



Haimaom
Hemato-onkologická nemocnice Olomouc



Lékařská
fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci

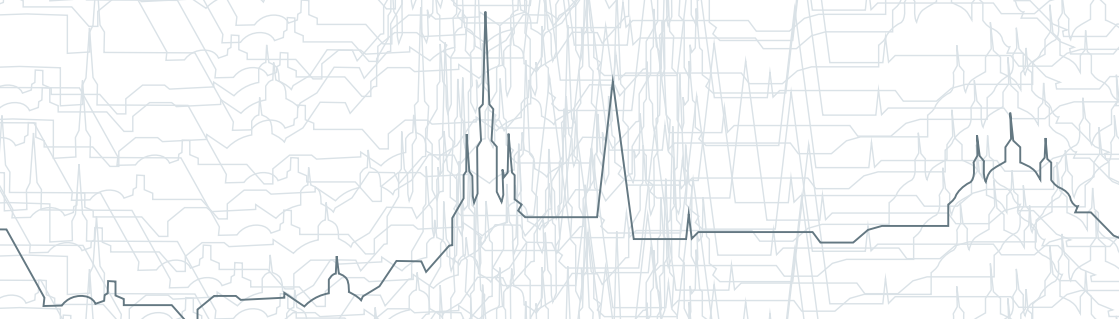


Hemato-onkologická
nemocnice
Palackého
nemocnice
Olomouc

XXXII.

Olomoucké hematologické dny

XXII. Konference ošetrovatelství a zdravotních laborantů
11th Symposium on Advances in Molecular Hematology



Sborník abstrakt

Hlavní téma

**Vzácná onemocnění
v ordinaci hematologa**

27. – 29. 5. 2018

NH Collection Olomouc
Congress a Omega centrum
Olomouc

www.olhemdny.cz



Lékařská
fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci



POŘÁDAJÍ

HAIMAOM, nadace na podporu transplantace kostní dřeně
ve spolupráci s

**Lékařskou fakultou UP v Olomouci a
Hemato-onkologickou klinikou FNOL a LF UP**

POD ZÁŠTITOU

České hematologické společnosti ČLS JEP

prof. MUDr. Milana Koláře, Ph.D., děkana LF UP v Olomouci

prof. MUDr. Romana Havlíka, Ph.D., ředitele FN Olomouc

Sekce onkologie České asociace sester

OBSAH

PREZIDENTSKÉ SYMPOZIUM	2
WIEDERMANNOVA PŘEDNÁŠKA	4
POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 1	4
ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY (AMH) I	6
KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ 1	8
ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY (AMH) II	11
KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ 2	11
ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY (AMH) III	13
WORKSHOP: BÁLINTOVSKÁ SKUPINA	17
JAK SPOLUPRACOVAT V TÝMU?	18
POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 2	18
KONFERENCE ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ	20
POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 3	23
MORFOLOGICKÝ DEN I.....	26
MORFOLOGICKÝ DEN II	28
POSTEROVÁ ČÁST.....	31
JMENNÝ REJSTŘÍK AUTORŮ	54

**AKREDITOVÁNO****Sborník abstrakt vydalo**

Vydavatelství UP Olomouc
Univerzita Palackého v Olomouci
Křížkovského 8
771 47 Olomouc
ISBN 978-80-244-5324-8
Olomouc, 2018
Neprodejná publikace
1. vydání

Odpovědní redaktoři:

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.
Mgr. Václav Kajaba, Ph.D.

1.

Diagnostika hemoglobinopatií v ČR 2018

Indrák K., Divoká M., Pospíšilová D., Čermák J., Beličková M., Horváthová M., Divoký V. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc; ÚHKT, Praha)

Hemoglobinopatie nejsou v ČR tak vzácné, jak se dříve myslelo. V posledních 30 letech byly diagnostikovány u více než 876 osob z 579 rodin. Jejich incidence/prevalence se stále zvyšuje. Souvisí to se zlepšující se informovaností lékařů o těchto chorobných jednotkách a s lepší dostupností specializované, především molekulárně-genetické diagnostiky. Dá se však předpokládat, že se v naší populaci ještě stále vyskytuje dost jedinců s nerozpoznanou hemoglobinopatií. Jedná se především o nosiče talasemických alel, kteří mají nenápadný fenotyp mikrocytární hypochromií anemie s nenápadnou erytrocytózou a normální hladinou feritinu i sérového železa. Klinicky jsou asymptomatictí, ale v důsledku změn v krevním obraze jim někdy bývá mylně stanovena diagnóza sideropenické anemie. Následná „léčba“ železem, která nemá žádný vliv na změny v krevním obraze, může tyto jedince s charakteristicky nízkou hladinou hepcidinu naopak poškodit.

V našem sdělení představíme charakteristické genotypické laboratorní projevy základních typů hemoglobinopatií a jejich molekulárně-genetickou podstatu. Fenotypické projevy jednotlivých typů hemoglobinopatií budeme prezentovat formou kazuistických příkladů. Uvedeme přehled 34 β -talasemických alel, 4 $\delta\beta$ talasemických alel, 14 α -talasemických mutací a 22 hemoglobinových variant identifikovaných v české populaci. Největší incidence/prevalenci mají v naší populaci mediteránní β -talasemické alely IVS-I-1 (G-A) s 25,6 %, IVS-I-110 (G-A) s 19,3 %, IVS-I-6 (T-C) 10,7 % a alela CD 39 (C-T) 10,2 %. Tyto čtyři alely reprezentují 69 % všech β -talasemických alel. Zajímavé je srovnání incidence β -talasemických alel v ČR a SR ukazující rozdíly v původu obyvatelstva obou národů. V SR se nejčastěji vyskytuje alela IVS-II-1 (G-A) v 30,3 % (v ČR jen 6,7 %), IVS-I-110 (G-A) v 29,9 % (v ČR 19,3 %) a IVS-I-6 (T-C) 12,9 % (v ČR 10,7 %). Tyto 3 mutace reprezentují 73,1 % všech β -talasemických alel identifikovaných na Slovensku. V SR se nevyskytuje pro ČR specifická mutace v kodonech 38/39 (-C). Tyto nálezy jsou v souladu s výsledky výzkumu na MU v Brně, podle kterých je genetický původ České populace velmi pestrý. Slovanské kořeny má jen 35 procent populace, u třetiny lze vystopovat germánsko-keľský původ, 10% má prapředky z řad Vikingů a zbytek má jiný původ. Valaši podle těchto výsledků představují původní Moravské obyvatelstvo.

Podrobněji se budeme věnovat hemoglobinopatiím, které u nás byly diagnostikovány prioritně: β -talasemická alela CD 38/39 (-C), hemoglobin Olomouc; hemoglobin Haná; hemoglobin Hradec Králové a α -tal.-2 delece DNA o délce 18,3 kb, jejíž identifikace umožnila odhalit nový mechanismus vzniku α -talasemie-2.

Problematika hemoglobinopatií v současnosti nabývá v ČR na významu, protože u uzavřených, ale dnes již relativně početných komunitách mladých migrantů s vysokou prevalencí heterozygotního postižení hemoglobinopatií jsou často uzavírány sňatky uvnitř komunity (např. mezi Vietnamci). S ohledem na závažnost klinických projevů u homozygotů má proto u těchto jedinců velký význam i prenatální diagnostika k vyloučení homozygotů resp. složených heterozygotů. Tu rozvinulo Centrum vzácných chorob na HOK FN a LF UP v Olomouci a Centrum vzácných chorob na ÚHKT v Praze a na Klinice dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol ve spolupráci s Oddělením lékařské genetiky FN Motol.

2.

Vzácná onemocnění červené krevní řady u dospělých nemocných

Čermák J. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha)

V posledních 20 letech jsme svědky výrazného nárůstu počtu nemocných s vrozenými poruchami červené krevní řady, které se u nás dříve vyskytovaly zcela ojediněle či vůbec ne. Příčin nárůstu počtu těchto nemocných je několik. Díky komplexní a specializované péči na klinických pracovištích dětské hematologie se dnes dospělosti dožívají téměř všichni nemocní s vrozenými poruchami krvetvorné buňky. Dále se výrazně zlepšily diagnostické možnosti těchto onemocnění a též edukace lékařů pečujících jako o děti, tak o dospělé nemocné, což vedlo ke zlepšení diferenciální diagnostiky a zejména k odhalení klinicky málo vyjádřených heterozygotních forem

onemocnění vyskytujících se v poměrně vysoké frekvenci i v naší populaci (např. beta thalasémie) a v populaci žijící u nás již ve druhé či třetí generaci (např. alfa thalasémie ve vietnamské komunitě). Konečně je třeba zmínit i výrazný nárůst migrace obyvatel z Blízkého a Středního východu, jihovýchodní Asie a bývalých středoasijských sovětských republik. V diferenciální diagnostice je třeba se zaměřit na tři okruhy onemocnění. U nemocných s výraznou hypochromií a mikrocytózou je třeba odlišit pomocí vyšetření zásob Fe, elfo Hb a molekulární genetiky heterozygotní formy thalasémie a vzácněji kongenitální sideroblastickou anémií od sideropenické anémie. U nemocných mladších 30 let s nejasnou cytopenií je třeba pečlivě odlišit časný myelodysplastický syndrom od pozdní manifestace lehčí formy některé s kongenitálních cytopenií (Fanconiho anemie, Diamond Blackfanova anemie) pomocí vyšetření chromozomálních zlomů, karyotypu a molekulárně genetického vyšetření. Je třeba odlišit i některé vzácné kongenitální hemolytické anémie od vzácného výskytu získané hemolýzy v dětském věku (např. kongenitální dyserythropoetickou anémií od paroxysmální noční hemoglobinurie). V Centru pro vzácné choroby krvetvorby v ÚHKT v Praze je sledováno více než 130 dospělých nemocných s vzácnými poruchami červené krevní řady, ve sdělení jsou uvedeny některé zajímavé diferenciálně diagnostické případy.

3.

Trombotické mikro a makroangiopatické syndromy

Bátorová A., Bojtárová E., Martinka J., Jankovičová D., Mistrík M. (Klinika hematologie a transfuziologie LF UK, Univerzitní nemocnice, Bratislava – SK)

Trombotické mikroangiopatie (TMA) sú syndrómy rôznej etiológie, pri ktorých mikrovaskulárna trombotizácia vedie k poškodeniu rôznych orgánov. Patogenéza TMA je rozmanitá, hoci k nej vedú podobné choroby, ako sú ťažké infekcie, gravidita, pôrodnice komplikácie, malignity, imunologicky podmienené choroby a reakcie a poruchy komplementového systému. Hlavnou charakteristikou TMA je mikroangiopatická hemolytická anémia (MAHA), trombocytopenia a ischemické poškodenie orgánov.

Diseminovaná intravaskulárna koagulácia (DIC) je spôsobená aktiváciou koagulačného systému tkanivovým faktorom (často pri meningokokovej sepe, embolizácii plodovou vodou) s generalizovanou trombotizáciou mikrocirkulácie, multiorgánovým zlyhaním a súčasnými prejavmi krvácania z troch anatomicky nesúvisiacich orgánov v dôsledku konzumpčnej koagulopatie. V laboratórnej diagnostike DIC pomáha skórovací systém, ktorý posudzuje stupeň trombocytopenie, hypofibrinogenémie, predĺženia protrombínového času a zvýšenia produktov degradácie fibrínu. Liečba DIC je komplexná, korekcia konzumpčnej koagulopatie spočíva v substitúcii trombocytov, fibrinogénu, koagulačných proteínov a prirodzených inhibítorov koagulácie.

Trombotická trombocytopenická purpura (TTP) je choroba spôsobená vrodeným alebo získaným deficitom proteázy štiepiacej von Willebrand faktor (VWF-cp), známej ako ADAMTS13. Veľké multiméry vWF spôsobujú agregáciu trombocytov najmä v mikrovaskulature mozgu, srdca a obličiek. TTP je charakterizovaná pentádou príznakov: trombocytopenia, MAHA, horúčka, neurologická symptomatológia a poškodenie obličiek. Diagnózu TTP potvrdí Coombs negatívna MAHA, zvýšenie LDH, retikulocytov a schistocytov, trombocytopenia, znížená aktivita vWF-cp <5%, dôkaz mutácie génu ADAMTS13 alebo prítomnosť protilátok proti ADAMTS13. Pri vrodenej TTP spočíva liečba v substitúcii VWF-cp čerstvo zmrazenou plazmou, pri získanej TTP je liečbou prvej voľby výmenná plazmaferéza, kortikosteroidy, anti-CD20 protilátky, prípadne splenektómia.

Atypický hemolyticko-uremický syndróm (aHUS) je podmienený nekontrolovanou aktiváciou alternatívnej cesty komplementu v dôsledku génových mutácií vedúcich k deficitu regulačných proteínov (faktor I, Faktor H, membránového kofaktorového proteínu) alebo zvýšeniu aktivátorov komplementu (Faktor B a C3 zložka). Získaná forma aHUS je výsledkom tvorby autoprotilátok proti faktoru H (anti-CFH). V klinickom obraze dominuje trombocytopenia, MAHA a renálne poškodenie s vývinom renálnej insuficencie. Laboratórna diagnostika aHUS spočíva vo vylúčení TTP a HUS spojeného so Shiga-toxín E.coli infekciou, vo vyšetrení komplementového systému a protilátok anti-CFH. Liečbou prvej voľby pri aHUS je aplikácia humanizovanej protilátky proti C5 zložke komplementu – eculizumab, pri protilátkach anti-CFH imunopresia, výmenná plazmaferéza, často je potrebná transplantácia obličiek, prípadne pečene.

Paroxysmální noční hemoglobinúria (PNH) je způsobená nemalignou klonální expanzí kmeňových buněk, u kterých došlo k somatické mutácii genu PIG-A (phosphatidylinositol glykan trydy A), která vede k deficitu regulátorů komplementu CD55 a CD59 na trombocytech, erytrocytech a leukocytech. Nekontrovaná aktivace komplementu na erytrocytech vede k hemolýze a hemoglobinúrii, typické sú klinicky závažné makrotrombózy a cypóenia v dôsledku zlyhania kostnej drene. Diagnózu PNH potvrdí deficit CD55 a CD59 na krvných bunkách prietokovou cytometriou s použitím testu FLAER (fluorescently labeled inactive toxin aerolysin). Podľa závažnosti syndrómu PNH sa v liečbe používa eculizumab, podporná liečba (transfúzie, antikoagulancia, kortikoidy), zatiaľ jedinou kuratívnu liečbou PNH je transplantácia kostnej drene, pri ktorej však treba zohľadniť s liečbou spojené riziko morbidity a mortality.

WIEDERMANNOVA PŘEDNÁŠKA

4.

Haematological consequences of nuclear accidents - lessons from Chernobyl

Gale R. P. (Los Angeles – USA)

Nedodáno v termínu.

POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 1

5.

Budd-Chiariho syndrom

Dulíček P. (Hradec Králové)

Nedodáno v termínu.

6.

Získaná hemofilie

Hluší A., Palová M., Procházková J., Slavík L. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Úvod: získaná hemofilie představuje vzácné autoimunitní onemocnění podmíněné tvorbou protilátek (inhibitorů) proti faktoru VIII způsobujících jeho funkční deficit a s ním spojené krvácivé projevy.

Epidemiologie a etiopatogeneze: vzácné onemocnění s incidencí cca 1,5 případů/1 mil. obyvatel ročně. Většinou jsou postiženi jedinci staršího věku s výjimkou podskupiny mladších žen, kde je patrná souvislost s graviditou či postpartálním obdobím. Asi u 1/2 nemocných je potvrzena sekundární příčina (revmatoidní artritida, systémové onemocnění, malignita, medikace, gravidita), u 50% jde o výskyt idiopatický. Příčina tvorby autoprotilátek není zcela jasná, uplatňovat se mohou genové polymorfismy (např. HLA) a/nebo aktivace autoreaktivních CD4+ T lymfocytů. Inhibitorové protilátky jsou většinou typu IgG bez schopnosti vázat komplement.

Klinická manifestace: většinou spontánní vznik kožně-slizničních krvácivých projevů (rozsáhlé hematomy, krvácení do měkkých tkání, svalů, hematurie, krvácení do GIT, epistaxe, gynekologické krvácení), jde velmi často o krvácení závažné nebo život ohrožující, lokalizováno může být i v CNS. Na rozdíl od vrozené hemofilie není kloubní krvácení typické. Asi u pětiny nemocných jsou krvácivé projevy minimální nebo žádné.

Laboratorní diagnostika, monitorace: Typickým nálezem je izolované prodloužení aPTT, které se nekoriguje normální plazmou (bezprostředně ani po inkubaci). Koagulační vyšetření zahrnuje screeningová vyšetření (aPTT, PT, TT i Fib), průkaz inhibitoru (směsné testy na principu aPTT včetně inkubace), jeho specifity (snížená funkční aktivita FVIII). Ke kvantitativnímu průkazu inhibitoru se využívá Bethesda metody. Diagnostika zahrnuje i vyloučení jiných koagulopatií včetně přítomnosti dalších typů inhibitorů (i nespecifických) nebo vzácného současného výskytu specifického i nespecifického inhibitoru. Efekt terapie se monitoruje pomocí aPTT, funkční aktivity FVIII titru inhibitoru (BU/ml).

Léčba: zahrnuje dvě oblasti – léčbu krvácení a eradikaci inhibitoru. K terapii závažného krvácení se používají přípravky s bypassovou aktivitou - aktivovaný rekombinantní faktor VII (NovoSeven, iniciálně 90 ug/kg á 2-3 h) nebo plazmatický koncentrát aktivovaného protrombinového komplexu (Feiba, iniciálně 50-100 IU/kg, max. 200 IU/kg/den). Zástavy krvácení je dosaženo až v 90% případů. Při nedostatečné odpovědi je doporučena výměna přípravku. Pro léčbu refrakterních stavů lze použít rekombinantní porcinní faktor VIII (Obizur). Eradikační léčba, zaměřená na odstranění inhibitoru, je pro přítomnost a/nebo riziko krvácení indikována u všech pacientů. Využívá se imunosupresivních postupů, které je třeba přizpůsobit věku, stavu a komorbiditě pacienta. Zodpovědně musí být posouzeno zvláště riziko infekčních komplikací, spojených s imunosupresivní léčbou. Základem je kombinace kortikosteroidu (prednison 1mg/kg/d) s cyklofosfamidem (1-2 mg/kg/d). V některých případech lze zvažovat iniciálně monoterapii kortikoidy. V terapii druhé linie jsou používány režimy na bázi rituximabu. V případech refrakterních onemocnění nebo život ohrožujících stavů lze mezi léčebnými možnostmi zvažovat imunoabsorpci, imunitoleranci pomocí FVIII či použití dalších imunosupresiv.

Závěr: pacienti s podezřením na získanou hemofilii by měli být co nejdříve došetřeni a léčeni ve specializovaných centrech s patřičnými zkušenostmi v diagnostice a terapii tohoto vzácného onemocnění.

7.

Histiocytóza z Langerhansových buněk u dospělých

Adam Z., Krejčí M., Pour L. (Interní hematologická a onkologická klinika, LF MU a FN, Brno)

Termín „histiocytóza z Langerhansových buněk“ zahrnuje široké spektrum klinických projevů. U dospělých pacientů je agresivní průběh nemoci výjimečný, nemoc se nejčastěji manifestuje jedním ložiskem či poškozením jednoho orgánu či tkáně. Formy postihující současně více orgánů či tkání jsou méně časté. Nejčastějším projevem u dospělých je kostní manifestace, takzvaný „eozinofilní kostní granulom“, obvykle izolované osteolytické ložisko, často na kalvě. Osteolytických ložisek však může být i více a pak rentgenový snímek může připomínat osteolýzu u mnohočetného myelomu. Dalším postiženým orgánem mohou být plíce. Nemoc se může ukrývat pod falešnou diagnózou emfyzému. V plicích způsobuje nodularity, které se postupně kavituji a následně splývají v cysty. Někdy se diagnóza rozpozná až při pátrání po příčině spontánního pneumotoraxu. Plicní postižení může být izolované velmi často v souvislosti s kouřením, ale může být součástí multiorgánového postižení. Nemoc postihuje relativně často také kůži. Tvoří různé morfy v zapářkových oblastech a na hrudníku, ale také někdy infiltruje perianální krajinu a způsobuje nepřijemné svědění. Kožní morfy nelze rozpoznat dle jejich makroskopického vzhledu, ale jediné dle histologického vyšetření kůže.

Další možné lokalizace vyjmenujeme stručně: postižení stopky hypofýzy a hypotalamu způsobí nejčastěji diabetes insipidus. Infiltrace zvukovodu zpočátku imituje zánět, posléze může způsobit destrukci této oblasti. Postižení dásní způsobí uvolňování zubů. Setkali jsme se také s postižením uzlin, někdy byla dostačující exstirpace a lokální ozáření, ale v jednom případě uzlinové onemocnění imitovalo svým rozsahem maligní lymfom a vyžadovalo kombinovanou léčbu zakončenou alogenní transplantací krevetvorných buněk. Literatura popisuje i možné postižení trávicího traktu.

Nemoc je ve většině případů velmi dobře léčitelná. Pro lokalizované formy lze použít radioterapii, udává se, že u dospělých by 20 Gy mělo mít kurativní potenciál. Z léků používaných pro tuto nemoc je nutno zmínit vinblastin, metotrexát a prednison. Tyto léky jsou používány u dětí a v dospělosti. Velmi účinný je u dospělých také 2-chlorodeoxyadenosin, který vzhledem k absenci infiltrace kostní dřeně je velmi dobře tolerován.

Incidence LCH v ČR zcela přesně neznáme. WHO klasifikace krevních chorob uvádí incidenci 5/1 milion všech osob s tím, že u dětí je tato nemoc podstatně častější. V České republice je dětskými hematologi a onkologi ročně registrováno asi 15 dětí s nově diagnostikovanou LCH, počet dětí s izolovanou kostní formou LCH, která nevyžaduje jinou, než chirurgickou léčbu není znám. Němečtí autoři uvádí incidenci LCH u dospělých 1-2 případy /1 milión obyvatel.

Kožní lymfomy v hematologické praxi

Polívka J. (I. Interní klinika – hematologie, 1. LF UK a VFN, Praha)

Primární kožní lymfomy (PCL, primary cutaneous lymphomas) představují přibližně 3,5% ne Hodgkinsonských lymfomů s roční incidencí v ČR 7,2 případů na milion obyvatel. V současné době žije v ČR přibližně 850 nemocných s PCL. PCL z definice v době diagnózy postihují pouze kůži, v této době není prokazatelné mimokožní postižení. PCL tvoří skupina extranodálních lymfoproliferativních onemocnění složená z diagnostických entit s rozdílnými histopatologickými rysy a klinickými projevy. Příčina PCL není známa.

Stanovení správné diagnózy podtypu PCL vyžaduje zhodnocení klinického obrazu, histopatologického a molekulárně biologického vyšetření. Současná revidovaná WHO klasifikace z roku 2016 rozděluje PCL na primární kožní T-buněčné lymfomy a primární kožní B-buněčné lymfomy, které jsou zastoupeny v poměru 3:1. Nejčastějším podtypem PCL je mycosis fungoides a Sézary syndrom, reprezentující více než polovinu všech PCL. Podle biologického chování můžeme PCL rozdělit na indolentní a agresivní typy.

V současné době PCL nejsou vyléčitelná. Léčba závisí na podtypu PCL a klinickém stádiu onemocnění s hodnocením prognostických faktorů, věku a výkonnostního stavu nemocného. Péče o nemocného je zaměřena: 1. na úlevu od příznaků a kvalitu života, 2. na zmenšení nádorového objemu a 3. na oddálení progresu onemocnění.

Přístup k nemocným s PCL, od diagnostiky přes stanovení plánu péče k léčbě vyžaduje multidisciplinární přístup, spolupráci dermato-hemato-patologa, dermatologa, hemato-onkologa, radioonkologa. V péči o nemocné s PCL se do popředí dostávají psycho-sociální aspekty a kvalita života nemocného. I přesto, že PCL patří mezi vzácná hemato-onkologická onemocnění, zasluhují si plnou pozornost nejen hematologů.

ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY (AMH) I**Cell-free DNA - minimally invasive marker of hematological malignancies**

Ševčíková S., Vrábel D., Pour L. (Babak Myeloma Group, Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno; Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno, Brno)

Liquid biopsies offer more complex, less painful and easily accessible source of information about disease progression, treatment response but also about minimal residual disease in comparison to standard biopsies. Presence of circulating tumor cells and different types of circulating nucleic acids (miRNA, cfDNA, lncRNA) can be utilized for analysis from peripheral blood – the most common vehicle for liquid biopsies.

cfDNA (cell-free DNA) are short fragments of DNA first described in 1949. In 1979, they were described in tumor patients, and in 1994, the first report of these molecules in hematological malignancies was published. cfDNA are usually found in very low amounts in peripheral blood. Their levels increase in connection with tumors, inflammation, trauma, surgery, heart attack etc. Since they can be released from healthy as well as tumor cells, the amount of cfDNA cannot be used as a diagnostic marker.

Multiple myeloma is a genetically heterogeneous disease characterized by focal deposits in the bone marrow but also by multiple focal lesions elsewhere. Standard biopsy usually fails to offer complex molecular profile of disease with all subclones present in a patient's body, as it typically samples only single site of tumor. Moreover, molecular profile of a patient changes drastically during treatment and treatment resistant subclones propagate. Extramedullary deposits also contain unique subclones that can respond to treatment differently or do not respond at all, what significantly influences survival of patients. Thus, liquid biopsies seem to be a relevant and necessary next step for diseases such as multiple myeloma.

This work was supported by grant AZV 15-29508A.

Identifying and targeting molecular vulnerabilities of p53 deficiency in myeloma and lymphoma cells

Pellat-Deceunynck C., Tessoulin B., Chiron D., Amiot M., Le Gouill S. (CRCINA, INSERM, CNRS, Université de Nantes, Université d'Angers, Nantes – FR)

Deficiency in p53 pathway is widely associated with resistance and shortened survival in B-cell malignancies (Tessoulin Blood Rev 2017). All tumor cells harbor dysregulations in p53 pathway that are either reversible (such as overexpression of MDM2, the p53 E3 ligase, that can be targeted with MDM2 inhibitors) or irreversible. Irreversible deficiency in p53 pathway is mostly caused by TP53 loss and/or mutations or ATM loss and/or mutations (hits in these genes being usually mutually exclusive) leading to the loss of p53 pathway activation following DNA damage. This irreversible deficiency requires new therapeutic strategies distinct from DNA damaging. It is well known that p53 deficient cells are more resistant to cell death in response to current chemotherapies because of the lack of cell cycle/metabolism regulation, of the lack of transactivation of apoptotic genes, and because of mitochondrial resistance.

We postulated that these advantages should create neo-vulnerabilities of tumor cells and focused our efforts to identify tumor Achilles's heel either related to p53 deficiency or bypassing p53 deficiency. We indeed identified three independent dysregulated pathways that can be efficiently targeted: we show that targeting either the ROS-glutathione axis (with molecules such as Prima-1met, Tessoulin Blood 2014), or the Bcl2 family (with BH3 mimetics, Touzeau Leukemia 2014) or the anti-viral response (with the oncolytic Measles virus, Lok ASH 2016), efficiently induce cell death either in p53 competent and deficient myeloma and lymphoma cells or preferentially in p53 deficient myeloma and lymphoma cells.

MYC-mediated downregulation of miR-150 contributes to the transformation of follicular lymphoma to DLBCL by upregulating FOXP1 levels

Mraz M., Musilova K., Devan J., Cerna K., Seda V., Pavlasova G., Pytlík R., Prochazka V., Prouzova Z., Zlamalikova L., Liskova K., Kruzova L., Burda P., Machova Polakova K., Mocikova H., Kren L., Mayer J., Trnny M., Janikova A. (IHOK, FN, Brno; CEITEC MU and University Hospital Brno and Faculty of Medicine MU, Brno; General University Hospital in Prague and Charles University, Prague; Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital, Olomouc; Department of Pathology and Molecular Medicine, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague; Department of Pathology, University Hospital, Brno; Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital, Olomouc; Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague; Charles University in Prague and University Hospital Kralovske Vinohrady, Prague; University Hospital Brno and Faculty of Medicine MU, Brno; First Department of Medicine - Department of Hematology, General University Hospital in Prague and Charles University, Prague)

Recent studies revealed number of genomic aberrations associated with transformation of follicular lymphoma (FL) to diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) including frequent aberrations activating MYC. However, the precise molecular mechanisms underlying this process are largely unclear. We aim to understand the role of miRNAs in the process of high-grade transformation of FL (tFL). We performed a global miRNA expression analysis in 16 paired primary samples from FL patients before and after transformation to DLBCL. We observed that miR-150 was uniformly down-modulated (~3.5-fold) in all examined tFL (n=26, 13 paired samples). We showed that elevated levels of MYC protein are responsible for repressing miR-150 in tFL, and rare MYC-positive FL had significantly lower miR-150 expression compared to MYC-negative FL cases. Similarly CLL with MYC duplications had lower miR-150 levels. We have shown that silencing of MYC in B cell leads to up-regulation of miR-150 in B cells, and MYC over-expression in a mouse model leads to repression of miR-150. This was not dependent on LIN28A/B proteins, which are induced by MYC and impair the miR-150 maturation in myeloid cells, since LIN28A/B proteins were undetectable in all examined B cell lines and primary samples. The chromatin-IP for MYC showed that MYC directly binds in the region upstream of MIR150 transcription start site. We showed that low miR-150 levels in FL and tFL lead

to upregulation of its target FOXP1, which is a positive regulator of B cell activation and BCR signalling. Interestingly, low-level miR-150 expression predicted a substantially shorter overall survival (OS) in FL in a univariate and multivariate analyses (median 9.1 yrs vs. not reached; $P=0.008$; HR 3.5 [CI: 1.3-9.2]). miR-150 was significantly less expressed in FL patients with early death or relapse within 2 years from diagnosis, which suggests that miR-150 levels could be useful for identifying the ~20% of FL patients with the most aggressive course (Casulo et al., JCO, 2015). Similarly, the high FOXP1 expression associated with higher Ki67 proliferation index and shorter OS in FL (median 33 months vs. not reached; $P=0.03$; HR 5.0 [CI: 1.1-22.6]). In conclusion we have shown for the first time that miRNAs are involved in FL transformation. miR-150 is transcriptionally repressed by MYC in transformed FL and aggressive FL, and this leads to higher FOXP1 levels.

Supported by: Czech Science Foundation (project No. 16-13334Y); the Ministry of Health of the Czech Republic, grant No. 16-29622A; the Ministry of Health of the Czech Republic, grant No. NV18-03-00054; the research grant TACR (TE02000058/2014-2019); MUNI/A/0968/2017; MUNI/H/0865/2016; MH CZ - DRO (FNBr, 65269705). This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No. 692298. This study reflects only the author's view and the Research Executive Agency is not responsible for any use that may be made of the information it contains. contact: marek.mraz@email.cz

12.

Rationale for targeting tumor cells in their microenvironment for mantle cell lymphoma treatment *Papin A., Le Guillou S., Chiron D. (CRCINA, INSERM, CNRS, Université de Nantes, Nantes – FR)*

Mantle cell lymphoma (MCL) is an aggressive non-Hodgkin lymphoma associated with poor prognosis, and despite recent improvements for treating MCL, its management remains challenging. While next generation sequencing technologies have greatly increased our understanding of the intrinsic abnormalities of MCL, the role of extrinsic signaling remains largely unknown. We have recently highlighted the central role of the MCL microenvironment in survival, proliferation and drug resistance. We believe that the characterization of MCL tumoral niches and comprehension of the crosstalk between tumor cells and surrounding cells must be integrated into future rational and mechanism-based therapeutic strategies. During this presentation, I will show novel insights regarding the MCL microenvironment and discuss how these findings could offer new therapeutic opportunities to overcome drug resistance during the treatment of MCL.

13.

Immune effects of transplants in humans

Gale R. P. (Los Angeles – USA)

The lecture will be focused on the understanding the immune-mediated anti-leukemia effects of transplants (graft-versus-leukemia, GvL) as well as understanding of other complex immune effects of transplants in humans, like graft-versus-host disease (GvHD) and post-transplant immune deficiency.

KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ 1

14.

„Beneficence? ... Beneficence!“ Etická dilemata v (nejen) paliativní péči

Ivanová K., Janečková I., Lemrová A. (ÚSLVZ, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc)

Etika je určitý hodnotový systém zahrnující veškerou lidskou zkušenost. Zobecnění lidské zkušenosti udává, co má být či být uděláno. Součástí systému je předpoklad rovnosti a svobodné vůle všech osob v systému, schopných nést důsledky jednání. Předmětem zájmu v lékařské a ošetrovatelské etice je 1) Způsob jakým byla a je v lékařství a v ošetrovatelství zobecňována zkušenost; 2) Proces, kterým se stanovuje, co v lékařství a ošetrovatelství má či nemá být uděláno; 3) Jak bylo a je v lékařství a ošetrovatelství zajišťováno přijetí odpovědnosti.

Cílem lékaře je stanovit diagnózu a na jejím základě určit léčbu (CURE). V lékařské etice byl

hodnotový systém této činnosti zobecněn do čtyř stěžejních principů zásadního rozhodnutí: dobřechinění a neškodění (vycházející z tradice judaistické, křesťanské i hippokratovské); respekt k autonomii (vycházející z filozofických směrů v období osvícenectví) a spravedlnost (vycházející z teorie liberalismu 20. století).

Cílem ošetrovatelky je rozpoznat potřeby nemocného a na jejich základě poskytnout péči (CARE). V ošetrovatelské etice byl tento hodnotový systém zobecněn do principů každodenní starostlivosti: pravdomluvnost, důvěryhodnost, věrnost, poctivost. Principy každodenní starostlivosti aplikují a specifikují principy zásadního rozhodnutí: K čemu beneficence bez věrnosti a důvěry? K čemu nonmaleficence bez důvěryhodnosti? K čemu autonomie bez pravdomluvnosti a soukromí? K čemu spravedlnost bez poctivosti? Princip dobřechinění (beneficence) však je a zůstává prvním principem zdravotnické péče. Obecně zahrnuje, že zdravotníci mají mít v především na mysli dobro pro nemocného. Tento stěžejní a první princip v procesu poskytování zdravotnické péče shrnul Hippokrates ve větě ...“přijdu-li v kterýkoliv dům, přijdu pro dobro nemocného.“

Dilemata typická pro paliativní péči jsou: 1) Co sdělovat, jak sdělovat, kdy sdělovat, komu sdělovat (nebo nesdělovat?) a 2) Co poskytovat, jak poskytovat, kdy poskytovat, komu poskytovat (nebo neposkytovat?). Takto koncipovaná dilemata nejsou odlišná od dilemat kurativních lékařských oborů. Řešení dilemat MUSÍ respektovat dobro pro pacienta, NESMÍ rizika převyšovat přínos, MUSÍ respektovat pacientovu autonomii a NESMÍ nikoho nespravedlivě upřednostňovat. Teoreticky jsou principy jasné, komplikovaná je praktická odpověď na etickou otázku: Co mám dělat, teď, v tomto případě? Podle Kanta ale otázce musí předcházet deontologický přehled toho, co mám vědět (než začnu něco dělat) a konsekvenzialistický odhad toho, s čím mohu počítat. Pro vědění je nutno 1) být profesionálem ve svém oboru; 2) znát etické a právní kodexy (Etický kodex lékařské komory; Práva pacientů; Úmluvu o biomedicině; Zákon 372/2011) 3) umět se eticky rozhodnout; 4) umět nést důsledky rozhodnutí (ve vztahu k tomu kdo jsem, co jsem a jaký jsem).

KLÍČOVÁ slova: etické principy, dobřechinění, etická dilemata, paliativní péče, deontologie, konsekvenzialismus

15.

Podpurná a paliativní péče na I. interní klinice FNKV

Bodláková J. (I. interní klinika, FNKV, Praha)

Obsahem sdělení jsou jednak obecné aspekty podpurné a paliativní péče v České republice a zejména podpurná a paliativní péče poskytovaná jako součást dobré klinické praxe na I. interní klinice Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, která započala v souvislosti s výzvou NF Avast. Důraz je ve sdělení kladen zejména na zvyšující se potřebu tohoto typu specializované péče, na multidisciplinaritu a zejména na komunikaci a časovou náročnost, která je jednoznačným základem tohoto typu péče.

16.

Patient dignity inventory – nástroj pro hodnocení důstojnosti pacienta

Kisvetrová H., Danielová L., Bermellová J. (Centrum vědy a výzkumu, Fakulta zdravotnických věd, Univerzita Palackého, Olomouc; Oddělení geriatry, FN, Olomouc; Ústav ošetrovatelství, FZV UP, Olomouc)

Důstojnost představuje základní hodnotu lidské existence a nejvyšší hodnotu v souvislosti se zdravím podmíněnou kvalitou života. Zachování a podpora důstojnosti nevyléčitelně nemocných má pozitivní dopad na jejich vnímání osobní hodnoty a významu. Model důstojnosti nevyléčitelně nemocných, který vytvořil H. Chochinov, zahrnuje široké spektrum fyzických, psychosociálních, duchovních a existenciálních problémů ovlivňujících pocit důstojnosti pacienta a poskytujících zdravotníkům platformu pro jejich hlubší pochopení. Chochinov tento model použil jako východisko při konstrukci sebehodnoticího nástroje - Patient Dignity Inventory (PDI), který obsahuje 25 otázek zaměřujících se na pět oblastí (příznak utrpení, existenciální tíseň, závislost, duševní klid a sociální podpora). Pacient označí u každé otázky na 5-stupňové stupnici (1-není problém až 5-nepřekonatelný problém) do jaké míry je pro něj uvedená skutečnost problémem nebo důvodem k obavám. PDI tak slouží jako screeningový nástroj k posouzení škály položek, které se vztahují ke smyslu důstojnosti. Sestrám poskytuje poměrně snadný způsob, jak identifikovat širokou řadu problémů, které mohou způsobovat obavy a úzkost pacientů související s důstojností.

Dosud ale neexistovala česká verze žádného sebehodnotícího nástroje, který by umožnil zjistit, jak pacienti v České republice vnímají důstojnost, a které faktory ji nejvíce ohrožují.

Cílem naší studie bylo vytvoření české verze (PDI-CZ) a její psychometrická validizace pro nevyléčitelně nemocné onkologické i neonkologické pacienty. Pro transformaci PDI z anglického jazyka do češtiny byla použita metodika pětifázového postupu. Soubor respondentů tvořilo 239 pacientů (136 onkologických, 103 neonkologických; průměrný věk 72,2 ± 11,5 let) v konečném stadiu onkologické nemoci nebo těžkého chronického onemocnění. Psychometrická validizace PDI-CZ zahrnovala stanovení interní konzistence (Cronbach α = 0,92), test-retest reliability (AC1 0,58 - 1,00) a faktorovou analýzu, která stanovila čtyři faktory představující 56,3 % variability. Faktory byly nazvány Ztráta smyslu života; Ztráta autonomie; Ztráta důvěry a Ztráta sociální podpory (Cronbach α 0,58 - 0,90).

Vytvořená česká verze dotazníku PDI umožní sestřím identifikovat problémy a obavy, které ovlivňují vnímání pocitu důstojnosti pacienta v České republice. Definování problémů negativně ovlivňujících zachování důstojnosti pak sestřím poskytne možnost vytvořit strukturu péče, která zamezuje narušení nebo ztrátu důstojnosti.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 16-28628A.

17.

Mýty a předsudky o paliativní péči

Koňářík M. (*Klinika hematologie, Fakultní nemocnice, Ostrava*)

Paliativní péče je stále aktuálnější, ale zároveň stále tabuizovaným tématem. Spousta mýtů a předsudků je rozšířena nejen mezi laickou veřejností, ale i mezi profesionálními pečujícími jsou rozšířeny názory, že paliativní péče je pouze o smrti a umírání, že pokud se začne tato péče poskytovat, člověk „to má sečteno,“ a podobně. Dosud není všeobecně znám fakt, že vedle kamenných hospiců mohou péči poskytovat i hospice mobilní či paliativní týmy ve zdravotnických zařízeních. Stále se setkáváme s přesvědčením, že paliativní péče rovná se péče v církevním hospici, kam se víceméně odkládají staří, nemocní lidé k aplikaci morfinu a rychlé dožití.

Tyto předsudky a mýty vycházejí především z neznalosti pojmů či jejich nesprávného pochopení a ageistického, odosobněného, virtuálního stylu života dnešní společnosti, kdy smrt není moderní a je pěstována a vyzdvižován kult mládí a to, co jednou zcela jistě přijde, se mě netýká...

Příspěvek má za cíl na tyto mýty o paliativní péči a umírání poukázat a přesvědčit odbornou společnost o potřebě, až nutnosti tuto péči lidem v poslední etapě života poskytovat, a to kvalitně a s vědomím jejího přínosu.

18.

Novinky v onkologické sekci ČAS

Hrabánková-Navrátilová D. (*I. Interní klinika – klinika hematologie, VFN, Praha*)

Onkologická sekce České asociace sester je profesní sdružení nelékařských zdravotnických pracovníků, a to zejména všeobecných a praktických sester, které pracují v oblasti onkologie.

Činnost:

Aktivity jsou zaměřeny na rozvoj a podporu ošetrovatelství v onkologii, na kvalitu a bezpečí pacientů a personálu a posilování role sester.

V rámci mezinárodní spolupráce, kdy od r. 2009 je onkologická sekce členem Evropské společnosti onkologických sester (EONS) a od r. 2016 v Mezinárodní společnosti onkologických sester (ICCN) má každá sestra, která je členkou sekce ČAS, právo na zvýhodněnou nebo bezplatnou registraci na mnoha akcích pořádaných EONS nebo ICCN.

EONS „CARE“ strategie má 4 pracovní skupiny:

Communication = komunikace

Advocacy = prosazování zájmu sester

Research = výzkum

Education = edukace

V současné době aktivně spolupracují ve dvou pracovních skupinách dvě naše členky a to ve skupině pro výzkum (Mgr. Iveta Nohavová) a ve vzdělávání (Mgr. Andrea Nečasová) .

Volby:

V červnu 2017 proběhly volby do výkonného výboru a revizní komise onkologické sekce na období 2017 -2021 ve složení:

Mgr Darja Hrabánková-Navrátilová – předsedkyně

Mgr. Václav Kajaba, PhD – místopředseda

Bc.Monika Labudíková – pokladník

PhDr. Jana Kocourková, MBA – předsedkyně revizní komise

Mgr. Dana Hrstková, - členka revizní komise

Libuše Pankráčová- členka revizní komise

Mgr. Eva Koblížková – členka výboru

PhDr. Jan Heřmanová, PhD – členka výboru

Sloučení sekcí:

V březnu 2018 ukončila svoji činnost sekce č.4 „Léčby bolesti a paliativní péče“. Z rozhodnutí prezidia ČAS je tato sekce sloučena se sekcí onkologickou. V současné době probíhá majetkové vyrovnání s převedením jejich členů.

AKCE na rok 2018:

- PragueONCO 2018: konference – 24.1. – 26.1.2018 v Praze

- Pařížkovy dny: konference - 8.3. - 9.3.2018 v Ostravě

- Brněnské onkologické dny (BOD): konference 16.5. – 18.5.2018 v Brně

- Olomoucké hematologické dny (OHD): konference 27.5. – 29.5. 2018 v Olomouci

- Masterclass - šestidenní intenzivní kurz v onkologickém ošetrovatelství : 24.3.- 29.3. 2018 v Berlíně

- Masterclass – 1st ESO-EONS Eastern Europe and Balkan region Masterclass in oncology nursing - třídní kurz v onkologickém ošetrovatelství pro sestry z východní Evropy a Balkánu s příkladem do mateřského jazyka – 20.9. - 22. 9.2018 v Budapešti - přihláška do 31.5.2018 na www.cancernurse.eu

- EONS PhD Research Workshop 2018 - Třídní workshop určený pro studenty PhD studia; přihlášky do 31. 3. 2018 termín akce 6. - 8.6. 2018, místo Limassol, Kypr

Více informací pro členy a zájemce stát se členy onkologické sekce na www.cnna.cz

ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY (AMH) II

19.

Germline and somatic mutations causing polycythemia and evolutionary adaptation to hypoxia

Prchal J. T. (*Department of Hematology, University of Utah, Salt Lake City, UT - USA*)

Nedodáno v termínu.

KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ 2

20.

PICC tým FN Olomouc

Douglas M., Labudíková M. (*Odbor Hlavní sestry, FN, Olomouc*)

PICC a midline katetry se ve FN Olomouc začaly zavádět od roku 2015 na II. interní klinice, roku 2016 se přidaly klinika Kardiochirurgie a Hemato-onkologická. V rámci rozšiřování použití PICC katetrů na další pracoviště a zkvalitňování následné péče o tyto katetry, byl za podpory managementu FNOL ustanoven PICC tým v říjnu 2017 složený s lékaři a NLZP. Byla provedena i analýza ekonomických nákladů u pacienta s PICC katetrem, použitým pro dlouhodobou ATB terapii a srovnány s náklady při zavedeném centrálním žilním katetru nebo periferní žilní kanyle. Součástí sdělení budou i statistiky zavedených PICC a midline katetrů a komplikací ve FNOL .

21.

Zpětná vazba od pacientů se zavedenými PICC*Kouřilová P., Špačková J., Šebelová H., Charouzková J., Jakoubková V. (IHOK, FN, Brno)*Úvod

V průběhu onkologické léčby u pacientů velmi často dochází k devastaci periferního žilního systému, která má mnohdy trvalý charakter a nepříznivě působí také na psychiku pacienta. Problematika zavedení vhodného žilního přístupu u onkologicky nemocného pacienta je v současné době velice aktuálním tématem nejen pro ošetřující personál, ale i pro samotné pacienty. Zdravotníci se často setkávají s otázkou, jakým způsobem bude léčba aplikována, a v případě PICC katétrů vyslovují pacienti otázky, na které jsme nedokázali přesněji odpovídat. Z těchto důvodů jsme se ptali samotných pacientů, kteří měli PICC katétr zavedený, jaké jsou výhody a nevýhody v běžném životě se zavedeným PICC. V současné chvíli známe přesnější odpovědi a můžeme naše pacienty lépe poučit před zavedením katétru.

Metodika

PICC na našem pracovišti zavádíme od roku 2015 a využíváme je především u pacientů se středně dlouhou dobou léčby např. u pacientů s lymfomy, solidními tumory nebo u nemocných v paliativní péči.

Po zavedení PICC onkologicky nemocným pacientům, jsme rozdávali anonymní dotazník, kde pacienti odpovídali na několik otázek, které se týkaly omezení v běžném životě s PICC. Jednalo se o pacienty, kteří měli katétr zavedený minimálně měsíc od léčby a byli schopni aktivního života v rámci svého onemocnění.

V roce 2016 – 2017 bylo osloveno 100 pacientů, kteří během absolvování léčby byli v domácím prostředí a měli zachovány běžné aktivity života. Dotazník obsahoval uzavřené a otevřené otázky, na které nemocní odpovídali během čekací doby strávené na našich ambulancích. Výsledky byly zpracovány pomocí absolutní a relativní četnosti.

Závěr

V příspěvku prezentujeme problematiku, která se týká samotných pacientů. Při naší práci klademe velký důraz na správnou komunikaci a edukaci onkologicky nemocných. Výsledky dotazníkového šetření nás posunuly o krůček kupředu ke komplexní edukaci nemocných při volbě PICC katétrů na počátku léčby. Je důležité pro správnou spolupráci pacienta co nejpřesněji dokázat odpovídat na otázky, které jsou nám zdravotníkům kladeny ze strany pacientů.

Tato práce vznikla v rámci projektu NIG FN BRNO 4/2014. „Podpořen MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)“.

22.

Mycosis fungoides u mladého pacienta*Brenner D., Uhlířová K., Jebáčková K., Horáková M., Špačková J., Kouřilová P. (IHOK, FN, Brno)*

Obsahem příspěvku je průběh onemocnění, podrobný popis hospitalizace a léčby pacienta s folikulotropní mycosis fungoides, jež řadíme mezi primárně kožní T-lymfomy.

Etiopatogeneze onemocnění je nejasná. Patří však mezi vzácné formy mycosis fungoides - tvoří jeden až dva případy na 100 tisíc osob ročně. Postihuje převážně muže ve věku mezi 45 - 55 lety, velmi zřídka se vyskytuje u dětí a mladistvých. Proto je toto onemocnění u pacienta ve věku 27 let nejvýše ojedinělé. Jedním z prvků pro diagnostiku je tzv. TNM klasifikace (Tumor Nodus Metastáze), na jejímž základě se určí stádium lymfomu a odvíjí se následná léčba.

Za cíl si tato práce ukládá seznámit a upozornit posluchače na problematiku mycosis fungoides, v tomto případě na folikulotropní formu onemocnění. V rámci kazuistiky zhodnotit stav kůže před zahájením léčby a její změnu během aplikace cyklů chemoterapie. Při nízkém věku pacienta se zaměřujeme i na psychologickou stránku a zajištění komfortu života.

Kazuistika se skládá z části teoretické a praktické. Teorie se úvodem zabývá lymfomy obecně. Lymfomy patří mezi velice pestrou skupinu nádorů, od benigních až po vysoce maligní formy. Jedná se, až na pár výjimek, o nejlépe léčitelné druhy rakoviny. Dále rozvádí problematiku kožních lymfomů, jejich rozčlenění, příznaky a léčbu. Primárně se věnuje již zmíněnému onemocnění mycosis fungoides.

V praktické části se zaměřujeme přímo na hospitalizaci pacienta s daným onemocněním, stanovení ošetřovatelských diagnóz, z nich plynoucích ošetřovatelských intervencí a jejich realizaci.

23.

Syndrom vyhoření - jak s ním zacházet na onkologickém pracovišti*Neudertová H. (Oddělení klinické psychologie, FN, Brno)*

Nároky klinické praxe jsou pro zdravotníka zátěžové v mnoha směrech. Běžným požadavkem je orientace na odbornost, znalosti a zručnost. Očekávají se i vřelé lidské reakce v každodenní péči o pacienty. Kromě výkonových a odborných požadavků se od zdravotníků očekává schopnost adekvátně reagovat a orientovat se v emočně náročných situacích tak, abychom pacienta psychicky podporovali při léčbě. Tyto nároky jsou nepodstupitelným požadavkem zdravotníků pracujících na onkologickém pracovišti.

Je všeobecně známo, že onkologické onemocnění způsobuje velkou zátěž nutnou pro adaptaci na nemoc a akceptaci závažné diagnózy. Pokud je zdravotník dlouhodobě vystaven každodenní realitě, kde primární emocí je strach, úzkost, nejistota a nervozita, může to mít negativní vliv na vyčerpání emočních zdrojů na straně zdravotníka. Můžeme u něj sledovat projevy chronického stresu v podobě napětí, nervozity, úzkosti, různé podoby a intenzity neurotických reakcí a psychosomatických potíží. Každý zdravotník pracující na onkologickém pracovišti se každodenně setkává s frustrací na straně pacienta, může vnímat střídání naděje se zklamáním až po nízkou motivaci v léčbu, v extrémním případě až po celkovou rezignaci v léčbě.

Každodenní kontakt s takto silnými afekty vede k pochopitelným, silným emočním reakcím na straně zdravotníka - onkologa. Pokud se zdravotník naučí efektivně, zdravě a zrale zacházet se svými vlastními emocemi, přispívá k horší adaptaci na nemoc na straně pacienta. Od nepřijemných emocí může nevědomě utíkat, a to bagatelizací, poučováním či při snaze „apelovat“ na dospělé chování. Je užitečné, aby zdravotník si byl vědom těchto rizikových faktorů při snaze tlumit emoční reakce na straně pacienta. Měl by nabídnout bezpečný prostor pro odžití emocí, měl by mít dovednost pacientovi emoce zrcadlit a měl by nabídnout i ujištění o „normalitě“ různě projevovaných reakcí na straně pacienta. Na druhou stranu toto vede k výraznému emočnímu vyčerpání, se kterým si ne vždy zdravotníci umí poradit.

Je nutné říci, že každá práce s intenzivními a negativně laděnými emocemi významně přispívá k rozvoji syndromu vyhoření. Syndrom vyhoření je považován za reakci na mimořádně zatěžující práci, kdy dochází k úplnému vyčerpání fyzických, psychických a duševních sil. Je to stav prožívaný emoční vyprahlostí a beznaděje. Syndrom vyhoření má negativní dopady na rozvoj negativních postojů nejen v pracovní, ale i v osobní sféře, násobí se přítomnost konfliktů, dochází ke snížení kvality vykonávané práce až k jisté dehumanizaci vůči pacientovi. Častý je i rozvoj různých běžných onemocnění a k psychosomatickým poruchám. Extrémní maladaptivní vzorec může vést až k rozvoji adaptačního syndromu, kdy selhávají copingové a zvládací mechanismy na každodenní zátěž spojenou s pracovním nasazením. Velmi efektivní metodou proti rozvoji syndromu vyhoření jsou Bálintovské skupiny či jiné formy práce na vlastním sebezrozvoji, kdy se učíme efektivně pracovat se svými nezpracovanými emocemi. Tyto metody nám zároveň umožňují pochopit pracovní alianci a terapeutický proces mezi pacientem a zdravotníkem pracujícím na onkologickém pracovišti.

ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY (AMH) III

24.

Iron metabolism in mouse model of congenital polycythemia with human gain-of-function erythropoietin receptor*Králová B., Song J., Divoký V., Prchal J. T., Horváthová M. (Ústav biologie LF UP, Olomouc, Division of Hematology, University of Utah School of Medicine and VAH, Salt Lake City, UT – USA)*

Iron is essential for many biological processes; and is indispensable for the hemoglobin production in erythrocyte precursors. The body iron stores are controlled by hormone hepcidin (encoded by HAMP), which regulates iron flux to the plasma. The regulation of HAMP expression is complex. The negative regulation involves erythropoietic activity; specifically, erythroferrone (ERFE) produced in erythroblasts in response to erythropoietin (EPO) and hypoxia and the positive regulation via BMP/SMAD pathway depends on iron availability.

We previously knocked-in the mutant gain-of-function human EPO receptor gene (mtHEPОР - cloned from the polycythemic mtHEPОР patient) and created mouse model of congenital polycythemia with augmented EPO signaling (Divoky, PNAS 2002). The mutant (mtHEPОР) embryos developed polycythemia in utero, followed by transient correction of polycythemia in perinatal life and reappearance of polycythemia at three weeks after the birth. We examined temporally-dependent relationship between changes of erythron and iron metabolism, iron storage, and Erfe and Hamp expression.

We found increased Erfe expression in mtHEPОР embryos and in one-week old mtHEPОР mice compared to control animals (expressing mouse EpoR gene). This correlated with reduced expression of Hamp in mtHEPОР mice when compared to control mice at both these time points. However, at birth, the Erfe expression dramatically decreased in mtHEPОР mice together with increased Hamp expression; both paralleled expression levels of controls. This rapid overcorrection of polycythemia in mtHEPОР mice was associated with biochemical markers of "neocytolysis" (Song, J Mol. Med, 2015). Further, expression of Hamp in mtHEPОР and control mice was comparable also in older mice (7 months), in spite of persistent polycythemia in mtHEPОР mice. Yet, the expression of Erfe was significantly increased in the spleens of mtHEPОР mice compared to controls and both these mice genotypes differed in transferrin saturation (TSAT) and body iron stores. Specifically, mtHEPОР mice showed increased tissue iron depositions and elevated TSAT when compared to controls. This indicates that Hamp expression is inappropriately normal in respect to iron overload detected in mtHEPОР mice at this stage of ontogenesis.

With further aging (mice 14 months and older), Erfe continued to increase and Hamp continued to decrease in control mice. In contrast, in mtHEPОР mice there was a trend towards decreased Erfe expression while Hamp expression remained relatively unchanged. These changes were accompanied by a decline in TSAT in both genotypes, which suggests that aged control mice develop iron deficiency while mtHEPОР mice remain iron-replete.

We show here that the polycythemic phenotype, Erfe and Hamp expression as well as iron deposition in mtHEPОР mice undergo dynamic changes during ontogenesis. Further research is needed to fully understand the development of iron overload in polycythemic mice.

Acknowledgment: BK, VD, and MH were supported by projects GA17-05988S, IGA_LF_2018_010, and partially by project LTAUSA17142.

* senior authors

25.

Kit signalling in erythroid cell development

Oltova J., Svoboda O., Machonova O., Bartunek P. (Institute of Molecular Genetics AS CR, v.v.i., Praha)

Erythroid cells develop through several stages of committed progenitors, termed burst and colony forming units - erythroid. Previously, we were able to identify and characterize these progenitors in zebrafish using clonal assays in semi-solid media and we also established liquid cultures that enabled us to study these cells in a suspension. Addition of recombinant erythropoietin (Epo), Kit ligand a (Kitla) and dexamethasone to zebrafish progenitors synergistically stimulated expansion of erythroid progenitors in liquid culture. By employing these conditions, we were able to spontaneously establish the zebrafish erythroid burst cell line (ZEB) dependent on Epo signaling. Even though thorough biochemical characterization of these cells revealed strong tyrosine phosphorylation upon stimulation with Epo, Kitla, IGF1 and Insulin, extensive proliferation assays showed only mild response to IGF1 and Insulin in addition to Epo. To understand the mechanisms underlying the self-renewal of ZEB cells, we analyzed their transcriptomic RNAseq profile, which showed upregulated expression of several ephrin (Eph) family member receptors, possibly explaining the mechanisms of ZEB cells self renewal and their Epo dependence. Next, we have investigated the role of Kit signaling in zebrafish embryos and, contrary to previous findings indicating no substantial role of Kit signaling in zebrafish hematopoiesis, we have revealed a synergy of Kitla and Epo in erythroid progenitor expansion and differentiation at 72 hours post fertilization. Taken together, our results show that in zebrafish erythroid development, Kitla acts synergistically with Epo both in ex vivo cultures and in vivo, at the level of the whole animal.

26.

Deletions and novel mutations in genes coding for ribosomal proteins in Diamond-Blackfan anemia (DBA)

Pospisilova D., Vojta P., Horvathova M., Urbankova H., Maceckova Z., Koralkova P., Ludikova B., Sukova M., Timr P., Volejnikova J., Hajduch M. (Department of Pediatrics, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital, Olomouc; Institute of Molecular and Translational Medicine, Palacky University, Olomouc; Department of Biology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc; Department of Hemato-Oncology, Palacky University and University Hospital, Olomouc; Department of Pediatric Hematology and Oncology, Charles University and University Hospital Motol, Prague; Department of Pediatrics, Hospital, Ceske Budejovice)

Background: 50-70% cases of DBA are underlied by mutations in genes coding for ribosomal proteins (RP), however, the etiology remains unexplained in the remaining patients. Recently, rare aberrations involving extraribosomal genes (e.g., GATA1, TSR2, MCM2, FLNB) have been reported as causative for DBA. Up to 10% of DBA patients, in whom no mutation was previously identified by sequencing, harbor deletion involving some of the RP genes.

Results: Novel mutations, previously unpublished and unrecorded in gene databases, or large deletions involving RP genes were found in 6 probands:

- 1) In a 10-year-old female with growth and developmental delay, severe skeletal anomalies (hypertelorism, gothic palate, low-set ears, triphalangeal thumbs) and with an elevated activity of erythrocytic adenosine-deaminase (eADA), a large deletion in 1p36 chromosomal region - arr[hg38] 1p36.12p36.11(22308520_24074348)x1 - involving the RPL11 gene was found. Depletion of RPL11 in a cellular model resulted in attenuation of proteosynthesis and cell cycle and in the disruption of nucleolar morphology.
- 2) In a 4-year-old female with transfusion-dependent DBA, large deletion of the 3q29 region - arr[hg38] 3q29(194309533_197837049)x1 - including the RPL35A gene was detected. The patient's height is at the 10th percentile, however, her weight is below the 3rd percentile, mild intellectual disability and both atrial and ventricular septal defect is present.
- 3) Another deletion in 3q29 involving the RPL35A locus, together with 9p duplication including JAK2 (arr[hg38] 3q29(194946946_197837049)x1, 9p24.3p23(214367_11610300)x3) was found in a 30-year-old female with steroid dependent DBA, short stature, mental retardation, epilepsy and somatic malformations (pterygium colli, thenar hypoplasia, fish mouth).
- 4) A 4,5-year-old male with transfusion dependency, iron overload and hepatopathy harbors mutation in RPS19 - hg38[19:41869031_C>T], RPS19 p.A58V. The patient's father with an identical mutation required repeated blood transfusions in childhood due to hypoplastic erythropoiesis. To date, all parameters of his blood count are normal without any intervention, but his eADA level is slightly elevated.
- 5) A 2-year-old male with transfusion-dependent, steroid-resistant DBA has mutation in RPS19: c.[3G>A], p.M11.
- 6) A 3-year-old male with normal phenotype harbors mutation hg38[19:41860841_A>T] in RPS19 leading to premature stop codon K23Stop.

Conclusion: Together with next generation sequencing, aCGH examination is essential for detection of novel mutations in DBA due to its capacity to detect larger chromosomal aberrations. Reports on 3q29 deletions involving RPL35A are scarce (only 7 cases published to date). We confirmed connection between deletions leading to haploinsufficiency of RP genes and growth retardation (Kuramitsu et al., Blood 2012). Phenotypic differences between family members harboring the identical RPS19 aberration are probably influenced by epigenetic regulation and we have already observed this phenomenon in individuals with RPS7 mutation (Maceckova et al., ASH 2016).

Supported by: AZV 16-32105A, NPU LO 1304, GA15-13732S

27.

Single amino acid deletion of small ribosomal subunit protein Rps19 in new transgenic mouse model for Diamond–Blackfan anemia

Kokavec J., Schuster B., Kanchev I., Chalupský K., Procházková J., Kopkanová J., M. Beck Inken, Stopka T., Sedláček R. (Biotechnologické a biomedicínské centrum Akademie věd a Univerzity Karlovy, Vestec; České Centrum fenogenomiky, BIOCEV, Ústav molekulární genetiky AV ČR, v. v. i.; Biotechnologické a biomedicínské centrum Akademie věd a Univerzity Karlovy, Vestec)

Diamond–Blackfan anemia (DBA) is a rare form of erythroid hypoplasia accompanied by a variety of cardiovascular, skeletal, urogenital and neurological abnormalities caused by insufficient proteosynthesis. Mutations within the small ribosomal subunit protein 19 (Rps19) are detected in 25% of patients with DBA. Mutation of Rps19 modeled in mouse previously showed only limited phenotypes, such as growth retardation, white belly spotting, anemia and always led to embryonic lethality. In order to resolve the molecular and cellular basis of ribosomopathies we herein attempted to produce mouse model of DBA using TALEN technology in zygote. We present a unique transgenic mouse model of Rps19 with single amino acid deletion that faithfully mimics the symptomatology of DBA patients. Deletion of arginine at position 67 (p.67delR) at the DBA hotspot resulted in animal hypotrophy and macrocytic anemia combined with severe craniofacial, skeletal, urogenital, cardiovascular and cerebral abnormalities leading to premature lethality at 6-8 weeks. Furthermore, signs of ribosomal stress such as disruption of nucleolar structures and upregulation of Tp53 were observed. To test whether hematopoietic defects are transplantable to normal recipients we utilized the competitive transplantation mouse model in which donor and acceptor cells are distinguished by surface expression of Cd45 antigen variant. Following stem cell transplantation into irradiated animals we noted that the donor hematopoiesis was unable to sufficiently produce erythroid cells. Studying the properties of hematopoietic stem cells we show that hematopoietic activity steadily declines in bone marrow of DBA model mice as well as hematopoietic stem and progenitor cell populations, which leads the loss of long-term repopulating activity. This phenomenon is further supported by defective production of white blood cells and platelets from transplanted DBA stem cells. To conclude, the presented DBA model by recapitulating virtually all clinical signs seen in patients represents a very neat system for further studies.

28.

The involvement of oxidative stress, inflammation, and DNA damage response in pathophysiology of Diamond-Blackfan anemia

Kapralová K., Saxová Z., Králová B., Lániková L., Pospíšilová D., Divoký V., Horváthová M. (Ústav biologie LF UP, Olomouc; Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha; Dětská klinika, Fakultní nemocnice, Olomouc)

Diamond-Blackfan anemia (DBA) is a rare congenital bone marrow failure syndrome characterized by erythroid aplasia mostly caused by different pathogenic variants in ribosomal protein genes. The ribosomal stress and subsequent activation of the p53 tumor suppressor pathway, resulting in increased apoptosis of erythroid precursors and/or inducing the cell cycle arrest, play an important role in DBA pathogenesis. However, the exact mechanisms of p53 activation are still not completely understood. Here we studied the connection between activation of p53 pathway, inflammation-evoked oxidative stress, and DNA damage in DBA patients and in undifferentiated and/or differentiated RPL5- and RPS19-deficient murine erythroleukemia cells (MEL).

Our MEL cellular DBA models presented with decreased proliferation capacity, increased apoptosis rate, and decreased GATA1 expression, thus mimicking the phenotype of DBA patients' erythroid cells. The activation of p53 was also confirmed in these RPL5- and RPS19-deficient clones consistent with increased p53 expression in the bone marrow of RPL5- and RPS19-mutant DBA patients. One of the known inducers of p53 is oxidative stress causing oxidative DNA damage. Indeed, elevated positivity for 8-oxoguanine, the marker of oxidative DNA damage, was detected in differentiated RPL5- and RPS19-deficient clones and in DBA patients' samples. It is known, that reactive oxygen species (ROS) are produced under inflammation resulting in ROS-mediated DNA damage response (DDR). The upregulation of pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL6, and IL1b was found in RPL5- and RPS19-deficient cells and also in the serum from DBA patients along with the upregulation of other inflammatory cytokines (IL1a, IL4, IL10, IL12, IL17a, INF- γ , and GM-CSF). Moreover, elevated pro-inflammatory cytokines play a role in cellular senescence which was confirmed in our cellular model by significantly elevated β -galactosidase

activity. In addition, increased ROS levels were detected in all differentiated RPL5- and RPS19-deficient clones and in the serum of all DBA patients with elevated inflammatory cytokines. Finally, the DNA double-strand breaks can occur as an outcome of ROS production resulting in phosphorylation of Ser-139 residue of H2AX histone variant (γ -H2AX). Indeed, higher γ -H2AX positivity was seen for RPL5- and RPS19-deficient cells in comparison with control cells.

The defective ribosomal biogenesis is associated with abnormal GATA1 expression and augmented apoptosis of erythroid cells. Our results show that the upregulation of inflammatory cytokines, senescence, oxidative stress, increased DNA damage, and activation of DDR signaling are also playing an important role in DBA pathogenesis.

This study was supported by project AZV 16-32105A, IGA_LF_2018_010, and in part by LTAUSA17142 (BK, LL).

BÁLINTOVSKÁ SKUPINA JAKO ÚČINNÝ NÁSTROJ PROTI ROZVOJI SYNDROMU VYHOŘENÍ – WORKSHOP

29.

Bálintovská skupina jako účinný nástroj proti rozvoji syndromu vyhoření – workshop

Neudertová H. (Oddělení klinické psychologie, FN, Brno)

Nároky klinické praxe jsou pro zdravotníka zátěžové v mnoha směrech. Běžným požadavkem je orientace na odbornost, znalosti a zručnost. Očekávají se i vřelá lidská reakce v každodenní péči o pacienty. Kromě výkonových a odborných požadavků se od zdravotníků očekává schopnost adekvátně reagovat a orientovat se v emočně náročných situacích tak, aby chom pacienta psychicky podporovali při léčbě. Tyto nároky jsou nepodstupitelným požadavkem zdravotníků pracujících na onkologickém pracovišti.

Je všeobecně známo, že onkologické onemocnění způsobuje velkou zátěž nutnou pro adaptaci na nemoc a akceptaci závažné diagnózy. Pokud je zdravotník dlouhodobě vystaven každodenní realitě, kde primární emocí je strach, úzkost, nejistota a nervozita, může to mít negativní vliv na vyčerpání emočních zdrojů na straně zdravotníka. Můžeme u něj sledovat projevy chronického stresu v podobě napětí, nervozity, úzkosti, různé podoby a intenzity neurotických reakcí a psychosomatických potíží. Každý zdravotník pracující na onkologickém pracovišti se každodenně setkává s frustrací na straně pacienta, může vnímat střídání naděje se zklamáním až po nízkou motivaci v léčbu, v extrémním případě až po celkovou rezignaci v léčbě.

Každodenní kontakt s takto silnými afekty vede k pochopitelným, silným emočním reakcím na straně zdravotníka - onkologa. Pokud se zdravotník naučí efektivně, zdravě a zrale zacházet se svými vlastními emocemi, přispívá k lepší adaptaci na nemoc na straně pacienta. Od nepřijemných emocí může nevědomě utíkat, a to bagatelizací, poučováním či při snaze „apelovat“ na dospělá chování. Je užitečné, aby zdravotník si byl vědom těchto rizikových faktorů při snaze tlumit emoční reakce na straně pacienta. Měl by nabídnout bezpečný prostor pro odžití emocí, měl by mít dovednost pacientovi emoce zrcadlit a měl by nabídnout i ujištění o „normalitě“ různé projevových reakcí na straně pacienta. Na druhou stranu toto vede k výraznému emočnímu vyčerpání, se kterým si ne vždy zdravotníci umí poradit.

Je nutné říci, že každá práce s intenzivními a negativně laděnými emocemi významně přispívá k rozvoji syndromu vyhoření. Syndrom vyhoření je považován za reakci na mimořádně zatěžující práci, kdy dochází k úplnému vyčerpání fyzických, psychických a duševních sil. Je to stav prožívání emoční vyprahlosti a beznaděje. Syndrom vyhoření má negativní dopady na rozvoj negativních postojů nejen v pracovní, ale i v osobní sféře, násobí se přítomnost konfliktů, dochází ke snížení kvality vykonávané práce až k jisté dehumanizaci vůči pacientovi. Častý je i rozvoj různých běžných onemocnění a k psychosomatickým poruchám. Extrémní maladaptivní vzorec může vést až k rozvoji adaptačního syndromu, kdy selhávají copingové a zvládací mechanismy na každodenní zátěž spojenou s pracovním nasazením. Velmi efektivní metodou proti rozvoji syndromu vyhoření jsou Bálintovské skupiny či jiné formy práce na vlastním sebezrozvoji, kdy se učíme efektivně pracovat se svými nezpracovanými emocemi. Tyto metody nám zároveň umožňují pochopit pracovní alianci a terapeutický proces mezi pacientem a zdravotníkem pracujícím na onkologickém pracovišti.

30.

Jak spolupracovat v týmu – pravidla efektivní týmové spolupráce, motivace v zaměstnání

Dvořák J. (FBE, Praha)

5 pravidel efektivní týmové a mezitýmové komunikace aneb jak se v práci cítit dobře. Dozvíte se, co můžete udělat pro to, aby byla atmosféra v kolektivu přátelská, tvořivá a věcná. Máme obvykle tendenci obviňovat ze špatné komunikace druhou stranu, přitom neefektivnější způsob, jak zlepšit komunikaci a vztahy je začít u sebe, pochopit druhého, jeho odlišnost a najít způsob, jak s druhými mluvit, aby nedocházelo ke konfliktům. Pro dobrý pracovní výkon je důležité do práce se těšit. Budeme proto mluvit o tom, jak se správně pozitivně nastavit, abychom se v práci více usmívali a dokázali si ji užít. Také se dotkneme spolupráce mezi jednotlivými odděleními, najdeme cestu, jak zařídit, aby se každý jednotlivec i kolektiv cítil být zodpovědný za společný cíl a „nehrál si jen na svém písečku“. Převážná většina námětů a doporučení je velmi dobře využitelná v běžném osobním životě. Doplnkovým tématem bude prevence stresu a jednoduché tipy, jak se vyrovnat se zátěží.

POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 2

31.

Mnoho podob hemofagocytyjící lymfohistiocytózy

Starý J., Suková M., Sedláček P., Kalina T., Froňková E., Šrámková L., Formánková R., Mejstříková E. (Klinika dětské hematologie a onkologie, 2.LF UK a FN Motol, Praha)

Hemofagocytyjící lymfohistiocytóza (HLH) je klinický syndrom způsobený nadprodukcí cytokinů aktivovanými lymfocyty a makrofágy v důsledku vrozené nebo získané neschopnosti imunitního systému zvládnout zátěž, kterou je nejčastěji infekce, ale i krevní malignita nebo autoimunitní/autoinflamatorní onemocnění. Klinické a laboratorní příznaky extrémní ho zánětu charakterizující syndrom jsou perzistující horečka, splenomegalie, cytopenie více než jedné krevní řady, cholestatická hepatitida, neurologické příznaky, hypertriglyceridémie, hyperferitinémie, vysoký solubilní interleukin-2 receptor v krvi a nález hemofagocytyjících makrofágů v kostní dřeni.

Primární, vrozená HLH je méně častá než HLH sekundární, získaná a manifestuje se většinou u velmi malých dětí, výjimečně v dospělosti. Příčinou familiární, autozomálně recesivně dědičné HLH (FHL) je v 90% mutace jednoho ze 4 známých genů způsobujících defekt cytotoxicity NK buněk a CD8+ T lymfocytů (CTL), což má za následek selhání imunitní odpovědi. Její incidence je v Česku 1 případ na 100 000 narozených dětí, manifestuje se v 80% v časném kojeneckém věku a jedná se bez léčby o rychle fatální onemocnění. K HLH predisponují syndromy imunodeficiency spojené s albinismem. Nejčastějším z nich je Chediakův-Higashiho syndrom s incidencí v Česku cca 1 případ na milion porodů. HLH může být i projevem X-chromozom vázaného lymfoproliferativního syndromu (XLP) s extrémní vnímavostí k viru Epstein-Barrův.

Sekundární HLH spouští nejčastěji EBV či jiné infekční agens, může ale komplikovat krevní malignity jako například anaplastický velkobuněčný lymfom, periferní T lymfom. Pro HLH komplikující systémové autoimunity (revmatoidní artritida, Stillova nemoc a další) je používán termín makrofágový syndrom. Primární HLH pomůže od sekundární formy rychle odlišit vyšetření průtokovou cytometrií - průkaz perforinu u lymfocyttech a degranulační testy, které detekují selhávající schopnost transportu lytických granul k membráně NK buněk a cytotoxických lymfocytů, fúzi s ní a vyprázdnění jejich obsahu. Tato vyšetření jsou zásadní pomocí v rychlé rozvaze nad pacientem v závažném stavu, vyžadujícím okamžitá léčebná rozhodnutí a v případech primární HLH neodkladné směřování k transplantaci. Pro stanovení diagnózy HLH u dospělých jsou v současnosti využívána diagnostická kritéria vytvořená pro onemocnění u dětí.

Léčbou akutní fáze syndromu je kombinace kortikoidů a etoposidu účinně eradikující aktivované lymfocyty a makrofágy. Makrofágový syndrom komplikující autoimunitní onemocnění příznivě

reaguje na cyklosporin A. Pacienti s hematologickou malignitou vyžadují léčbu základního onemocnění. Protiinfekční léčba zaměřená na vyvolávající agens (virostatika, rituximab, amfotericin B u leishmaniózy) je přínosem. Pacienti s primární HLH jsou indikováni k transplantaci krvetvorných buněk (HSCT) optimálně v klidovém stadiu onemocnění. První úspěšná HSCT u dítěte s FHL byla provedena v České republice v roce 2003 a cesta od prvního popisu FHL v české odborné literatuře k ní trvala déle než 20 let. Patnáct let po ní je zřejmé, že přes zřetelné pokroky v diagnostice a léčbě je třeba pro zlepšení prognózy nemocných ještě mnoho vykonat. Mortalita dětí kolísá mezi 30-50%, prognóza dospělých je ještě závažnější.

32.

Systémová mastocytóza

Kozák T. (Interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha)

Systémová mastocytóza (SM) je vzácné klonální hematologické onemocnění, avšak díky lepší diagnostice a informovanosti odborné veřejnosti jeho incidence a prevalence v ČR stoupá. Symptomatologie SM může být velmi pestrá, od zcela klinicky němého onemocnění přes opakované alergické reakce až po agresivní nádorové onemocnění s organomegalií, patologickými frakturami a kachexií. Významnými příznaky, ne vždy zdůrazňovanými, mohou být depresivní porucha a postižení kognitivních funkcí. Diagnostika SM se opírá o histologické a cytologické vyšetření kostní dřene, případně jiného postiženého orgánu mimo kůži, o vyšetření průtokovou cytometrií a stanovení přítomnosti mutace C-KIT. Typické jsou multifokální infiltráty MC s vysokou denzitou v histologii KD nebo jiného extrakutánního orgánu. Ke klasifikaci SM, posouzení nádorové nálože a tím k posouzení nutnosti zahájit léčbu a její typ, je třeba provést vyšetření ke stanovení tzv. B a C kritérií (symptomů). Pokud je prokázána insuficience některého z orgánů z důvodu jeho postižení SM, jedná se o agresivní formu SM a je nutné zahájit specifickou cytoredukční terapii. Léčba SM zahrnuje zejména protialergickou profylaxi a léčbu, která je dominantním přístupem v indolentní systémové mastocytózy (ISM). Jedná se dlouhodobou profylaktickou léčbu blokátory H1 a H2 receptorů. U pacientů, u nichž převažá symptomatologie gastrointestinální, je indikován také kromoglykát sodný. Ke zvládnutí těžších forem ISM s častými alergickými epizdami je nutná též léčba kortikosteroidy. U pacientů s život ohrožujícími alergickými záchvaty je indikována léčba imunomodulační, někdy i cytoredukční. V léčbě agresivních forem SM (ASM) se užívá imunomodulační a cytoredukční terapie, v níž se uplatňuje kromě interferonu- α a kladribinu nově také midostaurin a v případě SM s neprokázanou aktivační mutací C-KIT též imatinib. Alogenní transplantace krvetvorných buněk je indikována zejména u agresivní SM, SM asociované s některými dalšími hematologickými neopláziemi a také u vzácné mastocelulární leukémie (MCL). Nové látky v léčbě SM jsou ve vývoji, perspektivní pro léčbu indolentní SM může být masitinib.

33.

Leukémie z velkých granulárních lymfocytů

Doubek M. (IHOK, FN, Brno)

Klonální proliferace z velkých granulárních lymfocytů (LGL) patří mezi vzácné lymfoproliferativní malignity, které vznikají buď ze zralých T-buněk (CD3+) nebo NK buněk (CD3-). Do této skupiny chorob tedy náleží především T-buněčná leukémie z velkých granulárních lymfocytů (T-LGL) a NK-buněčná leukémie z velkých granulárních lymfocytů (NK-LGL), případně chronická lymfoproliferativní onemocnění z NK buněk (CLPD -NK). Jednotlivé podtypy se odlišují svým biologickým chováním a klinickým průběhem, který může být indolentní i agresivní. Nejčastější LGL lymfoproliferací v západních zemích je T-LGL, která představuje 85 % všech případů. Často je spojena s autoimunitními (často revmatologickými) nebo jinými hematologickými chorobami. Stanovení diagnózy T-LGL je založeno na cytologii, průtokové cytometrii a průkazu klonality vyšetřením přestavby genu TCR. V léčbě se uplatňují imunosupresivní látky jako metotrexát, cyklosporin A, cyklofosfamid, kortikoidy a alemtuzumab.

KONFERENCE ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ

34.

Trombotická trombocytopenická purpura a koagulopatie způsobená paraproteinem v hematologické laboratoři – dvě kazuistiky pohledem zdravotní laborantky

Chytrá D., Štěpařová A., Zavrělová J., Matýšková M., Penka M. (OKH, FN, Brno)

Úvod:

TTP (trombotická trombocytopenická purpura) je vzácný, ale život ohrožující syndrom. Řadí se do skupiny hemolytických mikroangiopatických anémií. Je charakterizována intravaskulární hemolýzou erytrocytů s přítomností schistocytů a trombocytopenií. Příčinou vzniku mikrotrombů je kumulace (hromadění) multimerů VWF (von Willebrandova faktorů) z důvodu nedostatečné aktivity metaloproteinázy ADAMTS 13, která za fyziologických podmínek štěpí multimery vWF.

Paraproteiny jsou produkty patologického klonu plazmatických buněk, které vznikají při monoklonálních gamapatiích. Jedná se o imunologicky homogenní bílkoviny (bílkovinu), které se mohou vyskytovat v séru ve vysokých koncentracích a mohou být příčinou významné interference při laboratorních vyšetřeních.

Kazuistika 1

Pacient byl přijat na hematologickou kliniku pro anémii a trombocytopenii. V minulosti byl pacient sledován pro TTP, nabývalo se proto podezření na recidivu tohoto onemocnění. Pro ověření této závažné diagnózy bylo v hematologické laboratoři provedeno vyšetření krevního obrazu s počtem schistocytů, aktivity a inhibitoru ADAMTS 13. Z důvodu časové náročnosti vyšetření aktivity ADAMTS 13 byl současně vyšetřen i orientační test na přítomnost inhibitoru ADAMTS 13.

Výsledky:

V krevním obraze byla prokázána výrazná anémie s trombocytopenií (Thc 23 x 109/l) a výrazný vzestup schistocytů – 85. Koagulační vyšetření v normě pouze s mírným nárůstem D-dimerů – 0,80mg/l. Aktivita ADAMTS 13 byla nulová (norma 40–130%) s průkazem neutralizujících protilátek v orientačním testu. Vyšetření inhibitoru ADAMTS 13 prokázalo výraznou protilátku proti metaloproteináze ADAMTS 13 v hodnotě 56 U/ml (norma 0–12 U/ml).

U pacienta byla prokázána recidiva TTP a naše laboratoř si tak ověřila správnost postupu při vyšetření orientačního inhibitoru ADAMTS 13.

Kazuistika 2

Pacientka byla opakovaně vyšetřována pro koagulopatii s prodloužením aPTT. Nejdříve bylo provedeno vyšetření cirkulujícího antikoagulans s nejednoznačným výsledkem a podezřením na ovlivnění testu jinou interferující látkou. Následovalo vyšetření koagulačních faktorů vnitřní a společné cesty a vyšetření specifických i nespecifických inhibitorů. Výsledné hodnoty všech vyšetření však prokazovaly nejednoznačné výsledky. S ohledem na výsledky našeho testování byla provedena vyšetření na paraprotein a flow-cytometrické vyšetření leukocytů. Byl také proveden odběr kostní dřeně.

Výsledky:

Bylo provedeno vyšetření faktorů II, V, X, IX, XI, XII, vWF:Ac a vWF:Ag s výsledky v normálním rozmezí. Výsledná hodnota FVIII byla 28% (24%), proto se přistoupilo k vyšetření inhibitoru FVIII (1,21 B.U./l) a hladiny FVIII fotometricky (63%). Byla prokázána vysoká hladina paraproteinu v séru a flow-cytometrické vyšetření prokázalo patologický klon plazmocytů v kostní dřeni. Morfologická diagnostika kostní dřeně prokázala abnormální zmnožení plazmocytů v kostní dřeni. Došli jsme proto k závěru, že paraprotein interferoval koagulační stanovení jak v základní koagulaci, tak i ve speciálních testech. Po přeléčení pacientky došlo k normalizaci všech koagulačních parametrů.

Závěr:

Cílem práce je přiblížit některá méně častá hematologická onemocnění a úskalí při jejich vyšetřování, s nimiž se může každá laboratoř setkat.

35.

Inhibice vlivu NOAC při koagulačních testech

Chalupníková P., Pavlíková A., Nepochová D., Kupková P., Slavík L., Úlehlová J. (Hematologická klinika, FN, Olomouc)

Nová perorální antikoagulantia (NOAC), jsou přímými inhibitory koagulačních faktorů, což vede k ovlivnění řady koagulačních vyšetření.

Všechny studie s NOAC prokázaly ovlivnění rutinních koagulačních testů, jako je PT a / nebo APTT, přičemž dabigatran ovlivňuje APTT více než PT a xabany ovlivňují PT více než APTT. Trombinový čas je velmi citlivý na dabigatran, ale necitlivý na činidla anti-FXa a fibrinogen není obvykle ovlivněn žádným NOAC, s výjimkou alternativních metodik. V souladu s relativními citlivostmi na PT a APTT jsou ovlivněny i stanovení koagulačních faktorů, jak vnitřní tak vnější cesty aktivace hemostázy. Nejlépe je interference popsána při stanovení lupus antikoagulant pomocí diluovaného jedu Russelovy zmiže (dRVVT).

Cílem naší práce bylo potlačit vlivu NOAC na koagulační vyšetření použitím inhibitoru DOAC-Stop. Za tímto účelem byla provedena vyšetření koagulačních testů na souboru pacientů léčených různými typy NOAC a to bez přídavku inhibitoru a po inhibici účinku NOAC.

Z porovnání všech výsledků koagulačních metod jsme prokázali plnou eliminaci vlivu NOAC na koagulační testy při použití specifického antidota.

36.

Raritní nálezy v periferní krvi a kostní dřeni u dětí – prezentace dvou kazuistik

Dynterová A., Fátorová I., Hak J. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové; Dětská klinika, FN, Hradec Králové)

Hematologická onemocnění představují v dnešní době velice široké spektrum různých diagnóz, přičemž výskyt některých z nich v dětském věku může být velmi ojedinělý. Na dvou kazuistikách budeme prezentovat dětské pacienty s těmito raritními nálezy.

První kazuistika se týká záchytu podtypu akutní myeloidní leukemie (AML) – akutní promyelocytární leukémie (APL) – u tříletého chlapce, který byl poslán praktickým lékařem na dětskou kliniku FN HK pro anémii (Hb 57 g/l), trombocytopenii (10 x 109/l) a s nálezem 61 % atypických buněk v periferní krvi. AML v dětském věku tvoří pouze 15 % všech akutních leukemií (1 případ na 100000 dětí ročně; medián věku při diagnóze je 10 let) a je tedy významně méně častá než akutní lymfoblastická leukemie (ALL). Incidence APL u takto malých dětí je velmi vzácná, cca 1-2 případy za rok v celé České republice. Základem diagnostiky je včasné komplexní morfologické, cytogenetické, molekulárně genetické, případně imunofenotypizační vyšetření kostní dřeně, které umožní zařadit typ akutní leukemie a zároveň i stanovit prognózu onemocnění. I u dětí patří APL mezi prognosticky příznivá onemocnění (t(15;17) a přítomnost fúzního PML-RARa genu) s šancí na úplné vyléčení až 75 %. Obecně platí, že dětské pacienty s AML odpovídají hůře na léčbu než dospělí. Léčba bývá náročnější a ve svém průběhu může být provázena většími množstvím komplikací. Stejně tak tomu je i při léčbě APL, která bývá navíc komplikována koagulopatií a hyperfibrinolýzou. V současnosti je do léčebných protokolů APL u dětí zahrnuta all-trans-retinová kyselina, což vede k významnému zlepšení výsledků. Kompletní remise bývá dosahována u více než 90 % pacientů a celkové přežití je 80-90 %. Relaps postihuje přibližně 10-15 % dětí. Náš dětský pacient s APL nyní podstupuje léčbu na specializovaném pracovišti v Praze.

Druhá kazuistika je záchyt chronické myeloidní leukemie (CML) u jedenáctiletého chlapce, který byl dlouhodobě sledován pro vrozenou srdeční vadu (hemodynamicky nevýznamný defekt septa komor). Na dětskou kliniku FN HK byl poslán pro bolest v krku a rýmu. Zde byla na ultrazvuku zjištěna izolovaná splenomegalie, laboratorně hyperleukocytóza (počet WBC 220 x 109/l), bez krváčivých projevů. V diferenciálním rozpočtu byl posun doleva, bazofilie, anizocytóza erytrocytů, polychromazie, hypogranularita. Pro podezření na CML byl přeložen na specializované pracoviště do Prahy, kde byl dovyšetřen. Genetickými testy byla prokázána pozitivita Ph chromozomu a fúzního bcr/abl genu a potvrzena dg. CML. Pacient podstoupil léčbu imatinibem (trvá dosud), na kterou dobře zareagoval. V současné době je pacient v remisi a je průběžně kontrolován na dětské hematologické klinice FN HK. Současně je zařazen do transplantačního programu. Vhodný dárce kostní dřeně však nebyl v blízkém příbuzenstvu ani v ČR nalezen, proto se nyní hledá v mezinárodním registru. CML je klonální maligní onemocnění pluripotentní kmenové buňky s přítomností Ph chromozomu, který vzniká translokací 9. a 22. chromozomu – t(9;22). Produktem této aberace je fúzní gen bcr/abl (pro stanovení dg. CML má zásadní význam). Choroba se má tři fáze, chronickou, fázi akcelerace, pak následuje blastický zvrát. CML se u dětí vyskytuje vzácně, ročně v České republice postihne 1-2 děti/dospívající ve věku 0–18 let. Typickým prvním projevem nemoci je zvětšující se obvod břicha v důsledku splenomegalie. V krevním obraze je diagnostikována významná leukocytóza, často s trombocytózou a anémií. I v éře imatinibu je u dětí terapeutickou volbou transplantace kostní dřeně. Vyléčit se daří více než 70 % pacientů.

Tato práce byla podpořena programem PROGRES Q40/08.

Střádací choroby a role makrofágů v cytomorfologické diagnostice

Trnavská I., Kissová J., Babáčková G., Antošová M., Antošová L., Tůzová E., Mičánková S. (OKH, FN, Brno)

Střádací choroby (tezaurizmózy) jsou vzácná onemocnění vznikající v důsledku vrozené autozomálně recesivní enzymatické poruchy s následkem střádání látek lipidové, glykolipidové nebo mukopolysacharidové povahy. Výsledkem těchto enzymatických poruch je hromadění nadměrného množství metabolitů v buňkách, často makrofázích orgánů a tkání, včetně kostní dřevě. Mezi nejčastější onemocnění této skupiny patří Gaucherova choroba, méně časté jsou Niemann Pic-kova a Fabryho choroba. Gaucherova choroba je způsobena chyběním lysosomálního enzymu β -glukocerebrosidázy, což vede k akumulaci glukocerebrosidů v makrofázích zejména jater, sleziny a kostní dřevě. Vyšetření kostní dřevě není pro diagnózu Gaucherovy choroby nezbytné, ale často bývá provedeno v rámci diferenciální diagnostiky trombocytopenie, anemie a/nebo splenomegalie. V kostní dřevě nacházíme makrofágy patologického vzhledu, tzv. Gaucherovy buňky.

Makrofágy jsou buňky odvozené z monocytů schopné fagocytózy. Jedná se o větší elementy (15-30 μm) s objemnou cytoplazmou, buněčný tvar je nepravidelný, jádro kulaté, oválné, cytoplazma může obsahovat fagocytovaný materiál v nativní nebo degradované formě. Při hodnocení kostní dřevě by dle aktuálního doporučení České hematologické společnosti neměly být makrofágy zahrnuty do rozpočtu jaderných buněk, jejich zastoupení je možné vyjádřit jejich počtem k celkovému počtu jaderných elementů. Patologie makrofágů v kostní dřevě je významným nálezem zejména v diferenciální diagnostice cytopenií. Součástí sdělení je i stručný výčet patologie makrofágů nejen v rámci střádacích chorob, ale i jiných patologických stavů, na které může patologický vzhled makrofágů upozornit. S patologií makrofágů se lze setkávat také sekundárně u stavů se značně vystupňovaným obratem buněk, například u chronické myeloidní leukémie. Ve sdělení je autory prezentován případ pacientky s Gaucherovou chorobou.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)

Kazuistiky vybraných vzácných hematologických onemocnění pohledem morfologa

Kolařík L., Zůnová H., Vodičková E., Hochová I. (Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN Motol, Praha)

Downův syndrom patří mezi geneticky podmíněné onemocnění s pestrými zdravotními komplikacemi. Onemocnění je způsobeno poruchami chromozomu 21. Dětský hematolog se může s tímto onemocněním setkat v souvislosti s vyšším výskytem hematologických malignit. U 10% dětí s Downovým syndromem se rozvine transientní myeloproliferativní nemoc, čtenější je výskyt akutní myeloidní leukémie a myelodysplastického syndromu, kdy je riziko vzniku až 56x vyšší než u dítěte bez Downova syndromu. Morfologické odlišení akutní myeloidní leukémie u Downova syndromu od akutní myeloidní leukémie u pacienta bez Downova syndromu není možné. Odlišnosti v patologických buňkách nám určí metody imunologické a molekulárně genetické. V patologických buňkách se vyskytuje mutace genu GATA-1 a snížené množství anti-apoptických molekul např. BLC-2 a HSP70. Pro přesné stanovení diagnózy je důležitá mezioborová spolupráce.

Akutní lymfoblastická leukémie patří v dětském věku mezi nejčastější maligní onemocnění a tvoří 80% leukémií u dětí. Oproti tomu u dospělých pacientů tvoří akutní lymfoblastická leukémie 1% maligních onemocnění a 20% všech akutních leukémií. Incidence se v dospělosti pohybuje okolo 1,2 případů na 100 000 obyvatel. V periferní krvi a kostní dřevě nacházíme blasty lymfoidního vzhledu. K určení původu blastů pomáhá průtoková cytometrie s využitím doporučení Evropské skupiny pro imunofenotypizaci leukémií (EGIL). U 70-80% dospělých pacientů se jedná o B-prekurzorovou ALL. Nedílnou součástí vyšetření jsou metody cytogenetické a molekulárně genetické, které nám pomohou prokázat přítomnost chromozomálních aberací. Je důležité zvolit vhodnou metodiku, protože blastické elementy u ALL netvoří dobrá metafazická jádra. Z toho důvodu mohou být důležité chromozomální aberace přehlédnuty.

May-Hegglinova anomálie patří mezi geneticky podmíněné trombocytopenie. Onemocnění bylo pojmenováno po německém lékaři Richardu Mayovi a švýcarském lékaři Robertu Hegglinovi. V náteru periferní krve nacházíme četné makrotrombocyty a současně v granulocytech pozorujeme

namodralé vřetenovité či srpkovité inkluze, tzv. Döhleho inkluze. May-Hegglinova anomálie je spojována s mutací MYH 9 genu (gen pro těžké řetězce nemuskulárního myozinu). Inkluze v granulocytech jsou právě agregáty těžkých řetězců nemuskulárního myozinu. MYH 9 gen je lokalizován na dlouhém raménku 22. chromozomu

Srpkovitá anémie patří mezi vrozené korpuskulární hemolytické anémie řazené mezi hemoglobinopatie, s přítomností tzv. hemoglobinu S (HbS). Poprvé srpkovitou anémii popsal James B. Herrick (1910), ale molekulární podstatu se povedlo objasnit až L. Paulingovi (1949). Onemocnění se morfologicky projevuje změnou tvaru erythrocytu do tvaru srpku. Morfologická změna je způsobena mutací genu kódujícího řetězec beta. Při této mutaci dochází k záměně kyseliny glutamové za valin na 6. pozici beta řetězce. Tím vzniká tzv. HbS. Při poklesu tlaku kyslíku v krvi se projeví jeho odlišné vlastnosti v deoxygenovaném stavu, dochází ke změnám v molekule a k polymeraci molekul HbS a tím následně dojde ke změně tvaru erythrocytu. Takto změněný erythrocyt má sníženou dobu přežívání ze 120 na 10 – 20 dní. Pacienti postižení touto nemocí však vykazují rezistenci na parazitní onemocnění malárii. Malarická plazmódia nejsou schopná vykonávat svůj vývojový cyklus v takto změněných, srpkovitých erythrocytech. Nejčastější výskyt srpkovité anemie je v subtropických a tropických oblastech. Podle údajů světové zdravotní organizace je v USA postiženo srpkovitou anémií 72 tisíc obyvatel. 1/500 Afro-Amerických novorozenců a 1/1000-1400 Hispánsko-Amerických novorozenců je postiženo touto chorobou. Celkem 2 miliony Američanů přenáší jednu postiženou alelu.

POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 3**Vybrané aspekty v diagnostice a léčbě amyloidózy**

Pika T. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Amyloidózy představují heterogenní skupinu onemocnění charakterizované ukládáním amyloidu. Jako amyloid je nazýván insolubilní bílkovinný materiální fibrilárního charakteru, zaujímající β – sheet konformaci a který je poměrně odolný vůči proteolýze. Amyloidové masy jsou extracelulárně deponovány v tkáních, což vede k jejich dezorganizaci a úbytku normálních buněčných elementů s následným narušením funkce orgánů. Jedná se o dynamický, progredující proces. Doposud bylo identifikováno více než 30 různých amyloidogenních proteinů. V zásadě rozlišujeme amyloidózu dle rozsahu postižení na systémovou a lokalizovanou, dle charakteru přenosu pak na získané a hereditární typy. Většina typů systémových amyloidóz je spojena s multiorgánovým postižením.

AL amyloidóza (light chain) je systémové nebo orgánově limitované onemocnění patřící do skupiny monoklonálních gamapatií, resp. plazmocelulárních dyskrázií. Jedná se o méně obvyklé onemocnění a incidence je přibližně 5-12 nemocných na milion obyvatel za rok, představuje však více než 70% případů ze všech typů amyloidóz. Onemocnění je charakterizované depozicí fibril tvořených fragmenty nebo kompletními molekulami monoklonálních lehkých řetězců imunoglobulinu produkovaných klonální plazmocelulární populací. Imbibice tkání amyloidem má za následek progredující postižení orgánů – nejčastěji ledvin, srdce, jater a periferního nervového systému. V naprosté většině případů bývá u nemocných zjevné multiorgánové postižení.

Pro samotné stanovení diagnózy všech typů amyloidóz je zcela nezbytný odběr tkáně s histologickým průkazem a následnou typizací amyloidových mas. Primárně se užívá necílených biopsií (rektum, jazyk, podkožní tuk), teprve v případě negativy a přetrvávání podezření se provádí biopsie cílená dle dominujícího postiženého orgánového systému (biopsie ledviny, jater či endomyokardiální biopsie). Základní morfologickou metodou průkazu amyloidu je speciální barvení Konžskou červenou vykazující charakteristickou birefringenci s dichroismem v polarizovaném světle. Typizace depozitů amyloidu je nejčastěji prováděna metodou nepřímé imunohistochemie a přímé imunofluorescence. V současnosti však již mnohá pracoviště používají pokročilých technik vizualizace a typizace amyloidových mas, a to včetně elektronové mikroskopie či technik hmotnostní spektrometrie.

Mezi další kroky patří identifikace B-buněčného klonu, kvantifikace a typizace monoklonálního proteinu a posouzení míry orgánového postižení. Principem úspěšné terapie AL amyloidózy je rychlá eliminace klonálních plazmocytů v kostní dřevě či jiné B-lymfocytární populace, jež je zodpovědná za produkci amyloidogenních monoklonálních lehkých řetězců imunoglobulinu.

Teprve v případě výrazné redukce nálože lehkých řetězců s dosažením alespoň velmi dobré hematologické odpovědi (VGPR, dFLC < 40 mg/l), je dán prostor pro eliminaci deponovaných amyloidových mas z orgánů a tím i dosažení orgánové léčebné odpovědi. U AL je v současnosti preferován risk-adapted přístup s individuálním určením léčebné strategie u každého nemocného s ohledem na věk, komorbiditu, počet a tíž postižených jednotlivých orgánů. Nedílnou součástí léčby je řádná symptomatická a podpůrná terapie při orgánovém postižení v těsné spolupráci s odborníky znalými problematiky amyloidózy (kardiolog, nefrolog, nutriční specialista).

S podporou IGA MZ CR 16-31156A.

40.

Současný pohled na diagnostiku, stratifikaci a léčbu POEMS syndromu

Ščudla V., Minařík J., Píka T., Hrbek J., Bačovský J. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc; Radiologická klinika, FN, Olomouc)

POEMS syndrom je vzácný paraneoplastický syndrom s nedořešenou patogenezi, podmíněný autonomní proliferací monoklonálních plazmocytů v kostní dřeni. Zavedený akronym pro název syndromu vychází z přítomnosti Polyneuropatie, Organomegalie, Endokrinopatie (abnormální hodnota TSH, prolaktinu, PTH, testosteronu či estradiolu, LH, FSH nebo vaskulárního endoteliálního růstového faktoru), Monoklonálního imunoglobulinu (Mlg) typu lambda a charakteristických kožních („Skin“) změn. Diagnóza POEMS syndromu je založena na splnění 3 velkých kritérií, tj. nutně senzomotorické polyneuropatie (smPN) a monoklonální plazmocelulární proliferace, případně i osteosklerotických lézí skeletu, Castlemanovy nemoci nebo elevace VEGF (vaskulární endoteliální růstový faktor) a nejméně 1 malého kritéria, tj. organomegalie, endokrinopatie, kožních změn, edému oční papily, zvýšeného extravaskulárního objemu (otoky, ascites, fluidotorax, perikarditida) a/nebo trombocytózy. Počet splněných diagnostických kritérií má vztah k rozsáhlosti, nikoliv k prognóze nemoci, nejintimnější vztah k aktivitě nemoci má sérová hladina VEGF. K oddálení správné diagnózy vede obvykle prvotní záměna za CIDP (chronická zánětlivá demyelinizační polyneuropatie), monoklonální gamapatií nejistého významu nebo metastatické osteoplastické postižení skeletu. V přednášce je analyzován vlastní soubor 5 nemocných s POEMS syndromem, léčených na HOK v Olomouci v rozmezí 2008-2015, tvořený 4 muži a 1 ženou s věkovým mediánem 54 (25-81) let. U všech nemocných byla přítomna smPN (u 3 předcházela dlouhodobá léčba „CIDP“ neurologem), nízká koncentrace Mlg (4x IgG-L, 1x IgA-L), smíšené osteolytické a osteosklerotické postižení skeletu a u jednoho i Castlemanova choroba, výskyt ostatních projevů POEMS syndromu byl značně variabilní. Dva nemocní byli léčeni vedle kortikosteroidu melfalanem, 2 lenalidomidem a 1 oběma přípravky, 3 nemocní podstoupili navíc i autologní transplantaci krvetvorných kmenových buněk (ASCT). Z 5 nemocných dosáhl 1 hematologickou CR, 3 VGPR a 1 PR, u 3 i nadále perzistovala významná smPN (1x s podílem diabetické PN), u 2 došlo k regresi na pouze senzitivní PN. V současnosti, při mediánu sledování 71 (8-136) měsíců jsou 3 žijící nemocní v dobré klinické kondici, zatímco 2 zemřeli na přidružená onemocnění (městnavá srdeční slabost a akutní myeloblastická leukemie). Terapií 1. linie nemocných s dominantní přítomností osteosklerotického plazmocytomu je efektivní ložisková aktinoterapie, zatímco v případě vícečetných osteosklerotických lézí, difuzního postižení kostní dřeni a/nebo u nemocných s progresí nemoci do 3-6 měsíců po ukončení radioterapie je indikována systémová antineoplastická léčba, vedoucí u většiny nemocných k velmi příznivé odezvě. Základním léčebným přístupem je v této situaci nízcédávkovaná konvenční nebo vysocédávkovaná terapie alkylačními přípravky (melfalan, případně cyklofosamid) s podporou ASCT. Z předběžných výsledků vyplývá, že transplantační léčba POEMS syndromu vede k dlouhodobému zlepšení kvality života a k prodloužení celkového přežití. Ve velmi slibném světle se jeví v současnosti již preferovaná léčba lenalidomidem, vykazující velmi dobrou účinnost s akceptabilní toxicitou. Použití thalidomidu nebo bortezomibu je nutno přes jejich ověřenou účinnost velmi vážit pro značné riziko zhoršení periferní neuropatie. Snaha o použití anti-VEGF monoklonální protilátky se setkala prozatím s rozporuplnými výsledky. Je nasnadě, že nejdůležitějším počinem v léčbě POEMS syndromu je jeho časné rozpoznání s bezprostředním nasazením systémové léčby, zaměřené na potlačení plazmocelulárního klonu a vhodná podpůrná terapie.

41.

Onemocnění z depozice monoklonálního imunoglobulinu

Minařík J., Tichý T., Píka T., Bačovský J., Krhovská P., Krejčí K., Zadražil J., Ščudla V. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc; Ústav klinické a molekulární patologie, Lékařská fakulta UP a FN, Olomouc; III. interní klinika – nefrologická, revmatologická, endokrinologická, Lékařská fakulta UP a FN, Olomouc)

Onemocnění z depozice monoklonálního imunoglobulinu (MIDD – monoclonal immunoglobulin deposition disease) patří mezi vzácná vzácná systémová onemocnění s incidencí cca 8 případů/1 milion. Příčina MIDD spočívá v proliferaci klonálních plazmatických buněk s tvorbou a tkáňovým ukládáním monoklonálního imunoglobulinu (Mlg). Valnou většinu (přes 80%) zastupuje nemoc z depozice lehkých řetězců imunoglobulinu (LCDD – light chain deposition disease), následovaná onemocněním z depozice těžkých řetězců (HCDD – heavy chain deposition disease) a smíšeným onemocněním z depozice lehkých a těžkých řetězců imunoglobulinu (LHCDD – light and heavy chain deposition disease). Lehké či těžké řetězce imunoglobulinu se ukládají v parenchymových orgánech, což může vést k narušení, případně až ke ztrátě jejich funkce. Mohou být postižena játra, srdce, daleko nejčastějším je ale ukládání v ledvinách, díky kterému se MIDD řadí mezi tzv. monoklonální gamapatie s postižením ledvin (MGRS – monoclonal gammopathy of renal significance), mezi něž patří například i AL amyloidóza, kryoglobulinémie I. typu, Fanconiho syndrom z lehkých řetězců, imunotaktoidní glomerulonefritida a další jednotky. Postupné ukládání Mlg vede ke zhoršování glomerulární filtrace, albuminurii, vyúsťující až v nefrotický syndrom, hematurii a renální hypertenzi.

MIDD bývá obvykle diagnostikováno jako samostatné onemocnění, může být ale asociováno s mnohočetným myelomem či jinou plazmocelulární dyskrázií.

Základem diagnostiky MIDD je biopsie postiženého orgánu. V ledvinách jsou depozita nacházena podél glomerulární a tubulární bazální membrány s mikroskopickým obrazem podobným glomeruloskleróze. K posouzení přispívá významnou měrou imunofluorescenční vyšetření, potvrzující klonalitu ukládaných lehkých řetězců v případě nejčastější formy LCDD. V elektronovém mikroskopu jsou depozita obvykle granulózní a neorganizovaná, s převahou řetězců kappa, na rozdíl od AL amyloidózy, která tvoří fibrilární depozita s konfigurací β -skládaného listu a obvykle převažují lambda lehké řetězce. Na rozdíl od AL amyloidózy nejsou depozita barvitelná pomocí konžské červeně a nevykazují zelený dichroismus v polarizovaném světle.

Léčba MIDD spočívá v potlačení patologického klonu plazmocytů, produkujícího monoklonální imunoglobulin. Opírá se o obdobné postupy jako u mnohočetného myelomu, včetně zvážení autologní transplantace krvetvorných buněk u vhodných kandidátů. I přes nižší průměrný věk při diagnóze (50-60 let) jsou nemocní s MIDD obvykle „křečci“ s horší tolerancí vysokodávkovaných režimů. Léčba pomocí nových působků s biologickým mechanismem účinku se zdá velmi slibná, s ohledem na raritní výskyt této diagnózy jsou však dostupná pouze kazuistická data, případně na velmi malých souborech nemocných. Orgánová léčebná odezva se obvykle významně opožďuje za hematologickou odezvou a zůstává otázkou, zdali je v případě významného postižení tkáni depozity lehkých řetězců plně reverzibilní.

Náplní sdělení je bližší seznámení s touto hematologickou jednotkou včetně vlastních zkušeností s diagnostikou a léčbou.

Za podpory grantu IGA-LF-2018-004.

MORFOLOGICKÝ DEN I

42. Akutní promyelocytární leukemie PML/RAR α pozitivní – typický morfologický nález + kazuistika

Mikulenková D., Campr V. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha; Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha)

Akutní promyelocytární PML/RAR α pozitivní leukemie (APL) je onemocněním laboratorně definované přítomností leukemických promyelocytů v nátěru periferní krve a v aspirátu kostní dřeně a geneticky přítomností fúzního genu PML/RAR α , klinicky pak intenzivním krvácením a příznaky z diseminované intravaskulární koagulace. Většina vzorků krevního obrazu (KO) je u pacientů s APL pancytopenických, výjimečně jsou vstupní vzorky s leukocytózou (častěji u mikrogranulární formy). Přítomné patologické promyelocyty jsou cytologicky dosti heterogenní – různé veliké, s vyšším či se středně vysokým nukleo-cytoplazmatickým poměrem, jádro je nejčastěji bilobární (až tvaru andělských křídel), či ledvinovité, ojediněle ale i s přeložením ve tvaru telefonního sluchátka, či je jen oválné, chromatin je jemný (blastický), s jadérkem či i s více s jadérky, cytoplazma je u častější hypergranulární formy vyplněná hrubými granuly, které se barví růžově, červeně či nachově, a které častěji překrývají i jádro. U druhého morfologického typu APL – tzv. mikrogranulární forma – granula někdy chybí, nebo jsou velmi jemná. Barvení myeloperoxidázy nám svou výraznou intenzitou diagnózu obou cytologických typů potvrdí, výrazná pozitivita granul je i v barvení α -naftyl-chloro-acetát esterázou. V novém vydovaném 4. vydání WHO klasifikace tumorů hematopoetické a lymfoidní tkáně z r. 2016 jsou kromě PML/RAR α pozitivní APL leukemie uvedeny variantní RAR α translokace a jejich odlišné morfologické nálezy. V našem sdělení se zaměříme na morfologický nález typické hypergranulární APL s atypickým klinickým obrazem.

43. Akutní promyelocytární leukemie s variantní RAR α translokací – morfologický nález + kazuistika

Šimečková R. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha)

Akutní promyelocytární leukemie (APL) patří mezi vzácná nádorová onemocnění. V České republice tvoří přibližně 5-8 % všech případů akutní myeloidní leukemie (AML). Počet nově diagnostikovaných nemocných obvykle nepřesahuje 20 případů za rok. Medián věku je 40-45 let. Vznik a vývoj onemocnění je v 99% spojený s reciprokou translokací pro receptor kyselina alfa-retinové (RAR α) z chromozomu 17 na chromozom 15, do oblasti genu označovaného promyelocytic leukemia gene (PML). Touto translokací vzniká na chromozomu 15 leukemický fúzní gen PML/RAR α . Výjimečně, u méně než 1% APL, fúzuje gen RAR α s jinými geny než PML. Mezi nejznámější variantní fúzní partnery patří ZBTB16 (dříve PLZF) na 11q23.2, NUMA1 na 11q13.4, NPM1 na 5q35.1 a STAT5B na 17q21.2. Tyto genetické změny vedou ke změně struktury receptoru pro kyselinu retinovou, a tím k blokádě diferenciaci a zástavě maturace postižené buňky na úrovni promyelocytu. Forma APL s t(11;17), ZBTB16-RAR α , máva promyelocyty s pravidelným tvarem jádra a s kondenzovanějším chromatinem (blížíci se již myelocytům) s četnými granuly, s četnými pseudopelgeroidními neutrofilii a se silnou pozitivitou v myeloperoxidáze (MPO). Auerovy tyče nebývají přítomny, chybí buňky s mnohočetnými Auerovými tyčemi (tzv. faggot cells) a bývá přítomna početnější zrající granulocytární komponenta. U formy APL s t(11;17), NUMA1-RAR α , jsou leukemické promyelocyty obvykle hypergranulární a s nepravidelně tvarovanými jádry. Jsou přítomny i pseudopelgeroidní neutrofilii. Další variantou je APL s t(5;17), NPM1-RAR α , kde dominuje populace hypergranulárních leukemických promyelocytů a menší část tvoří populace hypogranulárních promyelocytů. Auerovy tyče nenacházíme. V případě APL s t(17;17), STAT5B-RAR α , bývají leukemické buňky hypo- až agranulární, část z nich připomíná mikrogranulární formu APL. V našem sdělení se zaměříme na morfologické nálezy u APL s variantní RAR α translokací.

44. Akutní megakaryocytární leukemie

Machová R., Rohoň P., Lapčíková A., Juráňová J., Faber E. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Akutní megakaryocytární leukemie (AMKL) je raritní subtyp AML s odhadovanou prevalencí pod 1/1000000. AMKL je definovaná přítomností více než 20% blastických buněk v kostní dřeni s dominantním zastoupením megakaryoblastů v blastické populaci (min. 50%). Ve FAB klasifikaci je AMKL označována jako AML M7.

AMKL může postihnout děti i dospělé, v dětském věku je pozorována asociace s Downovým syndromem. Onemocnění není spojeno s typickou genetickou změnou, u dětí je kromě trisomie 21 popisována t(1,22), u dospělých abnormality 3q, 11q, t(9,22) a u sekundárních AMKL delece 7/7q a 5/5q a trisomie 8. Dále byla popsána možná asociace s mutacemi některých regulačních genů hematopoézy (RUNX1, GATA1).

Z morfologického hlediska je onemocnění typické zmožením patologických anizomorfních megakaryoblastů variabilní velikosti s okrouhlými či indentovanými jádry a jedním či více jadérky a bazofilní agranulární cytoplasmou s typickými pseudopodálnými výběžky. Megakaryoblasty mohou být někdy obtížně odlišitelné od lymfoblastů či myeloblastů typu I. Blasty často tvoří shluky a tak mohou připomínat metastatické postižení dřeně solidním tumorem. Ve speciálním cytochemickém barvení je popisována možná difúzní či granulární pozitivita PAS reakce. V histobiopstickém vyšetření je mimo zastižení infiltrace blasty typickým nálezem fibróza dřeně. Spolehlivou metodou k potvrzení diagnózy AMKL je průtoková cytometrie (typická pozitivita tromboocytárních glykoproteinů CD41 a CD61, pozitivita CD13, CD33 a CD36, negativita HLA-DR).

V našem sdělení prezentujeme morfologické nálezy kostní dřeně pacienta, u něhož jsme stanovili diagnózu sekundární AMKL, která se rozvinula z myelodysplastického syndromu léčeného azacytidinem. Morfologické nálezy AMKL budou doplněny taktéž ukázkou některých dalších patologických nálezů v megakaryocytární řadě.

45. Atypická chronická myeloidní leukemie u nemocné po léčbě karcinomu prsu

Zuchnická J., Richterová P., Hájek R. (Klinika hematologie, FN, Ostrava)

Atypická chronická myeloidní leukemie (aCML) je vzácné onemocnění, které řadíme mezi myelodysplasticko-myeloproliferativní syndromy. Jedná se o klonální hematopoetické onemocnění s leukocytózou, vyplavováním zralých i nezralých forem dysplastických neutrofilů. Podle aktuální revize WHO klasifikace z roku 2016 jsou diagnostickými kritérii pro aCML leukocytóza v periferní krvi se zvýšením počtu neutrofilů. Nezralé granulocyty (promyelocyty, myelocyty, metamyelocyty) tvoří $\geq 10\%$ ze všech leukocytů, jsou zřetelné projevy dysgranulopoézy. Basofily tvoří $\leq 2\%$, monocyty $< 10\%$ leukocytů. Obvyklá je mírná anémie a trombocytopenie. Kostní dřeň je hypercelulární s granulocytární proliferací a dysplazií, může (ale nemusí) být přítomna dysplazie v erytroidní a megakaryocytární řadě. V kostní dřeni a v periferní krvi je $< 20\%$ blastů. Podmínkou je nepřítomnost PDGFRA, PDGFRB, FGFR1 a JAK-2 mutace. Nejsou splněna diagnostická kritéria pro BCR/ABL1+ chronickou myeloidní leukemii, primární myelofibrózu, pravou polycytemii či esenciální trombocytémii. Předchozí anamnéza myeloproliferativního onemocnění, přítomnost mutace SETBP1 a/nebo ETNK1 mutace, CALR nebo MPL mutace rovněž diagnózu aCML vylučuje.

Na kazuistice nemocné s neutrofilní leukocytózou a trombocytopenií zjištěnou náhodně při předoperačním vyšetření před plánovanou operací varixů prezentujeme diferencially diagnostický postup, morfologické nálezy periferní krve a kostní dřeně a léčebné možnosti u tohoto prognosticky nepříznivého onemocnění.

46.

Morfologie nemaligních onemocnění v hematologii – přínos pro diagnózu

Pospíšilová D., Lapčíková A. (Dětská klinika, FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

I přes obrovské pokroky v oblasti molekulární genetiky, proteomiky a vývoje dalších nových diagnostických metod zůstává morfoloogická analýza buněk periferní krve a hematopoetických buněk v kostní dřeni stále zlatým standardem diagnostiky značné části hematologických onemocnění. V některých případech je morfoloogické vyšetření doplněné elektronovou mikroskopií dostačující ke stanovení správné diagnózy a zařazení onemocnění. Genomické metody poté upřesní a potvrdí správnou diagnózu.

Cílem práce je ukázat na příkladu 3 pacientů význam detailní morfoloogické analýzy prováděné zkušenými morfology, která v kombinaci s genomickými metodami vede ke stanovení přesné diagnózy a adekvátního léčebného postupu.

Pacient č. 1.

13-letá dívka byla vyšetřena pro makrocytární anémii s retikulocytózou, hyperbilirubinemií, splenomegalii a symptomatickou cholecystolitiazou. Z perinatální anamnézy je uvedena prolongovaná hyperbilirubinémie vyžadující fototerapii. V klinickém nálezů dominuje subikterus sklér, bledost, zvýšená únavnost, splenomegalie. V prepubertálním věku byla dívka léčena preparáty železa bez jakéhokoliv efektu. V krevním obraze přetrvává makrocytární anémie s výraznou retikulocytózou. Při vyšetření kostní dřeni v 15 letech věku byly patrné neobvyklé výrazné dysplastické rysy početně normálně zastoupené erytropoesy s makrocytózou až megaloblastoidii v buněčně bohatém nátěru, bez morfoloogických změn granulopoezy a megakaryopoezy.

Pacient č. 2.

6-měsíční kojeneček byl vyšetřen pro těžkou anémii s nutností transfúzí. Porod indukovaný pro susp. erytrobastózu plodu ve 37. týdnu záhlavím, PH 2640 PD 46cm, AS 7-9-9. Stav odpovídal obrazu tzv. „blueberry muffin baby“: dítě bledé, subikterické, na kůži petechie a projevy odpovídající popsanému obrazu. Pro projevy RDS dítě intubováno, na UPV uloženo do inkubátoru. V KO těžká anémie, projevy koagulopatie. V prvních 48 hodinách progresse ikteru, hepatosplenomegalie, elevace transamináz, dále i přes transfúzi prohlubování anémie. Provedena výměnná transfúze. Po 14 dnech na JIP již bez nutnosti UPV, dominovala těžká anémie s hyperbilirubinemií, hepatomegalii, hypertrofickou kardiomyopatií. Bez dysmorfických rysů. Opakovaně podávány transfúze erytrocytární masy. Již v 6. měsíci známky progredujícího přetížení železem. Analýza kostní dřeni v 8 měsících věku ukázala výraznou hyperplazii erytropoezy s dvou- a vícejadernými erytroblasty. Indikováno vyšetření elektronovou mikroskopií.

Pacient č. 3.

27-letý muž je od kojeneckého věku sledován pro Diamondovu-Blackfanovu anémii s potvrzenou mutací pro ribozomální protein RPL5. Porod z 2. gravidity v termínu, p.hm. 2000 g (intrauterinní růstová retardace-IUGR), kříšen, ihned po porodu zjištěna těžká anémie, která si vyžádala transfúzi erytrocytární masy. Hypoplazie thenarového svalstva. Do 6 měsíců nutné transfúze v intervalech 3-4 týdny. V kostní dřeni prokázána mírná hypoplazie erytropoezy s poruchou vyzrání. Po léčbě kortikoidy zlepšen krevní obraz, přechodně uspokojivé hodnoty Hb, bez transfúzí po dobu 3 měsíců, později transfúze podávány v intervalech 3-4 měsíce. Sledován endokrinologem pro malý vzrůst. Ve 27 letech při vyšetření kostní dřeni indikovaném pro dlouhodobou leukopenii prokázány dysplastické změny ve všech třech hematopoetických liniích s paradoxní mírnou hyperplazií erytropoezy.

47.

Pearsonův syndrom

Žák P., Dynterová A., Hak J., Fátorová I. (IV. interní hematologická klinika, FN a LF, Hradec Králové; Dětská klinika*, FN a LF, Hradec Králové)*

Kazuistika se týká 2 měsíční dětské pacientky, která byla vyšetřována pro dyspeptické potíže. V laboratorním nálezů byla přítomna makrocytární anémie, hraniční trombocytopenie a lymfocytoza.

Dalším důležitým nálezem byla přítomnost laktátové acidózy. Po vyloučení deficitu AF a vitamínu B12 byla aspirována kostní dřeň. Kostní dřeň byla hypercelulární s dysplastickými změnami ve všech vývojových řadách. Barvení na železo prokázalo porušenou inkorporaci, 95/100 sideroblastů mělo hrubá zrna Fe u 50 bylo přítomno věnečkovité uspořádání. Nález odpovídal myelodysplastickému syndromu typu RARS. Cytogenetické vyšetření neprokázalo změny v karyotypu.

Další vyšetření svědčily spíše proto, že se jedná o sekundární dysplastické změny kostní dřeni. Provedená vyšetření byla zaměřena vrozená onemocnění vedoucí k poruše metabolismu. Při vyšetření mitochondriální DNA (mtDNA) byla ve svalech, játrech a bukálních sliznicích prokázána delecí mtDNA o velikosti 5,5 bp. Tento nález a klinické projevy svědčí pro diagnózu Pearsonova syndromu. Pearsonův syndrom je vzácné, multisystémové progresivní onemocnění, kdy dochází k mutaci v mitochondriální DNA (mtDNA), což v konečném důsledku vede k poruše oxidativní fosforylace v buňkách a k poškození tkání a orgánů. Toto onemocnění se manifestuje potížením kostní dřeni (refrakterní sideroblastická anémie s trombocytopenií), exokrinní dysfunkcí pankreatu a jater a metabolickou acidózou. Dalším klinickým rysem bývají svalové a neurologické poruchy. Mohou být postiženy i další orgány jako mozek, srdce, ledviny či endokrinní žlázy. Pearsonův syndrom vede k částečnému úmrtí již v ranném dětském věku. Velmi málo pacientů přežívá do dospělosti, kdy toto onemocnění přechází do tzv. Kearns-Sayre syndromu. Vzhledem k vzácnosti onemocnění je diagnostika extrémně složitá, na Pearsonův syndrom lze primárně pomýšlet jen u nemocného jedince, v jehož rodině již byla nemoc prokázána. Diagnostika zahrnuje genetické vyšetření, které potvrdí přítomnost mutace v mtDNA. Protože jde o vrozené onemocnění, je terapie čistě symptomatická a je zaměřena na potlačování projevů nemoci. Jak již bylo zmíněno, v řadě případů není možné podstatně prodloužit života a nemocný umírá již v mladém věku. Bohužel i naše dětská pacientka velmi brzy zemřela.

48.

Mastocyty v kostní dřeni z pohledu cytomorfologického hodnocení

Bulíková A., Doubek M., Kíssová J., Babáčková G., Antošová L., Antošová M. (Oddělení klinické hematologie, FN, Brno; Interní hematologická a onkologická klinika, FN, Brno)

Mastocyty jsou v běžných preparátech z aspirační biopsie kostní dřeni poměrně vzácným nálezem. O jaké vlastně jde elementy, resp. do jaké hemopoetické linie patří, se stále vedou diskuse. Zdá se, že prekurzory mastocytů mohou vznikat jak přímo ze zadaného progenitoru pro řadu granulocytů a monocytů (GMP), tak i cestou bipotentních basofilo/mastocelulárních progenitorů (BMCPs) (Dahlin JS, 2015). Nicméně ve WHO klasifikaci hematologických malignit při revizi v roce 2016, byly tzv. „mastocytózy“ vyčleněny z kategorie ostatních chronických myeloproliferativních onemocnění a staly se samostatnou jednotou (Valent P, 2017).

Morfologie mastocytů, resp. přítomnost jejich nezralých či atypických forem, mohou být přínosem pro diagnostiku některých hematologických neoplázií, a to bez ohledu na skutečnost, že tyto nálezy mohou činit diagnózu jen vysoce suspektní, neboť finální závěr nádorového onemocnění z mastocytů se opírá o nálezy histologické, biochemické a molekulárně-genetické. K morfoloogické diagnostice nádorových mastocytárních chorob může být nápomocna morfoloogická klasifikace mastocytů dle Spearra (Spear WR, et al. 2001), která rozlišuje mastocyty cytologicky normální, mastocyty abnormální I (změna kulatého či oválného tvaru buňky na protáhlý až vřetenovitý, přítomnost oválného často excentricky uloženého jádra a hypogranularita cytoplazmy), abnormální II (bilobární či multilobární jádra, buňky jsou analogem promastocytů při kultivaci mastocytárních prekurzorů in vitro) a atypické III (blastické buňky s metachromaticky se barvicími granuly). Zastoupení jednak samotných mastocytů, resp. poměry typických a atypických forem, koreluje s prognózou pacienta. Nicméně malé zastoupení mastocytů v nátěrech nevylučuje těžkou infiltraci zjištěnou histologicky. Zmnožení mastocytů v kostní dřeni může provázet i jiná klonální proliferativní onemocnění, častěji myeloidní, ale i lymfoproliferace. K velmi vzácným stavům pak patří mastocelulární leukémie a téměř raritní je leukémie myelo-mastocytární.

Prezentace shrne současnou klasifikaci chorob z mastocytů a ukáže cytomorfologické nálezy, které mohou být nápomocny v diferenciální diagnostice.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)

Reference

Sperr WR, Escribano J, Jordan J-H, et al. Morphologic properties of neoplastic mast cells: delineation of stages of maturation and implication for cytological grading of mastocytes. *Leuk Res* 2001; 25: 529-536

Dahlin JS, Hallgren J. Mast cell progenitors: Origin, Development and migration to tissues. *Molecular Immunol* 2015; 63: 9-17

Valent P, Akin C, Metcalfe D. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood* 2017; 129: 1420-1427

49.

Cytomorfologie zralých T-buněčných neoplázií

Starostka D., Mikula P., Koláček D., Novosadová L., Chasáková K. (Oddělení klinické hematologie, NsP Haviřov, p. o., Haviřov)

Zralé T-buněčné neoplázie lze rozdělit na leukemické/diseminované (T-PLL, T-LGL leukémie, ATLL), převážně nodální (angioimmunoblastický T-buněčný lymfom, PTCL NOS, ALCL), primárně kožní (mycosis fungoides, Sézaryho syndrom, primární kožní ALCL, primární kožní PTCL) a ostatní extranodální (extranodální NK/T-lymfom nazálního typu, hepatosplenický T-buněčný lymfom, subkutánní panniculitis-like T-lymfom, intestinální T-buněčný lymfom).

Cytomorfologická charakteristika zralých T-buněčných neoplázií:

T-prolymfocytární leukémie: T-prolymfocyty jsou často podobné B-prolymfocytům, častěji se vyskytují nepravidelnosti jader a protruze cytoplazmy („blebs“). Raritní je malobuněčná a cerebriformní varianta této nemoci.

Leukémie z velkých granulárních T-lymfocytů: LGL jsou velké lymfocyty s bohatou světlou cytoplazmou s hrubšími či méně často jemnými azurofilními granuly (mikrogranulární varianta).

Leukémie/lymfom z T-buněk dospělých: Polymorfní nádorové lymfocyty mají silně bazofilní cytoplazmu, clumping jaderného chromatinu a lobulaci jader („flower cells“).

Hepatosplenický T-buněčný lymfom: Charakteristická je přítomnost středně velkých lymfocytů s kulatým či konvolutovaným jádrem, jemně kondenzovaným chromatinem a malými nukleoly, středně objemná cytoplazma obvykle obsahuje jemnou azurofilní granulaci.

Mycosis fungoides a Sézaryho syndrom: Typickým nálezem jsou Sézaryho buňky – lymfocyty velikosti monocytů s kulatým či oválným hyperkonvolutovaným jádrem cerebriformního vzhledu. Lutznerovy buňky jsou malé lymfocyty s vysokým N/C poměrem s kompaktním jaderným chromatinem a konvolutovaným jádrem cerebriformního vzhledu.

Periferní T-buněčný lymfom nespecifikovaný: Nádorové lymfocyty mohou mít pestrý vzhled, většinou jsou středně velké až velké, pleomorfní, s kulatým, oválným nebo lobulovaným jádrem, někdy s nukleoly. Cytoplazma je většinou mírně bazofilní a agranulární.

Anaplastický velkobuněčný lymfom: Neoplastické lymfocyty jsou velké a polymorfní, mohou dosahovat i velikosti megakaryocytu. Jádro bývá přeložené, chromatin má retikulární strukturu s několika nukleoly, cytoplazma je většinou bazofilní, někdy vakuolizovaná.

POSTEROVÁ ČÁST

P1. Ultrazesenzitivní detekce mutací způsobujících rezistenci na tyrozinkinázové inhibitory s použitím Illumina NGS platformy u pacientů s chronickou myeloidní leukémií

Smitalová D., Tom N., Jurček T., Mayer J., Ráčil Z., Romžová M. (Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno; Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice, Brno)

Úvod: Objev tyrozinkinázových inhibitorů (TKI) přinesl zásadní změnu v léčbě chronické myeloidní leukémie, a to především zvýšením věku přežívání a kvality života pacientů. Schopnost TKI vázat se na kinázovou doménu BCR-ABL1 může být ovšem narušena přítomností mutací, které mohou způsobit až selhání léčby. Tyto mutace jsou rutinně detekovány pomocí metody Sangerova sekvenování (SS), jehož nevýhodou je vyšší detekční limit (nad 20% VAF). Nedávno publikované studie, které pro analýzu kinázové domény využívaly sekvenování nové generace, poukazují na zvýšenou senzitivitu (pod 15% VAF) a možnost dřívější detekce mutací. Většina těchto studií použila pro amplifikaci kinázové domény dvoukolovou PCR („nested“). Tento přístup je však zatížen možným vnesením chyb polymerázami při reverzní transkripci (RT) a dvou kolech amplifikace, což posouvá limit detekce mutací nad 1%. V těchto publikacích byla v převážně řadě použita pro sekvenování kinázové domény Roche platforma a pouze jedna studie publikovala výsledky získané pomocí Illumina platformy, navzdory tomu, že se jedná o nejvíce dostupnou sekvenační platformu.

Cíle: Naším cílem bylo zavést a otestovat jednoduchý a efektivní protokol pro sekvenování nové generace na platformě Illumina. Protokol byl navržen tak, aby zahrnoval pouze jedno kolo PCR amplifikace, čímž by se redukovaly případné PCR-asociované chyby a snížil by se limit detekce mutací pod 1%, se současným zachováním specifity.

Metody: Protokol byl zaveden a testován na souboru 34 retrospektivních vzorků od 13 CML pacientů, u kterých se vyvinuly TKI rezistentní mutace. Bylo otestováno 15 vzorků ze sledování, odebraných v čase detekce mutací pomocí SS, 11 vzorků ze sledování, odebraných 1-18 měsíců před detekcí mutací pomocí SS, 8 vzorků odebraných v době diagnózy a 6 vzorků zdravých dobrovolníků. Pro RT a PCR amplifikaci byly použity enzymy s vysokou přesností. Efektivita a funkčnost protokolu byla stanovena v porovnání s rutinně používaným SS. Bioinformatická analýza byla navržena s ohledem na vstupní materiál (cDNA) a vyžadovala vysokou senzitivitu, která umožnila detekci In/Del a SNV s frekvencí výskytu až 0,1%.

Výsledky: V kinázové doméně ABL1 nebyly u zdravých kontrol detekovány žádné mutace, což ukazuje, že použití vysoce přesných polymeráz a bioinformatického filtrování vedlo ke snížení signálů pozadí. NGS detekovalo mutace u 100% (15/15) vzorků ze sledování s dříve potvrzenými mutacemi zachycenými SS (R2 VAF = 0,96). Dále NGS detekovalo mutace u 63% (7/11) SS-negativních vzorků odebraných před zachytením mutací pomocí SS, a u 12, 5% (1/8) SS-negativních vzorků odebraných v čase diagnózy (mutace T315I při 0,5% VAF). Celkem bylo metodou SS detekováno 8 různých mutací ($\geq 20\%$ VAF), zatímco metodou NGS bylo detekováno celkem 15 různých mutací, přičemž 19-krát byly detekovány na hladině nad 20% VAF a 26-krát na hladině od 0,1 až 11% VAF. Všechny mutace detekované NGS byly dříve asociovány s TKI rezistencí nebo se sníženou TKI senzitivitou, s výjimkou 2 mutací: R307W a E450Q. Mutace, která byla nejčastěji detekována před zachycením pomocí SS, byla T315I (5 pacientů; 1-8 měsíců dříve). Kromě T315I mutace byly pomocí NGS zachyceny ještě 3 další mutace dříve než SS (3 pacienti; 12-20 měsíců).

Závěr: Výsledky ze sekvenování nové generace za použití nového protokolu s jednokolovou PCR amplifikací na Illumina platformě vysoce korelovaly s výsledky z SS, když se porovnávaly mutace nad 20% VAF. Díky vysoké senzitivě (spolu s vysokou specifičtostí) byla NGS analýza schopná detekovat mutace u 24% více vzorků než SS a ukázala se být vhodná pro dřívější detekci TKI rezistentních mutací o velmi nízké frekvenci ($\geq 0.1\%$ VAF).

Tento projekt byl podpořen grantem Ministerstvem zdravotnictví ČR NR. 17-30397A, a grantem MUNI/A/0968/2017

P2. Autologní transplantace s redukovanou předtransplantační přípravou u pacientů s mnohočetným myelomem ve vyšším věku – toxicita vs. efektivita

Jungová A., Havlová E., Záborská T., Lysák D., Hrabětová M., Jindra P. (Hematologicko onkologické oddělení, FN, Plzeň; Ústav klinické biochemie a hematologie, FN, Plzeň)

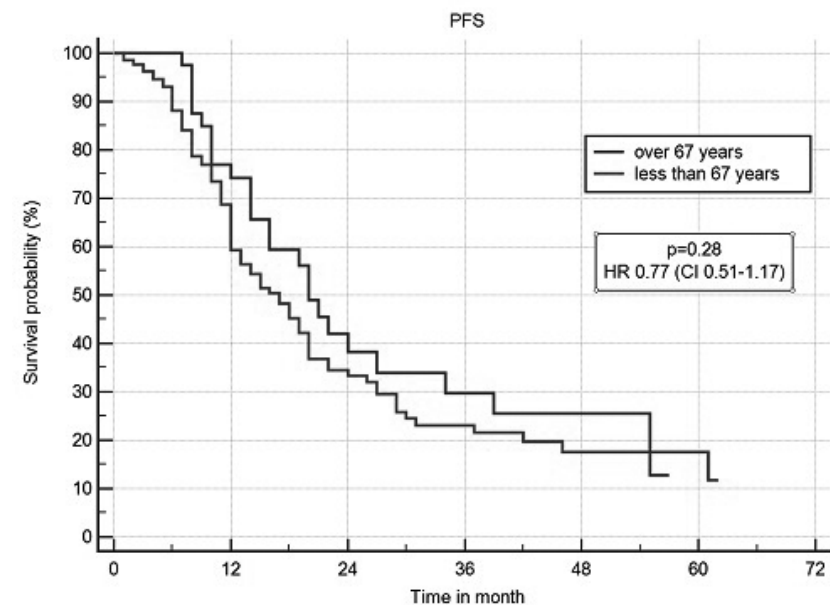
Úvod: Mnohočetný myelom (MM) je jedno z poměrně častých hematologických onemocnění, jehož incidence neustále vzrůstá. I přes významný pokrok ve vývoji léků zůstává základním pilířem léčby autologní transplantace (Tx) periferních krvetvorných buněk. Standardně je podáván melphalan v dávce 200mg/m² a tento režim je využíván přednostně u mladších pacientů z důvodu rizika toxicity přípravného protokolu. U pacientů starších se dávka melphalanu může redukovat na 100-180 mg/m² dle celkového stavu pacienta. Cílem naší práce bylo porovnání délky hospitalizace, event. infekčních a GIT komplikací a také vliv na PFS a OS v souboru rozděleném dle věku.

Metoda: Retrospektivní analýza u 179 pacientů s MM konsekutivně transplantovaných na Hematologicko onkologickém oddělení FN Plzeň mezi roky 2013-2017. Hodnocena byla data po první Tx. U všech pacientů byl podáván pouze melphalan v rámci conditioningu.

Výsledky: Soubor 179 pacientů byl rozdělen podle věku. Ve skupině pacientů > 67 let (A) bylo celkem 47 pac. s mediánem věku 70 let (67-75), zatímco skupinu pacientů < 67 let v době Tx (B) představovalo 133 pac. s mediánem věku 59 let (41-66). V základních parametrech kromě věku nebyl statistický rozdíl. Ve skupině A byla průměrná dávka melphalanu 154mg/m², ve skupině B pak 188mg/m². Celková doba hospitalizace byla ve skupině A s mediánem 15 dnů (14-28) a ve skupině B pak 16 dnů (13-63). Engraftment byl v obou skupinách stejný. Naprosto porovnatelná byla gastrointestinální toxicita – v obou skupinách byl medián grade I (0-IV), ve skupině A se nevykytla závažnější komplikace než grade III, ve skupině B grade III+IV jen u 2%. Infekční komplikace byly ve skupině A poměrně ojedinělé, medián byl gr.0 (0-II), bez výskytu závažnějších infekčních komplikací, ve skupině B jen 1% velmi závažných infekcí (gr. III+IV), medián grade I (0-IV). Z naší analýzy nebyl patrný vliv snížené dávky melphalanu ani na PFS a OS. Medián PFS byl ve skupině A 20 měs. ve skupině B pak 15 měs (p= 0.28, HR 0.77, CI 0.51-1.17). Medián OS nebyl ve skupině A dosažen, ve skupině B byl 40 měs (p= 0.23, HR 0.66, CI 0.36-1.22).

Diskuse: Autologní transplantace je nedílnou součástí léčby u pacientů s diagnózou mnohočetného myelomu. Dosud bylo standardem využití u mladších pacientů, ale dle našich dat i starší pacienti mohou být transplant eligible a při stejném riziku toxicity lze dosáhnout stejných výsledků jako u mladších pacientů včetně PFS a OS.

Take message home: Autologní Tx s redukovanou dávkou i u pac. nad 70 let efektivnější než režimy na na bázi „nových léků“.



Zvýšení hladiny mRNA pro cereblon po přidání erythropoetinu k lenalidomidu u nízkorizikových MDS

Fuchs O., Bokorová R. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha)

Úvod: Zjistili jsme, že vysoká hladina cereblon (CRBN) mRNA o plné délce v mononukleárních buňkách periferní krve je předpokladem pro úspěšnou terapii lenalidomidem (LEN) u nízkorizikových pacientů MDS (Fuchs et al. - Leuk Res 55 /Suppl 1/ S 132, abstr. 227, 2017). Přidání erythropoetinu (EPO) k LEN u pacientů, kteří v průběhu terapie LEN ztratili citlivost a tím i odpověď na LEN, obnovilo odpověď u 4 nízkorizikových pacientů MDS (Jonášová et al. - Leuk Res 55 /Suppl 1/ S 115, abstr. 191, 2017). Naším cílem bylo zjistit jak se mění hladina mRNA pro CRBN o plné délce po přidání EPO k LEN. Chtěli jsme také popsat možný mechanismus v případě, že dojde ke změně hladiny CRBN mRNA. Zatím bylo nalezeno, že přidání EPO k LEN stabilizuje EPO receptor tím, že inhibuje specifickou E3 ubikvitinligázu RNF41 (ring finger protein 41) zodpovědnou za polyubikvitinaci a následující rozklad EPO receptoru v proteasomech (Basiorka et al. - Cancer Res 76, 3531-3540, 2016). Z literatury jsme zjistili účast transkripčního faktoru Nrf2 (NF-E2 related factor 2) v regulaci exprese genu pro CRBN (Lee et al. - Biochem Biophys Res Commun 399, 711-715, 2010) a stimulaci tohoto transkripčního faktoru pomocí EPO (Jin et al. - Ann Clin Lab Sci 41, 25-32, 2011).

Metody: Hladiny CRBN mRNA o plné délce a Nrf2 mRNA byly měřeny v průběhu terapie LEN a po přidání EPO k LEN. Všichni pacienti byli závislí na transfuzích před začátkem terapie LEN. Rekombinantní lidský EPO (40000IU/týden) byl kombinován s LEN (5 nebo 10 mg/den) u devíti nízkorizikových pacientů MDS s del(5q) a u tří nízkorizikových pacientů MDS s normálním karyotypem. Mononukleární buňky byly izolovány na gradientu Ficoll-Paque PLUS, promyty fosfátovým roztokem a zbylé červené buňky byly lyzovány. Hladiny plnodélkové CRBN mRNA a Nrf2 mRNA byly měřeny pomocí kvantitativní TaqMan PCR. Protein CRBN byl detekován Western blotem.

Výsledky: Zjistili jsme, že průběh hladiny Nrf2 mRNA odpovídá průběhu hladiny CRBN mRNA u nízkorizikových pacientů MDS s normálním karyotypem, ale ne u nízkorizikových pacientů MDS s del(5q). Toto jsme potvrdili u nízkorizikových pacientů MDS, kteří byli pouze na terapii EPO. Z tím tedy neznáme mechanismus, kterým dochází ke zvýšení hladin CRBN mRNA po přidání EPO k LEN u nízkorizikových pacientů MDS s del(5q). Účinek EPO je však zprostředkován stabilizací receptoru pro EPO účinkem lenalidomidu. U nízkorizikových pacientů MDS s normálním karyotypem by se podle našich předběžných analýz mohl na vzrůstu hladiny CRBN mRNA a odpovídajícího proteinu CRBN po přidání EPO k LEN podílet transkripční faktor Nrf2.

Tato práce byla podpořena grantem pro koncepční rozvoj výzkumné organizace (23736; ÚHK Praha), grantem TAČR 006 a grantem GAUK (Mgr.Bokorová).

Detection of CALR mutations in JAK2 V617F positive patients

Navrátilová J., Palová M., Szotkowski T., Hluší A., Indrák K., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Objectives: Since 2013, calreticulin (CALR) has been a well-known molecular marker present in Ph-negative myeloproliferative diseases, which improves the diagnostic process in approximately 20–30% of patients with primary myelofibrosis (PMF) and essential thrombocythemia (ET). Nangalia et al. (2013) and Klampfl et al. (2013) found, that mutations in CALR were mutually exclusive with JAK2 V617F in their cohorts of patients. Since then, however, several reports have described double mutant patients carrying JAK2 V617F and CALR mutations simultaneously.

Methods: The mutational status of the JAK2 gene was determined by allele-specific polymerase chain reaction (PCR) (Baxter et al., 2005) and CALR mutations were detected by PCR with fluorescently labelled primers (Chi et al., 2013). PCR products were loaded on ABI 3100 and fragmental analysis was performed. The CALR mutation types were confirmed by direct Sanger sequencing.

Results: We found the mutations in the CALR gene in 24/47 patients with ET, in 34/40 patients with PMF and in 6/11 patients with unspecified myeloproliferative neoplasms (uMPNs). In this selected Ph-negative cohort, six patients with double mutations were identified. Our patients were heterozygous for JAK2 V617F and their levels of the JAK2 V617F mutant allele burden ranged from 5.4 to 49 %. The predominant mutational type detected in our patients was deletion of 52 bp (type I); only one patient had insertion of 5 bp (type II). The last patient had a complex indel mutation manifested as deletion of 9 bp.

Conclusions: Our patients with double mutations had a prefibrotic stage of myelofibrosis and ET. Three were considered as uMPN because of missing histological confirmation of the disease. None of the six patients met the clinical criteria for polycythaemia vera (PV). At the time of diagnosis, they had normal levels of haemoglobin and significant thrombocytosis. Many studies have confirmed, that CALR-mutated patients have better outcomes and a lower risk of thrombotic complications than those with JAK2 V617F positive PV. A potentially distinct impact of various mutation types on the phenotype and prognosis is being discussed at the moment. Interestingly, we observed thromboembolic complications in two patients carrying atypical types of mutations. In summary, detection of CALR mutational status gives important information about the diagnosis and prognosis of patients with Ph-negative myeloproliferative diseases. But clinical impact and prognostic significance have not been evaluated reliably yet. Grant IGA_LF_2018_004

Možnosti metody FISH v diagnostice lymfomu z plášťových buněk

Žmolíková J., Starostka D., Lenčová N., Uvírová M., Heranová P., Skalková R., Šimová J., Měch R., Židlík V., Tichý M. (CGB laborator a.s., Ostrava; Oddělení klinické hematologie, Nsp Havířov, p.o., Havířov)

Úvod: Lymfom z plášťových buněk (MCL) patří do skupiny B-non-Hodgkinových lymfomů, který reprezentuje asi 4-6 % případů z celkového množství B-NHL. Klinicky se MCL jeví jako agresivní typ lymfomu, často s vysokou proliferací a aktivitou, s krátkým trváním remise a mediánem celkového přežití 4-5 let. Přestože se objevují sporadické případy indolentních forem MCL nevyžadujících řadu měsíců či dokonce let terapií, obvykle dochází k relapsům choroby a prognóza většiny pacientů s MCL zůstává i v dnešní době nepříznivá. Typickou a zásadní genovou změnou zodpovědnou za vznik klinicky manifestního MCL je translokace t(11;14)(q13;q32), jejímž výsledkem je přemístění genu pro cyklin D1 pod vliv zesilovače transkripce genu IgH, tím je spuštěna nadměrná exprese cyklinu D1 a následně nastává deregulace buněčného cyklu. Za další krok se považuje defekt v buněčné odpovědi na poškození DNA. U MCL je například častá delece genu kódujícího ATM kinázu v chromozomové oblasti 11q22–23. V případě delece ATM genu se výrazně zvyšuje genomická nestabilita a vzrůstá tak frekvence dalších abberací. Recentní studie odhalují řadu mutací (např. v genech NF-kappaB, mTOR, NOTCH1, SOX 11), které přispívají k rozvoji tohoto onemocnění a u kterých se zkoumá případná možnost terapeutického využití. Přestože pro vývoj MCL je nutný souběh několika genetických alterací, pro určení správné diagnózy zůstávají klíčové molekulárně cytogenetický průkaz translokace t(11;14)(q13;q32) v lymfomové populaci. Soubor: V letech 2012-2017 bylo na našem pracovišti metodou FISH vyšetřeno 31 pacientů s histologicky verifikovaným MCL (23 mužů a 8 žen) s věkovým mediánem 73 let. Na celkem 40 preparátech (kultivované buňky z aspirátu kostní dřeně, trepanobiopsický materiál, nekultivované buňky periferní krve a otiskové preparáty uzlin) byla provedena metoda FISH s použitím sondy Kreatch CCND1/IGH t(11;14) Fusion.

Výsledky: Kultivované buňky aspirátu KD: průkaz diagnostické translokace metodou FISH byl proveden 16x, v 10 případech byla prokázána translokace t(11;14)(q13;q32), v 6 případech byla tato translokace negativní – v těchto případech FISH na odpovídajících trepanobiopsických vzorcích: 1x translokace pozitivní, 5x negativní (3x nově dg. případy bez histologicky prokázанého postižení kostní dřeně, u 2 pacientů translokace negativní, histologie pozitivní – oba případy atypický imunofenotyp CD5-). Nekultivované buňky periferní krve – 2 pozitivní případy. Otiskové preparáty uzlin: u všech 11 případů se suspekci na MCL byla diagnostická translokace prokázána. 3 pacienti byli opakovaně vyšetřeni také po léčbě (před léčbou pozitivní) – bez průkazu translokace.

Závěr: Metodou FISH je možné t(11;14)(q13;q32) prokázat nejen standardně na kultivovaných buňkách kostní dřeně při cytogenetickém vyšetření, ale lze také použít materiál určený pro histologické vyšetření – parafinové řezy z trepanobiopsií, s výhodou lze použít otiskové preparáty uzlin či periferní krev pacientů. Je možné tak doplnit vyšetření i u pacientů, u kterých nebyla aspirace KD úspěšná či možná, dále také tam, kde translokace v aspirátu KD prokázána nebyla. Srovnáním výsledků vyšetření z různého materiálu jednoho pacienta je možné lépe individualizovat léčbu a stratifikovat pacienty do prognostických skupin - např. CD5- forma MCL bez prokázанé t(11;14)(q13;q32) v KD a s pozitivitou cyklinu D1 může vykazovat podle literatury indolentní průběh onemocnění bez nutnosti léčby spojený s nízkým rizikem dle MIPI (Mantle cell International Prognostic Index). Pro určení prognózy a volbu správné léčby je proto nutno vzít v úvahu všechny dostupné údaje: klinické, cytomorfologické, histologické, imunofenotypové a genetické.

Skříníng mutací v epigenetických regulátorech u pacientů s akutní myeloidní leukémií s mutací NPM1 pomocí sekvenování nové generace: první zkušenosti

Navrátílová J., Szotkowski T., Urbánková H., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Úvod: Akutní myeloidní leukémie (AML) je velmi heterogenní skupina onemocnění, jejichž prognóza je značnou měrou dána typem genetických změn v nádorových buňkách. AML s mutovaným genem pro nukleofosmin (NPM1), bez interní tandemové duplikace FLT3 genu, jsou podle aktuálních doporučení řazeny k prognosticky příznivým variantám onemocnění, nevyžadujícím provedení alogenní transplantace v první kompletní remisi. Významná část této geneticky definované skupiny nemocí však nemá příznivý průběh. To vede k hledání dalších mutací (v tzv. epigenetických regulátorech), které mohou vývoj AML ovlivňovat. Řada studií potvrdila jejich vliv na prognózu nemocných s nádorovými onemocněními krvinek. Mutace v DNMT3A, IDH1/2 či ASXL1 mají pro pacienty negativní prognostický význam a předpokládá se, že tento bude potvrzen i u nemocných s AML. To by významně změnilo současný pohled na členění nemocných do prognostických skupin a tím i jejich léčbu. Detekované mutace se také mohou stát terapeutickými cíli.

Cíle: Cílem práce bylo zavedení nové moderní a citlivější technologie pro simultánní detekci mutací ve vybraných genech, jejichž proteinové produkty se účastní epigenetické regulace transkripce. Metodika: Pro přípravu knihovny jsme zvolili panel pokrývající 48 exonů z 20 vybraných genů (Agilent). Metodika je založena na principu „target enrichment“ a technologii Haloplex HS využívající molekulární barkódy. Sekvence probíhala na přístroji MiSeq (Illumina). Vyhodnocení probíhalo v softwaru SureCall (Agilent).

Výsledky pilotní analýzy: Soubor tvořilo 13 pacientů s de novo AML a jeden s AML vzniklou vývojem z MDS, všichni s normálním karyotypem a mutací v NPM1. Jedenáct pacientů podstoupilo kurativní léčbu. Celkem u 10 z nich byla v průběhu jejich léčby provedena alogenní transplantace krvinek. Pouze u 2 pacientů ze souboru jsme nedetekovali žádné další mutace. U ostatních 12 pacientů byla pomocí sekvenování nové generace (NGS) detekována vždy minimálně jedna další mutace v genech pro epigenetické regulátory. U 7 pacientů jsme detekovali mutaci v DNMT3A R882, 4 pacienti měli mutaci v genu IDH2 R140Q, 2 IDH1 R132H a 2 pacienti měli mutaci v genu NRAS. U 4 pacientů bylo detekováno více mutací současně, nejčastěji se jednalo o kombinaci mutací v DNMT3A a IDH1/2. Podrobné výsledky s klinickými údaji budou uvedeny v prezentaci. Práce je podporována grantem IGA-LF-2018-004.

P7.

Modulační vliv ibrutinibu na expresi HLA-DR na leukemických buňkách u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií

Gabčová G., Mikulková Z., Turcsányi P., Papajík T., Manukyan G., Gajdoš P., Zehnalová Š., Šmotková Kraiczková V., Urbanová R., Ryznerová P., Krížová E. (Ústav imunologie, LF UP, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, LF UP a FN, Olomouc; Ústav molekulární biologie NAS RA, Yerevan – Arménie; Fakulta elektrotechniky a informatiky, Vysoká škola báňská - Technická univerzita, Ostrava)

ÚVOD: Ibrutinib představuje efektivní léčbu pro vysoce rizikové pacienty s chronickou lymfocytární leukémií (CLL). Dosud však nebyl popsán vliv ibrutinibu na expresi molekuly HLA-DR, která hraje klíčovou roli v nastolení účinné protinádorové imunitní odpovědi.

CÍL: Studium exprese HLA-DR na leukemických buňkách a T lymfocytech v periferní krvi u vysoce rizikových pacientů s CLL léčených ibrutinibem.

PACIENTI A METODY: Soubor tvořilo 16 vysoce rizikových CLL pacientů, u nichž byla získána periferní krev před léčbou, měsíc po nasazení ibrutinibu a po 12 měsících na léčbě ibrutinibem. Exprese HLA-DR na CLL buňkách a T lymfocytech byla studována pomocí 6-barevné průtokové cytometrie (BD FACSCanto II, Becton Dickinson), kvantitativní RT-PCR byla použita k měření mRNA exprese. Statistické testy byly provedeny pomocí softwaru GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc).

VÝSLEDKY: Během krátkodobého podání ibrutinibu došlo ke snížení exprese HLA-DR na CLL buňkách (P=0,038) a současně ke zvýšení absolutního počtu CLL buněk (P=0,003). Pokles exprese HLA-DR byl prokázán také kultivací CLL buněk s ibrutinibem na proteinové i mRNA úrovni in vitro (P<0,01). Ačkoliv krátkodobá léčba ibrutinibem neovlivnila expresi HLA-DR na T lymfocytech, došlo ke zvýšení absolutního počtu CD4+ (P=0,003) a CD8+ (P<0,001) buněk, současně

se zvýšením počtu CD4+ a CD8+ buněk exprimujících marker HLA-DR (P<0,001). U pacientů, u kterých doba sledování byla 12 měsíců, došlo ke zvýšení exprese HLA-DR na CLL buňkách po dlouhodobé terapii (P=0,016). Dlouhodobá terapie ibrutinibem vedla také ke zvýšení počtu CD4+ buněk exprimujících HLA-DR (P=0,047), společně s trendem ke zvýšeným absolutním počtům CD4+ a CD8+ buněk u většiny léčených pacientů.

ZÁVĚR: Studie prokázala dynamiku v imunomodulačním účinku ibrutinibu na expresi HLA-DR na leukemických buňkách i T-lymfocytech u CLL pacientů v průběhu léčby.

DEDIKACE: MZ ČR VES16-32339A, IGA_LF_2018_016

P8.

NGS analýza miRNA u extramedulárního relapsu mnohočetného myelomu

Gregorová J., Vrábek D., Radová L., Gablo N., Almáši M., Penka M., Bezděková R., Říhová L., Štok M., Krejčí M., Adam Z., Slabý O., Pour L., Minařík J. (Ústav patologické fyziologie, LF MU, Brno; Ceitec, LF MU, Brno; OKH, FN, Brno; IHOK, FN, Brno; Hematoonkologická klinika, FN, Olomouc)

Mnohočetný myelom (MM) je druhé nejčastější hematoonkologické onemocnění. Přežití pacientů se výrazně zlepšilo zavedením nových léků do klinické praxe, nicméně přežívání pacientů je negativně ovlivněno tzv. extramedulárním relapsem (EM), který je způsoben ztrátou závislosti plazmatických buněk na mikroprostředí kostní dřene a jejich vycestováním mimo kostní dřeň. Podstata a příčina tohoto procesu nejsou v současnosti objasněny. MikroRNA (miRNA) jsou krátké, nekódující molekuly RNA, které se podílejí na mnoha fyziologických, ale i patologických procesech. Jejich význam i u patogeneze mnohočetného myelomu byly prokázány několika studiemi. Předpokládáme, že se podílejí i na rozvoji EM.

Cíl: Analýza rozdílné exprese miRNA mezi skupinou MM pacientů a EM pacientů.

Pacienti a metody: Pomocí sekvenování nové generace (NGS) bylo analyzováno 39 vzorků plazmatických buněk z kostní dřene pacientů s MM při diagnóze a 9 vzorků plazmatických buněk z kostní dřene nemocných s EM.

Výsledky: Celkem bylo sekvenováno 2278 miRNA, ale do analýzy bylo vzato 658 miRNA, které byly exprimovány u všech vzorků a měly nejméně 20 čtení. Expresní data byla generována pomocí Chimera tool z fastq dat. Všechny sekvence byly mapovány pomocí miRBase v20. Další analýzy byly provedeny s použitím R/Bioconductor package. Po normalizaci exprese byl použit Bayesův postup. P hodnoty byly adjustovány s použitím Benjamini-Hochberg metody. Analýza prokázala, že existuje 10 miRNA (p<0,0005), které jsou statisticky signifikantně exprimovány u EM vs. MM pacientů – jsou to miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-30e-5p, miR-424-3p, miR-503-5p, miR-767-5p, miR-105-5p, miR-5695-5p, miR-450b-5p, miR-92b-3p. Tyto miRNA budou dále ověřeny metodou qPCR na větším souboru souboru pacientů s MM a EM.

Závěr: Naše pilotní studie ukázala, že existují rozdílné exprimované miRNA mezi skupinou pacientů s MM a EM.

Tato práce byla podpořena grantem MZ ČR AZV 17-29343A.

P9.

Profilování chemokininových receptorů u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií

Šmotková Kraiczková V., Petráčková A., Papajík T., Manukyan G., Fillerová R., Mikulková Z., Gabčová G., Urbanová R., Turcsányi P., Ryznerová P., Krížová L., Schneiderová P., Kriegová E. (Ústav imunologie, LF a FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, LF UP a FN, Olomouc)

Chemokiny a jejich receptory hrají klíčovou roli v patogenezi chronické lymfocytární leukémie (CLL). Nedávná práce (Ganghammer et al., Haematologica 2016) prokázala, že CLL pacienti se zvýšenou expresí CXCR3 a sníženou expresí CXCR4 na leukemických buňkách mají dobrou prognózu. Stále však není znám profil dalších chemokininových receptorů u CLL a jejich vztah k prognóze.

Cílem studie bylo charakterizovat genový expresní profil 16 kanonických a 4 atypických chemokininových receptorů v periferních mononukleárních buňkách u CLL pacientů (n=88) a zdravých jedinců (n=34) metodou vysokokapacitní kvantitativní RT-PCR (SmartChip, WaferGen Bio-systems). Dále byl studován proteinový profil kandidátních chemokininových receptorů (CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR7, CCR7 a CCR10) u neoplastických klonů v periferní krvi získané u CLL pacientů (n=39) metodou 6-barevné průtokové cytometrie (BD FACSCanto II).

Genové profilování prokázalo zvýšenou expresi 5 chemokininových receptorů (CCR7, CCR10, CXCR3, CXCR4, CXCR5) a sníženou expresi 9 receptorů (CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR8, CCRL2, CXCR1, CXCR2) u CLL pacientů ve srovnání se zdravými kontrolními jedinci. CD5high subpopulace byla typická zvýšenou expresí CXCR3 ($P < 0,001$), CXCR5 ($P = 0,007$), CCR10 ($P = 0,001$) ve srovnání s CD5low populací, naopak CD5low buňky byly typické vysokou expresí receptoru CXCR4 ($P < 0,001$). Kombinace CXCR3 (MFI) - CXCR4 (MFI) nejlépe diskriminovala mezi CD5high a CD5low subpopulacemi. Subanalýza potvrdila asociaci zvýšené exprese CXCR3 na CD5high a CD5low leukemických buňkách s lepší prognózou.

Naše studie popsala profil chemokininových receptorů u pacientů s CLL a dále potvrdila asociaci zvýšené exprese CXCR3 na leukemických buňkách s prognózou.

Grantová podpora: MZ ČR VES16-32339A, IGA_LF_2018_016

P10.

Využití hladiny exprese cyklinu D1 jako markeru pro sledování minimální reziduální nemoci u pacientů s lymfomem z buněk pláště

Kalinová M., Lokvenc M., Forsterová K., Klener P., Trněný M., Froňková E., Kodet R. (Ústav patologie a molekulární medicíny, 2.LF UK, FN Motol, Praha; 1. interní klinika, Klinika hematologie, 1.LF UK, VFN, Praha; Klinika dětské hematologie a onkologie, 2.LF UK, FN Motol, Praha)

Lymfom z buněk pláště (MCL) se vyznačuje charakteristickými morfologickými, imunofenotypovými a genetickými vlastnostmi. U pacientů s MCL nacházíme specifickou translokaci t(11;14)(q13;q32), kdy v důsledku translokace dochází ke spojení IgH enhanceru na chromosomu 14 s genem CCND1 na chromosomu 11 a tudíž k transkripční deregulaci a onkogenní aktivaci genu pro cyklin D1. Molekulární marker pro sledování minimální reziduální nemoci (MRN) se u pacientů s MCL používá detekce klonálních přestaveb genů pro imunoglobuliny těžkých řetězců (IgH) nebo pacient specifický zlom Ig/CCND1 vedoucí k translokaci t(11;14)(q13;q32).

Cílem studie bylo hodnotit, zda lze využití kvantitativní detekci exprese cyklinu D1 ke sledování MRN. Výsledky hladiny exprese cyklinu D1 jsme porovnávali se standardizovanou, mezinárodní, ale technologicky a časově náročnější metodou založenou na DNA kvantifikaci klonálních přestaveb IgH a/nebo pacient specifického zlomu Ig/CCND1. Celkem jsme vyšetřili a porovnávali 234 vzorků (174x kostní dřeň, 60x periferní krev) od 57 pacientů.

Korelace hladin transkriptu cyklinu D1 s DNA hladinami MRD IgH/nebo Ig/CCND1 nebo s průtokovou cytometrií byla statisticky významná pouze u vzorků s velmi vysokou nádorovou infiltrací. V DNA-MRD IgH/nebo Ig/CCND1 negativních vzorcích kostní dřeně jsme pozorovali významnou heterogenitu hladiny exprese cyklinu D1 (v rozmezí více než tří řádů, 2,4x10⁻²-1,2x10⁻⁵). Ve vzorcích periferní krve byla specifická využití exprese cyklinu D1 lepší z důvodu nižšího fyziologického pozadí.

V naší studii jsme ukázali, že hladiny exprese cyklinu D1 nejsou vhodným markerem pro monitorování MRN ve vzorcích kostní dřeně. Vzorky periferní krve se jeví jako vhodnější materiál pro sledování MRN pomocí kvantitativní detekce exprese cyklinu D1.

Výsledky naší studie jsou v rozporu s pracemi, které popisují vhodnost využití exprese cyklinu D1 pro monitorování MRD, tyto práce však jako referenci nepoužily korelaci se standardizovanou metodou založenou na DNA úrovni.

Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN MOTOL).

P11.

Stanovení mikropartikulí metodami průtokové cytometrie

Novák M., Slavík L. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Stanovení mikropartikulí je v současné době v popředí zájmu jak z pohledu diagnostického, tak v oblasti výzkumných aplikací. Jedná se o vezikuly tvořené fragmenty cytoplazmatické membrány o velikosti od 50 nm do více než 1 μ m, uvolňované z mateřských buněk do krevního oběhu, kde mohou strukturu na jejich povrchu ovlivňovat mezibuněčnou signalizaci, koagulaci či imunitní procesy. V současné době považujeme za prokázané, že fyziologicky nízké zastoupení mikropartikulí významně roste při událostech, narušujících homeostázu organismu (zánět, malignita, chirurgické výkony, atd.). Analýza

mikropartikulí je významně komplikována jejich velikostí, která bývá menší než vlnová délka světla, což znemožňuje jejich přímé pozorování. Prezentujeme stanovení mikropartikulí u hematologických malignit a mikropartikulí exprimujících tkáňový faktor (CD142) s využitím carboxyfluorescein diacetate succinimidyl esteru (CFDA-SE), který je rozkládán intracelulárními esterázami na svůj amin-reaktivní produkt (CFSE), emitující fluorescenci měřitelnou pomocí průtokové cytometrie.

P12.

Ponatinib v léčbě chronické myelocytové leukémie – první zkušenosti v klinické praxi

Slezáková K., Farkaš F., Hatalová A., Petříková L., Sninská Z., Mistrík M., Bátorová A.

(Klinika hematologie a transfuziologie, LFUK, SZU a UNB, Bratislava – SK)

Úvod.

Inhibitory tyrozinázy (TKI) umožňují velmi efektivní léčbu bcr/abl pozitivní chronické myelocytové leukémie (CML). Najdlhšie skúsenosti v klinickej praxi sú s imatinibom, ktorý zostáva naďalej zlatým štandardom v liečbe CML. U pacientov, ktorí sú rezistentní alebo netolerujú imatinib, máme možnosť zmeniť liečbu na TKI 2. generácie (nilotinib, dasatinib, bosutinib). Výber TKI závisí predovšetkým od fázy CML, typu mutácie v bcr/abl géne, veku a komorbidity pacienta. U pacientov s rezistenciou alebo intoleranciou TKI 2. generácie alebo vznikom mutácie T315I, alebo inej mutácie spôsobujúcej rezistenciu, máme k dispozícii ponatinib – veľmi účinný TKI 3. generácie.

Cieľ práce.

Cieľom nášho príspevku je retrospektívne spracovanie prvých klinických skúseností s použitím ponatinibu v liečbe CML na pracovisku Kliniky hematologie a transfuziologie v Univerzitnej nemocnici v Bratislave.

Súbor a metodika.

Súbor tvoria 5 pacienti (3 ženy, 2 muži) s CML, ktorých sme od 1.1.2015 do 31.3.2018 liečili ponatinibom. Medián veku v čase diagnózy bol 43 rokov (26 – 49 r.), v čase zahájenia liečby ponatinibom 55 rokov (35 – 60 r.). 1 pacientka bola v čase zahájenia liečby v pokročilej blastovej fáze, 2 pacienti začali liečbu ponatinibom v chronickej fáze, 1 pacient začal liečbu ponatinibom pre stratu cytogenetickej remisie a 1 pacientka pre stratu molekulovej remisie. Ponatinib bol liečbou 3. línie u 2 a 4. línie u 3 pacientov. 3 pacienti mali pred zahájením liečby dokázanú mutáciu v bcr/abl géne: 2 x F317L a 1 x E255K. Priemerná dávka ponatinibu pri zahájení liečby bola 33 mg denne. Liečba trvala v priemere 6,4 mesiacov (1 – 20 mesiacov). Prevenciu kyselinou acetylsalicylovou sme odporúčali u 4 pacientov. Liečebnú odpoveď sme hodnotili u 3 pacientov, ktorí boli liečení ponatinibom viac ako 3 mesiace.

Výsledky.

V čase analýzy súboru žijú 4 pacienti. Exitovala 1 pacientka v pokročilej blastovej fáze CML. Liečbu ponatinibom sme museli ukončiť po 2 mesiacoch u 1 pacienta s recidivujúcimi pleurálnymi výpotkami a bronchopneumóniou, ktorý zahájil liečbu ponatinibom po predchádzajúcej liečbe dasatinibom. V liečbe pokračujú 3 pacienti, ktorí sú v kompletnej hematologickej remisii: najdlhšie liečená pacientka (20 mesiacov) je v tzv. veľkej molekulovej remisii (MR 4,0) s dobrou toleranciou liečby; 35 ročná pacientka so vznikom mutácie F317L (počas liečby dasatinibom) a stratou hematologickej remisie dosiahla už po 4 týždňoch liečby ponatinibom kompletnú hematologickú remisiu (pozn.: v čase odovzdania abstraktu ešte nemáme výsledok molekulovej analýzy po 3 mesiacoch liečby); pacient s mutáciou E255K je zatiaľ na liečbe necelý mesiac. V našom súbore pacientov sme zatiaľ nepozorovali žiadne kardiovaskulárne ani trombotické komplikácie. Možné kožné prejavy toxicity liečby boli pozorované u 1 pacientky (suchá koža), u 1 pacientky sme v úvode liečby zaznamenali prechodne eleváciu hepatálnych enzýmov. Tzv. „flu like“ prejavy sa prechodne vyskytli u 3 pacientov v úvode liečby s dobrou odpoveďou na paracetamol. Zvýšenie tlaku krvi nad 140 / 90 mmHg sme pozorovali u 2 pacientiek – s nutnosťou antihypertenzívnej liečby s dobrým efektom u jednej pacientky.

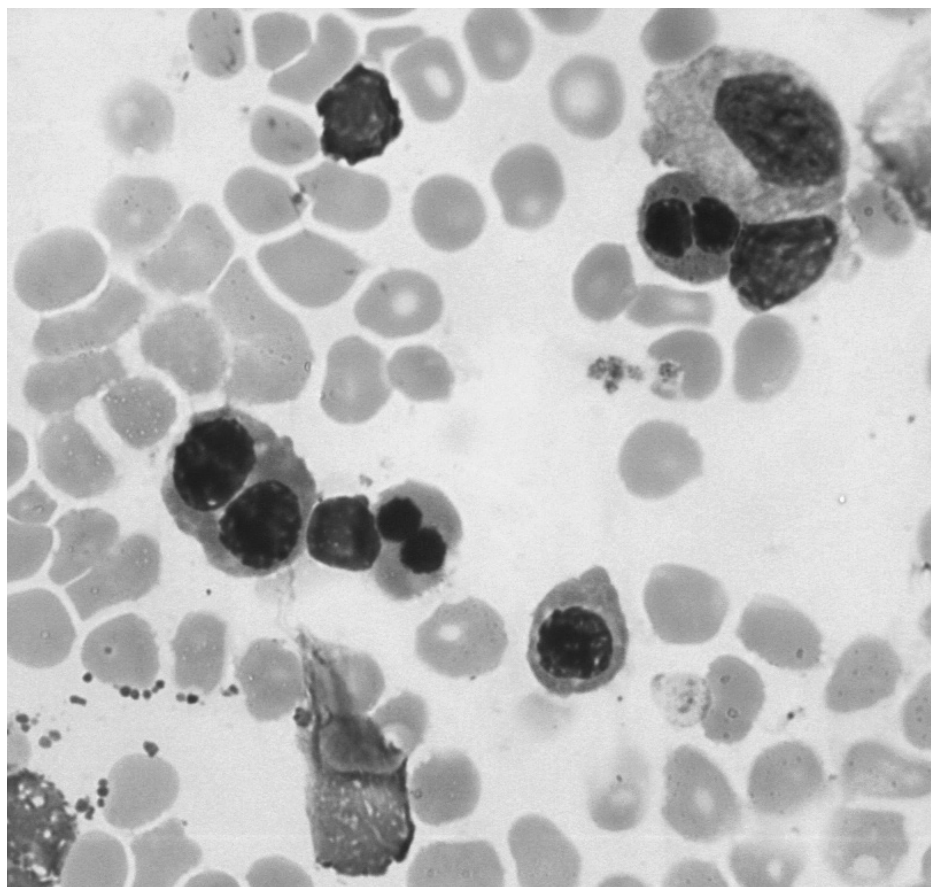
Záver.

Ponatinib predstavuje veľmi účinný spôsob liečby pre pacientov s CML, ktorí sú rezistentní na TKI 1. a 2. generácie. Má potenciál dosiahnuť liečebnú odpoveď aj u veľmi predliečených pacientov ako aj u pacientov s bcr/abl mutáciami. Na zváženie je u niektorých pacientov (najmä so zvýšeným rizikom možných kardiovaskulárnych alebo trombotických komplikácií) zahájenie liečby nižšími dávkami (15 – 30 mg denne) a prevencia kyselinou acetylsalicylovou. Nevyhnutný je častejší monitoring a ovplyvnenie rizikových faktorov (fajčenie, vysoký tlak krvi, hypercholesterolémia...).

P13.

Kongenitálna dyserythropoetická anémia typ II- kazuistika

Gbúrová K. (OLM POKH, UNLP, Košice – SK)



Kongenitálna dyserythropoetická anémia typ II (KDA II) je vzácné autozomálne recesívne ochorenie. Kauzálnym génom je SEC23B. Ochorenie je charakterizované inefektívnou erytropoézou a skráteným prežívaním erytrocytov. Najčastejšie sa diagnostikuje v detsve a včasnej dospelosti (median 18,2 rokov), klinicky sa prejavuje anémiou, hyperbilirubinémiou, hepatosplenomegáliou, cholelitiázou, neskôr preťažením železom so všetkými klinickými dôsledkami. Na rozdiel od sférocytózy (podobný klinický priebeh) počet retikulocytov nie je adekvátne zvýšený. V laboratórnej diagnostike sa využíva test s oksygeným AB sérom (Hamov test), ktorý spôsobuje hemolýzu (nízka senzitivita a špecifita), v aspiráte kostnej drene zisťujeme dvoj a viacjadrové erythroblasty (tvoria aspoň 10% erythroblastov). V diagnostike sa využíva aj analýza membránových proteínov pomocou SDS-PAGE (na Slovensku nedostupné) – zmenená mobilita prúžku 3 a 4.5. Ochorenie potvrdí genetická analýza SEC23B.

V práci popisujeme prípad súrodencov s rôznym priebehom ochorenia.

J.B. 1997: Vo veku 4 rokov vyšetrený na detskej hematológii pre výskyt sférocytózy u sestry, zistená cholelitiáza, bez anémie, odvtedy vedený ako vrodená sférocytóza. Na ďalšie vyšetrenie prišiel až o štyri roky, kedy sa po gastroenteritíde objavila mierna anémia, hyperbilirubinémia a ľahká splenomegalia. 16-ročný hospitalizovaný na detskej klinike za účelom trepanobiopsie KD (v tom čase už u sestry stanovená KDAII), vyšetrenie matka odmietla, na kontroly nechodil.

Následne až v 18 rokoch bol odoslaný z hematologickej ambulancie v spáde na našu ambulanciu. Vo vstupnom KO: Hb 11,9 g/dl, Rtc abs. 0,06-0,13 (v norme resp. mierne zvýšené), Le 2,77x10⁹/l, Ly 0,78x10⁹/l, v náteri PK sporadicky erythroblasty, anizocytóza a anizochrómia, bazofilné bodkovanie. ↑volný Hb 0,066 g/l, ↑bilirubín 74umol/l, LD v norme, haptoglobín nízky, ↑saturácia Fe 85%, feritín 75 ug/l. Hamov test je negatívny, pri kontrole pozitívny. V kostnej dreni 2 a občas 3-jadrové erythroblasty (tvoria cca 13-15% erythroblastov) s vakuolizovanou cytoplazmou, bazofilným bodkovaním, erythroblasty tvoria vyše 70% jadrových buniek. V imunofenotypovom náleze strata expresie CD36 u 50% erythroblastov. PCR analýza SEC23B génu potvrdzuje homozygotnú prítomnosť mutácie 325 G>A. Gény pre M. Gilbert a HFE bez mutácie. Pri sledovaní sú laboratórne parametre bez progresie, dochádza k progresii splenomegálie (21 cm) s incipientným útlakom na obličku. Pacientovi navrhnutá splenektómia a cholecystektómia, zatiaľ nerealizovaná.

M.B.1994: Po narodení novorodenecká žltáčka bez AB/Rh inkompatibility. Od veku 3 mesiacov liečená pre ťažkú anémiu, pre ktorú substituovaná erythrocytmi, v rannom detstve zistená splenomegália a cholelitiáza, opakovane hospitalizovaná pre cholelitiádu, podávané transfúzie. Od 7 rokov vedená ako sférocytóza. Na plánované kontroly nechodila, vždy len pri ťažkostiach, ktoré boli vekom už zriedkavejšie. Konečná diagnóza stanovená na základe trepanobiopsie v 17 rokoch. Na našu ambulanciu prišla 22-r., keď bol vyšetrovaný brat. U nás KO: Hb 9,6 g/dl, Rtc-A 0,07x10¹²/l, NRBC 1,2%, bil. 61umol/l, sat.Fe53%, feritín 135ug/l, LD v norme, Hp nízky. Doplnené genetické vyšetrenie potvrdilo mutáciu SEC23B, prítomná je heterozygotná forma M. Gilbert, gény HFE negatívne. Pri poslednom CT vyšetrení veľkosť sleziny 19cm, bez hyperdenzných konkrémentov v cholecyste, bez zápalu. Odporúčaná cholecystektómia a splenektómia, zatiaľ nerealizovaná.

Záver: kazuistika dokumentuje súčasné možnosti diagnostiky KDAII na Slovensku, jej limity, variabilný priebeh ochorenia pri rovnakom genetickom podklade a potrebu zachovania kontinuity v starostlivosti o chorých.

P14.

Mutace genů ASXL1, EZH2, IDH1, IDH2 a SRSF2 u pacientů s myelofibrózou – pilotní analýza jednoho centra

Navrátilová J., Palová M., Sztokowski T., Hluší A., Urbánková H., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Úvod: JAK2, kalretikulín (CALR) a MPL jsou tři základní geny, jejichž mutace mají přímý podíl na vzniku Ph-negativní myeloproliferativní nemoci (MPN). Jedná se o „driver“ mutace přítomné u 85 % pacientů s primární myelofibrózou (PMF). V současnosti je zkoumán výskyt a význam rekurentních mutací v genech DNMT3A, ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/2, SRSF2, SF3B1, které představují další marker klonality. Recentní studie identifikovaly u pacientů s myelofibrózou subklonální mutace v genech ASXL1, SRSF2, EZH2 a IDH1/2 asociované s horší prognózou a vyšším rizikem leukemické transformace. Jejich využití pro klinickou praxi je však zatím komplikované nízkou frekvencí výskytu, špatnou korelací vztahu mezi genotypem a fenotypem a v neposlední řadě také ne zcela jasným klinickým významem.

Cíle: Cílem práce byla detekce mutací ve vybraných genech u nemocných s myelofibrózou pomocí citlivé moderní technologie sekvenování nové generace.

Metodika: Pro přípravu knihovny jsme zvolili panel pokrývající 48 exonů z 20 vybraných genů (Agilent). Metodika je založena na principu „target enrichment“ a technologii Haloplex HS využívající molekulární barkódy. Sekvence probíhala na přístroji MiSeq (Illumina). Vyhodnocení probíhало v softwaru SureCall (Agilent).

Výsledky pilotní analýzy: Analyzovali jsme výskyt mutací v 5 vybraných genech u skupiny 63 nemocných s myelofibrózou ve vzorcích z doby diagnózy onemocnění. V našem souboru pacientů jsme nezachytili žádné mutace v genech IDH1, IDH2 ani SRSF2. U jedné pacientky jsme detekovali nepopsanou missence mutaci v genu EZH2. Pět pacientů mělo v genu ASXL1 čtyři různé bodové změny popisované jako jednonukleotidové varianty (SNP). U dalších 11 pacientů jsme zachytili 4 typy mutací inzerčních, 2 deleční a 2 nonsense spojené se vznikem stop kodonu. Zároveň jsme ověřili přítomnost diagnostických mutací v genech JAK2 a MPL.

Práce je podporována grantem IGA-LF-2018-004.

P15.

Vliv závažných přidružených onemocnění a polypragmázie na celkové přežití nemocných s chronickou lymfocytární leukémií: analýza neselektované populace z okresu Hradec Králové

Smolej L., Vodárek P., Žeberová D., Šimkovič M., Motyčková M., Belada D., Žák P.

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

Úvod: Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je onemocnění s extrémně variabilním klinickým průběhem. V průběhu posledních 15 let byly velmi dobře definovány biologické vlastnosti CLL s dopadem na prognózu, avšak je málo údajů o tom, jaký mají přidružená onemocnění a komorbidity vliv na celkové přežití. Důležité je, že většina studií na toto téma zkoumala selektované kohorty nemocných ze sekundárních nebo terciárních center, což je spojeno s významným selekčním bias.

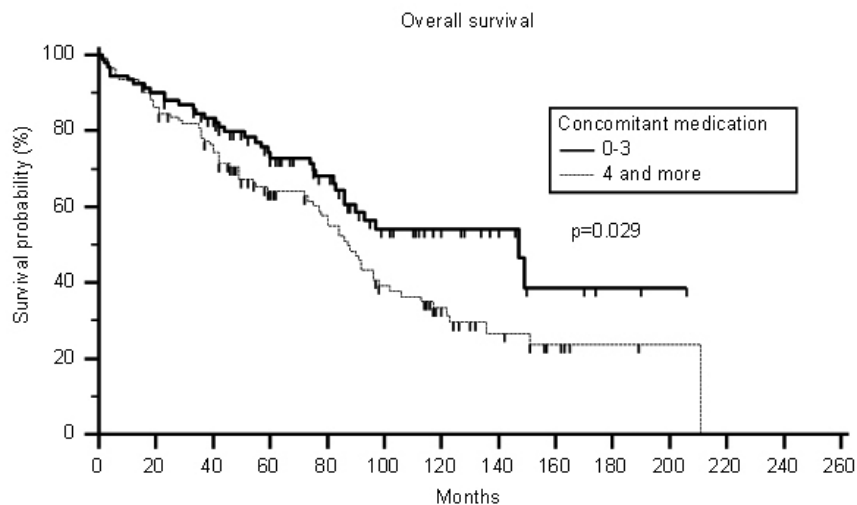
Cíle: zhodnotit vliv komorbidit a souběžné medikace na celkové přežití (OS) u neselektované populace nemocných s CLL

Nemocní a metody: Provedli jsme retrospektivní analýzu 202 konsekutivních nemocných (medián věku 69 let, 60 % mužů, pokročilá stadia dle Rai 11 %), kteří byli diagnostikováni s CLL dle NCI-WG/IWCLL kritérií mezi 1.1.1999 a 31.12.2013 v okrese Hradec Králové (populace 162,820 k prosinci 2011). Studovali jsme vliv čtyř hlavních komorbidit (ischemická choroba srdeční [ICHS], diabetes mellitus [DM] na terapii, chronická obstrukční plicní nemoc [CHOPN] a druhá primární malignita [SPM]), stejně jako vliv konkomitanti medikace.

Výsledky: Medián sledování byl 81 měsíců (rozmezí 15-206). Medián OS celé kohorty činil 92 měsíců s 5-letým přežitím v 68 % a 10-letým přežitím v 40 %. Podíl nemocných s ICHS, DM, CHOPN a SPM byl 18, 15, 9 a 13 %. V univariální analýze velkých komorbidit měli nemocní bez ICHS významně delší OS (medián 97 vs. 59 měs., $p = 0,0014$, HR 0,486, 95% IS 0,276-0,860). Pomocí ROC (receiver operator curve) analýzy jsme jako optimální hranici pro rozdělení počtu užívané doprovodné medikace na vysokou a nízkou s vlivem na OS určili ≥ 4 konkomitanti léky ($p = 0,029$, Obr. 1). Do multivariální Coxovy regresní analýzy jsme zahrnuli následující veličiny, které prokázaly význam v univariální analýze: Raiovo modifikované riziko, věk, ICHS, počet souběžných léků a rok diagnózy (1999-2005 vs. 2006-2013). Významnými prediktory OS v multivariální analýze byly Raiovo střední či vyšší riziko, věk ≥ 70 let a rok diagnózy CLL 2006-2013 (vše $p < 0,0001$); byl přítomen trend ke kratšímu OS u nemocných s ICHS ($p = 0,059$).

Závěr: naše výsledky ukazují, že ischemická choroba srdeční a počet konkomitanti léků představují významné faktory pro kratší přežití nemocných s CLL. Proto by u nemocných s CLL měla být věnována velká pozornost dobré kontrole přidružených onemocnění, zejména u nemocných se stabilní CLL. Další výzkum v této oblasti je velmi vhodný.

Podpořeno programem PROGRES Q40/08 a RVO MZ ČR (FNHK, 00179906).



P16.

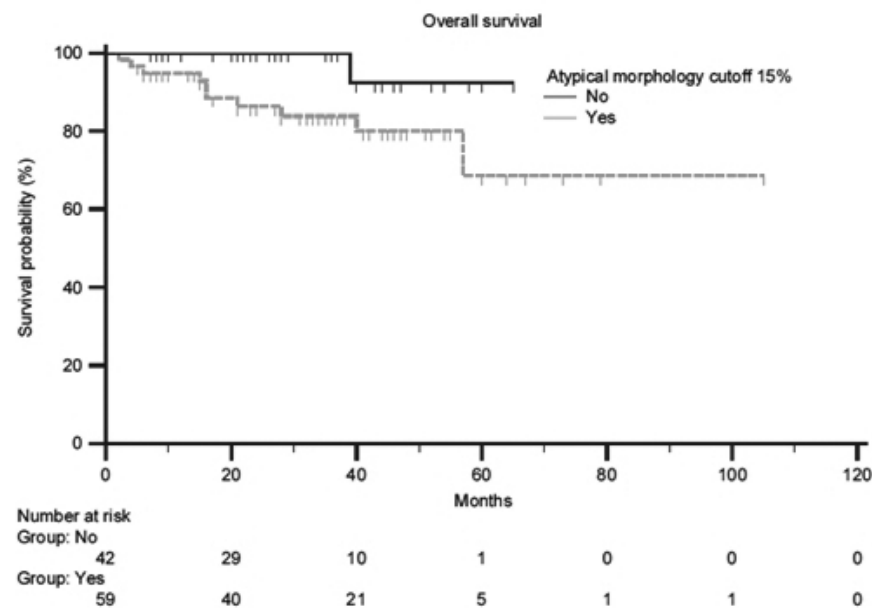
Prognostický vliv atypické morfologie a jaderných stínů u nemocných s chronickou lymfocytární leukémií

Smolej L., Fučíková N., Daňová V., Dyrterová A., Zilvarová E., Kopecká I., Fátorová I., Belada D., Žák P.

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

Úvod: Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je charakterizována lymfocytózou v obvodové krvi. Kromě malých či středně velkých zralých lymfocytů je též přítomno různé výrazné zastoupení atypických elementů jako např. prolymfocyty či lymfocyty se zářezem v jádře. Pro CLL jsou též typické tzv. jaderné stíny, což jsou jádra rozpadlých leukemických lymfocytů, které vznikají v důsledku poruchy cytoskeletu při zhotovení nátěru na sklíčko. Dosud je velmi málo znalostí o možném prognostickém významu atypické morfologie a jaderných stínů u CLL. Cíle práce: Posoudit význam atypické morfologie a jaderných stínů u nemocných s neléčenou chronickou lymfocytární leukémií (CLL). Nemocní a metody: Provedli jsme mikroskopický rozpočet leukocytů a rozřazení lymfocytů na typické a atypické u 101 nemocných s dosud neléčenou CLL diagnostikovanou dle IWCLL kritérií (medián věku 66 let, 69 % mužů, pokročilá klinická stadia u 18 %, nemutované IGHV geny v 50 %, del 17p u 6 %). Medián sledování byl 32,5 měsíce. Pro atypickou CLL (aCLL) byla dle literatury nastavena hranice 15 % atypických elementů (FAB klasifikace, Bennett et al., 1989), pro pozitivitu jaderných stínů (JS) pak hranice 30 % (Nowakowski et al., 2007). Výsledky: Atypická CLL byla zjištěna u 59 % nemocných, medián atypických lymfocytů byl 17 % (rozmezí 2-61). U 33 % nemocných byly zvýšené jaderné stíny, medián JS činil 22 % (rozmezí 0-68). Nemocní diagnostikovaní v časném klinickém stadiu Rai 0 měli významně vyšší počet jaderných stínů (medián 28 vs 19 %, $p = 0,0389$). U nemocných s aCLL bylo významně kratší celkové přežití (mediány nedosaženy, $p = 0,0397$, HR=6,46; 95 % IS 1,93-21,67, Obr. 1). Nemocní s nižším počtem jaderných stínů měli trend ke kratšímu celkovému přežití (mediány nedosaženy, $p = 0,16$; HR=2,8; 95 % IS 0,84-9,5). Nebyla prokázána významná spojitost aCLL ani jaderných stínů s mutačním stavem IGHV. Nebyl též zjištěn významný vztah mezi aCLL či JS a obdobím do léčby 1. linie. Závěr: Výsledky práce podporují hypotézu o nepříznivém prognostickém vlivu atypické morfologie a nižšího zastoupení jaderných stínů u chronické lymfocytární leukémie. Další výzkum v této oblasti na větším počtu nemocných s delším sledováním se jeví jako velmi vhodný.

Podpořeno programem PROGRES Q40/08 a RVO MZ ČR (FNHK, 00179906).



Výběh vhodného dárce HSC dle HLA-DPB1 lokusu a KIR genů

Macnerová R., Nazarová S., Šiffnerová V., Vraná M. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha)

Základním požadavkem úspěšnosti transplantace hematopoetických kmenových buněk (HSCT) je shoda v HLA systému. Standardně se před HSCT provádí genotypizace v lokusech HLA-A, -B, -C, -DRB1 a -DQB1, v nichž je vyžadována co největší shoda mezi dárce a příjemcem. Další z možností testování před HSCT je typizace lokusu HLA-DPB1 a testování KIR genů.

Mezi lokusem HLA-DPB1 a ostatními lokusy HLA II. třídy (-DRB1 a -DQB1) existuje slabá vazebná nerovnováha, díky které se v tomto lokusu u jinak shodných dárců často vyskytují rozdíly. Na základě publikovaných výsledků o jejich vlivu na potransplantační stav pacienta se provádí predikce imunogenicity, při níž jsou neshody rozděleny na tolerovatelné (permisivní) a netolerovatelné (nepermisivní).

V letech 2016-2017 byla typizace DPB1 lokusu a predikce imunogenicity provedena celkem u 240 dárců. Z tohoto počtu bylo 182 (75,8%) permisivních neshod a 58 (24,2%) neshod nepermisivních. KIR geny a jimi kódované receptory na povrchu NK buněk – ligandy pro molekuly HLA - jsou jedním z klíčových prvků vrozené imunity člověka. Dle výsledků klinických studií je známo, že výsledek transplantace krvetvorných buněk je kromě stupně HLA shody ovlivněn i repertoárem KIR genů dárce a vzájemnou interakcí KIR/HLA dárce a příjemce. KIR haplotypy jsou dle přítomných genů rozděleny na skupinu A a skupinu B. Přítomnost specifických KIR B haplotypů u dárců vede dle některých studií k prevenci relapsu a zlepšení přežití u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML). Dle přítomnosti specifických KIR B haplotypů rozdělujeme dárce do tří skupin: na „neutrální“, „lepší“ a „nejlepší“ na základě popisované ochrany před relapsem u transplantovaných AML pacientů. Od roku 2016 provádíme testování KIR genů u shodných a haploidentických příbuzných dárců a u nepříbuzných dárců. Výsledky testování jsou uvedeny v tabulce:

KIR kategorie	Počet dárců	Procenta
Neutrální	243	70,03
Lepší	67	19,31
Nejlepší	37	10,66
Celkem	347	

Bylo ověřeno, že mezi příbuznými i v registrech nepříbuzných dárců HSC lze nalézt dárce s vysokou shodou ve standardně testovaných lokusech a navíc s permisivním HLA DPB1 genotypem a tato predikce se stala součástí standardního výběru nejvhodnějšího dárce pro naše pacienty.

V registrech nepříbuzných dárců HSC lze nalézt vhodné dárce pro naše AML pacienty s „lepšími“ a „nejlepšími“ KIR genotypy. KIR genotypizace byla zavedena jako další parametr pro vyhledání vhodných nepříbuzných a také haploidentických HSC dárců pro AML pacienty.

P18.**Molekulární cytogenetická analýza u MM/PCL pacientů s cirkulujícími plazmatickými buňkami**

Balcárková J., Mlynářčiková M., Žmolíková J., Minařík J., Píka T., Krhovská P., Urbánková H., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc; CGB laboratoř, Ostrava)

Společným znakem primární plazmocelulární leukemie (pPCL) a mnohočetného myelomu (MM) s cirkulujícími plazmatickými buňkami (CPB) je expanze plazmatických buněk mimo mikroprostředí kostní dřeně. Přítomnost CPB je považována za známku vysoké proliferativní aktivity onemocnění a je spojena s nepříznivou prognózou. Diagnóza pPCL je založena na absolutním počtu plazmatických buněk (PB) ($\geq 2 \times 10^9/l$) a/nebo na procentuálním ($\geq 20\%$) zastoupení PB v periferní krvi. Cytogenetické studie ukazují, že CPB jsou charakterizovány celou řadou cytogenetických změn.

U většiny pacientů s CPB je zjištěna nonhyperdiploidie spojená s vyšším výskytem IgH translokací zejména t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16;q32) a t(14;16)(q32;q23). Mezi další časté genetické změny patří delece 13q/monosomie 13, delece 17p a abnormality chromosomu 1 (zmnožení 1q21/delece 1p21).

Cílem této práce je analyzovat cytogenetické změny ve skupině 7 pacientů (3 pPCL a 4 MM s CPB) pomocí metody array komparativní genomové hybridizace (arrayCGH) a metody FICTION (fluorescenční imunofenotypizace a interfázni fluorescenční in situ hybridizace) s komerčně dostupnými sondami pro RB1/c15, IgH, 1q21/1p32, určit frekvenci jednotlivých cytogenetických změn a u pacientů vyšetřených z kostní dřeně a CPB studovat klonální vývoj.

Translokaci IgH genu jsme prokázali u 4/7 pacientů- u 3 pacientů se jednalo o t(11;14) a u 1 o t(4;14). U jedné pacientky byla zjištěna přítomnost der(4)t(4;7)(p16;q?)ins(4;7)(p16;q?), který zahrnoval abnormalitu genů FGFR3/MMSET. Zmnožení oblasti 1q21 bylo prokázáno u 5/7 pacientů. Delece RB1 genu byla zjištěna jen u 1 pacienta a delece genu TP53 u 2 pacientů.

Pomocí arrayCGH byly zjištěny delece 1p, 6q, 13q, 16q zmnožení 1q a abnormality chromosomu X (monosomie/ zmnožení Xq). Chromotripse chromosomu 8 a hyperdiploidie spojená s trisomiemi chromosomů 3, 5, 7, 9, 11, 15 a 19 byly zjištěny u 2 dalších pacientů. Abnormality zjištěné v kostní dřeni byly u 3 pacientů shodné s abnormalitami v CPB a u jednoho pacienta se lišily.

V našem souboru jsme zjistili chromosomální abnormality u všech 7 pacientů s PCL a MM s CPB. Naše výsledky ukazují, že genetické abnormality u pPCL a MM s CPB jsou shodné jako u MM ale jsou více komplexní.

Tato práce je podporována grantem IGA_LF_2018_004.

P19.**Flowcytometrická analýza fenotypu plazmatických buněk u extramedulárního relapsu pacientů s mnohočetným myelomem**

Stejskalová M., Bezděková R., Všianská P., Šváchová H., Suská R., Pour L., Penka M., Ševčíková S., Říhová L. (OKH, FN, Brno; Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc; Interní hematologická a onkologická klinika, FN a LF MU, Brno; Babáková myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, LF MU, Brno)

Východiska: Mnohočetný myelom (MM) je druhá nejčastější hematologická malignita s charakteristickou přítomností klonálních plazmatických buněk (PC). V posledních letech byla zjištěna zvýšená incidence extramedulárních relapsů (EMR) u pacientů s MM. Jedná se o agresivní formu MM se špatnou prognózou, obvykle rezistentní na léčbu. Nalezení markeru či specifického fenotypu PC může napomoci predikovat riziko vzniku EMR, a následně zintenzivnit léčebné strategie s cílem prodloužit život pacientů.

Materiál a metody: Celkové bylo analyzováno 32 pacientů s potvrzeným EMR. Paralelní analýza PC z kostní dřeně (KD) (n=32) a tumoru (TU) (n=22) byla provedena pomocí polychromatické průtokové cytometrie. V rámci CD38+CD138+ PC byla analyzována povrchová exprese znaků CD19, CD20, CD27, CD28, CD44, CD56, CD81, CD117 a cytoplazmatická exprese nestinu (Ne).

Výsledky: PC byly identifikovány ve všech analyzovaných vzorcích, infiltrace byla významně vyšší v TU než v KD [medián 60,8% (rozsah 0,0-94,3) vs. 1,5% (0,01-93,9); $p < 0.001$]. Většina vzorků KD obsahovala směs normálních a abnormálních PC (dle exprese CD19 a CD56), zatímco vzorky TU byly infiltrovány pouze abnormálními CD19- PC. V rámci KD pak byla zjištěna statisticky vyšší exprese CD19 [1,7% (0,0-94,3) vs. 0,0% (0,0-0,5); $p < 0,001$] a CD27 [23,8% (0,5-95,4) vs. 1,8% (0,0-98,6); $p = 0.015$] než v TU, zatímco CD56 byl exprimován v KD méně než v TU [79,4% (0,4-100,0) vs. 97,8% (0,0-100,0); $p < 0,05$]. Znaky CD20, CD28, CD81 a CD117 měly v obou typech vzorků nízký medián exprese i míru pozitivitu. Naopak CD44 byl silně exprimován, a to v KD [medián 92,3% (0,0-99,8); pozitivita 92,9% (13/14)] i v TU [98,0% (0,0-99,8); 84,6% (12/13)]. Exprese nestinu byla také pro oba typy vzorků vysoká – medián 71,9% (1,5-98,9) a pozitivita 76,9% (10/13) v KD vs. medián 61,2% (0,1-100,0) s pozitivitou 77,8% (7/9) v TU. V 1 případě byl identifikován nestin pozitivní subklon v rámci populace PC v KD (subpopulace CD56+Ne+ vs. CD56+ +Ne-), kdy v rámci tumoru došlo propagaci právě Ne+ subklonu. Bylo zjištěno, že u EMR mají PC v KD i v TU obdobný fenotypový profil, avšak při porovnání EMR s MM bez extramedulárního postižení byl zjištěn významný rozdíl v expresi CD44 a nestinu, které jsou u „intramedulárního“ MM sniženy exprimovány [CD44: medián 17,2% a pozitivita 48%; nestin: 24,1% a 52%].

Závěr: Vysoká exprese znaku CD44 na PC v kostní dřeni spolu s vysokou cytoplazmatickou expresí nestinu může identifikovat pacienty s rizikem vzniku extramedulárního mnohočetného myelomu.

Práce byla podpořena projekty MZČR 17-30089A, 17-29343A, RVO (FNBr, 65269705) a z prostředků účelové podpory na specifickém vysokoškolském výzkumu MUNI/A/0968/2017.

P20.

Mobilizace pomocí cytarabinu – účinná alternativa k cyklofosfamidů u pacientů s mnohočetným myelomem

Adamusová L., Jelínek T., Hájek R., Kořístek Z. (Klinika hematologie, FN, Ostrava)

Úvod: U pacientů s mnohočetným myelomem (MM) indikovaných k vysokodávkované chemoterapii s autologní transplantací krvetvorných buněk (HC, hematopoietic cells) je v současnosti stále zlatým standardem pro mobilizaci HC střední dávka cyklofosfamidu (1-5 g/m²) následovaná podáváním růstového faktoru pro granulocyty (G-CSF). S ohledem na léky používané v indukční léčbě je riziko selhání mobilizace u pacientů s MM nízké. Na druhé straně se zvýšil věk pacientů a v současnosti je cílem získat takový počet HC, aby bylo možné provést nejméně dvě transplantace. Cílem je proto dosáhnout vyšší účinnosti mobilizace s masivnějším vyplavováním HC do periferní krve. Mobilizace středními dávkami cytarabinu (AraC) by měla mít vyšší mobilizační efektivitu než cyklofosfamid, bez zvýšení zátěže pro pacienty a bez významného nárůstu ekonomických nákladů (Giebel 2013).

Soubor a metody: Od 11/2015 do 8/2017 byl mobilizační režim AraC použit u 40 pacientů léčených pro MM (medián věku 62 let, 37-71; 27 mužů, 13 žen). AraC byl aplikován v dávce 400/mg/m²/12h den 1 a 2 s následným podáváním G-CSF v dávce 10 µg/kg/den ode dne 5 až do ukončení sběru HC. Sledovali jsme krevní obraz, den zahájení leukafézy, koncentraci CD34+ buněk v krvi a kvalitu produktu aferézy (koncentrace leukocytů, počet CD34+ buněk a CFU-GM). Základním cílem aferéz bylo získat alespoň 10x10⁶ CD34+ buněk/kg hmotnosti pacienta, což umožní provedení nejméně tří transplantací při započítání záložního štěpu.

Výsledky: Aferézy byly zahájeny nejčastěji den 13 (den 12 - 14) a prováděny pomocí systému Spectra Optia (Terumo BCT, USA). Medián koncentrace CD34+ buněk v periferní krvi v den aferézy byl 368/µl (38-1480). Cílové množství CD34+ buněk (>10x10⁶/kg) bylo získáno první aferézou u 83% pacientů a bylo v průměru provedeno 1,2 aferézy/pacienta s výtěžností 27 (2-82) x10⁶ CD34+/kg (medián, rozsah). Medián počtu získaných CFU-GM byl 404x10⁴/kg (9-2382) a počty odebraných CFU-GM a CD34+ buněk vykazovaly silnou lineární korelaci (r=0,827; Spearman). Mobilizace pomocí AraC byla velmi dobře tolerována. Jediným významnějším nežádoucím účinkem byla protrahovaná trombocytopenie, kdy transfuze trombocytů byla potřebná u 48% pacientů. Krvácivé komplikace jsme nezaznamenali a zavádění žilního vstupu pro aferézy rovněž nebylo provázeno vyšší tendencí ke krvácení.

Závěr: Mobilizace pomocí středních dávek AraC je velmi účinná, dobře tolerovaná, bezpečná a zahájení aferéz je dobře predikovatelné. Uzavíráme, že AraC je vhodnou alternativou mobilizace pomocí cyklofosfamidu u pacientů s MM, u kterých je předpoklad či plán zařadit do léčby dvě a více vysokodávkovaných chemoterapií s následnou autologní transplantací HC.

P21.

Engraftment syndrom: Vzácná příčina akutního respiračního selhání po alogenní transplantaci kostní dřene – kazuistika

Karvunidis T., Raděj J., Šrámek J., Karas M., Matějovič M. (JIP, I. interní klinika, FN a LF UK, Plzeň; Hematologicko-onkologické oddělení, FN, Plzeň)

Alogenní transplantace kostní dřene je potenciálně kurabilní léčbou pro celou řadu hematologických onemocnění. Komplikace peritransplantačního období ve formě plicního postižení jsou velmi časté. Jednou z raritních je i engraftment syndrom. Rozvíjí se v období reparace krvetvorby resp. neutrofilů a pravděpodobným patofyziologickým mechanismem je cytokiny mediovaná zvýšení kapilární permeability. Klinickými projevy (horečka, dušnost, hypoxie, difúzní plicní infiltráty, respirační insuficience až selhání) může imitovat sepsi s primárním postižením plic až charakteru ARDS. Laboratorní markery systémové inflamace nejsou rovněž diskriminující.

Prezentovaná kazuistika popisuje případ nemocné s akutní myeloidní leukémií po nepříbuzenské alogenní transplantaci kostní dřene s akutním respiračním selháním charakteru primárního ARDS, jehož příčinou byl nejspíše engraftment syndrom.

P22.

Myelodysplastický syndróm a preťaženie srdca železom

Nosal M. (Hematologická ambulancia, Nemocnica Staré Město, Bratislava – SK)

Úvod: Vysoký výskyt kardiomyopatie u pacientov s hemosiderózou, najmä po transfúznom preťažení železom, silne naznačuje, že akumulácia železa v srdci hrá hlavnú úlohu zlyhania srdca. Predpokladá sa, že železom sprostredkovaná tvorba škodlivých reaktívnych radikálov kyslíka je najdôležitejším patogénnym mechanizmom, ktorý určuje poškodenie kardiomyocytov, zahŕňajúce apoptózu, fibrózu a nakoniec srdcovú dysfunkciu. Ďalšie mechanizmy zahŕňajúce subcelulárne orgány a zápalové mediátory sú dôležitými faktormi rozvoja tejto choroby. Navyše prebytok železa môže zosilniť kardiotoxický účinok iných látok alebo procesov. Nakoniec subcelulárna nesprávna distribúcia železa v kardiomyocytoch môže predstavovať ďalšiu cestu vedúcu k poškodeniu srdca. Nedávne pokroky v zobrazovacích technikách a vývoj chelátorov pozoruhodne zlepšili srdcovú detekciu preťaženia železom a liečbu. Priame meranie srdcového železa pomocou T2* zobrazovania magnetickou rezonanciou namiesto nepriamych metód, ako je meranie hladín sérového feritínu alebo koncentrácie železa v pečeni, prispelo ku skoršiemu rozpoznaníu preťaženia myokardu železom a prevencii srdcovej toxicity. Kardiálna sideróza sa vyskytuje pri všetkých transfúzných anémiách, ale relatívne riziko závisí od základného chorobného stavu, transfúzneho preťaženia a anamnézy chelácie. Všetky tri dostupné chelátory železa (deferroxamine-DFO, deferiprone, deferasirox) sa môžu použiť na odstránenie srdcového železa, ale každý má jedinečné fyzikálne vlastnosti, ktoré ovplyvňujú jeho účinnosť v srdci. Viac prospektívnych štúdií je potrebných na posúdenie účinkov jednorázovej alebo kombinovanej liečby chelácie na hladiny srdcového železa a funkcie srdca.

Cieľ práce: poukázať na význam chelácie pri potransfúznom preťažení železom s postihnutím srdca.

Kazuistika: 92 ročná pacientka s dg.MDS 5q- sy.; Počet transfúzií 124 od 7/2010 – 5/2016; Metabolizmus železa: Feritín 2820.80 pmol/l, (> 3000) s.TrfR 0.13, Feritínový Index: 0.04, sat. Trf. 101.07%, Hepcidin - 25 ELISA: 60.30 ug/l (1.0-40) riedená vzorka, EPO: > 750.0 IU/l (4.3- 29.0), CRP a IL-6 v norme; Liečba:Lenalidomid – neznašanlivosť, pre stratu chuti do jedla odmietla liek užívať, Deferasirox vhodobu pre hyperferitinémiu. Pacientka zomrela v VIII/2016 na chronické zlyhanie srdca s preťažením železa.

Závěr: Chelatačná terapia železa by mala byť prispôsobená individuálnym potrebám pacienta a požiadavkám životného štýlu.

Referencie:

1. E. Gammella et al. , Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2015, Article ID 230182, 10 ; 2. P. Valent et al. Eur J Clin Invest 2008; 38 (3): 143–149; 3. John C. Wood, Blood Rev. 2008 December ; 22(Suppl 2): S14–S21. doi:10.1016/S0268-960X(08)70004-3.

P23.

Léčba náhlého jednostranného vestibulárního selhání hemorheoferézou

Bláha M., Dršata J., Lánská M., Janouch M., Mejzlík J., Filip S., Chrobok V., Žák P. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové; Klinika otorinolaryngologie a chirurgie krku, LF a FN, Hradec Králové; Klinika onkologie a radioterapie, LF a FN, Hradec Králové)

Úvod: Náhlá jednostranná vestibulopatie (Acute unilateral vestibulopathy - AUVP) budí rychle vzniklými symptomy podezření na závažné onemocnění (např. na náhlou cévní mozkovou příhodu) – rychlá diferenciální diagnostika je však obtížná. Pro AUVP je typická náhlá rotační závrať (vertigo) s nevolností až zvracením, bez dalších sluchových, očních nebo neurologických příznaků. Jedním z předpokládaných etio-patogenetických faktorů při rozvoji AUVP je vaskulární příčina, zejména na úrovni reologických vlastností u mikrocirkulaci terminálních větví a. labyrintu. Reohemaféza – RF se nám ukázala být efektivní u náhlé ztráty sluchu. Na základě této pozitivní zkušenosti jsme použili RF i u pacientů s náhlým poškozením vestibulární části vnitřního ucha, jehož mechanismus vzniku se zdá být analogický. Cílem práce je ověření technické proveditelnosti a bezpečnosti RF u AUVP

(standardizace vlastní modifikace metodiky, ověření její rheologické účinnosti, tolerabilita pacientem a nežádoucí účinky). **Metodika a nemocní:** K získání plazmy byly použity kontinuální separátory (Cobe Spectra nebo Spectra Optia, Terumo BCT, USA) a jako filtry Evaflex 4A (Kawasumi, Tokyo, Japonsko), kterými byla promývána získaná plazma. Antikoagulace byla prováděna kombinací heparinu a ACD-A (Baxter, Mnichov, Německo). Promýváno bylo 1,5 objemu krve. Nemocným byly aplikovány dvě procedury v rozmezí 2 – 3 dnů. V letech 2016 – 2017 bylo zachyceno 17 nemocných s náhlou ztrátou rovnováhy (akutní periferní vestibulopatie), z toho 9 mužů a 8 žen ve věkovém rozmezí 39 až 79 let. Diagnóza byla stanovena na základě klinického nálezu, a vyloučení centrální léze neurologickým a CT vyšetřením. Po úvodní symptomatické léčbě dostali nemocní standardní kúru kortikoterapie (ST; tzn. Solu-Medrol 250 mg v 60minutové ranní infúzi po minimálně 3 dny). Dále byla nemocným nabídnuta reohemaferéza (2 procedury během jednoho týdne). Testování vestibulárních funkcí bylo prováděno na přístrojích videookulografie (VOG), Video-Head-Impulse-Test (VHIT) a oční + cervikální Vestibulární Evokované Myogenní Potenciály (c/oVEMPs). **Výsledky:** U všech nemocných došlo při kontrolním vyšetření k zlepšení rovnováhy. Při vyhodnocení topodiagnostických testů bylo u nemocných ve skupině RF při zahájení léčby diagnostikováno poškození 26x, zatímco ve skupině ST 24x, což představuje 48,1 % resp. 31,6 % ze všech testovaných sensorických oblastí (tj. amput semicirkulárních kanálků a makul sakulu a utrikulu). Po ukončení léčby bylo ve skupině RF zaznamenáno 24 resp. 31,6 % poškozených oblastí, zatímco ve skupině ST bylo zachyceno 26 resp. 31 % lézí. Výsledky biochemických a hematologických vyšetření po procedurách nevykazovaly klinicky významné nebo nebezpečné změny. Byly zaznamenány jen dvě nezávažné nežádoucí příhody (krátkodobá nevolnost, krátkodobá mírná hypotenze s bradykardií). Při obtížích byla pozastavena procedura. Potíže odezněly během několik minut. Nebylo třeba medikamentózní terapie. Po odeznění obtíží u pacienta byly procedury podle plánu dokončeny bez dalších problémů. Procedura nemusela být nikdy přerušena (ani z technických důvodů). Výsledek sledování nežádoucích projevů u našich nemocných opravňuje k hypotéze, že RF je u nemocných AUVP bezpečnou metodou stejně jako jsme prokázali při léčbě nemocných v jiných indikacích. **Závěr:** Náhlá ztráta rovnováhy je velmi závažným onemocněním rovnovážného ústrojí vnitřního ucha, jehož diagnostika i terapie je velmi obtížná. Reoferéza se jeví jako metoda, která je bezpečná, dobře tolerovaná, a první výsledky naznačují, že ve srovnání se standardní empirickou léčbou může nabídnout lepší výsledek z hlediska zachování vestibulární funkce. **Poděkování:** Práce byla provedena s podporou grantu MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906) a programem PROGRES Q40/08.

P24.

Hemofagocytární lymfohistiocytóza u dospělých – přehled kazuistik z našeho pracoviště

Šrámek J., Karvunidis T., Lysák D., Michael S., Karas M., Jindra P. (Hematologicko-onkologické oddělení, FN, Plzeň; 1. interní klinika, JIP, FN, Plzeň; Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague, Praha)

Hemofagocytární lymfohistiocytóza (HLH) je vzácný, život ohrožující syndrom charakterizovaný excesivní aktivací imunitního systému s následným proinflamatorním stavem a multiorgánovým postižením. Nejčastěji je HLH popisována u pediatrických pacientů jako primární onemocnění způsobené mutací genů podílejících se na regulaci imunitní odpovědi. Během posledních dekád a zejména několika posledních let stoupá počet diagnostikovaných případů sekundární HLH u dospělých pacientů, což pravděpodobně svědčí pro časté nerozpoznání tohoto syndromu v minulosti. K tomu jistě přispívá skutečnost, že klinická symptomatologie a laboratorní nálezy jsou nespecifické a mají širokou diferenciální diagnostiku překrývající se s celou řadou jiných klinických jednotek, zejména infekcí, sepsí s syndromem multiorgánové dysfunkce (MODS), vzplanutím autoimunitního onemocnění a dalšími. Sekundární HLH u dospělých pacientů je způsobená aberantní imunitní odpovědí při virových či bakteriálních infekcích, malignitách s převahou lymfoproliferací a dále autoimunitních onemocnění. Včasná diagnostika a zahájení terapie jsou klíčové a výrazně zvyšují šanci na přežití. Diagnóza HLH je definována kombinací klinických a laboratorních nálezů, případně průkazem specifické mutace. Základní mechanismus terapie spočívá v přerušení aberantní imunitní odpovědi a to destrukcí a potlačěním funkce T-lymfocytů. Toho se nejčastěji dosahuje pomocí kortikosteroidů a etoposidu. Ve sdělení bude sumarizován aktuální pohled na patofyziologii, diagnostiku a terapii HLH. Dále bude prezentován soubor kazuistik pacientů léčených na našem pracovišti.

P25.

Je pro nás potrubní pošta přínosem?

Dvořáková K., Hansliánová G., Holusková I., Galuszková D. (Transfúzní oddělení, FN, Olomouc)

Úvod: Potrubní pošta byla ve FN Olomouc uvedena do provozu v lednu 2017. Systém potrubní pošty svým rozsahem zasahuje do více než dvaceti tří objektů nemocnice včetně Lékařské fakulty Univerzity Palackého. V objektech je instalováno 98 stanic propojených 14-ti kilometry jízdního potrubí.

Cíl: Naším cílem bylo zjistit, jaký je přínos zavedení potrubní pošty v případě doručení vzorků z ambulance Hematoonkologické kliniky (HOK), požadujících vyšetření testu slučitelnosti v režimu statim.

Materiál: Krevní vzorky pro předtransfúzní vyšetření odebrané do zkumavky s K3EDTA.

Metodika: Před uvedením potrubní pošty do provozu byly vzorky z klinických oddělení FNOL doručovány na TO FNOL prostřednictvím Centrální pochůzkové služby (CPS) nebo sanitářů jednotlivých oddělení FNOL. Po spuštění potrubní pošty jsou vzorky přepravovány potrubní poštou a počet sanitářů CPS byl redukován. Část z nich byla přesunuta na TO FNOL jako sanitáři PS TO FNOL, kteří zajišťují transport transfúzních přípravků, krevních derivátů a vzorků, které nejsou vhodné pro transport potrubní poštou.

Výsledky: Bylo provedeno sledování krevních vzorků z ambulance HOK s požadavkem na provedení testu slučitelnosti a bylo provedeno srovnání s výsledky za stejné období roku 2015. Sledováním obdobím byly tři měsíce s celkovým počtem 338 vzorků, z nichž 321 bylo požadováno vyšetřit v režimu statim. Jako hlavní ukazatel byl sledován čas od odběru krevního vzorku až do jeho doručení na TO FNOL. Dalšími sledovanými ukazateli byla doba provedení testu slučitelnosti, počet vydaných erytrocytárních a trombocytárních transfúzních přípravků, počet ozářených transfúzních přípravků a čas od doručení vzorku do výdeje transfúzních přípravků na ambulanci HOK.

Závěr: V roce 2015 byly krevní vzorky z ambulance HOK s požadavkem na vyšetření testu slučitelnosti v režimu statim na naše oddělení doručeny v průměru cca za 62 minut od odběru. Po zavedení potrubní pošty je průměrný čas doručení vzorku cca 71 minut, tedy horší než před zavedením potrubní pošty. U ostatních krevních vzorků z FNOL, jejichž vyšetření je požadováno v režimu statim, je průměrný čas doručení 32 minut.

P26.

Porovnání dvou reagensů ke stanovení protrombinového testu na analyzátoru Sysmex CS-5100

Recová L., Pulcer M., Moldřiková L., Bůžková K., Špalková P. (Oddělení klinické hematologie, FN, Ostrava)

Úvod: Protrombinový test (PT) patří k základním rutinním koagulačním testům, tudíž i k nejčastěji požadovaným vyšetřením hemostázy. Využívá se také k monitorování antikoagulační léčby kumariny. PT monitoruje vnější cestu aktivace koagulace (přeměny protrombinu na trombin). Nabídka reagensů k vyšetření PT je poměrně široká vzhledem k hojně frekvenci využití.

Cíle: Srovnání výsledků stanovení PT měřených dvěma různými reagensy s cílem prokázat, zda jsou výsledky srovnatelné.

Metody: Vyšetření PT bylo provedeno u skupiny pacientů Fakultní nemocnice Ostrava. Pacienti byli rozděleni do několika skupin na základě jejich vztahu k antikoagulační léčbě. Testovány byly také vzorky pro hodnocení kontroly kvality společnosti SEKK spol. s r. o. K vyšetření byly použity dvě různé reagenty od výrobce Siemens Healthcare, reagentie Dade Innovin (tromboplastin lidský rekombinantní) a Thromborel S (tromboplastin lidský placentární). U každého vzorku byl současně vyšetřen PT oběma reagensy.

Výsledky: Statistickým vyhodnocením výsledků bylo zjištěno, že hodnoty naměřené oběma reagensy spolu dobře korelují v případě všech vyšetřovaných skupin patientských vzorků a jsou srovnatelné. Tudíž mohou být použity v klinických laboratořích ke stanovení PT. U vzorků kontroly kvality byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi oběma reagensy.

Závěr: Na OKH FN Ostrava jsme se rozhodli používat ke stanovení PT reagentie Thromborel S. Její nespornou výhodou je větší frekvence použití v klinických laboratořích a tudíž i lepší možnosti v hodnocení mezilaboratorní kontroly kvality.

P27.

Stanovení vlastních referenčních rozmezí pro vyšetření indukované agregace

Štěpařová A., Zavřelová J., Chytrá D., Smejkal P., Penka M. (Oddělení klinické hematologie, FN, Brno)

Úvod

Metodika indukované agregace je základním vyšetřením funkční schopnosti trombocytů. V současné době je toto vyšetření nezbytné v diagnostice trombocytopatií (vrozené, získané) nebo monitorování antiagregační terapie.

Cíle práce

Stanovení referenčních rozmezí indukované agregace u minimálně 20 dárců za účelem zajištění správné interpretace výsledků vyšetření.

Materiál a metodika

Vyšetření indukované agregace (ženy: n=23, muži: n=26) po induktorech: kolagen 5 g/ml, 2 g/ml (HYPHEN BioMed); adenosin difosfát 5 mol/l, 10 mol/l (ADP, HELENA BioSc.); ristocetin 1,5 mg/ml, 0,5 mg/ml (HELENA BioSc.); epinefrin 10 μmol/l (HYPHEN BioMed); trombin 0,4 IU/ml (RO-CHE) a kyselina arachidonová 0,5 mg/ml (HYPHEN BioMed). Vzorky citrátové plazmy byly získány od „zdravých“ dobrovolných dárců krve. Požadavky na odběry byly: nekouřit ráno před odběrem a bez léčby, např. antirevmatika, novalgín, algifén (48 hod.), antibiotika, kyselina acetylsalicylová (10 dní před odběrem), antihypertenziva nebo chronická medikace s výjimkou hormonální antikoncepce. K testování indukované agregace v plazmě bohaté na destičky byl použit Agregometr APACT 4004, který pracuje na principu optické analýzy.

Výsledky

Výsledky měření byly hodnoceny jak s ohledem, tak bez ohledu na pohlaví. Ze souboru byly u 3 pacientů vyřazeny extrémně patologické hodnoty vybraných induktorů. Pro stanovení referenčních rozmezí byla hodnocena směrodatná odchylka a percentil. Vzhledem k nerovnoměrnému rozložení souboru byl pro vyhodnocení zvolen výsledek 97,5. percentilu. Z hlediska rutinního provozu byla pro hodnocení vybrána výsledná rozmezí bez rozdělení na pohlaví. V testovaném souboru byly zjištěny výsledky maximální agregace (ma; %): kolagen2: ma= 74-87; kolagen5: ma= 74-89; ADP5: ma= 57-86; ADP10: ma= 66-91; ristocetin1,5: ma= 77-97; ristocetin0,5: ma= 0-5; epinefrin: ma= 60-85; ARA: ma= 73-90; trombin: ma= 76-92.

Závěr

Referenční rozmezí by měla být vzhledem k odlišné citlivosti různých typů agregometrů stanovena individuálně pro konkrétní typ přístroje. Výsledná rozmezí jsou vyšší než dosud používané hodnoty na našem oddělení a hodnoty uváděné v některých literaturách. V klinické praxi to může znamenat zvýšení falešně patologických výsledků vyšetření.

Podpořeno grantem MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

P28.

Možnosti fixace PICC katetru

Šebelová H., Špačková J., Kalodová Hadačová J., Fínová L., Hutáková B., Brázdilová L., Kouřilová P. (IHOK, FN, Brno)

Úvod

PICC katétr je periferií implantovaný žilní katétr, který se zavádí pod ultrazvukovou kontrolou. Po zavedení systému je důležitá jeho vhodná fixace s ohledem na zabezpečení katétru, pohodlí pacienta a usnadnění ošetrovatelské péče. K fixaci PICC katétru se používají systémy Grip-Lok, StatLock a nejnověji SecurAcath.

Grip-Lok a StatLock představují stabilizační zařízení pro PICC, které se lepí ke kůži nemocného. Oba systémy jsou vybaveny z horní části specifickým prostorem pro vložení fixačních křídélek katétru.

Nově využívaný systém SecurAcath je víceúčelové dvoudílné fixační zařízení, které neslouží pouze k fixaci PICC katétru, ale i jiných systémů. Je opatřen dvěma kovovými kotvami, které jsou umístěny pod kůži pacienta. Jedná se tedy o bezešvý systém, který zabezpečuje dlouhodobou fixaci katétru.

Tato práce diskutuje výhody a nevýhody adhezivních systémů (Grip-Lok, StatLock) ve srovnání se systémem SecurAcath.

Metodika

V rámci tohoto šetření jsou vyhodnocena data z našeho pracoviště za období leden 2015 až červen 2017. V tomto období bylo zavedeno 126 PICC katétrů s adhezivní fixací (Grip-Lok nebo StatLock) a 212 PICC katétrů s fixací pomocí moderního systému SecurAcath. Fixace pomocí SecurAcath je na našem pracovišti používána od března 2016.

Adhezivní fixační systémy představují nižší jednorázové náklady, ale je nutné je při převazu PICC katétru odstranit a použít novou fixaci. Na rozdíl od systému SecurAcath neobsahují žádné kovové části. Vzhledem ke způsobu fixace (lepení na kůži pacienta) hrozí u systémů Grip-Lok a StatLock riziko alergické reakce a v nejhorším případě i poranění pokožky a z toho plynoucí diskomfort pro pacienta. Jednorázové náklady na zavedení systému SecurAcath jsou vyšší, avšak při dlouhodobé fixaci (v řádu měsíců) jsou tyto náklady kompenzovány dlouhou životností systému bez nutnosti jeho výměny. Zásadní výhodou systému SecurAcath je nižší výskyt komplikací. Na základě vyhodnocených dat z našeho pracoviště ve výše uvedeném období bylo zjištěno, že systém SecurAcath přispívá ke snížení výskytu komplikací, jako jsou infekce, obliterace, trombóza či malpozice katétru.

Závěr

Pro fixaci PICC katétru lze využít adhezivní fixační systémy (Grip-Lok, StatLock) nebo podkožně fixovaný systém SecurAcath. Na základě naší studie, byl za obecně vhodnější označen systém SecurAcath, díky snížení výskytu komplikací, kvalitnější fixaci, zvýšení komfortu pacientů a snadnější ošetrovatelské péči. Nevýhodou systému jsou jeho vyšší počáteční náklady ve srovnání s adhezivní fixací. Dále není příliš vhodné systém SecurAcath využít u velmi kachektických pacientů a u pacientů s alergií na kovový materiál (fixační kotvy). Obecně lze ale říci, že podkožně fixovaný systém je komfortnější jak pro nemocné, tak pro zdravotnický personál.

P29.

Alternativní medicína a lymfom II

Špačková J., Šebelová H., Kalodová Hadačová J., Fínová L., Brázdilová L., Šmardová L., Kouřilová P. (Interní hematologická a onkologická klinika, FN, Brno)

Alternativní medicína se v současnosti stále více setkává s klasickou, tzv. západní medicínou. Lidé se opět vracejí k tradičním léčivým prostředkům a začínají věřit v sílu přírody. Zahraniční studie uvádějí, že pacienti během onkologické léčby mají větší pravděpodobnost, že užijí alternativní léčbu v podobě potravinových doplňků, bylin nebo jiné.

Lymfomy jsou poměrně heterogenní skupina diagnóz, kde můžeme najít pacienty s velmi pomalým průběhem onemocnění, kteří žijí desítky let a nemusí podstoupit žádnou léčbu a naopak pacienty s vysoce agresivním lymfomem.

Difúzní velkobuněčný B-lymfom představuje nejčastější typ maligních ne-Hodgkinových lymfomů. Řadí se mezi lymfomy agresivní, tedy rychle rostoucí a bez adekvátní léčby vedoucí v relativně krátké době ke smrti pacienta. Na druhou stranu je v současnosti možné kombinovanou imunochemoterapií dosáhnout vyléčení u podstatné části nemocných. Terapie má však mnoho nežádoucích účinků a to je pravděpodobně důvodem, proč pacienti a celá jejich rodina hledají různé metody alternativní medicíny. Na Olomouckých hematologických dnech 2017 jsme prezentovali výsledky našeho výzkumu, cílem kterého bylo zjistit používání různých metod alternativní medicíny u nemocných s lymfomem. Z našeho výzkumného šetření vyplynulo, že 70 % našich nemocných s lymfomem vyzkoušelo některou z metod alternativní medicíny. Potravinové doplňky a vitamíny užívalo 55 % nemocných, bylinné kúry zkusilo 54 % nemocných s lymfomem a chiropraxi využili 3 % nemocných. Z výsledků je patrné, že někteří nemocní metody kombinují.

V rámci léčby nemocných s lymfomem a našeho dalšího sledování užívání metod alternativní medicíny u nemocných, jsme v roce 2017 zaznamenali netradiční metodu u nemocného s lymfomem, se kterou bychom vás rádi seznámili.

Nemocný k nám byl v březnu 2016 přeložen z Kliniky nemocí plicních a tuberkulózy, kde byl hospitalizován pro hemoptýzu, zde na CT zjištěn masivní tumor horního mediastina. Po překladu na naši JIP byla provedena operační biopsie infiltrátu mediastina dle Chamberlaina, ze které byla stanovena diagnóza Difúzní velkobuněčný lymfom nonGC-like st. III BE a zahájena terapie.

Nemocným byl mladý, 23-letý muž, student managementu ekonomie, který byl příznivcem sociálních sítí. Již při převozu na naši kliniku uveřejnil na svém facebooku 1. video blog, který nazval Na cestě za mým uzdravením. Následně se svým bratrem založil i blog s názvem Jak přežít rakovinu a nezbláznit se. I my jsme se zde dozvěděli, které produkty zkoušel a byl.

„Aloe vera od LR, Jedlá soda s javorovým sirupem, Reishi, Shitake, B17 (neboli meruňkové jádra, jen zpracované, doporučuji jíst rovnou jádra a nebrat tablety), kapky Joalis (které mi dle mého pomohly nejvíce a jsou ze všech produktů pomalu nejlevnější), Fénixovy slzy, odvary z pampelišek a různé vitamínové přípravky, např. vysokodávkování vitamínu C po dobu 3 měsíců.“

P30.

Kazuistika pacientky s mimobuněčným NK/T lymfomem nosního typu

Vodičková P., Zemanová A., Jungová A., Bystřická E. (HOO, FN, Plzeň)

Mimobuněčný NK/T lymfom nosního typu je jednou z nejagresivnějších lymfatických malignit se špatnou léčebnou odpovědí a nepříznivou prognózou. Etiopatogeneticky bývá spojován s infekcí virem Epstein-Barrové.

Nejčastěji se vykytuje jednostranně v centrofaciální oblasti, infiltruje nosních skořepu a šíří se do okolních tkání. V časném stadiu se projevuje nespecifickým zánětem nosní sliznice, vedlejších nosních dutin. V pokročilých případech mohou být zasaženy i další orgány, např. játra, plíce nebo centrální nervový systém. a nosní neprůchodností. Mezi pozdní příznaky patří krvácení z nosu, otoky tváře, léze měkkých tkání. Ošetrovatelská péče i takové pacienty je náročná a kromě uspokojování základních, tělesných potřeb její neodmyslitelnou a nezbytnou součástí také jejich psychická a sociální podpora.

Prezentované kazuistické sdělení popisuje průběh onemocnění NK/T lymfomem nosního typu u 35-leté pacientky.

ADAM Z .	37, 5
ADAMUSOVÁ L.	46
ALMÁŠI M.	37
AMIOT M.	7
ANTOŠOVÁ L.	22, 29
ANTOŠOVÁ M.	22, 29
BABÁČKOVÁ G.	22, 29
BAČOVSKÝ J.	24, 25
BALCÁRKOVÁ J.	44
BARTUNEK P.	14
BÁTOROVÁ A.	3, 39
M. BECK INKEN	16
BELADA D.	42, 43
BELIČKOVÁ M.	2
BERMELLOVÁ J.	9
BEZDĚKOVÁ R.	37, 45
BLÁHA M.	47
BODLÁKOVÁ J.	9
BOJTÁROVÁ E.	3
BOKOROVÁ R.	34
BRÁZDILOVÁ L.	50, 51
BRENNER D.	12
BULIKOVÁ A.	29
BURDA P.	7
BŮŽKOVÁ K.	49
BYSTRICKÁ E.	52

CAMPR V.	26
CERNA K.	7
ČERMÁK J.	2, 2
DANIELOVÁ L.	9
DAŇOVÁ V.	43
DEVAN J.	7
DIVOKÁ M.	2
DIVOKÝ V.	2, 13, 16
DOUBEK M.	19, 29
DOUGLAS M.	11
DRŠATA J.	47
DULÍČEK P.	4
DVOŘÁK J.	18
DVOŘÁKOVÁ K.	49
DYNTEROVÁ A.	21, 28, 43
FABER E.	27
FARKAŠ F.	39
FÁTOROVÁ I.	21, 28, 43
FILIP S.	47
FILLEROVÁ R.	37
FÍNOVÁ L.	50, 51
FORMÁNKOVÁ R.	18
FORSTEROVÁ K.	38
FROŇKOVÁ E.	18, 38
FUČÍKOVÁ N.	43
FUCHS O.	34

GABČOVÁ G.	36, 37
GABLO N.	37
GAJDOŠ P.	36
GALE R. P.	4, 8
GALUSZKOVÁ D.	49
GBÚROVÁ K.	40
GREGOROVÁ J.	37
HAJDUCH M.	15
HÁJEK R.	27, 46
HAK J.	21, 28
HANSLIÁNOVÁ G.	49
HATALOVÁ A.	39
HAVLOVÁ E.	32
HERANOVÁ P.	35
HLUŠÍ A.	4, 34, 41
HOCHOVÁ I.	22
HOLUSKOVÁ I.	49
HORÁKOVÁ M.	12
HORVATHOVA M.	15, 2, 13, 16
HRABÁNKOVÁ-NAVRÁTILOVÁ D.	10
HRABĚTOVÁ M.	32
HRBEK J.	24
HUTÁKOVÁ B.	50
CHALUPNÍKOVÁ P.	20
CHALUPSKÝ K.	16
CHAROUZKOVÁ J.	12

CHASÁKOVÁ K.	30
CHIRON D.	7, 8
CHROBOK V.	47
CHYTRÁ D.	20, 50
INDRÁK K.	2, 34
IVANOVÁ K.	8
JAKOUBKOVÁ V.	12
JANEČKOVÁ I.	8
JANIKOVA A.	7
JANKOVIČOVÁ D.	3
JANOUC M.	47
JEBÁČKOVÁ K.	12
JELÍNEK T.	46
JINDRA P.	32, 48
JUNGOVÁ A.	32, 52
JURÁŇOVÁ J.	27
JURČEK T.	32
KALINA T.	18
KALINOVÁ M.	38
KALODOVÁ HADAČOVÁ J.	50, 51
KANCHEV I.	16
KAPRALOVÁ K.	16
KARAS M.	46, 48
KARVUNIDIS T.	46, 48
KISSOVÁ J.	22, 29
KISVETROVÁ H.	9

KLENER P.	38
KODET R.	38
KOKAVEC J.	16
KOLÁČEK D.	30
KOLAŘÍK L.	22
KOŇAŘÍK M.	10
KOPECKÁ I.	43
KOPKANOVÁ J.	16
KORALKOVA P.	15
KOŘÍSTEK Z.	46
KOUŘILOVÁ P.	12, 12, 50, 51
KOZÁK T.	19
KRÁLOVÁ B.	13, 16
KREJČÍ K.	25
KREJČÍ M.	5, 37
KREN L.	7
KRHOVSKÁ P.	25, 44
KRIEHOVÁ E.	36, 37
KRŮZOVÁ L.	7, 37
KUPKOVÁ P.	20
LABUDÍKOVÁ M.	11
LÁNIKOVÁ L.	16
LÁNSKÁ M.	47
LAPČÍKOVÁ A.	27, 28
LE GOUILL S.	7, 8
LEMROVÁ A.	8

LENČOVÁ N.	35
LISKOVA K.	7
LOKVENC M.	38
LUDIKOVA B.	15
LYSÁK D.	32, 48
MACECKOVA Z.	15
MACNEROVÁ R.	44
MACHONOVA O.	14
MACHOVA POLAKOVA K.	7
MACHOVÁ R.	27
MANUKYAN G.	36, 37
MARTINKA J.	3
MATĚJOVIČ M.	46
MATÝŠKOVÁ M.	20
MAYER J.	7, 32
MĚCH R.	35
MEJSTŘÍKOVÁ E.	18
MEJZLÍK J.	47
MIČÁNKOVÁ S.	22
MICHAEL S.	48
MIKULA P.	30
MIKULENKOVÁ D.	26
MIKULKOVÁ Z.	36, 37
MINAŘÍK J.	24, 25, 37, 44
MISTRÍK M.	3, 39
MLYNÁRČIKOVÁ M.	44

MOCIKOVA H.	7
MOLDŘÍKOVÁ L.	49
MOTYČKOVÁ M.	42
MRAZ M.	7
MUSILOVA K.	7
NAVRÁTILOVÁ J.	34, 36, 41
NAZAROVÁ S.	44
NEPLECHOVÁ D.	20
NEUDERTO VÁ H.	13, 17
NOSAL M.	47
NOVÁK M.	38
NOVOSADOVÁ L.	30
OLTOVA J.	14
PALOVÁ M.	4, 34, 41
PAPAJÍK T.	34, 36, 37, 41, 44
PAPIN A.	8
PAVLASOVA G.	7
PAVLÍKOVÁ A.	20
PELLAT-DECEUNYNCK C.	7
PENKA M.	20, 37, 45, 50
PETRÁČKOVÁ A.	37
PETRÍKOVÁ L.	39
PIKA T.	23, 24, 25, 44
POLÍVKA J.	6
POSPÍŠILOVÁ D.	2, 15, 16, 28
POUR L.	5, 6, 37, 45

PRCHAL J. T.	11, 13
PROCHÁZKA J.	16
PROCHAZKA V.	7
PROCHÁZKOVÁ J.	4
PROUZOVA Z.	7
PULCER M.	49
PYTLIK R.	7
RÁČIL Z.	32
RADĚJ J.	46
RADOVÁ L.	37
RECOVÁ L.	49
RICHTEROVÁ P.	27
ROHOŇ P.	27
ROMŽOVÁ M.	32
RYZNEROVÁ P.	36, 37
ŘÍHOVÁ L.	37, 45
SAXOVÁ Z.	16
SEDA V.	7
SEDLÁČEK P.	18
SEDLÁČEK R.	16
SCHNEIDEROVÁ P.	37
SCHUSTER B.	16
SKALÍKOVÁ R.	35
SLABÝ O.	37
SLAVÍK L.	4, 20, 38
SLEZÁKOVÁ K.	39

SMEJKAL P.	50
SMITALOVÁ D.	32
SMOLEJ L.	42, 43
SNINSKÁ Z.	39
SONG J.	13
STAROSTKA D.	30, 35
STARÝ J.	18
STEJSKALOVÁ M.	45
STOPKA T.	16
SUKOVÁ M.	15, 18
SUSKÁ R.	45
SVOBODA O.	14
SZOTKOWSKI T.	34, 36, 41
ŠČUDLA V.	24, 25
ŠEBELOVÁ H.	12, 50, 51
ŠEVČÍKOVÁ S.	6, 45
ŠIFFNEROVÁ V.	44
ŠIMEČKOVÁ R.	26
ŠIMKOVIČ M.	42
ŠIMOVÁ J.	35
ŠMARDOVÁ L.	51
ŠMOTKOVÁ KRAICZOVÁ V.	36, 37
ŠPAČKOVÁ J.	12, 50, 51
ŠPALKOVÁ P.	49
ŠRÁMEK J.	46, 48
ŠRÁMKOVÁ L.	18

ŠTĚPAŘOVÁ A.	20, 50
ŠTORK M.	37
ŠVÁCHOVÁ H.	45
TESSOULIN B.	7
TICHÝ M.	35
TICHÝ T.	25
TIMR P.	15
TOM N.	32
TRNAVSKÁ I.	22
TRNĚNÝ M.	7, 38
TURCSÁNYI P.	36, 37
TŮZOVÁ E.	22
UHLÍŘOVÁ K.	12
ÚLEHLOVÁ J.	20
URBÁNKOVÁ H.	15, 36, 41, 44
URBANOVÁ R.	36, 37
UVÍROVÁ M.	35
VODÁREK P.	42
VODIČKOVÁ E.	22
VODIČKOVÁ P.	52
VOJTA P.	15
VOLEJNIKOVA J.	15
VRÁBEL D.	6, 37
VRANÁ M.	44
VŠIANSKÁ P.	45
ZÁBRANSKÁ T.	32

ZADRAŽIL J.	25
ZAVŘELOVÁ J.	20, 50
ZEHNALOVÁ Š.	36
ZEMANOVÁ A.	52
ZILVAROVÁ E.	43
ZLAMALIKOVA L.	7
ZUCHNICKÁ J.	27
ZŮNOVÁ H.	22
ŽÁK P.	28, 42, 43, 47
ŽEBEROVÁ D.	42
ŽIDLÍK V.	35
ŽMOLÍKOVÁ J.	35, 44

GENERÁLNÍ PARTNEŘI

AMGEN s.r.o. / Celgene s.r.o. / Gilead Sciences s.r.o. / Janssen Cilag s.r.o. / Roche s.r.o.







HLAVNÍ PARTNEŘI

AbbVie s.r.o. / Bristol-Myers Squibb spol. s r.o. / Novartis s.r.o.
Takeda Pharmaceuticals Czech Republic s.r.o.






VÝZNAMNÍ PARTNEŘI

Angelini Pharma ČR, s.r.o. / Sysmex CZ, s.r.o. / TerumoBCT Europe N.V.





PARTNEŘI

Abbott Laboratories s.r.o. / Alexion Pharma Czech s.r.o. / AOP Orphan Pharmaceuticals AG - org.sl.
Beckman Coulter ČR s.r.o. / Becton Dickinson Czechia s.r.o.
BioVendor - Laboratorní medicína a.s. / Biomedica ČS s.r.o. / Carl Zeiss s.r.o.
DS Soft Olomouc s.r.o. / Exbio Praha a.s. / Fresenius Kabi s.r.o. / GRIFOLS s.r.o.
GUTTA Česká republika spol. s r.o. / I.T.A.-Intertact s.r.o. / Medesa s.r.o. / Medista spol. s r.o.
Octapharma CZ s.r.o. / Olympus Czech Group, s.r.o., člen koncernu / Pfizer PFE, spol. sr.o.
Pfizer, spol. s r.o. / Roche s.r.o. - laboratorní diagnostika / Sandoz s.r.o. / Sarstedt spol. s r.o.
SHIRE CZECH s.r.o. / The Binding Site s.r.o. / VIAGENE s.r.o. / Werfen Czech s.r.o.
4 LIFE PHARMA CZ s.r.o.

MEDIÁLNÍ PARTNEŘI









Na shledanou v Olomouci

XXXIII. Olomoucké hematologické dny

26. – 28. 5. 2019

www.olhemdny.cz