

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni



Autoreferát disertační práce

**Prognostický význam molekulárních markerů akutní myeloidní leukémie na výsledek
alogení transplantace krvetvorných buněk**

**The prognostic significance of molecular markers of acute myeloid leukemia on the
outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation**

Michal Karas

Plzeň 2016

Obsah:

Abstrakt	3
Summery	4
1. Úvod a cíl práce	5
1.1 Úvod	5
1.2 Cíl práce	9
2. Pacienti a metodika	10
2.1 Soubor pacientů	10
2.2 Metodika detekce minimální reziduální nemoci	10
2.3 Statistická analýza	11
3. Výsledky	12
3.1 Charakteristika souboru pacientů	12
3.2 Celkové výsledky transplantovaného souboru pacientů	13
3.3 Význam vstupních prognostických markerů na transplantační výsledky	14
3.4 Význam vstupní hladiny reziduální nemoci na transplantační výsledky	16
4. Diskuze	19
5. Závěry	23
6. Použitá literatura	24
7. Přehled publikační činnosti autora	30
7.1 Publikace	30
7.2 Vybraná abstrakta přednášek a posterů publikovaná v periodících	36

Abstrakt

V dizertační práci “ Prognostický význam molekulárních markerů akutní myeloidní leukémie na výsledek alogenní transplantace krvetvorných buněk ” autor řeší následující problematiku:

1. **V literárním přehledu charakterizuje:** epidemiologii, patogenezi, diagnostiku, prognózu a léčbu akutní myeloidní leukémie se zaměřením na zhodnocení různých prognostických markerů ve vztahu ke léčbě akutní myeloidní leukémie především pomocí alogenní transplantace krvetvorných buněk.
2. **V metodické části jsou charakterizovány:**
 - a) Soubor nemocných a použité klinické hodnocení :
 - Detailní charakteristika 60 pacientů s akutní myeloidní leukémií s normálním karyotypem a mutací NPM1 genu v kompletní remisi, kteří podstoupili alogenní transplantaci krvetvorných buněk na Hematologicko-onkologickém oddělení FN Plzeň v letech 2005-2014. Součástí charakteristiky je i zhodnocení dalších parametrů základního onemocnění a detailní popis transplantačních postupů (výběr dárce, typ předtransplantační přípravy atd.).
 - b) Období a způsob odběru materiálu ke stanovení hladiny minimální reziduální nemoci před transplantací. Popis metody způsobu detekce hladiny minimální reziduální nemoci na základě detekce relativní exprese mutovaného NPM1 genu pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce.
 - c) Použité statistické metody zpracování.
3. **Ve výsledkové části autor prokázal, že:**
 - a) Hladina minimální reziduální nemoci u pacientů s akutní myeloidní leukémií v kompletní remisi se liší v době těsně před zahájením předtransplantační přípravy.
 - b) Hladina minimální reziduální nemoci u pacientů s akutní myeloidní leukémií v době před alogenní transplantací krvetvorných buněk statisticky signifikantně ovlivňuje transplantační výsledky.
4. **Součástí práce je přehled obsahující literární citace a přehled publikovaných prací autora na dané téma.**

Klíčová slova: akutní myeloidní leukémie, NPM1 mutace, minimální reziduální nemoc, alogenní transplantace krvetvorných buněk

Summery

In this thesis entitled " The prognostic significance of molecular markers of acute myeloid leukemia on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation " the author deals with the following issues:

1. In the literature overview: the author characterizes the epidemiology, patogenesis, diagnostics, prognosis and treatment of acute myeloid leukemia, focusing on evaluation of different prognostic markers in relation to the treatment of acute myeloid leukemia mainly using allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

1. The methodological section characterizes the following:

- a) Groups of patients and methods of clinical evaluation in:
 - Detailed characteristics of 60 patients with acute myeloid leukemia with normal karyotype and NPM1 gene mutations in complete remission who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation on Haematology and oncology department of University Hospital Pilsen in the years 2005-2014. The evaluation of other parameters of the underlying disease, and a detailed description of transplant procedure (donor selection, the type of pre-transplantation preparation etc.) is also part of characteristics.
- b) The timing and method of sampling for evaluation of the level of minimal residual disease before transplantation. Description of the method for detection of the level of minimal residual using assessment of the relative expression of mutated NPM1 gene by quantitative polymerase chain reaction.
- c) The statistical parameters and methods employed

3. In the final section the author demonstrates that:

- a) The level of minimal residual disease in patients with acute myeloid leukemia in complete remission vary before the start of pretransplantation conditioning regimen.
- b) The level of minimal residual disease in patients with acute myeloid leukemia prior to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation statistically significantly affects the transplant results.

4. The thesis provides an overview of relevant literature sources and overview of author's own publications on this particular field.

Key words: acute myeloid leukemia, NPM1 mutation, minimal residual disease, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

1. Úvod a cíl práce

1.1 Úvod

Akutní myeloidní leukémie (AML) je v současné době kurativně léčena intenzivní indukční léčbou, kterou lze obecně dosáhnout asi v 60-80% kompletní remise (KR) onemocnění. Nicméně bez další konsolidační léčby by docházelo u většiny pacientů k relapsu AML. Volba a intenzita konsolidační léčby, kterou v podstatě představuje další chemoterapie nebo alogenní transplantace krvetvorných buněk, pak vychází z řady prognostických faktorů. Mezi tyto faktory lze obecně zařadit faktory související se samotnou AML (cytogenetika, molekulárně genetické markery, léčebná odpověď atd.) a faktory, které souvisí se samotným pacientem (věk, celkový stav, komorbidita). Přestože se samotná strategie a složení kurativní léčby v posledních 20 letech v případě AML zásadně nezměnily, došlo v poslední dekádě ke zlepšení léčebných výsledků díky detailnějšímu poznání biologie AML a stejně tak díky zlepšení podpůrné léčby, které umožňuje zvládat dříve fatální komplikace intenzivní chemoterapie nebo alogenní transplantace [1-3]. V rámci poznání samotné biologické podstaty AML se z klinického hlediska jeví jako nejdůležitější zhodnocení prognózy AML na základě cytogenetických změn v leukemických blastech a díky rozvoji molekulárně genetických diagnostických metod pak průkaz molekulárně genetických změn, z nichž u některých byl doložen jejich význam pro další stratifikaci prognózy AML [4-8]. Současně byl v rámci řady studií upřesňován význam alogenní transplantace krvetvorných buněk v léčbě AML [9-13].

V posledních letech pak v rámci léčby akutní myeloidní leukémie je díky rozvoji diagnostických metod stále více využívána ke zhodnocení léčebných výsledků detekce minimální reziduální nemoci (MRN). Současně se na základě publikovaných prací ukazuje, že dosažená hladina MRN prognosticky upřesňuje úspěšnost a efektivitu intenzivní cytostatické léčby AML. Nicméně zatím s výjimkou akutní promyelocytární leukémie nejsou výsledky detekce MRN součástí standardních léčebných doporučení, i když publikovaná data stále více podporují význam stanovení MRN u AML [14]. K definitivnímu zařazení stanovení MRN do léčebných schémat je nutné finálně definovat odpovědi na tyto otázky: co by mělo být monitorováno, jaká metodika by měla být použita, jaký materiál, zda je použitá metodika standardizována mezi laboratořemi, jak definovat prognostické hladiny, kdy má být minimální reziduální nemoc monitorována a jaké máme léčebné možnosti u pacientů s prokazovanou MRN [15]. K uvedeným otázkám prozatím chybí definitivní odpovědi, které by umožnily zařazení výsledků stanovení MRN do léčebných algoritmů u AML. Dosud publikovaná data však již alespoň částečně ukazují na zřejmě zásadní význam monitorace MRN v případě intenzivní cytostatické léčby AML. K monitoraci minimální reziduální nemoci se v současné době využívají nejčastěji dvě metody, mezi které patří kvantitativní polymerázová řetězová reakce (RT-PCR) a multiparametrová průtoková cytometrie (MFCM). K molekulárním markerům AML, které umožňují monitoraci MRN s citlivostí $1:10^5-10^6$ pomocí RT-PCR, patří fúzní geny (RUNX1-RUNX1T1, CBF β -MYH11 atd.). Právě v případě AML s příznivou prognózou tzn. s AML s t(8;21) nebo s inv(16) či t(16;16) tzn. fúzními geny RUNX1-RUNX1T1, CBF β -MYH11 lze očekávat při léčbě samotnou chemoterapií asi 60-70% pravděpodobnost dlouhodobé kontroly AML. Nicméně část pacientů přes příznivou prognózu této skupiny AML relabuje a stanovení a monitorace MRN by mohla v tomto případě pomoci definovat část pacientů, u nichž standardní samotná chemoterapie bude spojena s vyššími riziky selhání léčby a tito pacienti by mohli být i přes obecně příznivou prognózu „své“ AML indikováni k alogenní transplantaci případně v rámci monitorace k časné léčebné intervenci. Dosud publikovaná data u tohoto typu leukémií uvedené předpoklady podporují [16,17]. Výsledky monitorace pomocí RT-PCR u 278

pacientů s AML s t(8;21) nebo inv(16)/t(16;16) léčených v rámci studie MRC AML-15 ukázaly, že pokles MRN po indukční léčbě predikuje riziko relapsu AML (viz. tabulka 1 a 2), podobně jako pokles MRN po dalších cyklech chemoterapie. V rámci monitorace MRN po ukončení léčby AML byl doložen význam hladiny prokazované MRN na riziko relapsu i celkové přežití (viz. tabulka 3 a 4) [17].

Tabulka 1. Kumulativní riziko relapsu u AML s t(8;21) dle poklesu hladiny MRN po indukčním cyklu léčby [17]

Pokles MRN vyšetřením z BM	Kumulativní incidence relapsu
< 1 log	100%
1-2 log	42%
2-3 log	30%
>3 log	4%

Tabulka 2. Kumulativní riziko relapsu u AML s inv(16)/t(16;16) dle poklesu hladiny MRN po indukčním cyklu léčby [17]

MRN vyšetřením z PB	Kumulativní incidence relapsu
> 500 kopií	100%
10-500 kopií	56%
< 10 kopií	21%

Tabulka 3. Riziko relapsu a celkové přežití u AML s t(8;21) dle hladiny MRN po ukončení léčby a v průběhu další monitorace cyklu léčby [17]

Hladina MRN (BM)	Riziko relapsu	Předpokládané přežití
> 500 kopií	100%	57%
< 500 kopií	7%	94%

Tabulka 4. Riziko relapsu a celkové přežití u AML s inv(16)/t(16;16) dle hladiny MRN po ukončení léčby a v průběhu další monitorace cyklu léčby [17]

Hladina MRN (BM)	Riziko relapsu	Předpokládané přežití
> 50 kopií	100%	25%
< 50 kopií	10%	100%

Pomocí fúzních genů lze monitorovat MRN u maximálně 25% AML. Využití monitorace MRN pomocí RT-PCR rozšiřuje možnost kvantifikace dalších molekulárních genových mutací prokazovaných u AML (FLT3/ITD, NPM1, MLL/PTD, DNMT3A atd.) s podobnou hloubkou citlivosti jako u fúzních genů. Nicméně zde hraje klíčovou roli stabilita dané mutace v průběhu onemocnění, kdy například v případě využití FLT3/ITD je uváděna velká nestabilita při srovnání výsledků z doby diagnózy AML a relapsu AML [18,19]. Podobně může být problematická monitorace MRN pomocí MLL/PTD, protože na nízkých hladinách

je uvedena mutace prokazována u téměř většiny zdravých lidí [20]. Naopak monitorace frekventní (40-60% AML s normálním karyotypem) mutace NPM1 genu se jeví díky stabilitě mutace a vysoké expresi mutovaného NPM1 genu jako ideální marker pro monitoraci MRN pomocí RT-PCR u AML [21]. Řada publikovaných prací pak dokládala význam monitorace NPM1 mutace k upřesnění prognózy AML s mutací NPM1 genu [21-24]. Průkaz NPM1 mutace po skončení indukční fáze léčby, po skončení konsolidace a průkaz více než 2% NPM1/ABL v průběhu následné monitorace byl hodnocen jako nejsilnější nezávislý prognostický faktor pro riziko relapsu a celkové přežití u AML s NPM1 mutací (viz. tabulka 5,6,7) [23].

Tabulka 5. Riziko relapsu a celkové přežití u AML s NPM1 mutací dle hladiny MRN po ukončení indukční léčby [23]

Hladina MRN (BM)	Riziko relapsu	Předpokládané přežití
NPM1 negat.	6,4%	87%
NPM1 pozit.	53,0%	41%

Tabulka 6. Riziko relapsu a celkové přežití u AML s NPM1 mutací dle hladiny MRN po ukončení konsolidační léčby [23]

Hladina MRN (BM)	Riziko relapsu	Předpokládané přežití
NPM1 negat.	15,7%	80%
NPM1 pozit.	66,5%	44%

Tabulka 7. Riziko relapsu u AML s NPM1 mutací dle hladiny MRN v průběhu monitorace po ukončení konsolidační léčby [23]

Hladina MRN (BM)	Riziko relapsu
< 200 kopií NPM1 /10000 kopií ABL	0%
> 200 kopií NPM1 /10000 kopií ABL	100%

Kromě využití kvantifikace fúzních genů či kvantifikace vybraných pro leukémii specifických genových mutací lze k monitoraci MRN pomocí RT-PCR u AML využít i genů, u kterých je v době diagnózy AML prokazována jejich zvýšená exprese (WT1, BAALC, atd.). Na rozdíl od výše uvedených možností v případě sledování exprese genů je stanovení MRN limitováno nižší senzitivitou, protože uvedené geny jsou v malém množství prokazovány i u zdravých jedinců. I přes tuto limitaci publikovaná data dokladují, že monitorace zvýšené exprese genů pomocí RT-PCR umožňuje predikovat riziko relapsu a dlouhodobé přežití u AML [25-27]. Nejvíce publikovaných prací je věnováno významu exprese WT1 v genu, který je navíc využitelný pro monitoraci MRN u více než 70% AML [28]. Využitím standardizované metodiky RT-PCR v rámci projektu evropské skupiny pro studium leukémií „European Leukemianet“ byl pokles exprese WT1 genu o 2 řády po indukční léčbě vyhodnocen jako nezávislý prognostický faktor pro riziko relapsu. Podobně průkaz nad normu zvýšeného počtu kopií WT1 genu vyšetřením z kostní dřeně (>250 kopií WT1 genu/10000 kopií ABL genu) nebo periferní krve (>50 kopií WT1 genu/10000 kopií ABL genu) těsně po skončení konsolidační léčby nezávisle predikoval vyšší riziko následného relapsu [26].

MFCM je další senzitivní vyšetřovací metodou, která může být a je využívána k detekci submikroskopické MRN u pacientů s AML. Její výhodou oproti RT-PCR, která je nejsenzitivnějším způsobem detekce MRD limitovaným však využitelností jen u cca 50-60% AML, je možnost jejího využití u více než 80% nemocných s AML. K dalším výhodám MFCM patří možnost relativně rychlého provedení, rozlišení mrtvých a živých buněk a uspokojivá senzitivita. Monitorace MRN pomocí MFCM využívá detekce patologické exprese povrchových antigenů na leukemických buňkách a jejich kombinace. Patologická kombinace znaků na leukemických buňkách se nazývá imunofenotypem asociovaným s leukémií. Právě využití současné detekce několika různých antigenů na jedné buňce díky MFCM umožňuje dosažení citlivosti metodiky 1:10000-100000 [15,29]. Určitou limitací MFCM je skutečnost, že v době diagnózy je v případě AML detekováno několik patologických s leukémií spojených imunofenotypů a v rámci monitorace MRN je třeba vyšetření všech vstupních patologických klonů k minimalizaci nepřesných výsledků a to i vzhledem ke skutečnosti, že v případě relabující AML může dojít u části případů ke změně vstupního patologického imunofenotypu [30,31]. Podobně jako u monitorace MRN pomocí RT-PCR publikované práce dokládají prognostický význam stanovení MRN využitím MFCM ke zhodnocení rizika relapsu a šance na dlouhodobé přežití nemocných s AML [32-34]. Například práce hodnotící MRN u AML pomocí MFCM u 100 uniformně léčených pacientů doložila nezávislý statistický prognostický význam MRN v období po indukci a po konsolidaci ve smyslu predikce přežití bez relapsu a celkového přežití (viz. tabulka 8,9). Důležitým a zajímavým zjištěním této práce byl též fakt, že pacienti, kteří měli po indukci detekovanou MRN s následnou její negativitou po konsolidaci měli srovnatelné přežití bez relapsu a celkové přežití jako pacienti s negativní MRN již po indukční léčbě [34].

Tabulka 8. 5 leté přežití bez relapsu a celkové přežití u AML dle pozitivity či negativity MRN (limit 0,035%) za využití její detekce pomocí MFCM po skončení indukční léčby [34]

Hladina MRN (BM)	Přežití bez relapsu	Celkové přežití
MRN negat.	51%	48%
MRN pozit.	22%	25%

Tabulka 9. 5 leté přežití bez relapsu a celkové přežití u AML dle pozitivity či negativity MRN (limit 0,035%) za využití její detekce pomocí MFCM po skončení konsolidační léčby [34]

Hladina MRN (BM)	Přežití bez relapsu	Celkové přežití
MRN negat.	71%	64%
MRN pozit.	13%	16%

Mnohem méně je známo, na rozdíl od standardní chemoterapie, o významu MRN v případě léčby AML alogenní transplantací krvetvorných buněk. Léčebný efekt alogenní transplantace krvetvorných buněk závisí nejen na intenzitě předtransplantační cytostatické přípravy, ale především pak na potransplantačním imunologickém efektu imunokompetentních buněk štěpu, tzv. reakci štěpu proti leukémii, který zásadně ovlivňuje léčebný význam alogenní transplantace ve smyslu snížení rizika relapsu AML [35,36]. Tento imunitní efekt je natolik účinný, že alogenní transplantace krvetvorných buněk doložila svou účinnost i v případě chemorezistentní AML, kdy bylo reportováno dosažení dlouhodobého přežití u 20% až 30% pacientů [37,38]. S ohledem na dokladovanou účinnost alogenní transplantace v léčbě AML zčásti efektivní i v případě selhání cytostatické léčby a rezistenci AML, pak pochopitelně

vzniká otázka, zda celkem logický a publikačně opakovaně doložený fakt o prognostickém významu stanovení MRN v případě standardní cytostatické léčby AML, lze využít též v rámci alogenní transplantace jako další potenciální prognostický faktor upřesňující výsledek transplantace. Většina pacientů s AML podstupuje alogenní transplantaci v kompletní remisi onemocnění tedy v době, kdy eventuální reziduální onemocnění je řádově nižší než u rezistentní AML a vzhledem k uváděné efektivitě reakce štěpu proti hostiteli je tedy zásadní otázkou, zda stanovení MRN u AML v kompletní remisi před alogenní transplantací může podobně jako u intenzivní chemoterapie přinést prognostickou informaci o výsledku transplantační léčby. Dosud publikované práce obvykle využívající k detekci MRN MFCM ukazují, že stanovení hladiny MRN před alogenní transplantací může mít prognostický význam pro výsledek transplantace. Limitací těchto publikací je však obvykle menší velikost souboru pacientů, zastoupení různých typů AML, různá diagnostická metodika stanovení MRN a také fakt, že ne všechny práce prognostický význam MRN dokládají [39-45].

1.2 Cíl práce

Stanovení hladiny minimální reziduální nemoci u AML se jeví na základě dosud publikovaných prací jako významný prognostický marker v léčbě AML, nicméně význam jejího stanovení, a to především v kontextu alogenní transplantace krvetvorných buněk, nebyl zatím jednoznačně ověřen.

S cílem ověřit a zhodnotit potenciální význam stanovení hladiny MRN před alogenní transplantací krvetvorných buněk u pacientů v kompletní remisi AML byly analyzovány transplantační výsledky pacientů v první nebo druhé kompletní remisi AML s normálním karyotypem a přítomností mutace NPM1 genu, kteří podstoupili alogenní transplantaci a u kterých jsme jako marker monitorace MRN využili zhodnocení relativní exprese mutovaného genu NPM1 pomocí RT-PCR těsně před transplantací. Význam hladiny MRN na transplantační výsledky byl hodnocen v kontextu dalších známých prognostických markerů ovlivňujících výsledek alogenní transplantace krvetvorných buněk.

2. Pacienti a metodika

2.1 Soubor pacientů

Soubor pacientů je tvořen všemi nemocnými staršími 18 let, u kterých byla na Hematologicko-onkologickém oddělení FN Plzeň diagnostikována AML s normálním karyotypem a průkazem mutace NPM1 genu (typu A, B a D) a kteří v období 1/2005 až 9/2014 podstoupili alogenní transplantaci krvetvorných buněk v 1. nebo 2. kompletní remisi onemocnění. Diagnóza AML byla stanovena na základě WHO klasifikace 2008 [46] a všichni nemocní měli v době diagnózy provedeno cytogenetické vyšetření pomocí G-pruhování. Přítomnost a typ mutace genu NPM1 byla stanovena pomocí sekvenčního vyšetření včetně vyšetření vstupní relativní exprese mutovaného NPM1 genu. U všech pacientů byla též v rámci vyšetření molekulárně genetických markerů stanovena přítomnost FLT3/ITD v době diagnózy. Hodnocení stavu kompletní remise AML bylo prováděno na základě standardních doporučení [47]. HLA typizace dárce a příjemce byla prováděně pro HLA-A, B, C a DRB1, DQB1 pomocí SSP-PCR s nízkou rezolucí v případě příbuzných a s vysokou rezolucí v případě nepříbuzných dárců v EFI akreditované laboratoři, kdy od roku 2008 bylo v případě nepříbuzného dárce prováděno též sekvenční vyšetření. Diagnóza akutní a chronické GVHD byla stanovena na základě publikovaných kritérií [48,49]. U všech pacientů po transplantaci byly hodnoceny celkové přežití (OS), přežití bez události (EFS), transplantační mortalita (TRM) a incidence relapsu. Všichni pacienti byli léčeni na základě standardních protokolů schválených radou kvality JACIE akreditovaného pracoviště a všichni pacienti vyslovili na základě Helsinské deklarace informovaný souhlas s monitorací a zpracováním dat.

2.2 Metodika detekce minimální reziduální nemoci

Odběr vzorku kostní dřeně včetně zaslání materiálu ke stanovení MRN proběhl u všech pacientů do týdne před zahájením předtransplantační přípravy. Izolace RNA ze zasláního vzorku kostní dřeně proběhla za použití komerčního kitu QIAamp RNA Blood Mini Kit (Qiagen), cDNA byla syntetizována z 500 ng RNA pomocí komerčního kitu SuperScript III First Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen).

Kvantitativní „real-time“ PCR ze získaných vzorků proběhla za použití NPM1Quant kit (Isogen SA, Marseille, France). Kalibrační křivky pro kvantitativní zhodnocení počtu kopií sledovaného NPM1 mutovaného genu a kontrolního ABL genu byly stanovovány za využití s kitem dodávaných standardů v rámci každé analýzy. Všechny vzorky byly analyzovány v duplikátech a jejich průměr byl použit pro další výpočet. V případě diskrepance Ct hodnoty mezi dvěma vzorky > 0,6 cyklu byla analýza opakována. Exprese kontrolního genu ABL musela být minimálně 3000 kopií. Výsledky exprese mutovaného NPM1 genu byly vydávány jako počet kopií mutovaného NPM1 genu vztaženého na 10000 kopií kontrolního ABL genu. Amplifikace a data analýza proběhla na přístroji Light Cycler 1,5 nebo 2.0 (Roche Applied Science, Mannheim, Germany). Vyšetření probíhalo v akreditované molekulárně genetické laboratoři a samotná metodika relativní kvantifikace mutovaného NPM1 genu byla pravidelně verifikována, validována a kontrolována v rámci externích mezilaboratorních kontrol kvality (SEKK, ÚHKT ČR).

2.3 Statistická analýza

Statistická analýza dat byla provedena s využitím programu S.A.S. a STATISTICA (StatSoft, Inc Tulsa, OK, USA).

Deskriptivní statistika souboru pacientů byla počítána za užití standardních statistických metod (chi-kvadrát test, Fisherův exaktní test, t-test). Celkové přežití (OS) byl kalkulováno od data transplantace do úmrtí z jakékoliv příčiny a přežití bez události a přežití bez události (EFS) bylo kalkulováno od data transplantace do doby relapsu či nebo úmrtí. Žijící pacienti byli cenzorováni v době jejich poslední kontroly. Odhad funkcí přežití byl počítán metodou Kaplan-Meiera (life-product). Léčebná mortalita (TRM) byla definována jako úmrtí z příčin nesouvisejících s relapsem onemocnění. Odhad kumulativní incidence TRM a relapsu byla hodnocen metod konkurujících si rizik. K univariační analýze k zhodnocení rozdílu mezi jednotlivými skupinami pacientů byl použit long-rank test a Wilcoxonův test. K multivariační analýze byl počítán Coxův model proporcionálních rizik dle různých kritérií. Pro stanovení statistické významnosti byla použita hladina $\alpha = 0,05$.

3. Výsledky

3.1 Charakteristika souboru pacientů

Hodnocený soubor pacientů, který splňuje výše uvedená kritéria, představuje 60 transplantovaných pacientů (32 žen, 28 mužů) s mediánem věku 54 let (rozmezí 30-66 let) s AML s normálním karyotypem a průkazem mutace genu NPM1. U 32 (53%) pacientů byla v době diagnózy prokazována přítomnost FLT3/ITD. Všichni pacienti podstoupili alogenní příbuzenskou (27%) nebo nepříbuzenskou (73%) transplantaci krvetvorných buněk v 1.kompletní (75%) nebo 2.kompletní (25%) remisi AML. 44 (73%) pacientů podstoupilo alogenní transplantaci krvetvorných buněk po redukované přípravě a 16 (27%) pacientů po myeloablativní přípravě. V případě redukované přípravy byla používána kombinace cytostatik fludarabinu (30mg/m²/den, 4dny) a melfalanu (140 mg/m²/den, 1 den) a v případě myeloablativní přípravy pak kombinace i.v.busulfanu (3,2 mg/kg/den, 4 dny) a cyklofosfamidu (60mg/kg/den, 2 dny), které byly u nepříbuzných dárců doplněny o podání ATG (ATG Fresenius S v celkové dávce 15mg/kg). Zdrojem krvetvorných buněk byla u 12 (20%) pacientů kostní dřev a u 48 (80%) pacientů periferní krvetvorné buňky. V době transplantace byl WHO celkový stav u všech pacientů 0-1. Medián sledování po transplantaci u žijících pacientů byl 55 měsíců (rozmezí 6-101 měsíců). Jako profylaxe rozvoje nemoci z reakce štěpu proti hostiteli byla u všech pacientů podávána kombinace cyklosporinu A a metotrexátu. Charakteristiky souboru jsou shrnuty v tabulce 10.

Tabulka 10. Charakteristika souboru pacientů

Charakteristika	
Medián věku (rozmezí), roky	54 (30-66)
Pohlaví, n (%)	
Muži	32 (53%)
Ženy	28 (47%)
Stav AML, n (%)	
1.KR	45 (75%)
2.KR	15 (25%)
Pozitivita FLT3/ITD, n (%)	32 (53%)
Typ přípravy, n (%)	
Myeloablativní	16 (27%)
Redukovaná	44 (73%)
Typ dárce, n (%)	
Příbuzný	16 (27%)
Nepříbuzný	44 (73%)
Pohlaví příjemce/dárce, n (%)	
Muž/žena	12 (20%)
Ostatní	48 (80%)
CMV stav příjemce/dárce, n (%)	
Negativní/negativní	6 (10%)

Ostatní	54 (90%)
Zdrok krvetvorných bb., n (%)	
Kostní dřev	12 (20%)
Periferní krvetvorné bb.	48 (80%)
WHO celkový stav, n (%)	
0-1	60 (100%)
≥ 2	0 (0%)

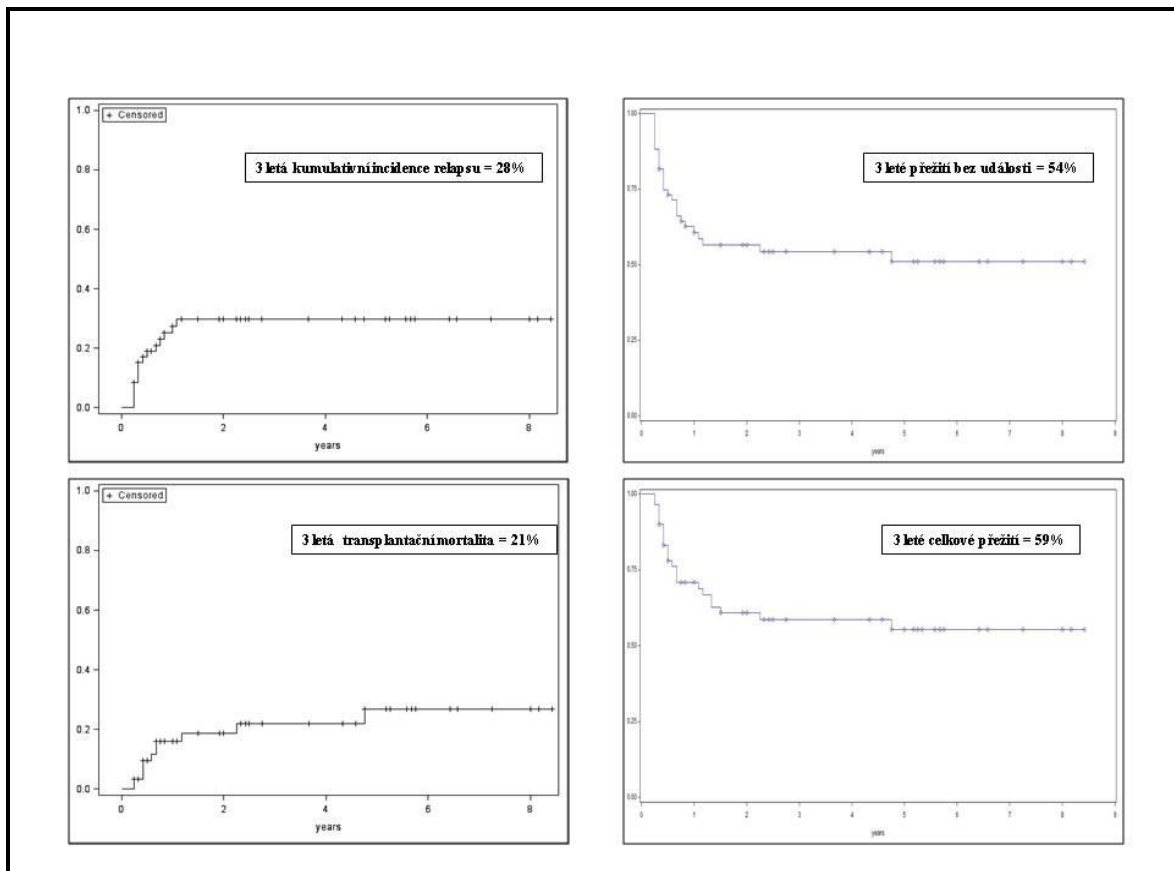
3.2 Celkové výsledky transplantovaného souboru pacientů

U všech pacientů po transplantaci došlo k přihojení štěpu a v den +30 po transplantaci u všech trvala kompletní remise AML. K rozvoji akutní nemoci z reakce štěpu proti hostiteli došlo u 36 (60%) pacientů, k rozvoji akutní GVHD stádia III-IV pak u 8 (13%) pacientů. Chronická GVHD byla diagnostikována u 24 (40%) pacientů. Jednalo se ve 12 případech o lehké, v 8 případech středně těžké a v 4 případech o těžké stádium chronické GVHD. S mediánem sledování žijících pacientů 55 měsíců (rozmezí 6-101 měsíců) žilo v době analýzy 36 (60%) pacientů. V celém souboru 16 (27%) pacientů zrelabovalo. Medián doby od transplantace do relapsu byl 4 měsíce (rozmezí 3-13 měsíců). 13 pacientů z důvodu relapsu zemřelo, 1 pacient žije v relapsu AML a 2 dosáhli další kompletní remise, která u nich trvá 51 a 61 měsíců. Z důvodu transplantační mortality zemřelo 11 (18%) pacientů. Hlavní příčinou úmrtí (64% případů TRM) byla infekční komplikace ve spojitosti s akutní nebo chronickou GVHD. Transplantační mortalita do 1 roku byla 13%. Předpokládaný 3 letý EFS, OS, kumulativní incidence TRM a relapsu byly u celé skupiny 54%, 59%, 21% a 28%. Transplantační výsledky celého souboru pacientů jsou shrnuty v tabulce 11 a obrázku 1.

Tabulka 11. Transplantační výsledky celého souboru pacientů

Charakteristika	
Akutní GVHD, %	60%
Akutní GVHD III-IV, %	13%
Chronická GVHD, %	40%
Lehká chronická GVHD, %	20%
Středně těžká chronická GVHD,%	13%
Těžká chronická GVHD, %	7%
3 letá kumulativní incidence relapsu,%	28%
3 letá kumulativní transplantační mortalita, %	21%
3 letý EFS	54%
3 letý OS	59%

Obrázek 1. Odhad kumulativní incidence relapsů, TRM, EFS a OS ve 3 letech



3.3 Význam vstupních prognostických markerů na transplantační výsledky

V rámci uvedených celkových výsledků jsme se následně snažili ověřit význam jednotlivých vstupních předtransplantačních faktorů na transplantační výsledky ve smyslu ovlivnění EFS a OS. K hodnoceným vstupním faktorům patřil věk pacienta, stav základního onemocnění, přítomnost FLT3/ITD v době diagnostiky AML, typ a pohlaví dárce, CMV stav dárce a příjemce, zdroj krvetvorných buněk, typ předtransplantační přípravy a pozitivita reziduální nemoci před zahájením předtransplantační přípravy. V rámci univariační analýzy uvedených vstupních prognostických faktorů pouze věk nad 63 let a hladina reziduální nemoci (nejvyšší statistická významnost při hladině > 10 kopií NPM1 mutovaného genu na 10000 kopií ABL genu) prokazovaly statisticky signifikantní negativní vliv na EFS a OS. Trend k negativnímu ovlivnění EFS a OS pak měla provedení transplantace v 2.KR AML a kombinace pozitivního sérologického stavu CMV stavu dárce i příjemce. Univariantní analýza faktorů ovlivňujících EFS a OS je shrnuta v tabulkách 12 a 13.

Tabulka 12. Univariační analýza faktorů ovlivňujících EFS

Faktor	HR	95%CI	p
Věk > 63 let	3,40	1,24-9,62	0,0341
NPM1 > 10 kopií/10000kopií ABL	3,69	1,60-8,51	0,0021
FLT3/ITD pozit.	1,29	0,60-2,78	0,51
KR2 vs KR1	1,72	0,77-3,87	0,19
Redukovaná vs. myeloablat. příprava	1,14	0,48-2,71	0,76
Nepříbuzný vs. příbuzný dárce	0,98	0,42- 2,32	0,97
BM vs PBSC	1,18	0,50-2,81	0,70
Příjemce muž/dárce žena vs. ostatní	1,00	0,38-2,66	0,99
CMV dárce/příjemce pozit. vs. ostatní	2,16	0,97-4,83	0,06

Tabulka 13. Univariační analýza faktorů ovlivňujících OS

Faktor	HR	95%CI	p
Věk > 63 let	5,40	1,82-16,02	0,0071
NPM1 > 10 kopií/10000kopií ABL	3,50	1,40-8,47	0,0034
FLT3/ITD pozit.	1,05	0,47-2,34	0,90
KR2 vs KR1	1,92	0,82-4,49	0,13
Redukovaná vs. myeloablat. příprava	1,71	0,63-4,58	0,29
Nepříbuzný vs. příbuzný dárce	1,22	0,45- 2,83	0,81
BM vs PBSC	1,09	0,43-2,74	0,86
Příjemce muž/dárce žena vs. ostatní	1,77	0,53-5,95	0,35
CMV dárce/příjemce negat. vs. ostatní	1,75	0,76-3,99	0,18

Provedená multivariační analýza za hodnocení uvedených vstupních faktorů potvrdila statisticky signifikantní negativní prognostický vliv věku nad 63 let a hladiny reziduální nemoci (nejvyšší statistická významnost při hladině > 10 kopií NPM1 mutovaného genu na 10000 kopií ABL genu) na EFS a OS. Výsledky multivariantní analýzy jsou shrnuty v tabulce 14 a 15.

Tabulka 14. Multivariační analýza faktorů ovlivňujících EFS

Faktor	HR	95%CI	p
Věk > 63 let	3,40	1,24-9,62	0,0341
NPM1 > 10 kopií/10000kopií ABL	3,69	1,60-8,51	0,0021

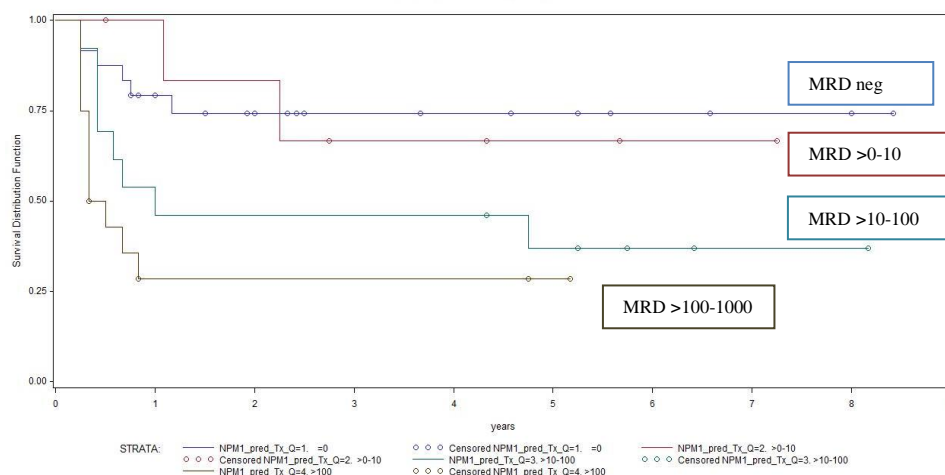
Tabulka 15. Multivariační analýza faktorů ovlivňujících OS

Faktor	HR	95%CI	p
Věk > 63 let	6,23	1,99-19,48	0,0017
NPM1 > 10 kopií/10000kopií ABL	3,71	1,52-9,06	0,0040

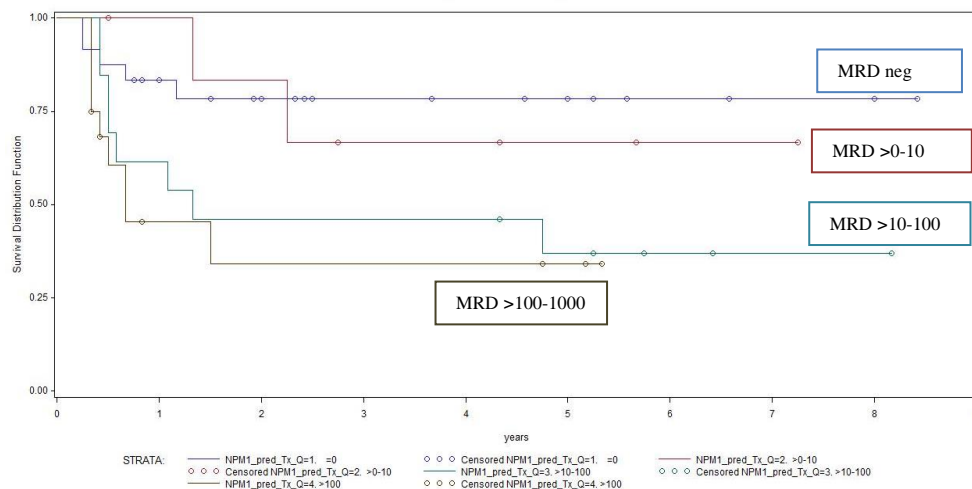
3.4 Význam vstupních hladiny reziduální nemoci na transplantační výsledky

Vzhledem ke znalosti relativní exprese NPM1 mutovaného genu v době diagnózy AML (medián 38245 kopií mutovaného NPM1/10000 kopií ABL, rozmezí 14350-144707 kopií mutovaného NPM1/10000 kopií ABL) bylo pro výběr hodnocení hladiny reziduální nemoci v době před transplantací možno využít 2 způsoby jejího hodnocení. Jednak relativní hodnota exprese mutovaného NPM1 genu v době před transplantací nebo zhodnocení poklesu relativní exprese mutovaného NPM1 mezi dobou vstupní diagnostiky AML a relativní exprese v době před transplantací. Vyšší statistické signifikance dosahovalo využití rozdělení hladiny minimální reziduální nemoci na základě samotné hodnoty relativní exprese mutovaného NPM1 genu před transplantací a jako cut off byla vybrána hodnota 10 kopií mutovaného NPM1 genu na 10000 kopií ABL genu, která soubor rozdělovala na 2 skupiny se statisticky nejvýznamnějším rozdílem EFS a OS, i když signifikance bylo dosaženo pro několik hodnot cut off, což ukazuje obrázek 2 a 3.

Obrázek 2. Pravděpodobnost EFS na základě hladiny MRD před transplantací

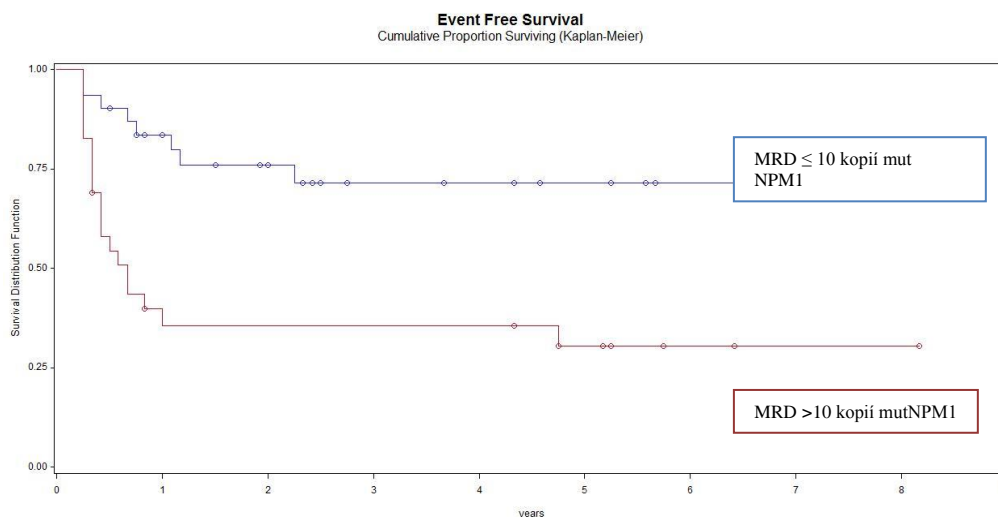


Obrázek 3. Pravděpodobnost OS na základě hladiny MRD před transplantací



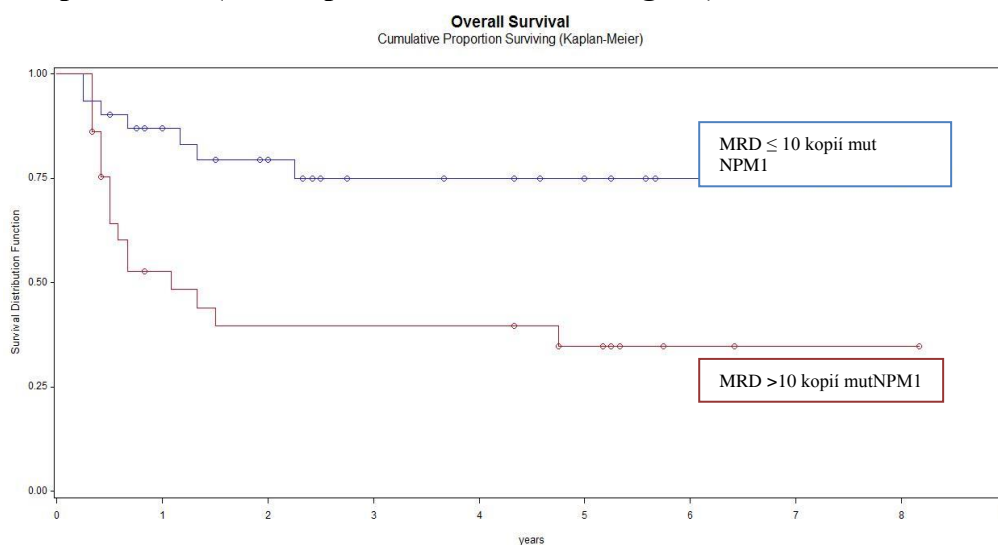
Na základě rozdělení souboru sledovaných pacientů podle vstupní hladiny MRN (\leq vs >10 kopií mutovaného NPM1 genu/10000 kopií ABL genu) lze sledovat rozdíl ve výsledcích provedené alogenní transplantace, kdy v celém souboru 16 (27%) pacientů zrelabovalo, z čehož u pacientů s „vyšší vstupní MRN“ se jednalo o 14 pacientů (48%) a u pacientů s „nízkou vstupní MRN“ pouze o 2 pacienty (6%). Z důvodu transplantační mortality zemřelo celkově 11 (18%) pacientů, kdy ve skupině s „vyšší vstupní MRN“ se jednalo o 5 pacientů (17%) a ve skupině s „nízkou vstupní MRN“ o 6 pacientů (19%). Předpokládaný 3 letý EFS a OS u celé skupiny nemocných byl 54% a 59%. Riziko relapsu nebo úmrtí bylo ve skupině nemocných s „vyšší vstupní MRN“ 3,69x vyšší než ve skupině pacientů s „nízkou vstupní MRN“ (HR = 3,69; 95% CI 1,52-9,06). Předpokládaný 3 letý EFS byl u skupiny pacientů s „vyšší vstupní MRN“ 35% a tedy signifikantně horší než u skupiny pacientů s „nízkou vstupní MRN“, kde byl 3 letý EFS 72% ($p = 0,0021$), což znázorňuje obrázek 4.

Obrázek 4. Pravděpodobnost EFS na základě rozdělení sledovaného souboru na pacienty s „nízkou vstupní MRN“ (≤ 10 kopií mutovaného NPM1 genu) a „vyšší vstupní MRN“ (> 10 kopií mutovaného NPM1 genu)



Riziko úmrtí bylo ve skupině nemocných s „vyšší vstupní MRN“ 3,71x vyšší než ve skupině pacientů s „nízkou vstupní MRN“ (HR = 3,71; 95% CI 1,60-8,51). Předpokládané 3 leté celkové přežití bylo pak u skupiny pacientů s „vyšší vstupní MRN“ 40% a tedy signifikantně horší než u skupiny pacientů s „nízkou vstupní MRN“, kde bylo předpokládané 3 leté celkové přežití po transplantaci 75% (p = 0,004) , což znázorňuje obrázek 5.

Obrázek 5. Pravděpodobnost EFS na základě rozdělení sledovaného souboru na pacienty s „nízkou vstupní MRN“ (≤ 10 kopií mutovaného NPM1 genu) a „vyšší vstupní MRN“ (> 10 kopií mutovaného NPM1 genu)



Transplantační výsledky souboru pacientů rozděleného na základě hladiny vstupní MRN pak shrnuje tabulka 16.

Tabulka 16. Shrnutí transplantačních výsledků na základě rozdělení sledovaného souboru na pacienty s „nízkou vstupní MRN“ (≤ 10 kopií mutovaného NPM1 genu) a „vyšší vstupní MRN“ (> 10 kopií mutovaného NPM1 genu)

	NPM1 ≤ 10 kopií/10000 kopií ABL	NPM1 > 10 kopií/10000 kopií ABL
3 letá incidence relapsu	6%	48%
3 letý EFS	72%	35%
3 letý OS	75%	40%

4. Diskuze

V našem menším, ale stran diagnózy i léčby homogenním souboru nemocných, což je rozdíl oproti v úvodu uvedeným některým již publikovaným studiím, jsme se pokusili ověřit vliv předtransplantační hladiny MRN na výsledek alogenní transplantace krvetvorných buněk u pacientů s AML s normálním karyotypem a mutací NPM1 genu v 1. nebo 2.KR AML. K hodnocení MRN byla využita relativní exprese mutovaného genu NPM1 pomocí standardizované RT-PCR. Využití mutace NPM1 genu bylo v řadě publikací doloženo jako vhodný a stabilní marker pro detekci MRN [144,145,146,147, 324, 325,333]. Výsledky našeho souboru pacientů patří k největším souborům nemocných s AML, kde byl hodnocen význam stanovení předtransplantační hladiny MRN na výsledek alogenní transplantace krvetvorných buněk pomocí kvantifikace exprese mutovaného genu NPM1. Využití RT-PCR díky jasnému molekulárně genetickému markeru u naší skupiny pacientů pak ve srovnání s obvykle využívanou MFCM eliminuje některé limitace průtokové cytometrie a to především nižší senzitivitu a riziko antigenních změn na leukemických buňkách [153,154,319,326]. Stanovení hladiny MRN probíhalo těsně (do týdne) před zahájením předtransplantační přípravy, což omezuje riziko chyby v určení hladiny MRN při možné rychlé kinetice jejích změn v případě AML [327,328]. V jiných publikovaných studiích není doba vyšetření MRN před transplantací upřesněna nebo byl její interval delší než v případě našeho souboru pacientů [320,329].

Výsledky analýzy našeho souboru pacientů ukazují, že hladina MRN před alogenní transplantací u pacientů s AML s normálním karyotypem a mutací NPM1 genu v 1. nebo 2.KR je nezávislým prognostickým faktorem, který predikuje výsledek alogenní transplantace. Prognosticky lepším způsobem určení hladiny předtransplantační MRN se u našeho souboru pacientů ukázalo stanovení samotné relativní exprese mutovaného NPM1 genu před alogenní transplantací než hodnocení poklesu exprese mutovaného NPM1 genu od diagnózy do období před transplantací, což vysvětlujeme až 10 násobným rozdílem v expresi mutovaného NPM1 genu v době diagnózy. V našem souboru pacientů pak bylo statistické významnosti dosaženo pro několik hladin exprese mutovaného NPM1 genu před alogenní transplantací (neg. vs. pozitivní a dále < nebo > než 1,10,100 kopií mutovaného NPM1/10000 ABL genu), z čehož lze usuzovat, že s narůstající hladinou předtransplantační MRN se zhoršují transplantační výsledky (EFS, OS). Toto zjištění je v určitém rozporu s některými publikacemi, které dokládaly rozdílné výsledky aloTx jen v případě positivity či negativity MRN a v rámci MRN pozitivních pacientů již nebyl prokazován význam různých hladin positivity na výsledek transplantace [315,317]. Tento fakt lze u těchto studií vysvětlovat nižší senzitivitou použité metodiky ke stanovení MRN (MFCM) a nižším počtem MRN pozitivních pacientů, kdy při jejich dalším rozdělení již různá hladina MRN nedosahovala statistické významnosti. V případě našeho souboru pacientů byla jako cut off vybrána hodnota 10 kopií mutovaného NPM1 genu na 10000 kopií ABL (0,1% mutovaného NPM1/ABL), která soubor rozdělovala na 2 skupiny se statisticky nejvýznamnějším rozdílem EFS a OS, který byl doložen i multivariační analýzou. Pacienti s AML s normálním karyotypem a mutací NPM1 v 1. nebo 2.KR a vyšší hladinou předtransplantační MRN (> 10 kopií mutovaného NPM1/ 10000 kopií ABL) měli vyšší incidenci relapsu a horší LFS a OS po transplantaci. Při srovnání pacientů s vyšší a nižší hladinou předtransplantační MRN byl 3 letý LFS 35% u pacientů s „vyšší hladinou MRN“ ve srovnání s 3 letým EFS 72% u pacientů s „nižší hladinou MRN“ před transplantací. Podobně byl 3 letý OS 40% u pacientů s „vyšší hladinou MRN“ ve srovnání s 3 letým OS 75% u pacientů s „nižší hladinou MRN“ před transplantací. Incidence relapsů pak byla ve skupině pacientů s „vyšší hladinou MRN“ 48% ve srovnání s incidencí relapsů

6% u skupiny pacientů s „nižší hladinou MRN“ před transplantací. Transplantační mortalita se mezi oběma skupinami pacientů statisticky nelišila. Námi získané výsledky tedy dále podporují závěry většiny dosud publikovaných prací o významu stanovení MRN na výsledek aloTx u AML [315,316,317,318,319,320,329, 330].

Zajímavým zjištěním u námi publikovaného souboru pacientů je fakt, že přítomnost FLT3/ITD neměla u pacientů s AML s normální karyotypem a mutací NPM1 genu v KR nepříznivý vliv na transplantační výsledky. V případě AML s normálním karyotypem a NPM1 mutací vstupní diagnostická pozitivita FLT3/ITD dle publikovaných studií zhoršuje prognózu těchto pacientů [64, 72,327,332]. Při zohlednění hladiny MRN se dle námi zjištěných výsledků zdá, že prognostický význam FLT3/ITD positivity je minimální v kontextu výsledků alogenní transplantace při srovnání pacientů s AML s mutací NPM1 genu v KR s nebo bez FLT3/ITD pozitivitou v době diagnózy. Tento námi zjištěný fakt je podporován i výsledky některých dalších autorů [333]. Podobně v našem souboru pacientů neměl při zohlednění předtransplantační hladiny MRN na transplantační výsledky vliv stav KR AML a výsledky alogenní transplantace krvetvorných buněk u pacientů s AML s normálním karyotypem a mutací NPM1 genu v 1.KR se statisticky nelišily od výsledků pacientů v 2.KR. Podobné závěry učinily i některé další studie, které v rámci hodnocení transplantačních výsledků zohledňovaly přítomnost předtransplantační MRN [315,317,319]. Nicméně v rámci objektivity nemůžeme v tomto případě vyloučit vliv menšího souboru námi sledovaných pacientů, protože jsme zaznamenali určitý trend k horším transplantačním výsledkům u pacientů v 2.KR, který však nedosahoval statistické signifikance. Tuto nejistotu podporují i výsledky recentně publikované studie výsledků alogenní transplantace krvetvorných buněk u pacientů s AML a izolovanou mutací NPM1 genu, které dokladovaly horší transplantační výsledky u pacientů v 2.KR ve srovnání s pacienty v 1.KR, nicméně v této studii nebyla zohledněna hladina předtransplantační MRN [334]. V rámci hodnocení výsledku našeho souboru pacientů je nutné ještě zmínit vliv intenzity předtransplantační cytostatické přípravy na transplantační výsledky námi sledovaného souboru pacientů, protože intenzitu přípravného protokolu můžeme do určité míry na rozdíl od jiných vstupních faktorů (např. typ dárce, jeho pohlaví apod.) ovlivnit. V rámci našeho souboru pacientů s AML s normálním karyotypem a mutací NPM1 genu v 1. nebo 2.KR nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi pacienty transplantovanými po myeloablativní (busulfan v kombinaci s cyklofosfamidem) nebo redukované (fludarabin v kombinaci s melfalanem) přípravě. Toto zjištění, je podpořeno i výsledky některých dalších studií, kdy výsledky alogenní transplantace u AML v KR nebyly ovlivněny typem přípravy, ale pouze pozitivitou předtransplantační MRN [315,316,317,318]. Nicméně obecně je na základě publikovaných dat redukovaná předtransplantační příprava spojována s vyššími riziky relapsu AML po transplantaci ve srovnání s myeloablativními režimy včetně některých publikací, které zohledňovaly i stav MRN před transplantací a které dokladovaly lepší transplantační výsledky v případě použití myeloablativní přípravy u pacientů s pozitivitou MRN před alogenní transplantací [283,284,285,331]. V našem souboru pacientů též žádné další potenciální prognostické faktory (typ dárce, pohlaví dárce, typ štěpu, CMV status dárce) neovlivňovaly se statistickou významností výsledek transplantace s výjimkou věku pacienta nad 63 let, kdy 3 letý EFS a OS byl 38%, což však bylo ovlivněno vyšší transplantační mortalitou (38%) těchto starších pacientů.

Z praktického hlediska můžeme v našem souboru pacientů vybrat skupinu nemocných s nízkou hladinou MRN, jejichž 3 leté celkové přežití po transplantaci je 75% díky nízké incidenci relapsu, která v našem souboru u těchto nemocných činila 6%. Podobné výsledky můžeme nalézt i u dalších studií, kdy u pacientů s negativitou MRN před transplantací je

publikované 3 leté celkové přežití mezi 62-77% a incidence relapsu mezi 0-21% [315,316,317,320]. U této skupiny pacientů je tedy přítomno nízké riziko relapsu AML a pro výsledek alogenní transplantace je pro tyto nemocné rozhodující transplantační mortalita, morbidita a kvalita života. Lze tedy u těchto nemocných zvažovat o preferenčním využití redukováných přípravných režimů ke snížení toxicity transplantační léčby, účinnější prevenci GVHD a pomalejšímu ukončování imunosupresivní léčby ke snížení rizik rozvoje GVHD jako hlavní příčiny morbidity a mortality po alogenní transplantaci. Nicméně tyto přístupy je nutné ověřit v rámci dalších studií. Provokativní otázkou může být dokonce vůbec nutnost zařazení alogenní transplantace do léčby těchto nemocných při zohlednění některých recentně publikovaných dat [333]. Na druhou stranu můžeme v našem souboru vyčlenit skupinu pacientů s vyšší předtransplantační hladinou MRN, jejichž prognóza je horší. V našem souboru tito pacienti měli 3 leté celkové přežití 40% a incidenci relapsů 48%. Podobné výsledky můžeme opět nalézt i u dalších studií, kdy u pacientů s pozitivitou MRN před transplantací je publikované 3 leté celkové přežití mezi 18-47% a incidence relapsu mezi 41-70% [315,316,317,320]. Výsledky pacientů s pozitivitou MRN před transplantací jsou tedy statisticky významně horší než bez positivity MRN. Přítomnost MRN v rámci standardní cytostatické léčby AML byla řadou prací doložena jako nezávislý prognostický nepříznivý faktor [109,140,144,145, 146,148,149,150,157,333]. Pozitivitu MRN u AML v rámci standardní cytostatické léčby lze tedy považovat za nezávislou nepříznivou biologickou charakteristiku onemocnění. Výsledky standardní léčby u pacientů s pozitivitou MRN při samotné cytostatické léčbě jsou vysoce nepříznivé. Jedna z posledních rozsáhlejších publikací věnující se právě pacientům s AML s NPM1 mutací udává u pacientů s přetrvávající pozitivitou NPM1 exprese po 2 cyklech léčby 3 leté přežití 24% [333]. Při zohlednění našich a dalších publikovaných výsledků pacienti s AML v KR a pozitivitou MRN před transplantací dosahují 3 letého celkové přežití cca 40% a lze tedy usuzovat, že alogenní transplantace u pacientů v morfologické remisi AML s pozitivitou MRN částečně zlepšuje jejich nepříznivou prognózu ve srovnání s pouhou cytostatickou léčbou. V současné době zatím zůstává nejasná odpověď na otázku, zda lze dále zlepšit transplantační výsledky u pacientů s AML v KR a pozitivitou MRN. V rámci této potenciálně rizikové skupiny pacientů lze zvažovat několik možných postupů k ovlivnění výsledku transplantace krvetvorných buněk. V úvahu připadá možnost, v případě trvající positivity MRN v rámci standardní cytostatické léčby AML, se pokusit další cytostatickou léčbou o dosažení negativity MRN, nicméně efektivita tohoto postupu je na základě publikovaných dat sporná [335,336]. Další možnosti k ovlivnění prognózy výsledku alogenní transplantace krvetvorných buněk u MRN pozitivních pacientů s AML je využití intenzivnějšího (myeloablativní) předtransplantačního přípravného protokolu. Nicméně v rámci námi publikovaného souboru pacientů při zohlednění předtransplantační hladiny MRN intenzita cytostatické přípravy neovlivňovala výsledky provedené alogenní transplantace. Podobné výsledky pak byly publikovány v rámci studie autorů ze Seatllu hodnotící význam MRN u AML v 1. nebo 2.KR v souvislosti s použitou intenzitou předtransplantační přípravy, kdy pacienti s MRN pozitivitou měli riziko relapsu v případě myeloablativní přípravy 63% a v případě nemyeloablativní přípravy 57%.[317]. Naopak některé publikace význam intenzity předtransplantační přípravy podporují [283,284,285,331]. K další možnosti ovlivnění výsledků alogenní transplantace u pacientů s AML v KR a pozitivitou MRN patří snaha o zvýšení imunologické odpovědi tedy reakce štěpu proti leukémií (GvL) ať už časnou potransplantační redukcí imunosupresivní léčby nebo podáním preemptivní infúze dárčovských lymfocytů [337,338]. Podobně je v poslední době atraktivní přístup kombinující výše uvedenou potenciaci GvL efektu s podáním léků ať už standardních cytostatik nebo nových cílených léků (demetylační látky, protilátky, inhibitory

tyrosinkináz apod.). Největší publikované zkušenosti v poslední době se týkají využití azacytidinu nebo deoxyazacitidinu s jejich potenciální efektivitou v rámci preemptivní léčby možného relapsu AML po alogenní transplantaci krvetvorných buněk [339,340,341]. Jedná se však zatím jen o menší studie a dosud není žádná standardní potransplantační (preemptivní) léčba AML obecně doporučena. Námi získané výsledky u námi publikovaného souboru pacientů, kdy u pacientů s AML v KR a vyšší hladinou MRN docházelo k relapsu s mediánem 4 měsíců po alogenní transplantaci, ukazují, že eventuální terapeutickou intervencí po alogenní transplantaci krvetvorných buněk je třeba zahájit časně při zjištěném poměrně vysokém riziku časného relapsu AML po transplantaci. Obecně lze tedy říci, že horší výsledky alogenní transplantace krvetvorných buněk u pacientů s AML a pozitivitou MRN otevírají výzkumné pole pro snahu o identifikaci dalších negativních prognostických faktorů v rámci této skupiny pacientů a zahájení intervenčních prospektivních studií, které se pokusí dále ověřit přínos výše uvedených možných terapeutických kroků ke zlepšení prognózy těchto nemocných.

5. Závěr

Autor prokázal:

1. U pacientů před alogenní transplantací krvetvorných buněk pro AML s normálním karyotypem a mutací NPM1 genu v kompletní remisi byla prokazována pomocí kvantitativní PCR různá hladina minimální reziduální nemoci.
2. Stanovení hladiny minimální reziduální nemoci pomocí kvantitativní PCR s relativní kvantifikací mutovaného NPM1 genu vůči kontrolnímu ABL genu je vhodným, přesným, senzitivním a stabilním způsobem její detekce.
3. Hladina minimální reziduální nemoci stanovená pomocí relativní kvantifikace mutovaného NPM1 genu vůči kontrolnímu ABL genu před zahájením předtransplantační cytostatické přípravy statisticky signifikantně prognosticky ovlivňovala výsledky alogenní transplantace krvetvorných buněk.
4. Samotná hodnota hladiny minimální reziduální nemoci před alogenní transplantací lépe stratifikovala prognózu nemocných než hodnocení poklesu hladiny relativní exprese od diagnózy do doby transplantace.
5. Statistická významnost byla doložena pro různou úroveň zjištěných hladin minimální reziduální nemoci před alogenní transplantací krvetvorných buněk.
6. Hodnota 10 kopií mutovaného NPM1 genu na 10000 kopií kontrolního ABL genu soubor rozdělovala na 2 skupiny se statisticky nejvýznamnějším rozdílem EFS a OS.
7. Hladina minimální reziduální nemoci před alogenní transplantací krvetvorných buněk u pacientů s AML s normálním karyotypem a mutací NPM1 genu v kompletní remisi si zachovávala prognostický význam i při zahrnutí dalších vstupních předtransplantačních prognostických markerů.
8. V rámci sledovaného souboru pacientů neovlivnily výsledky alogenní transplantace další významné vstupní parametry, kdy se jedná především o současnou přítomnost FLT3/ITD mutace či intenzitu předtransplantační cytostatické přípravy.
9. Jako součást dizertační práce jsou předkládány resp. diskutovány možnosti ovlivnění horších transplantačních výsledků u pacientů s vyšší hladinou minimální reziduální nemoci před transplantací.

6. Použitá literatura

- [1] KANATE, A., S., PASQUINI, M., C., HAN, P., N., et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia: Current state in 2013 and future directions. *World Journal of Stem Cells*, 2014, vol. 6, no. 2, s. 69-81. ISSN 1948-0210
- [2] HORAN, J., T., LOGAN, B., R., AGOVI-JOHNSON, M., A., et al. Reducing risk for transplantation related mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation: how much progress has been made? *Journal of Clinical Oncology*, 2011, vol. 29, no. 7, s. 805-813. ISSN 1527-7755
- [3] ROWE, J., M. Important milestones in acute leukemia in 2013. *Best Practice and Research Clinical Haematology*, 2013, vol. 26, no. 3, s. 241-244. ISSN 1532-1924
- [4] DÖHNER, H., ESTEY, E.H., AMADORI, S., et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*, 2010, vol. 115, no. 3, s. 453-474. ISSN 0006-4971
- [5] BYRD, J.,C., MROZEK, K., DODGE, R.,K .,et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia, results from Cancer and Leukemia Group B (CALBG 8461). *Blood*, 2002, vol. 100, no. 13, s. 4325-4336. ISSN 0006-4971
- [6] SLOVAK, M., L., KOPECKY, K., J., CASSILETH, P.,A., et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a South West Oncology Group/ Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood*, 2000, vol. 96, no. 13, s. 4075-4083. ISSN 0006-4971
- [7] GRIMWADE, D., HILLS, R., K., MOORMAN, A., V., et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trial. *Blood*, 2010, vol. 116, no. 3, s. 354-365. ISSN 0006-4971
- [8] BREEMS, D., A., VAN PUTTEN, W., L., DE GREEF, G., E., et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than complex karyotype. *Journal of Clinical Oncology*, 2008, vol. 26, no. 29, s. 4791-4793. ISSN 1527-7755
- [9] CORNELISSEN, J., J., VAN PUTTEN, W., L., VERDONCK, L., F., et al. Results of a HOVON/SAK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA identical sibling transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adult: benefits for whom. *Blood*, 2007, vol. 109, no. 9, s. 3658-3666. ISSN 1528-0020
- [10] ZITTOUN R., A., MANDELLI, F., WILLEMZE, R., et al: Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GINEMA) Leukemia Cooperative Groups. *New England Journal of Medicine*, 1995, vol. 332, no.4, s. 217-233. ISSN 1533-4046
- [11] HAROUSSEAU, J., L., CAHN, J., Y., PIGNON, B., et al. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. The Groupe Ouest Est Leucémies Aiguës Myéloblastiques (GOELAM). *Blood*, 1997, vol. 90, no.8, s. 2978-2986. ISSN 1528-0020
- [12] CASSILETH, P., A., HARRINGTON, D., P., APPELBAUM, F., R., et al.: Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the

-
- management of acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 1998, vol. 339, no. 23, s. 1649-1656. ISSN 1533-4046
- [13] CORNELISSEN, J., J., BREEMS, D., VAN PUTTEN, W., L., et al. Comparative analysis of the value of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in acute myeloid leukemia with monosomal karyotype versus other cytogenetics risk categories. *Journal of Clinical Oncology*, 2012, vol. 30, no. 17, s. 2140-2146. ISSN 1527-7755
- [14] GRIMWADE, D., TALLMAN, M., S. Should minimal residual disease monitoring be the standard of care for all patients with acute promyelocytic leukemia? *Leukemia Research*, 2011, vol. 35, no. 1, s. 3-7. ISSN 1873-5835
- [15] CARLSSON, K., B., GUZMAN, M., L. Is minimal residual disease monitoring clinically relevant in adults with acute myelogenous leukemia? *Current Hematologic Malignancy Reports*, 2013; vol. 8, no. 2, s. 109-115. ISSN 1558-8211
- [16] CORBACIOGLU, A., SCHOLL, C., SCHLENK, R., F., et al. Prognostic impact of minimal residual disease in CBFβ-MYH11-positive acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 2010, vol. 28, no. 23, s. 3724-3729. ISSN 1527-7755
- [17] YIN, J., A., O'BRIEN, M., A., HILLS, R., K., et al: Minimal residual disease monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of United Kingdom MRC AML 15 trial. *Blood*, 2012; vol. 120, no. 4, s. 2826-2835. ISSN 1528-0020
- [18] YAMAMOTO, Y., KIYOI, H., NAKAMO, Y., et al: Activating mutation of D835 within the activation loop FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood*, 2001, vol. 97, no. 8, s. 2434-2439. ISSN 1528-0020
- [19] CLOOS, J., GOEMANS, B., F., HESS, C., J. et al. Stability and prognostic influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia*, 2006, vol. 20, no. 7, s. 1217-1220. ISSN 1476-5551
- [20] SCHNITTGER, S., WORMANN, B., HIDDEMANN, W., et al. Partial tandem duplication of the MLL gene are detectable in peripheral blood and bone marrow of nearly all healthy donors. *Blood*, 1998, vol. 92, no. 5, s. 1728-1734. ISSN 1528-0020
- [21] GORELLO, P., CAZZANIGA, G., ALBERTI, F., et al. Quantitative assessment of minimal residual disease in acute myeloid leukemia carrying nucleophosmin (NPM1) gene mutations. *Leukemia*, 2006, vol. 20, no. 6, s. 1103-1108. ISSN 1476-5551
- [22] Schnittger S, Kern W, Tschulik C et al: Minimal residual disease levels assessed by NPM1 mutation specific real-time PCR provide important prognostic information in AML. *Blood*, 2009, vol. 114, no. 11, s. 2220-2231. ISSN 1528-0020
- [23] KRÖNKE, J., SCHLENK, R., JENSEN, K., O., et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia a study from German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group. *Journal of Clinical Oncology*, 2011, vol. 29, no. 19, s. 2709-2716. ISSN 1527-7755
- [24] SHAYEGI, N., KRAMER, M., BORNHÄUSER, M., et al: The level of residual disease based on mutant NPM1 is an independent prognostic factor for relapse and survival in AML. *Blood*, 2013, vol. 122, no. 1, s. 83-92. ISSN 1528-0020
- [25] CILLONI, D., MESSA, F., ARRUGA, F., et al: Early prediction of treatment outcome in acute myeloid leukemia by measurement of WT1 transcript levels in peripheral blood samples collected after chemotherapy. *Haematologica*, 2008, vol. 93, no. 6, s. 921-924. ISSN 1592-8721
- [26] CILLONI, D., RENNEVILLE, A., HERMITTE, F., et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet Study. *Journal of Clinical Oncology*, 2009, vol. 27, no. 31, s. 5195-5201. ISSN 1527-7755

-
- [27] NAJIMA, Y., OHASHI, K., KAWAMURA, M., et al. Molecular monitoring of BAALC expression in patients with CD34-positive acute myeloid leukemia. *International Journal of Hematology*, 2010, vol. 91, no.4, s. 636-645. ISSN 1865-3774
- [28] OSTERGAARD, M., OLESEN, L., H., HASLE, H., et al. WT1 gene expression: an excellent tool for monitoring minimal residual disease in 70% of acute myeloid leukemia patients – results from a single-centre study. *British Journal of Haematology*, 2004, vol. 125, no. 5, s. 590-600. ISSN 1365-2141
- [29] BUCCISANO, F., MAURILLO, L., PRINCIPE, M., I., et al. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia. *Blood*, 2012, vol. 119, no. 2, s. 332-341. ISSN 1528-0020
- [30] FREEMAN, S., D., JOVANOVIC, J., V., GRIMWADE, D., et al. Development of minimal residual disease-directed therapy in acute myeloid leukemia. *Seminars in Oncology*, 2008, vol. 35, no. 4, s. 388-400. ISSN 1532-8708
- [31] OSSENKOPPELE, G., J., VAN DE LOOSDRECHT, A., A., SCHUURHUIS, G., J., et al. Review of the relevance of aberrant antigen expression by flow cytometry in myeloid neoplasms. *British Journal of Haematology*, 2011, vol. 153, no. 4, s. 421-436. ISSN 1365-2141
- [32] KERN, W., VOSKOVA, D., SCHLENK, C., et al. Determination of relapse risk based on assessment of minimal residual disease during complete remission by multiparameter flow cytometry in unselected patients with acute leukemia. *Blood*, 2004, vol. 104, no. 10, s. 3078-3085. ISSN 1528-0020
- [33] AL-MAWALI, A., GILLIS, D., LEWIS, I., et al. The use of receiver operating characteristics analysis for detection of minimal residual disease using five-color multiparameter flow cytometry in acute myeloid leukemia identifies patients with high risk of relapse. *Cytometry part B: Clinical Cytometry*, 2009, vol. 76, no. 2, s. 91-101. ISSN: 1552-4957
- [34] BUCCISANO, F., MAURILLO, L., GATTEI, V., et al. The kinetics of reduction of minimal residual disease impacts duration of response and survival of patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2006, vol. 20, no. 10, s. 1783-1789. ISSN 1476-5551
- [35] THOMAS, E., D., BUCKNER, C., D., BANAJI, M., et al. One hundred patients with acute myeloid leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation and allogeneic marrow transplantation. *Blood*, 1977, vol. 49, no. 4, s. 511-533. ISSN 1528-0020
- [36] APPELBAUM, F., R., DAHLBERG, S., THOMAS, E., D., et al. Bone marrow transplantation or chemotherapy after remission induction for adults with acute nonlymphoblastic leukemia. a prospective comparison. *Annals of Internal Medicine*, 1984, vol.101, no. 5, s. 581-588. ISSN 1539-3704
- [37] FUNG, H., C., STEIN, A., SLOVAK, M., L., et al. A long-term follow-up report on allogeneic stem cell transplantation for patients with primary refractory acute myelogenous leukemia: impact of cytogenetic characteristics on transplantation outcome. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2003, vol. 9, no. 12, s. 766-771. ISSN 1523-6538
- [38] SINGHAL, S., POWLES, R., HENSLEE-DOWNEY, P., J., et al. Allogeneic transplantation from HLA matched sibling or partially HLA mismatched related donors for primary refractory acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplantation*, 2002, vol. 29, no. 4, s. 291-295. ISSN 1476-5356
- [39] GRUBOVIJK, R., M., ALAVI, A., TERRITO, M., et al: Minimal Residual Disease as a Predictive Factor for Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant in Adult Patients with Acute Myeloid Leukemia in First and Second Complete Remission. *Cancers*, 2012, vol. 4, no.2, s. 601-617. ISSN 2072-6694

-
- [40] VALKOVA, V., POLAK, V., MARKOVA, M., et al. Minimal residual disease detectable by quantitative assessment of WT gene before allogeneic stem cell transplantation in patients in first remission of acute myeloid leukemia has an impact on their future prognosis. *Clinical Transplantation*, 2012, vol. 27, no. 1, s. 21-29. ISSN 1399-0012
- [41] WALTER, R., B., BUCKLEY, S., A., PAGEL, J., M., et al. Significance of minimal residual disease before myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for AML in first and second complete remission. *Blood*, 2013, vol. 122, no. 10, s. 1813-1821. ISSN 1528-0020
- [42] WALTER, R., B., GYURKOCZA, B., STORB, B., E., et al. Comparison of minimal residual disease as outcome predictor for AML patients in first complete remission undergoing myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Leukemia*, 2015, vol. 29, no. 1, s. 137-144. ISSN 1476-5551
- [43] BASTOS-OREIRO, M., PEREZ-CORRAL, A., MARTINEZ-LAPARCHE, C., et al. Prognostic impact of minimal residual disease analysis by flow cytometry in patients with acute myeloid leukemia before and after allogeneic stem cell transplantation. *European Journal of Haematology*, 2014, vol. 93, no. 3, s. 239-246. ISSN 1600-0609
- [44] ANTHIAS, C., DIGNAN, F., L., MORILLA, R., et al. Pre-transplant MRD predicts outcome following reduced-intensity and myeloablative allogeneic hematopoietic SCT in AML. *Bone Marrow Transplantation*, 2014, vol. 49, no. 5, s. 679-683. ISSN 1476-5365
- [45] TIAN, H., CHEN, G., H., XU, Y., et al. Impact of pre-transplant disease burden on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in refractory and relapsed acute myeloid leukemia: a single center study. *Leukemia and Lymphoma*, 2015, vol. 56, no. 5, s. 1353-1361. ISSN 1029-2403
- [46] SWERDLOW, S. H. (ed.). *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2008. ISBN 978-92-832-2431-0.
- [47] CHESON, B., D., BENNETT, J., M., KOPECKY, K., J., et al. Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 2003, vol. 21, no. 3, s. 4642-4649. ISSN 1527-7755
- [48] PRZEPIORKA, D., WEISDORF, D., MARTIN, P., et al: 1994 Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplantation*, 1995; vol. 15, no. 6, s. 825-828. ISSN 1476-5365
- [49] FILIPOVICH, A., H., WEISDORF, D., PAVLETIC, S., et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2005, vol. 11, no. 12, s. 945-956. ISSN 1523-6538
- [50] Kristensen T, Möller MB, Friis L et al: NPM1 mutation is a stable marker for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukaemia patients with increased sensitivity compared to WT expression. *European Journal of Haematology*, 2011; vol. 87, no. 5, s. 400-408. ISSN 1600-0609
- [51] BACHER, U., BADBARAN, A., FEHSE, B., et al. Quantitative monitoring of NPM1 mutations provides a valid minimal residual disease parameter following allogeneic stem cell transplantation. *Experimental Hematology*, 2009, vol. 37, no. 1, s. 135-142. ISSN 1873-2399
- [52] IVEY, A., HILL, R., K., SIMPSON, M., A., et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *New England Journal of Medicine*, 2016; vol. 374, no. 5, s. 422-433. ISSN 1533-4406

-
- [53] OELSCHLÄGEL, U., NOWAK, R., SCHAUB, A., et al. Shift of aberrant antigen expression at relapse or at treatment silure in acute leukemia. *Cytometry*, 2000, vol. 42, no. 4, s. 247-253. ISSN 1552-4930
- [54] DVORAKOVA, D., RACIL, Z., JEZISKOVA, I., et al. Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia with frequent and rare patient-specific NPM1 mutations. *American Journal of Hematology*, 2010, vol. 85, no. 12, s. 926-929. ISSN 1096-8652
- [55] OTTONE, T., ZAZA, S., DIVONA, M., et al. Identification of emerging FLT3 ITD-positive clones during clinical remission and kinetics of disease relapse in acute myeloid leukemia with mutated nucleophosmin. *British Journal of Haematology*, 2013, vol. 161, no.4, s. 533-540. ISSN 1365-2141
- [56] APPELBAUM, F.R. Measurement of minimal residual disease before and after myeloablative hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Best Practice and Research Clinical Haematology*, vol. 26, no. 3, s. 279-284. ISSN 1532-1924
- [57] USTUN, C., WISEMAN, A., C., DEFOR, T., E., et al. Achieving stringent CR is essential before reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic cell transplantation in AML. *Bone Marrow Transplantation*, 2013, vol. 48, no. 11, s. 1415-1420. ISSN 1476-5365
- [58] MROZEK, K., MARCUCCI, G., NICOLET, D., et al. Prognostic significance of the European LeukemiaNet standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 2012; 30: 4515-4523. ISSN 1527-7755
- [59] THIEDE, CH., KOCH, S., CREUTZIG, E., et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood*, 2006, vol. 107, no. 10, s. 4011-4020. ISSN 1528-0020
- [60] BAZARBACHI, A., LABOPIN, M., KHARFAN-DAJABA, M., A., et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia with normal karyotype and isolated Nucleophosmin-1 (NPM1) mutation: outcome strongly correlates with disease status. *Haematologica*, 2015, vol. 101, no. 1, s. 34-37. ISSN 1592-8721
- [61] DE LIMA, ANAGNOSTOPOULOS, A., MUNSELL, M., et al. Nonablative versus reduced-intensity conditioning regimens in the treatment of acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: dose is relevant for long-term disease control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 2004, vol. 104, no. 3, s. 865-872. ISSN 1528-0020
- [62] MARTINO, R., DE WREEDE, L., FIOCCO, M., et al. Comparison of conditioning regimens of various intensities for allogeneic hematopoietic SCT using HLA-identical siblings donors in AML and MDS with < 10% BM blasts: a report from EBMT. *Bone Marrow Transplantation*, 2013, vol. 48, no. 6, s. 761-770. ISSN 1476-5365
- [63] USTUN, C., COURVILLE, E., L., DEFOR, T., E., et al. Myeloablative, but not Reduced-Intensity Conditioning Overcomes the Negative Effect of Flow-Cytometry Evidence of Leukemia in Acute Leukemia. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2016, vol.22, no.4, s.669-675. ISSN 1523-6538
- [64] BUCCASINO, F., MAURILLO, L., GATTEI, V., et al. The kinetics of reduction of minimal residual disease impacts on duration of response and survival of patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2006, vol. 20, no. 10, s.1783-1789. ISSN 1476-5551
- [65] MAURILLO, L., BUCCASINO, F., DEL PRINCIPE, M., I., et al. Toward optimization of postremission therapy for residual disease-positive patients with acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 2008, vol. 26, no. 30, s. 4944-4951. ISSN 1527-7755

-
- [66] RETRINGER, E., WILLASH, A., M., KREYENBERG, H., et al. Preemptive immunotherapy in childhood acute myeloid leukemia for patients showing evidence of mixed chimerism after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 2011, vol. 118, no. 20, s. 5681-5688. ISSN 1528-0020
- [67] YAN, CH., LIU, D., H., LIN, K., Y., et al. Risk stratification-directed donor lymphocyte infusion could reduce relapse of standard-risk acute myeloid leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 2012, vol. 119, no. 14, s. 3256-3262. ISSN 1528-0020
- [68] PLATZBECKER, U., WERMKE, M., RADKE, J., et al. Azacytidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial. *Leukemia*, 2012, vol. 26, no.3, s. 381-389. ISSN 1476-5551
- [69] SCHROEDER, T., RACKLIS, T., BUG, G., et al. Treatment of acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome relapse after allogeneic stem cell transplantation with azacitidine and donor lymphocyte infusion – a retrospective multicenter analysis from German Cooperative Transplants Study Group. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2015, vol. 21, no. 4, s. 653-660. ISSN 1523-6538
- [70] PUSIC, I., CHOI, J., FIALA, M., A., et al. Maintenance therapy with decitabine after allogeneic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplantation*, 2015, vol. 21, no. 10, s. 1761-1769. ISSN 1476-5365

7. Přehled publikovaných prací autora

7.1 Publikace

CETKOVSKÝ, P., KOUBA, M. et al.

Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů.

Praha: Triton 2009. ISBN 978-80-7387-343-1

CETKOVSKÝ, P., SCHÜTZOVÁ, M., JINDRA, P., ŠKOPEK, P., PITTOVÁ, H., VOZOBULOVÁ, V., ŠVOJGROVÁ, M., NAVRÁTILOVÁ, J., LYSÁK, D., VOKURKA, S., FIŠER, J., ČERNÁ, K., **KARAS, M.**, KOZA, V.

Mobilizace kmenových buněk krvetvorby u nemocných se zhoubnými nádory varlat před plánovanou léčbou vysokými dávkami chemoterapie.

Klinická onkologie, 1999, vol.12, no. 3, s. 97-100. ISSN 1802-5307

LYSAK, D., KOZA, V., JINDRA, P., VOZOBULOVÁ, V., SCHÜTZOVÁ, M., FISER, J., **KARAS, M.**, SVOJGROVÁ, M., VOKURKA, S..

Allogeneic BMT in patients above 45 years of age: a single centre experience.

Bone Marrow Transplantation, 2001, vol. 27, no7, s. 723-726. ISSN 0268-3369. IF 1,9

KARAS, M., ČERNÁ, K., KOZA, V., JINDRA, P., VOZOBULOVÁ, V., SCHÜTZOVÁ, M.
Alogenní transplantace kostní dřeně u pacientů s chronickou myeloidní leukémií v období 1991-1995 a 1996-1998. Zkušenosti Hematologicko-onkologického oddělení FN Plzeň.

Vnitřní lékařství, 2001, vol. 47, Supl.1, s. 34-39. ISSN 1801-7592

JINDRA, P., KOZA, V., **KARAS, M.**, NAVRÁTILOVÁ, J., PITTOVÁ, H., KUSOVÁ, J.
HLA-Cw shoda příjemce a dárce u molekulárně A,B,DR,DQ shodných nepříbuzných dárců kostní dřeně .

Transfúze a hematologie dnes, 2001, vol. 7, no. 4, s. 139-142. ISSN 1213-5763

CETKOVSKÁ, P., PIZINGER, K., **KARAS, M.**

Kožní aspergilóza u pacienta po alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby.

Česko-slovenská Dermatologie, 2002, vol. 77, no. 5, s. 213-216. ISSN 0009-0514

ROŽMAN, P., **KARAS, M.**, KOŠIR, A., LABAR, B., MADRIGAL, A., MIDDLETON, D., NAVARRETE, C., OUDHOORN, M., SCHENNACH, H., VÍTEK, A., BOHINJEC, M.

Are human platelet alloantigens (HPA) minor transplantation antigens in clinical bone marrow transplantation ?

Bone Marrow Transplantation, 2003, vol. 31, no. 6, s. 481-486. ISSN 0268-3369. IF 1,9

JINDRA, P., KOZA, V., BOUDOVÁ, L., VOZOBULOVA, V., CERNA, K., **KARAS, M.**, LYSÁK, D., SVOJGROVA, M.

Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disorder in CLL patients after treatment with fludarabine and cyclophosphamide followed by high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation.

Bone Marrow Transplantation, 2003, vol. 31, no. 10, s. 951-952. ISSN 0268-3369. IF 1,9

MÍRKA, H., FERDA, J., **KARAS, M.**, MUKENŠNÁBL, P.
Význam ultrasonografie v diagnostice zánětlivých střevních komplikací
hematoonkologických nemocných
Česká radiologie, 2005, vol. 59, no. 4, s. 200-205. ISSN 1210-7883

BRDIČKA, R., BERÁNEK, M., CIMBUROVÁ, M., DVOŘÁČKOVÁ, J., DVOŘÁKOVÁ,
D., HÁJKOVÁ, J. HAŠKOVEC, C., KEBRDLOVÁ, V., **KARAS, M.**, KRATOCHVÍLOVÁ,
A., LOŠAN, F., MACEK, M., MUSIL, F., PUTZOVÁ, M., ROŽMANOVÁ, S.,
RIEDLOVÁ, P., ŠAFROVÁ, M., SCHEINOST, O., ŠTOLBA, P., TRKA, J., VANĚČEK, T.,
VRTĚL, R.
Frekvenční pohled na vyšetření odchylek genomu.
Časopis lékařů českých, 2006, vol. 145, no. 2, s 98-103. ISSN 0008-7335

MÍRKA, H., FERDA, J., OHLÍDALOVÁ, K., VOKURKA, S., **KARAS, M.**, JINDRA, P.,
LYSÁK, D., MUKENŠNÁBL, P.
Význam HRCT v diagnostice invazivní plicní aspergilózy u nemocných s hematologickými
malignitami.
Česká Radiologie, 2006, vol. 60, no. 6, s. 412-418. ISSN 1210-7883

MÍRKA, H., KASTNER, J., OHLÍDALOVÁ, K., KOUDELOVÁ, J., LYSÁK, D., **KARAS,**
M., MUKENŠNÁBL, P., VESELÁ, P.
Aspergilóza mozku u nemocných s hematologickými malignitami
Česká Radiologie, 2007, vol. 61, no. 3, s. 295-299. ISSN 1210-7883

MÍRKA, H., FERDA, J., OHLÍDALOVÁ, K., JINDRA, P., **KARAS, M.**, LYSÁK, D.,
VOKURKA, S.
Možnosti HRCT v diagnostice plicní formy chronické reakce štěpu proti hostiteli
Česká Radiologie, 2007, vol. 61, no. 4, s. 387-391. ISSN 1210-7883

HABER, J., RÁČIL, Z., MAYER, J., MALLÁTOVÁ, N., KOUBA, M., SEDLÁČEK, P.,
FABER, E., HEROLD, I., MÚDRÝ, P., DRGOŇA, L., KOCMANOVÁ, I., **KARAS, M.**,
BUCHTA, V., VYDRA, J., KOLÁŘ, M., TRUPL, J., MAREŠOVÁ, V., ROZSYPAL, H.,
NÝČ, O., CWIERTKA, K.
Léčba invazivní kandidózy – doporučení odborných společností.
Vnitřní lékařství, 2008, vol. 54, no. 12, s. 1174-1184. ISSN 1801-7592

HABER, J., RÁČIL, Z., MAYER, J., MALLÁTOVÁ, N., KOUBA, M., SEDLÁČEK, P.,
FABER, E., HEROLD, I., MÚDRÝ, P., DRGOŇA, L., KOCMANOVÁ, I., **KARAS, M.**,
BUCHTA, V., VYDRA, J., KOLÁŘ, M., TRUPL, J., MAREŠOVÁ, V., ROZSYPAL, H.,
NÝČ, O., CWIERTKA, K.
Léčba invazivní aspergilózy – doporučení odborných společností.
Vnitřní lékařství, 2008, vol. 54, no. 12, s. 1187-1194. ISSN 1801-7592

VOKURKA, S., ŠKARDOVÁ, J., MAXOVÁ-KABÁTOVÁ, K., STEINEROVÁ, K.,
KARAS, M.
Mukozitida dutiny ústní po alogenní transplantaci krvetvorných buněk s přípravou
fludarabinem a melfalanem FLU/MEL.
Transfúze a hematologie dnes, 2009, vol. 15, no. 1, s. 13-16. ISSN 1213-5763

PEKOVA, S., IVANEK, R., DVORAK, M., RUEGGERBERG, S., LEICHT, S., LI, X., FRANZ, T., KOZAK, T., VRBA, J., KOZA, V., **KARAS, M.**, SCHWARZ, J., CETKOVSKY, P., PRUCHA, M.

Molecular variability of FLT3/ITD mutants and their impact on the differentiation program 32D cells: Implications for the biological properties of AML blasts.

Leukemia Research, 2009, vol. 33, no. 10, s. 1409-1416. ISSN 0145-2126. IF 2,358

VOKURKA, S., STEINEROVA, K., **KARAS, M.**, KOZA, V.

Characteristics and risk factors of oral mucositis after allogeneic stem cell transplantation with FLU/MEL conditioning regimen in context with BU/CY2.

Bone Marrow Transplantation, 2009, vol. 44, no. 9, s.601-605. ISSN 0268-3369. IF 2,998

VOKURKA, S., KOZA, V., JINDRA, P., **KARAS, M.**, STEINEROVÁ, K., LYSÁK, D., SCHÜTZOVÁ, M., SVOBODA, T., VOZOBULOVÁ, V., ŠVOJGROVÁ, M., MOHAMMADOVÁ, L., JUNGOVÁ, A., HRABĚTOVÁ, M.

Alogenní transplantace krvetvorných buněk u pacientů s mnohočetným myelomem – zkušenosti centra.

Transfúze a hematologie dnes, 2009, vol. 15, no. 4, s. 244-250. ISSN 1213-5763

VOKURKA, S., KOZA, V., LYSÁK, D., **KARAS, M.**, DVORAK, P., JINDRA, P., HRABETOVA, M., VOZOBULOVÁ, V.

Successful peripheral blood stem cells collection in imatinib pretreated and nilotinib-treated chronic myeloid leukemia patient.

Journal of Oncology, 2010, 2010: 460859. ISSN 1687-8469. IF 2,04

ŠTASTNÝ, M., MACHOVÁ POLÁKOVÁ, K., KLAMO VÁ, H., ŽÁČKOVÁ, D., VOGLOVÁ, J., **KARAS, M.**, MORAVCOVÁ, J., FABER, E.

Analýza mutací BCR-ABL u CML pacientů rezistentních k imatinibu umožňuje poskytnout „terapii šitou na míru“.

Transfúze a hematologie dnes, 2010, vol. 16, no. 1, s. 47-54. ISSN 1213-5763

VOKURKA, S., SKARDOVA, J., **KARAS, M.**, KOSTKOVA, J., STEINEROVA, K., KOZA, V., BYSTRICKA, E.

Oropharyngeal Mucositis Pain Treatment with Transdermal Buprenorphine in Patients After Allogeneic Stem Cell Transplantation.

Journal of Pain and Symptom Management, 2010, vol. 39, no. 6, s. e4-e6. ISSN 1873-6513. IF 2,64

KARAS, M.

Komentář ke studii: Léčba dasatinibem u pacientů v chronické fázi chronické myeloidní leukémie s rezistencí, nedostatečnou odpovědí nebo nesnášenlivostí vůči imatinibu vede k rychlé a trvalé cytogenetické odpovědi.

Farmakoterapie, 2010, vol. 6, no. 3, s. 282-285. ISSN 1801-1209

VOKURKA, S., ŠKARDOVÁ, J., **KARAS, M.**, KOSTKOVÁ, J., STEINEROVÁ, K., KOZA V., BYSTRČKÁ, E.

První zkušenosti s léčbou bolesti při orofaryngeální mukozitidě pomocí transdermálního buprenorfinu.

Onkologie, 2010, vol. 4, no. 4, s. 265-268. ISSN 1802-4475

KARAS, M.

Febrilní neutropénie s infiltrátem na plicích a negativním galaktomanem – kasuistika.
Antiinfectives news, 2011, vol. 2, no. 2, s. 18-19. ISSN 1804-4212

KARAS, M.

Akutní myeloidní leukémie u nemocných nad 60 let, možnosti její léčby a potenciální role alogenní transplantace krvetvorných buněk.
Onkologie, 2011, vol. 5, no. 2, s. 91-95. ISSN 1802-4475

PEKOVA, S., MAZAL, O., CMEJLA, R., HARDEKOPF, D., W., PLACHY, R., ZEJSKOVA, L., HAUGVICOVA, R., **KARAS, M.**, KOZAK, T.

A comprehensive study of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia: Analysis of 1287 diagnostic and 1148 follow-up CLL samples.
Leukemia Research, 2011, vol. 35, no. 7, s. 889-898. ISSN 0145-2126. IF 2,923

VOKURKA, S., SVOBODA, T., **KARAS, M.**, KOZA, V., JINDRA, P., KAZAKOV, D., BOUDOVA, L.

Significant oral graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation with the FLU/MEL conditioning regimen.
Medical Science Monitor, 2011, vol. 17, no.9, s. 480 – 484. ISSN 1234-1010. IF 1,699

VOKURKA, S., SVOBODA, T., JUNGOVA, A., **KARAS, M.**, KOZA, V.

Oral cryotherapy can significantly reduce oral mucositis but not acute GVHD incidence in Flu/Mel conditioning allo-SCT.
Bone Marrow Transplantation, 2012, vol. 47, no. 5, s. 739-741. ISSN 0268-3369. IF 3,541

KARAS, M.

Komentář ke studii Nilotinib v porovnání s imatinibem u pacientů s nově diagnostikovanou CML v chronické fázi – aktualizované výsledky studie ENESTnd.
Farmakoterapie, 2012, vol. 8, no. 3, s. 345-347. ISSN 1801-1209

KOLÁŘ, M., ADÁMKOVÁ, V., NYČ, O., BOJTÁROVÁ, E., CETKOVSKÝ, P., DRGOŇA, L., GUMAN, T., HABER, J., HORÁKOVÁ, J., **KARAS, M.**, KOČMANOVÁ, I., KOUBA, M., LIGOVÁ, A., MALLÁTOVÁ, N., MÚDRY, P., NOVÁK, J., SEDLÁČEK, P., SEJNOVÁ, D., TÓTHOVÁ, E., ŽÁK, P., ŽIAKOVÁ, B., MAYER, J., RÁČIL, Z.

Screening methicilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus*, vankomycin rezistentních enterokoků a enterobakterií s produkcí širokospektrých beta-laktamáz na hematologických odděleních. Doporučení odborníků s podporou CELL.
Postgraduální medicína, 2012, vol.14, no. 5, s. 34-36. ISSN 2112-4184

KOLÁŘ, M., ADÁMKOVÁ, V., NYČ, O., BOJTÁROVÁ, E., CETKOVSKÝ, P., DRGOŇA, L., GUMAN, T., HABER, J., HORÁKOVÁ, J., **KARAS, M.**, KOČMANOVÁ, I., KOUBA, M., LIGOVÁ, A., MALLÁTOVÁ, N., MÚDRY, P., NOVÁK, J., SEDLÁČEK, P., SEJNOVÁ, D., TÓTHOVÁ, E., ŽÁK, P., ŽIAKOVÁ, B., MAYER, J., RÁČIL, Z.

Laboratorní záchyt toxigenních kmenů *Cd* (*clostridium difficile*), epidemiologická opatření a antibiotická léčba CDI (*clostridium difficile* infection) na hematologických odděleních. Doporučení odborníků s podporou CELL.

Postgraduální medicína, 2012, vol. 14, no. 5, s. 37-39. ISSN 2112-4184

JANČUŠKOVÁ, T., PLACHÝ, R., ŠTIKA, J., KRUTÍLKOVÁ, L., HARDEKOPF, D., W., LIEHR, T., KOSYAKOVÁ, N., ČMEJLA, R., ŽEJŠKOVÁ, L., KOZÁK, T., ŽÁK, P., **KARAS, M.**, PEKOVÁ, S.

Identifikace nových markerů pro sledování minimální reziduální nemoci u akutních leukémií.
Transfúze a hematologie dnes, 2013, vol. 19, no. 1, s. 8-21. ISSN 1213-5763

JINDRA, P., MUZIK, J., INDRAK, K., SABTY, F., A., KOZAK, T., CETKOVSKY, P., KOZA, V., **KARAS, M.**, RAIDA, L., SZOTKOWSKI, T.

The outcome of allogeneic HSCT in older AML patients is determined by disease biology and not by the donor type: an analysis of 96 allografted AML patients 50 years from czech acute leukemia clinical register (alert).

Neoplasma, 2013, vol. 60, no. 5, s. 576-583. ISSN 1338-4317. IF 1,64

PACHNER, M., VOKURKA, S., KOZA, V., SVOBODA, T., HRABĚTOVÁ, M., JINDRA, P., LYSÁK, D., VOZOBULOVA, V., SCHÜTZOVÁ, M., **KARAS, M.**

Spontánní remise akutní myeloidní leukémie – klinické případy jednoho centra.

Klinická onkologie, 2013, vol. 26, no. 2, s. 140-142. ISSN 1802-5307

KLAMOVA, H., POLAKOVA, K., M., MUZIK, J., RACIL, Z., ZACKOVA, D., STEINEROVA, K., **KARAS, M.**, FABER, E., DEMECKOVA, E., MICHALOVICOVA-SNINSKA, Z., VOGLOVA, J., DEMITROVICOVA, L., MIKUSKOVA, E., TOTHOVA, E., CHUDEJ, J., MARKULJAK, I., CMUNT, E., MORAVCOVA, J., DVORAKOVA, D., MICHALOVA, K., JAROSOVA, M., STASTNA, M., M., CETKOVSKY, P., DUSEK, L., KOZA, V., TRNENY, M., INDRAK, K.

Evaluation of 5-year imatinib treatment of 458 patients with CP-CML in routine clinical practice and prognostic impact of different BCR-ABL cutoff levels.

Cancer Medicine, 2013, vol. 2, no. 2, s. 216-225. ISSN 2045-7634. IF 2,915

PAVLIK, T., JANUSOVA, T., MAYER, J., INDRAK, K., JAROSOVA, M., KLAMOVA, H., ZACKOVA, D., VOGLOVA, J., FABER, E., **KARAS, M.**, MACHOVA-POLAKOVA, K., RACIL, Z., DEMECKOVA, E., DEMITROVICOVA, L., TOTHOVA, E., CHUDEJ, J., MARHULJAK, I., CMUNT, E., KOZAK, T., MUZIK, J., DUSEK, L.

Current survival reliably reflects modern sequential treatment in CML: Correlation with prognostic stratification.

American Journal of Hematology, 2013, vol. 88, no. 9, s. 790-797. ISSN 1096-8652. IF 3,477

JANCUSKOVA, T., PLACHY, R., STIKA, J., ZEMANKOVA, L., HARDEKOPF, D., W., LIEHR, T., KOSYAKOVA, N., CMEJLA, R., ZEJSKOVA, L., KOZAK, T., ZAK, P., ZAVRELOVA, A., HAVLIKOVA, P., **KARAS, M.**, JUNGE, A., RAMENL, CH., PEKOVA, S.

A method to identify new molecular markers for assessing minimal residual disease in acute leukemia patients.

Leukemia Research, 2013, vol. 37, no. 10, s. 1363-1373. ISSN 0145-2126. IF 2,692

DE WREEDE, L., C., WATSON, M., VAN OS, M., MILLIGAN, D., VAN GELDER, M., MICHALLET, M., DREGER, P., DEARDEN, C., E., HOMEWOOD, J., DUPUIS, J., LEPORRIER, M., **KARAS, M.**, CORRONT, B., BAERLOCHER, G., M., HERR, W., CHOQUET, S., NIEDERWIESER, D., W., SUTTON, L., KRÖGER, N., DE WITTE, T., M., SCHEDELIG, J.

Improved PFS after autologous stem cell transplantation does not translate into better Quality of Life in CLL: lessons from the randomized EBMT-Intergroup study.

American Journal of Haematology, 2014, vol.89, no. 2, s. 174-180. ISSN 1096-8652. IF 3,798

DVORAK, P., LYSAK, D., VOKURKA, S., **KARAS, M.**, SUBRT, I.

Allogeneic stem cell transplantation can improve outcome of AML patients without complete cytogenetic response after induction and consolidation treatment.

Neoplasma, 2015, vol. 62, no. 1, s. 140-145. ISSN 1338-4317. IF 1,961

BAZARBACHI, A., LABOPIN, M., KHARFAN-DABAJA, M., A., SCHWERDTFEGGER, R., VOLIN, L., BOURHIS, J., H., SOCIÉ, G., DAGUINDAU, E., GEDDE-DAHL, T., RAMBALDI, A., **KARAS, M.**, SCHLIMOK, G., BLAISE, D., CHEVALLIER, P., MALARD, F., SCHMID, C., ESTEVE, J., NAGLER, A., MOHTY, M.

Allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia with normal karyotype and isolated Nucleophosmin-1 (NPM1) mutation: outcome strongly correlates with disease status.

Haematologica, 2016, vol.101, no. 1, s. e34-7. doi: 10.3324/haematol.2015.135681. Epub 2015 Sep 24. ISSN 1592-8721. IF 6,671

ZEMANOVÁ, K., ŽIŽKOVÁ, H., JURČEK, T., DVOŘÁKOVÁ, D., ZACH, J., POLÍVKOVÁ, V., VLČANOVÁ, K., DIVOKÁ, M., KŘUPKOVÁ, L., HROCHOVÁ, K., **KARAS, M.**, MACHOVÁ-POLÁKOVÁ, K.

Chronická myeloidní leukémie – standardizace molekulárního monitorování hladiny transkriptů BCR-ABL1 v České republice.

Transfúze a hematologie dnes, 2016, vol. 22, no. 1, s. 56-64. ISSN 1213-5763

JINDRA, P., RAIDA, L., LYSAK, D., **KARAS, M.**, PAPAŽIK, T., JUNGOVA, A., MOHAMMADOVA, L., HOUDOVA, L.

Prognostic factors to predicts outcome of reduced intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia

Neoplasma, 2016, vol. 63, no. 4, s. 595-600. ISSN 1338-4317. IF 1,961

KREJČÍ, M., SEDLÁČEK, P., JINDRA, P., ŠŤASTNÁ-MARKOVÁ, M., FABER, E., ŽÁK, P., TRNĚNÝ, M., KOZÁK, T., ŠTĚRBA, J., HÁJEK, R., BÜCHLER, T., KUŘÍKOVÁ, M., MAYER, J., STARÝ, J., **KARAS, M.**, VÍTEK, A., RAIDA, L., POHLREICH, D., KOŘÍSTEK, Z., CETKOVSKÝ P. Indikace k alogenním a autologním transplantacím krvetvorných buněk v ČR v roce 2016: doporučení transplantacní sekce české hematologické společnosti ČLS a české onkologické společnosti ČLS JEP.

Transfúze a Hematologie dnes. 2016; 22(2): 127-150. ISSN 1213-5763

KARAS, M., STEINEROVA, K., LYSAK, D., HRABETOVA, M., JUNGOVA, A., SRAMEK, J., JINDRA, P., POLIVKA, J., HOLUBEC, L.

Pre-transplant Quantitative determinativ of NPM1 Mutation Significantly Predicts outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem cell transplantation in Patients with Normal karyotype AML in Complete Remission.

Anticancer Research, 2016, vol. 36, no. 10, s. 5487-5498. ISSN 0250-7005. IF 1,895

7.2 Vybraná abstrakta přednášek a posterů publikovaná v periodících

Karas M, Jindra P, Koza V, Polívková M, Konstantinovičová M.

Monitorace FLT3/ITD u nemocných s AML.

Sborník abstrakt-Olomoucké hematologické dni se zahraniční účastí, 4.-7.6.2003, s 59

Karas M, Jindra P, Koza V, Černá K, Škopek P, Vokurka S, Lysák D, Švojgrová M, Vozobulová V, Schützová M.

Alogenní transplantace po redukované přípravě u nemocných s AML mimo 1.CR – zkušenosti HOO FN Plzeň.

Sborník abstrakt-Olomoucké hematologické dni se zahraniční účastí, 2.-5.6.2004, s 45

Karas M, Koza V, Jindra P, Steinerová K, Lysák D, Vokurka S, Vozobulová V.

Schützová M., Svoboda T.

Alogenní transplantace krvetvorných buněk po redukované přípravě může zlepšit prognózu vysocerizikové AML u starších nebo jinak vážně nemocných pacientů.

Sborník abstrakt-Olomoucké hematologické dni se zahraniční účastí, 15.-18.6.2005, s 51

Karas M, Koza V, Steinerová K, Jindra P, Svoboda T.

Alogenní transplantace po redukované přípravě u AML mimo kompletní remisi – potencionální vliv časného ukončení imunosuprese

Vnitřní lékařství 2008; 54: 30.

Sborník abstrakt-XXII.Olomoucké hematologické dni s mezinárodní účastí, 28.5.-30.5.2007

Karas M, Steinerová K, Jindra P, Lysák D, Svoboda T, Vokurka S, Mohammed L, Vozobulová V, Hrabětová M, Koza V.

Alogenní transplantace krvetvorných buněk u nemocných s akutní myeloidní leukémií se středním cytogenetickým rizikem v 1.kompletní remisi – analýza výsledků jednoho centra v období 2003-2008.

Transfuzie a hematologie dnes 2009; 15: 8.

(XXIII.Olomoucké hematologické dni s mezinárodní účastí, 24.6.-26.6.2009)

Karas M., Steinerova K., Jindra P., Lysak D., Svoboda T., Vokurka S., Koza V.: Comparable outcome of unrelated and related haematopoietic stem cell transplantation for intermediate-risk acute myeloid leukemia – a single centre analysis. 37th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Paris, France, 3.– 6.4.2011, Bone Marrow Transplant 2011; 46, Suppl.1: 279-280.

Karas M., Svoboda T, Steinerová K., Jindra P, Lysák D., Vokurka S., Koza V.: Reduced-intensity transplantation as part of standard treatment strategy in patients aged 60 to 70 years with acute myeloid leukaemia – single-centre experience.

Sborník abstrakt: XVI.česko-slovenský hematologický a transfuziologický sjezd, 5.-8.září 2012:s 77.

Andersen NS, Vindelov L, **Karas M**, Gramatzki M, Machaczka M, Vitek A, Stadler M, Dreger P, Faber E, Montserrat E, Socie G, Michallet, Moreno, Niederwieser D, Bornhäuser M, Nenseler A, Wreede, Geodet M, Kröger, Schetelig J. The effect of non-myeloablative (NMA) versus reduced-intensity conditioning (RIC) in chronic lymphocytic leukaemia (CLL)

undergoing allogeneic haematopoietic cell transplantation (allo-HCT): a retrospective EBMT analysis.

39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, London, Great Britain, 7.– 10.4.2013

Bone Marrow Transplant 2013; 48, Suppl.2: 16.

Karas M., Steinerová K., Svoboda T., Lysák D., Vokurka S., Vozobulová V., Schützová M., Jindra P. Alogenní transplantace krvetvorných buněk po redukované přípravě fludarabinem a melfalanem u AML mimo kompletní remisi – 10 leté zkušenosti jednoho centra.

Sborník abstrakt: XXVII.Olomoucké hematologické dni, 12.5.-14.5.2013:s 26

Gelder M., Wreede L, Henseler A., Biezen A., Niederwieser D., **Karas M.**, Andersen NS., Gramatzki M., Dreger P., Bunjes D., Petersen E., Potter M., Beelen D., Yacoub-Agha I, Cornelissen JJ., Russell NH., Finke J., Maertens J., Blaise D., Paneesha S., Vitek A., Bornhäuser M., Schoenland S., Kröger N., Schetelig J.: Long-term follow-up data support curative potential of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with chronic lymphocytic leukemia: a retrospective analysis from the chronic malignancies working party of the EBMT. 40th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Milan, Italy, 30.3.– 2.4.2014, Bone Marrow Transplantation 2014; 49, Suppl.1:34

Karas M., Steinerová K., Lysák D., Vokurka S., Hrabětová M., Jindra P.

Pre-transplant quantitative monitoring of NPM1 mutations significantly predicts outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in normal karyotype AML in complete remission

Sborník abstrakt: XXIX.Olomoucké hematologické dni, 31.5.-2.6.2015: s 44

Karas M., Steinerová K., Vozobulová V., Hrabětová M., Lysák D., Jindra P. Reduced-intensity transplantation (RIT) in patients with high-risk or advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL) in period 2011-2015. Decrease transplant-related mortality (TRM) improves treatment results – single centre experience

Transfuzie a hematologie dnes 2016; 22: 57.

(XXX.Olomoucké hematologické dni s mezinárodní účastí, 29.5.-31.5.2016)

Karas M., Steinerová K., Hrabětová M., Pachner M., Jungová A., Lysák D., Jindra P.

Outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in normal karyotype AML with NPM1 mutation in complete remission is not affected by FLT3/ITD positivity – potentially crucial importance of pre-transplant level of minimal residual disease

Transfuzie a hematologie dnes 2016; 22: 58.

(XXX.Olomoucké hematologické dni s mezinárodní účastí, 29.5.-31.5.2016)