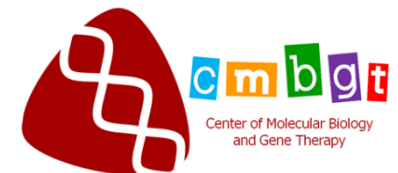


# Laboratorní diagnostika (molekulárně genetické metody) I.

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

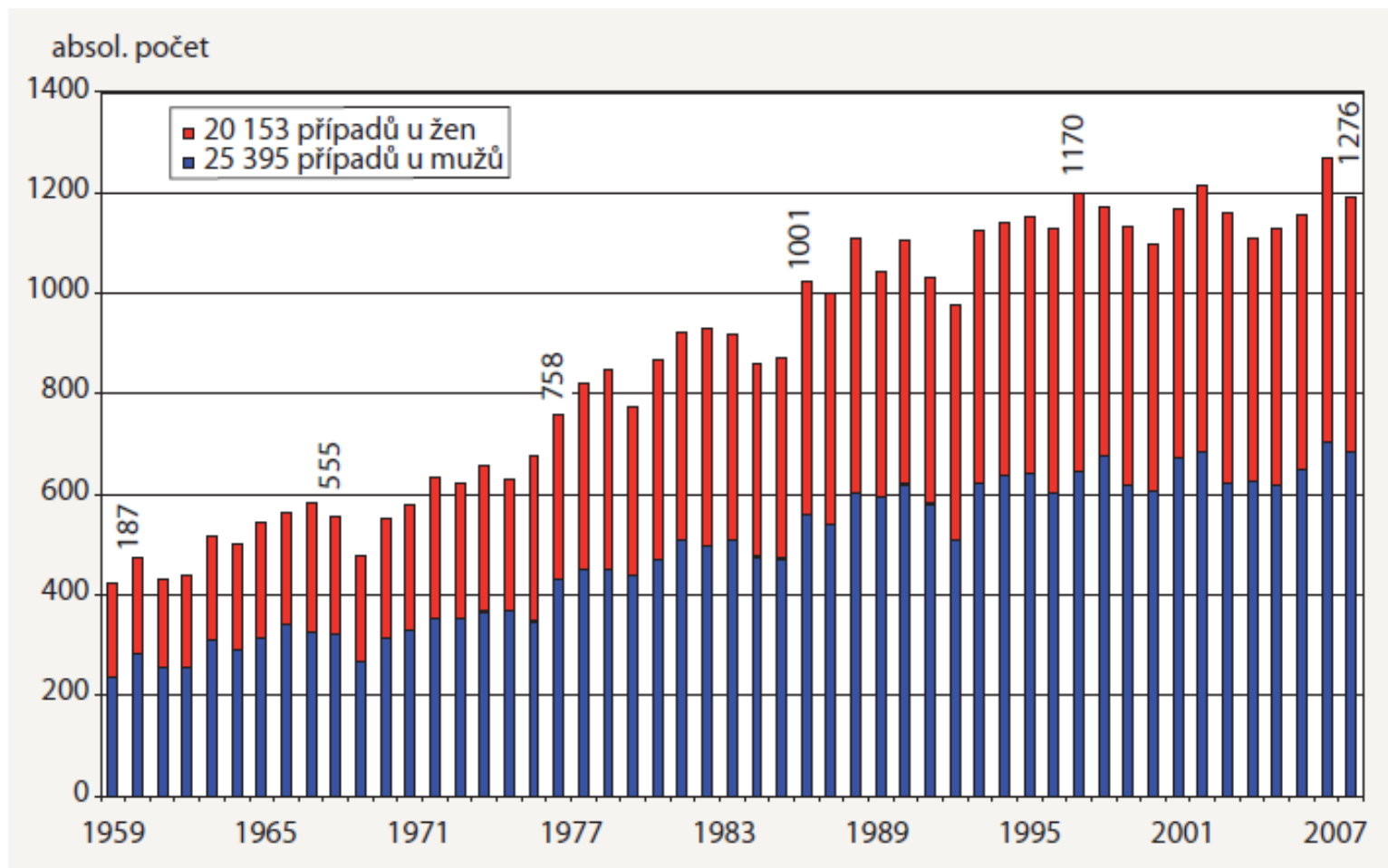
29. 4. 2024



# 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



# LEUKÉMIE (C91-C95)

## Rozdělení dle průběhu

- **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

# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

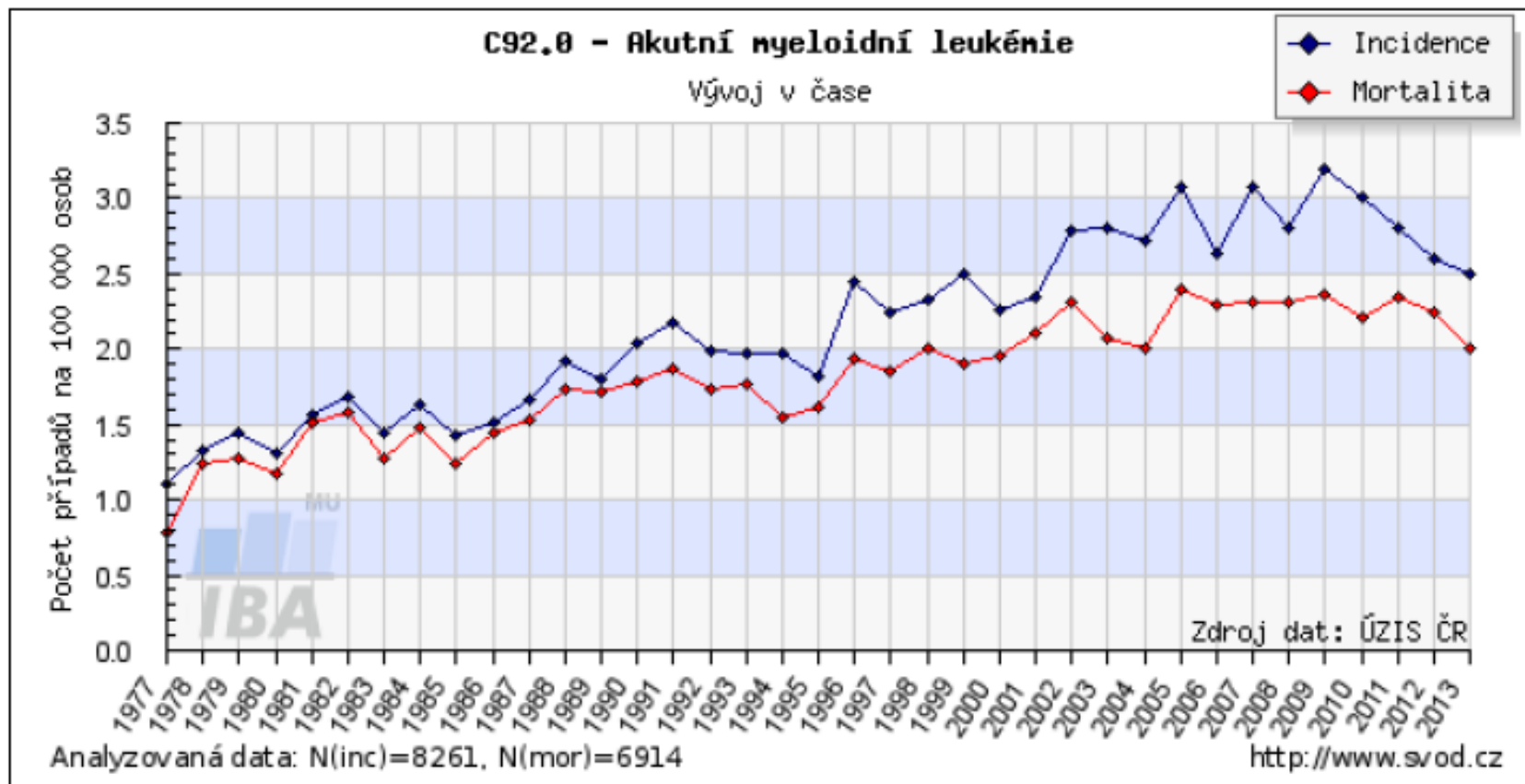
## Charakteristika

- 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

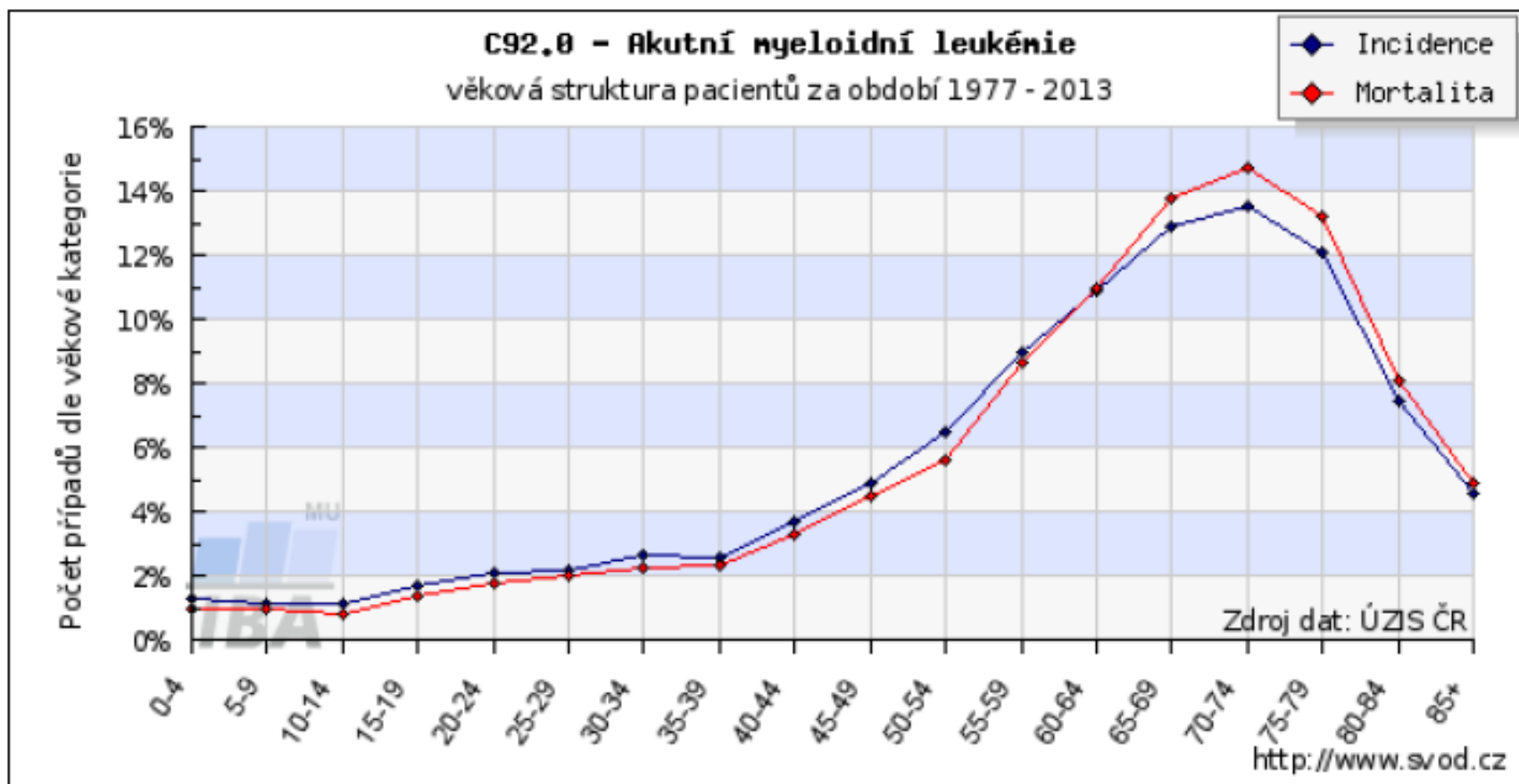
- 3/ 100 tis. obyvatel



# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

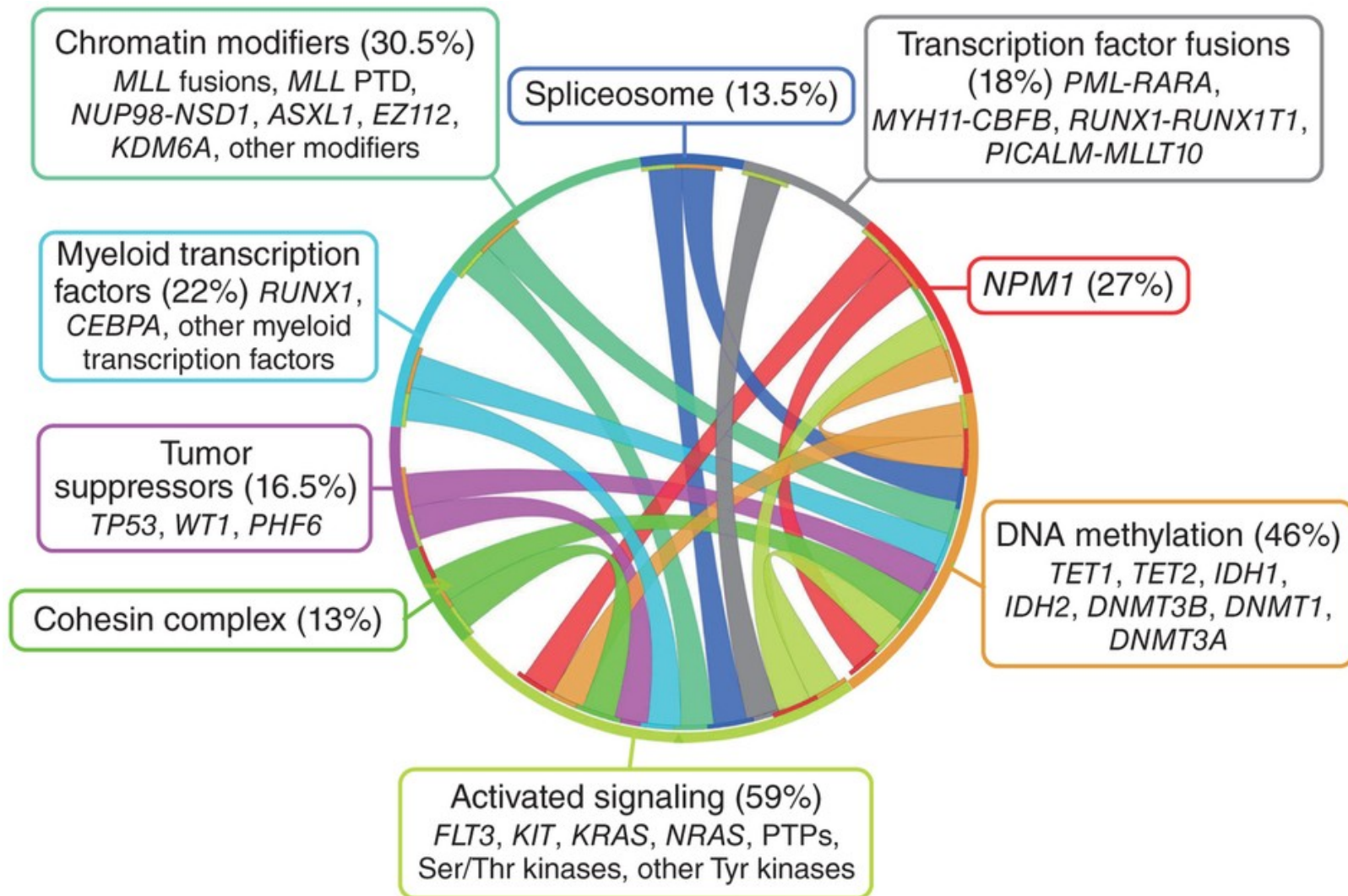
## Incidence – dle věkové struktury

- s věkem stoupá



# AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Třídy mutací



# AML - DIAGNOSTIKA

## Prognostická klasifikace pacientů s AML – ELN 2022

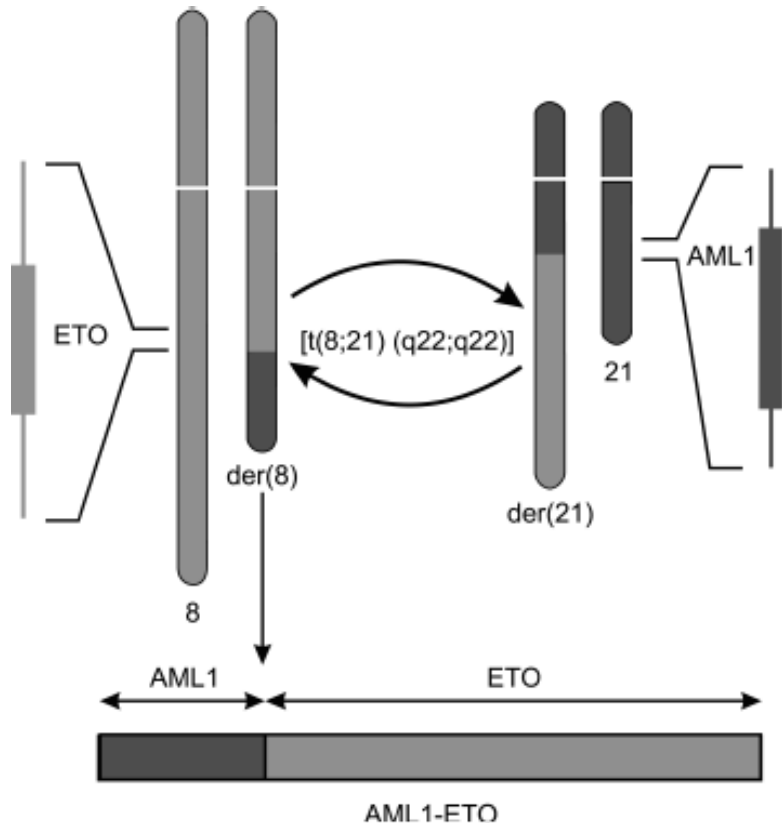
Risk Category <sup>b</sup>	Genetic Abnormality
<b>Favorable</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• t(8;21)(q22;q22.1)/<i>RUNX1::RUNX1T1</i><sup>b,c</sup></li> <li>• inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/<i>CBFB::MYH11</i><sup>b,c</sup></li> <li>• Mutated <i>NPM1</i><sup>b,d</sup> without <i>FLT3</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>



# MOLEKULÁRNÍ MARKERY

## Fúzní transkripty

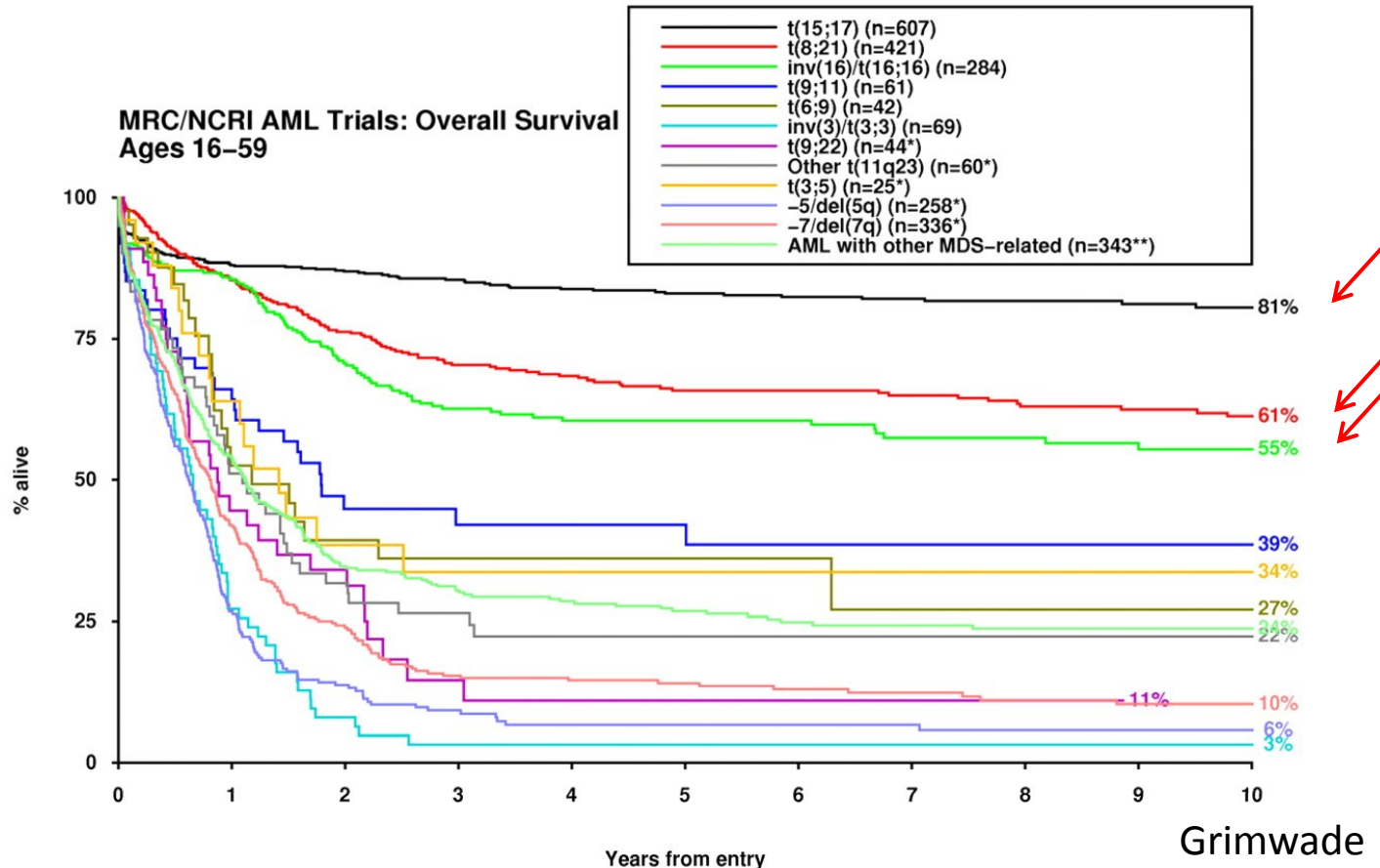
- t(8;21) – *RUNX1/RUNX1T1* (*AML1/ETO*) (6% všech AML),
- inv(16) nebo t(16;16) – *CBFB/MYH11* (7% všech AML),
- t(\*;11) – přestavby *MLL* genu, ....



# KLASIFIKACE PACIENTŮ S AML

## Pacienti s příznivou prognózou

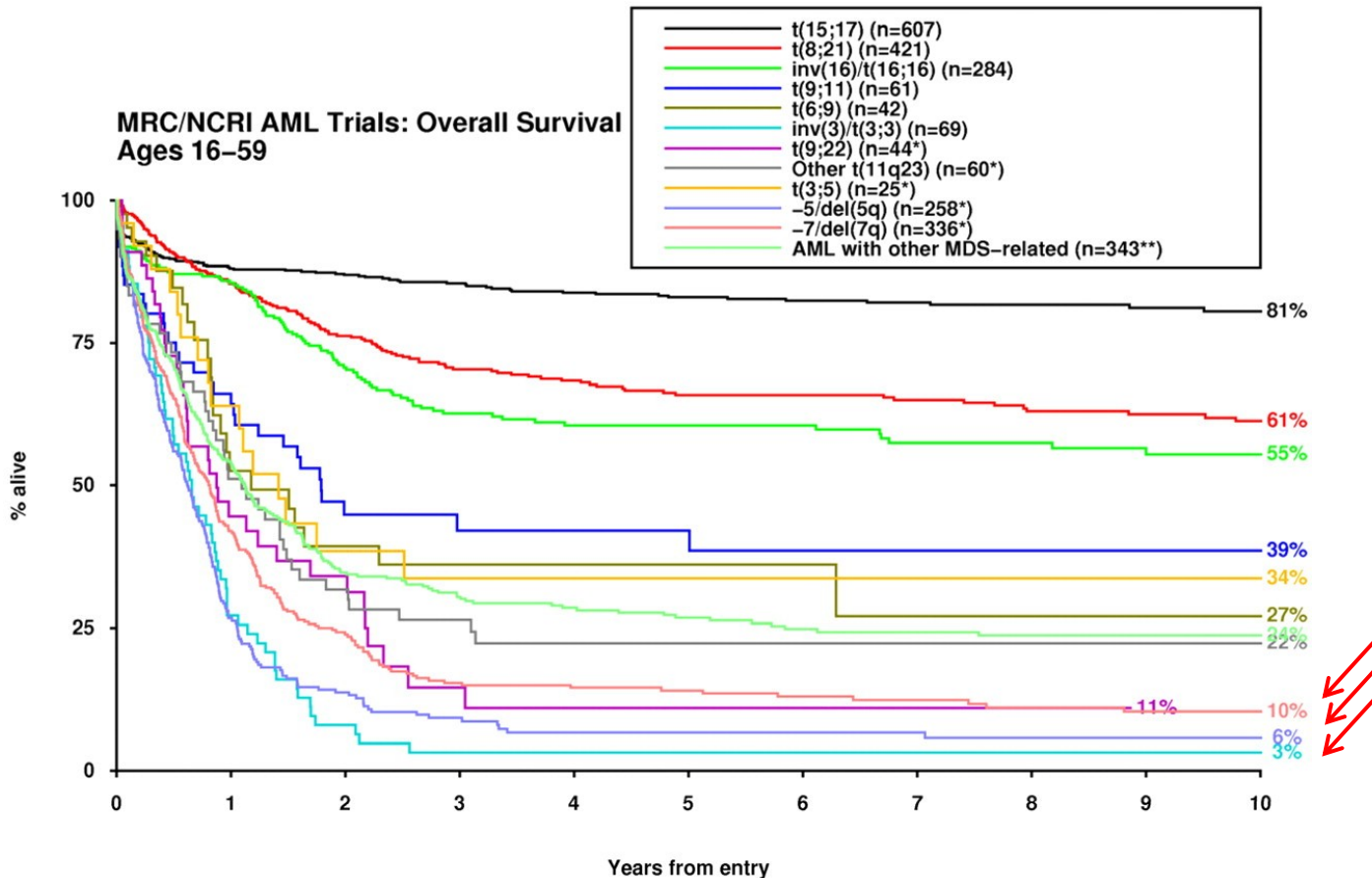
- pacienti s aberacemi:  $t(8;21)$  – *RUNX1/RUNX1T1* (*AML1/ETO*)  
 $inv(16), t(16;16)$  – *CBFB/MYH11*  
bialelická mutace *CEBPA*



# KLASIFIKACE PACIENTŮ S AML

## Pacienti s nepříznivou prognózou

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



# 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



# 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



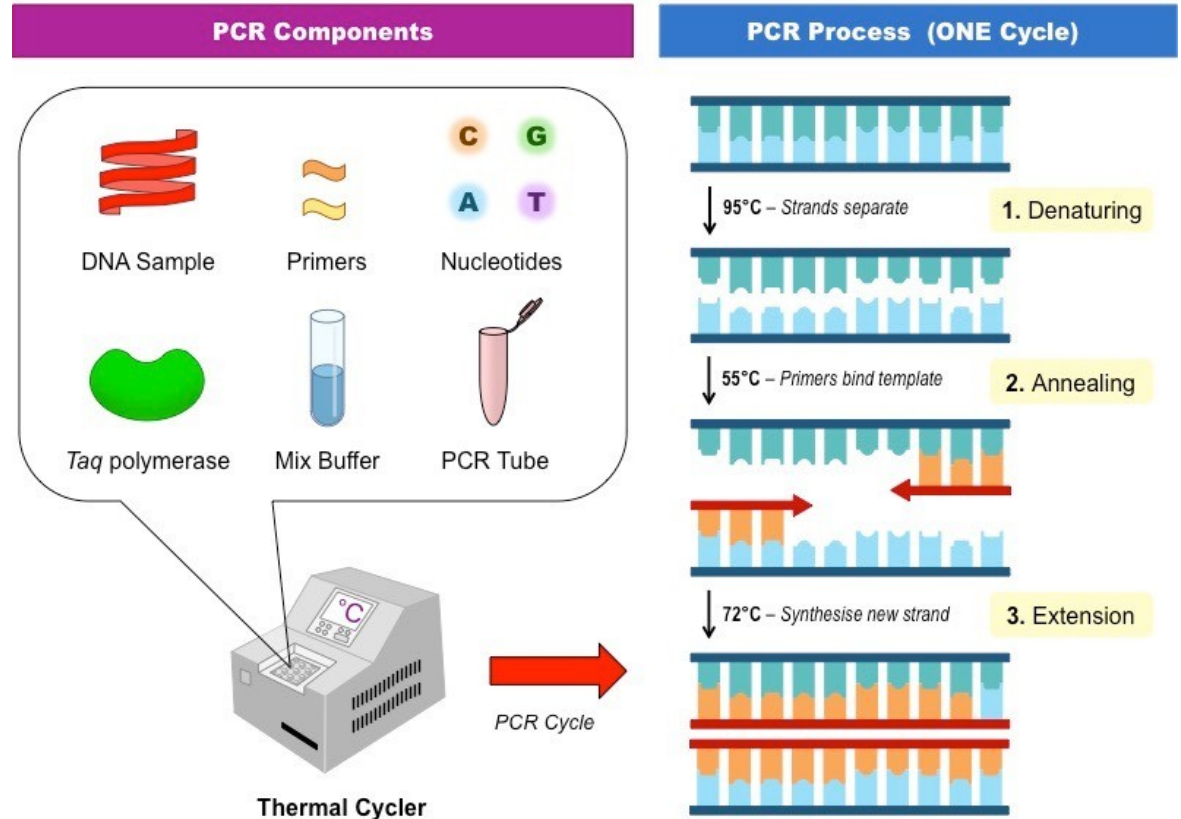
# METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

## 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)



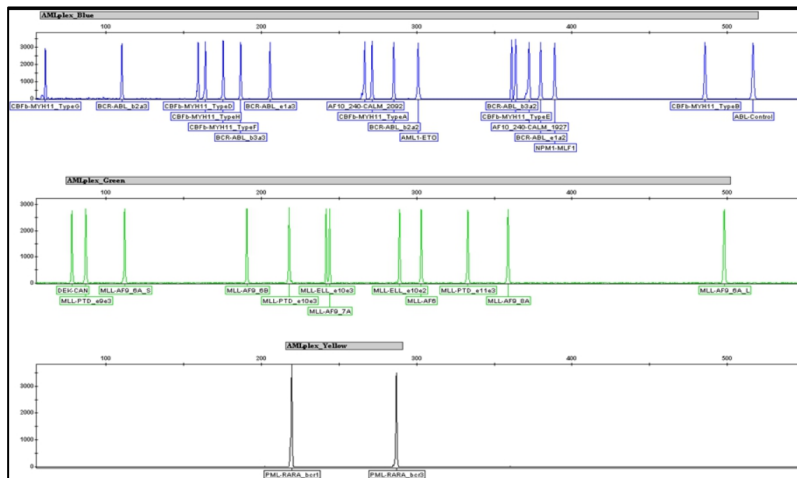
# DETEKCE FÚZNÍCH GENŮ

## RNA analýza – AMLplex

- Mentype AMLplex QS CE-IVD (Biotype): 11 fúzních genů; 34 variant transkriptů



ABI 3130XL (Applied Biosystems)

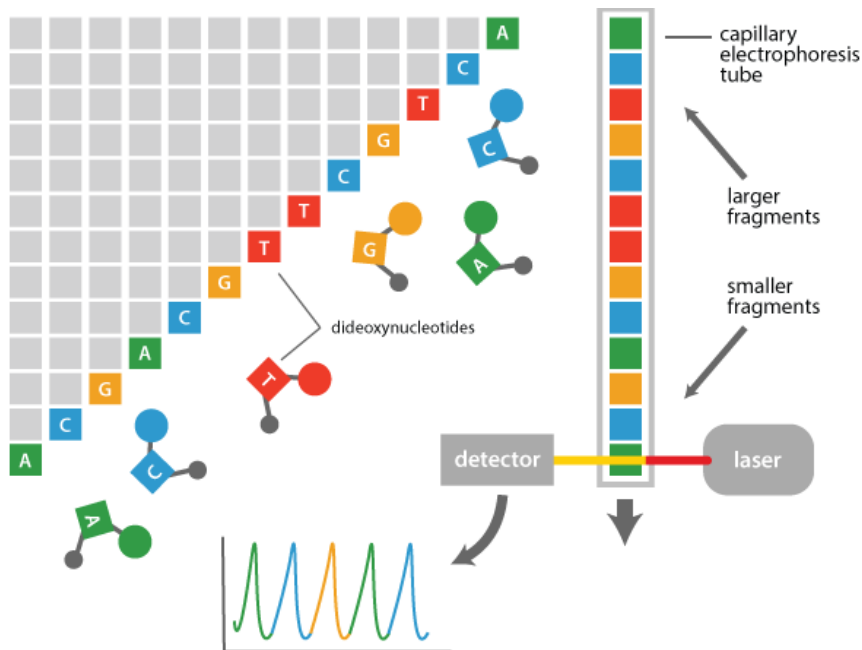


Gene fusion	Aberration	Variants
AML1-ETO	t(8;21)(q22;q22)	-
BCR-ABL	t(9;22)(q34;q11)	e1a2/3, b2a2/3, b3a2/3
CALM-AF10	t(10;11)(p13;q14)	AF10_240-CALM_1987 AF10_240-CALM2092
CBFB-MYH11	inv(16)(p13;q22)	Typ A, B, C, D, E, F, G, H, I, J
DEK-CAN	t(6;9)(p23;q34)	-
MLL-AF6	t(6;11)(q27;q23)	-
MLL-AF9	t(9;11)(p22;q23)	6A_(THP1), 7A_(10A), 8A_(MM6), 6B_(9B)
MLL-ELL	t(11;19)(q23;p13.1)	e10e2/3
MLL-PTD	part. tandem duplication	e9e3, e10e3, e11e3
NPM1-MLF1	t(3;5)(q25.1;q34)	-
PML-RARA	t(15;17)(q22;q21)	bcr1 (PR-L), bcr2 (PR-V), bcr3 (PR-S)

# SEKVENOVÁNÍ

## Historie

- 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)

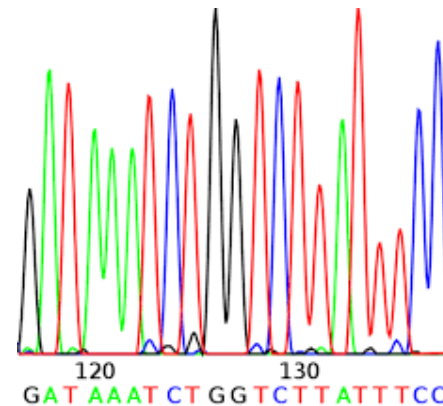
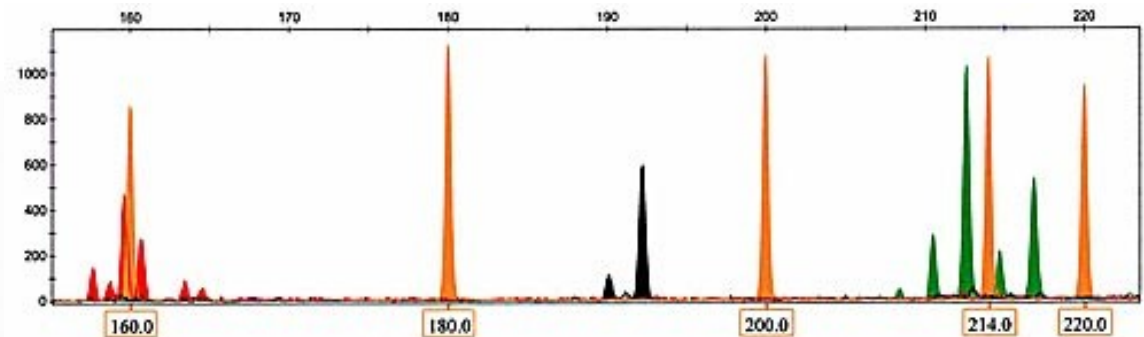


Fred Sanger (\*1918-†2013)

# 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)

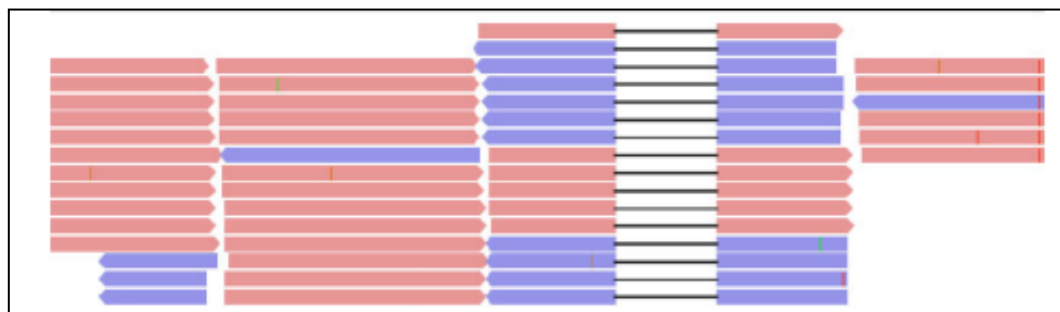
## Panelové DNA sekvenování

- VariantPlex Core Myeloid (Archer/Invitae) – 37 genů

ABL1	ANKRD26	ASXL1	BCOR	BRAF	CALR	CBL
CEBPA	CSF3R	DDX41	DNMT3A	ETNK1	ETV6	EZH2
FLT3	GATA1	GATA2	IDH1	IDH2	JAK2	KIT
KRAS	MPL	NPM1	NRAS	PHF6	PTPN11	RUNX1
SETBP1	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
WT1	ZRSR2					

### Legend:

- ◆ SNV/Indel
- Expression
- Fusion, splicing or exon-skipping
- \* Internal tandem duplication (ITD)
- CNV



NextSeq 500 System (Illumina)

# SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE (NGS)

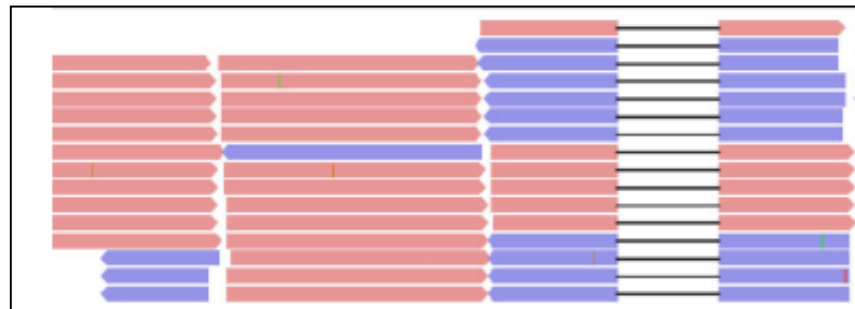
## Panelové DNA sekvenování

- VariantPlex Core Myeloid (Archer/Invitae) – 37 genů

ABL1	ANKRD26	ASXL1	BCOR
CEBPA	CSF3R	DDX41	DNMT3A
FLT3	GATA1	GATA2	IDH1
KRAS	MPL	NPM1	NRAS
SETBP1	SF3B1	SRSF2	STAG2
WT1	ZRSR2		

**Legend:**

- ◆ SNV/Indel
- Expression
- Fusion, splicing or exon-skipping
- \* Internal tandem duplication (ITD)
- CNV



FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO  
PRACOVISTE DĚTSKÉ MEDICINY  
Černopolská 9, 613 00 Brno  
tel: 532 231 111  
Korespondenční adresa:  
Jihlavská 20, 625 00 Brno

INTERNÍ HEMATOLOGICKÁ A ONKOLOGICKÁ KLINIKA  
Centrum molekulární biologie a genetiky  
Předseda: Prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.  
Vedoucí: Prof. RNDr. Sárka Popšilová, Ph.D.  
tel.: 532 234 623, fax: 532 234 623  
e-mail: popsilova.sarka@fnbrno.cz

IČO: 652 697 05, DIČ: CZ65269705  
Bankovní spojení: 71234621/0100  
Nositel certifikátu 14001:2004  
www.fnbrno.cz

### Zpráva o výsledku vyšetření aberací v panelu genů spojených s akutní myeloidní leukémií (AML) metodou sekvenování nové generace (NGS)

#### Odesílá

FN Brno  
IHOK, Centrum molekulární biologie a genetiky  
Černopolská 9  
613 00 Brno

#### Vyžádal

FN Brno, MUDr. Samuel Hricko  
Oddělení: IHOK – Lůžková část B  
Jihlavská 20  
625 00 Brno



Pacient:	Odebrán:	5. 10. 2021
Číslo pojistěnce:	Přijat:	5. 10. 2021
Diagnóza: C92.0	Odeslán:	29. 10. 2021
Kód pojistěnovny:		
Vyšetřovaný biologický materiál:	DNA z leukocytů kostní dřeně (záchyt AML)	
Metoda:	Sekvenování nové generace (NGS)	
Laboratorní ID:	ONK/21-4479 (run A39)	

### Výsledek: Patogenní/pravděpodobně patogenní varianty v testovaných genech **NALEZENY**

Gen	Klasifikace varianty	Nukleotidová záměna	Aminokyselinová záměna	VAF
<i>NPM1</i>	patogenní	NM_002520.6:c.860_863dup	NP_002511.1:p.(Trp288Cysfs*12)	30,9 %
<i>FLT3</i> (TKD)	pravděpodobně patogenní	NM_004119.2:c.2503G>T	NP_004110.2:p.(Asp835Tyr)	44,5 %
<i>GATA2</i>	pravděpodobně patogenní	NM_032638.4:c.348G>A	NP_116027.2:p.(Trp116*)	53,0 %
<i>DNMT3A</i>	pravděpodobně patogenní	NM_022552.4:c.2086del	NP_072046.2:p.(Gln696Argfs*9)	44,4 %
<i>WT</i>	VUS <sup>1</sup>	NM_000378.4:c.1289G>T	NP_000369.3:p.(Gly430Val)	45,8 %

<sup>1</sup>VUS – varianta s neznámým klinickým významem

#### Komentář k výsledku:

Vyšetřením bukálního stěru bude ověřen původ detekovaných variant (somatický/ zárodečný).

# SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE (NGS)

## Panelové DNA sekvenování

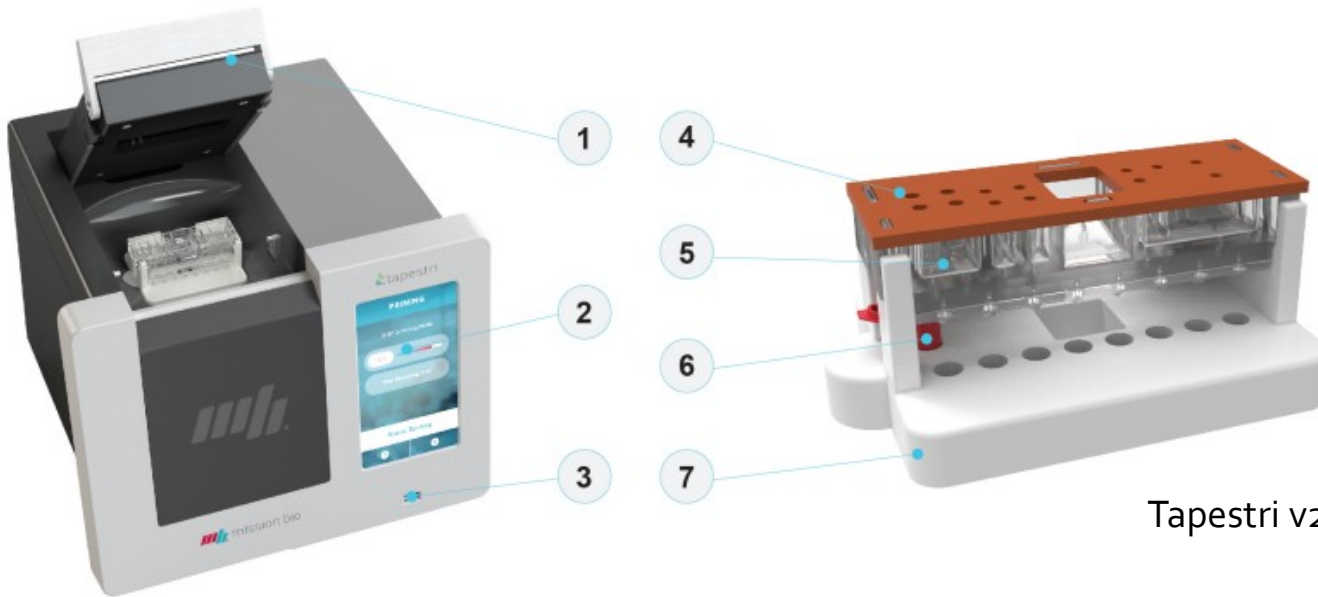
- VariantPlex Core Myeloid (Archer/Invitae) – 37 genů
- Analýza bulku

Gen	Klasifikace varianty	Nukleotidová záměna	Aminokyselinová záměna	VAF
<i>FLT3</i> (ITD)	patogenní	NM_004119.2: c.1770_1771insCTC/1741-1770	NP_004110.2: p.(Phe590_Tyr591ins11)	2,7 %
<i>WT1</i>	pravděpodobně patogenní	NM_024424.3:c.1137_1140dup	NP_077742.2:p.(Ser381Thrfs*5)	38,8 %
<i>RUNX1</i>	pravděpodobně patogenní	NM_001754.4:c.424_445dup	NP_001745.2:p.(Ala149Glyfs*2)	28,0 %
<i>WT1</i>	pravděpodobně patogenní	NM_024424.3:c.1138_1142dup	NP_077742.2:p.(Ala382Glyfs*69)	30,1 %
<i>NRAS</i>	pravděpodobně patogenní	NM_002524.4:c.38G>A	NP_002515.1:p.(Gly13Asp)	14,1 %
<i>FLT3</i> (TKD)	pravděpodobně patogenní	NM_004119.2:c.2505T>A	NP_004110.2:p.(Asp835Glu)	6,9 %
<i>PTPN11</i>	pravděpodobně patogenní	NM_002834.4:c.205G>A	NP_002825.3:p.(Glu69Lys)	2,1 %

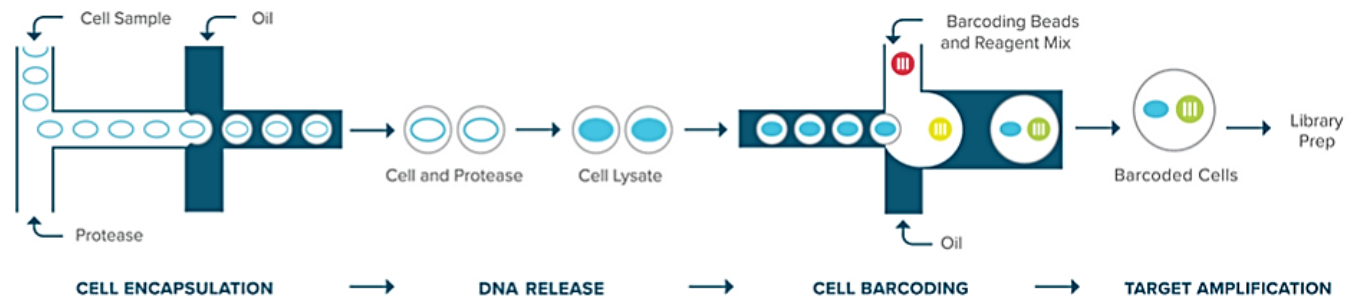
# SINGLE CELL SEKVENOVÁNÍ

## DNA scNGS

- Sekvenování dílčích/ jednotlivých buněk



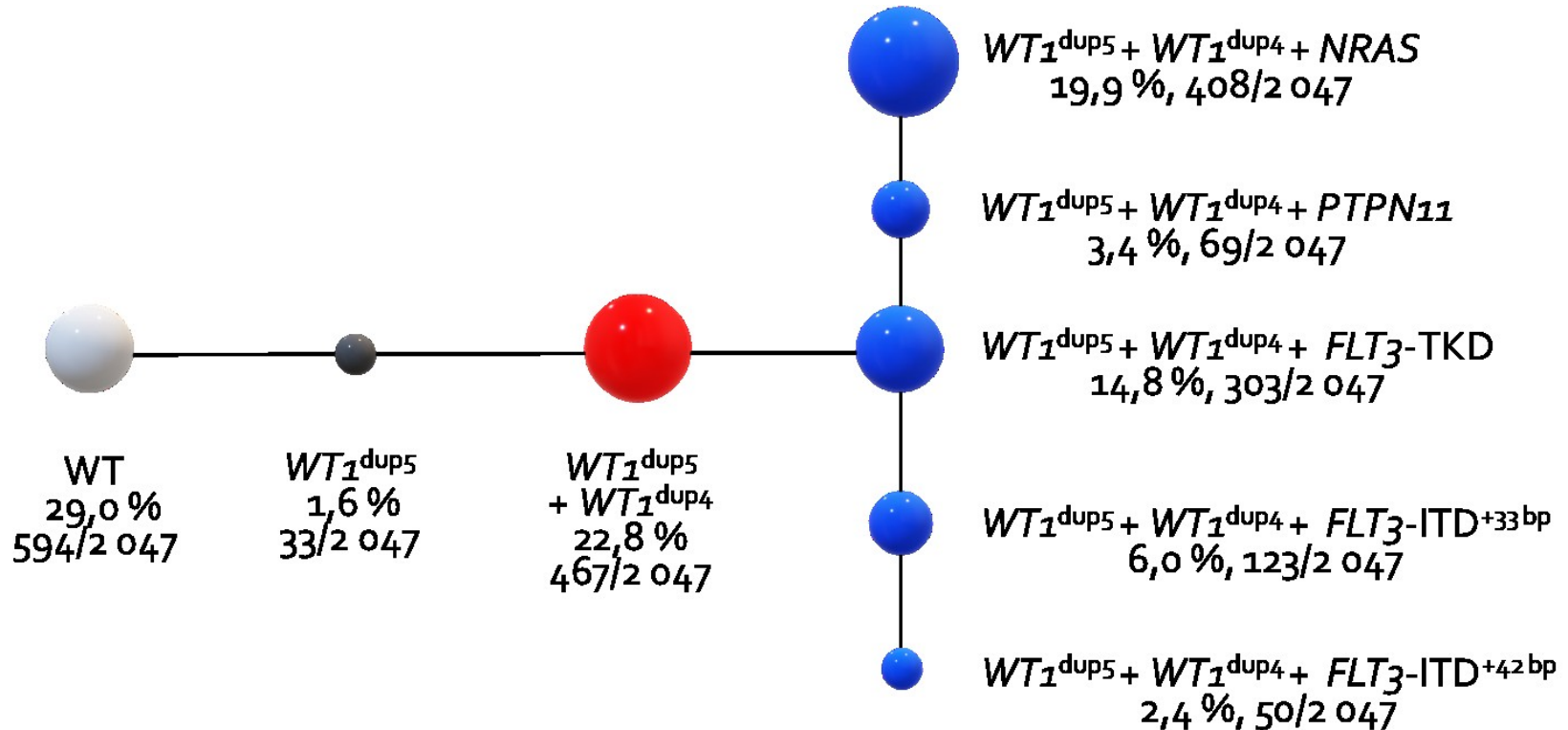
Tapestri v2 (MissionBio)



# SINGLE CELL SEKVENOVÁNÍ

## DNA scNGS

- Sekvenování dílčích/ jednotlivých buněk



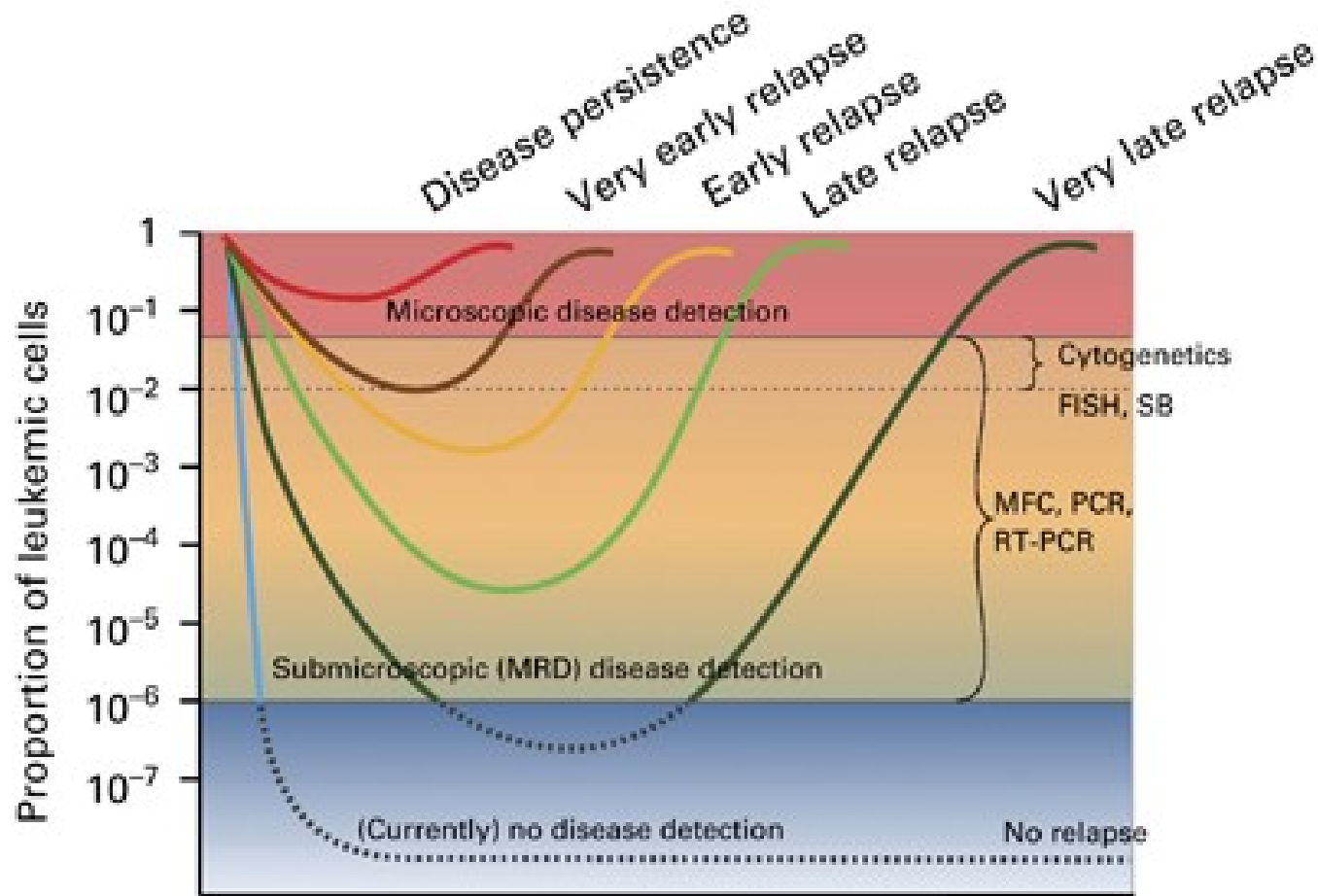
Identifikace:

- klonální heterogeneity
- vhodného markeru pro sledování MRD



# SLEDOVÁNÍ MRD

## Minimální reziduální nemoc (MRD)



# REAL-TIME PCR

## Kvantitativní (RT) real-time PCR

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



Rotor gene Q (Qiagen)



QuantStudio 3 (Applied Biosystems)

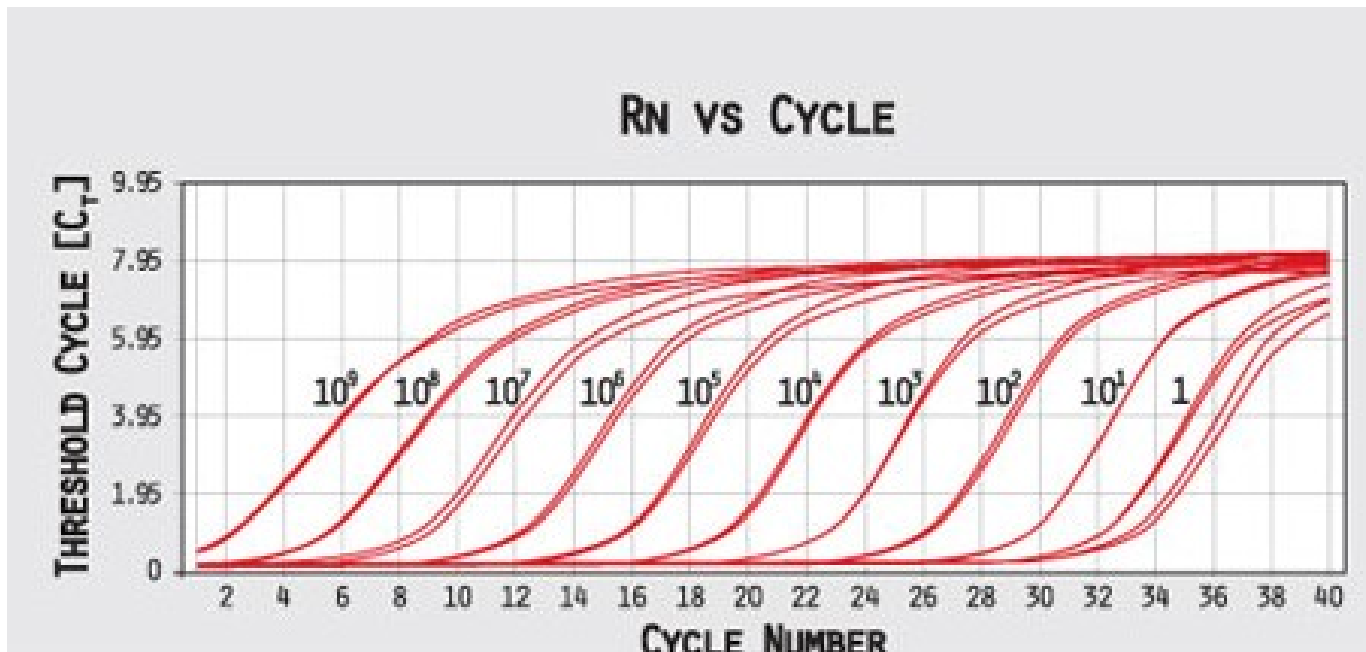


ABI7300 (Applied Biosystems)

# REAL-TIME PCR

## Absolutní kvantifikace

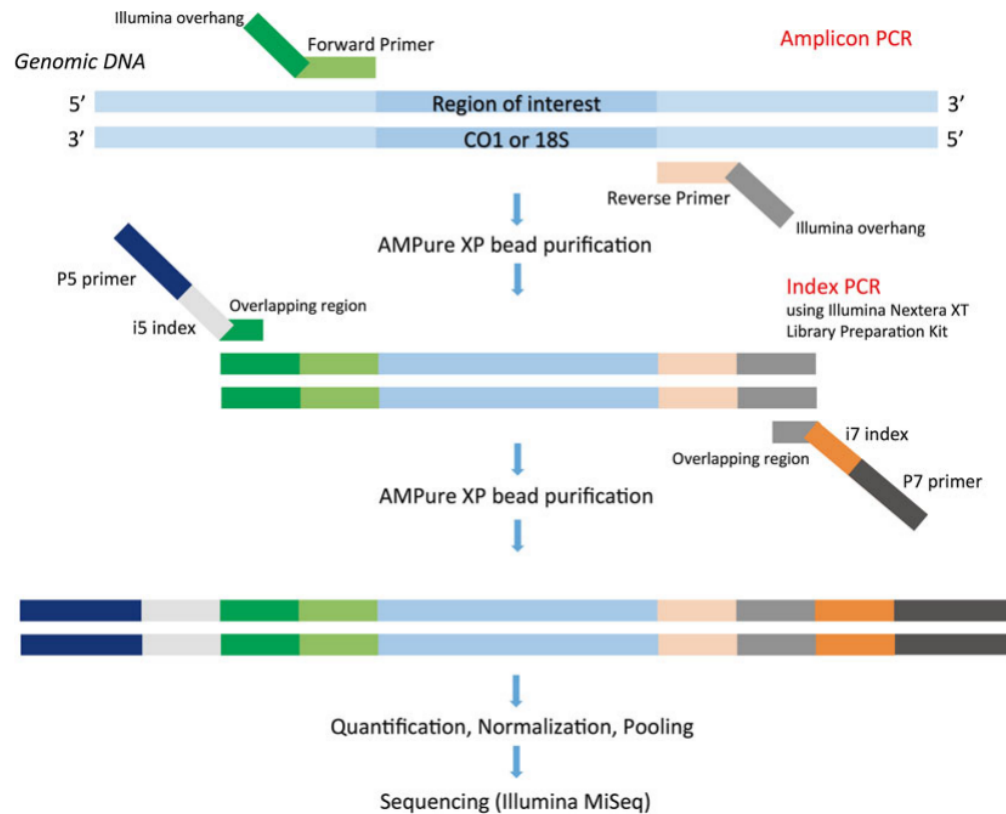
- vzorky o neznámé koncentraci jsou porovnány se standardy o známé koncentraci.
- koncentrace - vyjádřená počtem kopií analyzovaného úseku je intrapólována ze standardní křivky.



# AMPLIKONOVÉ SEKVENOVÁNÍ

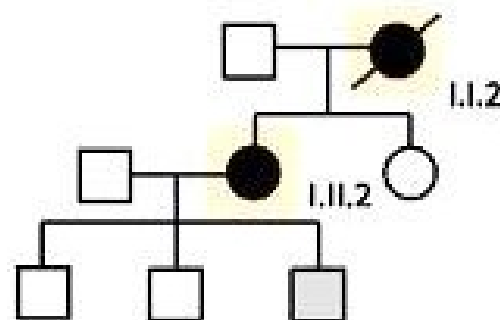
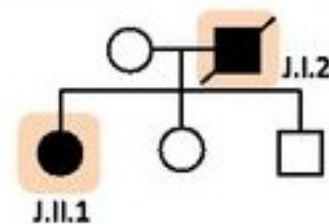
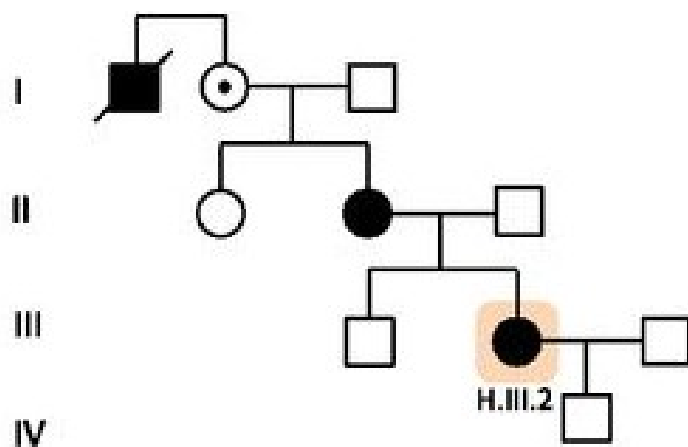
## DNA aNGS

- až pro 100% aberací detekovaných panelovým sekvenováním
  - také jako multiplexové reakce
  - nutno vyloučit „preleukemické“ mutace (DTA aberace)
- senzitivita 0,05% VAF



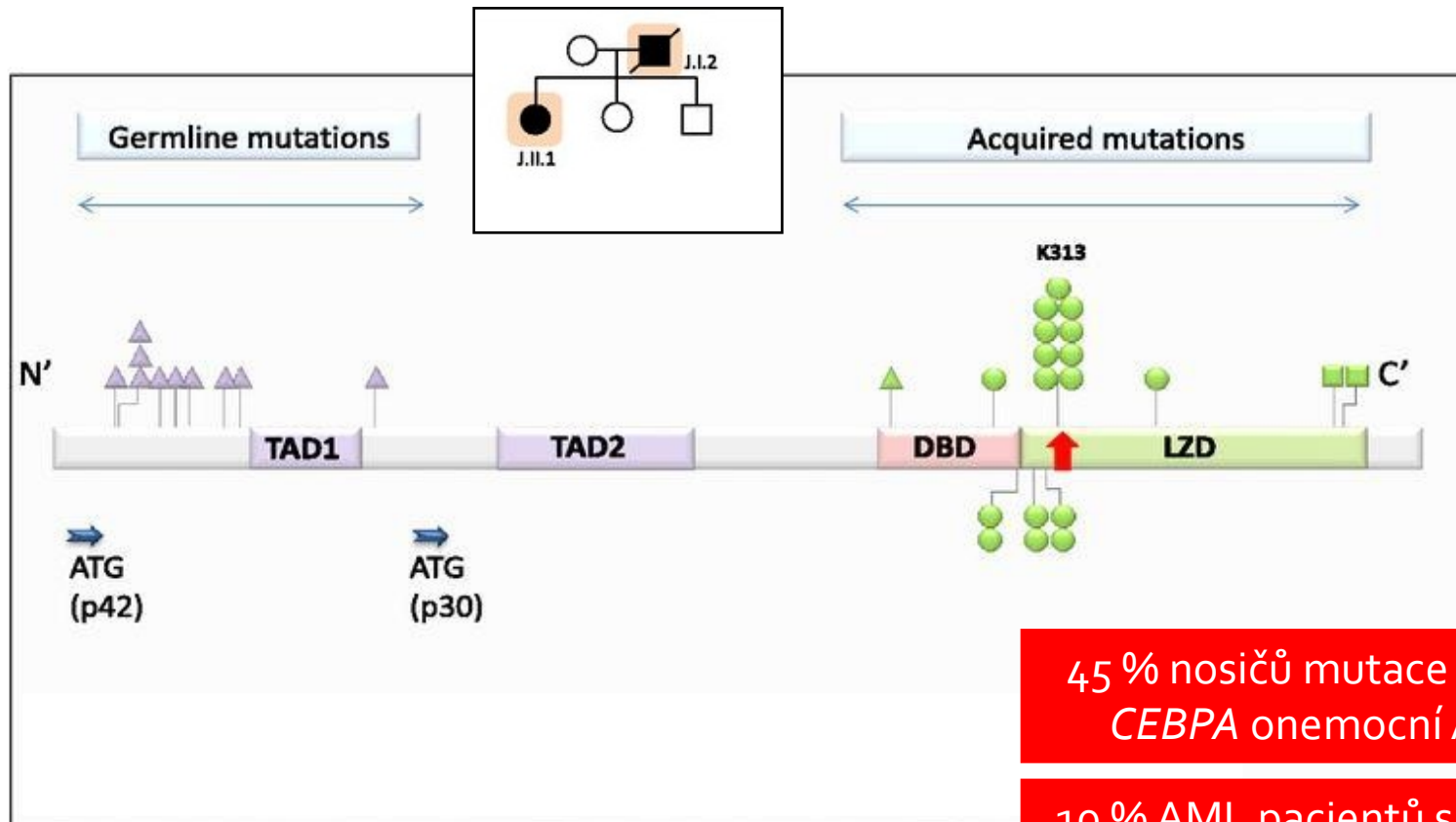
# FAMILIÁRNÍ VÝSKYT AML

## 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

- 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

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

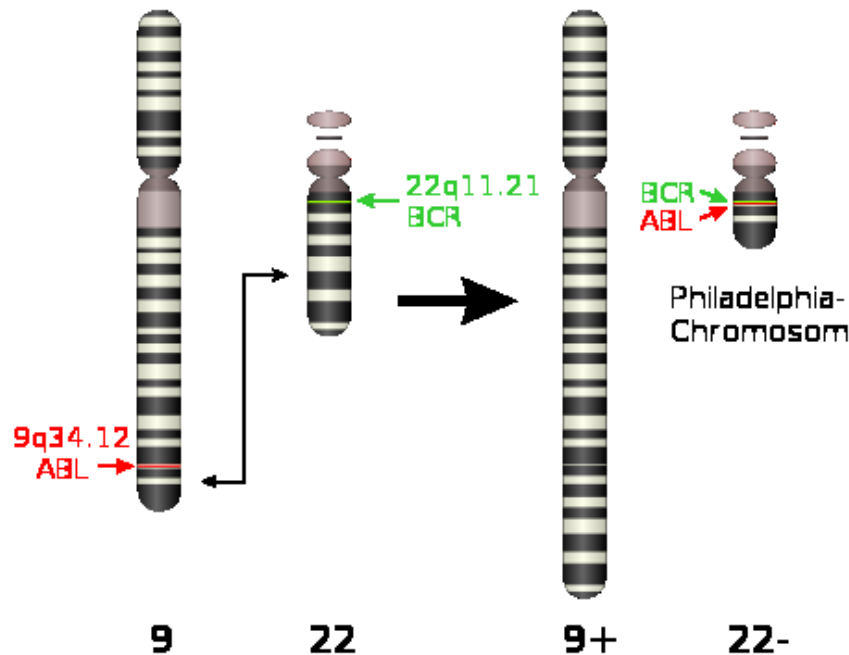
Myeloid neoplasms associated with Noonan syndrome

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

# 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 proteinkinázu *BCR/ABL1*

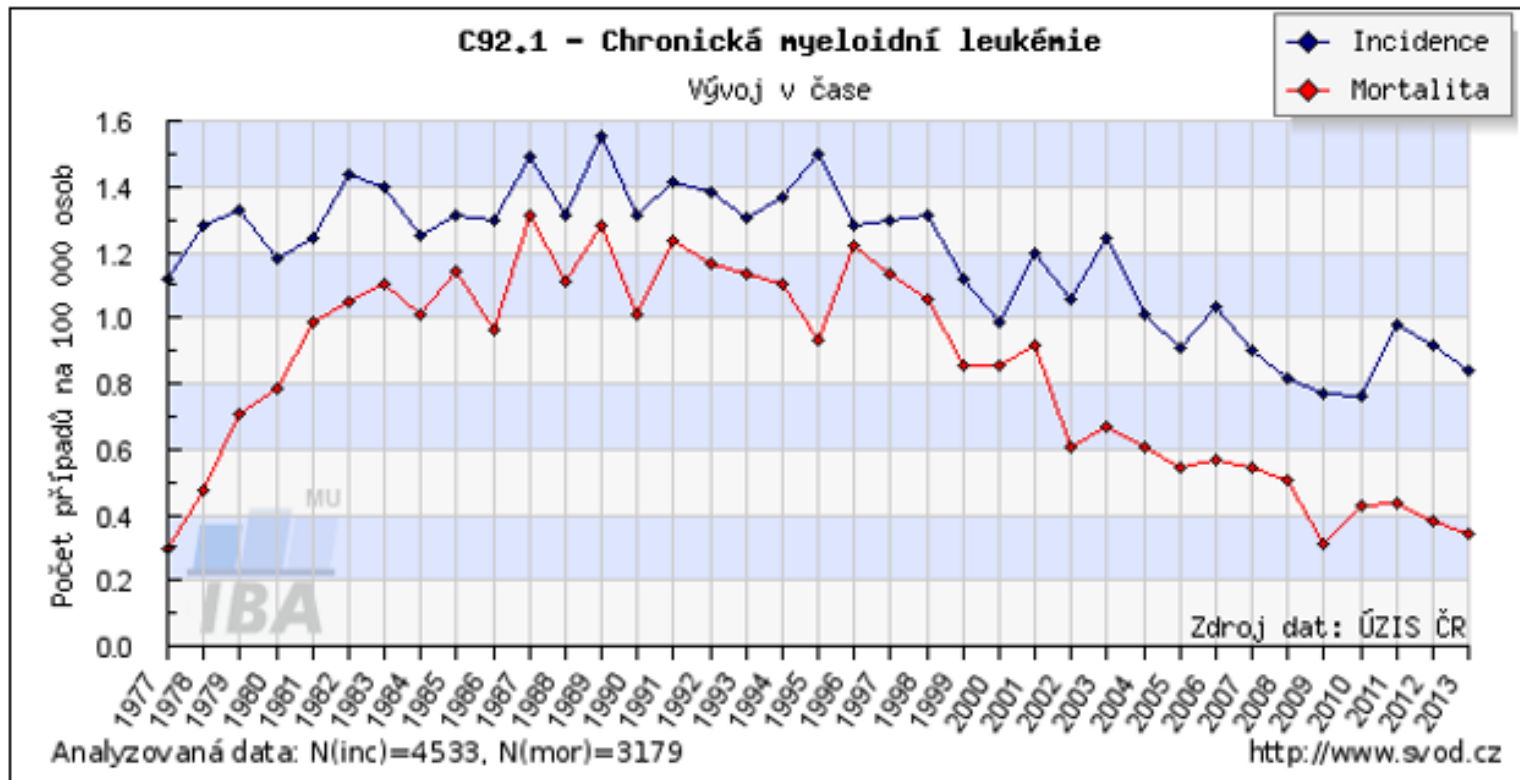




# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Incidence – vývoj v čase

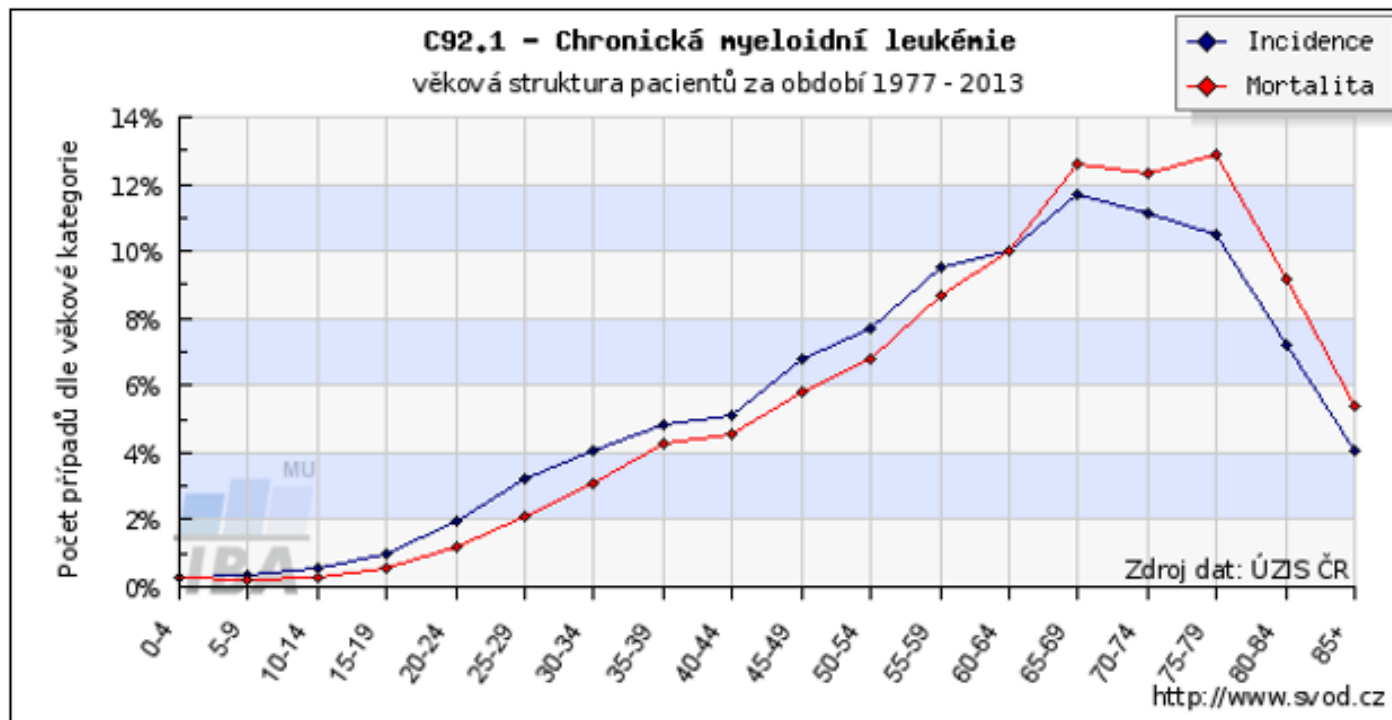
- 1,1-1,5/ 100 tis. obyvatel



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Incidence – dle věkové struktury

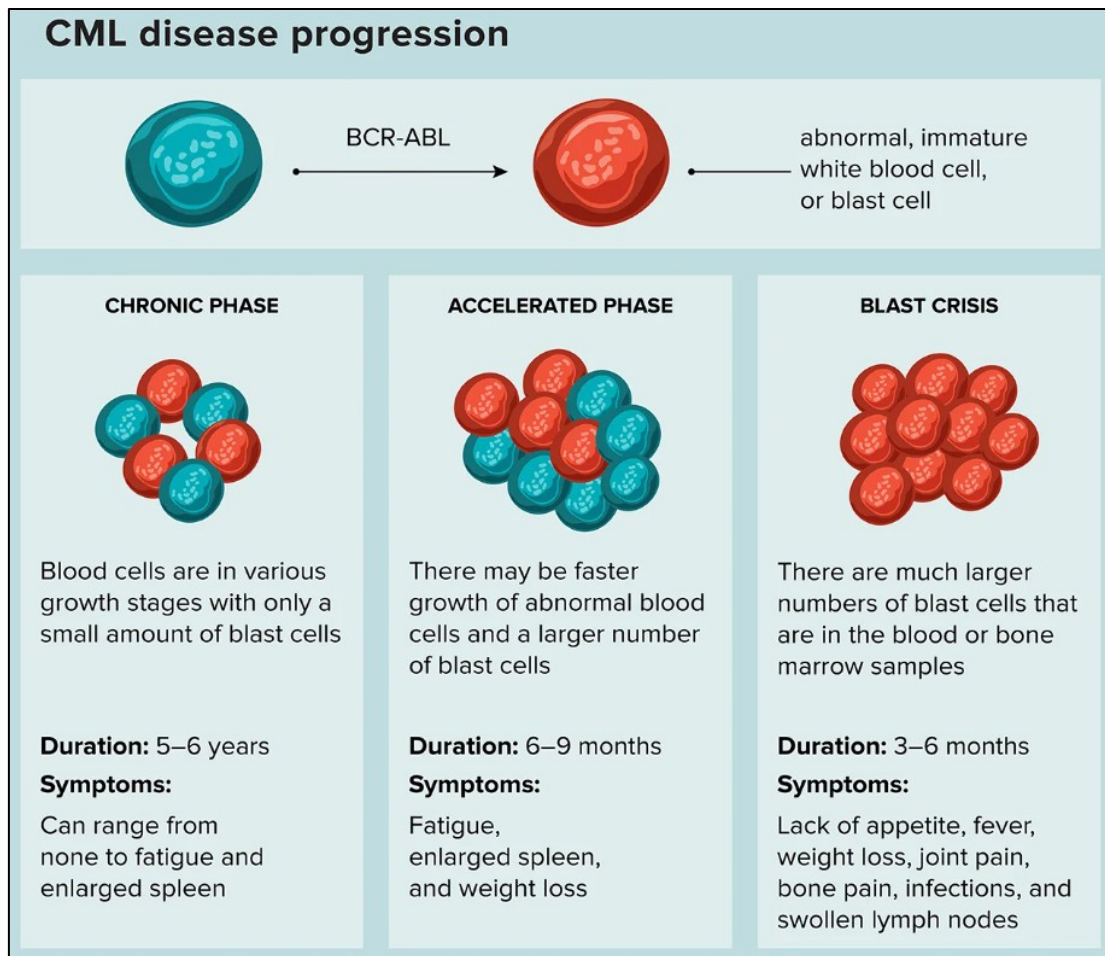
- 75% nemocných je starších 50 let
- mírná predispozice u mužů (1,4:1)



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Fáze onemocnění

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

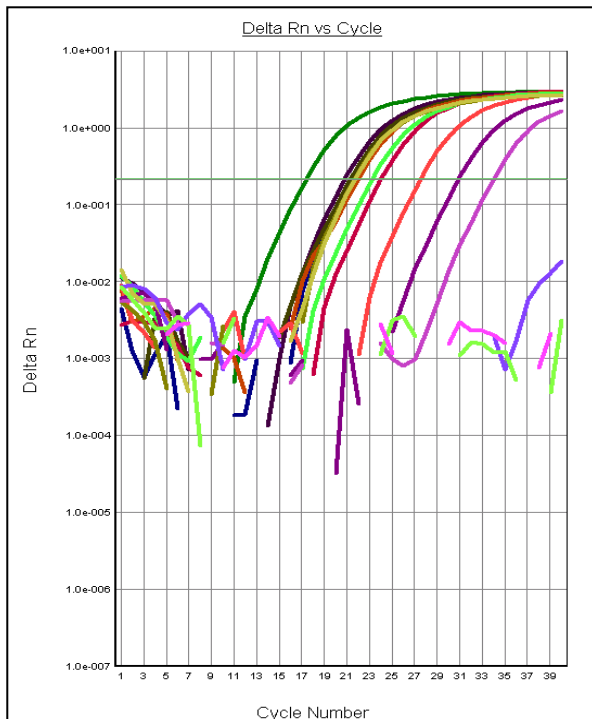




# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Sledování MRD

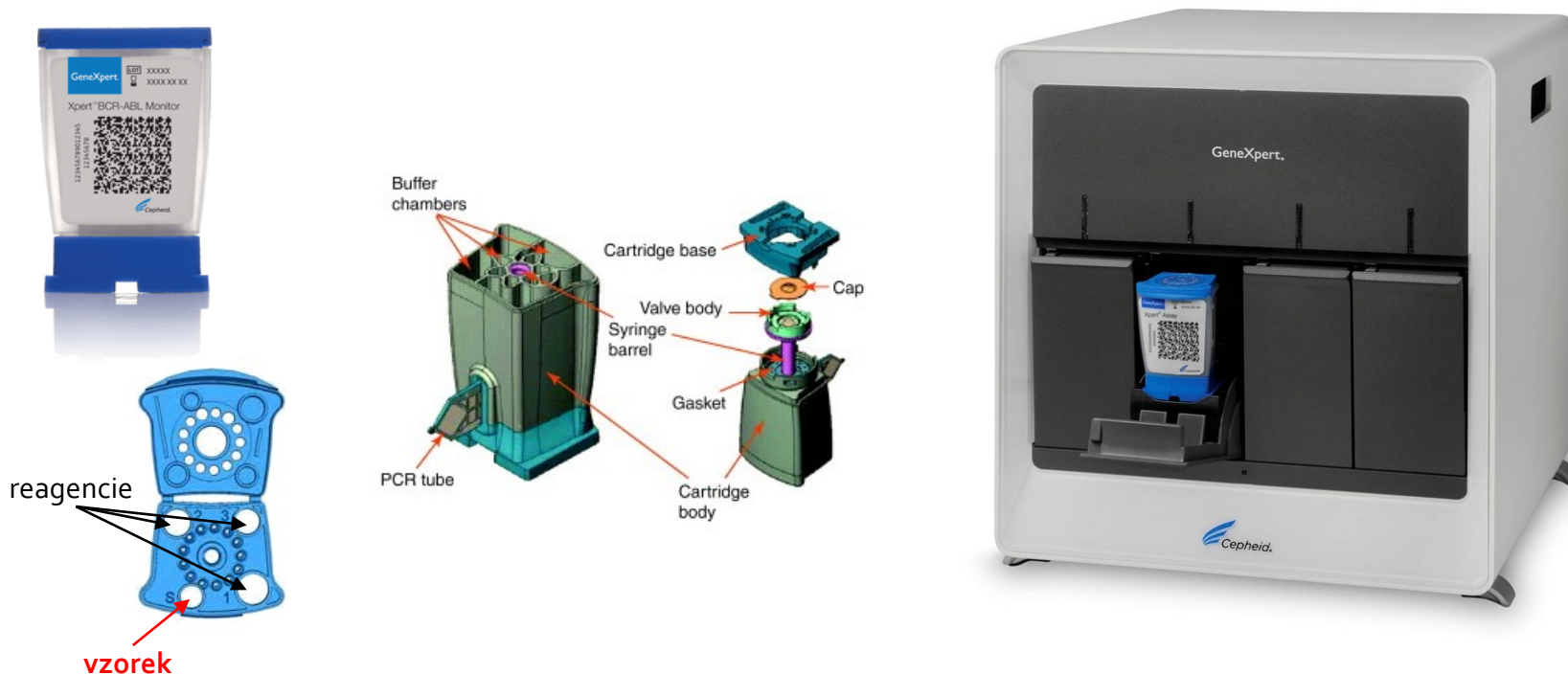
- kvantitativní analýza exprese fúzního transkriptu *BCR/ABL1*
  - rutinně metodou real-time RT-PCR
  - předpokladem je znalost typu zlomu



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Sledování MRD

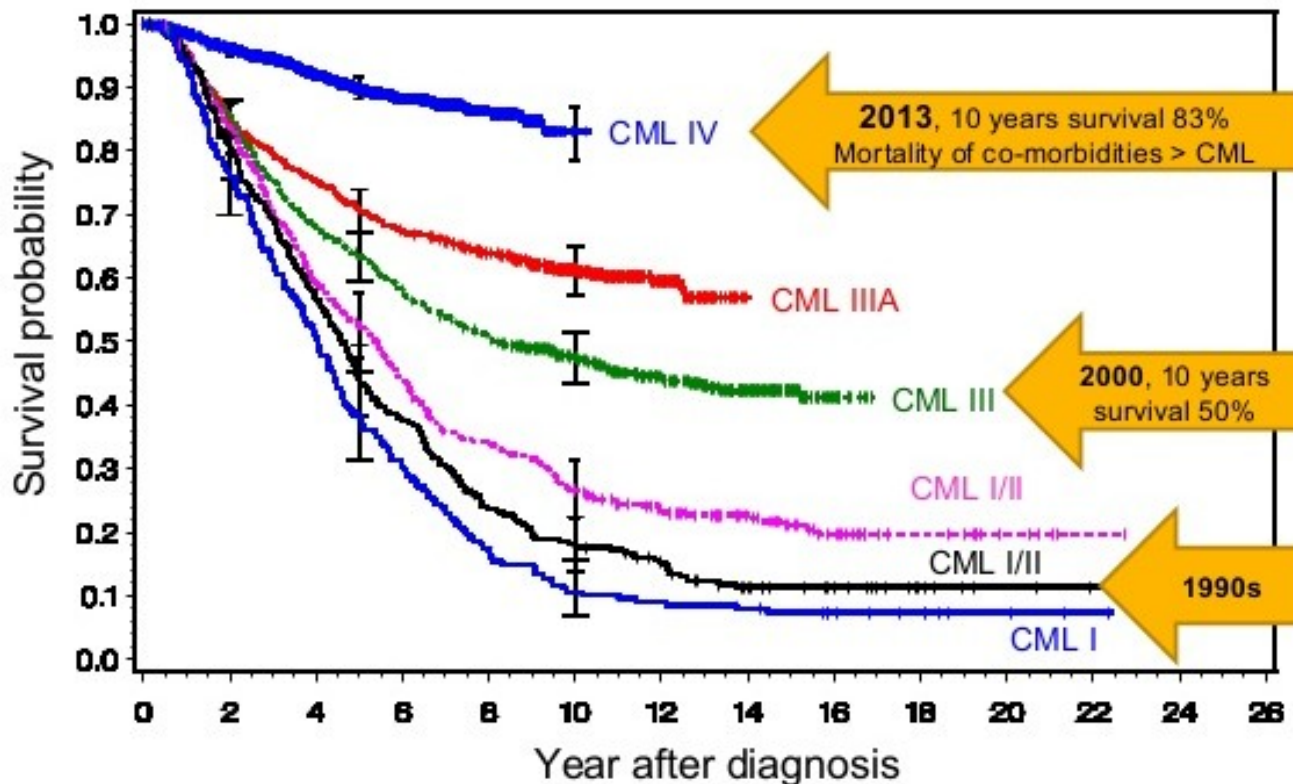
- alternativa k real-time PCR - systém GeneXpert (Cepheid) – uzavřený, cartridge systém
- automatizovaná platforma zahrnující všechno kroky analýzy exprese fúzního transkriptu *BCR/ABL1*
- výsledky analýzy k dispozici za cca 2 hodiny od odběru



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## 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

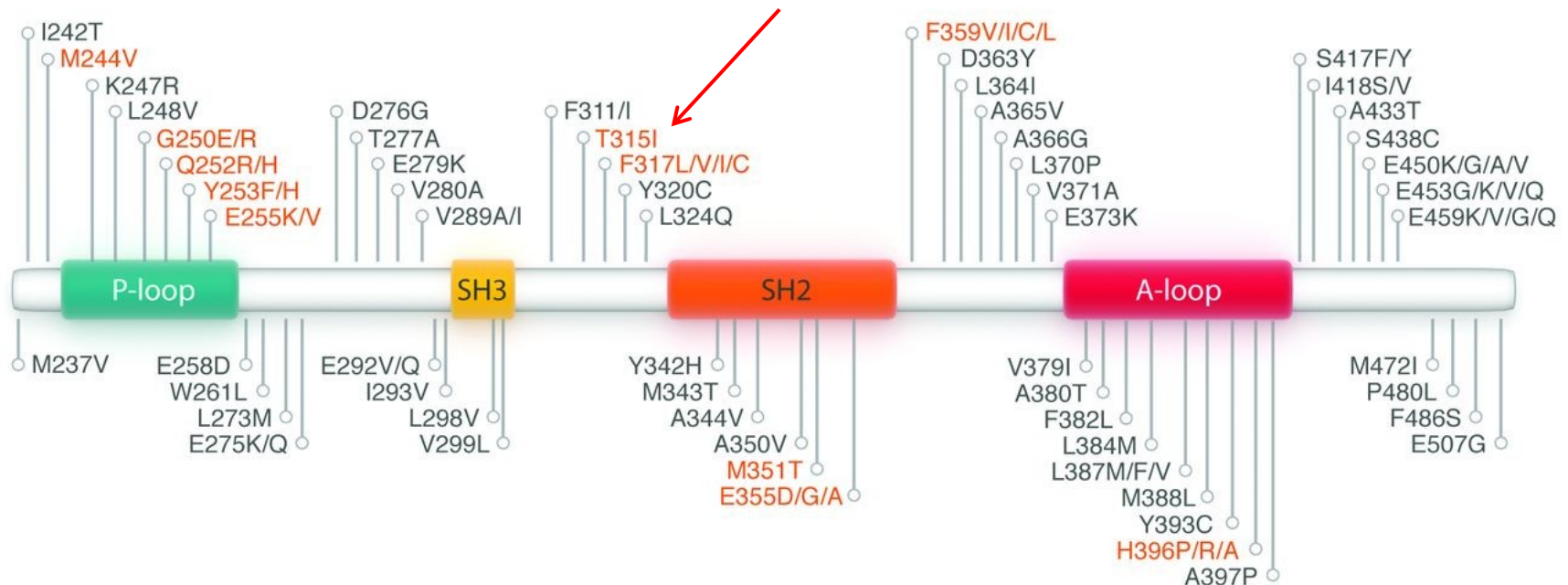
*AP* accelerated phase, *BC* blast crisis, *CML* chronic myelogenous leukemia, *CP* chronic phase, *FDA* Food and Drug Administration, *TKI* tyrosine kinase inhibitor, *US* United States.



# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Rezistence na léčbu (TKI)

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

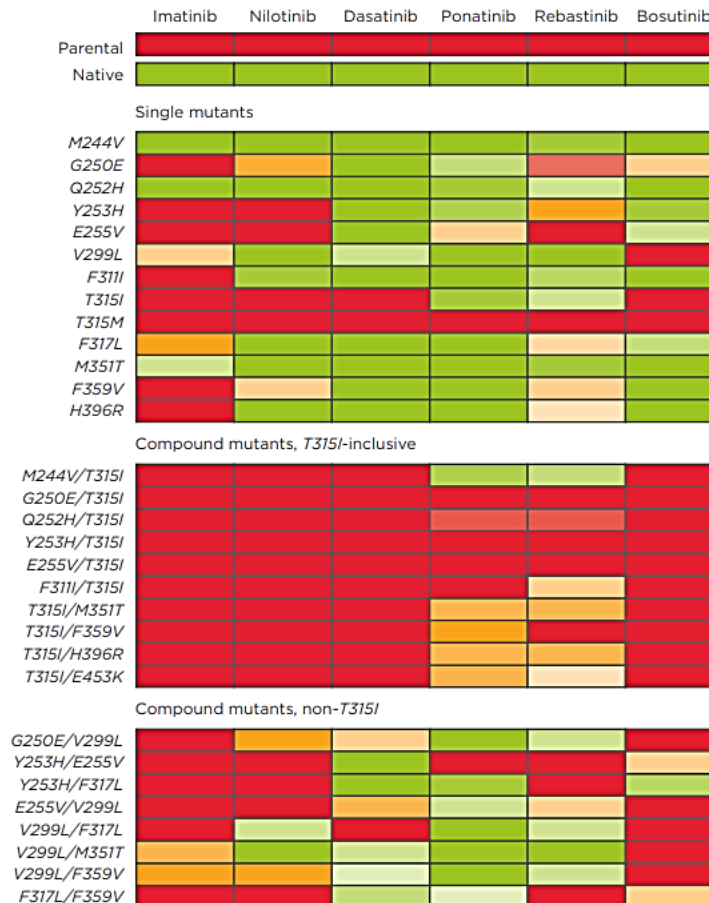


Most frequent mutations, accounting for ~70% of TKI-resistant CML patients

# CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

## Rezistence na léčbu (TKI)

- nejzávažnější mutace: T315I

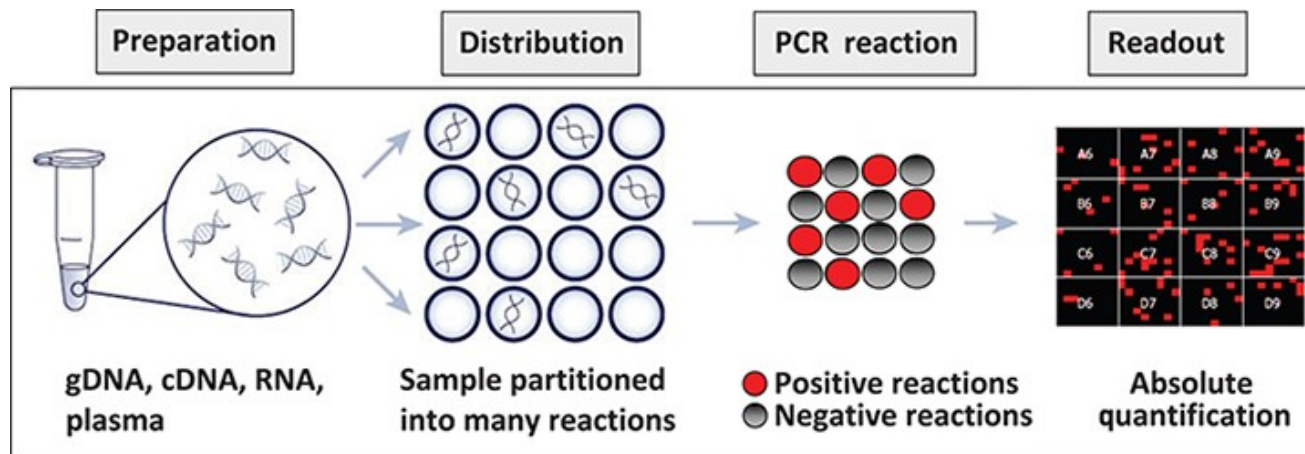


Zdroj: de Lavallade et al., Oncology, 2016.

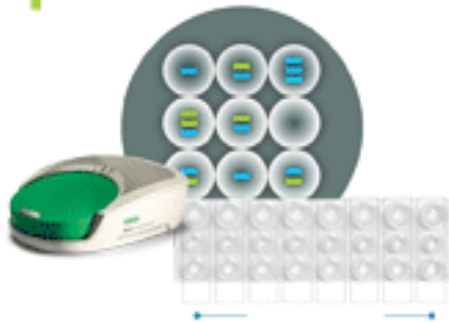
# METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

## Digital PCR (ddPCR)

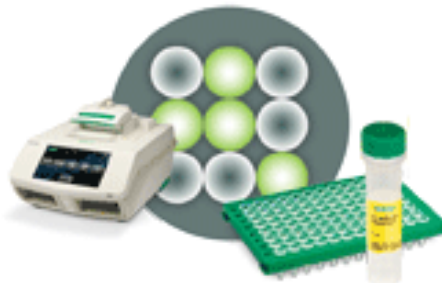
- amplifikace jednotlivých prostorově oddělených molekul NK
- výsledek každé amplifikace se hodnotí zvlášť



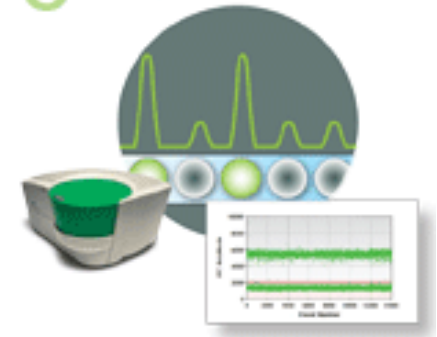
1 Generate droplets



2 Perform PCR with EvaGreen or hydrolysis probes



3 Read and analyze results



QX200 Droplet Digital PCR System (Bio-RAD)

# 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>• Průjmy</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>• Průjmy, 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