proLékaře.cz | 10.11.2026

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.

proLékaře.cz | 10.11.2026

Na reálném příkladu bude představena metodika exomového sekvenování konkrétní rodiny včetně výsledku NGS a funkční analýzy detekované mutace.

„Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 16-29447A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.“

2978. DETEKCE MUTACÍ V TP53 GENU U PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ POMOCÍ SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE

Kriegová E., Schneiderová P., Jarošová M., Procházka V., Fillerová R., Jiskrová E., Urbanová R., Papajík T. ***(Ústav imunologie, LF UP a FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, LF UP a FN, Olomouc)***

Chronická lymfocytární leukemie (CLL) patří mezi nejčastěji se vyskytující maligní lymfoproliferativní onemocnění starších dospělých. Klinický průběh CLL je velmi heterogenní. Jednou z možných příčin je velká genetická variabilita zahrnující řadu významných cytogenetických aberací (13q-, 11q-, trizomie 12 a 17p-) a také mutace v TP53, NOTCH1, ATM, SF3B1, BIRC3 a dalších genech podílejících se na patogenezi CLL. Mezi nejvýznamnější prognostický faktor u CLL patří delece a/nebo mutace genu TP53, které jsou spojovány s neodpovídavostí na chemoterapii a vyšším rizikem relapsů. S nástupem nových léků typu inhibitorů BCR signalizace (ibrutinib a idelalisib), které jsou účinné také u pacientů s deletovaným/mutovaným TP53, je nutné zařadit vyšetřování delece 17p- současně s detekcí mutací v genu TP53 do klinické praxe. Sdělení shrnuje současný stav znalostí klinického dopadu deletovaného/mutovaného TP53 genu u CLL. Dále diskutujeme výhody detekce mutací TP53 genu pomocí sekvenování nové generace (NGS), která umožňuje detekovat i minoritní subklony nesoucí mutace TP53, včetně základní interpretace výsledků. Současná cytogenetická detekce delece 17p- společně s detekcí mutací TP53 genu pomocí NGS umožní identifikovat rizikové CLL pacienty a současné nové léčebné možnosti umožní nasadit cílenou terapii u těchto vysoce rizikových pacientů. Grantová podpora: MZ ČR VES16-32339A, IGA_LF_2016_001, IGA_LF_2016_011.

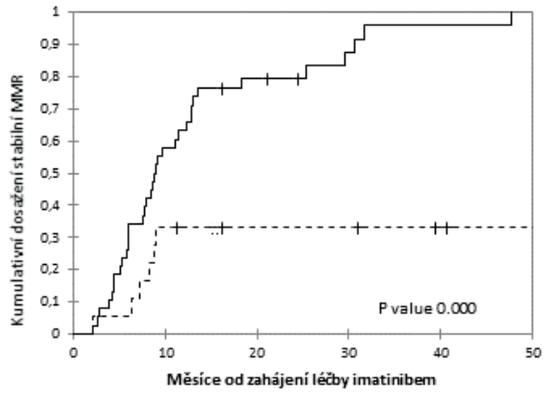
2908. SNP ALELY V REGULAČNÍCH OBLASTECH GENŮ SLC22A4 A SLC22A5 JSOU VÝZNAMNĚ SPJATY S DOSAŽENÍM STABILNÍ VELKÉ MOLEKULÁRNÍ ODPOVĚDI U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ LÉČENÝCH IMATINIBEM V PRVNÍ LINII

Jarušková M., Čuřík N., Hercog R., Polívková V., Motlová E., Beneš V., Klamová H., Machová Poláková K. ***(Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha – CZ; Genomics Core Facility, Heidelberg - D)***

Nejčastěji užívaným lékem v 1. linii u chronické myeloidní leukemie (CML) zůstává inhibitor tyrozinkináz (TKI) imatinib (IM). Biologická dostupnost IM v leukemických buňkách v dostatečné koncentraci je důležitým faktorem ovlivňujícím odpověď pacientů na léčbu. Farmakogenetika představuje potenciální zdroj molekulárních markerů, které by mohly v době diagnózy predikovat odpověď na léčbu IM. Vhodnými markery mohou být děděné polymorfismy nacházející se v regulačních oblastech vybraných ABC a SLC genů, které kódují transmembránové přenašeče IM. Cílem této práce bylo prověřit polymorfismy v promotorových oblastech vybraných ABC a SLC genů a identifikovat ty, které jsou asociované s odpovědí na léčbu IM v první linii u pacientů s CML. Metodou NGS jsme na testovací kohortě 83 pacientů vyšetřili promotory 15 SLC a 4 ABC genů s anotovanou funkcí lékových přenašečů. Všichni pacienti byli léčeni IM v neměnné dávce 400mg/den. Na základě minimálně dvouletého sledování byli pacienti rozděleni na optimálně (n=42) a neoptimálně (n=41, kategorie warning a failure podle doporučení Evropské leukemické sítě 2013) odpovídající na IM. Na validační kohortě (n=42) byla provedena detekce SNP v promotorech genů SLC22A4 a SLC22A5 pomocí Sangerova sekvenování. Analýzy vazebné nerovnováhy genotypovaných SNP v promotorech SLC22A4 a SLC22A5 a vyhledávání s nimi asociovaných SNP v dalších lokusech regulujících transkripci obou genů bylo provedeno na Evropské populaci pomocí nástroje LDlink1.1. Pro analýzy frekvence alel byly použity Fisherův exaktní test pravděpodobnosti a Chi-kvadrátový test. Kumulativní incidence dosažení stabilní velké molekulární odpovědi (MMR) byla vypočtena pomocí XLSTAT. Pro výpočet přežití bez události byla použita Kaplan-Meierova metoda. V 1486 sekvencích promotorů vyšetřených NGS jsme identifikovali 95 SNP. Na sloučeném souboru testovací a validační kohorty pacientů (n=125) jsme mezi pacienty optimálně odpovídajícími na léčbu IM a pacienty se selháním léčby nesoucími genotyp rs2631365-TC (SLC22A5) zjistili významný rozdíl v četnosti genotypů

proLékaře.cz | 10.11.2026

Obrázek 1



rs460089-GC a rs460089-GG (SLC22A4). Zjistili jsme, že lokusy rs460089 a rs2631365 jsou ve významné vazebné nerovnováze (R2=0,98-1,0; P=0,0) s dalšími 12 regulačními lokusy nacházejícími se převážně v intronech genů SLC22A4 a SLC22A5, které kódují transportéry IM OCTN1 a OCTN2. Na základě asociačních analýz se ukázalo, že pacienti nesoucí genotyp rs460089-GC měli významně vyšší pravděpodobnost dosažení stabilní MMR než pacienti nesoucí genotyp rs460089-GG (P=0,001). Pravděpodobnost dosažení MMR se ještě zvýšila u pacientů nesoucích genotyp rs460089-GC_rs2631365-TC (P=0,000; obrázek 1). Podobně pacienti s genotypem rs460089-GC měli významně vyšší pravděpodobnost přežití bez události než pacienti s genotypem rs460089--GG (P=0,003) a tento rozdíl se prohloubil mezi pacienty nesoucími genotyp rs460089-GC_rs2631365-TC v porovnání s pacienty s genotypem rs460089-GG_rs2631365-TC (P <0,0001). Zjistili jsme, že SNP rs460089 a rs2631365 mohou představovat důležité genetické markery předpovídající odpověď na léčbu IM u pacientů s CML v době diagnózy. Pacienti s genotypem rs460089-GC_rs2631365--TC budou s vysokou pravděpodobností odpovídat na léčbu IM optimálně, zatímco vysoce rizikový genotyp rs460089-GG_rs2631365-TC naopak předvídá selhání léčby IM a progresi onemocnění. Pacienti s tímto rizikovým genotypem by mohli profitovat z léčby takovými TKI, které pro transport do buněk nevyužívají transportéry OCTN1 a OCTN2. Podporováno granty MZČR IGA NT/13899 a GA UK 177815.

2947. VYŠETŘENÍ TKÁNÍ PŘI DIAGNOSTICE AMYLOIDU

Flodrová P., Pika T., Flodr P. (*Ústav klinické a molekulární patologie, LF UP, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc*)

Amyloidóza je vzácné onemocnění charakterizované ukládáním amyloidových depozit v extracelulárním prostoru tkání. Tato depozita jsou jen velmi omezeně odbouratelná a jejich hromaděním dochází postupně k porušení funkce postiženého orgánu a v konečné fázi až k jeho selhání. V současnosti je známo 31 proteinů, které mohou způsobit amyloidózu u lidí, a to jak v systémové tak lokalizované formě. Prognóza většiny nemocných není příznivá, v krajních případech dochází k úmrtí v řádu měsíců po stanovení diagnózy. Z toho důvodu má prioritu co nejčasnější a také nejpřesnější stanovení diagnózy. V diagnostickém procesu má kromě podrobného klinického vyšetření nezastupitelnou roli hodnocení tkáně, které jediné může přítomnost onemocnění potvrdit nálezem amyloidu v histologickém obraze. Kromě metod speciálního barvení, které více či méně specificky amyloid znázorní, je v dnešní době nezbytné použití dalších postupů, které mají za cíl přesnou typizaci amyloidu. Ta je kruciální pro adekvátní terapii pacientů, neboť každý subtyp onemocnění se léčí výrazně odlišným způsobem. K určení subtypu amyloidu se využívá především aplikace nepřímé imunohistochemie a imunofluorescence na histologické tkáňové řezy. V úzce specializovaných centrech je výhodou dostupnost metody kapalinové chromatografie spřažené s hmotnostní spektrometrií, která jako jediná určí přesně všechny proteiny, které se na složení depozit podílí. Vzhledem k vzácnosti této diagnózy je důležitá centralizace péče o nemocné pro zajištění co nejvyššího standardu diagnostiky i léčby. Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 16-31156A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.