

9. NÁRODNÍ AFERETICKÝ DEN

13 DÁRCOVSTVÍ KRVETVORNÝCH BUNĚK

Švarcová J., Březinová L.

Český registr dárců krvetvorných buněk, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Registr dárců krvetvorných buněk získává a eviduje zdravé dobrovolníky ochotné darovat krvetvorné buňky nepřibuznému pacientovi. Celosvětově je propojeno více než 60 registrů a každodenně probíhá jejich vzájemná komunikace. V registrech je evidováno více než 27 milionů dárců, což je necelé 1% dospělé populace.

Český registr dárců krvetvorných buněk eviduje více než 24 tisíc dárců. Při jejich náboru úzce spolupracuje s transfuzními stanicemi. Dárci krve jsou svou dárcovskou zkušeností a pravidelným zdravotním dohledem ideálními kandidáty. Skrze transfuzní stanice vstupuje do registru více než 2/3 dárců.

Dárci jsou v databázi registru evidováni do 55 let věku. Během této doby mohou být kdykoli, na základě předběžné shody své HLA typizace s typizací konkrétního pacienta, žádáni o podrobnější testování HLA znaků a v případě potvrzení potřebné shody o odběr krvetvorných buněk. Z celkového počtu dárců v registru samotný odběr krvetvorných buněk podstoupí max. 0,5 %.

Odběr krvetvorných buněk se provádí dvěma způsoby, operačním odběrem kostní dřeně nebo metodou separace stimulovaných krvetvorných buněk. Typ odběru závisí na požadavku transplantčního centra a zdravotním stavu dárce, který má však konečné právo ne/souhlasit se způsobem odběru.

Odběr krvetvorných buněk je pro dárce fyzickou, psychickou i časovou zátěží. Snahou koordinátorů registru je tuto zátěž dárce co nejvíce ulehčit. Registr zajišťuje také kontroly dárce po odběru a případnou anonymní komunikaci mezi dárce a příjemcem.

14 SEPARACE HAPLOIDENTICKÝCH DÁRCŮ PBPC (2 ROKY ZKUŠENOSTÍ AO ÚHKT)

Böhmová M., Bhuiyan-Ludvíková Z., Slouková M., Špičková J., Gašová Z.

Aferetické oddělení, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod. V roce 2014 se v ÚHKT zahájil program haploidentických transplantací PBPC od rodinných dárců. Tento typ transplantace se indikuje v případech, kdy v rodině ani v registru dárců není pro pacienta nalezen vhodný HLA shodný dárce.

Dárci a metody. Předkládáme soubor 24 rodinných dárců PBPC, separovaných za období 6/2014–4/2016. U každého dárce jsme hodnotili předseparačně vyšetření krevního obrazu a počet CD 34+ buněk v periferní krvi, po separaci vyšetření krevního obrazu a počet CD 34+ buněk v koncentrátu PBPC. Dále jsme sledovali počet dárců v jednotlivých letech, počet výkonů u jednotlivých dárců, příbuzenský vztah k nemocnému, pohlaví, věk, žilní přístup a parametry jednotlivých výkonů: typ přístroje, režim separace, dobu trvání výkonu, množství zpracované krve, množství použitého ACD-A a Heparinu, komplikace. Výsledky separačních parametrů a výsledky KO a FCM uvádíme v mediánech a jejich intervalech.

Výsledky a závěr. Za sledované období jsme provedli 29 výkonů u 24 rodinných dárců na přístrojích Cobe Spectra a Spectra Optia, Terumo, u 14 mužů a 10 žen. Dárce bylo nejčastěji dítě nemocného rodiče, nejčastěji ve věku 30–40 let. 25 výkonů bylo provedeno v režimu LVL. U 4 dárců bylo nutno zavést centrální žilní katetr pro nevyhovující žilní přístup. Doba trvání výkonu byla 219 minut (142–266), množství zpracované krve 15146 ml (8148–21022). Objem produktu činil 182 ml (114–242) a počet CD 34+ buněk v koncentrátu PBPC na kg příjemce v 1 vaku $6,42 \times 10^6$ (0,9–38,8). Tato dávka byla vyšší než dávka požadovaná (5×10^6), u 21 dárců byla zapotřebí 1 separace, 2 separace musely podstoupit pouze 3 dárkyně. Nejčastější komplikací během výkonu byla hypokalcemie u 5 dárců, k závažnějšímu poklesu počtu trombocytů po výkonu došlo u 2 dárců. Počet separací haploidentických rodinných dárců se postupně zvyšuje, velký nárůst počtu separací pozorujeme od začátku roku 2016.

15 PŘÍPRAVA KRVETVORNÝCH BUNĚK ZA POMOCI NOVÉ SEPARAČNÍ TECHNIKY - SPECTRA OPTIA

Gašová Z.¹, Vacková B.², Bhuiyan-Ludvíková Z.¹, Böhmová M.¹, Slouková M.¹, Špičková J.¹

¹Aferetické oddělení, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

²1. interní hematologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

Úvod. V r. 1992 jsme v ÚHKT zavedli separace kmenových krvetvorných buněk z periferní krve (PBPC/PBSC) za pomoci přístrojů Cobe Spectra. Nejprve jsme prováděli standardní separace s přípravou vyhovující dávky CD 34+ buněk pro transplantaci. Postupně jsme zavedli účinnější „velkoobjemovou techniku (LVL,

large volume leukapheresis“), která pomohla připravit vyšší dávky CD 34+ buněk než standardní režim, vedla k snížení počtu separací a umožnila připravit potřebnou dávku buněk i u pacientů s nedostatečnou mobilizací. V průběhu LVL výkonů jsme nezaznamenali žádné závažné komplikace, a proto jsme je začali provádět rutinně ve všech situacích, kdy je dárci nebo pacienti mohli tolerovat.

Cíl. V r. 2015 výrobce ukončil podporu těchto přístrojů a bylo nezbytné zavést přípravu PBPC za pomoci nové techniky. Potřebovali jsme urychleně získat zkušenosti s novými separátory a připravit minimálně stejně kvalitní štěpy pro transplantace, včetně záruky rychlého a dlouhodobého příhojení transplantovaných buněk.

Na našem pracovišti jsme v r. 2015 zahájili separace na přístroji Spectra Optia, Terumo, v. 11 pro kontinuální poloautomatizovanou separaci PBPC. Hodnotili jsme výsledky separací PBPC u pacientů s hematologickými maligními onemocněními, kteří byli separováni na přístrojích Cobe Spectra a Spectra Optia. Posuzovali jsme výsledky: (a) jen dobře mobilizovaných pacientů s předseparační koncentrací CD 34+ buněk v krvi vyšší než 20 v μl , (b) pouze prvních separací provedených buď na přístrojích Cobe Spectra nebo Spectra Optia, (c) za použití LVL režimu. U následně transplantovaných pacientů (d) jsme ověřovali funkční vlastnosti podaného štěpu za pomoci sledování doby příhojení v počtu neutrofilních leukocytů a trombocytů.

Metody. Zhodnotili jsme výsledky 52 autologních LVL separací PBPC. V průběhu LVL jsme zpracovali více než 3 objemy krve pacientů. Antikoagulace se prováděla za pomoci kombinace ACD – A a heparinu. Na přístrojích Cobe Spectra jsme separovali 18 pacientů, na přístrojích Spectra Optia bylo separováno 34 pacientů. Pacienti měli srovnatelnou předseparační koncentrací CD 34+ buněk v krvi – u Cobe 77 (20–629) v μl , u Optia 80 (24–716) v μl . K transplantaci bylo třeba připravit dávku CD 34+ buněk vyšší než $5 \times 10^6/\text{kg}$ příjemce. Připravené buňky byly podány 44 pacientům po aplikaci vysokodávkované chemoterapie.

Výsledky a diskuse. U pacientů s dobrou mobilizací jsme z jedné LVL separace na Cobe připravili dávku CD 34+ buněk: $8,8 (2-86) \times 10^6/\text{kg}$, zatímco u přístroje Optia jsme připravili vyšší dávku CD 34+ buněk: $11 (2-61) \times 10^6/\text{kg}$. Přípravky z obou typů přístrojů obsahovaly srovnatelné počty mononukleárních buněk a erytrocytů, avšak znamenali jsme výrazný rozdíl v obsahu trombocytů: Cobe $3,2 (1,5-6,3) \times 10^{11}$ a Optia $1,8 (0,6-3,5) \times 10^{11}$. U 44 transplantovaných pacientů činila doba příhojení štěpů v počtu neutrofilních leukocytů vyšším než $0,5 \times (10^9/\text{l})$ u Cobe 11 (8–12) dnů a u Optia 11 (8–13) dnů. Doba příhojení sledovaná vyšším počtem trombocytů než 20,

resp. $50 \times (10^9/\text{l})$ činila pro Cobe 11 (9–17), resp. 13 (11–35) dnů a pro Optii 11 (9–15), resp. 14 (9–23) dnů.

Závěr. Z výsledků autologních separací PBPC za pomoci Cobe Spectra a nově nastupující generace Spectra Optia lze uzavřít, že oba typy přístrojů jsou vhodné pro provádění LVL separací a umožňují připravit vysoké dávky CD 34+ buněk pro transplantaci. Obsah CD 34+ buněk v přípravcích z (a) Optia byl vyšší než z Cobe; (b) přípravky byly srovnatelné v obsahu mononukleárních buněk a v obsahu přimísených erytrocytů; (c) v přípravcích z Optia jsme zachytili výrazně nižší obsah trombocytů; (d) doby příhojení po podání štěpů z obou typů přístrojů jsou srovnatelné. V průběhu separací jsme nepozorovali žádné závažné komplikace.

16 ZPRACOVÁNÍ ŠTĚPŮ KOSTNÍ DŘENĚ – VALIDACE POSTUPŮ

Németová D.¹, Rahmatová Š.¹, Auerová M.¹, Lukášková H.¹, Špoljaričová I.¹, Žižková H.¹, Kalina T.²
¹Oddělení buněčné terapie, transfuzní úsek ÚHK, Praha
²Laboratoř CLIP, KDHO UK, 2. LF a FN Motol, Praha

Jednotlivé manipulace se štěpem kostní dřeně (redukce erytrocytů/redukce objemu) se provádí na požádání transplantčního centra. Redukce erytrocytů sedimentací se provádí u alogenních kostních dření při velké neshodě v AB0 systému nebo při malé neshodě v případě, že má příjemce vysoké titry protilátke proti erytrocytárním antigenům a vždy před kryokonzervací. U autologních kostních dření před kryokonzervací. Redukce objemu se provádí u malé neshody v AB0 systému nebo u příjemců s nízkou hmotností. Cílem těchto validací bylo prokázat, že navržený postup nezpůsobuje výraznou ztrátu kmenových buněk nutných k transplantaci, a tak minimalizovat riziko pro příjemce.

Z původní kostní dřeně byl odebrán vzorek na stanovení sterility a stanoven celkový počet jaderných buněk (WBC) a erytrocytů (RBC), počet CD34+ a CD3+ buněk a viabilita WBC a CD34+.

Z produktu určeného k podání (po redukcii erytrocytů nebo redukcii objemu) se kromě vzorku na stanovení buněčnosti a viability WBC odebral vzorek na stanovení povrchových znaků hemopoetických buněk (CD3+, CD34+ a viability CD34+), na kultivační vyšetření hemopoetických prekurzorů a na stanovení sterility. Pro kontrolu plazmy po centrifugaci se ještě odebral vzorek na stanovení počtu WBC.

Detailnější postupy manipulace se štěpem kostní dřeně budou prezentovány.

Redukce erytrocytů. Průměrná hodnota výtěžnosti WBC byla 80,04 % (63,48 – 92,68 %). Nižší minimální

hodnoty výtěžnosti jaderných buněk tj. vyšší ztráta WBC byly způsobeny snahou co nejvíce odstranit RBC vzhledem vysokému titru protilátek při inkompatibilitě v ABO systému. Průměrná hodnota výtěžnosti CD34+ buněk po sedimentaci byla 89,30 % (62,97 – 112,19%) a CD3+ buněk 81,37 %. **Průměrná hodnota redukce erytrocytů byla 79,9 % (62,23 – 95,18 %).**

Redukce objemu. Vzhledem k tomu, že průměrná výtěžnost WBC a CD34+ buněk po depleci plazmy byla velmi vysoká tj. 95,8 % a 100,62 %, můžeme zhodnotit, že deplecí plazmy nedochází k téměř žádným ztrátám jaderných buněk a hemopoetických kmenových buněk. Z toho důvodu **není nutnost stanovovat buněčnost a povrchové znaky hemopoetických buněk CD34+ a CD3+ i po depleci plazmy.**

17 EXTRAKORPORÁLNÍ FOTOHEMOTERAPIE U NEMOCNÝCH S GVHD A S CTCL 2010-2016

Gašová Z., Böhmová M., Bhuiyan-Ludvíková Z., Válková V., Marková M., Slouková M., Vítek A.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod. Extrakorporální fotochemoterapie (ECP) je moderní postup, který je účinný v terapii onemocnění, na jejichž patogenezi se podílejí T-lymfocyty – např. kožní lymfomy z T lymfocytů (CTCL) a akutní a chronická reakce štěpu proti hostiteli (aGVHD, cGVHD). V průběhu ECP se nejprve za pomoci techniky hemaferézy separují mononukleární buňky (MNC) pacienta. Buňky se následně ošetří fotosenzibilizující látkou 8-methoxypsoralenem (8-MOP, koncentrace 200 ng/ml) a ozáří UV-A zářením (vlnová délka 320 až 400 nm, dávka 2 J/cm²). Koncentrát MNC se poté transfunduje zpět do cirkulace pacienta.

Cíl. ECP lze provádět buď za pomoci jednoúčelového zařízení pro separaci a fotomodifikaci buněk nebo za pomoci dvou nezávislých zařízení pro separaci a fotomodifikaci buněk, tzv. „off line“ metoda. V ÚHKT jsme zavedli „off line“ ECP do terapie pacientů s CTCL a s GVHD již v r. 1998. Nejprve jsme používali upravený UV-A ozařovač, který byl původně určený pro PUVA terapii. Postupně, tak jak stoupala poptávka po terapii, jsme v r. 2010 zavedli certifikovaný UV-A přístroj Macogenic, Macopharma. Cílem naší práce bylo posouzení výsledků ECP u pacientů s aGVHD a cGVHD a u pacientů s CTCL v období od r. 2010 do r. 2016.

Metody. Do sledovaného souboru jsme zahrnuli pacienty, u nichž jsme provedli více než 10 výkonů ECP. Hodnotili jsme výsledky ECP u 24 pacientů, u nichž jsme provedli celkem 1230 výkonů. Ověřovali jsme efekt terapie u 5 pacientů s aGVHD (GIT – střevní forma, játra, kůže, Gr. II.-III.); u 14 pacientů s cGVHD

(kůže, dutina ústní, očí, plíce, játra a střevo, Gr. I-III); u 2 pacientů s overlap GVHD a u 3 pacientů s CTCL/ Mycosis fungoides/Sézaryho syndrom. Vyhodnotili jsme výsledky 102 autologních separací MNC za pomoci Optia Spectra, v. 11 (Terumo, automatizovaný protokol, sběr buněk v cyklech, 2015). V průběhu výkonů se zpracovaly 1,6 násobky (0,8-1,9) celkového objemu krve pacientů. K antikoagulaci se používal ACD-A (cca 4%). U pacientů s GVHD činila frekvence ECP 2-3 výkony v týdnu nebo každý druhý týden. U pacientů s CTCL se první 3 měsíce prováděly 4 výkony za měsíc, postupně se jejich frekvence snižovala na 2 výkony za měsíc (Doporučení ASFA, 2013).

Výsledky a diskuse. V přípravných MNC bylo obsaženo 7,4 (0,4-21,6)×10⁹ leukocytů, obsah MNC činil 81 (24-96) %, obsah monocytů 40 (6-64)%, HbC 5 (1,6-13) g/l, HTK 1,8 (0,7-5,4)% a obsah trombocytů 1,1 (0,1-3,1)×10⁹. Koncentrace 8-MOP v přípravných činila 209 (138-508) ng/ml (HPLC). V průběhu fotomodifikace MNC došlo k poklesu PHA indukované proliferace (TBTL) na 5 (1-23)%. V průběhu ECP došlo u 5 pacientů s aGVHD ve všech případech k terapeutické odpovědi a k vymizení projevů onemocnění. U 14 pacientů s cGVHD jsme zaznamenali v 9 případech terapeutickou odpověď s ukončením ECP. U 5 pacientů s cGVHD byla odpověď částečná. Dva pacienti s těžkou overlap GVHD byli rezistentní na terapii ECP a imunosupresi. U pacientů s CTCL/Mycois fungoides nastala u 1 pacientky remise, u 2 zbývajících pacientů nedošlo k dostatečné odpovědi a ECP byly ukončeny. Ve sledovaném souboru jsme zaznamenali exitus u 7 z 24 pacientů: 2 pacienti s aGVHD, 2 pacienti s cGVHD, oba pacienti s overlap GVHD a 1 pacient s CTCL. Příčinou byly závažné infekční komplikace, septický stav, pneumonie s respiračním selháním a relaps základního onemocnění. Ostatní pacienti jsou sledováni a efekt ECP se postupně vyhodnocuje.

Závěr. Extrakorporální fotochemoterapie představuje účinný a bezpečný terapeutický postup, který má vliv na modulaci imunitního systému, avšak nevyvolává generalizovanou imunodepresi. Má vliv na zlepšení kvality života pacientů. V průběhu ECP jsme nepozorovali zvýšený výskyt nežádoucích reakcí ani závažné infekční komplikace.

18 LÉČEBNÉ ERYTROCYTAFERÉZY NA SEPARÁTORU SPECTRA OPTIA

Lejdarová H., Hohlová S.

Transfuzní a tkáňové oddělení, Fakultní nemocnice Brno

Úvod. Léčebná erythrocytaferéza je deplečním aferetickým výkonem, jehož cílem je redukce nadbytku že-

leza u pacientů s hereditární hemochromatózou, popř. sekundární hemosiderózou nebo úprava reologických poměrů odstraněním patologicky zmnožených erytrocytů u pacientů s myeloproliferativním onemocněním typu polycythemia vera či sekundární erytrocytózou. Alternativou tohoto výkonu je léčebná venepunkce, která však nedosahuje efektivity aferetických výkonů a dochází při ní ke ztrátám složek krve, které zmnoženy nejsou.

Metodika. V období leden 2015 až květen 2016 bylo provedeno na TTO FN Brno 83 léčebných erytrocytaferéz u 22 pacientů na separátoru Spectra Optia. U 11 pacientů byla indikací k výkonu hereditární hemochromatóza, u 10 myeloproliferativní onemocnění typu polycythemia vera a v 1 případě šlo o sekundární erytrocytózu při plicní angiodysplázii. Kontinuální způsob odběru umožňuje rychlé provedení procedury, řízení průběhu separace s nastavitelnou bilancí tekutin udržuje v cirkulaci pacienta izovolemii bez nežádoucích výkyvů tlaku. Určitým limitem u některých pacientů může být nutnost dobrého žilního přístupu na obou horních končetinách. Žádný z odeslaných pacientů však nebyl odmítnut pro nevyhovující žilní přístup. Retrospektivní analýzou byly dosažené výsledky srovnány ve vybraných parametrech se 79 procedurami provedenými na separátoru Haemonetics MCS+ v letech 2009–2010.

Výsledky. Délka výkonu na přístroji Spectra Optia se pohybovala od 7 do 25 minut podle množství odebíraného objemu a zvolené rychlosti. Při jednotlivých procedurách bylo odebráno 205–788 ml erytrocytů. Nežádoucí reakci jsme zaznamenali pouze jednou, jednalo se o předčasné ukončení procedury pro intenzivní bolest paže. Ve dvou případech pacientů s hereditární hemochromatózou byla léčba komplikována současným výskytem megaloblastové anémie. Odběry srovnatelného množství erytrocytů na separátoru Haemonetics MCS+ trvaly od 30 do 80 minut. Nežádoucí reakci jsme u tohoto souboru pacientů zaznamenali celkem 6x. Ve čtyřech případech se jednalo o projevy citrátové toxicity, ve dvou případech o nevolnost během odběru.

Závěr. Léčebné erytrocytaferézy na separátoru Spectra Optia umožňují efektivní, vysoce cílený a dobře hodnotitelný způsob léčby výše uvedených skupin pacientů. Výhodou kontinuálního systému s nastavitelnou bilancí tekutin je rychlost a výborná snášenlivost s minimem nežádoucích reakcí. Počet indikací z těchto důvodů ve FN Brno stále narůstá. Výkony provedené na přístroji Haemonetics MCS+ byly časově náročnější a vykazovaly větší počet nežádoucích reakcí, což souvisí s diskontinuálním způsobem odběru. Léčebné venepunkce jsou, i přes nízké náklady, vyhrazeny ve FN Brno pouze pacientům, kteří nemají odpovídající

stav periferních žil nebo je u nich aferetický výkon kontraindikován.

19 HEREDITÁRNÍ HEMOCHROMATÓZA

Váchová K., Zimová M., Štolba P.

Transfuzní oddělení, Krajská zdravotní, a. s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

Úvod. Hereditární hemochromatóza je onemocnění, jehož příčinou je nadměrné vstřebávání železa, které se vymyká fyziologické regulaci. Důsledkem je pak ukládání přebytečného železa v orgánech a tkáních s jejich následným poškozením.

U většiny nemocných s dědičnou hemochromatózou byla prokázána defektní funkce proteinu dědičné hemochromatózy (HFE proteinu). Nejčastější mutací, která postihuje cca 85 % nemocných u typu I, je záměna jedné baze G845A.

V klinickém obraze hemochromatózy dominuje slabost a únava, jaterní léze, diabetes mellitus, pigmentace kůže, kardiomyopatie, artropatie a hypogonadismus. Fyzikální nález u mladších nemocných může být zcela v normě. Později se mohou objevit různé vyjádřené známky hepatomegalie, kožní pigmentace (bronzová nebo šedivá barva), pavoučkové névy, splenomegalie, artropatie (artritidy II. a III. MCP, ale i postižení kolenních, kyčelních a ramenních kloubů), ascites, arytmie, kardiální insuficience, hypotrichóza, atrofie varlat, gynekomastie a ikterus. U tohoto onemocnění je až 200x vyšší výskyt karcinomu jater.

Základní léčbu představují *krevní odběry*, jejichž snahou je dosažení redukce zásob železa až k dolní hranici normy, ať již *venepunkčními režimy* či erytrocytaferézami (léčebné cytoredukční).

Metodika. Na našem pracovišti bylo léčeno erytrocytaferézou 25 pacientů s diagnózou hereditární hemochromatóza, z toho 84 % tvořili muži a 16 % ženy. Na základě vstupních hodnot koncentrace ferritinu se provádějí léčebné erytrocytaferézy v intervalu cca 1x za 14 dní, pokud to umožňuje dostatečná koncentrace hemoglobinu. Snahou je se co nejdříve přiblížit k hodnotám ferritinu < 50 µg/l. Poté jsou pacienti zváni k odběru obvykle 1–3x opět na podkladě hodnot ferritinu. Odběry byly prováděny na separátorech krevních složek MCS+ a Trima Accel.

Sledovali jsme objem odebraných erytrocytů k dosažení koncentrace ferritinu < 50 µg/l. Uvádíme 2 kauzistiky pacientů s hereditární hemochromatózou.

Výsledky. U 15 z 25 pacientů byl dosažen požadovaný limit koncentrace ferritinu, 6 pacientů jsou teprve ve stadiu „útočné“ terapie, 2 nedosáhli dané hranice vzhledem k úmrtí (komplikace spojené s jaterní cirhó-

zou a tumorové onemocnění), 1 pacient po snížení hodnoty svého vstupního ferritinu z 5421 µg/l na 3162 µg/l se již nedostavil k dalšímu výkonu. Jeden pacient byl přechodně léčen venepunkcemi i preparátem Exjade, ale vzhledem k nežádoucím účinkům bylo od této léčby ustoupeno. Rozpětí vstupního ferritinu u pacientů našeho souboru bylo 234,8–5421 µg/l, počet provedených erythrocytaferéz potřebných k dosažení limitních hodnot koncentrace ferritinu činil 2–70. Nejmenší odebrané celkové množství k dosažení hranice koncentrace ferritinu pod 50 µg/l bylo 825 ml erytrocytů a nejvíce 32 900 ml erytrocytů.

Kazuistika 1. Muž, 59 let. Artritida falangometakarpálního kloubu 2. prstu PHK, elevace jaterních testů. Vstupní data: S-Ferritin 4344 µg/l, S-Fe 40,30 µmol/l, TIBC 40,1 µmol/l (2/08). Genetické vyšetření – homozygot pro mutace HFE C282Y. Od 3. 3. 2008 provedeno 75 erythrocytaferéz na přístroji Trima Accel s průměrem odebraného množství 496 ml. V 5/2016 ferritin 21,3 µg/l, S-Fe 7,3 µmol/l transferin 2,24 g/l. Bez nežádoucích příhod spojených s odběrem.

Kazuistika 2. Muž, 56 let. Elevace jaterních testů, arteriální hypertenze, st.p. operaci stenózy plicnice. Vstupní data: S-Ferritin 1841 µg/l, S-Fe 46,8 µmol/l, transferin 2,08 g/l (1/2011).

Genetické vyšetření – homozygot pro mutace HFE C282Y. Od 15. 4. 2011 prováděny erythrocytaferézy na přístroji Trima Accel, celkem 23 s průměrem odebraného množství 539 ml. V 9/2015 ferritin 92,9 µg/l, S-Fe 37,9 µmol/l. Bez nežádoucích příhod spojených s odběrem.

Závěr. Léčebná erythrocytaferéza je prokazatelně účinnou metodou nekauzální léčby hereditární hemochromatózy, která u většiny pacientů umožňuje dosáhnout a udržet doporučené hodnoty koncentrace ferritinu.

20 TPE U AUTOIMUNITNÍ ENCEFALITIDY (ANTINMDAR) - KAZUISTIKA

Blahutová Š.^{1,2}, Hrdličková R.^{1,2}, Slonková J.³, Čermáková Z.^{1,2}

¹Krevní centrum, ²Fakultní nemocnice Ostrava, ³Lékařská fakulta, ⁴Katedra biomedicínských oborů, ⁵Ústav laboratorní hematologie a transfuziologie, ⁶Ostravská univerzita v Ostravě, ⁷Neurologická klinika, ⁸Fakultní nemocnice Ostrava

Úvod. Autoimunitní encefalitidy (AIE) jsou akutní či subakutní monofázická nebo progresivní zánětlivá onemocnění CNS podmíněná autoimunitními mechanismy (působením patogenních autoprotilátek nebo autoagresivních efektorových buněk). Mezi autoimunitní encefalitidy lze řadit klasické paraneoplastické syndromy s postižením CNS, limbické encefaliti-

dy, encefalitidy s protilátkami proti glutamátovým N-metyl-D-aspartátovým receptorům (anti-NMDAR), Morvanův syndrom, Rasmussenovu encefalitudu, onemocnění z okruhu Stiff-Person syndromu včetně progresivní encefalomyelitidy s rigiditou a myoklonem, akutní autoimunitně podmíněné extrapyramidové poruchy hybnosti a další. Léčbu AIE lze rozdělit na symptomatickou terapii, imunoterapii a onkologickou léčbu (u paraneoplastických syndromů). Imunoterapii lze rozdělit na léčebné postupy 1. a 2. linie. Léčba první linie je zaměřena na eliminaci a snížení produkce protilátek a zahrnuje kortikosteroidy (KS), intravenózní imunoglobuliny (IVIg) a eliminační metody. V současné době neexistují randomizované studie prokazující vyšší účinnost IVIg nebo eliminačních metod. Racionálním přístupem je volba takové léčby, s níž má dané pracoviště dostatečné zkušenosti, aby bylo minimalizováno riziko komplikací. Léčba druhé linie zahrnuje cytostatika a imunoterapie monoklonálními protilátkami.

Dle ASFA 2013 6th Edition jsou výměnné léčebné plazmaferézy (TPE) doporučovány u paraneoplastických neurologických syndromů i u Stiff-Personova syndromu v Category III, Grade 2C.

Metodika. Popisujeme kazuistiku 17leté dívky s negativní osobní a rodinnou anamnézou. Počátek onemocnění 12/2012, kdy v rámci plánované návštěvy Afriky, byla imunizována proti žluté zimnici a užila 1 tabletu mefloquinu pro prevenci malárie. Během cesty febrilní, prodělala v zahraničí sérii epileptických záchvatů – opakovaně záškuby levostranných končetin se sekundární generalizací. Léčena kortikoidy a benzodiazepiny asi 24 h v nemocnici, CT mozku negativní. Následně rozvoj psychiatrických příznaků až do obrazu generalizované katatonie s pobytem na psychiatrickém oddělení již v ČR. Nejprve byly potíže připisovány nežádoucím účinkům mefloquinu, ale po přechodném období zlepšení se akcentoval výrazný kognitivní deficit, probíhaly klinické simplexní senzitivní až komplexní parciální záchvatové stavy. MR mozku neprokázalo patologii. Na podzim 2013 byla pro následný rozvoj expresivní afázie konziliárně vyšetřena ve FN Motol a lumbální punkcí byla potvrzena pozitivita anti-NMDAr protilátek v séru i likvoru. K antipsychotikům byla přidána antiepileptika, byl aplikován bolus kortikoidů s přechodem na udržovací per os dávku. K další diagnostice (elektroencefalografie-EEG, video-EEG) a terapii, včetně provedení série TPE, přeložena na Neurologickou kliniku FN Ostrava

Výsledky. Pacientka objektivně – 162 cm, 56 kg. Série TPE v Krevním centru FN Ostrava zahájena 11/2013

- na separátoru Fresenius Com.Tec, za substituce fyziologického roztoku a 5% albuminu, s cílem výměny 1,0 x TPV (Total Plasma Volume), výkon předčasně ukončen pro insuficientní periferní žilní přístup, vyměněno pouze 0,4 x TPV. Další TPE již přes CVK, celkem 5x, ob den, vyměněn 1,0 TPV (2065–2245 ml/ TPE, doba separace 75–95 min), bez komplikací. TPE s klinickým efektem – zlepšena fluence řeči. V další dispenzarizaci velmi pozvolná redukce farmakoterapie, pozorováno zlepšení kognitivních funkcí, vč. školního prospěchu. Onkologickým vyšetřením nebyl nalezen teratom ovaria.

Závěr. Anti-NMDAR a limbické autoimunitní encefalitidy mají relativně vyšší prevalenci, a to zvláště u mladých žen. Dobrou prognózu mají jen při včasné diagnostice a dostatečně účinné terapii, včetně agresivní imunoterapie. Správně indikovaná TPE může být jedním ze střípků terapeutického úspěchu.

21 REOFERÉZA – KLINICKÝ VÝZNAM REOLOGICKÝCH, TECHNICKÝCH A DALŠÍCH UKAZATELŮ ÚČINNOSTI

Lánská M., Bláha M.

IV. Interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Úvod. Reologie krve je úzce spjata s mikrocirkulací. Průtok krve mikrocirkulací je charakterizován stavem cév a reologickými charakteristikami krve. V léčebném ovlivnění reologických vlastností krve přinesly největší uplatnění až aferetické metody, zejména diferenční neboli kaskádová filtrace plazmy. Reoferéza je modifikace membránové diferenční filtrace plazmy, kdy se používá speciální sekundární filtr, který z protékající plazmy eliminuje exaktně definované spektrum proteinů s vysokou molekulární hmotností (fibrinogen, alfa-2-makroglobulin, imunoglobulin M, LDL cholesterol, vonWillebrandův faktor, trombomodulin, fibronectin). Eliminace těchto proteinů vede ke snížení krevní i plazmatické viskozity, výsledkem je zlepšení krevního průtoku v mikrocirkulaci. Reoferéza byla v rámci studií využita zejména u věkem podmíněné makulární degenerace sítnice (VPMD) a náhlé idiopatické ztráty sluchu (sudden idiopathic sensorineural hearing loss – SISHL). Věkem podmíněná makulární degenerace sítnice (VPMD) je degenerativní onemocnění sítnice, způsobující progresivní změny vízu pacientů. Náhlá ztráta sluchu (SISHL) je nejčastěji definována jako náhlá ztráta sluchu nejméně o 30 dB ve 3 sousedících frekvencích v tónové prahové audiometrii. Nežádoucí účinky reoferézy jsou většinou identické s jinými

aferetickými metodami. Specifickou komplikací, se kterou se setkáváme u výkonů se sekundární filtrací plazmy, je bradykininová reakce u pacientů, kteří užívají ACE-inhibitory a projevuje se zarudnutím, hypotenzí, bradykardií a dušností. Cílem naší práce bylo ověřit vliv reoferézy na reologické parametry a zejména zhodnotit efekt léčby reoferézou u pacientů s VPMD a SISHL.

Metodika. Na našem pracovišti provádíme léčbu reoferézou již od roku 2003. V našem souboru hodnotíme efekt i reologické parametry celkem u 101 pacientů (p.). 67 pacientů bylo léčeno pro VPMD (38 žen, 29 mužů) a 34 p. s SISHL (12 žen a 22 mužů). Reoferézu provádíme kaskádovou filtrací. Separace plazmy probíhá pomocí separátoru Cobe Spectra nebo Spectra Optia (Terumo BCT, USA), následně plazma protéká přes filtr (Evaflux 4A, Kuraray, Osaka, Japan). Schéma léčby je závislé na diagnóze. Nemocní s VPMD podstoupili celkem 8 procedur v průběhu 10 týdnů, p. se SISHL 3 procedury během 1 týdne. Výkon byl prováděn většinou cestou periferních žil, promývaný objem plazmy byl 1-1,5 násobek objemu plazmy pacienta, antikoagulace byla zajištěna pomocí ACD-A v kombinaci s heparinem.

Výsledky. U pacientů léčených reoferézou jsme hodnotili jak klinický efekt, tak laboratorní pokles reologicky významných parametrů. **Náš soubor jsme porovnávali s kontrolním souborem pacientů s VPMD a SISHL, kteří podstoupili konvenční terapii.** U 101 p. našeho souboru bylo provedeno celkem 740 výkonů. Velice slibné jsou výsledky u p. s makulární degenerací sítnice, kteří jsou již dlouhodobě (medián 4,5 roku) sledováni. Po reoferéze došlo ke zmenšení plochy postižení, zmenšení postižené plochy je od malých změn (z 0,65 na 0,57 mm²) až po výrazné z 17.47 mm² na 0 mm²). U 36% léčených očí došlo k úplné resorpci drúz. Nebyla pozorována neovaskularizace ani progresse do vlhké formy makulární degenerace na rozdíl od kontrolní skupiny p., kde došlo ke zvětšení postižení u 14 z 18 očí, neovaskularizace se objevila u 27 %. U pacientů se SISHL došlo ke zlepšení sluchu u 55 %. Bylo pozorováno celkem 9,1 % nežádoucích reakcí, většinou byly mírné, nebyly zaznamenány závažné komplikace, ACE-inhibitory byly vysazeny 24 hod před reoferézou.

Závěry. Reoferéza je nová léčebná metoda pro řadu onemocnění s poruchou mikrocirkulace. Při dlouhodobém sledování jsou výsledky velice příznivé u makulární degeneraci sítnice u dalších diagnóz nutno vyčkat výsledků dalších studií. Jedná se o velice nákladnou, specializovanou péče, vyžadující vyškolený tým a mezioborovou spolupráci.

22 IMUNOADSORPČNÍ LÉČBA U PACIENTŮ S TRANSPLANTACÍ SRDCE

Pagáčová L.¹, Málek I.², Gazdič T.³, Kubánek M.², Hošková L.², Slavčev A.¹, Voska L.⁴, Pirk J.³

¹Pracoviště laboratorních metod, ²Klinika kardiologie, ³Klinika kardiiovaskulární chirurgie, ⁴Pracoviště klinické a transplantační patologie, IKEM Praha

Úvod. Závažnou komplikací transplantace srdce (TS) je stále humorální rejekce (AMR). V jejím potlačení hraje důležitou úlohu jak vyřešení desenzitizace před TS, tak potransplantační léčba. Naše práce hodnotí soubor pacientů, kteří byli léčeni pomocí imunoadsorpce (IA).

Metodika. Ke stanovení senzitivizace před TS byl použit panel reaktivních protilátek (PRA), diagnóza humorální rejekce (AMR) byla stanovena na základě dysfunkce štěpu (LV EF < 40 % echokardiograficky) a imunohistochemie vzorku endomyokardiální biopsie (EMB) – C4d depozita. Před IA byl pacientům zaveden centrální dialyzační katétr 8F. Plazma byla odseparována pomocí separátoru krevních elementů ComTec™ a k následné eliminaci nežádoucích imunoglobulinů byly použity imunoadsorpční monitory Citem 10™ a ADAsorb™. Oba systémy využívají 2 kolon – Immunosorba™ – s navázaným stafylokokovým proteinem A.

Pacienti a dárci byli otypováni pro HLA – A, B, DRB1 komerčně dostupnými serologickými testy (HLA I.

třídy) a molekulárními metodami (HLA I. a II. třídy). Specifita HLA protilátek I. a II. třídy byla stanovena pomocí metody „lab screen“ SAB (mixed a single antigen) na přístroji Luminex 200.

Celkem bylo léčeno 13 pacientů (10 mužů a 3 ženy, věkový interval 20–57 let), 5 před a 8 po TS. Po IA byly u všech pacientů následně podány intravenózní imunoglobuliny v kombinaci s další imunopresí: Rituximab u 9 pacientů a inhibitor proteazomu Bortezomib u 3 z nich.

Výsledky. V období od listopadu 2008 do konce května 2016 bylo provedeno u těchto pacientů celkem 119 IA bez závažnějších komplikací. Zaznamenali jsme očekávané snížení všech tříd imunoglobulinů: IgG cca o 2/3, IgM cca o 1/4 a IgA cca o 1/6 původní hodnoty před každou procedurou. U 5 senzitivizovaných pacientů došlo po IA k významnému poklesu PRA (z 92, 69, 99, 96 a 66 % na 36, 23, 10, 17 a 33 %). U všech 8 pacientů léčených pro AMR došlo ke snížení DSA, v 74 % I. třídy a 51 % II. třídy poklesly pod detekční limit. Žádný z těchto pacientů nezemřel na selhání štěpu, u všech došlo po léčbě ke zlepšení funkce štěpu.

Závěr. IA se nám jeví jako bezpečná a účinná metoda, která může být i nadále doporučena jako významná součást desenzitizačních a léčebných protokolů u imunizovaných pacientů s transplantací srdce.

Práce podpořena grantem IGA MZČR NT 11262-6.