

# Laboratorní diagnostika (molekulárně genetické metody) I.

CMBG, IHOK, FN Brno  
Ing. Ivana Ježíšková, Ph.D.

24. 4. 2023



# HEMATOONKOLOGICKÁ ONEMOCNĚNÍ

## Charakteristika

- systémová klonální onemocnění hematopoetické tkáně

## Členění

- podle charakteru:

- **DIFÚZNÍ** (leukemie)
- **LOŽISKOVÁ** (lymfomy)

- podle postižené krevní vývojové řady:

- **MYELOIDNÍ** (postižena je myeloidní prekurzorová buňka)
- **LYMFOIDNÍ** (postižena je lymfoidní prekurzorová buňka)

# LEUKÉMIE (C91-C95)

## Rozdělení

- podle stavu/průběhu onemocnění:

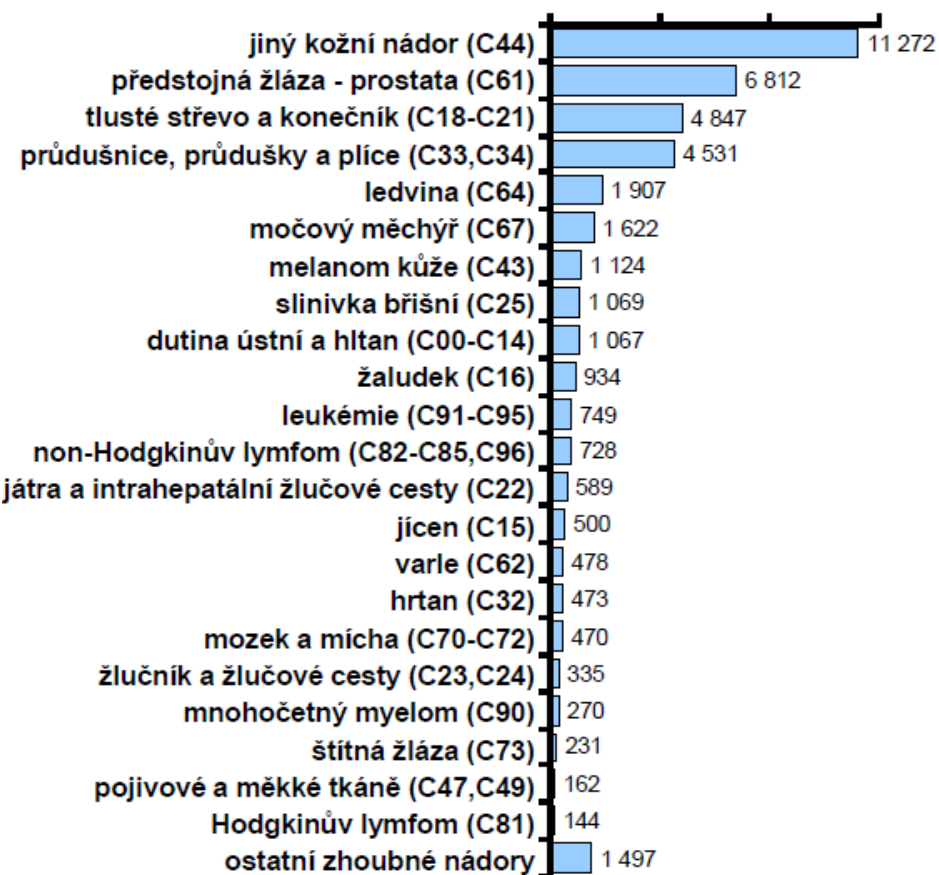
- **AKUTNÍ**
  - rychle probíhající onemocnění
  - vývoj nezralých elementů (blok a ztráta diferenciacce)
  - neléčené onemocnění způsobuje smrt nemocného v týdnech/měsících
- **CHRONICKÁ**
  - probíhající pomalu, postupně
  - vyzrívající buňky se ztrátou apoptózy
  - neléčené onemocnění umožňuje přežití nemocného v řádech měsíců/ let

# ONKOLOGICKÁ ONEMOCNĚNÍ

## Incidence nádorů v ČR (2009-2013)

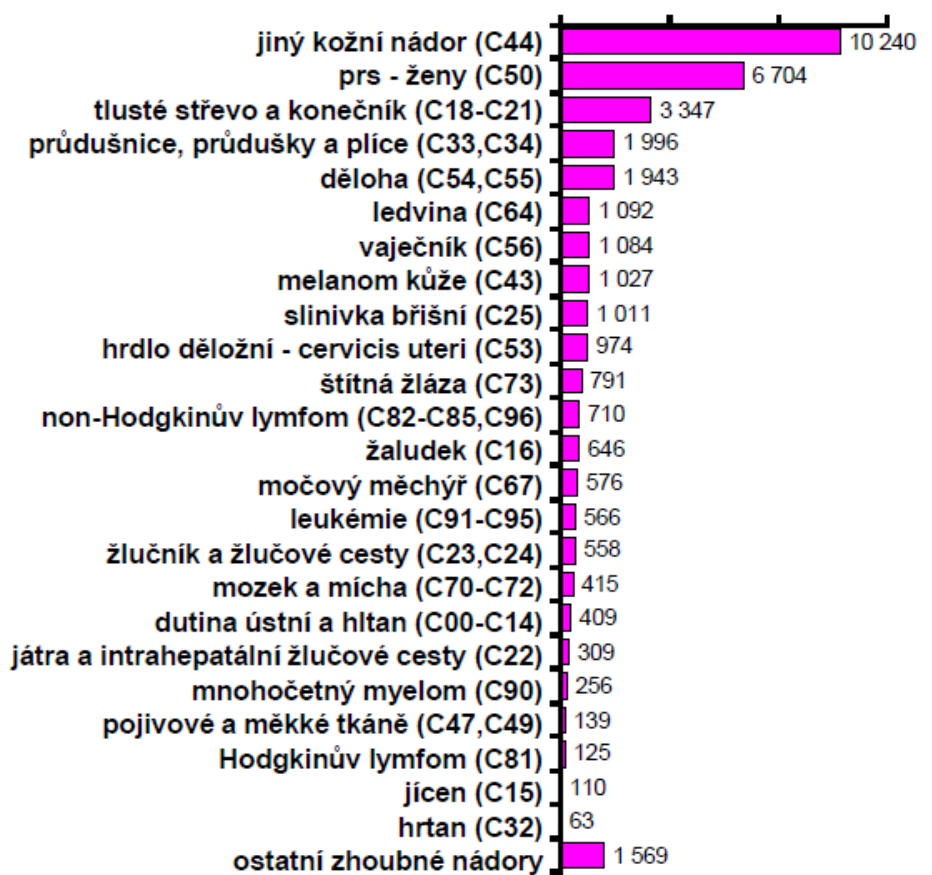
MUŽI

Počet nově hlášených nádorů  
ročně



ŽENY

Počet nově hlášených nádorů  
ročně

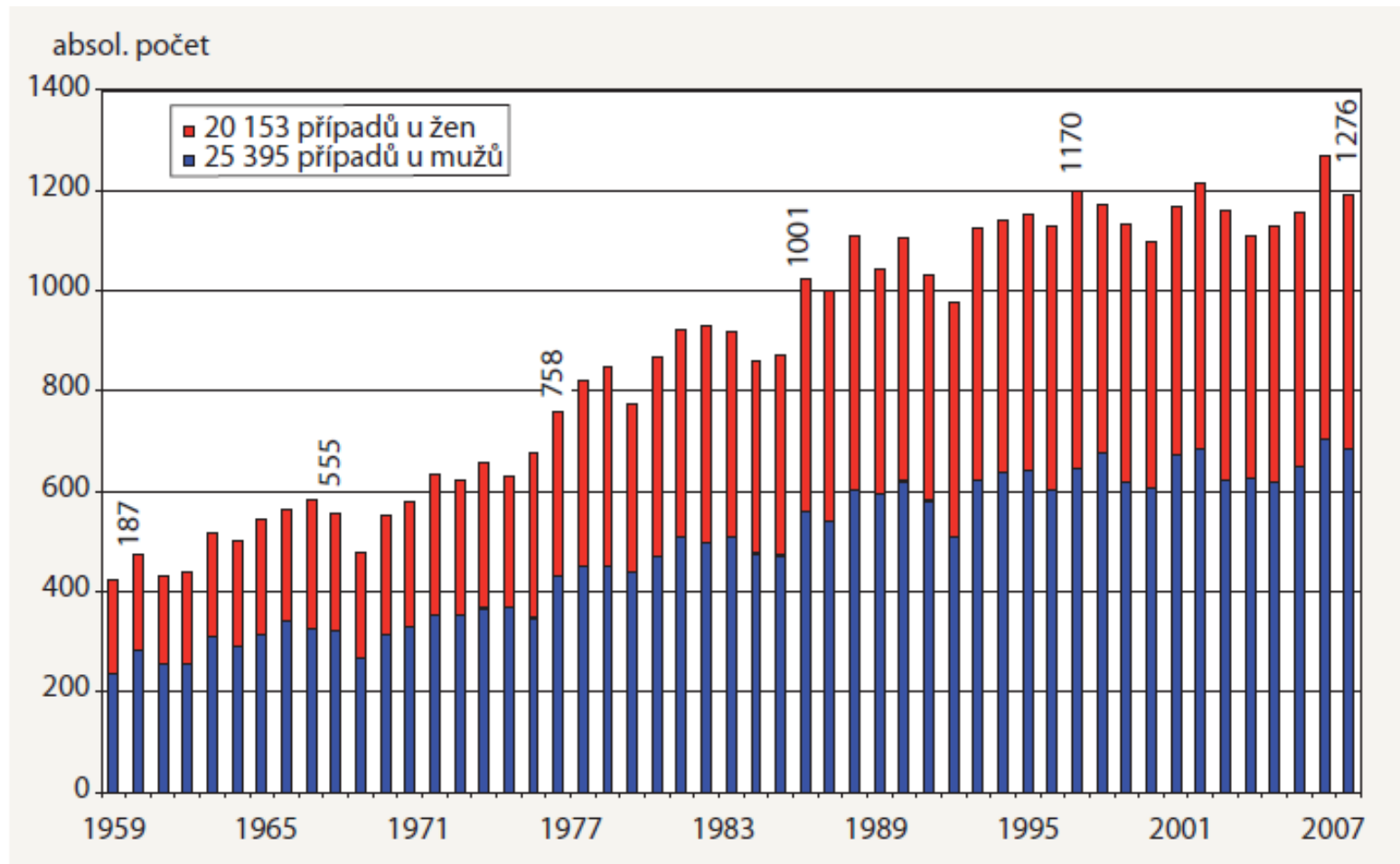


Zdroj: Národní onkologický registr, ÚZIS ČR

# LEUKÉMIE

## Incidence

- 13/ 100 000 obyvatel, tj. 1 300 nových případů leukémií v ČR za rok
- děti (0-18): 5 / 100 000 dětí, tj. 80 nových případů leukémií u dětí v ČR za rok



Zdroj: Geryk E et al, Onkologie, 2013; 7(3).

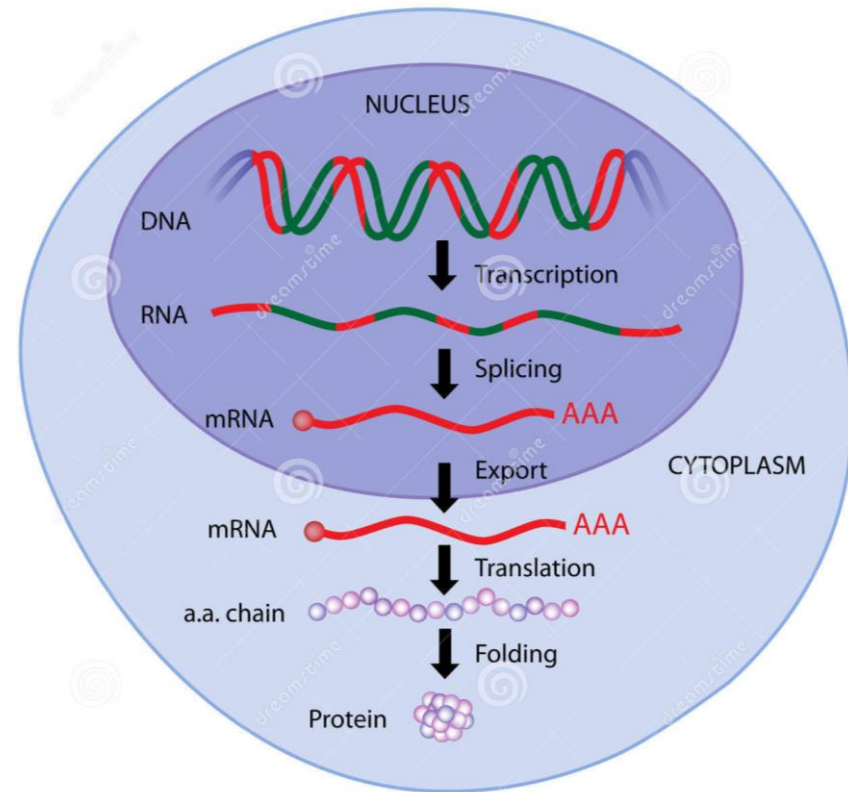
# METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE



# MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

## Charakteristika

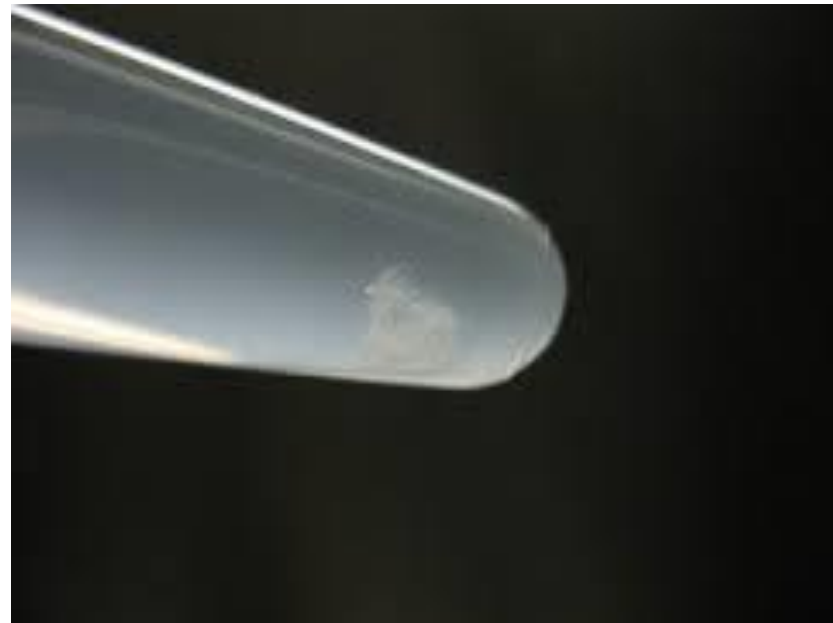
- vědní disciplína zabývající se studiem biologických procesů na molekulární úrovni
- popisuje strukturu biomakromolekul (DNA, RNA, proteinů), jejich funkce a vzájemné interakce
- pojem „molekulární biologie“:
  - 1938 Warren Weaver
  - 1939 William Thomas Astbury
- vědní obor – poč. 60 let 20. stol.
  - 1953 – struktura a vlastnosti DNA  
J. D. Watson, F. H. C. Crick
  - 1958 – ústřední dogma molekulární biologie – F. H. C. Crick



# NUKLEOVÉ KYSELINY (NK)

## Extrakce nukleových kyselin

- první krok molekulárně biologických analýz
- cílem je získat NK v dostatečném množství a kvalitě
- Friedrich Miescher, r. 1865 - z jader leukocytů vyizoloval směs látek bohatých na fosfor - nukleín



Zdroj: [info.gbiosciences.com](http://info.gbiosciences.com)



# EXTRAKCE NUKLEOVÝCH KYSELIN

## Přístupy/ metody

- tradiční přístup – fenol/ chloroformová extrakce  
vysolování (DNA)
  - výhody: vysoká výtěžnost a čistota, levná
  - nevýhody: časová náročnost, práce s nebezpečnými látkami
- nové metody – adsorpce na kolonku se silikátem  
vazba na magnetické partikule
  - výhody: nenáročná, rychlá, bezpečná
  - nevýhody: finanční náročnost



# AUTOMATIZACE EXTRAKCE NK

## Automatické izolátory

- QIAcube (Qiagen) – silikátové kolonky



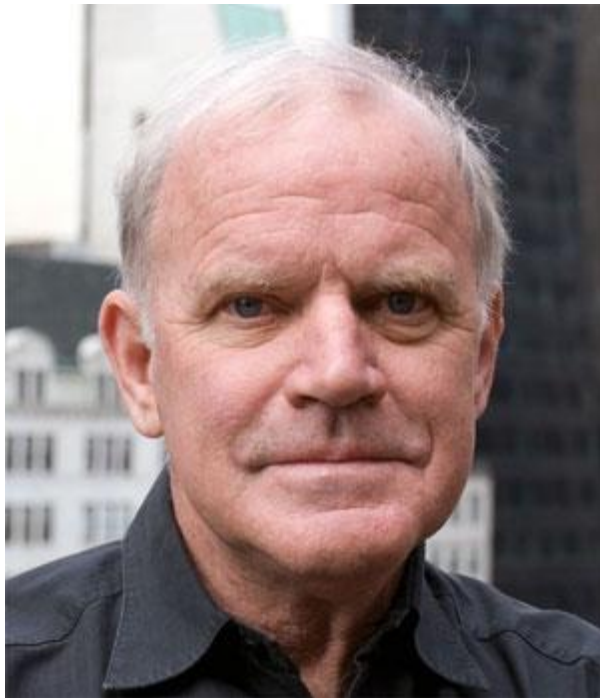
- Maxwell (Promega) – magnetické částice



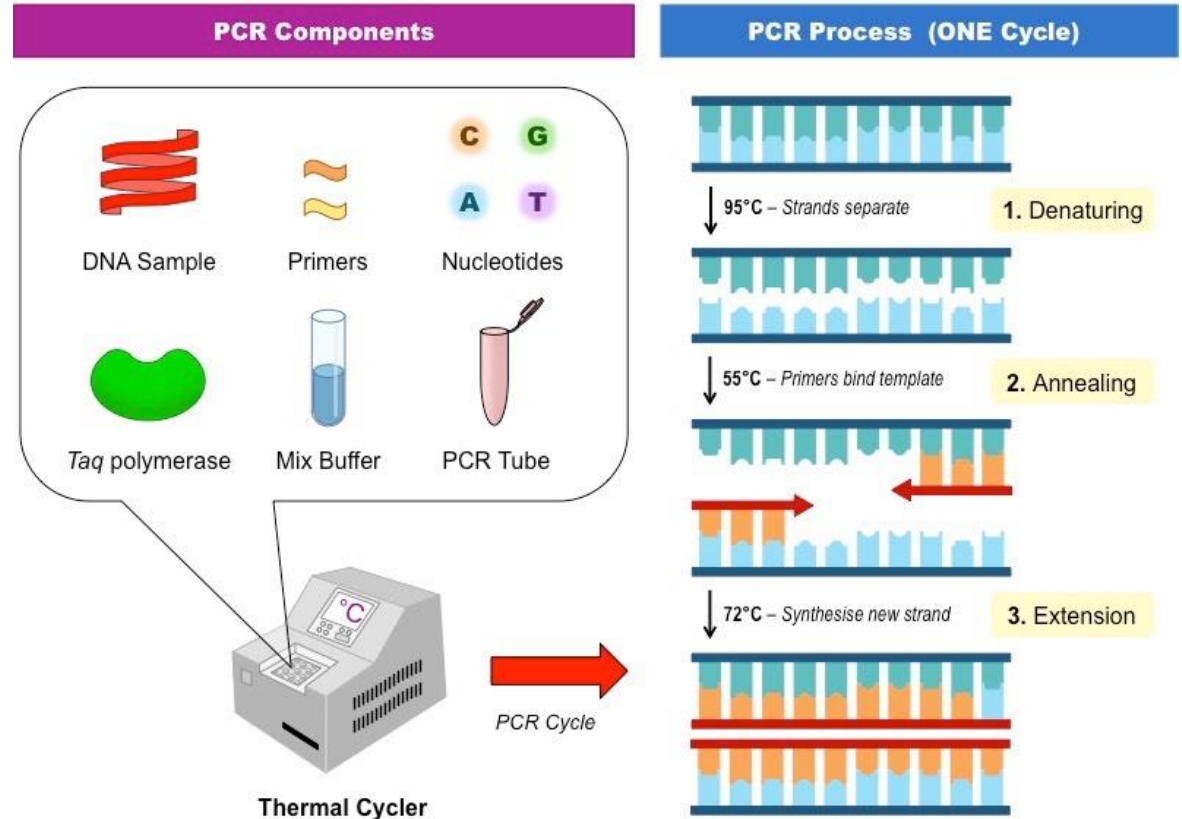
# METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

## Polymerázová řetězová reakce - PCR

- objevitel – Kary Banks Mullis, 1983 (publikace 1985, Science)
- 1993 Nobelova cena za chemii, za objev techniky PCR
- jednoduchá metoda rychlého zmnožení určitého úseku DNA



Kary Mullis (\*1944)



# POLYMERÁZOVÁ ŘETĚZOVÁ REAKCE

## Přístroje

- amplifikace probíhá v termocyklerech



GeneAMP 9600 (Perkin Elmer)



Trio 48 (Biometra)

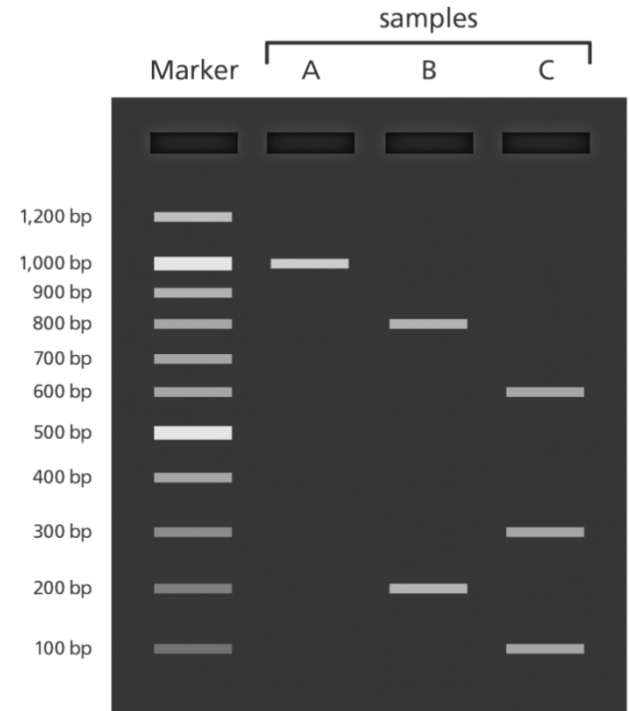


T100 (Bio-Rad)

# POLYMERÁZOVÁ ŘETĚZOVÁ REAKCE

## Vizualizace PCR produktů

- princip: díky fosfátových skupinám je DNA záporně nabitá. V elektrickém poli se pohybuje směrem ke kladně nabitě elektrodě.
- stanovení gelovou elektroforézou:
  - polyakrylamidové gely (vertikální elfo)
  - agarózové gely (horizontální elfo)



- separace na základě velikosti fragmentů: rychlost je nepřímo úměrná jejich velikosti (delší fragmenty lokalizujeme blíže startu elektroforézy)



# METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

## Real-time PCR (kvantitativní PCR)

- průběžný monitoring množství amplifikovaného PCR produktu
- součástí PCR reakce jsou fluorescenční barviva/ sondy
- množstevní přírůstek je měřen jako zvyšující se intenzita fluorescenčního záření



Rotor gene Q (Qiagen)



QuantStudio 3 (Applied Biosystems)

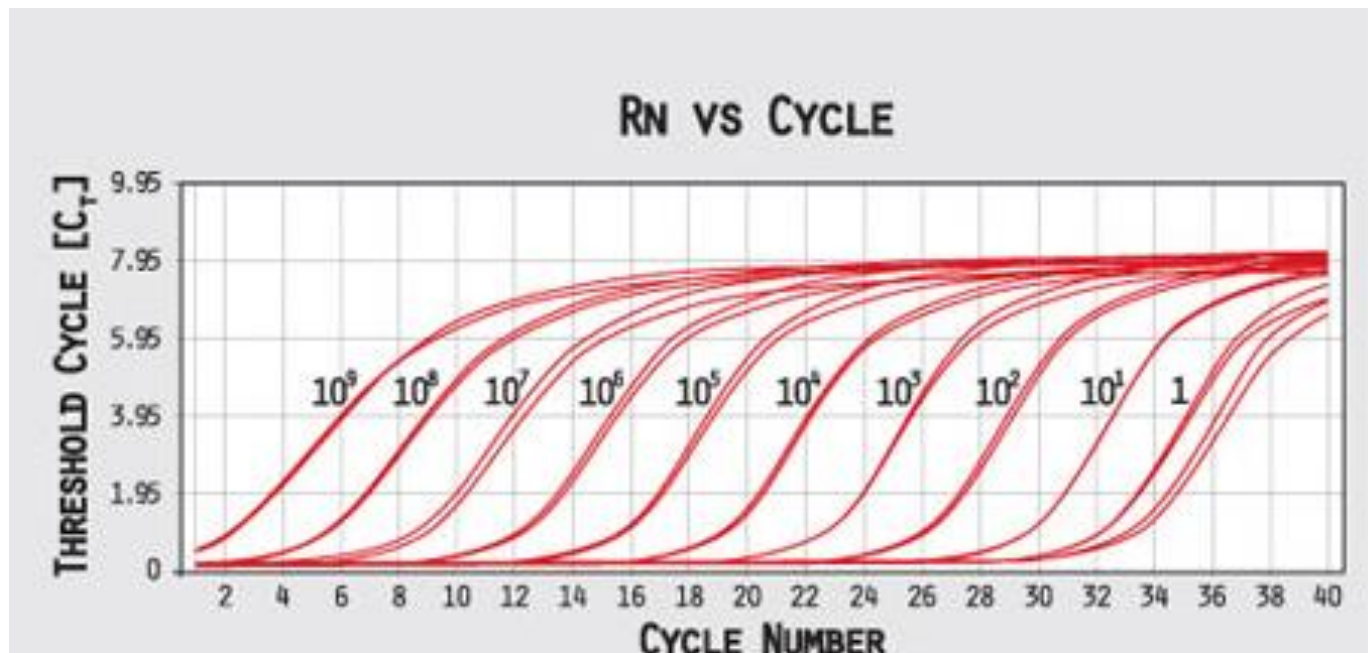


ABI7300 (Applied Biosystems)

# REAL-TIME PCR

## Absolutní kvantifikace

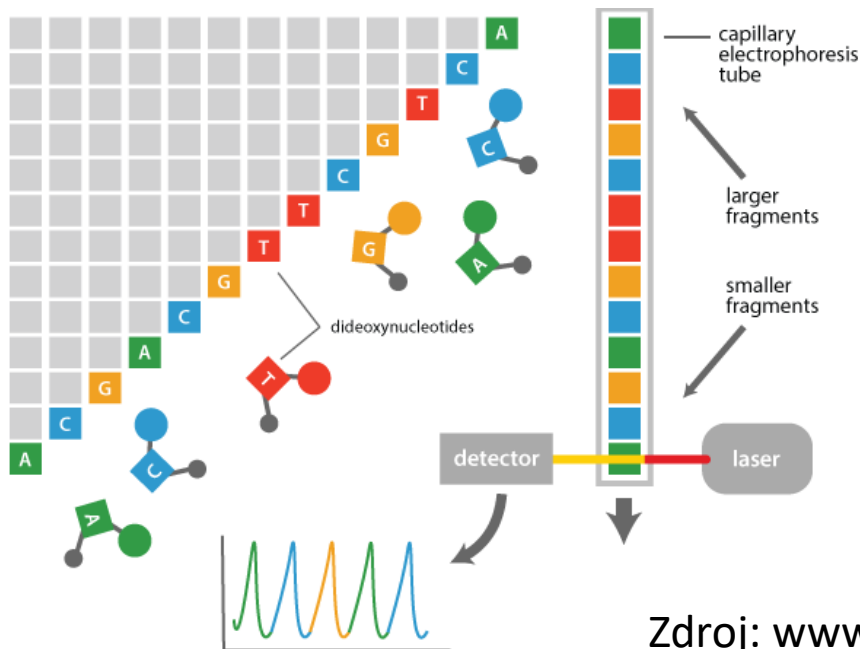
- vzorky o neznámé koncentraci jsou porovnány se standardy o známé koncentraci.
- koncentrace - vyjádřená počtem kopií analyzovaného úseku je intrapólována ze standardní křivky.



# METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

## Sekvenování

- r. 1975 – F. Sanger a A. R. Coulson vyvinuli biochemickou metodu sekvenování NK (dideoxy metoda)
- sekvenování manuální – gely
- r. 1986 – sekvenování automatizované (v kapilárách) – první fluorescenční sekvenátor (AB370A, Applied Biosystems)



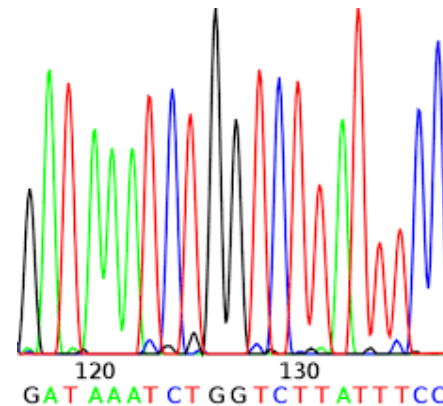
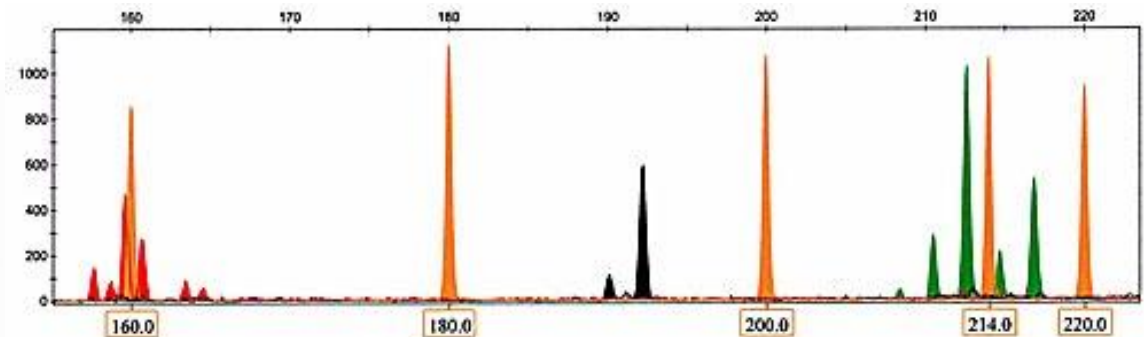
Fred Sanger (\*1918-†2013)



# SEKVENÁTORY PRVNÍ GENERACE

## Možnosti

- sekvenování - čtení pořadí jednotlivých nukleotidů v NK
  - čteny jsou úseky dlouhé max. 600 – 700 nukleotidů
- fragmentační analýza – automatizovaná elektroforetická separace různě dlouhých fluorescenčně značených DNA fragmentů

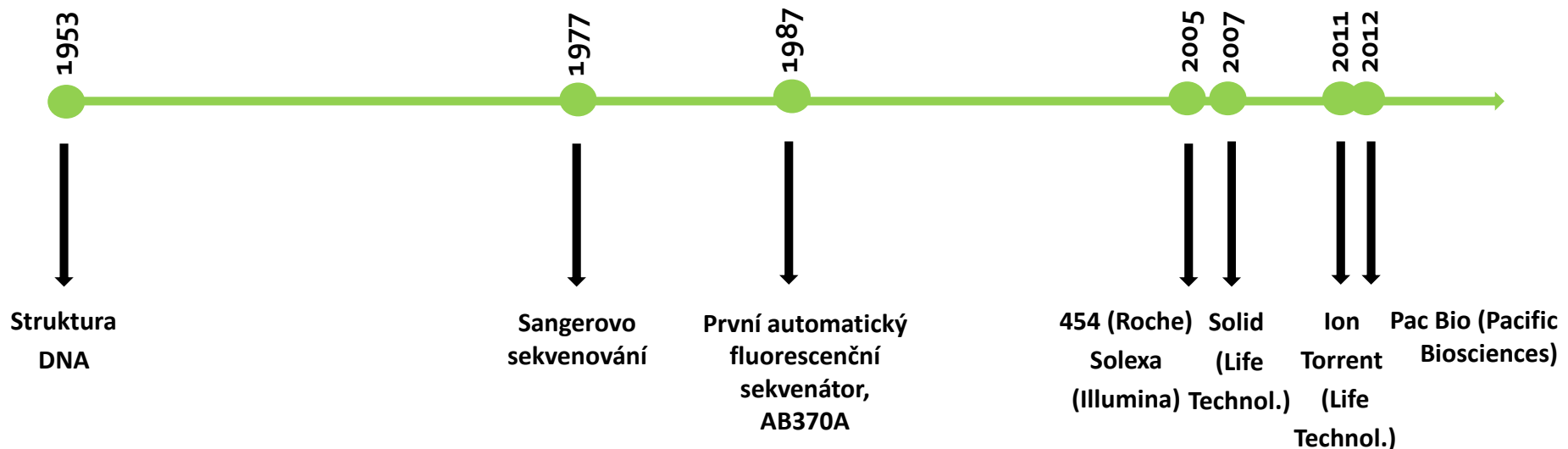


ABI 3130XL (Applied Biosystems) – 16 kapilár

# SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE (NGS)

## Možnosti

- sekvenování několika miliónů nukleotidů současně
- široké spektrum využití:
  - targetované, exomové, celogenomové sekvenování
  - RNAseq
  - sekvenování plazmidů, mitochondrií, jednotlivých chromozomů
  - studium metylace DNA
  - metagenomika (analýza genetické diverzity)



# SEKVENÁTORY NOVÉ GENERACE (NGS)

## Illumina sekvenátory

- 90% všech dnes získaných NGS dat vychází ze strojů f. Illumina

MiniSeq



MAX OUTPUT  
**8 Gb**  
MAX READ NUMBER  
**25 million**  
MAX READ LENGTH  
**2x150 bp**

MiSeq



MAX OUTPUT  
**15 Gb**  
MAX READ NUMBER  
**25 million**  
MAX READ LENGTH  
**2x300 bp**

NextSeq



MAX OUTPUT  
**120 Gb**  
MAX READ NUMBER  
**400 million**  
MAX READ LENGTH  
**2x150 bp**

HiSeq 4000

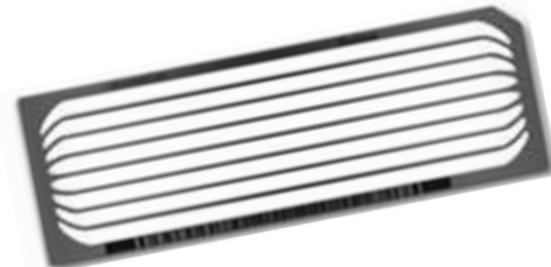


MAX OUTPUT  
**1500 Gb**  
MAX READ NUMBER  
**5 billion**  
MAX READ LENGTH  
**2x150 bp**

HiSeq X Ten



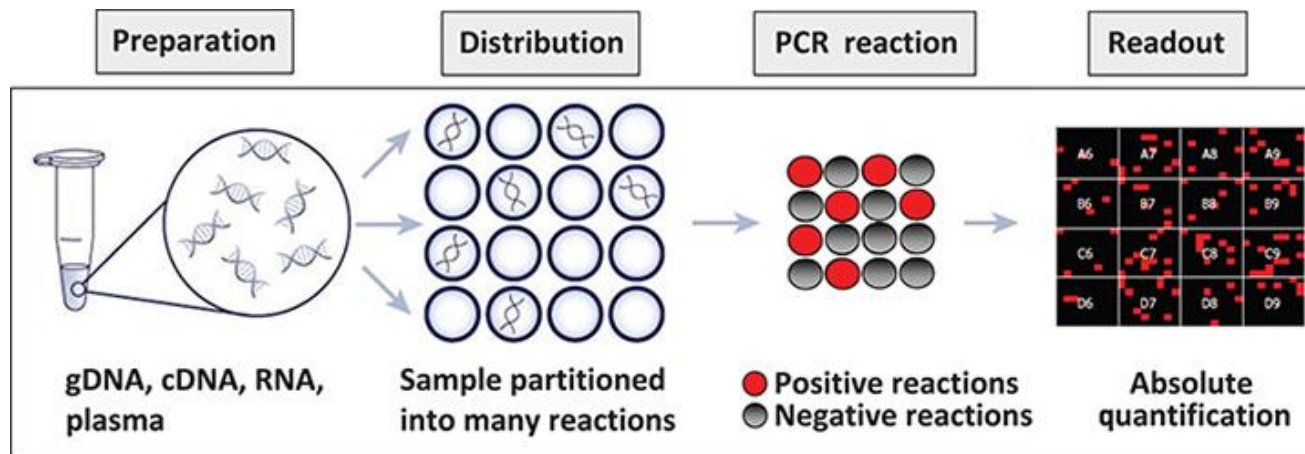
MAX OUTPUT  
**1800 Gb**  
MAX READ NUMBER  
**6 billion**  
MAX READ LENGTH  
**2x150 bp**



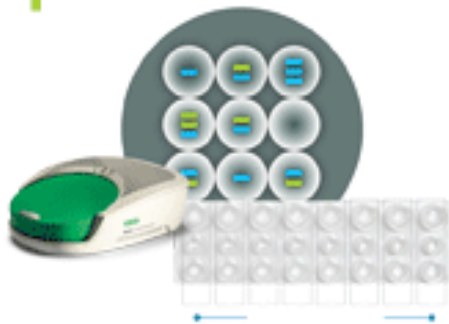
# METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

## Droplet Digital PCR (ddPCR)

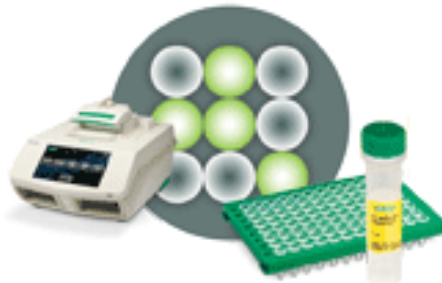
- amplifikace jednotlivých prostorově oddělených molekul NK
- výsledek každé amplifikace se hodnotí zvlášť



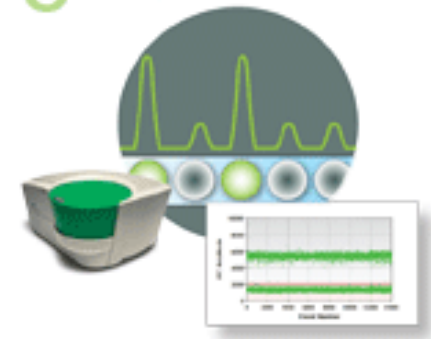
1 Generate droplets



2 Perform PCR with EvaGreen or hydrolysis probes



3 Read and analyze results



QX200 Droplet Digital PCR System (Bio-RAD)

# MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKA LEUKÉMIÍ

## Charakteristika metod

- metody jsou vysoce senzitivní, specifické
- analýzy rychlé (výsledky v řádu hodin)

## Význam

- stratifikace pacientů dle rizika do prognostických skupin
- nastavení vhodné terapie
- sledování minimální zbytkové choroby (úspěšnost léčby)
- predikce návratu (relapsu) onemocnění



# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

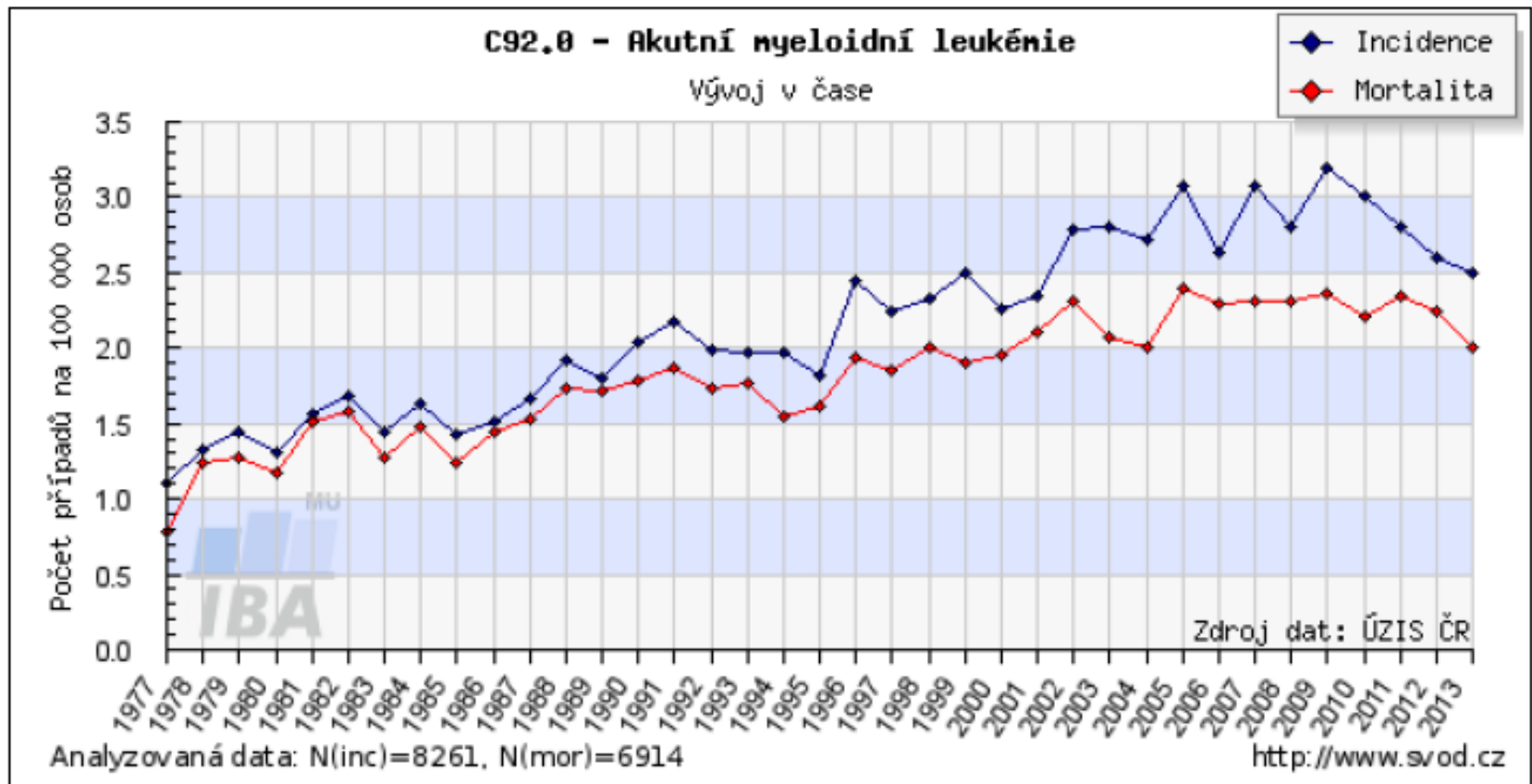
## Charakteristika

- heterogenní skupina maligních klonálních onemocnění
- charakterické proliferací a akumulací nezralých myeloidních prekurzorů v kostní dřeni (následné vyplavování do periferní krve)
- představuje 2-4% všech maligních tumorů
- nepříznivé maligní onemocnění
- prudká manifestace onemocnění (dny/týdny)
- pětileté přežití 20-30%

# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Incidence – vývoj v čase

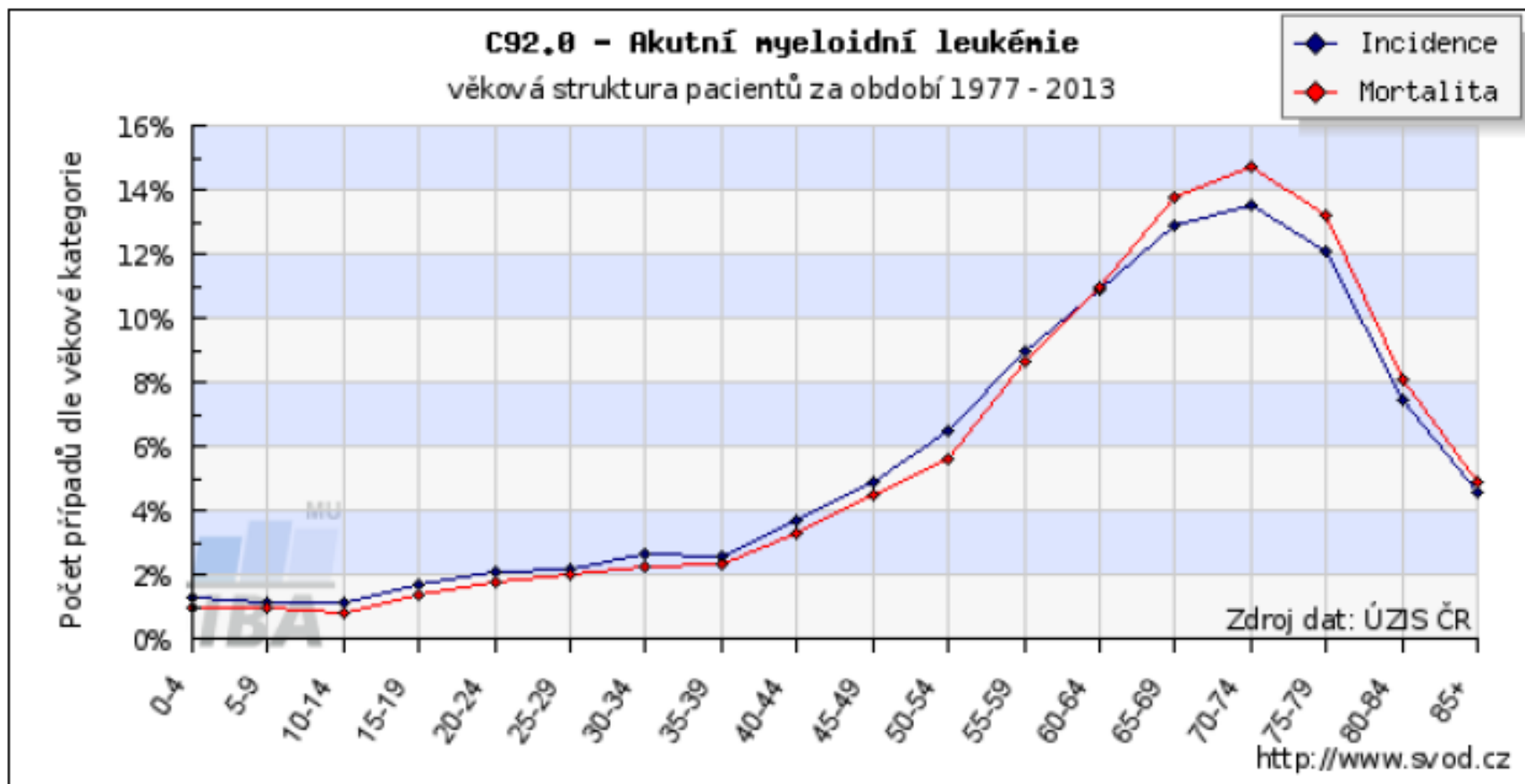
- 3/ 100 tis. obyvatel



# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Incidence – dle věkové struktury

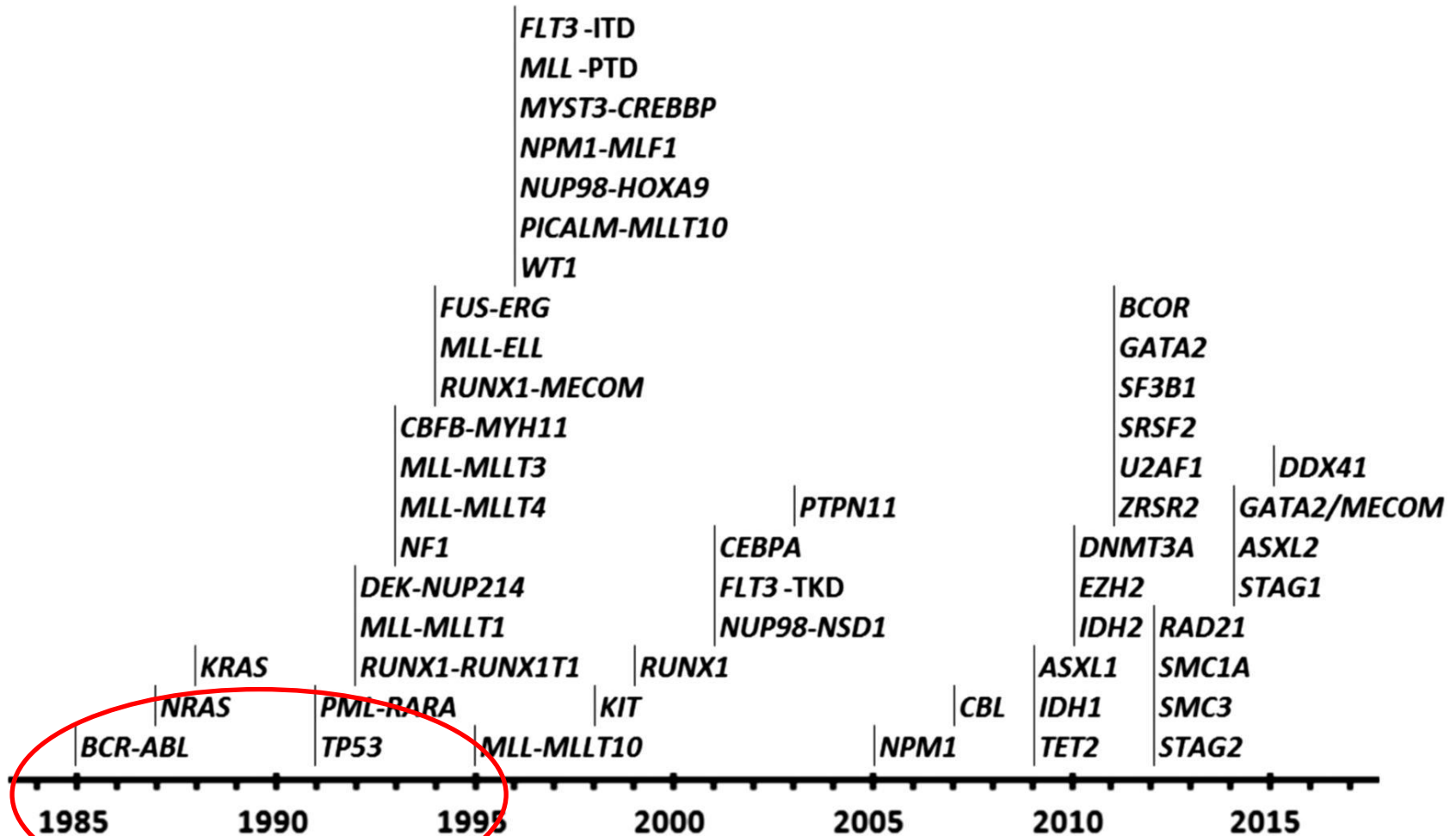
- s věkem stoupá





# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

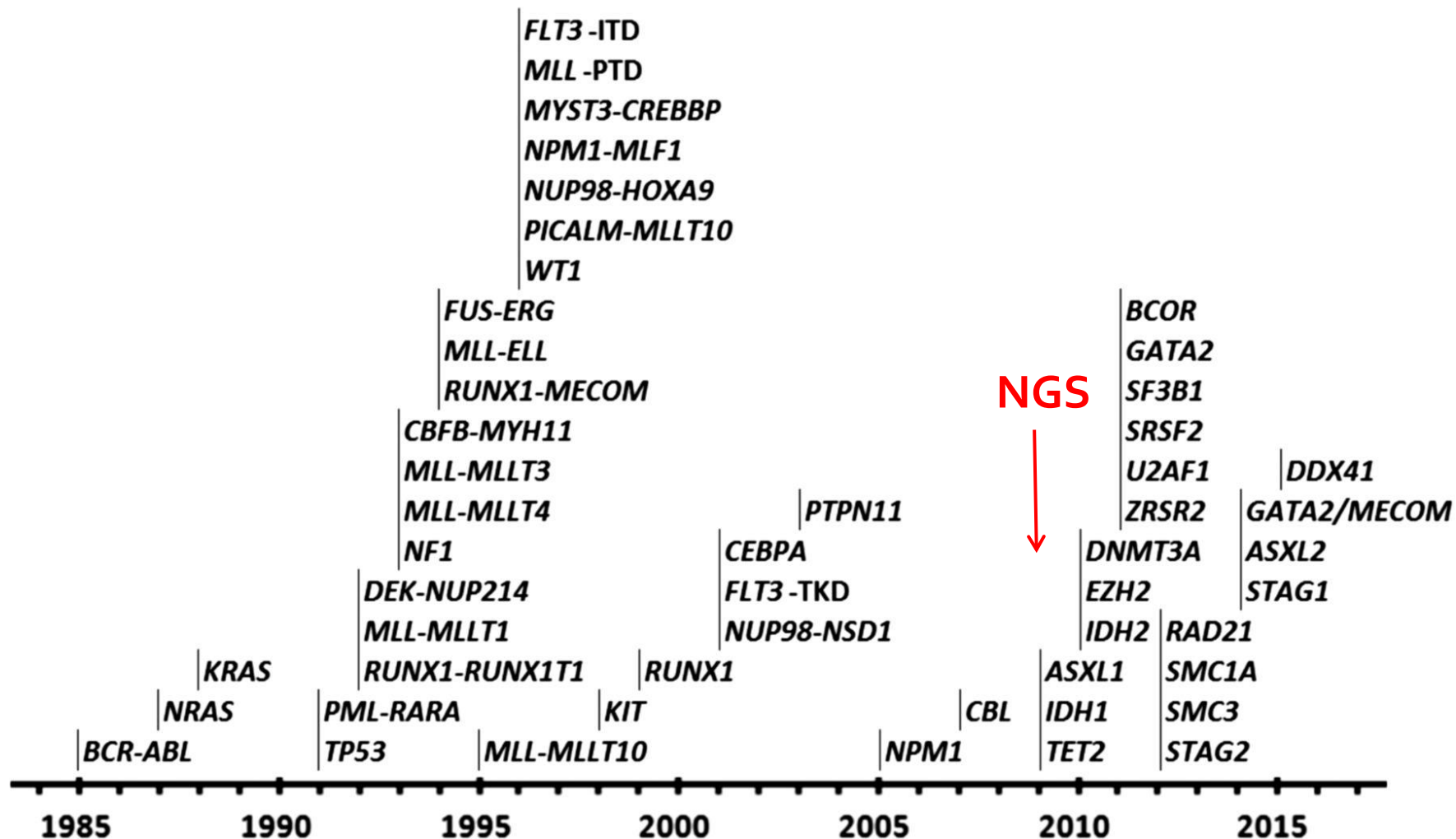
## Somatické aberace – identifikace v čase



Zdroj: Grimwade D., et al. Blood. 2016, 127: 29-41.

# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

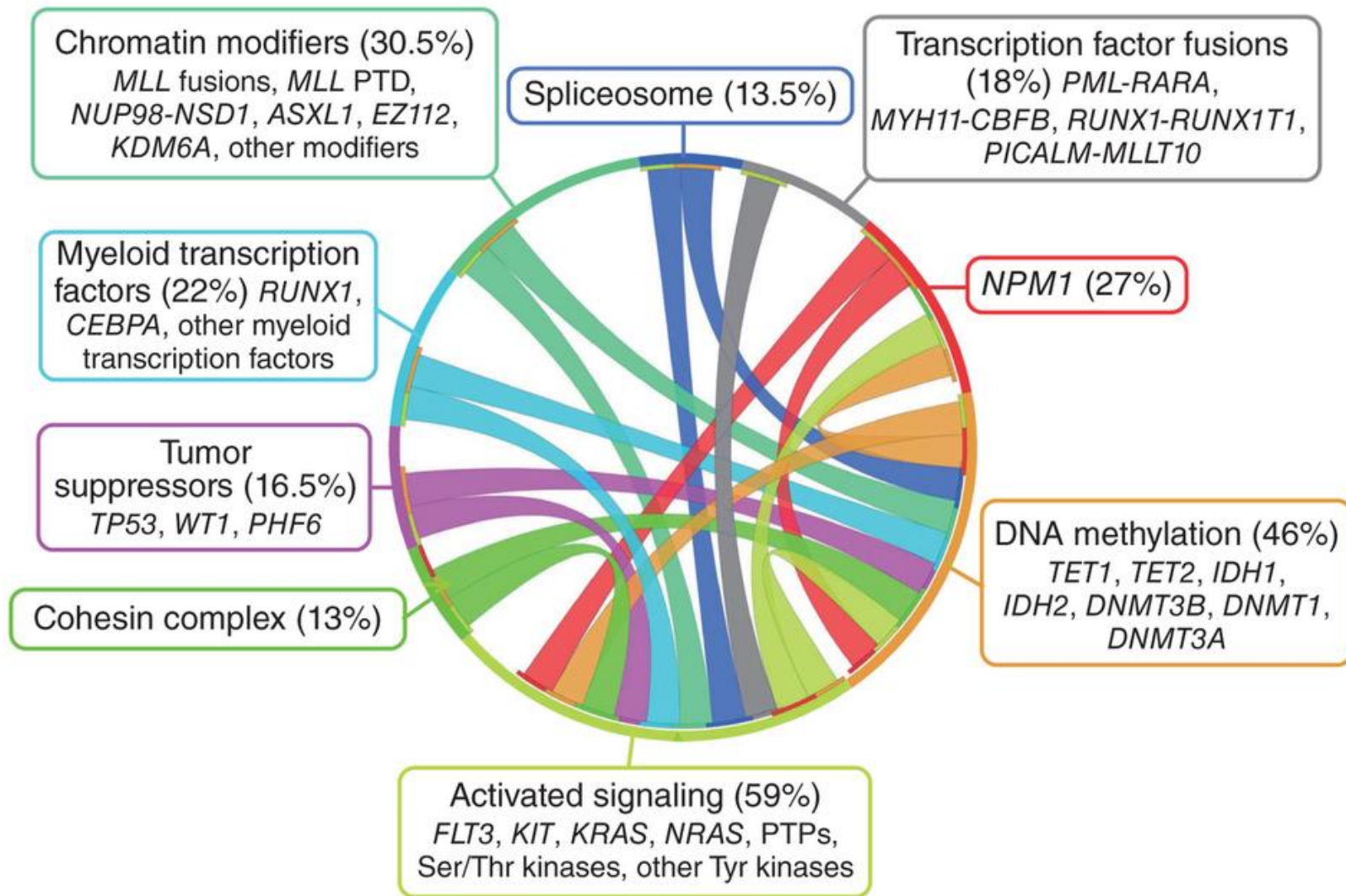
## Mutace – identifikace v čase



Zdroj: Grimwade D., et al. Blood. 2016, 127: 29-41.

# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

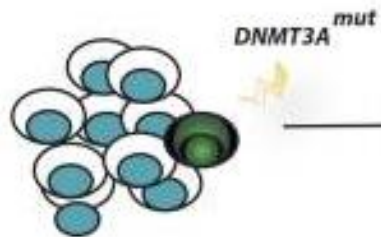
## Třídy mutací



# AML – KLONÁLNÍ VÝVOJ

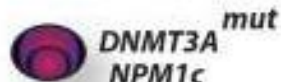
## Vznik AML

PRE-LEUKEMIA



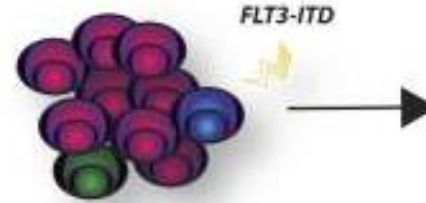
Pre-Leukemic clone

EVOLVING LEUKEMIA



Founding clone

LEUKEMIA AT DIAGNOSIS

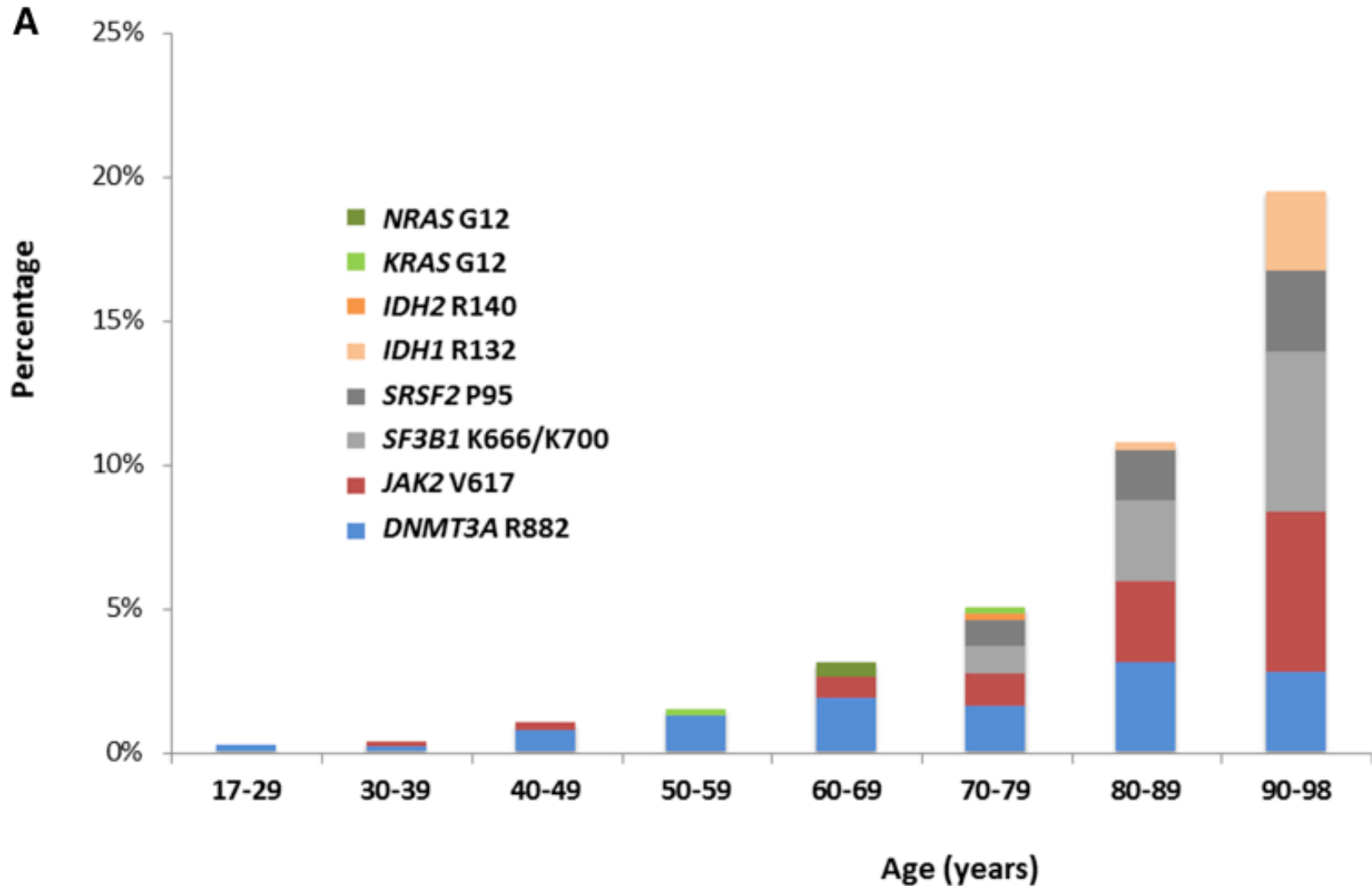


Dominant clone

Zdroj: Grimwade D., et al. Blood. 2016, 127: 29-41.

# MUTACE V PRELEUKEMICKÝCH BUŇKÁCH

McKerrel T, et al. Cell Rep, 2015



# AML - DIAGNOSTIKA

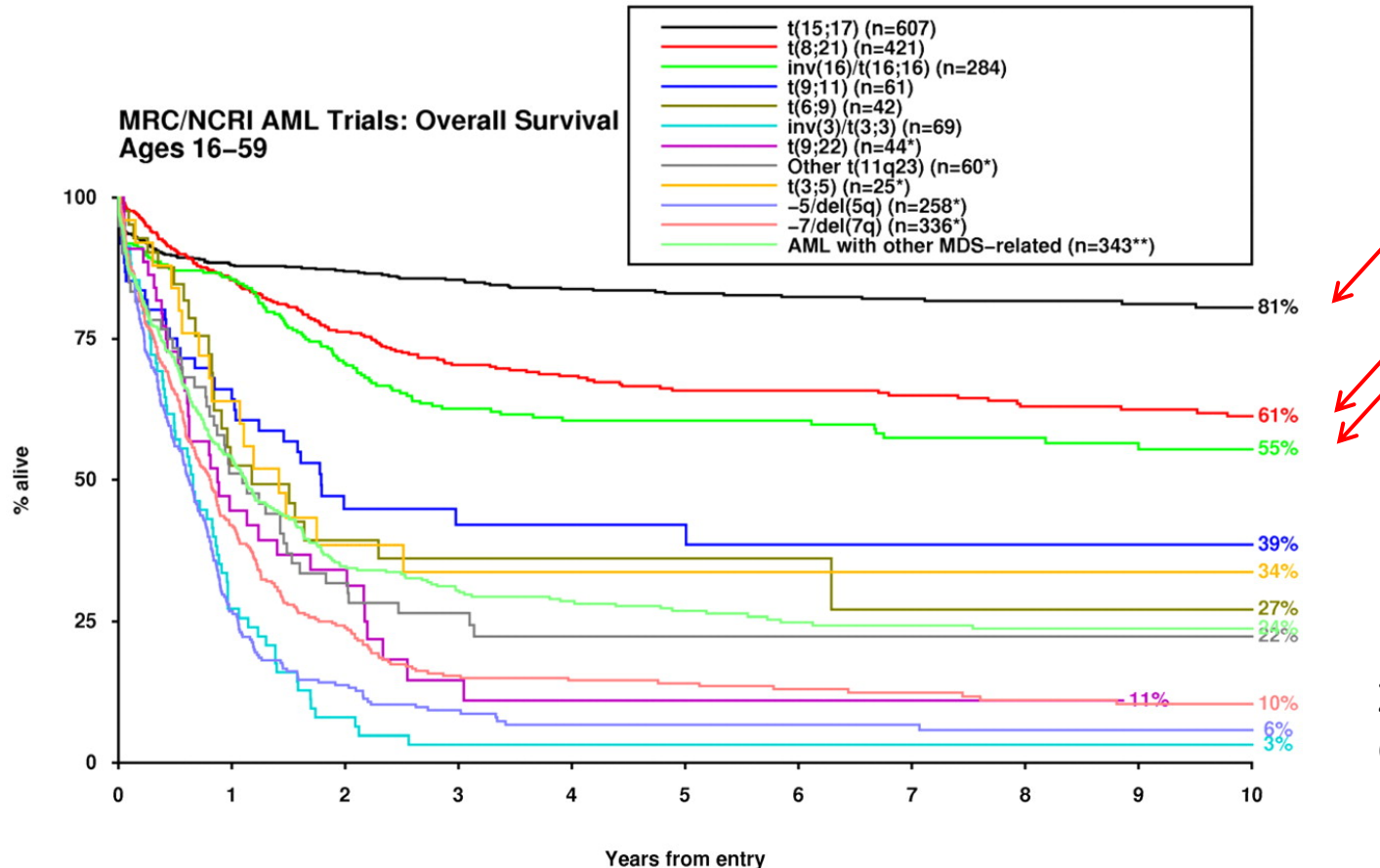
## Prognostická klasifikace pacientů s AML – ELN 2022

Risk Category <sup>b</sup>	Genetic Abnormality
<b>Favorable</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• t(8;21)(q22;q22.1)/<i>RUNX1::RUNX1T1</i><sup>b,c</sup></li> <li>• inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/<i>CBFB::MYH11</i><sup>b,c</sup></li> <li>• Mutated <i>NPM1</i><sup>b,d</sup> without <i>FLT3</i>-ITD</li> <li>• bZIP in-frame mutated <i>CEBPA</i><sup>e</sup></li> </ul>
<b>Intermediate</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mutated <i>NPM1</i><sup>b,d</sup> with <i>FLT3</i>-ITD</li> <li>• Wild-type <i>NPM1</i> with <i>FLT3</i>-ITD</li> <li>• t(9;11)(p21.3;q23.3)/<i>MLLT3::KMT2A</i><sup>b,f</sup></li> <li>• Cytogenetic and/or molecular abnormalities not classified as favorable or adverse</li> </ul>
<b>Adverse</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• t(6;9)(p23;q34.1)/<i>DEK::NUP214</i></li> <li>• t(v;11q23.3)/<i>KMT2A</i>-rearranged<sup>g</sup></li> <li>• t(9;22)(q34.1;q11.2)/<i>BCR::ABL1</i></li> <li>• t(8;16)(p11;p13)/<i>KAT6A::CREBBP</i></li> <li>• inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/<i>GATA2</i>, <i>MECOM(EVI1)</i></li> <li>• t(3q26.2;v)/<i>MECOM(EVI1)</i>-rearranged</li> <li>• -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p)</li> <li>• Complex karyotype,<sup>h</sup> monosomal karyotype<sup>i</sup></li> <li>• Mutated <i>ASXL1</i>, <i>BCOR</i>, <i>EZH2</i>, <i>RUNX1</i>, <i>SF3B1</i>, <i>SRSF2</i>, <i>STAG2</i>, <i>U2AF1</i>, or <i>ZRSR2</i><sup>j</sup></li> <li>• Mutated <i>TP53</i><sup>k</sup></li> </ul>

# KLASIFIKACE PACIENTŮ S AML

## Pacienti s příznivou prognózou

- pacienti s aberacemi:  $t(8;21)$  – *RUNX1/RUNX1T1* (*AML1/ETO*)  
 $inv(16), t(16;16)$  – *CBFB/MYH11*  
bialelická mutace *CEBPA*

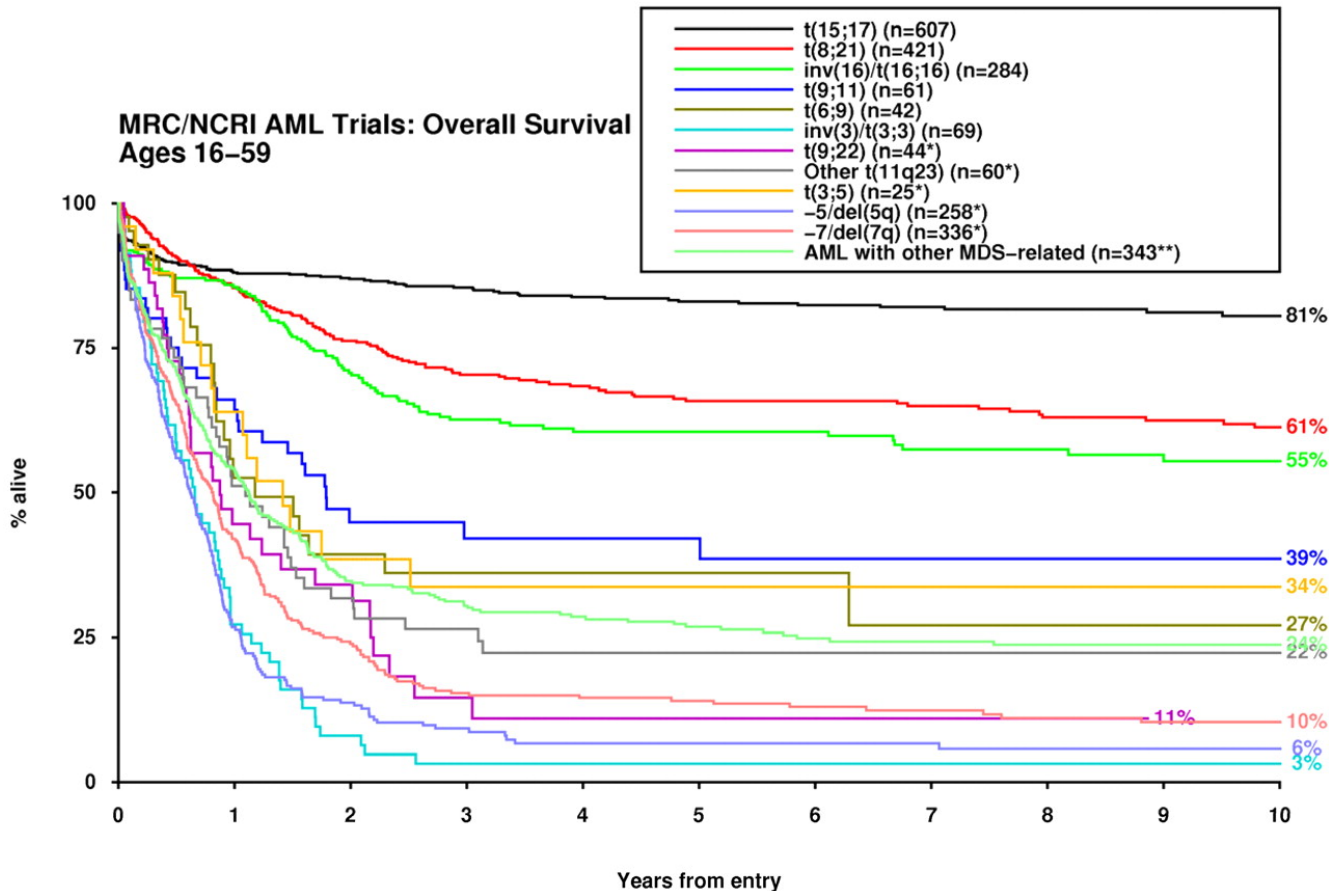




# KLASIFIKACE PACIENTŮ S AML

## Pacienti s nepříznivou prognózou

- pacienti se změnami:  $\text{inv}(3)$ ,  $\text{t}(3;3)$  –  $RPN1/EVI$ ,  $\text{t}(6;9)$  –  $DEK/NUP214$  -5 nebo  $\text{del}(5q)$ ; -7,  $\text{abn}(17p)$   
 $\text{t}(*;11)$  – přestavby  $MLL$  genu, komplexní karyotyp



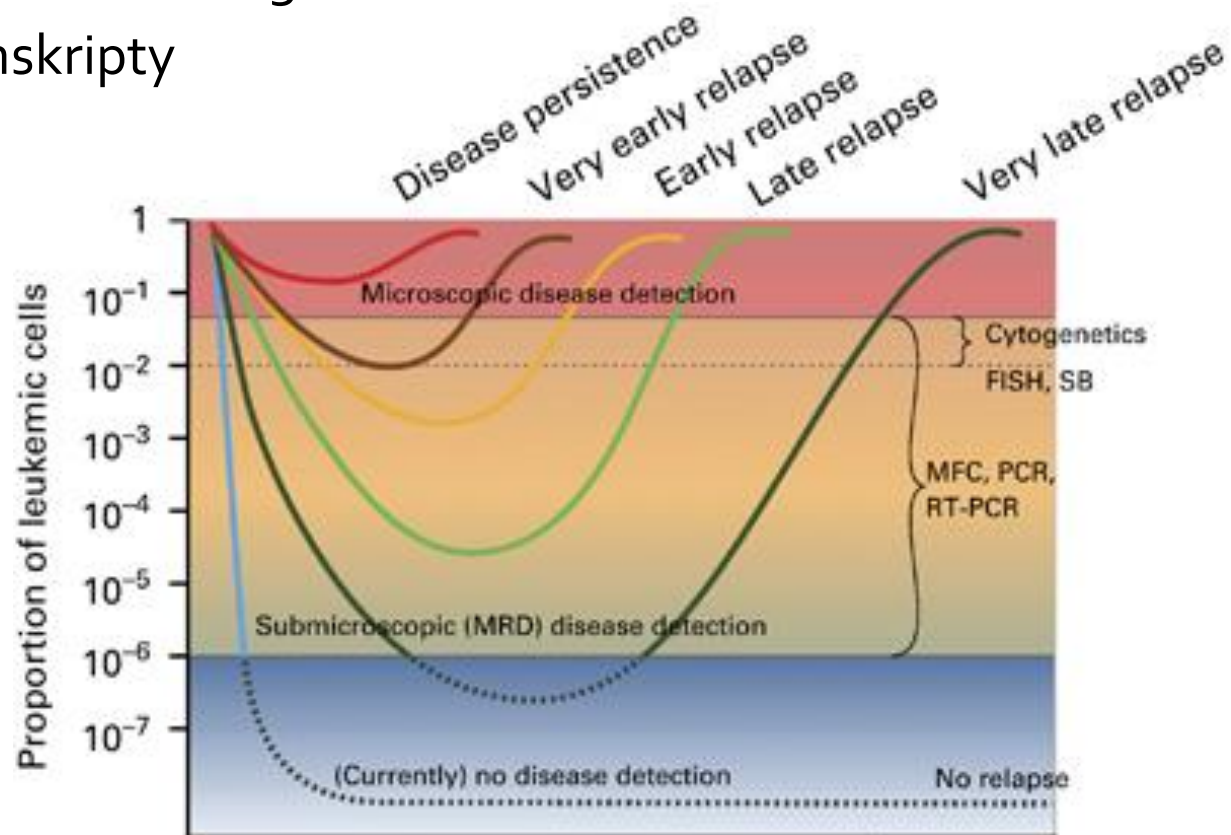
Zdroj:  
Grimwade et al.  
Blood, 2010.



# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Molekulární markery

- Význam: prognostické markery  
stabilní markery → vhodné pro sledování minimální reziduální nemoci (MRN)
  - Somatické mutace v genech
  - Fúzní transkripty

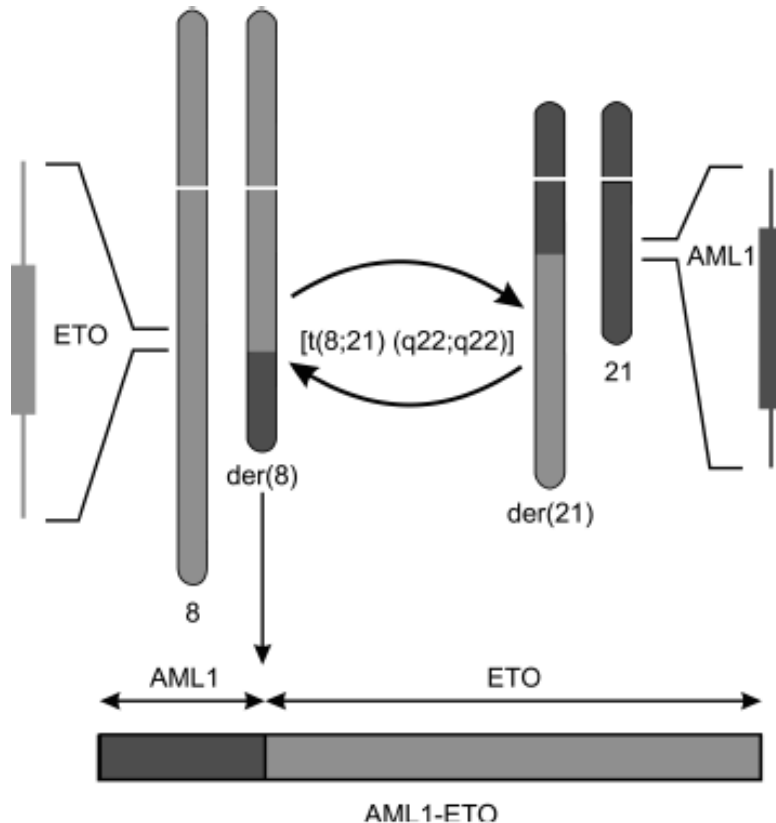


Zdroj:  
Buckley SA, et al. Bone Marrow  
Transpl. 2013.

# MOLEKULÁRNÍ MARKERY

## Fúzní transkripty

- t(8;21) – *RUNX1/RUNX1T1* (*AML1/ETO*) (6% všech AML)
- inv(16) nebo t(16;16) – *CBFB/MYH11* (7% všech AML)
- t(\*;11) – přestavby *MLL* genu

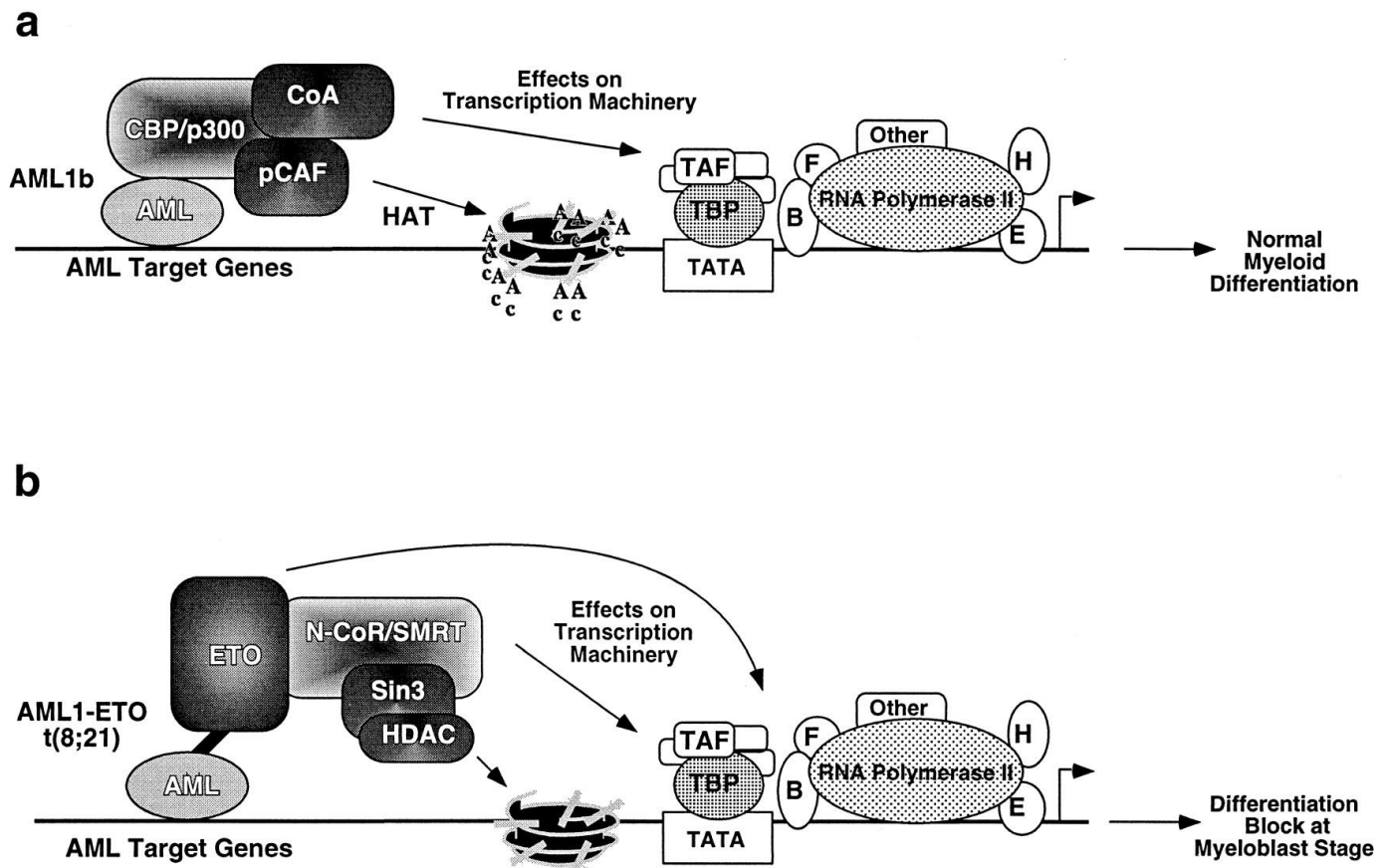


Zdroj:  
[www.protein.bio.msu.ru](http://www.protein.bio.msu.ru)

# FÚZNÍ TRANSKRIPTY

## *RUNX1/RUNX1T1 (AML1/ETO)*

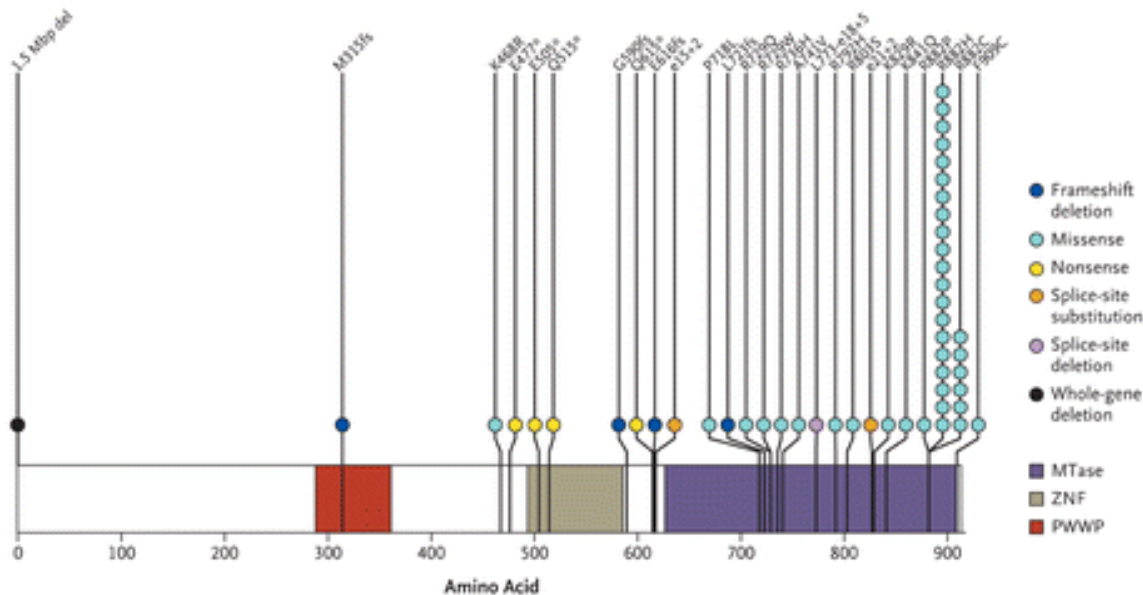
- fúzní protein je kompetitivním inhibitorem normálního transkripčního faktoru AML → blokáda exprese cílových genů → zástava maturace leukocytů



# SOMATICKÉ MUTACE V GENECH

## Geny

- *NPM1* – exon 12 (mutován u cca 30 až 35% všech AML)
- *FLT3* – *FLT3*-ITD - in frame mutace v exonech 14,15 (20-25%)
- *TP53*
- *IDH2* – kodony R140, R172 v exonu 4 (9%)
- *IDH1* – kodon R132 v exonu 4 (6%), ...



Mutace v genu *DNMT3A*

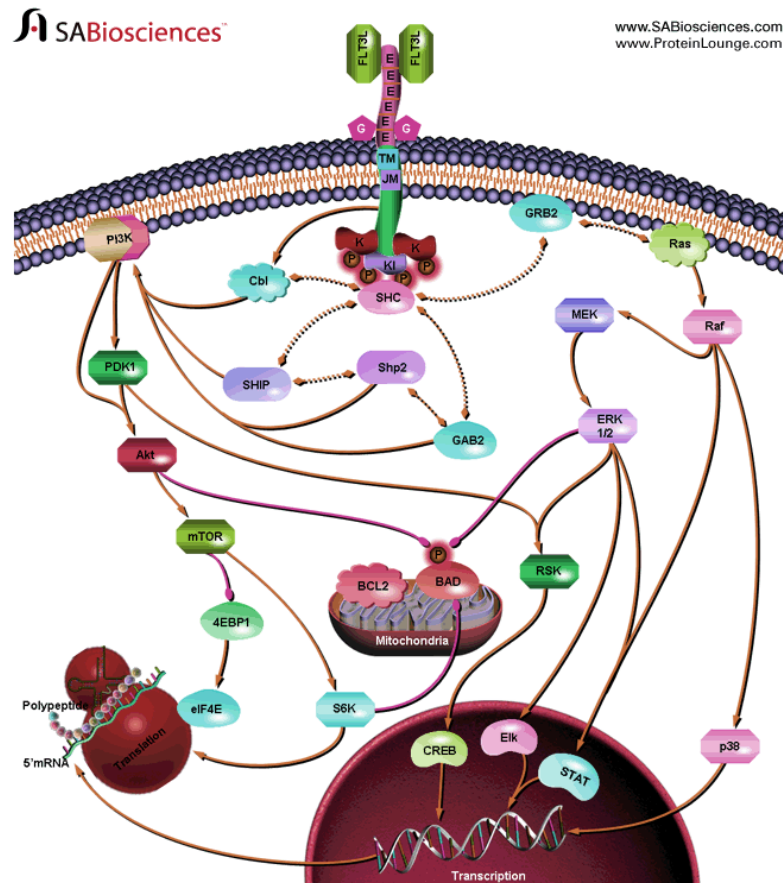
Zdroj:

Ley TJ, et al. NEJM, 2009

# SOMATICKÉ MUTACE V GENECH

## Gen *FLT3*

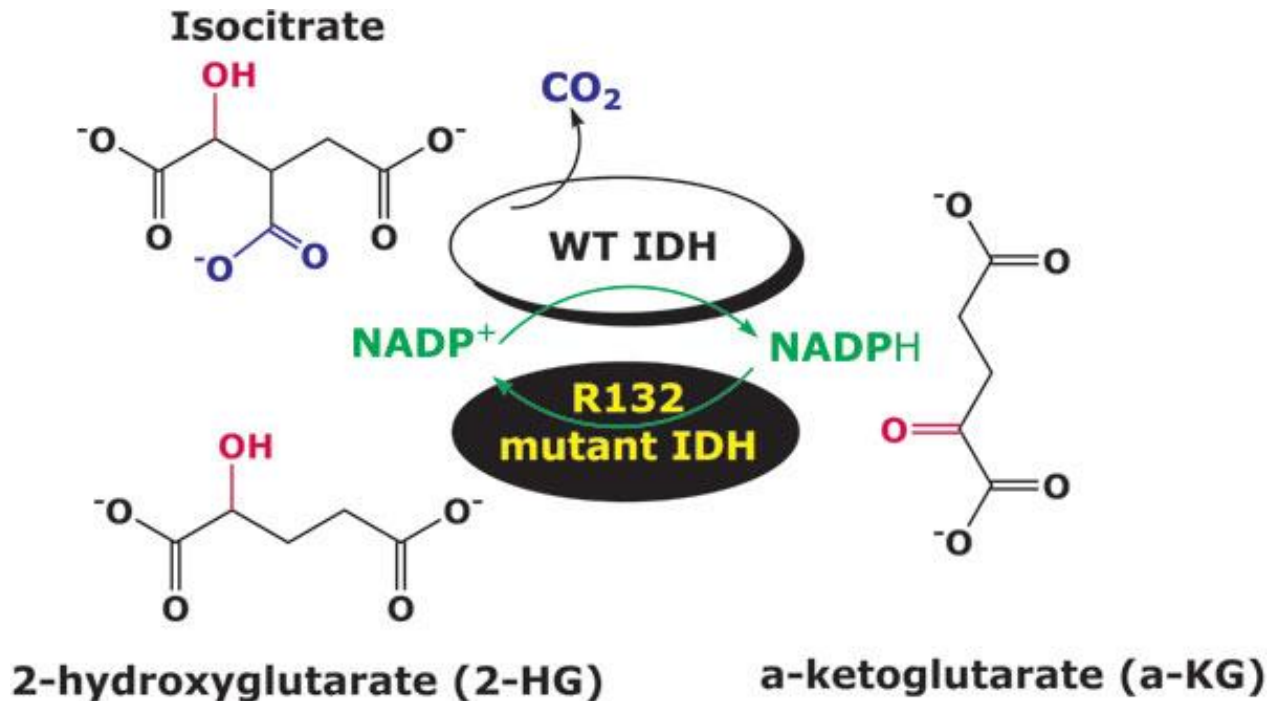
- membránový receptor s tyrosin kinásovou doménou. Aktivační mutace vede k fosforylaci receptoru, aktivaci signálních drah a nekontrolovatelné proliferaci buněk



# SOMATICKÉ MUTACE V GENECH

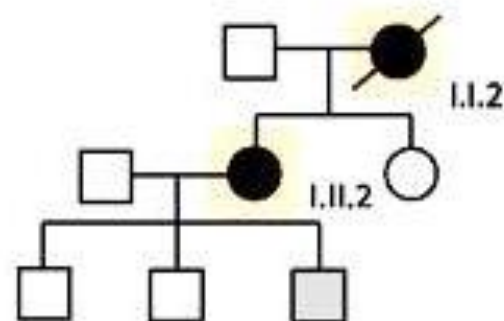
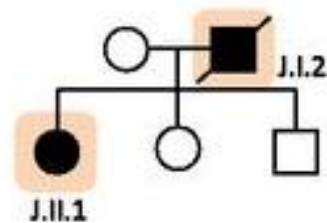
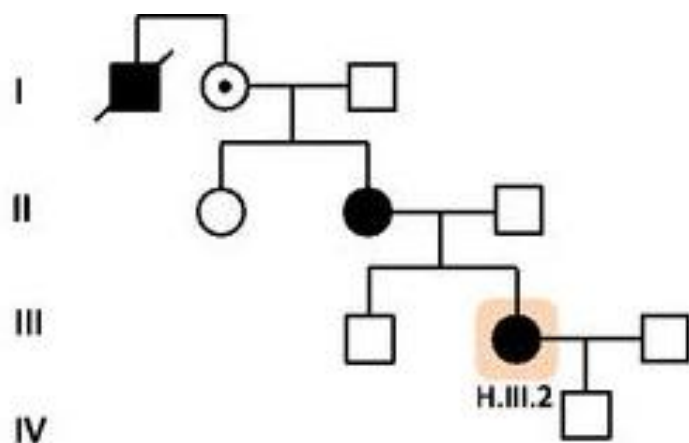
## *IDH1/2*

- isocitrát dehydrogenáza – enzym zodpovědný za dekarboxylaci isocitrátu na alfa-ketoglutarát. Mutovaný gen vede ke katalýze isocitrátu na toxický 2-hydroxyglutarát



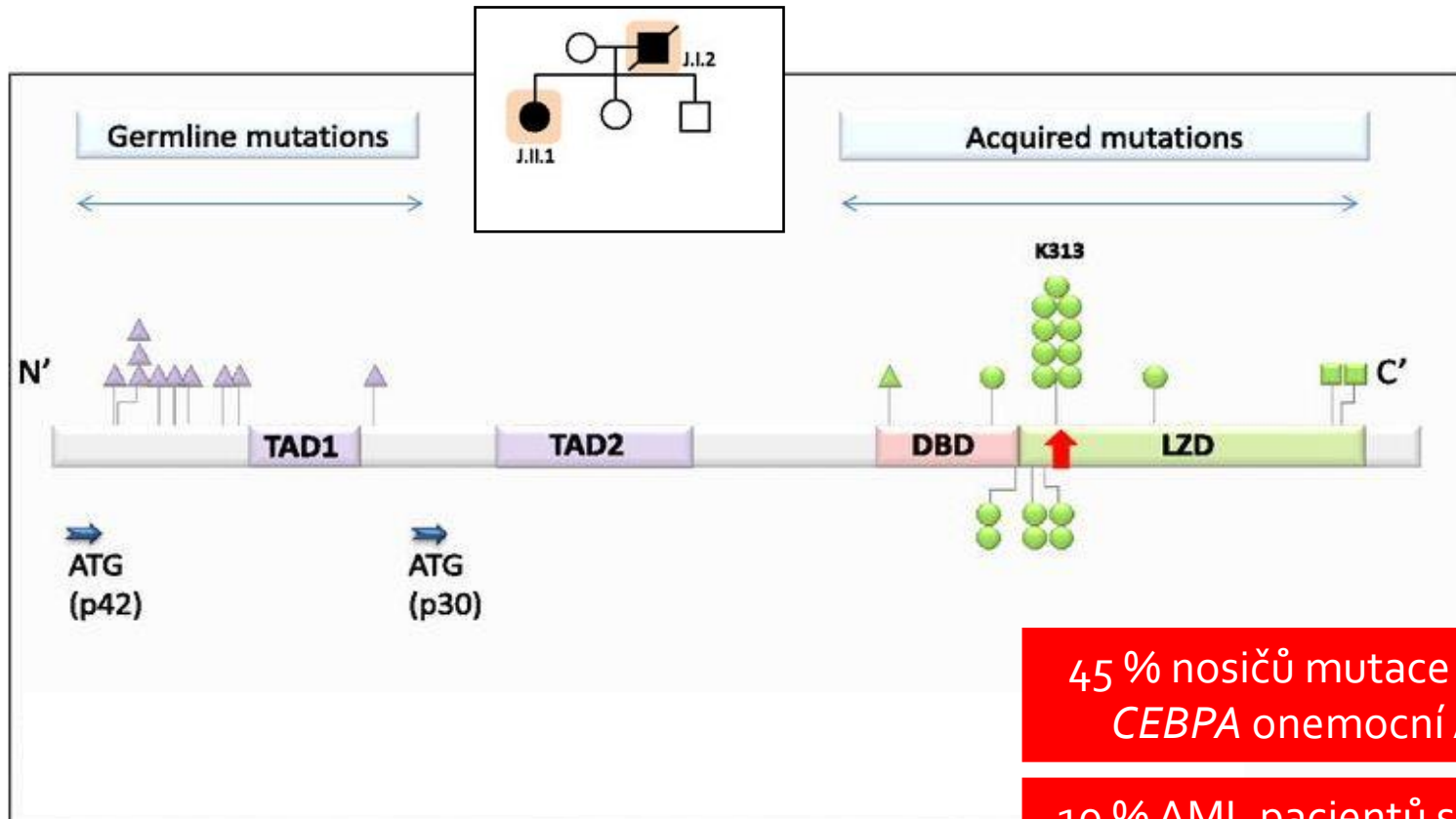
# FAMILIÁRNÍ VÝSKYT AML

## Predispozice k AML



# GERMINÁLNÍ MUTACE

## Gen *CEBPA*



45 % nosičů mutace v genu *CEBPA* onemocní AML

10 % AML pacientů s mutací v genu *CEBPA* nese mutaci germinálního původu



# GERMINÁLNÍ MUTACE

## WHO klasifikace – aktualizace 2016

- 1 – 2 % všech případů AML je familiárního původu

WHO classification of myeloid neoplasms with germ line predisposition and guide for molecular genetic diagnostics

---

### WHO classification

---

#### Classification\*

Myeloid neoplasms with germ line predisposition without a preexisting disorder or organ dysfunction

AML with germ line *CEBPA* mutation

Myeloid neoplasms with germ line *DDX41* mutation<sup>†</sup>

Myeloid neoplasms with germ line predisposition and preexisting platelet disorders

Myeloid neoplasms with germ line *RUNX1* mutation<sup>†</sup>

Myeloid neoplasms with germ line *ANKRD26* mutation<sup>†</sup>

Myeloid neoplasms with germ line *ETV6* mutation<sup>†</sup>

Myeloid neoplasms with germ line predisposition and other organ dysfunction

Myeloid neoplasms with germ line *GATA2* mutation

Myeloid neoplasms associated with bone marrow failure syndromes

Juvenile myelomonocytic leukemia associated with neurofibromatosis, Noonan syndrome, or Noonan syndrome-like disorders

Myeloid neoplasms associated with Noonan syndrome

Myeloid neoplasms associated with Down syndrome<sup>†</sup>

Zdroj: Döhner et al. Blood. 2017.

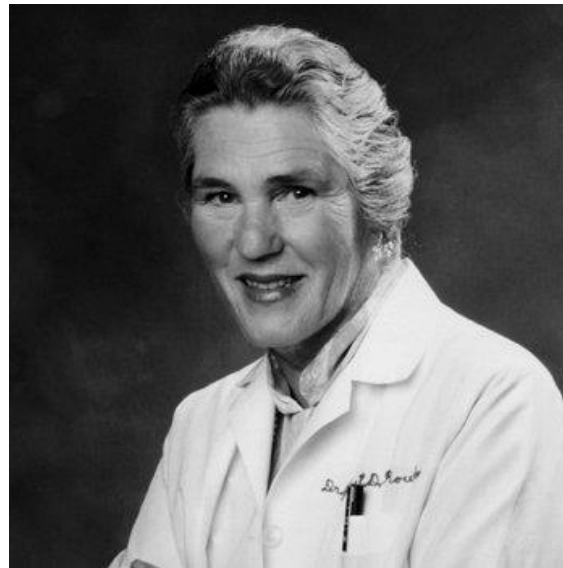
# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Historie

- r. 1960 Nowell a Hungerford detekovali malý chromozóm v kostní dřeni pacientů s CML
- podle místa objevu označen jako Filadelfský (Ph) chromozóm
- r. 1973 Rowleyová - podstatou pH chromozomu je translokace mezi chromozomy 9 a 22:  $t(9;22)(q34;q11)$
- poč. 80 let – identifikace fúzního genu *BCR/ABL1*
- 2001 zavedení imatinibu (glivec)



P. C. Nowell a D.A. Hungerford

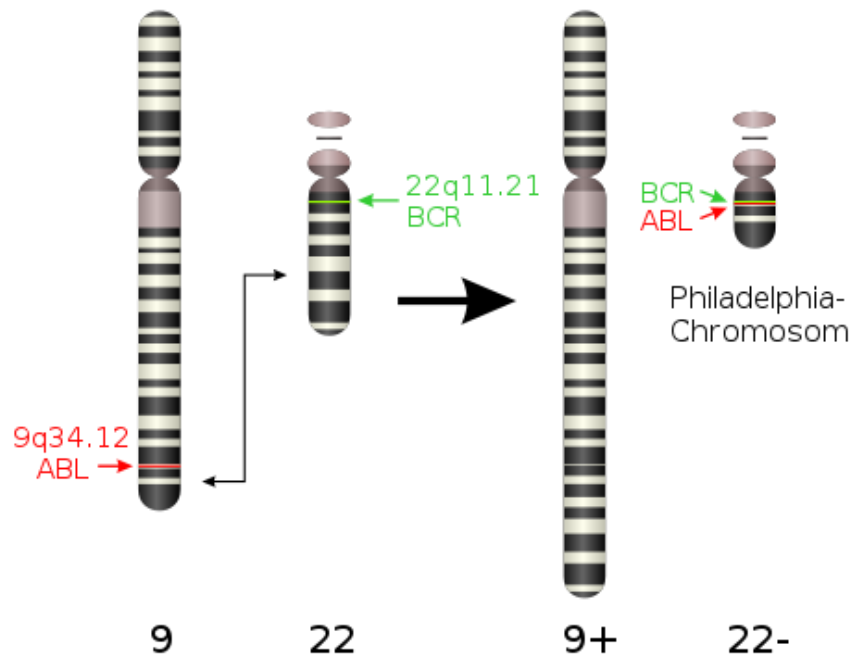


J. D. Rowleyová

# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Charakteristika

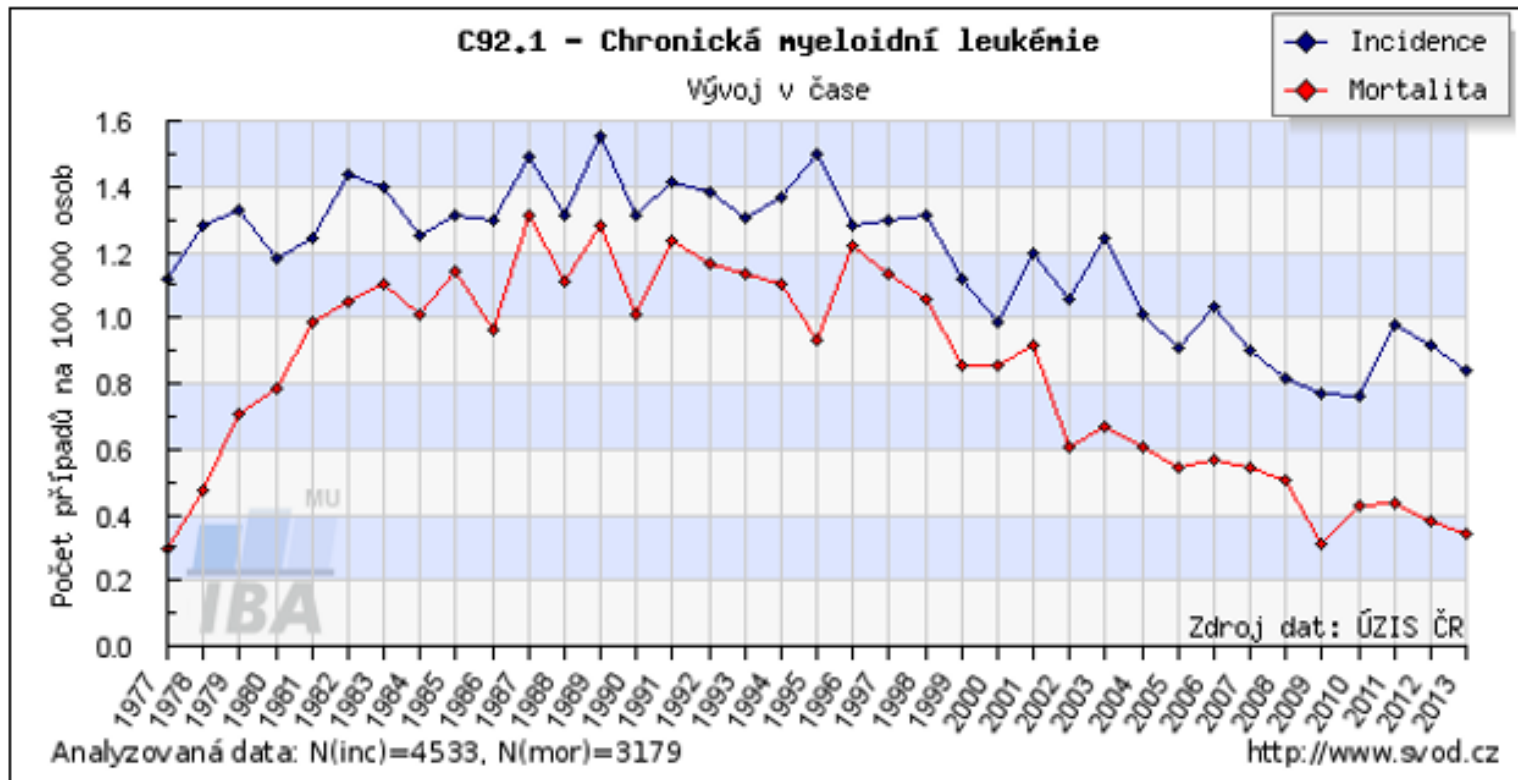
- klonální myeloproliferativní onemocnění; nádorové buňky nesou Filadelfský chromosom (Ph), tj. reciprokou translokaci t(9;22), důsledkem translokace je vznik fúzního genu *BCR/ABL1*
- fúzní gen kóduje trvale aktivní proteinkinásu *BCR/ABL1*



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Incidence – vývoj v čase

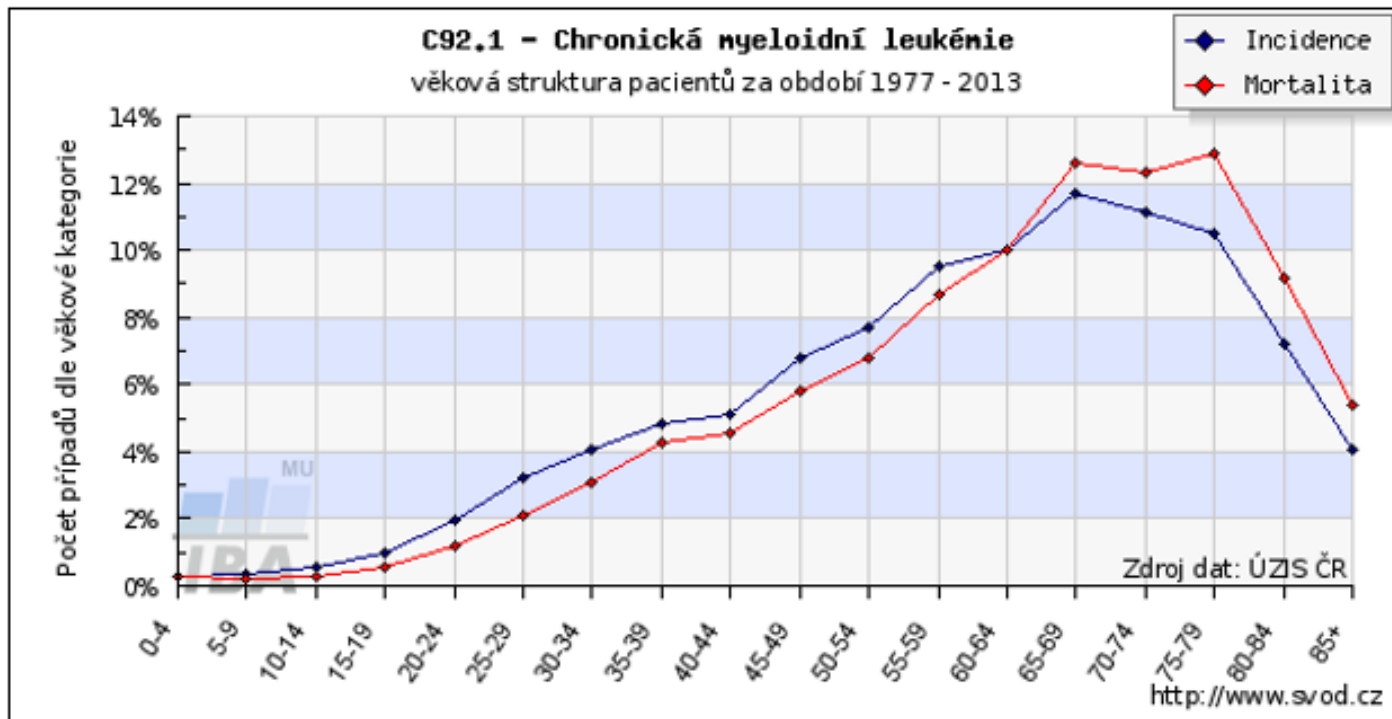
- 1,1-1,5/ 100 tis. obyvatel



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Incidence – dle věkové struktury

- 75% nemocných je starších 50 let
- mírná predispozice u mužů (1,4:1)



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Fáze onemocnění

- tři klinická stádia onemocnění
- až 95% nemocných je zachyceno v chronické fázi

	Kritéria	Medián trvání
Chronická fáze	<ul style="list-style-type: none"><li>■ <math>\leq 10\%</math> blastů v PK nebo KD</li></ul>	4–6 let
Akcelerovaná	<ul style="list-style-type: none"><li>■ <math>\geq 10\%</math> blastů v PK nebo KD</li><li>■ bazofily/eozinofily <math>\geq 20\%</math></li><li>■ trombocytóza <math>\geq 1000 \times 10^9/l</math></li><li>■ trombocytopenie bez léčby <math>\leq 100 \times 10^9/l</math></li><li>■ nové chromosomální aberace</li><li>■ progredující leukocytóza</li><li>■ progredující splenomegalie</li></ul>	měsíce
Blastický zvrát	<ul style="list-style-type: none"><li>■ <math>\geq 20\%</math> blastů v PK nebo KD</li><li>■ cytologicky a histologicky potvrzená extramedulární infiltrace</li><li>■ velké shluky blastů v trepanobiopsii</li></ul>	2–9 měsíců

Vysvětlivky: KD – kostní dřeň, PK – periferní krev

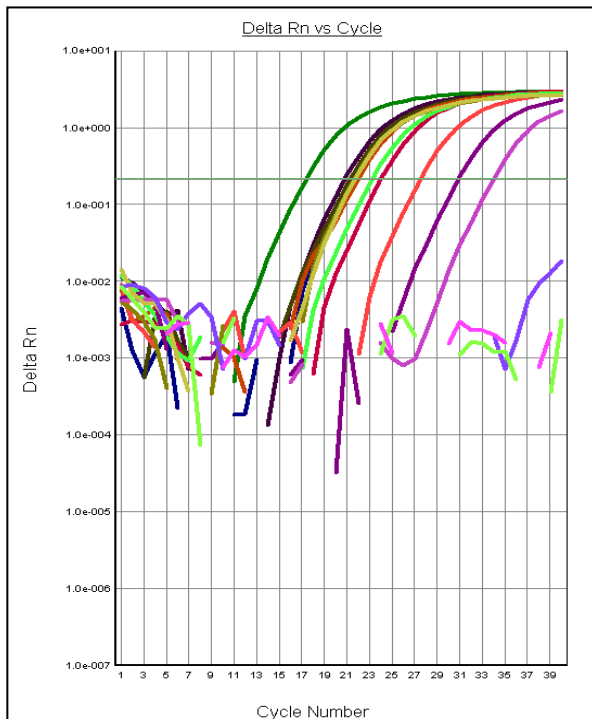




# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Molekulární diagnostika

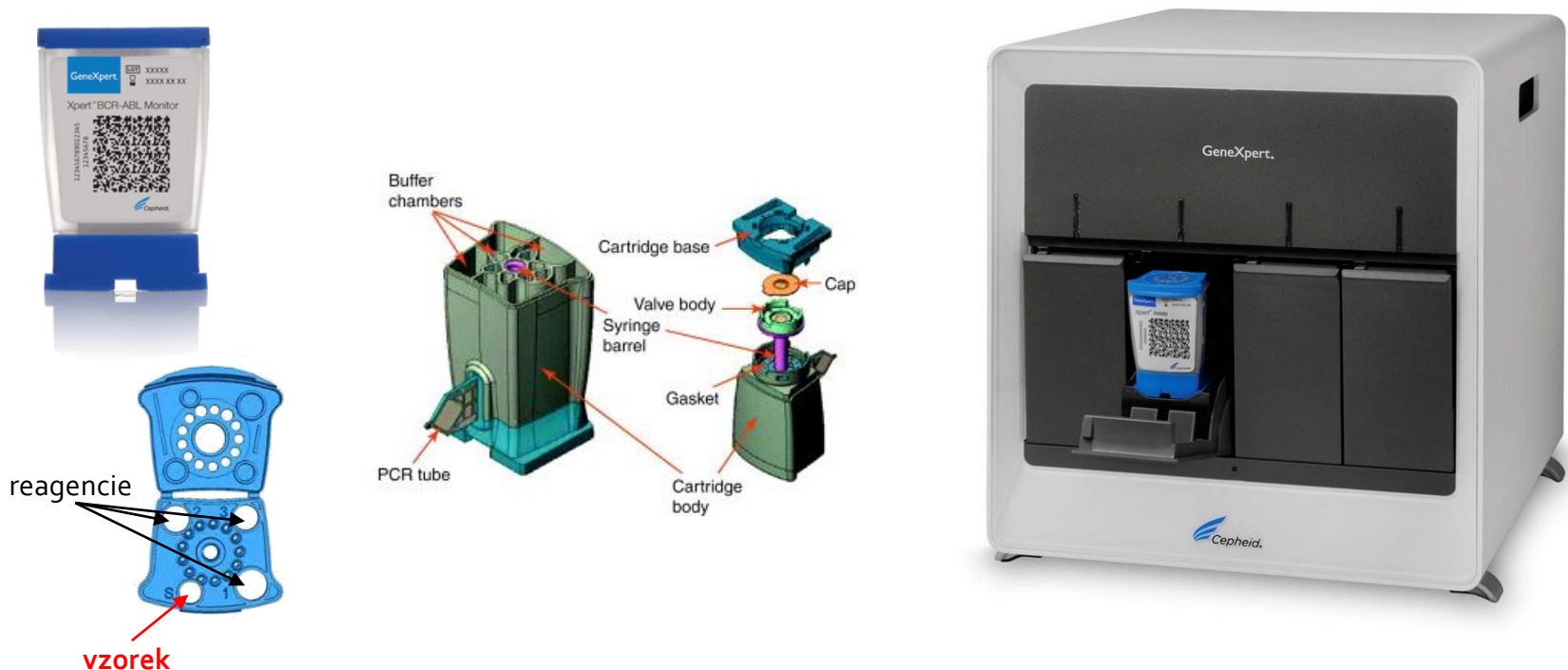
- kvantitativní analýza exprese fúzního transkriptu *BCR/ABL1*
  - rutinně metodou real-time RT-PCR
  - předpokladem je znalost typu zlomu



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Molekulární diagnostika

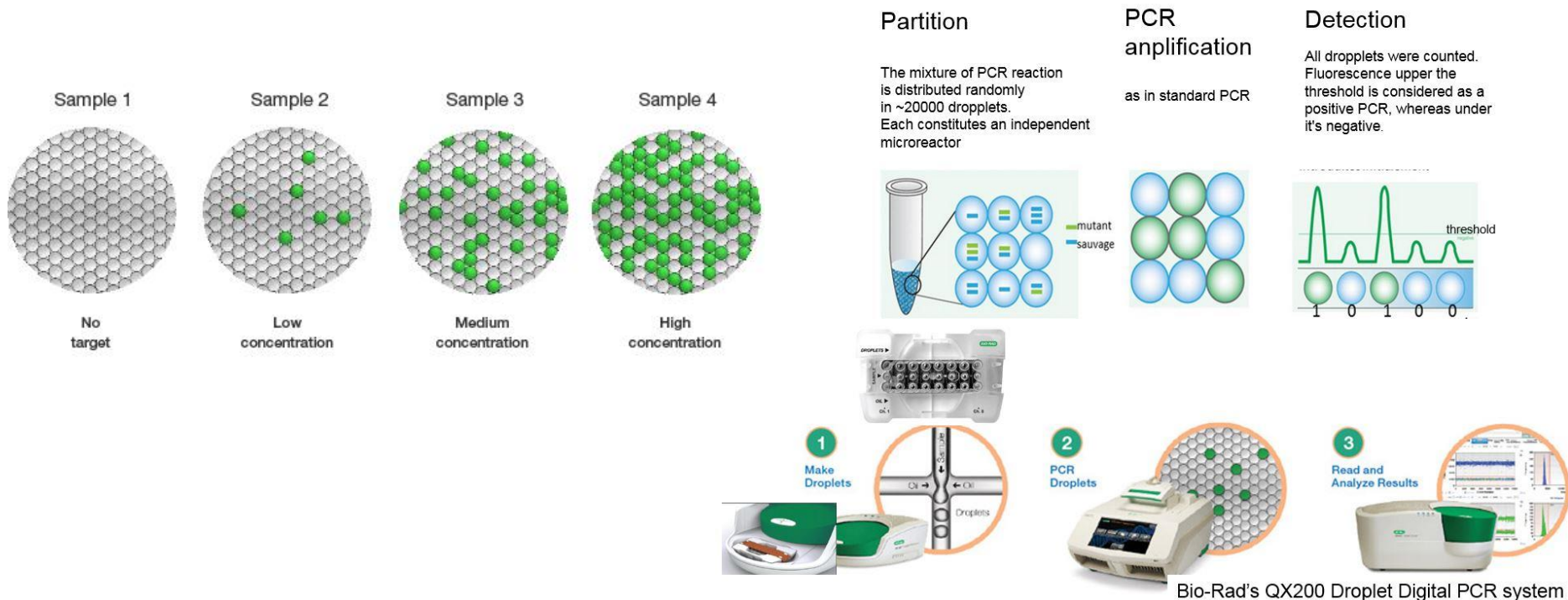
- alternativa k real-time PCR - systém GeneXpert (Cepheid) – uzavřený, cartridge systém
- automatizovaná platforma zahrnující všechno kroky analýzy exprese fúzního transkriptu *BCR/ABL1*
- výsledky analýzy k dispozici za cca 2 hodiny od odběru



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Molekulární diagnostika

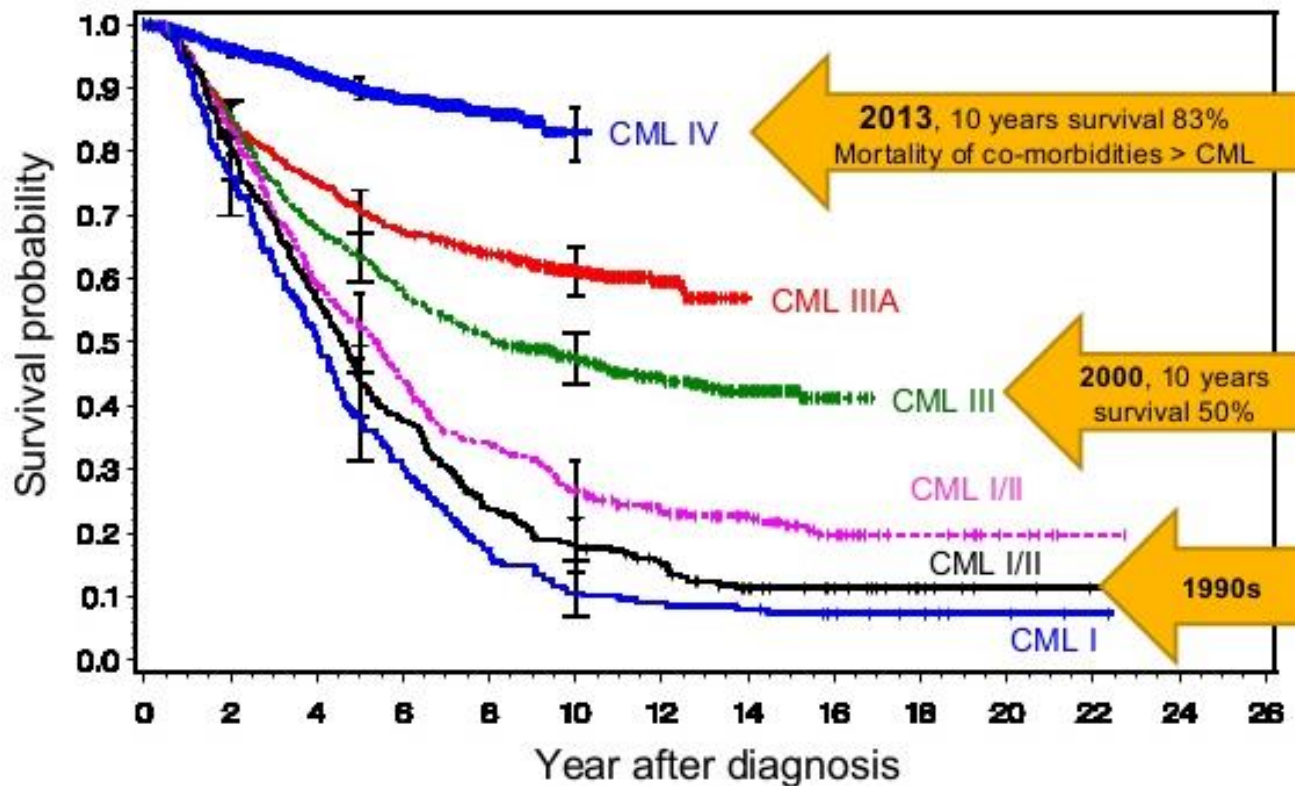
- citlivá analýza exprese fúzního transkriptu *BCR/ABL1*: ddPCR
- absolutní kvantifikaci počtu molekul fúzního transkriptu bez nutnosti tvorby amplifikační křivky
- optimální pro kvantifikaci nízké koncentrace cílového úseku



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Léčba tyrozinkinázovými inhibitory (TKI)

- zavedení tyrozinkinázových inhibitorů do léčby pacientů s CML významně vylepšilo jejich prognózu



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Léčba tyrozinkinázovými inhibitory (TKI)

- zavedení tyrozinkinázových inhibitorů do léčby pacientů s CML významně vylepšilo jejich prognózu

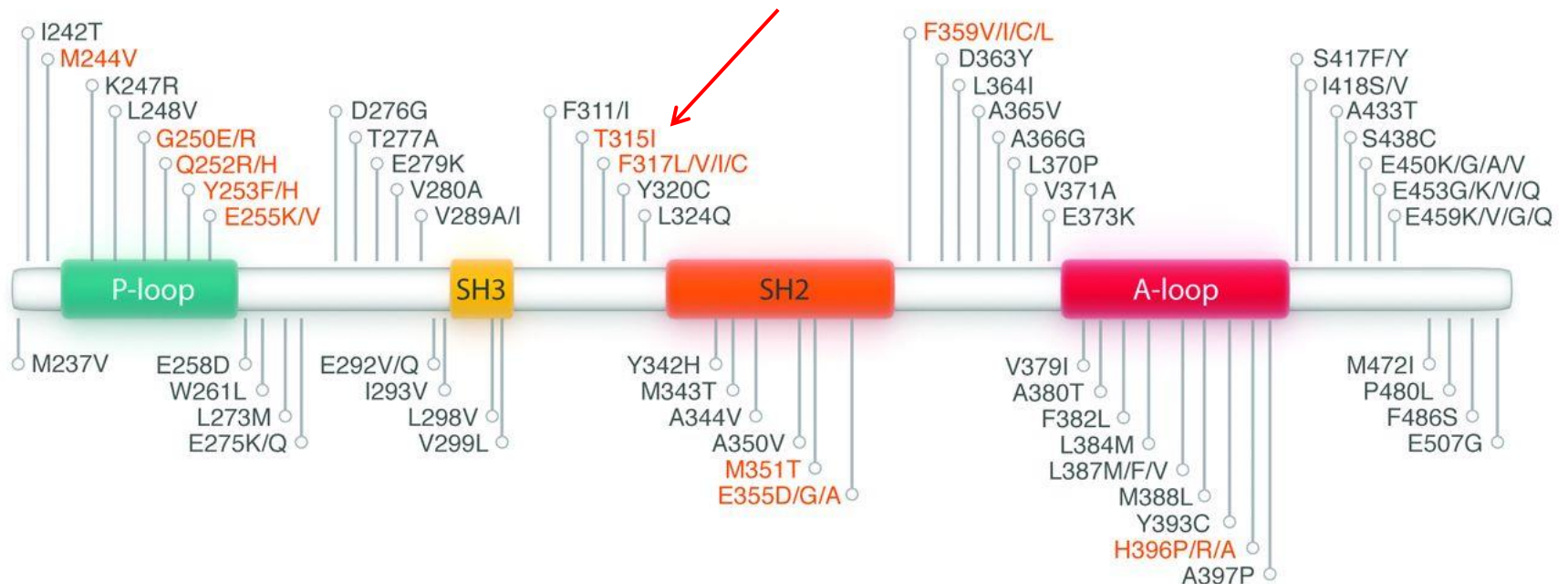
Name	Year approved	Indications in CML
Imatinib	2001	CP, AP, or BC after failure of interferon therapy
	2003	Newly diagnosed CP
Dasatinib	2006	CP, AP, or BC after resistance to or intolerance of imatinib
	2010	Newly diagnosed CP
Nilotinib	2007	CP or AP after resistance to or intolerance of imatinib
	2010	Newly diagnosed CP
Bosutinib	2012	CP, AP, or BC after resistance to or intolerance of prior therapy
Ponatinib	2012	CP, AP, or BC after resistance to or intolerance of prior TKI therapy

*AP* accelerated phase, *BC* blast crisis, *CML* chronic myelogenous leukemia, *CP* chronic phase, *FDA* Food and Drug Administration, *TKI* tyrosine kinase inhibitor, *US* United States.

# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Rezistence na léčbu (TKI)

- mutace v kinázové doméně *BCR/ABL1* (více jak 100 mutací)



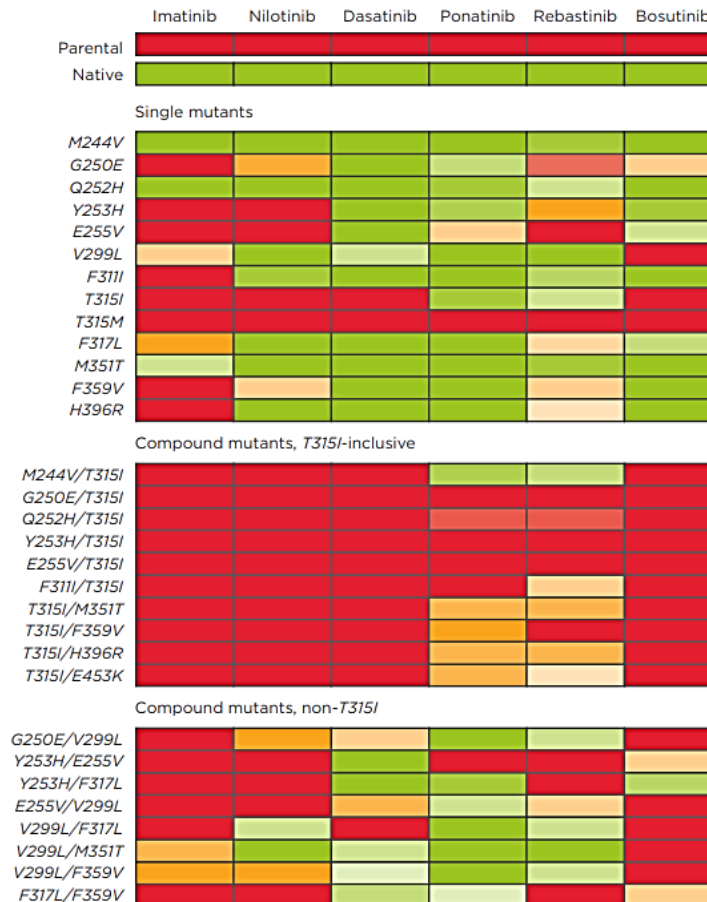
Most frequent mutations, accounting for ~70% of TKI-resistant CML patients



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Rezistence na léčbu (TKI)

- nejzávažnější mutace T315I





# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## TKI-vedlejší účinky

Preparát	Nejdůležitější nežádoucí účinky
<b>Imatinib (Glivec)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Zpočátku léčby: pokles počtu bílých krvinek a destiček, chudokrevnost</li><li>• Zadrženi tekutin v těle s tvorbou otoků (dolní končetiny, obličej, oční víčka)</li><li>• Bolest žaludku, nevolnost až zvracení</li><li>• Průjemy</li><li>• Svalové křeče</li><li>• Kožní vyrážky</li><li>• Změny hladin minerálů</li><li>• Zvýšení jaterních testů</li><li>• Poměrně malé riziko lékových interakcí</li></ul>
<b>Dasatinib (Sprycel)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Zpočátku léčby: pokles počtu bílých krvinek a destiček, chudokrevnost</li><li>• Zadrženi tekutin v těle s tvorbou výpotků v pohrudniční dutině</li><li>• Působení na imunitní systém, infekce nebo horečky</li><li>• Lékové interakce: léky na snížení tvorby žaludeční kyseliny snižují vstřebávání dasatinibu</li><li>• Riziko jiných lékových interakcí je nízké</li></ul>
<b>Nilotinib (Tasigna)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Zpočátku léčby: pokles počtu bílých krvinek a destiček, chudokrevnost</li><li>• Kožní vyrážky</li><li>• Bolesti hlavy</li><li>• Zánět slinivky břišní</li><li>• Zvýšené vypadávání vlasů</li><li>• Cévní ischemické příhody (na končetinách, ale i v orgánech)</li><li>• Hyperglykemie</li><li>• Zvýšení hladiny krevních tuků</li><li>• Změny hladin minerálů</li><li>• Zvýšení pankreatických enzymů</li><li>• Zvýšení jaterních testů</li><li>• Poměrně značné riziko lékových interakcí</li></ul>
<b>Ponatinib (Iclusig)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Zpočátku léčby: pokles počtu bílých krvinek a destiček, chudokrevnost</li><li>• Bolesti břicha</li><li>• Teploty</li><li>• Zánět slinivky břišní</li><li>• Zvýšení pankreatických enzymů</li><li>• Zvýšení jaterních testů</li><li>• Cévní ischemické příhody (na končetinách, ale i v orgánech) a žilní trombózy</li><li>• Lékové interakce: léky na snížení tvorby žaludeční kyseliny snižují vstřebávání ponatinibu</li><li>• Riziko jiných lékových interakcí je středně vysoké</li></ul>
<b>Bosutinib (Bosulif)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Zpočátku léčby: pokles počtu bílých krvinek a destiček, chudokrevnost</li><li>• Průjemy, bolesti břicha, nevolnost, zvracení</li><li>• Kožní vyrážky</li><li>• Bolesti hlavy</li><li>• Zánět slinivky břišní</li><li>• Zvýšení pankreatických enzymů</li><li>• Zvýšení jaterních testů</li><li>• Lékové interakce: léky na snížení tvorby žaludeční kyseliny snižují vstřebávání bosutinibu</li><li>• Riziko jiných lékových interakcí je středně vysoké</li></ul>

# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## TKI-vysazování

- pacienti mohou benefitovat z vysazení TKI
- formou klinických studií – FN Brno: studie HALF



**DĚKUJI ZA POZORNOST**