proLékaře.cz | 22.11.2026

DÁRCOVSKÉ A LÉČEBNÉ AFERÉZY

2997. EXTRAKORPORÁLNÍ FOTOCHEMOTERAPIE

Gašová Z., Bhuiyan-Ludvíková Z., Bohmová M.
(Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha)

„Extrakorporální fotochemoterapie je postup, při němž se za pomoci techniky hemaferézy separují mononukleární buňky (MNC) pacienta. Buňky se poté ošetří fotosenzitivní látkou 8–methoxypsoralenem (8–MOP) v koncentraci 200 ng/ml. Takto upravené buňky se následně ozáří UV-A zářením o vlnové délce 320 až 400 nm v dávce 2 J/cm^2. Koncentrát MNC se poté transfunduje zpět do cirkulace pacienta.

Metoda je účinná v terapii onemocnění, na jejichž patogenezi se podílejí T lymfocyty, jako např. v terapii kožních lymfomů z T lymfocytů (CTCL) a v terapii akutní a chronické GVHD (aGVHD, cGVHD). ECP se také zavádí do terapie některých imunitních komplikací po orgánových transplantacích srdce, ledvin a plic.

Na účinnosti metody se podílí několik na sebe navazujících postupů: separace mononukleárních buněk a fotomodifikace za pomoci 8-methoxypsoralenu (8-MOP) a UVA- záření. 8-MOP patří do skupiny psoralenů, což jsou tricyklické aromatické sloučeniny, které se řadí mezi furokumariny a které vykazují výraznou absorbci UV-A záření. V buňkách se váží na DNA struktury, kde po ozáření UV-A dochází mezi bázemi DNA k vytvoření zkřížených vazeb. Tyto změny mají za následek inhibici syntézy DNA a tím inhibici proliferace buněk. Stupeň inhibice závisí na koncentraci psoralenu, vlnové délce a dávce UV-A záření a také na čistotě připravených buněk. Významnější příměs erytrocytů v přípravku může snížit účinnost ošetření buněk.

Přesný mechanismus účinku ECP nebyl doposud vysvětlen. Fotoferéza vyvolává v ošetřených buňkách změny na molekulární a buněčné úrovni, které u léčeného pacienta vyvolávají změny v imunitních reakcích.

V mechanismu ECP se předpokládá kombinace následujících jevů:

1 Fotodestrukce s následnou eliminací mononukleárních buněk, k níž dochází vlivem antiproliferačního účinku 8-MOP a UV-A záření.
2. Fotomodifikace dalších biomakromolekul, tj. proteinů a lipidů s ovlivněním funkcí imunitního systému. Vliv na imunitní systém se vysvětluje tím, že ke komunikaci mezi jednotlivými částmi imunitního systému dochází prostřednictvím interakcí mezi proteinovými strukturami.
3. Uvolnění cytokinů, jako TNF-α, IL-1, IL-6 a IL-8 z ozářených mononukleárních buněk.
4. Indukce apoptozy fotomodifikovaných mononukleárních buněk.
5. Vliv ECP na vlastnosti monocytů a dendritických buněk (antigen prezentujících buněk APC, DC).
6. Vliv zvýšené apoptózy lymfocytů a aktivace monocytů v dendritické buňky. Dendritické buňky (dále DC) následně fagocytují apoptotické lymfocyty a prezentují znaky fagocytovaných buněk na svém povrchu. DC jsou poté schopné aktivovat buď tvorbu regulačních T lymfocytů a tím navodit proces imunotolerance nebo naopak aktivovat imunitní systém se specifickou supresí patogenního klonu T lymfocytů. Těmito jevy by se mohl vysvětlit efekt fotochemoterapie v ovlivnění jak postransplantačních komplikací jako GVHD tak i v terapii nádorových onemocnění, např. kožních lymfomů z T lymfocytů.
7. Ovlivnění funkcí imunitního systému nemocného procesem imunomodulace.

Přesto, že se ECP provádí v mnoha transplantačních centrech, lze v jejich postupech nalézt značnou heterogenitu. V posledních letech je patrná velká snaha nalézt optimální postup pro účinné a bezpečné provádění ECP. Existují rozdíly ve skupinách pacientů, v technickém provedení výkonů, v indikacích k výkonům, v stanovení terapeutického režimu, v optimálním načasování zahájení a ukončení série postupů, v ověření účinnosti metody, v kontraindikacích postupů, v posuzování účinku ECP u pacientů a v kontrole účinnosti terapie in vitro (parametry koncentrátů mononukleárních buněk, účinnost fotomodifikace). ECP se obvykle provádí ve spolupráci klinických lékařů a lékařů na aferetických nebo transfuzních centrech. Některá pracoviště se zabývala zhodnocením stávajících postupů a formulací závěrů, které by měly pomoci v optimálním provádění ECP (např. Italská společnost pro hemaferézu a buněčnou manipulaci a Italská skupina pro transplantaci kostní dřeně, 2013).

Na základě stávajících zkušeností a výsledků lze uvést:

1. Techniky pro provádění ECP

Metoda extrakorporální fotochemoterapie se může provádět za pomoci techniky „in line“, tj. jednoho jednoúčelového zařízení pro separaci a fotomodifikaci buněk („all in one“) nebo za pomocí tzv. „off line“ techniky, která využívá dvě nezávislá zařízení jak pro separaci mononukleárních buněk (MNC) tak pro jejich

proLékaře.cz | 22.11.2026

fotomodifikaci. Tento režim je méně nákladný a přípravek je málo kontaminovaný erytrocyty. Separátor může být využívaný i pro jiné typy výkonů. Výhodou systému „in line" je však značka CE, která zatím nebyla „off line" režimu přiznána. Proto je při zavádění „off line" techniky nutné předem provést standardizaci jednotlivých postupů: (i) vypracování optimálního režimu pro separace mononukleárních buněk, (ii) stanovení koncentrace 8-MOP v koncentrátech mononukleárních buněk, (iii) zajištění účinné ozařovací dávky a (iv) ověření účinnosti procesu za dodatečné kontroly reaktivity fotomodifikovaných lymfocytů pomocí funkčních testů (blastické transformace lymfocytů po stimulaci fytohemaglutininem, PHA) nebo stanovením apoptózy T lymfocytů. Pokles hodnot indukované proliferace lymfocytů na cca reziduálních 10% se považuje za dostatečný pro očekávaný efekt terapie.

2. ECP u pacientů s akutní a chronickou GVHD

V posledních letech stoupá počet alogenních transplantací kmenových krvetvorných buněk a současně také stoupá frekvence GVHD, která je příčinou významné morbidity a mortality nemocných. ECP je účinným a bezpečným postupem v terapii akutní a chronické GVHD u dětských i u dospělých pacientů, kteří jsou refrakterní na terapii kortikosteroidy a kalcineurinové inhibitory. ECP má potenciál omezit dávku podávaných kortikosteroidů.

Předpokládá se, že u nemocných s chronickou GVHD může ECP ovlivnit autoimunitní projevy onemocnění doposud nevyjasněným mechanismem imunomodulace. ECP je pravděpodobně schopná navodit inaktivaci autoreaktivních klonů T lymfocytů a úpravu dysfunkce imunitního systému s potlačením manifestace onemocnění.

Výsledky ukazují zlepšení klinického stavu u nemocných především s postižením v kožní a hepatální lokalizaci a u dětí s oční formou onemocnění. U viscerálních forem onemocnění je účinnost méně patrná.

3. ECP je vhodnou metodou u pacientů, u nichž je další imunosuprese nevhodná nebo kontraindikována.

Kortikosteroidy a jiné imunosupresivní látky podávané v terapii GVHD jsou provázené vysokým rizikem mortality v důsledku infekčních komplikací. ECP nevyvolává generalizovanou imunosupresi. V souvislosti s prováděním ECP nebyl pozorován zvýšený výskyt infekčních komplikací.

4. Příprava pacienta k separaci MNC

Před zahájením ECP se posuzuje způsobilost pacientů k separacím MNC. Hodnotí se žilní přístup, klinický stav pacienta, případný výskyt HIT, známá intolerance citrátu nebo psoralenů, terapie ACE inhibitory, antiagregační nebo antikoagulační terapie, kardiorespirační funkce (ekg, echokardiografie), funkce jater a ledvin, u febrilních pacientů hladiny prokalcitoninu, koagulační testy a hladiny elektrolytů. U pacientů s anamnézou HIT nelze použít k antikoagulaci separačního okruhu heparin. U pacientů na antiagregační terapii je třeba zajistit změnu na alternativní antikoagulační terapii. V těchto posledních dvou situacích je nutné použít k antikoagulaci pouze ACD-A. U plicních forem GVHD je třeba hodnotit respirační funkce.

Separace MNC pro ECP je bezpečným postupem s podobnou frekvencí nežádoucích reakcí jako separace PBPC (cca u 5% všech výkonů). Děti s hmotností nižší než 25 kg mají malý celkový objem krve. Separace mononukleárních buněk lze u nich bezpečně provést po předplnění separačního okruhu deleukotizovanými a ozářenými erytrocyty, jejichž hematokrit je upravený na požadovanou hodnotu (podle krevního obrazu pacienta a naředění transfuzního přípravku v separačním okruhu). Nežádoucí reakce jsou mírné a přechodné.

5. Hematologické kontraindikace ECP

Je žádoucí, aby pacienti měli předseparační hodnotu hemoglobinu alespoň 80 g/l a počty trombocytů byly vyšší než 50×10^9 /l. Parametry červeného krevního obrazu pacienta lze upravit podáním transfuze erytrocytů. ECP se neprovádí, pokud je počet leukocytů nižší než 1×10^9 /l.

6. Nehematologické kontraindikace ECP

K nehematologickým kontraindikacím patří závažná kardiovaskulární nebo ledvinná onemocnění. Zvýšená teplota sama o sobě ještě nemusí být kontraindikací výkonu, avšak ECP se neprovádí u pacientů v septickém stavu, i když jsou afebrilní. Pacienti mohou být indikováni k výkonům až po zvládnutí infekce.

ZÁVĚR

Metoda ECP je alternativní, netoxický imunoterapeutický postup umožňující zlepšení kvality života nemocných při snížení rozsahu celkové nespecifické imunosuprese.

Pro nemocné s c-GVHD a CTCL představuje jednu z mála možností potlačení autoimunních projevů onemocnění a úpravu dysfunkce imunitního systému. Významná je též možnost omezení celkové nespecifické imunosupresivní terapie pacientů se snížením výskytu závažných infekčních komplikací.

proLékaře.cz | 22.11.2026

2910. DÁRCOVSTVÍ A ODBĚRY ALOGENNÍCH HEMOPOETICKÝCH KMENOVÝCH BUNĚK

Lysák D., Navrátilová J., Hrabětová M., Jindra P. (***Hematologicko-onkologické oddělení, FN, Plzeň***)

Alogenní transplantace hemopoetických kmenových buněk představuje důležitou léčebnou modalitu v terapii řady hematologicko- onkologických onemocnění. V Evropských transplantačních centrech se ročně provede kolem 16 tisíc alogenních transplantací (EBMT survey 2013), v ČR přes 200 alogenních transplantací/ rok (242 za rok 2014). Celosvětově se zvyšuje počet transplantací provedených s nepříbuznými dárci. Je také patrný trend častějšího využívání zahraničních nepříbuzných dárců, se kterými se provádí cca 50 % nepříbuzeneckých transplantací (WMDA report 2014). Nejčastějším zdrojem kmenových buněk pro transplantaci jsou periferní kmenové buňky (PBSC), které se aplikují ve zhruba 75 % případů.

Odběry PBSC pro účely alogenní transplantace se provádějí cca od roku 1999. Standardní mobilizační procedura obnáší 4-5 denní aplikaci růstového faktoru granulopoezy (G-CSF, filgrastim) v dávce cca 10 μg/kg/den. Maximálního hladiny vyplavených CD34+ buněk je dosaženo v den +5, kdy se zpravidla provádí první aferéza. Obsah CD34+ buněk v aferézním produktu je určen především hladinou CD34+ buněk cirkulujících v periferní krvi dárce a také parametry aferézy. Neexistují bohužel spolehlivé parametry, které by umožnily predikovat kvalitu mobilizace u konkrétního dárce. Horší odpověď na filgrastim je možné pozorovat u starších dárců, naopak lepší mobilizovatelnost je popisována u dárců s vyšším body mass indexem.

Mobilizační efekt G-CSF je nepřímý. Molekula působí myeloidní aktivaci s uvolněním neutrofilních proteáz. Proteázy následně štěpí adhezivní vazby, které drží kmenové buňky v mikroprostředí kostní dřeně. Obvyklá dávka CD34+ buněk pro alogenní transplantaci se pohybuje mezi 3,0 až 5,0 x 10^6/kg hmotnosti příjemce, za suboptimální se považují transplantáty s obsahem méně než 2,0 x 10^6/kg. Ve výjimečných případech je možné zvážit při mobilizaci zdravého dárce i použití plerixaforu, který však není v této indikaci schválený a ověřený. Svým přímým zásahem do vazebné osy SDF-1α/CXCR4 však může umožnit úspěšnou mobilizaci i u dárců, kteří neodpovídají na G-CSF (poor mobilizers), nebo v případě, kdy je požadována megadávka CD34+ buněk. Složení transplantátů z PBSC a kostní dřeně (BM) je díky odlišnému způsobu odběru rozdílné. PBSC mají zpravidla menší objem, nižší hematokrit, proto případná ABO inkompatibilita nepředstavuje při podání transplantátu zpravidla problém. Vyšší obsah „comitted" progenitorů naopak nabízí o něco rychlejší engraftment. Odběr z periferní krve s sebou však nese i cca 10x vyšší zastoupení T-lymfocytů v porovnání s kostní dření, které mohou zvyšovat riziko vzniku zejména chronické GVHD. Transplantace PBSC může být spojena s nižším rizikem relapsu a delším EFS v porovnání s kostní dření. Na druhou stranu nevedou tyto výhody, s výjimkou pacientů s pokročilým onemocněním, ke zlepšení celkového přežití.

V současné době je dávka CD34+ buněk event. CD3+ buněk hlavním ukazatelem kvality štěpu. Máme málo informací o dalších subpopulacích CD34+ a imunokompetentních buněk, o jejich alo-reaktivitě, vlivu na imunitní rekonstituci a GVHD/GVL. Je známo, že expozice G-CSF zmírňuje alo-reaktivitu T-lymfocytů jejich posunem k Th2 cytokinovému profilu. Přesný mechanismus není známý, může být zprostředkovaný dendritickými buňkami. G-CSF však nepoškozuje anti-leukemickou aktivitu T-lymfocytů a G-CSF mobilizované T-lymfocyty si zachovávají svou terapeutickou aktivitu, jako konvenční nemobilizované DLI (donor lymphocyte infusion). G-CSF také moduluje aktivitu T_{REG}, které mají význam pro navození imunotolerance, a dále jsou důkazy o jeho nepříznivém vlivu na funkci NK buněk, který je však dočasný a neovlivňuje negativně jejich GVL potenciál. Recentní analýza souboru nemyeloablativních transplantací prokázala asociaci mezi dávkou CD8+ lymfocytů ve štěpu a nižším rizikem relapsu a naopak lepším PFS a OS (1). Vyšší obsah CD8+ lymfocytů ve štěpu byl přítomen zejména u odběrů od mladých dárců. Vyšší pravděpodobnost získání štěpu bohatšího na T-lymfocyty případně NK buňky může být jedním z možných vysvětlení vlivu věku dárce na výsledek transplantace. Nové mobilizační režimy (např. použití plerixaforu) mohou mít odlišný vliv na složení štěpu, ale jejich dopad na rychlost hematopoetického či imunitního engraftmentu, na riziko GVHD či relapsu se bude muset teprve ověřit.

Nežádoucí reakce v souvislosti s darováním PBSC mohou být způsobeny vedlejšími účinky filgrastimu a nebo komplikacemi vyplývajícími z leukaferézy. Podávání filgrastimu je u většiny dárců spojeno s různě vyjádřenými „flu-like" symptomy, zejména bolestmi kostí, svalů či hlavy, únavou, subfebriliemi. Tyto obtíže jsou ovlivnitelné běžnými analgetiky a většinou nevyžadují úpravu dávkování G-CSF. Komplikace leukaferézy zahrnují zejména projevy citrátové toxicity, případně vasovagální reakce. Vzácné nejsou ani komplikace vznikající v souvislosti s žilním přístupem, zejména hematomy či trombózy v případě zavedení CŽK.

Mobilizace a odběr PBSC jsou spojeny s typickými změnami v krevním obraze. Leukocytoza způsobená fil-

proLékaře.cz | 22.11.2026

grastimem dosahuje průměrně 40 x 10^9/l, pouze cca 20 % dárců mívá hodnoty leukocytů nad 50 x10^9/l. Maximální akceptovatelná leukocytóza je arbitrárně stanovena na 70 x10^9/l a při jejím dosažení je nutné redukovat dávku filgrastimu. Nicméně dárci s vyššími hodnotami leukocytů nemají zpravidla více nežádoucích projevů či obtíží způsobených filgrastimem. Hladina trombocytů klesá zejména po první aferéze a u části dárců může docházet ke snížení až pod 100 x 10^9/l.

Nejčastějšími subjektivními obtížemi dárců v souvislosti s darováním jsou únava, bolesti, nespavost, nevolnost nebo nauzea. Podobné příznaky lze pozorovat i u dárců kostní dřeně, odlišné je ovšem jejich načasování. Zatímco při odběru PBSC se objevují za 24 hodin po první aplikaci filgrastimu a vrcholí zpravidla v den +5, tedy v den první aferézy, při odběru kostní dřeně začínají až při vlastním odběru s maximem 24 – 48 hodin po odběru. Bolesti v souvislosti s odběrem (většinou mírné) zažívá téměř 90 % dárců. Při odběrech PBSC se jedná především o bolesti muskuloskeletálního charakteru, případně bolesti hlavy, které svého maxima dosahují v den +5. Naproti tomu odběry kostní dřeně jsou zatížené zejména bolestmi v místě odběru a nejintenzivněji jsou vnímány cca 24 – 48 hodin po odběru. Vedle bolestí je významným vedlejším účinkem darování únava, kterou udává druhý den po odběru větší část dárců (cca 60 %). S odstupem měsíce po odběru je přetrvávající únava přítomna už jen u malé části dárců (cca 5 %). Celkové zotavení dárce po odběru je po darování PBSC velmi rychlé (cca 1 týden) v porovnání s dárci kostní dřeně (cca 3 týdny).

Závažné nežádoucí reakce (SAE) u dárců, tedy takové, které ohrožují život, vedou k neplánované hospitalizaci či jejímu prodloužení nebo způsobují dlouhodobě přetrvávající zdravotní problémy, mají většinou akutní charakter a odezní během několika dnů. Jejich incidence je pro odběry PBSC cca 0,6 %, pro odběry kostní dřeně cca 4 x vyšší. Nejčastěji se jedná o neplánovanou hospitalizaci na základě očekávaných nežádoucích účinků odběru (bolesti, nauzea, slabost, kolapsový stav), méně často je důvodem hospitalizace neočekávaná komplikace (infekce, bolest na hrudi apod.). Dlouhodobé komplikace se symptomy přetrvávajícími déle než 3 měsíce jsou taktéž vzácné (~0,06 %), nejčastěji ve formě protrahovaných bolestí. Velmi vzácné jsou život ohrožující komplikace (~0,01 %).

Důležitou problematikou je sledování dlouhodobých účinků G-CSF, především výskytu nádorových onemocnění u dárců PBSC. Zejména v minulých letech existovala obava z případného leukemogenního potenciálu filgrastimu a z rizika zvýšeného výskytu hematologických nádorových onemocnění u mobilizovaných dárců. Aktuální data ukazují, že incidence nádorových onemocnění je stejná u dárců PBSC i dárců kostní dřeně (~0,8%), a zároveň je nižší v porovnání s běžnou populací. Filgrastim tedy nezvyšuje riziko hematologických malignit a mobilizaci pomocí filgrastimu lze považovat za bezpečnou. Při analýze chromozomálních abnormalit po stimulaci G-CSF neprokázaly studie jakoukoliv perzistující abnormalitu v CD34+ nebo mononukleárních buňkách. Některé studie nalezly pouze přechodné změny v genovém expresním profilu, jejichž význam je nejasný (2). Nicméně přes vysokou bezpečnost darování PBSC je nezbytné s ohledem na možnost výskytu dlouhodobých komplikací sledovat zdravotní stav dárce nejen v době odběru a bezprostředně po něm, ale musí být prováděna i dlouhodobá dispenzarizace. Její minimální doporučené trvání je 10 let.

Některé skupiny dárců podstupujících odběr mají svá specifika. Ženy dárkyně mají vyšší riziko nežádoucích reakcí, které souvisí, vedle jejich často nižší hmotnosti, s častější nutností zavedení CŽK a horší tolerancí aferézy. Příbuzní dárci bývají často starší, nezřídka komorbidní a riziko nežádoucích reakcí při odběru včetně SAE je u nich vyšší. Přestože standardy péče o příbuzné dárce resp. kritéria posuzování jejich zdravotní způsobilosti se mohou mírně lišit, mělo by se s příbuznými dárci zacházet stejně jako s nepříbuznými a to včetně dispenzarizace po odběru.

Dárcovství alogenních hemopoetických kmenových buněk je bezpečnou procedurou s nízkou mírou rizika pro dárce. Větší část odběrů se provádí u nepříbuzných dárců. Pro péči o dárce se uplatňují standardy stanovené světovou asociací dárců (WMDA) a národními regulačními autoritami. Způsob odběru PBSC se může do budoucna měnit s příchodem nových mobilizačních molekul, které umožní ovlivňovat buněčné složení transplantátu a přizpůsobovat je charakteristikám pacienta a jeho onemocnění. Základní pravidla dárcovství, zejména ochrana zdraví a anonymity dárce, však zůstanou trvale platná.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR-RVO (Fakultní nemocnice Plzeň-FNPl, 00669806), grantem MZ 15-30661A a grantem Nadace pro transplantaci kostní dřeně.

1. Reshef R, Huffman AP, Gao A et al. High Graft CD8 Cell Dose Predicts Improved Survival and Enables Better Donor Selection in Allogeneic Stem-Cell Transplantation With Reduced-Intensity Conditioning. J Clin Oncol 2015; 33(21): 2392-2398.
2. Shaw BE, Confer DL, Hwang W, Pulsipher MA. A review of the genetic and long-term effects of G-CSF injections in healthy donors: a reassuring lack of evidence for the development of haematological malignancies. Bone Marrow Transplant 2015; 50: 334–340.

proLékaře.cz | 22.11.2026

2891. REOFERÉZA – KLINICKÝ VÝZNAM REOLOGICKÝCH, TECHNICKÝCH A DALŠÍCH HEMAFERETICKÝCH UKAZATELŮ ÚČINNOSTI

Lánská M., Bláha M., Žák P. (***IV. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice, Hradec Králové***)

Lékařská reologie je v současnosti rychle se rozvíjejícím oborem, protože vzhledem k technickému pokroku lze léčebně ovlivnit některé těžké poruchy v mikrocirkulaci. Jedná se o vědní obor studující krevní fluiditu a aplikující výsledky tohoto výzkumu do klinické praxe hlavně v oblasti mikrocirkulace. V klinické praxi je důležitá reologická úprava zejména snížením viskozity pomocí eliminace nadměrně zvýšených tzv. reologických činitelů (jde obyčejně o některé vysokomolekulární proteiny).

Reoferéza spojuje možnosti hemaferézy (léčebné metody, která se zabývá separací krevních složek) a lékařské reologie. Hlavním cílem reoferézy je zlepšení cirkulace v mikrořečišti. Hlavními determinantami průtoku orgány je stav cév a reologické charakteristiky krve. Dále je průtok závislý na funkčním stavu celé kapilární sítě jako „mikrocirkulačního niché“. K významným změnám v mikrocirkulaci může docházet na podkladě změn kteréhokoliv výše uvedeného parametru. Uplatnění reologických faktorů v patologii chorob i význam reologických vlastností krve jsou v posledních letech předmětem intenzivního výzkumu.

K ovlivnění reologických vlastností krve lze použít 3 hlavní léčebné modality: hemodiluci, infuzní terapii a aferetické metody. Hemodiluce spočívá v odběru plné krve pacientovi s cílem snížení hematokritu a tím ovlivnění reologických podmínek. Efekt léčby je krátkodobý, laboratorní změny již nejsou detekovatelné za 24 hod od procedury. Efekt infuzní terapie je pouze přechodný, několik hodin trvající, proto tato metoda nenašla významné uplatnění v reoterapii.

Největší uplatnění přinesly až aferetické metody. Viskozita plazmy je jedním z určujících faktorů krevního průtoku mikrocirkulací, proto byla vyvíjena snaha najít způsob ovlivnění viskozity plazmy výhodným pozměněním složení plazmy. Postupným rozvojem aferetických technik byly zaváděny nejdříve neselektivní metody výměny plazmy (výměnná plazmaferéza), po semiselektivní až vysoce selektivní adsorpce patologických substancí (heparinem indikovaná lipidaferéza, přímá adsorpce LDL cholesterolu (DALI), imunoadsorpce, kaskádová filtrace). Bylo zjištěno, že čím specifičtější je aferetická procedura, tím více klesá reologická efektivita.

V literatuře často nacházíme několik odlišných názvů pro jednotlivé aferetické metody. Membránová diferenční filtrace je synonymem pro dvojitou, nebo kaskádovou filtraci plazmy čili filtrační plasmaferézu. Plazma prochází dvěma filtry. Borberg zavedl pojem „rheohemapheresis“ pro svoji modifikaci metodiky. Plazma je primárně získávána ne filtrem, ale centrifugací separátorem krevních tělísek. Teprve pak dochází k jejímu průchodu „druhým stupněm - cílovým filtrem. Z tohoto hlediska je správné používat nadále pojem kaskádová metoda, ale nejde již o dvojí filtraci. Na našem pracovišti používáme Borbergovu metodu, pro naši modifikaci kaskádové filtrace používáme pojem reoferéza, nebo reohemaferéza.

Reoferéza je modifikace diferenční filtrace plazmy, kdy se používá speciální sekundární plazmatický filtr s relativně malými otvory, nazývaný reofiltr, který z protékající plazmy eliminuje exaktně definované spektrum proteinů s vysokou molekulární hmotností (nad 150 000 Daltonů). Jedná se zejména o: fibrinogen, a2-makroglobulin, imunoglobulin M, LDL cholesterol, vonWillebrandův faktor, trombomodulin, fibronektin. Eliminace těchto proteinů vede ke snížení krevní i plazmatické viskozity, dále ke zlepšení agregability a flexibility erytrocytů. Výsledkem snížené krevní i plasmatické viskozity je zlepšení krevního průtoku mikrocirkulací a léčebně příznivé ovlivnění některých poruch v mikrocirkulaci. Dochází k příznivým změnám cytokinů a adhezních molekul, dále ke zvýšené produkci NO endotelem, a ke zlepšení deformability erytrocytů.

Reoferéza je indikovaná v léčbě onemocnění s prokázanou nebo důvodně předpokládanou poruchou mikrocirkulace. Tato léčba byla v rámci studií využita u věkem podmíněné makulární degenerace sítnice (VPMD), náhlé idiopatické ztráty sluchu (sudden idiopathic sensorineural hearing loss - SISHL), u periferních tepenních onemocnění - zejména na dolních končetinách, dále byla studována u onemocnění koronárních tepen, cévní mozkové příhody, „uveal effusion“ syndromu, trombózy centrální retinální žíly.

Podle literárních dat jsou největší zkušenosti s použitím reoferézy u věkem podmíněné makulární degenerace sítnice a náhlé idiopatické ztráty sluchu, kde jsou k dispozici randomizované studie. Americká společnost pro aferézy (ASFA - American Society for Apheresis) jednou za 2 roky na základě systematické revize všech dostupných aktuálních informací a důkazů vydává pravidla (guidelines) pro použití aferéz u jednotlivých chorob. Podle nejnovější edice je reoferéza indikována u VPMD - kategorie I (všeobecně uznávaná terapie, většinou v první linii terapie), síla důkazů 1B a SISHL - kategorie III (optimální úloha aferézy není určena, rozhodnutí nutno individualizovat), síla důkazů 2A.

proLékaře.cz | 22.11.2026

Věkem podmíněná makulární degenerace sítnice (VPMD) je degenerativní onemocnění sítnice, způsobující progresivní změny vízu pacientů a je nejčastější příčinou praktické slepoty lidí nad 60 let v industrializovaných zemích. Přes všechny nové poznatky v diagnostice a léčbě zůstává VPMD nevyléčitelným onemocněním. K závažným ztrátám vízu dochází přibližně u 10-15 % nemocných. Dosud byly publikovány kasuistiky nebo série nemocných, dvě kontrolované studie a pět randomizovaných kontrolovaných prací, které svědčí o úspěchu reoferézy u suché formy AMD. Tuto chorobu dosud nelze vyléčit, ale uvedené práce svědčí o možnosti zadržet její progresi nebo dokonce zlepšit stav nemocných na dlouhou časovou periodu.

Náhlá ztráta sluchu (SISHL) je nejčastěji definována jako ztráta sluchu nejméně o 30 dB ve 3 sousedících frekvencích v tónové prahové audiometrii, která vznikla za méně než 72 hodin. Náhlá ztráta sluchu může představovat izolovaný problém, nebo příznaky jiného, např. systémového onemocnění. Specifickou příčinu se podaří zjistit asi v 10% případů, pro zbývající případy se používá termín idiopatická ztráta sluchu.

Současný stav znalostí léčby SISHL lze shrnout jako neuzavřený. Byly publikovány série nemocných, 1 nekontrolovaná a 2 randomizované a kontrolované studie. Metodika provádění aferézy není jednotná a soubory léčených nemocných nejsou plně srovnatelné a dosud nejsou dostatečně velké k definitivním závěrům. Filtrace plasmy jako doporučována jako alternativa konvenční empirické terapie, není většinou metodou první volby. Na našem pracovišti jsme metodu reoferézy použili v rámci grantového projektu jako druhou linii léčby při neúspěchu kortikosteroidní terapie.

Nežádoucí účinky reoferézy jsou většinou identické s jinými aferetickými metodami. Specifickou komplikací, se kterou se setkáváme u výkonů se sekundární filtrací plasmy, je bradykininová reakce. Vyskytuje se u pacientů, kteří užívají ACE-inhibitory a projevuje se zarudnutím, hypotenzí, bradykardií a dušností. Proto by u pacientů podstupujících sekundární filtraci plazmy měl být ACE inhibitor vysazen alespoň 24 hod před výkonem. Také v registru WAA (World Apheresis Association) jsou nežádoucí účinky sledovány a hodnoceny. U reoferéz bylo pozorováno 9,1% nežádoucích reakcí, většinou byly mírné, nebyly zaznamenány závažné komplikace.

ZÁVĚR:

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 relativně nákladnou, specializovanou péči, vyžadující vyškolený tým a mezioborovou spolupráci.

2859. HAND-FOOT SYNDROM – PLAZMAFERÉZA, JAKO MOŽNOST ŘEŠENÍ NĚKTERÝCH TOXICKÝCH PROJEVŮ PROTINÁDOROVÉ LÉČBY VYUŽÍVAJÍCÍ LÁTKY NA BÁZI NANOČÁSTIC

Filip S., Kubeček O., Martínková J., Špaček J., Maláková J., Lánská M., Hodek M., Bláha M. (***Klinika onkologie a radioterapie LFUK, Hradec Králové; Gynekologická a porodnická klinika, Hradec Králové; Ústav lékařské diagnostiky a biochemie, Hradec Králové; IV. Interní hematologická klinika, Hradec Králové***)

Úvod: Palmo-plantární erytrodysestézie (PPE, hand-foot syndrom) je při terapii liposomálním pegylovaným doxorubicinem (PLD) společně s mukositidou nejčastější dávku limitující toxicitou. Incidence se při použití standardního schématu (50 mg/m2 každé 4 týdny) pohybuje okolo 50 % pro jakýkoliv grade a 20 % pro grade 3 a 4. Přesto, že PPE nepředstavuje život ohrožující komplikaci, může nepříznivě ovlivnit kvalitu života a vést k nutnosti redukce dávek, prodloužení intervalu mezi dávkami, nebo dokonce přerušení léčby. Obtíže se obvykle vyvinou za 14-21 dní po dokončení 3. cyklu chemoterapie. Na syndrom zpravidla upozorní prodromy v podobě parestezií končetin, které předcházejí o 3-5 dnů kožní příznaky. Syndrom klinicky kulminuje výskytem bolestivého erytému a otoku kůže v místech vystavených zvýšenému tlaku, zejména dlaní rukou a plosek nohou. Následuje deskvamace kůže a reepitelizace. Podle recentních zkušeností německých autorů lze snížit výskyt PPE pomocí extrakorporální eliminace určité frakce PLD po nasycení tumoru. Optimální je využít kaskádové filtrace plazmy. Metoda a soubor nemocných: Metodu „kinetc targeting“ s využitím plasmafiltrace jsme zavedli a provedli 34 výkonů u 9 žen; průměrný věk 57 let (47-67 let) s karcinomem ovárií (stadium IIIA-C). Nemocným byla aplikována chemoterapie PLD v dávce 50 mg/m2 každé 4 týdny (4-6 cyklů). Plasmafiltrace byla provedená od 2 cyklu chemoterapie. Výsledky: Podle naších dosavadních zkušeností u 9 nemocných žen léčených PLD pro platinarezistentní karcinom ovarií, se jeví použití plasmaferézy jako léčebné metody úspěšnou možností prevence PPE. Tuto toxickou komplikaci (grade 3) jsme zaznamenali jenom u jedné nemocné léčené PLD s použitím plasmaferézy. V důsledku rozvoje PPE bylo nutné léčbu přerušit a posléze ukončit pro další komplikovaný klinický průběh onemocnění.

proLékaře.cz | 22.11.2026

Diskuse a závěr: Použití plasmaferézy v této indikaci ukazuje jasný benefit této metody. Podle literatury by měl být výskyt PPE při námi podané dávce PPL asi 50%. Při využití eliminace nadbytečného množství PPL po nasyceni tumorosní tkáně byl výskyt podstatně nižší – jen u jedné nemocné. V našem dalším výzkumu se zaměříme na zvětšení souboru nemocných a bližší hodnocení jak klinických parametrů (nutriční stav, imunologický profil), tak „benefit cost“ vzhledem k možnosti doporučit tuto metodu jako standardní postup u nemocných s vysokým rizikem PPE (malnutrice, chronická žilní insuficience dolních končetin, imunokompetence atd.) léčených PLD. Práce byla podpořena grantem AVZ MZ 16-30366A.

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

2970. VYUŽITÍ CELOEXOMOVÉHO SEKVENOVÁNÍ V PŘEDNÁŠKA

Staňo Kozubík K., Pál K., Radová L., Šmída M., Réblová K., Plevová K., Pospíšilová Š., Doubek M. (***CMBGT, IHOK FN a CEITEC MU, Brno; CEITEC MU, Brno***)

Přednáška bude cílena zejména na laboratorní aspekty této problematiky. Pokusí se o vysvětlení principu NGS, uvedení historie NGS a konkrétní postup aplikace exomového sekvenování na případové studii. Zmíní také problematická místa dané metodiky (BioIT, zkušenosti s vyhodnocováním NGS dat a používáním NGS metodiky v laboratoři).

Lidský genom obsahuje cca 3,2 *10^9 párů bází. Pouze <2 % genomu tvoří kódující genové sekvence. Gen je tvořen introny, exony a nepřekládanými úseky na 3' a 5' koncích. Všechny exony (kódující sekvence) se označují „exom". Exom obsahuje cca 85 % známých mutací, které podmiňují onemocnění. Sekvenování nové generace (NGS – z anglického „Next Generation Sequencing") nachází stále větší uplatnění nejen v klinickém výzkumu, ale také v klinické diagnostice. Tato technologie umožňuje přečíst sekvenci lidského genomu za významně nižší cenu a kratší dobu než klasické Sangerovo sekvenování. Zatímco klasické sekvenování (sekvenování první generace = Sangerovo sekvenování) detekuje DNA nukleotidy v řadě jeden po druhém, NGS funguje na principu masivního paralelního sekvenování. Tím se stanoví sekvence až stovek milionů bází současně.

Výhodou NGS je flexibilita: v jednom běhu lze sekvenovat a) konkrétní úsek DNA (gen/geny), b) protein kódující DNA (exom), c) celou DNA (genom). Lze využít nastavitelné senzitivity metody: podle množství genetické informace k vyšetření volíme vysokou senzitivitu pro detekci např. somatických mutací nebo nižší senzitivitu pro vyšetření např. zárodečného genomu. V současnosti je cílené, celoexomové i celogenomové sekvenování považováno za vhodnou a praktickou variantu testování pro klinické účely. S jejich využitím lze detekovat varianty napříč širokým spektrem aplikací: např. v populační genetice, u klinicky podmíněných onemocnění nebo u nádorových onemocnění. Volba mezi celoexomovým nebo celogenomovým sekvenováním závisí na ceně a potřebě znalosti nekódujících dat pro stanovení diagnózy.

V hematologii lze exomové sekvenování využít k detekci kauzálních genů a jejich variant např. u monogenních onemocnění, ale také ke stanovení diagnózy tam, kde je fenotyp onemocnění podmíněn výskytem mutace v celé řadě genů nebo kde je vyšetřovaný úsek DNA příliš rozsáhlý. Mezi nemoci, u nichž je stanovení diagnózy rychlejší a levnější pomocí celoexomového sekvenování, patří např. Long QT syndrom u člověka, SCID a kardiomyopatie. V klinické hematologii existuje řada potenciálních aplikací pro cílené exomové sekvenování: hemolytická anemie neznámého původu, kongenitální neutropenie, aplastická anemie ad. Celoexomové sekvenování se využívá pro diagnostické účely u následujících klinických syndromů: Fanconiho anemie, neuroacanthocytosis syndromy a Diamond-Blackfanova anemie. Řada hematologických onemocnění je nejasné etiologie, přestože jde často o geneticky podmíněná onemocnění. Exomové sekvenování je vhodné také v případech geneticky podmíněného hematologického onemocnění nejasného původu pro detekci kauzální varianty (např. u trombocytopenií).

Pro identifikaci hereditárních germinálních mutací je zapotřebí získat biologický materiál (např. periferní krev a z ní izolovanou DNA) nejen od nemocných, ale také od zdravých členů rodiny. Po provedení NGS analýzy získáme stovky až tisíce variant. Následuje bioinformatická a biostatistická analýza dat: srovnání získaných dat s referenční sekvencí, stanovení odchylek od reference, vyloučení populačních a rodinných variant a identifikace potenciálně kauzálních variant. Přítomnost potenciálně kauzální varianty je třeba ověřit alternativní sekvenační metodou. Optimální by bylo provést funkční test potenciálně kauzálních variant pro stanovení jejich patogenity.