proLékaře.cz | 20.11.2026

Sdělení přijatá pouze k publikaci

1378.

Separace monocytárních buněk pomocí přístroje Elutra

Vidláková Petra, Macková Klára, Skálová Katka, Matějková Eva, Kyjovská Drahomíra, Mužíková Jana, Novotná Dana, Burešová Ivana, Smejkalová Jana, Michálek Jaroslav *(UCBI - MU, LF, Brno)*

Úvod: Separační přístroj Elutra je v České republice unikátní a na našem pracovišti byl uveden do provozu na jaře roku 2008. Jeho hlavní využití spočívá v separaci monocytoidních buněk z leukaferetického produktu. Separát je následně použit pro kultivaci dendritických buněk in vitro, které jsou hlavní složkou protinádorové vakcíny pro onkologické pacienty. Princip metody: Separační systém Elutra umožňuje rozdělení buněčných populací do různých frakcí a to na základě velikosti a hustoty buněk. Přístroj tak umožňuje obohacení jednotlivých buněčných populací, jejich případnou depleci, zkoncentrování nebo promývání. Vše se odehrává v plně uzavřeném a automatizovaném systému. Elutriace se řídí Stokesovým zákonem o proudění kapalin. Výsledky: Do současnosti byly provedeny 4 kompletní elutriace. Ve vybraném případě bylo z 4,148x109 leukocytů ve vstupním produktu obsahujícím 21,1% monocytoidních buněk získáno 2,914x109 vyseparovaných buněk s čistotou 89,4%. Došlo tedy k obohacení z původních 21,1% před separací na 89,4% monocytoidních buněk po separaci. Další experimenty prokázaly obdobné výsledky. Závěr: Separované buňky ve vysoké čistotě jsou díky uzavřenému systému přístroje Elutra bez rizika možné kontaminace využitelné pro následné laboratorní a klinické aplikace. Tato práce byla podpořena grantem NPVII 2B06058

1382.

Diferenciální proteomická analýza aktivovaných a neaktivovaných krevních destiček

Májek Pavel, Reicheltová Zuzana, Štikarová Jana, Sobotková Alžběta, Kotlín Roman, Chrastinová Leona, Suttnar Jiří, Dyr Jan E *(ÚHKT, Praha)*

Krevní destičky hrají nepostradatelnou roli v hemostáze. Klíčovým procesem pro správnou funkci destiček je jejich aktivace, která je provázena mimo jiné změnami destičkového proteomu. Znalostí těchto přirozeně probíhajících změn destičkového proteomu je možné pomoci objasnit vnitřní pochody, které aktivaci destiček provázejí a lokalizovat je v rámci vnitřního uspořádání destiček. Tyto fyziologicky probíhající změny proteomu krevních destiček také mohou přispět k pochopení stavů patologických, případně pomoci s diagnostikou a léčbou takových stavů. Cílem této práce bylo pomocí elektroforetických technik nalézt změny proteomu krevních destiček po jejich aktivaci třemi různými agonisty – kyselinou arachidonovou, kolagenem a trombinem. Krevní destičky zdravých dárců byly izolovány diferenciální centrifugací a poté aktivovány. Pro aktivaci destiček jsme zvolili tři agonisty – kys. arachidonovou, kolagen a trombin. Aktivace destiček byla sledována agregometricky. Proteiny destiček byly separovány pomocí dvojrozměrné elektroforesy s isoelektrickou fokusací (pH 3-10 a 4-7) v prvním směru a SDS-PAGE (gradientový gel 5-15%) v druhém. Gely byly barveny koloidní Coomassie. Po vizualizaci proteinů byly gely převedeny do elektronické podoby, rozděleny do čtyř vzájemně porovnávaných skupin (neaktiv. destičky a třemi agonisty aktiv. destičky) a zpracovány pomocí softwaru Progenesis SameSpots (Nonlinear Dynamics, USA). Signifikantně významné spoty byly štěpeny trypsinem. Pomocí nanoLC-MS/MS byly peptidy separovány na reverzní fázi (Ultimate 3000, Dionex, USA) a následně identifikovány hmotnostní spektrometrií na principu nanoESI-TRAP (HCT Ultra, Bruker Daltonics, USA). Po porovnání 36 gelů (pI 3-10) bylo nalezeno 119 spotů, které se signifikantně lišily ($p<0,05$, ANOVA) alespoň ve dvou skupinách. Většina spotů byla nalezena v rozmezí pI 4-7, proto bylo provedeno porovnání druhé skupiny gelů (39 gelů, pI 4-7). Bylo nalezeno 190 signifikantně se lišících spotů. Mezi těmito spoty byly identifikovány skupiny proteinů, které lze přiřadit k jednotlivým agonistům v rámci jejich fyziologického působení při aktivaci destiček. Některé proteiny se jeví jako potenciálně zajímavé pro další studium pochodů odehrávajících se při aktivaci krevních destiček. Budoucím úkolem pak je identifikace posttranslačních nebo jiných modifikací příslušných proteinů, které daným změnám proteomu odpovídají. Poděkování: Tato práce byla podpořena granty AVČR KAN200670701 a VZ ÚHKT MZ 02373601.

1385.

Diagnostika leukémie z velkých granulárních lymfocytů s původem v NK linii pomocí průtokové cytometrie

Vroblová Vladimíra, Mikešová Olga, Jankovičová Karolína, Schmitzová Daniela, Krejsek Jan *(Ústav klinické imunologie a alergologie, UK, Praha; LF a FN, Hradec Králové*; *Interní oddělení, hematologická poradna, Oblastní nemocnice, Jičín; areál nemocnice, Nový Bydžov)*

Leukémie z velkých granulárních lymfocytů (LDGL) zahrnuje spektrum biologicky vzdálených lymfoproliferativních onemocnění. Podle jejich původu je možné odlišit dvě hlavní skupiny těchto leukémií, vycházející z T lymfocytů (CD3+) a z NK buněk (CD3-). Leukémie z velkých granulárních lymfocytů je zařazena do podtypu NK-LDGL, pokud patologické buňky na svém povrchu exprimují jeden, nebo oba znaky typické pro NK buňky (CD16, CD56) a zároveň mají na svém povrchu nepřítom-

proLékaře.cz | 20.11.2026

nou expresi TCR receptoru a CD3 znaku. Na našem pracovišti, Ústav klinické imunologie a alergologie FNHK, jsme u pacientky s lymfocytózou diagnostikovali lymfoproliferaci z velkých granulárních lymfocytů. Pomocí průtokové cytometrie jsme na povrchu abnormálních buněk prokázali ze znaků typických pro NK buňky expresi CD16. Znak typický pro T lymfocyty, CD3, nebyl na povrchu přítomen. Prokázali jsme klonální expresi aktivačního (NKG2C) a zároveň inhibičního (NKG2A) receptoru NK buněk. Exprese NCR (NKp46, NKp30) byla výrazně snížená.

1412.

Příprava protinádorových vakcín na bázi nové generace dendritických buněk pro potřeby klinických studií

Skálová Kateřina, Macková Klára, Mužíková Jana, Novotná Dana, Vidláková Petra, Smejkalová Jana, Michálek Jaroslav *(Univerzitní centrum buněčné imunoterapie, MU, Brno; Laboratoř experimentální hematologie a buněčné imunoterapie, FN, Brno; I. Dětská interní klinika, FN, Brno)*

Jedním z přístupů v léčbě onkologických onemocnění je vakcinace, při níž jsou pacientovi podávány autologní dendritické buňky (DB). Dendritické buňky jsou jedny z nejvýznamnějších antigen prezentujících buněk. Při přípravě vakcíny jsou DB in vitro naloženy lyzátem nádorové tkáně pacienta. Poté jej in vivo prezentují T-lymfocytům a stimulují tak protinádorovou imunitní odpověď. Nová generace vakcín je založena na dendritických buňkách produkujících interleukin-12 (IL-12), který polarizuje imunitní odpověď ve směru pomocných Th1 a cytotoxických Tc lymfocytů. Vstupním materiálem pro přípravu vakcíny je leukaferéza - leukocyty izolované z krve pacienta pomocí separátoru. Pro validaci metodiky byly použity leukocyty dobrovolných dárců. Pomocí přístroje ELUTRA jsou z leukaferézy izolovány monocyty, prekurzory dendritických buněk. Monocyty jsou po dobu 6 dnů kultivovány v kompletním médiu s přídavkem cytokinů IL-4 a GM-CSF (růstový faktor stimulující tvorbu granulocytů a makrofágů), čímž vzniknou nezralé DB. Ty jsou pak naloženy nádorovým antigenem. Poté je přidáním lipopolysacharidu (LPS) a interferonu-α (IFN-α) indukována jejich maturace. Po krátkodobé kultivaci jsou buňky v alikvotech zamraženy. Na našem pracovišti se již od roku 2004 zabýváme přípravou protinádorových vakcín u pacientů se solidními nádory a v současné době byly validovány postupy přípravy nové generace dendritických buněk pro potřeby klinických studií. Celý proces přípravy protinádorových vakcín probíhá podle správné výrobní praxe v přísně sterilních podmínkách na certifikovaném pracovišti pro výrobu léčivých přípravků, v čistých prostorách UCBI na Masarykově univerzitě v Brně. Budou prezentovány dosavadní výsledky vycházející z validací vakcín. Práce byla podpořena granty MŠMT NPVII 2B06058 a NPV II 2B08066.

1421.

HLA vyšetření pacientů ve FN Brno v souvislosti s transplantacemi solidních orgánů

Janků Libuše, Bartoníčková Alena *(TO a KB FN, Brno)*

Úvod Transplantace představuje v současné době jedinou dlouhodobě účinnou terapii orgánového selhání. Pro zajištění úspěšné implantace orgánu a zejména s výhledem jeho dlouhodobého přežívání, je nezbytné provedení HLA vyšetření jak pacientů, tak i dárců orgánů. Metodika V HLA laboratořích TO a KB FN Brno jsou u pacientů před jejich zařazením do čekací listiny na transplantaci solidních orgánů prováděna následující vyšetření: •screening anti-HLA protilátek, vyjádřený jako panel reaktivních protilátek - PRA (%) •typizace HLA antigenů I. a II. třídy •vyšetření antigranulocytárních a antitrombocytárních protilátek Výsledky a závěr V letech 2004 – 2008 bylo vyšetřeno 176 potenciálních příjemců srdce, z toho 84 % bylo mužů a 16 % žen, věkový průměr pacientů byl 50 let. Jako příčiny srdečního selhání byly uváděny: infarkt myokardu a kardiomyopatie. Pouze v 1 případě byla zjištěna přítomnost anti-HLA protilátek (PRA = 74%). Ve stejném období bylo v Centru kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno (CKTCH) transplantováno 97 srdcí, ve 2 případech s pozitivním aktuálním cross-match (ACM). Ve stejném období bylo vyšetřeno 209 příjemců jater, z toho 52 % žen a 48 % mužů, s věkovým průměrem 49 let. Příčinami jaterního selhání byla nejčastěji jaterní cirhóza způsobená etylalkoholem či jinou jaterní noxou. Alkoholická cirhóza jater se vyskytovala častěji u mužů než u žen. Z celkového počtu 33 pacientů se jednalo o 23 mužů a 10 žen. Ve více než 50 % případů byla u příjemců jater zjištěna přítomnost antileukocytárních a/nebo antitrombocytárních protilátek. Antigranulocytární protilátky se vyskytovaly častěji u žen než u mužů. V tomto období byla v CKTCH provedena transplantace jater u 133 pacientů, ve 22 případech s pozitivním ACM. V letech 2004 – 2008 bylo nově vyšetřeno a zařazeno do čekací listiny na transplantaci ledviny 91 pacientů s ledvinovým selháním.Věkový průměr pacientů byl 49 let. Počet čekatelů na transplantaci ledviny se v čekací listině pohyboval v jednotlivých letech od 141 do 199 osob, výskyt anti-HLA protilátek u čekatelů ledvin kolísal od 4 do 100%, v některých případech s jasně definovanou specifitou. Transplantace ledviny byla v daném období provedena u 227 pacientů, ve 3 případech s pozitivním ACM. V daném období byly nejčastěji transplantovány ledviny.

1427.

Expresní profil miRNA u T regulačních lymfocytů pacientů s diabetem 1. typu

Hežová Renata, Slabý Ondřej, Petra Faltejsková, Zuzana Mikulková, Iva Burešová, Karthickraja Muthuraja, Jan Hodek, Jaroslava Ovesná, Jaroslav Michálek *(Univerzitní centrum buněčné imunoterapie, Masarykova univerzita, Brno; Masarykův onkologický ústav, Brno; Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha- Ruzyně)*

proLékaře.cz | 20.11.2026

MikroRNA (miRNA) jsou malé nekódující jednořetězcové molekuly RNA, které mají velký potenciál regulovat genovou expresi a udržovat integritu imunitního systému. Diabetes mellitus 1. typu je autoimunitní onemocnění způsobené destrukcí beta buněk Langerhansových ostrůvků cytotoxickými Tc lymfocyty za spoluúčasti Th1 lymfocytů. T regulační lymfocyty (Treg) jsou specializované CD4+, CD25+, FoxP3+ lymfocyty, které regulují imunitní reakce a brání tak rozvoji zejména autoimunitních onemocnění. Jejich mechanismus účinku spočívá v produkci IL-10 a TGF-beta čímž inhibují Th1 lymfocyty a kontrolují tak aktivaci autoagresivních CD4+ a CD8+ lymfocytů. Studie na geneticky upravených myších, jejichž Treg neexprimovaly žádnou miRNA, prokázala, že toto Treg-selektivní vyblokování miRNA vedlo ke ztrátě jejich imunosupresivního fenotypu a rozvoji autoimunitních onemocnění in vivo. Lze proto předpokládat, že deficit či pozměněné funkce Treg u diabetu 1. typu, mohou být způsobeny změnami na úrovni exprese miRNA v těchto buňkách. Cílem naší práce bylo stanovit expresní profil miRNA u Treg u pacientů s diabetem 1. typu a zdravých dárců a jejich vzájemné srovnání. Z periferní krve šesti diabetiků a šesti zdravých dárců jsme pomocí průtokové cytometrie separovali Treg (dle znaků: CD3+, CD4+, CD25+, CD127-) a T lymfocyty (dle znaků: CD3+, CD4+, CD25-) ze kterých jsme izolovali celkovou RNA bohatou na frakci krátkých RNA. Pomocí nízkohustotních Real-Time PCR arrays (Human miRNA Panel) jsme stanovili exprese 384 miRNA u Treg a T lymfocytů. Očekáváme, že diferenciální analýzou (HCL, SAM) expresních profilů dárců a diabetiků identifikujeme miRNA potenciálně významné v patogenezi tohoto autoimunitního onemocnění, které by v budoucnosti mohly být využity jako terapeutické cíle u diabetu 1. typu. Výsledky těchto analýz budou obsaženy v našem sdělení. Podporováno granty MŠMT NPVII 2B08066 a IGA MZ 9355-3.

1435.

Analýza karbonylovaných proteinů lidských krevních destiček

Sobotková Alžběta, Pimková Kristýna, Májek Pavel, Malý Martin, Suttnar Jiří, Dyr Jan Evangelista *(ÚHKT, FN Motol, Praha)*

Úvod: Krevní destičky hrají významnou roli v hemostáze. Během destičkové aktivace různými agonisty vznikají reaktivní formy kyslíku a dusíku (RONS) a dochází k řadě oxidačních procesů. Nestabilní molekuly RONS hrají významnou roli v aktivačních kaskádách jako tzv. druzí poslové, ale také mohou modifikovat další makromolekuly (lipidy, proteiny) v jejich bezprostřední blízkosti. Tvorba karbonylových skupin je jedním z prvních kroků oxidačního poškození proteinů. Takto modifikované proteiny mohou ztrácet své fyziologické vlastnosti např. účast na reorganizaci cytoskeletonu během destičkové aktivace. Předmětem této práce bylo nalézt vhodnou metodu ke studiu procesů oxidačního stresu, konkrétně izolace a následná identifikace karbonylovaných proteinů v neaktivních krevních destičkách a v destičkách aktivovaných různými agonisty. Metody: Krev zdravých dárců, kteří minimálně 14 dní neužívaly léky ovlivňující funkci krevních destiček, byla odebrána do antikoagulačního činidla ACD. Z plazmy byly izolovány krevní destičky a výsledná koncentrace byla upravena na 500.000/ml. Takto připravené promyté destičky byly aktivovány třemi různými agonisty- kyselinou arachidonovou, kolagenem nebo trombinem. Aktivace krevních destiček byla sledována fotometricky měřením agregační odezvy při 37°C. Karbonylované skupiny v destičkových proteinech byly označeny biotin hydrazidem a izolovány na avidin agarose. K eluci daných proteinů byl použit 2mM roztok biotinu. Obsah jednotlivých frakcí byl analyzován SDS-PAGE, western blotingem a imunochemickou detekcí s použitím avidin-peroxidázy. Ověřené proteinové frakce byly naštěpeny trypsinem a identifikovány 2D-HPLC/ESI-MS/MS. Výsledky: Během aktivace krevních destiček třemi různými agonisty bylo největší množství karbonylovaných proteinů nalezeno ve vzorcích krevních destiček aktivovaných kolagen. Data ukazují, že tato metoda je jednoduchou technikou pro izolaci karbonylovaného subproteomu proteinů krevních destiček s minimem falešně pozitivních výsledků. Poděkování: Tato práce vznikla za podpory grantů AV ČR KAN200670701, IGA MZ ČR NS 9636-3/2008, VZ MZ ČR 2373601.

1440.

Úspěšná terapie trombotické trombocytopenické purpury monoklonální protilátkou anti-CD 20 - kazuistika

Procházková Jana, Hluší Antonín, Klusová Natálie, Slavík Luděk, Úlehlová Jana *(HOK FN, Olomouc)*

Úvod: Trombotická trombocytopenická purpura (TTP) je velmi těžké onemocnění s většinou akutním průběhem, charakterizované kombinací pěti příznaků vyjádřených v různé intenzitě (mikroangiopatická hemolytická anemie, trombocytopenie s hemoragickou diatezou, teplota, neurologická symtomatologie, renální insuficience). Příčinou tohoto stavu je těžký deficit metaloproteinázy štěpící multimery von Willebrandova faktoru (vWF), což vede k hromadění abnormálně velkých multimerů vWf, generalizovanému poškozením endotelu a ischemizaci tkání následkem mikrotrombotizace. V trombech dochází ke konzumpci trombocytů a mechanické destrukci erytrocytů. Deficit metaloproteinázy štěpící multimery vWF může být jak vrozený, tak získaný, který je způsoben přítomností specifického inhibitoru. Základním prvkem terapie je výměnná plazmafereza doplněná o podání kortikoidů. Popis případu: 50-tiletá žena s dosud zcela nevýznamnou osobní anamnezou vyšetřena pro třídenní anamnézu slabosti, křečí končetin a tvorbu hematomů po celém těle. Při vstupním vyšetření hemolytická anemie s nálezem schistocytů, těžká trombocytopenie, elevace LDH a bilirubinu. Zahájena terapie výměnnými plazmaferézami, po kterých promptní normalizace počtu trombocytů a stabi-

proLékaře.cz | 20.11.2026

lizace hemolýzy. Při následné terapii kortikoidy a substituci mraženými plazmami došlo k relapsu s poklesem trombocytů a zvýrazněním hemolýzy provázeným poruchou zraku, vzestupem TK a zimnicí s třesavkou. Znovu jsme přistoupili k terapii výměnnými plazmaferézami, které opět s efektem na počet trombocytů. Pro jen parciální efekt plazmaferéz (trvající mikroangiopatická hemolytická anemie) jsme indikovali imunosupresivní léčbu monoklonální protilátkou anti-CD 20 (MabThera), po které nástup remise onemocnění, trvající již řadu měsíců. Prokázána přítomnost specifického inhibitoru metaloproteinázy. Závěr: TTP zůstává i při užití nejmodernějších a velmi razantních terapeutických postupů velmi závažnou a potenciálně smrtelnou chorobou, především z důvodu mnohdy superakutního průběhu. Na tuto klinickou jednotku je nutné myslet především v případech jinak nevysvětlitelné kombinace trombocytopenie a hemolytické anemie, protože v počátku onemocnění nemusí být příznaky selhání mikrocirkulace ledvin či CNS vyjádřeny.

1444.
Čisté experimentální výrobní prostory v podmínkách správné výrobní praxe – jejich charakteristika a produkty

Smejkalová Jana, Macková Klára, Skálová Kateřina, Mužíková Jana, Novotná Dana, Vidláková Petra, Kyjovská Drahomíra, Matějková Eva, Penka Miroslav, Michálek Jaroslav, Hájek Roman *(LEHABI - Čisté prostory Masarykovy univerzity, Brno; Oddělení klinické hematologie, FN, Brno; Univerzitní centrum buněčné imunoterapie Masarykovy univerzity, Brno)*

Úvod. Masarykova univerzita představuje unikátní pracoviště pro obor imunoterapie. V Čistých prostorách vyrábí novou, netoxickou léčbu pro onkologii – protinádorové hodnocené léčivé přípravky. Disponuje povolením k výrobě léčivých přípravků v oblasti Výroba autologních a alogenních léčivých přípravků kultivací imunokompetentních buněk in vitro a je držitelem „Certifikátu SVP pro výrobce“, (správná výrobní praxe), což znamená zápis do databáze EudraGMP. Výroba v čistých prostorách je pravidelně kontrolována inspektory SÚKL (Státní ústav kontroly léčiv). Cíl. Výroba protinádorových vakcín v čistých prostorách v podmínkách GMP (Good Manufacturing Practice). Pacienti/metody. Léčivé přípravky jsou připravovány asepticky, výroba je monitorována z hlediska mikrobiální a částicové kontaminace, jsou monitorováni pracovníci. Léčivé přípravky podléhají výstupní kontrole bezpečnosti a jakosti a jsou propouštěny kvalifikovanou osobou. Vakcína je aplikována pacientům s mnohočetným myelomem, metastazujícím melanomem, glioblastomem, renálním karcinomem a dětským pacientům se solidním nádorem. Výsledky. V letech 2003–2008 bylo připraveno celkem 141 vakcín. Od roku 2007 jsou protinádorové vakcíny vyráběny v Čistých prostorách Univerzitního kampusu Masarykovy univerzity (LEHABI-ČP-MU). Závěr. Výroba autologních protinádorových vakcín musí probíhat pouze v podmínkách GMP v Čistých prostorách, po udělení povolení od SÚKL. Masarykova univerzita je prvním a v současné době i jediným univerzitním pracovištěm s tímto povolením k výrobě. Dodržování podmínek GMP jsou klíčovým krokem pro bezpečnou aplikaci nekomerčně připravených vakcín v klinických experimentech. Podporováno výzkumným záměrem IGA MR 8945-4, MŠMT NPV II 2B06058 a LC06027.

1448.
Destičkový lyzát podporuje růst a expanzi mezenchymálních stromálních buněk získaných z malých objemů kostní dřeně

Matějková Eva, Foltánková Veronika, Michálek Jaroslav, Bernardo Maria Ester *(Univerzitní centrum buněčné imunoterapie, Masarykova univerzita, Brno; Oncoematologia Pediatrica, Fondazione Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Policlinico San Matteo, Universitą di Pavia, Italy)*

V posledních několika letech je pozornost odborné veřejnosti zaměřena na kmenové buňky. Prekurzory nehematopoetické řady se nazývají mezenchymální stromální buňky (MCS), které jsou velkým příslibem na poli regenerativní medicíny nebo při léčbě mnoha typů (nejen) autoimunitních onemocnění. V našich experimentech jsme srovnávali dvě metody kultivace MSC, získaných z malých vzorků kostní dřeně pacientů s nehematoonkologickou diagnózou, s cílem komparace účinnosti destičkového lyzátu a fetálního bovinního séra. V šesti případech se jednalo o 2ml kostní dřeně z trepanobiopsie a ve čtyřech případech o výplach buněk zachycených v odběrových setech po odběru kostní dřeně zdravých dárců. Pro samotnou kultivaci bylo použito médium pro MSC obohacené 10% fetálním bovinním sérem (FBS) nebo 5% destičkovým lyzátem (PL). Lyzát byl připraven podle metodiky italského pracoviště. Buňky vykazovaly všechny hlavní charakteristiky spojované s MSC - shodnou morfologii, velikost i expresi povrchových markerů v obou typech kultur. Biologická funkčnost MSC byla testována pomocí jejich schopnosti diferenciace v osteoblasty a adipocyty. Imunologické vlastnosti byly ověřeny prostřednictvím smíšené leukocytární reakce, kdy byl prokázán jejich tlumivý efekt na aloreaktivní T lymfocyty. Podařilo se nám ověřit, že destičkový lyzát má vyšší účinnost než fetální bovinní sérum. Jedná se o perspektivní a bezpečný suplement pro kultivaci MSC zejména tam, kde máme omezené množství vstupního biologického materiálu. Tento projekt byl podpořen programem rektora Masarykovy univerzity pro podporu tvůrčí činnosti studentů č. 20081431E0021.

proLékaře.cz | 20.11.2026

1458.

Sledování exprese genů, které mají vliv na prognózu a rezistenci u pacientů s mnohočetným myelomem

Dudová Silvie, Sáblíková Barbora, Šváchová Hana, Michálek Jaroslav, Hájek Roman *(Univerzitní výzkumné centrum - Česká myelomová skupina, LF MU, Brno; Laboratoř experimentální hematologie a buněčné imunoterapie, OKH FN, Brno)*

Úvod: Mnohočetný myelom (MM) je nádorové onemocnění způsobené maligní transformací B-buněk, jejich klonální proliferací a akumulací plazmatických v kostní dřeni. Toto heterogenní onemocnění se vyznačuje rozdílnou prognózou a citlivostí k léčbě u jednotlivých pacientů. V souvislosti s rozvojem metod microarrays a real-time PCR jsou hledány souvislosti mezi expresí genů a předpovědí závažností onemocnění či rezistence k léčbě. Cílem naší práce bylo sledování exprese genů, které mohou mít vliv na prognózu, kostní léze a léčbu pacientů s MM. Metodika: Exprese genů byla sledována u plazmatických CD138+ buněk, které byly získány z kostní dřeně pacientů s MM pomocí magnetické separace na přístroji AutoMACS. Izolovaná celková RNA byla reverzní transkripcí přepsána do cDNA. Pro zlepšení záchytu všech genů byla před kvantitativní PCR zařazena preamplifikační reakce. Výsledky: K analýze genové exprese byly použity vzorky CD138+ buněk s čistotou minimálně 90%. Malé množství vstupního materiálu bylo namnoženo využitím preamplifikační reakce, která obohacuje cDNA o vybrané sekvence a tak poskytuje materiál pro následnou real-time PCR. Závěr: Byla stanovena exprese genů pomocí real-time PCR u 35 pacientů s MM. Naměřené rozdíly v aktivitě genů naznačují jejich roli při studiu patogeneze a možnost využití jejich sledování jako potencionálních markerů rezistence v klinické léčbě. Práce vznikla za podpory grantů: LC06027, MSM 0221622415.

1460.

Anemie, nedostatek železa a srdeční selhání

Sitarová Martina, Ševčíková Irena, Zvarová Marta *(Oddělení klinické hematologie, FN u Sv. Anny, Brno)*

V posledních letech řada studií prokázala, že výskyt anemie u pac. s chronickým srdečním selháním/ CHSS/ je častý a je spojen se zvýšeným rizikem mortality, morbidity a vyšší četností hospitalizací. Etiologie anemie u pacientů s CHSS je multifaktoriální. Studie u těchto pacientů prokázaly, že nejčastější příčinou anemie je nedostatek železa. Deficit železa, u pac. s anemií, ale i bez přítomnosti anemie, je spojen se sníženou transportní kapacitou 02 a horší tkáňovou oxidací, což vede k nižší toleranci zátěže a tím k horší kvalitě života. Dobrá znalost metabolismu železa, stanovení dg. jeho nedostatku a s tím spojené správné nastavení léčebné strategie, jsou nezbytné k dosažení optimální péče o pacienty se srdečním selháním a současně poruchou metabolismu železa. Jako jeden z možných terapeutických přístupů v léčbě je i.v. aplikace ferric carboxymaltosy, která je nyní předmětem zkoumání právě probíhajících studií/ FAIR-HF, EFFICACY-HF/. Předběžné výsledky ukazují zlepšení kardiálních funkcí pacientů, snížení výskytu kardiální symptomatologie, nárůst VO2max., zlepšení celkové výkonnosti, snížení četnosti hospitalizací a tím i kvality života, jak pacientů s anemii, tak i u pacientů bez přítomnosti anemie. Dále ukazují pokles natriuretických peptidů a zánětlivých markerů. Závěr: Anemie je významný rizikový faktor zvyšující mortalitu pacientů se srdečním selháním. Nedostatek železa je často podceňovanou příčinou anemie u CHSS. Vzniká tak potřeba upřesnění dg. kriterií deficitu železa u těchto pacientů s následně vhodně voleným terapetickým přístupem.

1494.

Projekt MGUS 2010: Prvá aplikácia registru monoklonálnych gamapatií

Sandecká Viera, Maisnar Vladimír, Radocha Jakub, Rybářová Renata, Ščudla Vlastimil, Bačovský Jaroslav, Hájková Margita, Gregora Evžen, Budková Jana, Straub Jan, Špička Ivan, Zounar René, Tóthová Elena, Bočková Jana, Mistrík Martin, Baculová Zuzana, Pelcová Jana, Hájek Roman *(IHOK FN, Brno II. Interní klinika-OKH, FN, Hradec Králové; III. Interní klinika LF a FN, Olomouc; OKH, FNKV, Praha; I. Interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha; Klinika Hematológie a onkohematológie LF LP a FN LP, Košice; Klinika hematológie a transfuziológie LF UK, SZU a FNsP, Bratislava)*

Úvod: MGUS- prvá známa prekanceróza. Diagnóza je stanovená na podklade prítomnosti monoklonálneho proteínu v moči alebo v sére pacienta a súčasne nie sú splnené diagnostické kritéria MM, WM, AL či iného lymfoproliferatívneho ochorenia. Ciele: Projekt pozostáva z 3 častí. Hlavným bodom prvej časti je zhromaždenie dat čo najvačšieho počtu pacientov s diagnózou MGUS. Do budúcnosti by tomu mohol napomôcť nový medzinárodný register monoklonálnych gamapatií –RMG register predstavený Českou myelómovou skupinou v roku 2007 (www.myeloma.cz). V súčasnosti sa do projektu zapojilo 5 centier vrámci ČR a 2 centrá zo SR s výsledným počtom 564 pacientov s diagnózou MGUS. K sprehľadneniu zhromaždených dat v registri slúži od januára 2009 vizualizácia. Okrem zhromažďovania dat v prvej časti prebehne aj retrospektívna analýza už známych rizikových faktorov malígnej tranformácie. Druhá časť bude pozostávať z genomickej a flowcytometrickej analýzy nových potencionálnych kľúčových faktorov malígnej transformácie s následným prospektívnym sledovaním. Tretia fáza bude edukačná a informatívna so socioekonomickým prínosom. Bude obsahovať výsledky, ktoré sa premietnu do jednotlivých doporučení. Pre osoby s benígnym typom MGUS to bude znamenať zásadné ukľudnenie a dispenzarizačnú minimalizáciu. Skupinu s malígnym typom MGUS budeme môcť zaťažiť experimentálnymi metódami. Záver: Pr-

proLékaře.cz | 20.11.2026

vým aplikovaným projektom vychádzajúcim z medzinárodného registru RMG Českej myelómovej skupiny je projekt MGUS 2010, ktorý má pomocou nástrojov genomiky a cytomiky ďalej upresniť rizikovosť progresie tejto prekancerózy do liečby vyžadujúceho nádorového ochorenia. S podporou NR 9225-3, LC06027 MŠMT.

1521.
Happy end se špatným koncem
- místo těžké hemofílie trombóza ohrožující život

Votava Tomáš, Černá Zdeňka, Doležalová Lenka, Sládková Eva, Kastner Jan *(Dětská klinika, FN Plzeň; Radiodiagnostická klinika, FN Plzeň)*

Kasuistika 3,5 měsíčního chlapce s masivním ischemickým iktem u něhož byla dle prenatálního vyšetření očekávána těžká forma hemofilie A. Již prenatálně bylo kontaktováno naše pracoviště, protože bratr matky probanda byl těžký hemofilik A. Matka byla molekulárně genetickým vyšetřením označena za pravděpodobnou přenašečku hemofilie. Kauzální mutace však v rodině zatím nebyla zjištěna. Ve 12. týdnu těhotenství bylo provedeno vyšetření choriových klků a bylo zjištěno mužské pohlaví plodu. V referenční laboratoři bylo provedeno vyšetření informativního intragenového polymorfismu VNTR v intronu 22 se závěrem, že plod má stejnou alelu jako bratr matky s hemofilií a měl by být těžký hemofilik. I přes tuto informaci se rodiče rozhodli v graviditě pokračovat. Porod proběhl sekcí v termínu, poporodní adaptace byla dobrá, chlapec byl bez známek krvácivé diatézy, hladiny FVIII 158-198%, hemofilie byla tímto vyloučena. Ve věku 3,5 měsíce však chlapec prodělal těžký ischemický iktus, proto byl dovyšetřen na trombofilní stavy a byla zjištěna přítomnost Leidenské mutace v genu pro faktor V v heterozygotním stavu, mutace A13G v genu pro protein Z v heterozygotním stavu a bodové mutace 4G/4G v genu PAI1 v homozygotním stavu. Přítomností těchto mutací v kombinaci s vyšší hladinou faktoru VIII si vysvětlujeme přítomnost iktu v tomto jinak netypickém věku. Tento atypický průběh klinického vývoje nás vede k otázce, zda hemofilici nemají určitý přirozený, obranný“ mechanismus ve směru podpory trombogeneze?

1535.
Srovnání dvou metod pro hodnocení přežití a proliferace lymfocytů v autologní smíšené lymfocytární reakci s dendritickými buňkami pacientů s CLL: inkorporace 3H-thymidinu a diferenciálního gatingu

Veselá Romana, Doležalová Ludmila, Pytlík Robert *(1. interní klinika VFN a 1. LF UK, Praha; ÚHKT, Praha)*

Dendritické buňky (DC) jsou velmi účinné antigen prezentující buňky vyvolávající specifickou imunitní reakci organismu stimulací B a T lymfocytů. Smíšená lymfocytární reakce (MLR) T-lymfocytů s dendritickými buňkami je tedy jedním ze základních nástrojů studia imunologických mechanismů. Inkorporace 3H-thymidinu, běžně užívaná metoda pro stanovení proliferace T-lymfocytů, je vhodná především ke kontrole funkčnosti DC, ale poskytuje jen málo informací o vlastním přežívání či proliferaci T-lymfocytů. Pro kvantitativní analýzu proliferace T-lymfocytů se jeví mnohem vhodnější metoda průtokové cytometrie a diferenciálního gatingu. Ta je založena na časově omezené akvizici událostí a na jejich rozdělení podle hodnot forward a side scatteru. Gatovány jsou populace všech živých buněk, všech živých neproliferujících buněk a také populace mrtvých/apoptotických buněk. Obě metody dobře korelují, což je v souladu s počáteční hypotézou. Obě studované metody navíc korelují s procentem buněk pozitivních na aktivační/proliferační marker CD71. Jak metoda inkorporace 3H-thymidinu, tak metoda diferenciálního gatingu se osvědčili, poskytují rychlé a dobře reprodukovatelné výsledky. Vzhledem k tomu, že metoda diferenciálního gatingu ve své základní podobě nevyžaduje užití žádné fluorescenční protilátky a umožňuje tedy rychlý a levný screening velkého množství vzorků bez použití radioaktivně značených nukleotidů, je velmi vhodná pro budoucí klinické využití. Podpořeno: MSM 0021620808