz fúzního genu *BCR-ABL1* v interfázi (A) a v mitóze (B) metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (Žáčková, 2012)

Jak již bylo zmíněno, přítomnost Ph-chromozomu je zásadním znakem CML. Tato genetická odchylka se může objevit taktéž i u jiných hematologických onemocnění. Pro příklad u akutní lymfoblastické leukemie či u myeloproliferativních novotvarů, konkrétně u esenciální trombocytémie. Z toho plyne, že pro absolutní stanovení CML je třeba provést i jiná vyšetření, která svými výsledky potvrdí výskyt této nemoci (Longo et al., 1978; Žáčková, 2012).

4.2.6 Molekulárně genetické vyšetření krve i kostní dřeně

Mezi molekulárně biologické metody pro detekci fúzního genu *BCR-ABL1* se řadí i specializované vyšetření pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Pro snadnější určení se namnoží malé množství nukleové kyseliny, která nese genetickou informaci (Žáčková, 2012). Reverzně transkripční polymerázová řetězová reakce zesiluje oblast okolo sestřihového

spojení mezi *BCR* a *ABL1*. Vykazuje vysokou citlivost při detekci minimální reziduální nemoci a je schopna rozpoznat i jedinou *BCR-ABL1* pozitivní buňku mezi milionem zdravých buněk. Testování PCR může být buď kvalitativní nebo kvantitativní (Jabbour a Kantarjian, 2018). Kvalitativní poskytuje informace ohledně výskytu genu a jeho přešpaném produktu do RNA tzv. transkriptu *BCR-ABL1* (Jabbour a Kantarjian, 2018; Žáčková, 2012). Pro sledování reziduálního onemocnění je optimální kvantitativní PCR hodnotící množství transkriptů *BCR-ABL1* (Jabbour a Kantarjian, 2018).

Procentuální výsledek kvantitativní PCR značí poměr mezi počtem *BCR-ABL1* transkriptu a množstvím kontrolního genu, například genu *ABL1*. Tato vysoce citlivá metoda slouží také k monitorování účinku léčby (Žáčková, 2012). Simultánní studie jakostní PCR periferní krve a kostní dřeně ukazují na vysoký stupeň shody. Prostřednictvím PCR se mohou dostavit jak falešně pozitivní, tak i falešně negativní výsledky. Falešně pozitivní mohou být vyvolané kontaminací, a naopak falešně negativní jsou způsobeny nekvalitní RNA nebo selháním reakce. Za pouhou miniaturní odchylku zodpovídají testovací postupy, laboratorní zkušenosti i manipulace se vzorky (Jabbour a Kantarjian, 2018).

Je-li třeba získat další informace o stavu pacienta a tím diagnózu nemoci potvrdit, může lékař předepsat ještě jiná doplňková vyšetření. Konkrétně se může jednat o ultrazvuk břicha pro kontrolu velikosti sleziny či jater, rentgen hrudníku, anebo i EKG spojené s echokardiografickým vyšetřením srdce (Žáčková, 2012).

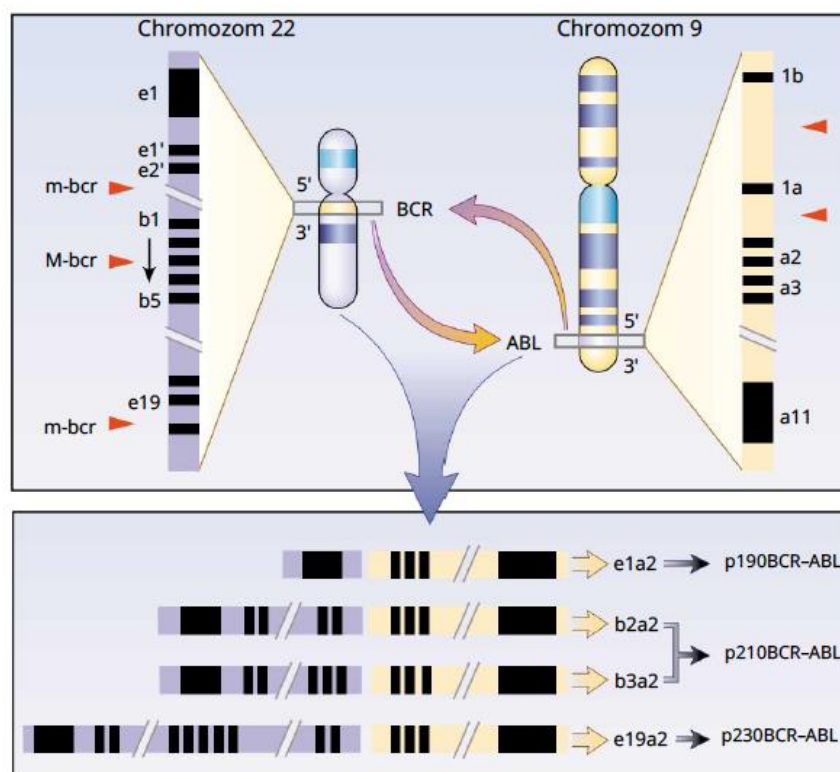
4.3 Molekulárně genetické pozadí

Rozpoznání CML je založeno na detekci Ph-chromozomu. Tato genetická odchylka byla popsána dvakrát, poprvé v roce 1960 jako zkrácený chromozom a následně v roce 1973 jako translokace $t(9;22)$ (Sawyers, 1999). Ph-chromozom je definován jako zkrácený chromozom 22 vznikající v důsledku reciproké translokace, $t(9;22)-(q34;q11)$, mezi dlouhými rameny chromozomů 9 a 22 (Faderl et al., 1999). Právě touto strukturální přestavbou dochází k fúzi genů *ABL1* (9q34) a *BCR* (22q11). To vede ke vzniku chimérického proteinu *BCR/ABL1*, jenž konstitutivně kóduje aktivní tyrozinkinázu povzbuzující různé signální dráhy, které následně zapříčiní rozvoj maligní transformace (Osman a Deininger, 2021). Tento onkogen způsobuje transformaci hematopoetické kmenové buňky, avšak neovlivňuje zaujaté progenitory s nedostačující schopností sebeobnovy (Kantarjian et al., 2019). Tímto charakteristickým znakem CML je postiženo až 95 % pacientů, dětská populace je zasažena pouze z 5 %. Klonální myeloproliferativní novotvar se vyskytuje i u osob s jiným

onemocněním, 15–30 % dospělých má akutní lymfoidní leukemii a pouhá 2 % navíc trpí akutní myeloblastickou leukemií (Faderl et al., 1999).

Molekulárním dopadem reciproké translokace t(9;22) je vytvoření fúzního genu *BCR-ABL* (Sawyers, 1999). Strukturální přestavba chromozomů přidává 3' segment *ABL* gen z chromozomu 9q34 do 5' části a *BCR* gen na chromozomu 22q11, čímž vzniká hybridní neboli zkřížený *BCR-ABL* gen. Ten je poté transkribován do chimerní *BCR-ABL* messenger RNA (mRNA). Nereceptorová tyrozinkináza s molekulovou hmotností o velikosti 145 kd (p145*ABL*) je kódována genem *ABL*. Vlastní 11 exonů s rozpětím přes 230 kilobází (kb) (Faderl et al., 1999).

U většiny pacientů se bod zlomu v *ABL1* na 9q34 nachází proti směru transkripce od exonu 2, s určitou variabilitou situovanou ve specifickém místě buď proti proudu od exonu Ib, ve směru transkripce od exonu Ia nebo převážně mezi těmito dvěma (Obr. 13). V *BCR* se body zlomu lokalizují do tří hlavních oblastí bodů přerušení (*bcr*). Bod zlomu u téměř jedné třetiny pacientů s Ph-pozitivní akutní lymfoblastickou leukemií a převážné části pacientů s chronickou myeloidní leukemií se mapuje v hlavní oblasti bodů přerušení (*M-bcr*) zahrnující exony *BCR* 12–16, které byly v minulosti označovány jako b1–b5. Následně vzniká fúzní transkript, jenž může mít dvě spojení, buď s e13a2(b2a2) nebo e14a2(b3a2). Ten je poté převeden na 210-kDa protein (p210^{*BCR-ABL1*}). Výjimečně u CML a dvou třetin pacientů s Ph-pozitivní ALL jsou body zlomu v *BCR* lokalizovány do zóny 54,4 kb mezi exony e2' a e2. Tato oblast se nazývá oblastí minoritních bodů přerušení (*m-bcr*) a je překládaná na protein o rozměru 190 kDa (p190^{*BCR-ABL1*}). Fúzní protein o velikosti 230 kDa (p230^{*BCR-ABL1*}) byl odhalen jako třetí zóna bodu zlomu (*μ-bcr*) a je spojený s fenotypem chronické neutrofilní leukemie i s utlumeným průběhem CML (Kantarjian et al., 2019).



Obr. 13: **Philadelphský chromozom a molekulární abnormality *BCR-ABL1*** (Faderl et al., 1999)

4.4 Prognóza

Prognóza závisí na tom, v jaké fázi je CML u pacienta diagnostikována a kdy se mu začne aplikovat léčba. Důležitá je také i reakce organismu na léčbu a zdravotní stav léčeného. Se zavedením tyrozinkinázových inhibitorů se doba přežití pacientů prodloužila až na 25 let (Osman a Deininger, 2021).

Pro stanovení prognózy se užívají indexy. Jejich předpoklad či výsledek se zakládá na prediktivních parametrech, které jsou zjistitelné již v průběhu diagnózy. Příkladem může být věk, počet krevních buněk, zejména trombocytů, bazofilů a blastů či velikost sleziny. Všechny tyto údaje jsou shrnuty pod tzv. Sokalovo a Hasfordovo rizikové skóre. Principem je rozdělení pacientů do skupin podle hodnot prognostického indexu. Tedy do kategorií s nízkým, středním a vysokým stupněm vážnosti. Využití těchto indexů usnadňuje určení léčebného postupu. Přestože Sokalovo a Hasfordovo rizikové skóre bylo zavedeno již před lety, i v nynější době má své uplatnění. Především pomáhá ve stanovení pravděpodobnosti dobré léčebné odpovědi. Od doby, kdy byl imatinib zaveden mezi léčebné postupy, se výsledky jeho efektivity neustále analyzují. Důležitá je jak rychlost, tak i velikost dosažené léčebné odpovědi. To je spojováno se zvýšeným procentem dlouhodobé prognózy u pacientů. Pro správný odhad rizika transplantace slouží tzv. Gratwohlovo skóre (Adam et al., 2008; Osman a Deininger, 2021; Žáčková, 2012).

5 Léčba chronické myeloidní leukemie

Prvotním cílem léčby je zmírnění nepříjemných symptomů pokročilého onemocnění, korekce velikosti sleziny a upravení krevního obrazu do fyziologického stavu. Takovýto postup se nazývá kompletní hematologická odpověď (CHR). Mimo adaptace hematologických veličin se efektivita léčby zaměřuje také na odstranění Ph-pozitivních buněk. V momentě, kdy se v krevním obraze pomocí cytogenetiky neprokáže přítomnost postižených buněk, hovoří se o kompletní cytogenetické odpovědi (CCgR). Taktéž se léčba snaží zajistit pacientům co nejlepší prognózu onemocnění. V případě vysazení léků je záměrem prosazení až nulové nemoci na molekulární úrovni neboli tzv. velké molekulární odpovědi (MMR), případně kompletní molekulární odpovědi (CMR). V neposlední řadě je terapeutickým cílem zajištění plnohodnotného života pacienta (Santos et al., 2011; Žáčková, 2012).

Ve velkých městech České republiky, jako je Praha, Brno, Hradec Králové či Olomouc, se nachází speciální hematoonkologická centra soustředěná i na léčbu CML. Pacienti s podezřením na toto onemocnění se posílají právě do již zmíněných center, kde se dokončí diagnostická vyšetření a stanoví se léčebné postupy (Žáčková, 2012).

5.1 Vývoj léčby

Zpočátku neexistovala žádná medikace na vyléčení CML. Od prvních symptomů propuknutí nemoci se neléčení pacienti dožívali průměrně 32 měsíců. V roce 1786 dr. Thomas Fowler vytvořil Fowlerův roztok. Jedná se o přípravek obsahující arsenik neboli oxid arsenitý, který se používá i v současnosti pro léčbu různých druhů leukemií. Přípravek, jehož součástí je arsen, jako první pomohl snížit počet leukocytů u nemocného (Santos et al., 2011; Žáčková, 2012).

Začátkem 20. století byla zavedena radioterapie. Léčba ionizujícím zářením umožnila potlačit obtěžující příznaky způsobující zvětšení sleziny, avšak už nezajistila prodloužení života. O pár let později, v roce 1953, byla radioterapie nahrazena busulfanem. Toto tabletové cytostatikum přineslo úlevu od potíží vyvolaných nadměrnou velikostí sleziny a zároveň zvýšilo délku života od propuknutí nemoci na 35–47 měsíců. Brzy však nastaly pochybnosti o výhradně kladném působení na člověka. Při aplikaci tohoto léku byly také zjištěny nežádoucí účinky, příkladem může být plicní toxicita, oslabení kostní dřeně či defekty trávicího ústrojí. Proto byl busulfan zanedlouho nahrazen efektivnější hydroxyureou. Ta prodloužila pacientům život o 48–69 měsíců a v některých případech je využívána dodnes (Adam et al., 2008; Santos et al., 2011; Žáčková, 2012).

Doposud byla léčba pouze paliativní, jež se postupem času změnila v kurativní (Indrák, et al., 2009). Výrazný pokrok v léčbě CML zaznamenala úspěšná transplantace kostní dřeně. V 90. letech minulého století značně přibýlo pacientů, zejména mladých lidí, kteří tento způsob léčby podstoupili. Krátce na to byla transplantace krvetvorných buněk zařazena mezi standardy léčebného postupu. Pokus byl taktéž o zavedení léčby podáváním vysokých dávek cytostatik či o autologní transplantace. Ani jedno se však nijak neujalo vlivem vyššího výskytu nežádoucích účinků, proto se brzy od nich ustoupilo (Santos et al., 2011; Žáčková, 2012).

V roce 1957 byl objeven interferon alfa. Jde o bílkovinu, jež je tvořena určitými typy leukocytů. Její podstatou je zaměření se na virové infekce. Je vyráběna rekombinantní technologií za pomoci bakterií. Z dosud užívaných léků byl právě interferon alfa tím, který dokázal výrazně minimalizovat Ph-pozitivní buňky. Tudíž se podstatně zvýšila pravděpodobnost na prodloužení života. Interferon alfa společně s protinádorovým lékem cytosarem zvýraznily šance na uzdravení pro pacienty, kteří transplantaci podstoupit nemohli. Ať už to je stářími, jinými nemocemi, anebo nevhodnými dárci (Adam et al., 2008).

Na přelomu 20. a 21. století, přesněji roku 1999, byly publikovány nové zprávy o pokrokových výsledcích dalšího léku. Imatinib neboli Glivec byl syntetizován jako specifický inhibitor tyrozinkinázy *BCR-ABL*. Stal se vůbec prvním molekulárně směřovaným lékem. V současné době se užívají také tyrozinkinázové inhibitory druhé generace, a to nilotinib též Tassigna a dasatinib neboli Sprycel, kterými se dá plnohodnotně imatinib nahradit. Od roku 2010 jsou aplikovány jako léky první linie. Ve fázích vývoje a zkoušení jsou již i další léky (Adam et al., 2008; Santos et al., 2011; Žáčková, 2012).

5.2 Chemoterapie

Po vstupním vyšetření a následném vyhodnocení krevního obrazu s případným nálezem leukocytózy, anebo trombocytózy je třeba rovněž předepsat chemoterapii neboli cytoredukční terapii. Ta má za cíl snížit namnožené krevní elementy, aby bylo možno bezpečněji aplikovat léčbu tyrozinkinázovými inhibitory. V některých případech ovšem není výskyt krvinek tak dramatický, proto není třeba ordinovat jiné terapie před definitivním potvrzením CML. Lze využít jak terapii medikamenty, tak i terapii pomocí speciálního přístroje. Rozhodnutí, zda pacient podstoupí cytoredukci farmakologickou či prostřednictvím přístroje, určuje lékař. Vyhodnocení provádí na základě výsledků krevního obrazu, anebo dle aktuálně přítomných symptomů. Většinou platí, že čím závažnější příznaky jsou, tím více se lékař přiklání na stranu přístrojové cytoredukce (Benjamini et al., 2013; Žáčková, 2012).

5.2.1 Medikamentózní terapie

Hydroxyurea, firemním názvem Litalir, je tabletové cytostatikum, které postupem času nahradilo lék busulfan neboli Mylecytan pro své výraznější účinky (Adam et al., 2008). Využívá se v počáteční fázi léčby ke snížení nadbytku krevních buněk, zejména leukocytů i trombocytů. Indikuje se také u pacientů, kteří nemohou podstoupit léčbu tyrozinkinázovými inhibitory. Příkladem může být rezistence vůči inhibitorům tyrozinkinázy (TKI). Medikace se zahájí úvodní dávkou 30–40 mg/kg/den perorálně. Dle výsledků krevního obrazu se množství podávaného léku upraví. Během léčby se mohou u pacientů objevit i nežádoucí účinky, jako třeba nevolnost, bolest hlavy, kožní vyrážky, zánět dutiny ústní či ospalost. Kromě těchto nepříznivých reakcí je hydroxyurea velmi dobře snášeným lékem (Osman a Deininger, 2021; Žáčková, 2012).

Anagrelid, jiným termínem Thromboreductin, je medikament podávaný pro zajištění poklesu trombocytů. V závislosti na úbytku těchto krevních elementů se redukuje i aplikovaná dávka látky. Standardní prvotní denní příděl činí 0,5–1 mg/den. Častými nežádoucími účinky je bolest hlavy i břicha, průjem, anebo bušení srdce (Žáčková, 2012).

5.2.2 Přístrojová metoda

Mimo medikamentózní léčby je využívána i přístrojová cytoredukční metoda založená na mimotělní separaci a sběru buněk. V případě leukocytů jde o leukaferézu, v případě trombocytů se jedná o trombocytaferézu. Tento léčebný postup se, stejně jako hydroxyurea i anagrelid, předepisuje také před zahájením léčby TKI. Pacientova žilní krev je odváděna do separátoru krevních elementů, kde jsou potřebné buňky eliminovány pomocí centrifugy. Poté se očištěná krev navrácí zpět do těla pacienta (Vráblová et al., 2022; Žáčková, 2012).

5.3 Podpůrná léčba

Podpůrná léčba je založena na podávání léků, jejichž cílem je zabránit vzniku komplikací, které by mohly průběh nemoci ještě zhoršit. Případně se snaží alespoň o zmírnění již přítomných obtíží u pacienta. Nejvíce jsou ohroženy ledviny, jelikož hromadění kyseliny močové v organismu souvisí s namnoženými leukocyty. Proto je doporučeno, od počátku léčby po stabilizaci počtu bílých krvinek, užívat lék alopurinol. Toto farmakum je podáváno ve formě tablet v denní dávce 100–300 mg. V ojedinělých situacích je možno alopurinol nahradit rasburikázou aplikovanou nitrožilně (Žáčková, 2012).

Převážná část léčby je upřena na část ambulantní, ale samozřejmě nastanou i případy, kdy je třeba pacienta hospitalizovat. Konkrétně se může jednat o situace, kdy je třeba nasadit

cytoredukční terapii pomocí přístroje, taktéž i v případě výskytu nepříznivých reakcí na léčbu TKI či při postupu onemocnění do pokročilejší fáze (Žáčková, 2012).

5.4 Interferon alfa

Interferony jsou glykoproteiny produkované eukaryotickými buňkami. Stává se tak při reakcích na antigenní podněty během virových infekcí nebo zhoubných onemocnění. Mají pleiotropní účinky, což znamená, že jeden působek dokáže účinně zacílit na více oblastí (Faderl et al., 1999).

Ze všech interferonů byl právě interferon alfa zvolen pro použití u pacientů s hematologickými malignitami (Faderl et al., 1999). V 80. letech 20. století byl vyvinut jako lék na CML a o pár let později, v letech 1990–2000, se stal standardem léčby. Kompletní cytogenetická odpověď byla získána u 10–35 % léčených pacientů. Po deseti letech se dosáhlo 78% míry přežití. Zajímavostí je, že téměř 30 % pacientů nemělo v CCgR detekovatelné transkripty *BCR-ABL1*, tím pádem nemohlo dojít k recidivě onemocnění. Tento objev je považován za neobvyklý, ale pravděpodobně i léčebný účinek IFN- α u CML. V současné době se IFN- α užívá jen zřídka (Kantarjian et al., 2019; Osman a Deininger, 2021). Převážně u těhotných žen, jelikož nemohou dostávat terapii pomocí TKI, také u pacientů, kterým vlivem působení již užívaných léků nemůže být předepsána léčba TKI (Osman a Deininger, 2021). IFN- α je stále testován v rámci klinických studií pomocí kombinace s TKI pro zlepšení léčebných výsledků (Kantarjian et al., 2019; Žáčková, 2012). Lék je dostupný pouze v podkožních injekcích, které mohou pro pacienty znamenat značnou zátěž. Aplikaci IFN- α provádí řada nežádoucích účinků. Zejména se jedná o potlačení funkce kostní dřeně, únava, nespavost, deprese, vypadávání vlasů, horečky, nechutenství či poškození plic i jater (Žáčková, 2012).

5.5 Alogenní transplantace

Alogenní transplantace krvetvorných buněk (alo-TKB) reprezentuje kurativní léčbu (Adam et al., 2008; Kantarjian et al., 2019). To znamená, že alo-TKB je stále jedinou léčebnou metodou, která je schopna vést k úplnému vyléčení CML (Trajkovska et al., 2017; Žáčková, 2012). Čím závažnější onemocnění je, tím je menší úspěšnost transplantace (Adam et al., 2008).

Alo-TKB je v podstatě náhrada nemocných krvetvorných buněk jinými pocházejících od zdravého dárce. Klíčem k úspěchu je zásadní shoda HLA systému (*Human Leucocyte Antigens*) mezi příjemcem a dárce. HLA systém představují jisté antigeny vyskytující se na povrchu buněk lidského organismu. Je dáno pět důležitých znaků, vždy ve dvou formách. Ideální dárce je kompatibilní ve všech verzích. Jelikož se HLA systém dědí, nejvyšší

pravděpodobnost nálezů vhodného dárce vykazují sourozenecký, případně příbuzenský vztah. Pokud se nenajde příbuzný dárce v rodině, zahájí se hledání mezi nepříbuznými dobrovolníky, kteří jsou zaznamenáni v registrech dárců kostní dřeně. Nejprve se zkoumá shoda mezi příjemcem a dárci pouze v České republice. Pokud však ani zde neexistuje vhodný dárce, pátrání se rozšíří i do zahraničí. Celý proces transplantace se provádí ve vysoce specializovaných hematologických centrech (Trajkovska et al., 2017; Žáčková, 2012).

Příprava pacienta je zahájena již několik týdnů před samotnou transplantací. Pacient musí být plně zdravý a nesmí vykazovat žádné jiné obtíže. Taktéž podstupuje přípravný režim, který je složen z chemoterapie a celotělového ozáření. Cílem je odstranit postiženou krvetvornou tkáň. Mimo nahrazení nemocné krvetvorné tkáně se u alo-TKB prosazuje ještě monitorování transplantátu vůči nemocné krvetvorbě. Vše se tak děje díky imunitnímu působení. Alo-TKB se provádí v celkové anestezii za použití několika vpichů jehly do vnitřku kosti. Odvede se menší množství krvetvorných buněk v tekuté podobě. V určitých případech je možné odběr provést také z periferní krve za pomoci speciálního separátoru krevních elementů. Odebraná tkáň se do těla pacienta převede v podobě krevní transfúze (Trajkovska et al., 2017; Žáčková, 2012).

Jestliže je alo-TKB provedena v časně fázi nemoci u mladých pacientů, je její úspěšnost v případě ideálního sourozeneckého dárce 67 %, v případě shodného nepříbuzného dárce činí 57 %. Pacienti s darovanou krvetvorbou od nepříbuzného dárce mají obvykle těžší průběh a vyšší procento úmrtnosti (Adam et al., 2008).

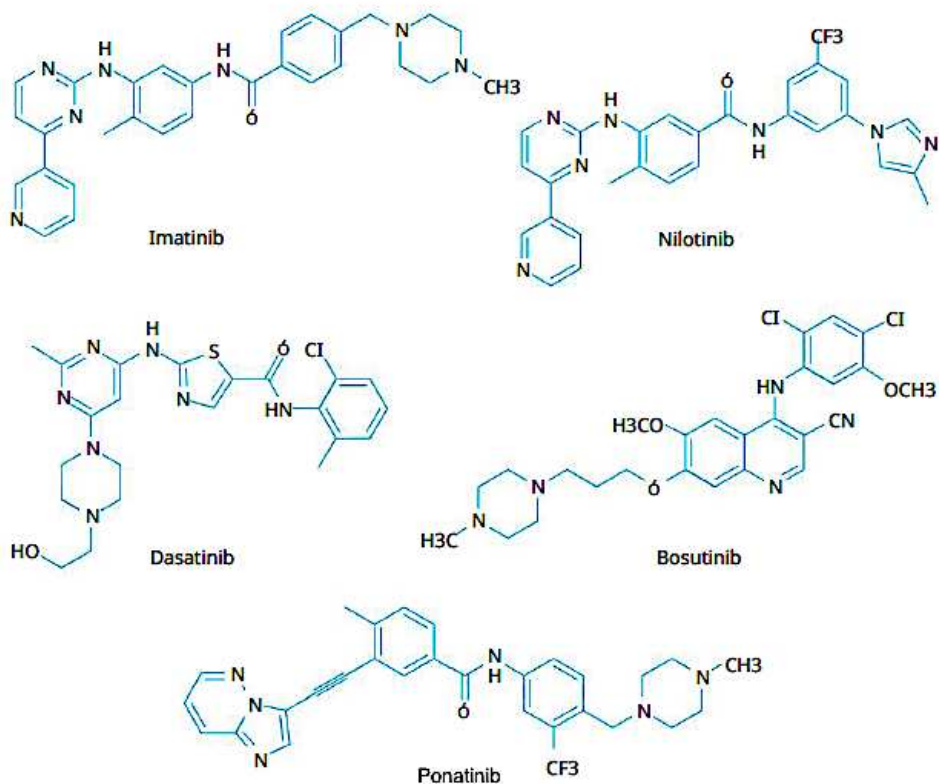
Alo-TKB doprovází řada komplikací, z nichž některé mohou být až životu nebezpečné. Lze je klasifikovat na časně a pozdní. Časně komplikace nastávají v důsledku několika situací. Ať už vlivem toxicity během přípravného režimu, snížené obranyschopnosti proti infekcím, anebo působením štěpu proti různým orgánům a tkáním hostitele, zejména teda proti leukemickým buňkám. Projevují se krvácením, infekcemi, veno-okluzivní nemocí jater, akutní reakcí štěpu proti hostiteli, poškozením plic, sliznic trávicího ústrojí i kůže. Pozdní komplikace mohou značně souviset se sníženou obranyschopností po delší dobu, s imunitní reakcí na štěp proti hostiteli, případně s poškozením libovolného orgánu. Vyznačují se infekcemi, šedým zákalem v oblasti očí, sekundárními nádory, chronickou reakcí štěpu proti hostiteli, poruchami dětského růstu, reprodukcí, tvorbou slin a slz. Relaps se může objevit jak v časně, tak i pozdní fázi. Poněvadž jsou všichni pacienti důkladně sledováni, dá se riziko návratu nemoci zachytit již při stoupajících hladinách transkriptů *BCR-ABL1*. Relapsu se dá i předcházet, a to aplikací dárcovských lymfocytů v podobě infuze do organismu pacienta (Trajkovska et al., 2017; Žáčková, 2012).

Vzhledem k současnému rozvoji TKI a zejména jejich pozitivních výsledků léčby, je alo-TKB zařazena až do léčby třetí linie. Ve většině případů je lékem první volby imatinib. V momentě selhání jeho účinků se zvažuje provedení alo-TKB (Adam et al., 2008).

5.6 Inhibitory tyrozinkinázy

Součástí standardní péče o nově diagnostikované pacienty s CML jsou inhibitory tyrozinkinázy. Lze je použít při léčbě ve všech fázích onemocnění. V současné době je schváleno přesně pět TKI. Imatinib je označován jako TKI první generace, dasatinib, nilotinib, a bosutinib spadají pod TKI druhé generace a ponatinib je TKI třetí generace (Obr. 14) (Osman a Deininger, 2021). Radotinib je léčba druhé generace schválený pouze Korejskými úřady a flumatinib zase jen v Číně (Alves et al., 2021). Vzájemně se liší svou účinností, farmakokinetikou, profilem nežádoucích účinků, aktivitou proti mutacím *BCR-ABL1* a proti kinázám mimo *BCR-ABL1* (Osman a Deininger, 2021).

Účinnost léčby TKI je vysoce závislá na správné interakci *BCR-ABL1* s léčivem. K zacílení na *BCR-ABL1* je pro TKI rozhodující, aby se dostaly dovnitř buněk v dostačujících farmakologických koncentracích a tím mohlo být dosaženo léčebných výsledků. Pohyb léčiv přes buněčné membrány je do značné míry zprostředkován transportními proteiny pro léčiva (Alves et al., 2021). Všechny dostupné TKI kompetitivně inhibují *BCR-ABL*. Dochází k obsazení ATP-vazebné kapsy kinázové domény, čímž brání průběhu fosforylace následných efektorových molekul (Copland, 2021). Podávají se perorálně (Alves et al., 2021).



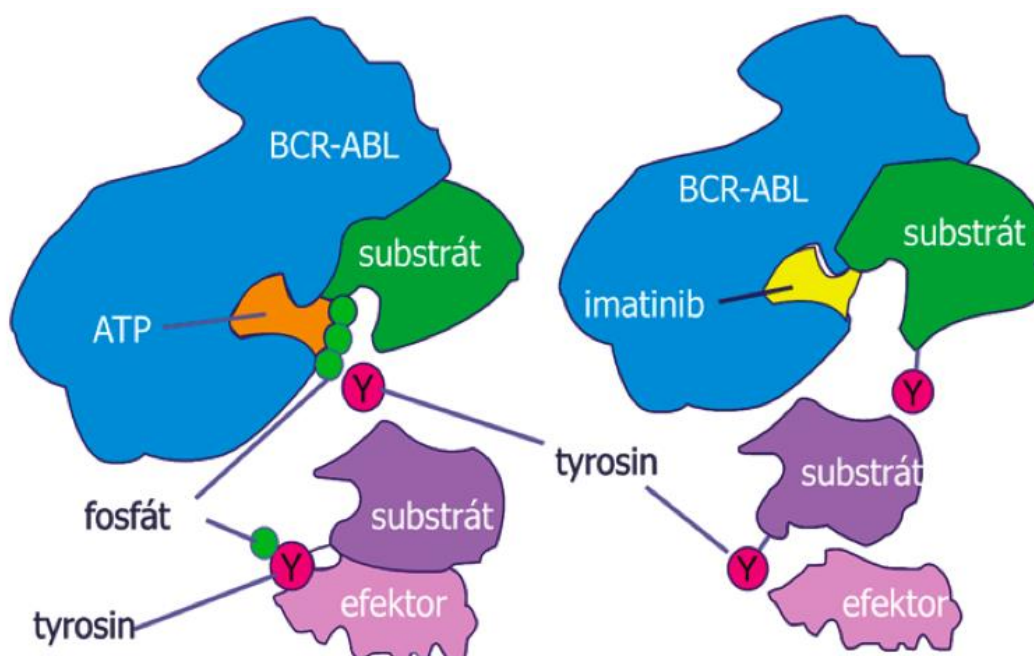
Obr. 14: Chemické struktury inhibitorů tyrozinkinázy (upraveno dle Kantarjian et al., 2019)

5.6.1 Imatinib

Imatinib neboli Glivec byl zaveden jako první tyrozinkinázový inhibitor pro léčbu pacientů (Koritáková et al., 2019). Zpočátku sloužil jako záchranná terapie, postupem času byl však označován za lék první linie. Jeho užívání vedlo k výrazné revoluci v léčbě CML, kdy došlo k přeměně ze smrtelného onemocnění na zvládnutelnou chronickou nemoc. Nejvýraznější progres v léčbě se zaznamenal u pacientů s nově diagnostikovaným onemocněním v chronické fázi (Osman a Deininger, 2021).

Různé studie, zejména studie IRIS, porovnávaly účinnost již zmíněného imatinibu proti efektivitě interferonu alfa či cytarabinu a došly k závěru, že imatinib je lepší ve všech hlavních cílových parametrech. Především v kompletní cytogenetické odpovědi a ve velké molekulární odpovědi po dvanácti měsících sledování. Faktem je, že při selhání léčby IFN- α zachránil mnoho pacientů právě imatinib. Po 7 letech bádání vyšlo najevo, že asi 82 % léčených dosáhlo CCgR. Z celkového počtu pacientů přežije odhadem tak 86 %. Nikdy předtím nebylo dosaženo tak značných výsledků. I proto se imatinib stal zlatým standardem v léčbě pacientů s nově diagnostikovanou CML (Santos et al., 2011; Osman a Deininger, 2021).

Imatinib funguje na principu kompetitivní inhibice. Stává se tak v místě vazby adenosintrifosfátu (ATP) na enzym. ATP dodává fosfát, ten *BCR-ABL* tyrozinkináza předává na další efektivní bílkoviny oblasti tzv. tyrozinkinázových zbytků. Takové bílkoviny sebou nesou řadu důležitých informací a aktivují i jiné bílkoviny. Interakce imatinibu s bílkovinou *BCR-ABL* způsobí blokaci specifického místa určeného pro ATP. Přerušuje se tak přenos aktivního fosfátu na aminokyselinu tyrozin, což je jeden ze substrátů leukemické tyrozinové kinázy. Vlivem inhibice fosforylace tyrozinových zbytků proteinů dojde k zastavení aktivace signálních drah. Poté nastává potlačení proliferace leukemických buněk a zároveň se spustí i jejich apoptóza. Výsledkem působení imatinibu je tedy potlačení patologicky aktivovaného enzymu *BCR-ABL* tyrozinkinázy a postup pro zviditelnění náznaků CML je překažen. (Obr. 15) (Druker et al., 2001).



Obr. 15: Mechanismus účinku imatinibu (Klamová, 2016)

Studie se rovněž zabývaly optimalizací dávky. Nejprve zkoumaly jak 400 mg, tak i 800 mg, ty však selhaly ve svých primárních cílových parametrech. Ideální dávka imatinibu je tedy přibližně 600 mg denně v tabletové formě. Avšak při pokročilé fázi onemocnění lze užívat až 600–800 mg optimálně rozdělených do alespoň dvou dávek (Osman a Deininger, 2021).

Úvodní dávka imatinibu se aplikuje ihned při potvrzení diagnózy CML, anebo po absolvování cytoredukční terapie. Je velmi důležité užívat lék pravidelně v přesně stanovených množstvích. Bohužel ani užívání imatinibu se neobejde bez nežádoucích účinků.

Nejčastěji se projeví úbytkem některé skupiny z krevních buněk neboli potlačením kostní dřeně. Čím závažnější onemocnění je, tím hlubší jsou ztráty krevních elementů. Dále se může vyskytnout bolest hlavy, únava, nevolnost, zánět spojivek, průjem, svalové křeče či kožní vyrážky. V současnosti nelze přesně určit, zda imatinib dokáže svojí efektivitou účinně odstranit CML. Uvádí se, že tento lék nezvládne eliminovat všechny druhy patologických buněk, a tedy dočista upravit prostředí v organismu. Stále je pravděpodobné, že některé buňky na imatinib nereagují, tudíž mohou s odstupem času znovu způsobit propuknutí nemoci (Koritáková et al., 2019; Santos et al., 2011; Žáčková, 2012).

5.6.2 Dasatinib

Při selhávání imatinibu byl ve druhé linii studován a následně i testován dasatinib (Osman a Deininger, 2021). Dasatinib, nazývaný také Sprycel, zastupuje TKI druhé generace. Primárně byl vyvinut jako inhibitor tyrozinkinázy podílejících se na transportu signálů uvnitř buněk. Bylo zjištěno, že kromě jiných kináz efektivně potlačí činnost i *BCR-ABL* tyrozinkinázy. Oproti imatinibu, dasatinib intenzivně ovlivňuje sílu mutací kinázové domény u *BCR-ABL*, na něž je lék první generace rezistentní (Benjamini et al., 2013; Žáčková, 2012). Studie porovnávaly účinnost 100 mg dasatinibu a 400 mg imatinibu u nově diagnostikovaných pacientů s CML. První zmiňovaný lék se ukázal jako vhodnější v primárních koncových ukazatelích, především v rychlosti a procentech, a to jak v kompletní cytogenetické odpovědi, tak i ve velké molekulární odpovědi po dvanácti měsících testování. Přesto však nebyly zpozorovány žádné rozdíly v celkovém přežití. Procentuální zastoupení přeživších činí 94 % (Santos et al., 2011; Osman a Deininger, 2021).

Dasatinib je doporučován v dávkách 100 mg, případně 140 mg za den v závislosti na fázi onemocnění. Může se požívat jak nalačno, tak i současně s jídlem. Výhodou dasatinibu je téměř nulová přítomnost nepříznivých reakcí po užívání tohoto léku. Mohou se však objevit i jiné obtíže, které by byly schopny pacientovi průběh nemoci ztížit. Jak již bylo zmíněno u imatinibu, nejčastějším nežádoucím účinkem je útlum kostní dřeně. Nález ovšem zahrnuje i nehematologické potíže, zvláště bolest hlavy, únavu, průjem, nevolnost, výpotky v oblasti perikardu a pohrudnice, infekce či dušnost. Bohužel ani dasatinib nedokáže odstranit všechny buňky, které by mohly vést ke znovuzrození onemocnění (Santos et al., 2011; Žáčková, 2012).

5.6.3 Nilotinib

Nilotinib, též Tassigna, byl vytvořen s jistým cílem majícím vliv na *BCR-ABL* tyrozinkinázu. Záslouhou mutací na ní nedokáže imatinib dostatečně působit. Poněvadž nilotinib nevyžaduje tak těsné spojení s *BCR-ABL* tyrozinkinázou, je proti mutacím odolnější. Nilotinib

je tedy považován za syntetický derivát imatinibu (Santos et al., 2011; Žáčková, 2012). Své efektivní působení prokázal u pacientů s CML v chronické a akcelerované fázi, při níž selhal právě imatinib (Osman a Deininger, 2021).

Na základě potvrzujících výsledků byl v roce 2007 odsouhlasen pro léčbu druhé linie v denním přídělku dvakrát po 400 mg. Podle další studie, roku 2010, byl nilotinib zařazen do kategorie pro léčbu CML v chronické fázi první linie při dávkování 300 mg dvakrát denně (Osman a Deininger, 2021). Pacienti s chronickou fází CML byli sledováni po dobu dvou let. Za toto krátké období bylo dosaženo ze 44 % kompletních cytogenetických odpovědí a z 87 % celkového přežití (Santos et al., 2011; Žáčková, 2012). Tento lék, oproti ostatním TKI druhé generace, výrazně zvýšil pravděpodobnost přežití bez další progresu (Osman a Deininger, 2021).

Nilotinib, na rozdíl od imatinibu i dasatinibu, striktně vyžaduje dodržování přesných předpisů užívání. Je nutné být nalačno jednu hodinu před a dvě hodiny po požití léku. Jinak by se vlivem nepřesné indikace mohly projevit nežádoucí účinky. Stejně jako u dvou předchozích, i toto farmakum disponuje výskytem hematologické toxicity ve smyslu potlačení krvetvorby. Objevit se mohou taktéž nehematologické obtíže, obzvlášť bolest hlavy, únava, nevolnost, kožní vyrážky, anebo průjem (Santos et al., 2011; Žáčková, 2012). Ty vedou k vyvolání hyperglykémie a hyperlipidémie společně s nárůstem kardiovaskulárních chorob, mezi ně lze zařadit periferní onemocnění tepen, cévní mozková příhoda nebo ischemická choroba srdeční (Osman a Deininger, 2021).

5.6.4 Bosutinib

Původně byl bosutinib schválen pro léčbu třetí linie všech stadií CML v dávce 500 mg za den. Nicméně už při použití v přední linii léčby ve srovnání s imatinibem nebyl zaznamenán žádný pokrok v kompletní cytogenetické odpovědi. To byl zásadní cílový ukazatel toho, že bosutinib nebyl potvrzen pro užívání během medikace. Při přerušení studie, a tudíž i při neadekvátním řešení nežádoucích účinků mohlo dojít k podhodnocení skutečného rozdílu. Následně tedy studie aplikovala sníženou dávku, 400 mg denně, bosutinibu pro testování, ale nebyla nalezena žádná odchylka v přežití jak celkovém, tak i bez progresu. Na základě těchto informací se bosutinib stal již čtvrtým povoleným TKI pro léčbu první linie CML v chronické fázi (Santos et al., 2011; Osman a Deininger, 2021).

5.6.5 Ponatinib

TKI první i druhé generace nepokrývají mutaci *BCR-ABL1*^{T315I} (Benjamini et al., 2013). Proto byl ponatinib navržen pro řešení tohoto specifického problému (Koriťáková et al., 2019).

Ve srovnání s ostatními TKI ponatinib obchází izoleucin 315 prostřednictvím trojité vazby mezi uhlíky. Je považován za nejúčinnější *BCR-ABL1* TKI, který je v nynější době schválen. Má dlouhý poločas rozpadu i dlouhé obsazení cíle. Tyto vlastnosti jsou za cenu snížené selektivity, jenž vede k inhibici dalších kináz (Osman a Deininger, 2021).

Zprvu byl ponatinib testován u všech fází CML po 45 mg za 24 hodin (Korit'áková et al., 2019). U chronické fáze byla odpověď trvalá, u akcelerované méně stabilní a u blastické přechodná (Osman a Deininger, 2021). Při delším sledování efektivity leukemie s pozitivním Ph-chromozomem byly zjištěny kardiovaskulární příhody, a proto byla studie předčasně ukončena. Ponatinib může svými nežádoucími účinky způsobovat taktéž i cévní toxicitu (Korit'áková et al., 2019), jenž je přisuzována mimocílové inhibici kináz vaskulárního systému. Jako je vaskulární endoteliální růstový faktor, receptory růstového faktoru odvozené od destiček i tyrozinkináza s doménami podobnými imunoglobulinu a epidermálnímu růstovému faktoru. Nedávné zvířecí modely odhalily zapojení Von Willebrandova faktoru zprostředkovaného adhezí trombocytů a sekundární mikrovaskulární angiopatii. Je dokázáno, že míra toxicity ponatinibu závisí na jeho dávce. Jakmile se tedy dosáhne požadované odpovědi, je třeba snížit množství podávaného léku. Poslední studie ukázaly, že za ideální dávkovací schéma lze brát počátečních 45 mg postupně se snižujících až na 15 mg. Takový režim snižuje toxicitu, ale zachovává účinnost léku (Santos et al., 2011; Osman a Deininger, 2021).

6 Nové terapeutické přístupy

Inhibitory tyrozinkinázy zapříčinily revoluci v léčbě CML. Díky svým účinkům, především blokaci *BCR-ABL1*, získaly výsadní postavení v léčebných postupech. Přestože většina pacientů reaguje na TKI kladně, najdou se i tací, kteří vykazují značnou rezistenci či netoleranci vůči TKI. Proto je třeba vyhledat další nové léčebné strategie (Yurttaş a Eşkazan, 2020). Nové terapeutické přístupy jsou nezbytné pro překonání současných nedostatků léčby (Schoepf et al., 2021).

6.1 Mechanismy rezistence na inhibitory tyrozinkinázy

V současné době je rezistence na TKI kategorizována do dvou skupin, a to na primární rezistenci a sekundární rezistenci (Yurttaş a Eşkazan, 2020). Primární rezistence znamená, že v požadovaný čas není dosaženo očekávané léčebné odpovědi. Sekundární neboli získaná rezistence pak označuje ztrátu odpovědi během probíhající léčby (Osman a Deininger, 2021). Dle výše stupně vzniku lze rezistenci rozdělit na molekulární, hematologickou a cytogenetickou (Žáčková, 2012). Hematologická značí normalizaci počtu periferních krevních obrazů a cytogenetická vyjadřuje snížení počtu Ph-pozitivních metafází ve vzorcích kostní dřeně (Özdemir et al., 2023). Obě tyto rezistence se vyskytují u pacientů s pokročilou fází onemocnění. I přes dosažení vysoké CCgR a MMR zůstává v těle pacienta zbylá část *BCR-ABL1* pozitivních buněk. Tento typ molekulární rezistence je aktuální u většiny současně léčených pacientů TKI (Osman a Deininger, 2021; Žáčková, 2012).

Z hlediska mechanismů rezistence je možné ji rozdělit na rezistenci na aktivitě *BCR-ABL1* závislou, jenž se vyskytuje u 50–60 % pacientů a na rezistenci nezávislou na *BCR-ABL1* zahrnující 50–40 % pacientů (Osman a Deininger, 2021; Žáčková, 2012). Za příčinu progresu onemocnění je zodpovědná řada mechanismů, ačkoliv jejich spojení nebylo přímé s rezistencí na TKI. Zejména se jedná o expresi transkriptu *BCR-ABL1*, proteiny ovlivňující transkripci, genovou nestabilitu zprostředkovanou *BCR-ABL1*, délku telomer a rozdílnou expresi genů. Příkladem mechanismů závislých na *BCR-ABL1* mohou být mutace v kinázové doméně *ABL*, která brání vazbě TKI, dále i amplifikace onkogenu *BCR-ABL1* a vysoké hladiny exprese mRNA *BCR-ABL1*. Za mechanismy nezávislé na *BCR-ABL1* je zodpovědná změna na úrovni transportu léků z buňky a do buňky zapříčiněná zvýšenou regulací efluxních pump pro léčiva a zároveň sníženou regulací přenašečů léků (Yurttaş a Eşkazan, 2020). Na těchto mechanismech se také podílí aktivace alternativních drah pro přenos signálu uvnitř buňky, neochota pacienta spolupracovat či třeba klonální evoluce neboli vznik doplňujících odchylek v Ph-pozitivních buňkách (Yurttaş a Eşkazan, 2020; Žáčková, 2012).

TKI mají silný antiproliferativní účinek na leukemické kmenové buňky (LSC), ale jejich apoptózu indukují jen ve velmi malé míře. Vyšší odolnost vůči programované buněčné smrti a efektivitě TKI vykazují klidové LSC. Několik studií zjistilo, že TKI úspěšně inhibují kinázovou aktivitu v rámci LSC. Tím pádem se dospělo k názoru, že rezistence LSC je nezávislá na kináze *BCR-ABL1*. Toto zjištění mělo velký dopad na určení směru ve výzkumu CML. Panuje vysoká shoda v tom, že přístupy ke zvýšení remise bez léčby jsou hlavní potřebou výzkumu CML (Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.2 Cílená léčba na *BCR-ABL1*

Léčivem využitelným pro cílenou léčbu na *BCR-ABL1* je asciminib, což je alosterický inhibitor *ABL1*. Na rozdíl od aktuálně dostupných TKI, inhibuje kinázovou aktivitu *ABL1* vazbou na myristoylovou kapsu proteinu než na kapsu katalytickou. Tato vazba vyvolá vznik neaktivní kinázové konfigurace, což vede k přerušení signalizace *BCR-ABL1*. Mutace v kinázové doméně *ABL1* nezpůsobují rezistenci na asciminib. Podobně také mutace v rámci myristoylové kapsy jsou schopny propůjčit rezistenci k asciminibu, přičemž neovlivňují vazbu TKI. Z toho plyne, že kombinovaná léčba může zabránit vzniku rezistentním mutacím (Wylie et al., 2017; Yurttas a Eşkazan, 2020).

Po selhání dvou a více TKI se studie zaměřila na zvýšení dávky asciminibu u pacientů s chronickou a akcelerovanou fází CML. Do studie bylo zapojeno přes 50 % pacientů, u kterých došlo k selhání tří a více TKI. Prvotní výsledky ukázaly dosažení až 82% velké cytogenetické odpovědi u pacientů vykazujících rezistenci na TKI po třech měsících a také téměř 30 % pacientů získalo MMR po pěti měsících. Lék vykázal vysokou efektivitu v širokém mutačním spektru. Jiná studie publikovala taktéž výsledky terapie pomocí asciminibu, kdy bylo dosaženo incidence 70 %, respektive 48 %, CCgR i MMR po dvanácti měsících. MMR bylo docíleno rovněž u pacientů, kteří měli vykazovat rezistenci či alespoň nežádoucí účinky na působení ponatinibu. Další výzkum se zabýval kombinací asciminibu s ponatinibem. Došlo k odhalení, že tato léčebná strategie značně zlepšuje léčbu a snižuje vznik rezistentních mutací *BCR-ABL1* u Ph-pozitivních pacientů. Stále se čeká na výsledky klinické studie ASCSEMBL, která porovnávala působení asciminibu s bosutinibem u pacientů s chronickou fází CML (Hughes et al., 2019; Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.3 Necílená léčba na *BCR-ABL1*

6.3.1 Inhibitory farnesyltransferázy

Inhibitory farnesyltransferázy inhibují aktivitu farnesyltransferázy. Tím brání přenosu izoprenoidní skupiny na různé cílové proteiny, příkladem může být protein RAS. Aktivace RAS hraje důležitou roli v leukemogenezi u CML. Léky tipifarnib a lonafarnib jsou dva silné inhibitory farnesyltransferázy s potenciální antileukemickou aktivitou u pacientů zasažených CML (Cortes et al., 2003; Yurttas a Eşkazan, 2020).

U pacientů, u nichž selhala léčba IFN- α , bylo prokázáno, že tipifarnib jako jediný dokázal vyvolat kompletní, případně alespoň částečné hematologické a cytogenetické odpovědi. Průměrná doba trvání činila 9 týdnů. Do klinické studie bylo zapojeno dvacet dva pacientů. V případech, kdy selhal imatinib, byla pacientům aplikována kombinace tipifarnibu s imatinibem. Současná léčba navodila hematologickou i cytogenetickou odpověď u 76 %, respektive 36 % pacientů (Cortes et al., 2003; Yurttas a Eşkazan, 2020).

Klinická studie zkoumala účinnost lonafarnibu u pacientů majících rezistenci, anebo intoleranci na lék imatinib. Dva ze třinácti pacientů vykazovali hematologickou odpověď. Studie také zjistily, že lonafarnib podávaný v různých dávkách má vyšší efektivitu než aplikovaný v kombinaci s imatinibem. To však nebrání tomu, aby podávání takto kombinovaných léků bylo zakázáno. Závěrem lze říci, že inhibitory farnesyltransferázy mají pouze malý přínos pro léčbu CML. Avšak jejich kombinace s imatinibem může být prospěšná u pacientů nereagujících na léčbu samotných TKI (Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.3.2 Inhibitory savčího cíle rapamycinu

Inhibitory mTOR jsou cíleně zaměřeny na mTOR neboli serin/threoninovou kinázu regulující metabolismus a buněčnou proliferaci. Podstatná aktivace mTOR byla zpozorována u odlišných typů leukemií včetně CML (Ahmed a Van Etten, 2013; Yurttas a Eşkazan, 2020).

Rapamycin čili sirolimus indukuje defosforylaci mTOR. To vede ke zvýšení efektivity imatinibu u buněk vykazujících rezistenci a zároveň způsobuje snížení životaschopnosti buněk CML (Ahmed a Van Etten, 2013). Momentálně probíhá jen jedna klinická studie, která se zabývá zkoumáním efektivity kombinace rapamycinu s látkami poškozujícími DNA, zejména etoposidem či cytarabinem, u pacientů s CML v pokročilejších fázích. Dalším zástupcem je everolimus. Ten blokuje konstitutivní aktivaci mTOR, současně zvyšuje citlivost imatinibu a omezuje proliferaci CML. Oproti rapamycinu, je terapeutická účinnost everolimu u pacientů studována v různých studiích jak samostatně, tak i společně s imatinibem (Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.3.3 Inhibitory JAK2

Výrazná pozornost byla věnována určitým kritickým signálním mechanismům, díky kterým by bylo možné zneškodnit LSC. JAK jsou intracelulární nереceptorové kinázy zprostředkovávající signalizaci vyvolanou cytokiny pomocí aktivace transkripčních faktorů STAT. Buňky CML demonstrují zvýšenou fosforylaci signálního přenašeče a aktivátoru transkripce 5 (STAT5), transkripční aktivitu, jadernou translokaci a zeslabení vývoje CML pomocí inaktivace STAT5. Přestože *BCR-ABL1* mohou vyvolat přímou aktivaci STAT5 nezávisle na kináze JAK2, zábrana aktivity JAK2 prostřednictvím ruxolitinibu společně s TKI vede k úbytku LSC, jak *in vivo*, tak i *in vitro*. Klinické studie zkoumaly účinnost kombinované terapie ruxolitinibu s nilotinibem. Výzkumu se účastnilo jedenáct pacientů s onemocněním v chronické fázi po dobu šesti měsíců. Vzhledem k nízkému počtu hodnocených pacientů je třeba brát výsledky s opatrností. V závislosti na těchto studiích bylo zjištěno několik zajímavostí. Ruxolitinib společně s nilotinibem nevykazují žádnou toxicitu a na jejich kombinaci pacienti reagují velmi dobře. Taktéž dosažení molekulární odpovědi bylo velmi úspěšné. Závěrem lze říci, že inhibitory JAK2 v kombinaci s TKI mohou být značně přínosné pro pacienty s pokročilou CML (Ahmed a Van Etten, 2013; Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.3.4 Inhibitory histon deacetylázy

Inhibitory histon deacetylázy (HDAC) jsou drobné molekuly blokující enzymy HDAC zapojené do epigenetických modifikací, jež usměrňují stav acetylace histonů. Obecně platí, že acetylace histonů stanovuje permisivní stav chromatinu podporující exprese genu, deacetylace histonů vedená HDAC tento biologický proces převrací a způsobuje genovou represi. Několik izoform HDAC se nadměrně prezentuje u různých typů rakoviny. Vzhledem k vzestupu regulace, spojené s poklesem celkového přežití i přežití bez nemoci, existuje možná spojitost mezi působením HDAC a protinádorových léčiv (Ceccacci a Minucci, 2016; Yurttas a Eşkazan, 2020).

Panobinostat je silný inhibitor enzymů HDAC, čímž podporuje acetylaci histonů a zároveň má vliv i na genovou expresi uvnitř maligních buněk. Svým působením ovlivňuje také acetylaci některých proteinů, zejména Hsp90 (Yurttas a Eşkazan, 2020). Hsp90 je hojně všudypřítomný molekulární chaperonový protein, jež hraje důležitou roli v mnoha buněčných procesech. Jeho hlavní funkce se upíná na řízení buněčného cyklu, hormonů, signálních drah i životnosti buněk. Taktéž je zásadní pro udržování buněčné homeostázy a pro reakci buňky na stres. V posledních letech se stal jedním z terapeutických cílů v léčbě rakoviny (Jackson, 2013). Acetylace Hsp90 narušuje jeho chaperonovou aktivitu a taktéž zvyšuje

degradaci proteazomů u podstatných signálních proteinů. Bylo zjištěno, že panobinostat tlumí nárůst několika buněčných linií CML. Panobinostat byl vyšetřován ve dvou klinických studiích. První zahrnovala pacienty s pokročilým onemocněním, a tedy s akcelerovanou a blastickou fází, a druhá se zabývala pacienty s chronickou fází CML. Podmínkou pro účast ve studiích bylo selhání léčby pomocí dvou a více TKI. Pacienti vykazovali pozitivní reakci na léčbu panobinostatem, avšak nebyl zaznamenán žádný dlouhotrvající přínos. Z toho plyne, že v kombinaci s jinými protinádorovými léky, mimo selhávajících TKI, se může jednat o slibné terapeutické látky (Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.3.5 Inhibitory Aurora kinázy

Aurora kinázy jsou serin/threoninové kinázy nepostradatelné pro buněčnou proliferaci. Jedná se o fosfotransferázové enzymy. Inhibitory Aurora kinázy potlačují aktivitu serin/threoninových kináz, čímž způsobí poruchu regulace jejich funkce. To vede k vyvolání chromozomálních odchylek zodpovědných za změny v DNA, což zapříčiní transformaci buněk. Aurora kinázy jsou tedy považovány za potenciální terapeutické cíle pro vývoj protinádorových léčiv (Alvarado a Cortés, 2007; Yurttas a Eşkazan, 2020).

Tozasertib je účinný proti nesmrtelným buněčným liniím CML. Svým působením dokázal zmírnit závažnost onemocnění. Oproti tomu danusertib inhibuje jak Aurora kinázy, tak i *ABL*. Způsobuje inhibici růstu u *BCR-ABL1* pozitivních buněk, čímž prokázal alespoň částečnou naději na posun v léčbě CML (Alvarado a Cortés, 2007; Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.3.6 Aktivátory PPARgamma

Přestože léková rezistence závisí zejména na mutacích kinázové domény *BCR-ABL*, byla objevena série nezávislých mechanismů. Příkladem může být inhibice proapoptických proteinů, vývoj necitlivých LSC či porucha regulace signálního přenašeče a aktivátoru transkripce 5. STAT5 je nezbytný pro vyvolání a udržování leukemie jak *in vitro*, tak i *in vivo*. Dlouhotrvající účinnost již zmíněného transkripčního faktoru byla zpozorována kromě hematologických malignit také u závažných nádorů. Inhibice STAT5 je výrazným příslibem do budoucna v oblasti terapeutických možností (Schoepf et al, 2021). Uvádí se, že léčba pomocí glitazonů schválených pro léčbu diabetu, může eliminovat zbytkové LSC u CML (Yurttas a Eşkazan, 2020).

Nynější podávání chemoterapeutik společně s agonisty pioglitazonem, rosiglitazonem, anebo balaglitazonem, vlivem inhibice STAT5, zapříčinilo vzestup apoptózy a pozastavení buněčného cyklu u buněk CML vykazujících rezistenci. I přes znatelnou efektivitu není aplikace agonistů vhodná. Vlivem nepříznivým účinků byly balaglitazon a později

i rosiglitazon staženy z trhu. Jediný pioglitazon lze po splnění potřebných podmínek předepsat pouze v Evropské unii. Studie taktéž odhalily účinnost agonisty PPAR γ telmisartanu, jenž oproti předchozím agonistům, nevyvolává nežádoucí reakce na podání látky (Schoepf et al, 2021).

6.3.7 Inhibitor translace proteinů

Omacetaxin je polosyntetická sloučenina schopná vázat se přímo na ribozom a zabránovat již počátečním krokům translace proteinů. Potlačení translace *BCR-ABL1* navozuje buněčnou apoptózu u CML. Studie hodnotily efektivitu omacetaxinu u pacientů rezistentních či netolerujících imatinib společně s ještě jedním TKI. Analýza prokázala značnou míru CHR. V závislosti na klinických výsledcích byl omacetaxin schválen pro léčbu CML u pacientů, kteří vykazují jistou nesnášenlivost na TKI, případně nesou T315I mutaci. Většina pacientů toleruje účinnost omacetaxinu. Ten vyvolává jen některé nežádoucí reakce, především infekce (Cortes et al., 2013; Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.3.8 Hypomethylační činidla

Aberantní methylace DNA může v karcinogenezi potlačit působení nádorových supresorů či jiných rozhodujících genů. V souvislosti s pokročilostí CML se zvyšuje i methylace DNA. Z tohoto důvodu byla aberantní methylace zkoumána jako jeden z několika terapeutických cílů. Studie se zabývaly aktivitou decitabinu jak u neléčeného onemocnění v pokročilejších fázích, tak i u pacientů rezistentních na imatinib. Hypomethylační činidla společně s TKI dosáhly 43% celkové odpovědi, přičemž CHR byla zjištěna u téměř 32 % pacientů. Závěrem lze říci, že kombinace decitabinu souběžně s TKI může mít vyšší účinnost než léčba pouhými TKI (Oki et al., 2007; Yurttas a Eşkazan, 2020).

6.3.9 Imunoterapie

Pacienti s nově diagnostikovanou CML mají oslabenou vrozenou imunitu s funkčními defekty v rámci přirozených zabíječů (NK) a početnými odchylkami v podskupinách dendritických buněk, zvláště plazmocytoidních dendritických buněk (Sakamoto et al., 2017; Yurttas a Eşkazan, 2020).

Vývoj jednotlivých pegylovaných forem interferonu alfa (PEG-IFN- α) vedl ke snížení toxicity a ke zlepšení hematologické a hlavní cytogenetické odpovědi. V řadě klinických studií byl PEG-IFN- α testován v kombinaci s TKI. Byla zpozorována dobrá snášenlivost pacientů. Účinnost léků po dvanácti měsících činila 46 %, respektive 27 % molekulární odpovědi. Mezi 636 pacientů byla rozdělena léčba pomocí 400 mg imatinibu, 600 mg imatinibu,

kombinace imatinibu s cytarabinem a imatinibu společně s PEG-IFN- α . Právě poslední zmíněná léčebná medikace prokázala po dvanácti, osmnácti a čtyřiceti měsících vyšší hodnoty MMR. Individuální léčba IFN- α zajistila alespoň částečnou eliminaci rezistentních mutačních klonů. U čtyř ze šesti pacientů zasažených mutacemi bylo vlivem působení IFN- α dosaženo molekulární odpovědi. Studie dospěly k závěru, že tato léčebná strategie může zásluhou imunomodulačního efektu utlumit rozvoj leukemických klonů. Současně probíhá řada dalších studií, které se zabývají prosperitou PEG-IFN- α v kombinaci s různými TKI (Hjorth-Hansen et al., 2016; Yurttaş a Eşkazan, 2020).

Specifická přestavba genu *BCR-ABL1* dává vzniknout proteinu p210, jenž by mohl sloužit jako cílový antigen v imunitní léčbě CML. Běžně jsou *BCR-ABL1* imunogenní peptidy produkovány aminokyselinovou sekvencí v oblasti bodu zlomu e13a2, anebo e14a2. Pokles onemocnění byl prokázán u 22 % pacientů. Současně s tím nebyla zpozorována žádná toxicita. Lze říci, že vakcíny proti zlomovým bodům *BCR-ABL1* zapříčinily snížení reziduálního onemocnění u pacientů léčených TKI (Yurttaş a Eşkazan, 2020).

Terapie GVAX je založena na podávání nádorových buněk, které byly *ex vivo* uzpůsobeny tak, aby následně produkovaly růstový faktor pro granulocytární řadu leukocytů a makrofágů (GM-CSF) a zároveň dokázaly bránit buněčnému dělení. Do studie vakcinační terapie bylo zapojeno třináct pacientů, kteří již podstoupili léčbu imatinibem a současně jim byly aplikovány čtyři dávky vakcíny. Dvanáct z nich dosáhlo nejnižšího stupně nádorové zátěže a u sedmi byl metodou PCR potvrzen negativní nález *BCR-ABL1*. Momentálně probíhají další klinické studie zabývající se zkoumáním jiných myeloproliferativních nemocí, zejména MDS či AML (Sakamoto et al., 2017; Yurttaş a Eşkazan, 2020).

Imunoterapie rakoviny založená na inhibitech kontrolních bodů imunitního systému využívá monoklonální protilátky proti kontrolním bodům negativního imunitního regulátoru. Příkladem je programovaná smrt 1 (PD-1) včetně jejích ligandů (PD-L1, PD-L2) a taktéž i cytotoxický T-lymfocytární antigen 4 (CTLA-4). Cytotoxické T-lymfocyty vykazují vysoké hladiny PD-1, přičemž buňky CML prezentují PD-L1. Testování myších modelů s CML odhalilo, že zrušení exprese PD-1 vede ke zvýšení celkového přežití. To by mohlo nastínit novou léčebnou terapii CML. V současné době také probíhají studie, které zkoumají účinnost ipilimumabu (anti-CTLA-4) a nivolumabu (anti-PD-1) u hematologických pacientů (Pereira-Veiga et al., 2022; Yurttaş a Eşkazan, 2020).

ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo popsat klonální myeloproliferativní expanze leukocytů, zejména se zaměřit na chronickou myeloidní leukemii. Úvodní část práce je věnována nádorovým onemocněním krve a jejich klasifikaci. Následně jsou definovány lymfoproliferativní i myeloproliferativní onemocnění. V neposlední řadě je charakterizována chronická myeloidní leukemie včetně její diagnostiky, klinického obrazu, molekulárně genetického pozadí a především léčby.

Hematopoéza je dynamický proces, při němž se nepřetržitě tvoří nové krevní buňky. Vlivem hromadění genetických změn v hematopoetických buňkách dochází k poškození zárodečných krvetvorných buněk. To vede k rozvoji nádorové populace.

Chronická myeloidní leukemie je klonální maligní onemocnění hematopoézy způsobené genetickou abnormalitou. Reciproká translokace působí na úrovni mezi dlouhými rameny chromozomů 9 a 22. Fúzí sekvence genu *ABL1* se sekvencí genu *BCR* vzniká chimérický protein *BCR-ABL1* neboli konstitutivně aktivní tyrozinkináza. Ta způsobuje změny v několika signálních drahách vedoucí až k rozvoji maligní transformace. Zpočátku jsou symptomy velmi nespecifické, projevuje se únava, nechutenství, váhový úbytek hmotnosti či nadměrné pocení. Někteří pacienti trpí bolestí v levém podžebří zapříčiněnou splenomegalií. Jestliže je přítomnost chronické myeloidní leukemie potvrzena, v krevním obrazu je nalezena výrazná leukocytóza. Ze všech obtěžujících příznaků ani jeden není specifický pro toto onemocnění. Správným životním stylem lze nemoci předcházet.

Zpočátku neexistovala žádná léčba na chronickou myeloidní leukemii. Postupem času, zejména zavedením inhibitorů tyrozinkinázy, došlo k výraznému pokroku a léčba se z paliativní přeměnila na kurativní. Stále však existuje pouze jediný léčebný způsob, kterým je možné docílit úplného vyléčení onemocnění. V současné době probíhá řada dalších výzkumů pro zavedení nových terapeutických cílů a tím i pro zlepšení účinnosti léčebných metod.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ABDEL-WAHAB, O. I., LEVINE, R. L. Primary Myelofibrosis: Update on Definition, Pathogenesis, and Treatment. *Annual Review of Medicine*. 2009, 60, 233-245. ISSN 1545-326X, doi: 10.1146/annurev.med.60.041707.160528.
2. ADAM, Z., KREJČÍ, M., VORLÍČEK, J., et al. *Hematologie: přehled maligních hematologických nemocí*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, 2008, 404. ISBN 978-80-247-2502-4.
3. ADAM, Z., VORLÍČEK, J., et al. *Hematologie. II, Přehled maligních hematologických nemocí*. 1. vyd. Praha: Grada, 2001, 680. ISBN 80-247-0116-2.
4. AHMED, W., VAN ETTEN, R. A. Signal Transduction in the Chronic Leukemias: Implications for Targeted Therapies. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 2013, 8(1), 71-80. ISSN 1558-822X, doi: 10.1007/s11899-012-0150-1.
5. ALVARADO, Y., CORTÉS, J. E. Emerging Role of Aurora Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia. *Clinical Leukemia*. 2007, 1(6), 325-330. ISSN 1931-6925, doi: 10.3816/CLK.2007.n.025.
6. ALVARNAS, J. C., BROWN, P. A., AOUN, P., et al. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2012, 10(7), 858-914. ISSN 1540-1413, doi: 10.6004/jnccn.2012.0089.
7. ALVES, R., GONÇALVES, A. C., RUTELLA, S., et al. Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia – From Molecular Mechanisms to Clinical Relevance. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*. 2021, 13(19), 4820-4856. ISSN 2078-2489, doi: 10.3390/cancers13194820.
8. ARMITAGE, J. O., GASCOYNE, R. D., LUNNING, M. A., et al. Non-Hodgkin lymphoma. *The Lancet*. 2017, 390(10091), 298-310. ISSN 1474-547X, doi: 10.1016/S0140-6736(16)32407-2.
9. BEER, P. A., ERBER, W. N., CAMPBELL, P. J., et al. How I treat essential thrombocythemia. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2011, 117(5), 1472-1482. ISSN 1528-0020, doi: 10.1182/blood-2010-08-270033.
10. BENJAMINI, O., KANTARJIAN, H. M., O'BRIEN, S., et al. Combination Chemotherapy With Tyrosine Kinase Inhibitors Can Overcome Bcr-Abl Mutations In Acute Lymphoblastic Leukemia Or Blast Crisis CML. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2013, 122(21), 2734-2737. ISSN 1528-0020, doi: 10.1182/blood.V122.21.2734.2734.
11. BOHN, J. P., SALCHER, S., PIRCHER, A., et al. The Biology of Classic Hairy Cell Leukemia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22(15), 7780-7791. ISSN 1422-0067, doi: 10.3390/ijms22157780.

12. BRIÈRE, J. B. Essential thrombocythemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2007, 2(3), 1-17. ISSN 1750-1172, doi: 10.1186/1750-1172-2-3.
13. BYRD, J. C., STILGENBAUER, S., FLINN, I. W. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2004, 2004(1), 163-183. ISSN 1520-4383, doi: 10.1182/asheducation-2004.1.163.
14. CECCACCI, E., MINUCCI, S. Inhibition of histone deacetylases in cancer therapy: lessons from leukaemia. *British Journal of Cancer*. 2016, 114(6), 605-611. ISSN 1532-1827, doi: 10.1038/bjc.2016.36.
15. CERVANTES, F., DUPRIEZ, B., PEREIRA, A., et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2009; 113(13), 2895-2901. ISSN 1528-0020, doi: 10.1182/blood-2008-07-170449.
16. COLLIGNON, A., WANQUET, A., MAITRE, E., et al. Prolymphocytic Leukemia: New Insights in Diagnosis and in Treatment. *Current Oncology Reports*. 2017, 19(4), 29-40. ISSN 1523-3790, doi: 10.1007/s11912-017-0581-x.
17. COPLAND, M. Chronic myeloid leukaemia. *Medicine*. 2021, 49(5), 282-285. ISSN 1357-3039, doi: 10.1016/j.mpmed.2021.02.005.
18. CORTES, J., ALBITAR, M., THOMAS, D., et al. Efficacy of the farnesyl transferase inhibitor R115777 in chronic myeloid leukemia and other hematologic malignancies. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2003, 101(5), 1692-1697. ISSN 0006-4971, doi: 10.1182/blood-2002-07-1973.
19. CORTES, J. E., NICOLINI, F. E., WETZLER, M., et al. Subcutaneous Omacetaxine Mepesuccinate in Patients With Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia Previously Treated With 2 or More Tyrosine Kinase Inhibitors Including Imatinib. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*. 2013, 13(5), 584-591. ISSN 2152-2650, doi: 10.1016/j.clml.2013.03.020.
20. DEARDEN, C. How I treat prolymphocytic leukemia. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2012, 120(3), 538-551. ISSN 1528-0020, doi: 10.1182/blood-2012-01-380139.
21. DEARDEN, C. Management of prolymphocytic leukemia. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2015, 2015(1), 361-367. ISSN 1520-4383, doi: 10.1182/asheducation-2015.1.361.
22. DIEHL, V., THOMAS, R. K., RE, D. Part II: Hodgkin's lymphoma-diagnosis and treatment. *The Lancet Oncology*. 2004, 5(1), 19-26. ISSN 1474-5488, doi: 10.1016/s1470-2045(03)01320-2.
23. DOUBEK, M. Leukemie. *Linkos: Česká onkologická společnost České lékařské společnosti J. E. Purkyně*. 2017, 1-15. ISSN 2570-8791.

24. DRUKER, B. J., TALPAZ, M., RESTA, D. J., et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2001, 344(14), 1031-1037. ISSN 1533-4406, doi: 10.1056/NEJM200104053441401.
25. FABRIS, F., RANDI, M. L. Essential thrombocythemia: past and present. *Internal and Emergency Medicine*. 2009, 4(5), 381-388. ISSN 1970-9366, doi: 10.1007/s11739-009-0284-x.
26. FADERL, S., TALPAZ, M., ESTROV, Z., et al. The Biology of chronic myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 1999, 341(3), 164-172. ISSN 1533-4406, doi: 10.1056/NEJM199907153410306.
27. GHIA, P., FERRERI, A. J. M., CALIGARIS-CAPPIO, F. Chronic lymphocytic leukemia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2007, 64(3), 234-246. ISSN 1879-0461, doi: 10.1016/j.critrevonc.2007.04.008.
28. GILLS, V. Overview of Haemato Oncology Comorbidities, Prognosis and Medical Interventions. *Journal of Blood Disorders & Transfusion*. 2022, 13(12), 1-2. ISSN 2155-9864, doi: 10.4172/2155-9864.22.13.540.
29. GROARKE, E. M., YOUNG, N. S. Aging and Hematopoiesis. *Clinics in Geriatric Medicine*. 2019, 35(3), 285-293. ISSN 1879-8853, doi: 10.1016/j.cger.2019.03.001.
30. HALLEK, M., PFLUG, N. Chronic lymphocytic leukemia. *Annals of Oncology*. 2010, 21(7), 154-164. ISSN 1569-8041, doi: 10.1093/annonc/mdq373.
31. HJORTH-HANSEN, H., STENTOFT, J., RICHTER, J., et al. Safety and efficacy of the combination of pegylated interferon- α 2b and dasatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia patients. *Leukemia*. 2016, 30(9), 1853-1860. ISSN 1476-5551, doi: 10.1038/leu.2016.121.
32. HOELZER, D., GÖKBUGET, N., OTTMAN, O., et al. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2002, 2002(1), 162-192. ISSN 1520-4383, doi: 10.1182/asheducation-2002.1.162.
33. HOFFMAN, R., RONDELLI, D. Biology and Treatment of Primary Myelofibrosis. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2007, 2007(1), 346-354. ISSN 1520-4383, doi: 10.1182/asheducation-2007.1.346.
34. HUGHES, T. P., MAURO, M. J., CORTES, J. E., et al. Asciminib in Chronic Myeloid Leukemia after ABL Kinase Inhibitor Failure. *The New England Journal of Medicine*. 2019, 381(24), 2315-2326. ISSN 1533-4406, doi: 10.1056/NEJMoa1902328.
35. INDRÁK, K. et al. *Hematologie*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2006. 278. Postgraduální klinický projekt; 7. Vnitřní lékařství; 2006/2007. ISBN 80-7254-868-9.
36. INDRÁK, K., FABER, E., JAROŠOVÁ, M. Léčba chronické myeloidní leukemie (CML) v éře imatinibu. *Vnitřní lékařství*. 2009, 55(1), 65-73. ISSN 1801-7592.

37. JABBOUR, E., KANTARJIAN, H. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. *American Journal of Hematology*. 2018, 93(3), 442-459. ISSN 1096-8652, doi: 10.1002/ajh.25011.
38. JACKSON, S. E. Hsp90: structure and function. *Topics in Current Chemistry*. 2013, 328, 155-240. ISSN 1436-5049, doi: 10.1007/128_2012_356.
39. KANTARJIAN, H., CORTES, J., JABBOUR, E., et al. Chronic myeloid leukemia. *Wiley Online Library*. 2019, 71-85. ISSN 1467-6281, doi: 10.1002/9781119252863.ch6.
40. KORITÁKOVÁ, E., DOUBEK, M., FABER, E., et al. Ponatinib Treatment in CML and Ph+ ALL Patients: Real-Life Data from the Czech Registries. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2019, 134(1), 5905-5908. ISSN 0006-4971, doi: 10.1182/blood-2019-126395.
41. LONGO, D. L., WHANG-PENG, J., JAFFE, E., et al. Myeloproliferative Syndromes: A Unique Presentation of Chronic Myelogenous Leukemia (CML) as a Primary Tumor of Bone. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 1978, 52(4), 793-801. ISSN 0006-4971, doi: 10.1182/blood.V52.4.793.793.
42. MAITRE, E., CORNET, E., TROUSSARD, X. Hairy cell leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *American Journal of Hematology*. 2019, 94(12), 1413-1422. ISSN 1096-8652, doi: 10.1002/ajh.25653.
43. MEIS, E., MORAIS, R. C. B., CARVALHO, L. O., et al. Peripheral Blood HPC Counts Are Augmented in CML Patients with Cytogenetic Findings of Disease as Compared to Patients in Cytogenetic Remission. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2004, 104(11), 4691-4692. ISSN 0006-4971, doi: 10.1182/blood.V104.11.4691.4691.
44. MELO, J. V., HUGHES, T. P., APPERLEY, J. F. Chronic Myeloid Leukemia. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2003, 2003(1), 132-152. ISSN 1520-4383, doi: 10.1182/asheducation-2003.1.132.
45. MESA, R. A., VERSTOVSEK, S., CERVANTES, F., et al. Primary myelofibrosis (PMF), post polycythemia vera myelofibrosis (post-PV MF), post essential thrombocythemia myelofibrosis (post-ET MF), blast phase PMF (PMF-BP): Consensus on terminology by the international working group for myelofibrosis research and treatment (IWG-MRT). *Leukemia Research*. 2007, 31(6), 737-740. ISSN 0145-2126, doi: 10.1016/j.leukres.2006.12.002.
46. MURRAY, J. Myeloproliferative disorders. *Clinical Medicine Journal*. 2005, 5, 328-332. ISSN 2077-0383, doi: 10.7861/clinmedicine.5-4-328.
47. NAING, P. T., ACHARYA, U., KUMAR, A. Hairy Cell Leukemia. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. 2022, 1-6. NLM ID: 101708961, PMID: 29763020.
48. NOH, J-Y., SEO, H., LEE, J., et al. Immunotherapy in Hematologic Malignancies: Emerging Therapies and Novel Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, 21(21), 8000-8023. ISSN 1422-0067, doi: 10.3390/ijms21218000.

49. OKI, Y., KANTARJIAN, H. M., GHARIBYAN, V., et al. Phase II study of low-dose decitabine in combination with imatinib mesylate in patients with accelerated or myeloid blastic phase of chronic myelogenous leukemia. *Cancer*. 2007, 109(5), 899-906. ISSN 1097-0142, doi: 10.1002/cncr.22470.
50. ONCIU, M. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2009, 23(4), 655-674. ISSN 0889-8588, doi: 10.1016/j.hoc.2009.04.009.
51. OSMAN, A. E. G., DEININGER, M. W. Chronic Myeloid Leukemia: Modern therapies, current challenges and future directions. *Blood Reviews*. 2021, 49, 100825-100839. ISSN 0268-960X, doi: 10.1016/j.blre.2021.100825.
52. ÖZDEMİR, Z. N., KILIÇASLAN, N. A., YILMAZ, M., et al. Guidelines for the treatment of chronic myeloid leukemia from the NCCN and ELN: differences and similarities. *International Journal of hematology*. 2023, 117, 3-15. ISSN 1865-3774, doi: 10.1007/s12185-022-03446-1.
53. PARIKH, S. A. Chronic lymphocytic leukemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*. 2018, 8(10): 93-103. ISSN 2044-5385, doi: 10.1038/s41408-018-0131-2.
54. PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu. [2. díl], Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. Český Těšín: FINIDR, 2006, 304. ISBN 80-86682-00-5.
55. PENKA, M., TESAŘOVÁ, E., et al. *Hematologie a transfuzní lékařství. I, Hematologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011 488. ISBN 978-80-247-3459-0.
56. PEREIRA-VEIGA, T., SCHNEEGANS, S., PANTEL, K., et al. Circulating tumor cell-blood cell crosstalk: Biology and clinical relevance. *Cell Reports*. 2022, 40(9), 111298-111313. ISSN 2211-1247, doi: 10.1016/j.celrep.2022.111298.
57. PUCCELLA J. N., UPADHAYA S., REIZIS B. The Source and Dynamics of Adult Hematopoiesis: Insights from Lineage Tracing. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2020, 36, 529-550. ISSN 1530-8995, doi: 10.1146/annurev-cellbio-020520-114601.
58. PUI, C.-H., RELLING, M. V., DOWNING, J. R. Acute Lymphoblastic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2004, 350(15), 1535-1548. ISSN 1533-4406, doi: 10.1056/NEJMra023001.
59. RAIDA, L., INDRÁK, K., ŽÁK, P. Leukemie s vlasatými buňkami. *Onkologie*. 2008, 2(3), 163-166. ISSN 1803-5345.
60. RIEGER M. A., SCHROEDER T. Hematopoiesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2012, 4(12), a008250, 1-18. ISSN 1943-0264, doi: 10.1101/cshperspect.a008250.
61. SAKAMOTO, C., KOHARA, H., INOUE, H., et al. Therapeutic vaccination based on side population cells transduced by the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene elicits potent antitumor immunity. *Cancer Gene Therapy*. 2017, 24, 165-174. ISSN 0929-1903, doi: 10.1038/cgt.2016.80.

62. SANTOS, F. P., KANTARJIAN, H., QUINTÁS-CARDAMA, A., et al. Evolution of therapies for chronic myelogenous leukemia. *The Cancer Journal*. 2011, 17(6), 465-476. ISSN 1540-336X, doi: 10.1097/PPO.0b013e31823dec8d.
63. SAPKOTA, S., SHAIKH, H. Non-Hodgkin Lymphoma. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. 2022, 1-15. NLM ID: 101708961, PMID: 32644754.
64. SAWYERS, CH. L. Chronic myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 1999, 340(17), 1330-1340. ISSN 1533-4406, doi: 10.1056/NEJM199904293401706.
65. SHANKLAND, K. R., ARMITAGE, J. O., HANCOCK, B. W. Non-Hodgkin lymphoma. *The Lancet*. 2012, 380(9844), 848-857. ISSN 1474-547X, doi: 10.1016/S0140-6736(12)60605-9.
66. SCHOEPF, A. M., SALCHER, S., OBEXER, P., et al. Tackling resistance in chronic myeloid leukemia: Novel cell death modulators with improved efficacy. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021, 216, 113285-113295. ISSN 0223-5234, doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113285.
67. SPIVAK, J. L. Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2002, 100(13), 4272-4290. ISSN 1528-0020, doi: 10.1182/blood-2001-12-0349.
68. SPIVAK, J. L. Polycythemia Vera. *Current Treatment Options in Oncology*. 2018, 19(2), 12-26. ISSN 1534-6277, doi: 10.1007/s11864-018-0529-x.
69. STUART, B. J., VIERA, A. J. Polycythemia vera. *American Family Physician*. 2004, 69(9), 2139-2144. ISSN 1532-0650.
70. ŠEBEK, J. Přehled anémií a hematologických malignit. *Labor Aktuell*. 2020, 1-3. ISSN 1214-7672.
71. TEFFERI, A. Primary myelofibrosis: 2019 update on diagnosis, risk-stratification and management. *American Journal of Hematology*. 2018, 93(12), 1551-1560. ISSN 1096-8652, doi: 10.1002/ajh.25230.
72. TEFFERI, A., GILLILAND, D. G. Oncogenes in Myeloproliferative Disorders. *Cell Cycle*. 2007, 6(5), 550-566. ISSN 1551-4005, doi: 10.4161/cc.6.5.3919.
73. TEFFERI, A., Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia. *The New England Journal of Medicine*. 2000, 342(17), 1255-1265. ISSN 1533-4406, doi: 10.1056/NEJM200004273421706.
74. TEFFERI, A., SOLBERG, L. A., SILVERSTEIN, M. N. A clinical update in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *The American Journal of Medicine*. 2000, 109(2), 141-149. ISSN 1555-7162, doi: 10.1016/s0002-9343(00)00449-6.
75. TEFFERI, A., VANNUCCHI, A.M., BARBUI, T. Essential thrombocythemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*. 2018, 8(2), 1-6. ISSN 2044-5385, doi: 10.1038/s41408-017-0041-8.

76. TRAJKOVSKA, I., GEORGIEVSKI, B., CEVRESKA, L., et al. Complications in Patients with Allogeneic Transplantation of Hematopoietic Stem Cell – Case Report. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2017, 5(3), 340-343. ISSN 1857-9655, doi: 10.3889/oamjms.2017.038.
77. VRÁBLOVÁ, L., HRBČEKOVÁ, L., KRIEHOVÁ, E., et al. Clinical Impact of Basophilia during Cytoreduction in Patients with Chronic Myeloid Leukaemia. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2022, 140(1), 12229-12230. ISSN 0006-4971, doi: 10.1182/blood-2022-168996.
78. WATSON, S. What Is Lymphoma? *WebMD*. 2022, 1-5. ISSN 1553-9946.
79. WEISSMAN I. L., ANDERSON D. J., GAGE F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage, commitments, and transdifferentiations. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2001, 17, 387-403. ISSN 1530-8995, doi: 10.1146/annurev.cellbio.17.1.387.
80. WILKINS, B. S., ERBER, W. N., BAREFORD, D., et al. Bone marrow pathology in essential thrombocythemia: interobserver reliability and utility for identifying disease subtypes. *Blood: Journal of American Society of Hematology*. 2008, 111(1), 60-70. ISSN 1528-0020, doi: 10.1182/blood-2007-05-091850.
81. WYLIE, A., SCHOEPFER, J., JAHNKE, W., et al. The allosteric inhibitor ABL001 enables dual targeting of BCR-ABL1. *Nature*. 2017, 543(7647), 733-737. ISSN 1476-4687, doi: 10.1038/nature21702.
82. YUNG, L., LINCH, D. Hodgkin's lymphoma. *The Lancet*. 2003, 361(9361), 943-951. ISSN 1474-547X, doi: 10.1016/S0140-6736(03)12777-8.
83. YURTTAŞ, N. Ö., EŞKAZAN, A. E. Novel therapeutic approaches in chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research*. 2020, 91(2), 106337-106345. ISSN 0145-2126, doi: 10.1016/j.leukres.2020.106337.
84. ŽÁČKOVÁ, D. *Chronická myeloidní leukemie – informace pro pacienty a jejich blízké*. The Czech leukemia study group for life, 1.vyd. Brno, 2012, 84. ISBN 978-80-260-1828-5.