

ÚSTAV HEMATOLOGIE
A KREVŇÍ TRANSFUZE

INSTITUTE OF HEMATOLOGY
AND BLOOD TRANSFUSION

VÝROČNÍ ZPRÁVA
ANNUAL REPORT
2020

 **uhkt**

Ústav hematologie a krevní transfuze





Ústav hematologie a krevní transfuze

ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVNÍ TRANSFUZE
INSTITUTE OF HEMATOLOGY AND BLOOD TRANSFUSION

VÍC NEŽ JEN NEMOCNICE... / MORE THAN JUST A HOSPITAL...



Organization Accredited
by Joint Commission International

ÚVODNÍ SLOVO

FOREWORD

Vážené kolegyně, vážení kolegové, přátelé,

máte v rukou výroční zprávu za obtížný rok 2020. Tento rok s COVID-19 přinesl mnohé těžkosti celému světu; samozřejmě i nám. Navzdory všem komplikacím ale byla poskytnuta náročná hematologická léčba, včetně transplantačního programu, všem potřebným nemocným.

Přes komplikace, které rok s koronavirem přinesl, se nám daří finalizovat novostavbu pavilonu D, který rozšíří ÚHKT o nové provozy (včetně nové vlastní lékárny); navíc bude vybudováno i důstojné zázemí pro zaměstnance. Stejně tak finišuje rekonstrukce části pavilonu A, kde bude odběrové transfuzní centrum. Stávající i nové vědecké skupiny našly krásné nové prostředí v pavilonu G v Kateřinské ulici; program imunoterapie se stále posunuje k výrobě buněčné terapie, která bude v rámci klinických studií podávána našim nemocným.

I přes finanční nároky jak na stavební rozvoj, tak na krizový „covid management“, jsme i minulý rok skončili s pozitivním hospodářským výsledkem. Obhájené české i mezinárodní akreditace svědčí o stále udržitelném standardu kvality naší práce.

Za to patří pracovníkům ÚHKT velký dík.

Petr Cetkovský
ředitel ÚHKT

Dear Colleagues and Friends,

You have an annual report on the difficult year 2020 in your hands. This year with COVID-19 caused many difficulties all over the world; of course, we were no exception. However, despite all complications, intensive hematological treatment, including our Transplant Program, was provided to all patients in need.

Regardless of complications that the coronavirus year entailed, we have been finishing the construction of the new building of the Pavilion D which will give IHBT new premises (including our new pharmacy); moreover, decent utility rooms will be built for our employees. Similarly, the reconstruction of a section of the Pavilion A, the future site of the Collection Center for Transfusion, has been finalizing. Both the existing and new research groups have found a fine new environment in the Pavilion G on Kateřinská street; the immunotherapy program is ever closer to the manufacture of cell therapies to be administered to our patients in the framework of clinical studies.

In spite of financial demands of both financial demands of construction works and the “Covid crisis management”, we concluded the year 2020 with a positive economic result. The defended accreditations prove a continuously sustainable standard of quality of our work.

The IHBT staff members deserve big thanks for that.

Petr Cetkovský
Director of IHBT

A laboratory setting with a gloved hand holding a petri dish, overlaid with a red filter. The background shows various lab equipment like petri dishes, a pipette tip, and a keyboard.

VEDENÍ

MANAGEMENT

prof. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D., MBA

ředitel

Director

+420 221 977 114, +420 221 977 282, +420 221 977 217

Petr.Cetkovsky@uhkt.cz

doc. Ing. Mgr. Bc. Roman Kotlín, Ph.D. MHA

zástupce ředitele

Deputy director

+420 221 977 612

Roman.Kotlin@uhkt.cz

Mgr. et MgA. Andrea Daňková

tajemník ředitele

Second Deputy Head

+420 607 216 506, +420 221 977 112

Andrea.Dankova@uhkt.cz

MUDr. Hana Klamová, CSc.

přednostka klinického úseku

Head of the Clinical Division

+420 221 977 277, +420 221 977 470, +420 221 977 315

Hana.Klamova@uhkt.cz

Mgr. Lucie Vylitová, DiS.

náměstkyně úseku pro ošetrovatelskou péči

Head of the Nursing Care Division

+420 221 977 419

Lucie.Vylitova@uhkt.cz

MUDr. Martin Písačka

přednosta transfuziologického úseku

Head of the Transfusiological Division

+420 221 977 205

Martin.Pisacka@uhkt.cz

prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

náměstek pro vzdělávání a rozvoj

Head of the Education and Development Division

+420 221 977 320, +420 221 977 257, +420 221 977 206

Jaroslav.Cermak@uhkt.cz

Ing. Janka Sigačevová, MHA

náměstkyně pro ekonomiku

Head of the Financial Division

+420 221 977 450

Janka.Sigacevova@uhkt.cz

Ing. Martin Mayer, Ph.D. MHA

náměstek pro akreditace a kvalitu

Head of the Accreditation and Quality Division

+420 221 977 265

Martin.Mayer@uhkt.cz

Mgr. Michal Tůma

náměstek pro provoz a investice

Head of the Operational and Investment Division

+420 221 977 242

Michal.Tuma@uhkt.cz

OBSAH

CONTENTS

Klinický úsek / Clinical division (MUDr. Hana Klamová, CSc.)	10 - 37
Transfuziologický úsek / Transfusiological Division (MUDr. Martin Písačka)	38 - 55
Ošetrovatelská péče / Nursing Care (Mgr. Lucie Vylitová, DiS.)	56 - 61
Věda a výzkum / Research Division (doc. Ing. Mgr. Bc. Roman Kotlín, Ph.D. MHA)	62 - 93
Vzdělávání / Education (prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.)	94 - 97
Akreditace a kvalita / Accreditation and Quality (Ing. Martin Mayer, Ph.D. MHA)	98 - 103
Ekonomika a provoz / Economics and Operations (Ing. Janka Sigačevová, MHA, Mgr. Michal Tůma)	104 - 111
Grantové projekty / Grant Projects	112 - 133
Klinické studie / Clinical Studies	133 - 131
Publikace / Publications	136 - 142
Fotografie a vizualizace / Photographies and Visualisations	144 - 147
Poděkování / Acknowledgements	148 - 149

„Ústav hematologie a krevní transfuze je rozvíjejícím se centrem prvotřídní medicíny a špičkového výzkumu, a také přátelskou a bezpečnou organizací pro pacienty i personál.“

“The Institute of Hematology and Blood Transfusion is an expanding centre offering state-of-the art medicine and top-notch research, as well as a friendly and safe organization for both patients and personnel.”

„Naším posláním – smyslem existence ÚHKT – je pečovat, léčit, vzdělávat a bádát.“

“Our mission – the meaning of existence of the IHBT – is to care, treat, educate and research.”

NAŠE VIZE

OUR VISION

NAŠE MISE

OUR MISSION



**KLINICKÝ
ÚSEK**

**CLINICAL
DIVISION**

Lůžkové oddělení
Transplantační jednotka
Jednotka intenzivní hematologické péče
Ambulance
Denní stacionář
Centrum pro trombózu a hemostázu
Centrum pro vzácné poruchy krvetvorby
Centrum podpůrné a paliativní péče
Oddělení imunoterapie
Oddělení výzkumu genové imunoterapie
Oddělení výzkumu moderní imunoterapie

Oddělení klinické farmacie
Oddělení klinických studií
Oddělení akademických klinických studií
Laboratoř hemokultivací
Laboratoř pro poruchy hemostázy
Laboratoř průtokové cytometrie
Laboratoř anemií
Morfologicko-cytochemická laboratoř
Laboratoř PCR diagnostiky leukémií
Sekretariát a dokumentační středisko

Inpatient Department
Transplant Unit
Hematological Intensive Care Unit
Outpatient Department
Day Hospital
Centre for Thrombosis and Hemostasis
Center for Rare Hematopoietic Diseases
Supportive Team
Department of Immunotherapy
Department of Gene Immunotherapy Research
Department of Modern Immunotherapy Research

Department of Clinical Pharmacy
Department of Clinical Studies
Department of Academic Clinical Studies
Laboratory of Blood Cultures
Laboratory for Disorders in Hemostasis
Laboratory of Flow Cytometry
Laboratory of Diagnostics of Anemias
Laboratory of Morphology and Cytochemistry
Laboratory of PCR Diagnostics of Leukemias
Secretariat and Documentation Centre

Přednosta: MUDr. Hana Klamová, CSc.
Hana.Klamova@uhkt.cz, +420 221 977 277
Zástupce přednosta: MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
Jiri.Schwarz@uhkt.cz, +420 221 977 277

Rok v číslech

Ambulantně vyšetřených pacientů bylo **24 134**, což je dosud nejvíce vyšetřených pacientů za rok, proběhlo **8 337** ošetření v denním stacionáři, **485** hospitalizací, **82** alogenních transplantací, z toho 43 od příbuzných dárců (13 shodných příbuzných a 30 haploidentických dárců) a 39 od nepříbuzných dárců. Provedeno též 11 terapií geneticky modifikovanými autologními T-lymfocyty.

Nově diagnostikovaných pacientů s akutní myeloidní leukemií bylo **77**, **22** s akutní lymfoblastovou leukemií, **35** s chronickou myeloidní leukemií a **44** s Ph negativními myeloproliferativními chorobami. Nově diagnostikováno bylo také **17** nemocných s MDS, **14** s PNH, celkem bylo sledováno **45** nemocných, s vzácnou vrozenou poruchou tvorby hemoglobinu dalších **18** nemocných. Zachyceno bylo **19** nových případů alfa talasémie a **69** případů beta talasémie. Péče o více než **600** nemocných s vrozenými a získanými poruchami hemostázy. Více než **30 600** vyšetřených vzorků krevního obrazu, **1 580** vyšetřených nátěrů kostní dřeně, provedeno téměř **700** cytochemických metod. 128 982 výkonů v laboratoři průtokové cytometrie. **1 570** vyšetřených vzorků z periferní krve nebo kostní dřeně v laboratoři PCR diagnostiky leukemií. **89 182** vyšetření skriningových koagulací a **33 480** speciálních vyšetření v laboratoři pro poruchy hemostázy.

Klinický úsek diagnostikuje a léčí nemocné s nádorovými a nenádorovými chorobami krvetvorby, nejčastěji to jsou akutní a chronické leukemie, myelodysplastický syndrom, myeloproliferativní onemocnění a vrozené nebo získané poruchy krevní srážlivosti. V rámci transplantčního programu, který se datuje od roku 1986, indikujeme a také provádí alogenní transplantace krvetvorných buněk. Transplantační program byl v tomto roce rozšířen o zcela novou technologii léčby nádorových onemocnění: terapií geneticky modifikovanými autologními T-lymfocyty. Na

Head of Division: MUDr. Hana Klamová, CSc.
Hana.Klamova@uhkt.cz, +420 221 977 277
Deputy Head: MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
Jiri.Schwarz@uhkt.cz, +420 221 977 277

The year 2020 in numbers

24,134 patients examined on a day-case basis – the largest number of patients examined per year so far, **8,337** examinations at the Day Hospital, **485** hospitalizations, **82** allogeneic transplants, 43 of which from related donors (13 from haploidentical blood-related donors and 30 from haploidentical donors) and 39 from unrelated donors. Also, 11 therapies were performed with genetically modified autologous T-lymphocytes.

77 newly diagnosed patients with acute myeloid leukemia, **22** with acute lymphoblastic leukemia, **35** with chronic myeloid leukemia and **44** with Ph- myeloproliferative diseases. Newly diagnosed were **17** patients suffering from MDS, **14** patients suffering from PNH, a total of **45** patients were monitored. Other **18** patients with rare congenital disorder of hemoglobin formation were monitored too. **19** new cases were detected of alpha thalassemia and **69** new cases of beta thalassemia. Care was provided to over **600** patients with congenital and acquired hemostatic disorders. Over **30,600** blood count samples were examined, **1,580** smears of bone marrow were tested, and cytochemical methods were used in almost **700** cases. The Laboratory of Flow Cytometry provided **128,982** services. **1,570** samples of peripheral blood or bone marrow were examined by the Laboratory of PCR Diagnostics of Leukemias. **89,182** screening coagulation examinations and **33,480** special examinations were made by the Laboratory for Disorders in Hemostasis.

Our Clinical Division provides diagnostics and treatment of patients with neoplastic and non-neoplastic hematopoietic diseases, most frequently with acute and chronic leukemias, myelodysplastic syndrome, myeloproliferative diseases and congenital or acquired coagulation disorders. In the framework of our Transplant Program, which dates back to 1986, we indicate and also perform allogeneic transplantation of hematopoietic cells. Our Transplant

jednotce intenzivní hematologické péče jsou léčeni pacienti v mimořádně těžkém celkovém stavu, se závažnými život ohrožujícími komplikacemi. Nové poznatky vědy a jejich možnosti pronikání do klinické praxe vedly v tomto roce k rozšíření KÚ o další tři (nová) oddělení. Nově bylo koncipováno také Oddělení centrálního příjmu a zpracování vzorků pro biobanking.

Navzdory prakticky celoročně probíhající pandemii onemocnění covid-19 a s ní souvisejícím problémům byla naším cílem bezpečná a individuální komplexní péče o naše nemocné, zajišťovaná spoluprací zkušených lékařů, zdravotních sester, ošetřovatelů, sanitářů a dalších specialistů, kterými jsou fyzioterapeut, nutriční terapeutka, klinický farmaceut, psycholog a zdravotně-sociální pracovnice. Jen díky tomuto konceptu lze léčit pacienty s tak závažnými hematologickými onemocněními v nejširším možném spektru.

Diagnostické a léčebné postupy prováděné v ÚHKT splňují nejmodernější a současně nejpřísnější světové standardy. Více než **11 let** je ÚHKT držitelem prestižní mezinárodní akreditace Joint Commission International. Transplantační program je akreditován dle Joint Accreditation Committee International Society for Cellular Therapy Standards (JACKIE).

Klinický úsek se významným způsobem podílí také na pregraduální výuce studentů v rámci Ústavu klinické a experimentální hematologie 1. lékařské fakulty UK Praha. Podílí se také na postgraduálním vzdělávání lékařů a dalších vysokoškoláků, a to pořádáním předatestačních kurzů a dlouhodobých odborných stáží lékařů i dalších vysokoškoláků.

Prakticky trvalá je také aktivní spolupráce ÚHKT s mnoha významnými hematologickými pracovišti a organizacemi v České republice i v Evropě, kterými jsou například Česká leukemická skupina pro život, která funguje v rámci České hematologické společnosti J. E. Purkyně. Příkladem mezinárodní spolupráce je např. členství v European LeukemiaNet (ELN), zajišťující spoluúčast v řadě celoevropských i celosvětových projektů jak léčebných, tak výzkumných.

Program was extended in 2020 with a brand-new technology of treatment of neoplastic diseases: therapy with genetically modified autologous T-lymphocytes. Our Hematological Intensive Care Unit treats patients in especially grave overall condition, having serious life-endangering complications. New scientific findings and their potential to spread into clinical practice led to the expansion of the Clinical Division with three (new) departments. Moreover, the Department of Central Admission and Processing of Samples for Biobanking was redesigned.

Despite practically all year long progress of the COVID-19 pandemic and problems connected with it, our goal was a safe and individual comprehensive care of our patients, provided through the cooperation of experienced physicians, nurses, hospital attendants, orderlies and other specialists, namely our physiotherapist, nutrition therapist, clinical pharmacist, psychologist and medical social worker. Only thanks to this concept is it possible to treat patients suffering from serious hematological diseases in the broadest possible spectrum.

Diagnostic and therapeutic methods used at IHBT meet the state-of-the-art and, at the same time, strictest world standards. IHBT holds the prestigious international accreditation of the Joint Commission International for over **11 years** now. The Transplant Program is accredited according to the Joint Accreditation Committee International Society for Cellular Therapy Standards (JACIE).

The Clinical Division takes an important part in pregraduate education of students in the framework of the Institute of Clinical and Experimental Hematology of the 1st Medical Faculty of Charles University in Prague. It is also involved in postgraduate education of physicians and other university graduates we organize pre-certification courses and long-term fellowships.

IHBT cooperates practically continuously with many major hematological centers and organizations both in the Czech Republic and abroad, e. g. the Czech Leukemia Study Group – for Life, operating in the framework of the Czech Society of Hematology of J. E. Purkyně. An example of international cooperation is, for instance, the membership in the European

Základní programy Klinického úseku

- Alogenní transplantace kmenových buněk krvetvorby od nepřibuzných i příbuzných dárců po klasické přípravě nebo po přípravě s redukovanou intenzitou od HLA shodných nebo haploidentických pokrevních dárců i od dárců nepřibuzných. ÚHKT je každoročně centrem s nejvyšším počtem těchto výkonů v České republice. Od zahájení tohoto programu v roce 1986 bylo provedeno celkem 1 488 transplantací.
- Léčba geneticky modifikovanými autologními lymfocyty s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T cells) a vývoj vlastních T buněk s chimerickými antigenními receptory.
- Intenzivní hematologická péče včetně umělé plicní ventilace a mimotělních eliminačních metod. Kromě hematologů je tato vysoce specializovaná péče zajišťována také zkušenými, erudovanými konziliáři z dalších medicínských oborů.
- Diagnostika a léčba pacientů s akutními leukemiemi podle aktuálních mezinárodních protokolů, zavádění moderních léků a nových medicínských postupů a také realizace akademických klinických hodnocení, ve kterých je ÚHKT samotným zadavatelem nebo národním koordinátorem v rámci ČR.
- Program diagnostiky a léčby pacientů s chronickou myeloidní leukemií včetně vysoce efektivní cílené léčby inhibitory tyrozinových kináz a napojení na mezinárodní/celoevropské projekty. V současné době v léčbě více než 400 nemocných. Léčba Ph negativních myeloproliferativních onemocnění.
- Péče o nemocné v Centru pro vzácné choroby krvetvorby: komplexní péče o nemocné se vzácnými vrozenými i získanými poruchami červené krevní řady, myelodysplastickým syndromem a paroxysmální noční hemoglobinurií. Pracoviště je také Centrem excelence pro

LeukemiaNet (ELN), securing our involvement in a series of Europe-wide and worldwide both therapeutic and research projects.

Basic programs of the Clinical Division

- Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from both related and unrelated donors after standard preparation or preparation with reduced intensity from HLA-identical or haploidentical blood-related, as well as unrelated donors. IHBT is the center that performs the highest annual number of these procedures in the Czech Republic. Since 1986, when this program was launched at IHBT, we performed a total of 1,488 transplants.
- Treatment with genetically modified autologous lymphocytes with chimeric antigen receptor (CAR-T cells) and the development of our own T cells with chimeric antigen receptors.
- Intensive hematological care, including artificial lung ventilation and extracorporeal elimination methods. Apart from hematologists, this highly specialized care is also provided by experienced, skilled consultants from other medical fields.
- Diagnostics and treatment of patients suffering from acute leukemias according to current international protocols, introduction of modern pharmaceuticals and new therapies, as well as the implementation of academic clinical trials where IHBT is either the contractor or the national coordinator within the CR.
- Program for diagnostics and treatment of patients with chronic myeloid leukemia, including highly effective targeted treatment with inhibitors of tyrosine kinases and connection to international Europe-wide projects. At present over 400 patients undergo treatment. Treatment of Ph myeloproliferative diseases.
- Care of patients at the Center for Rare Hematopoietic Diseases – comprehensive care of patients suffering from both rare congenital and acquired red blood cell disorders,

diagnostiku a léčbu MDS v rámci MDS Foundation a členem EuroBloodNet při EU.

- Diagnostika a léčba nemocných s vrozenými krvácivými stavy a závažnými získanými poruchami hemostázy a také vrozenými a získanými trombofilními stavy. Hematologické zajištění všech typů chirurgických a ortopedických výkonů v rámci ČR.
- Vývoj nových léčivých přípravků aktivní imunoterapie za účelem zlepšení léčby hematologických onemocnění se zaměřením na využití buněk s přirozenou cytotoxickou aktivitou proti buňkám nádorovým.

Lůžkové oddělení

Vedoucí: MUDr. Petr Soukup, MHA

Petr.Soukup@uhkt.cz, +420 221 977 312

Zástupce vedoucího: MUDr. Michal Kouba

Michal.Kouba@uhkt.cz, +420 221 977 298

Na 21. postelích Lůžkového oddělení (LO) ÚHKT bylo během roku 2020 hospitalizováno 355 nemocných. Přes dílčí omezení způsobená specifickými režimovými opatřeními zapříčiněnými téměř celoroční pandemií covid-19, která komplikují organizaci hospitalizací a snižují průchodnost LO, se jedná o téměř stejný počet jako v roce minulém.

Početně nejzastoupenější skupinu pacientů v péči LO ÚHKT tvoří – jako tradičně – nemocní s akutní myeloidní (AML) a lymfoblastovou (ALL) leukemií. Počet diagnostikovaných a intenzivně léčených pacientů s AML dosáhl v roce 2019 počtu **34**. Míra dosažení kompletní hematologické remise po podání jednoho, respektive dvou cyklů indukční chemoterapie dosahovala **85 %**. Asi **50 %** všech AML diagnostikovaných v roce 2020 bylo indikováno k provedení transplantace kostní dřeně.

Počet nemocných ALL diagnostikovaných a intenzivně léčených na LO dosáhl v tomto roce počtu **17**. Po indukčních

myelodysplastic syndrome and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Moreover, IHBT is a Center of Excellence for Diagnostics and Treatment of MDS in the framework of the MDS Foundation, and a member of the ERN-EuroBloodNet collaborative platform.

- Diagnostics and treatment of patients with congenital bleeding conditions and serious acquired disorders in hemostasis, and also with congenital and acquired thrombophilic conditions. Hematological backup of all types of surgical and orthopedic interventions within the CR.
- Development of new medicinal products of active immunotherapy with the aim of improving the treatment of hemato–oncological diseases geared towards the use of cells with natural cytotoxic activity against neoplastic cells.

Inpatient Department

Head: MUDr. Petr Soukup, MHA

Petr.Soukup@uhkt.cz, +420 221 977 312

Deputy Head: MUDr. Michal Kouba

Michal.Kouba@uhkt.cz, +420 221 977 298

In the course of 2020, 255 patients were hospitalized in 21 beds of the IHBT Inpatient Department. Despite partial limitations caused by specific regimen measures owing to an almost all-year-long Covid-19 pandemic complicating the organization of hospitalizations and reducing the throughput of the Inpatient Department, it represents almost the same number as in the year before.

The largest group of patients treated at the IHBT Inpatient Department traditionally consists of patients with acute myeloid leukemia (AML) and lymphoblastic leukemia (ALL). The number of diagnosed and intensively treated patients suffering from AML totaled **34** in 2020. The rate of full hematological remission after one or two cycles of induction chemotherapy reached **85%**. **50%** of all patients with diagnosed AML in 2020 were indicated for bone marrow transplantation.

The number of patients with ALL, diagnosed and intensively

cyklech míra dosažení kompletní remise opakovaně přesahuje **90 %**, k transplantaci buněk krvetvorby je v daném roce indikována přibližně třetina nemocných s ALL diagnostikovaných v daném roce.

Počet intenzivně léčených nemocných s akutní promyelocytární (APL) leukemií v roce 2020 oproti minulému roku mírně stoupl, léčbu podstoupilo 8 nemocných.

Diagnostika a terapie akutních leukemií na ÚHKT probíhá v co možná největší míře podle posledních mezinárodních protokolů včetně zařazení moderních léků ke standardně používaným režimům, vše ve snaze maximálně individualizovat terapeutický přístup dle potřeby konkrétního pacienta. Nadále přetrvává snaha zařazovat pacienty do klinických studií a hodnocení, a to firemních, ale stále častěji i akademických, což je patrné hlavně u ALL, kde se daří do studií začlenit až 60 % nemocných s danou diagnózou.

Na LO jsou léčeni také nemocní s jinými závažnými hematologickými diagnózami a také s komplikacemi souvisejícími s podanou léčbou či provedenou transplantací buněk krvetvorby. Převážně se jedná o myelodysplastické syndromy vyžadující intenzivní léčbu, chronické myeloidní leukemie v pokročilé fázi nemoci, ostatní myeloproliferativní onemocnění (polycytemia vera, esenciální trombocytémie, primární myelofibrózy), chronické lymfoblastické leukemie, vrozené a získané poruchy krevní srážlivosti, ITP, TTP, těžké formy hemolytických anémií, aplastické anémie. Nermalou část hospitalizovaných pacientů tvoří nemocní s potřebou terapie relapsu základního onemocnění, a to jak maligního, tak nemaligního.

V roce 2020 se na LO nadále velmi úspěšně rozvíjí podpůrná a paliativní péče, která je vedena členy multidisciplinárního specializovaného týmu ÚHKT ve spolupráci s kmenovými pracovníky lůžkového oddělení.

treated at the Inpatient Department totaled **17**. The rate of remission after induction cycles repeatedly exceeds **90%**; we indicate approximately one third of patients with ALL, diagnosed in the given year, for hematopoietic cell transplantation.

The number of patients intensively treated for acute promyelocytic leukemia (APL) slightly increased in 2020 compared to 2019; treatment was provided to 8 patients.

Diagnostics and therapy of acute leukemias is performed at IHBT to the largest possible extent according to the latest international protocols, including the addition of modern pharmaceuticals to standardly used regimens. All this is guided by an effort to reach an individualized therapeutic approach according to the needs of a specific patient. There is a persistent effort to include patients in clinical studies and trials, both corporate and academic, which is obvious mainly in lymphoblastic leukemia where we succeed in including up to 60% of patients having the given diagnosis.

At the IHBT Inpatient Department we also treat patients with other serious diagnoses, as well as complications related to the provided treatment or performed hematopoietic cell transplantation. This applies mainly to myelodysplastic syndromes requiring intensive care, chronic myeloid leukemias at an advanced stage of the disease, other myeloproliferative diseases (polycythemia vera, essential thrombocythemia , primary myelofibrosis),, chronic lymphoblastic leukemia, both congenital and acquired coagulation disorders, ITP, TTP, serious forms of hemolytic anemias, and aplastic anemias. A considerable part of inpatients are patients requiring therapy of the basic disease relapse, both malign and non-malign.

The year 2020 saw a very successful development of supportive and palliative care at the Inpatient Department performed by members of the IHBT specialized multidisciplinary team in cooperation with the core staff members of the Inpatient Department.

Transplantační jednotka a Jednotka intenzivní péče

Vedoucí: MUDr. Jan Vydra, Ph.D.

Jan.Vydra@uhkt.cz, +420 221 977 290

Zástupkyně vedoucího: MUDr. Veronika Válková, CSc.

Veronika.Valkova@uhkt.cz, +420 221 977 301

Od roku 1986, kdy byl v ÚHKT zahájen transplantační program, je provedeno na Transplantační jednotce (TJ) a Jednotce hematologické intenzivní péče (JIHEP) každoročně nejvíce alogenních transplantací krvetvorby v rámci České republiky: celkem již 1430. V roce 2020 jsme provedli celkem 82 těchto transplantací a navíc 11 terapií geneticky modifikovanými autologními T lymfocyty (CAR-T buňky). CAR-T lymfocyty představují zcela novou technologii léčby nádorových onemocnění.

Nejčastější indikací alogenní transplantace krvetvorby byla akutní myeloidní leukemie, dále akutní lymfoblastová leukemie, myelodysplastické syndromy a další onemocnění.

Transplant Unit and Hematological Intensive Care Unit

Head: MUDr. Jan Vydra, Ph.D.

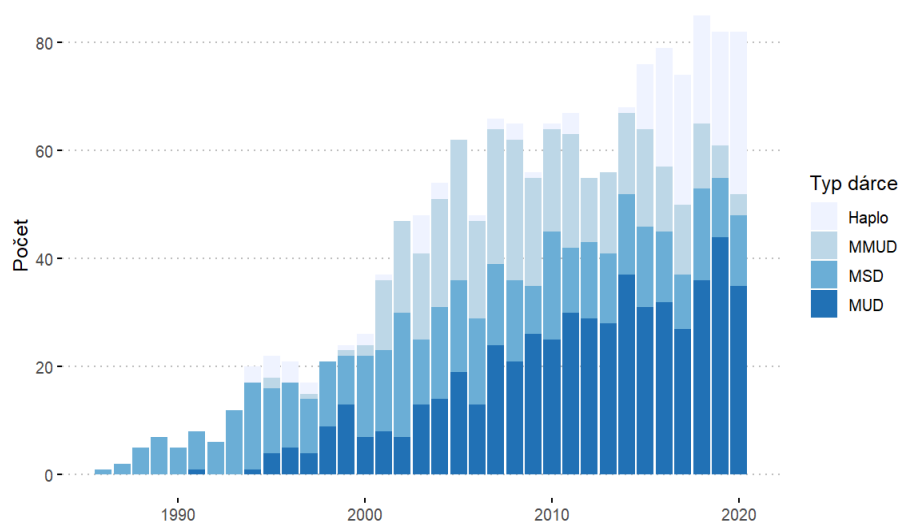
Jan.Vydra@uhkt.cz; +420 221 977 290

Deputy Head: MUDr. Veronika Válková, CSc.

Veronika.Valkova@uhkt.cz, +420 221 977 301

Since 1986, when the Transplant Program was launched at IHBT, the Transplant Unit (Czech abbreviation TJ) and the Hematological Intensive Care Unit (Czech abbreviation JIHEP) perform the largest annual number of allogeneic hematopoietic stem cell transplants within the Czech Republic – totaling as many as 1,430. In 2020 we performed a total of 82 transplants of this type, plus 11 genetically modified therapies with autologous T lymphocytes (CAR-T cells). CAR-T lymphocytes represent a completely new technique of the treatment of neoplastic diseases.

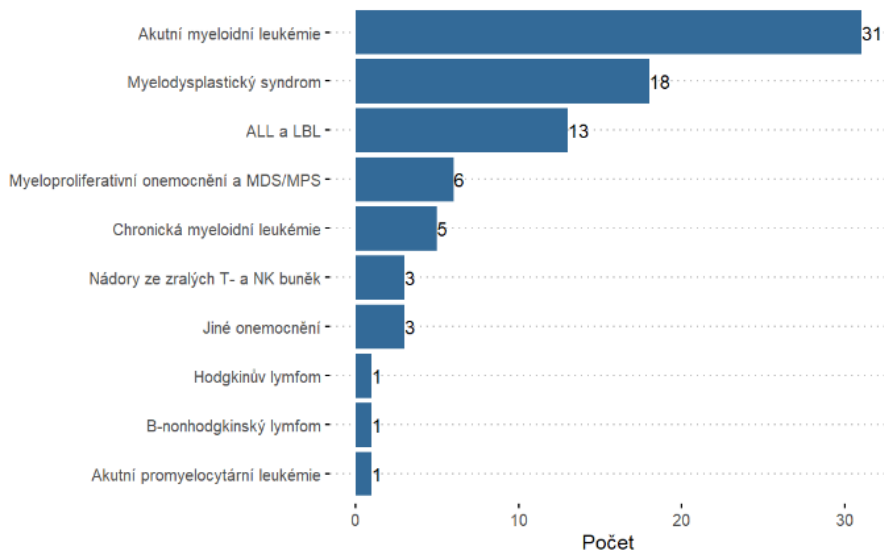
The most frequent indication for allogeneic hematopoietic stem cell transplants was acute myeloid leukemia, followed by acute lymphoblastic leukemia, myelodysplastic syndromes and other diseases.



Obrázek 1 Počet alogenních transplantací krvetvorby a typ dárce – HLA shodný sourozenec (MSD), Haploidentický příbuzný (Haplo), Nepříbuzný zcela shodný (MUD), Nepříbuzný částečně shodný (MMUD)

Fig. 1 Number of allogeneic hematopoietic stem cell transplants and the donor type – HLA matched sibling donor (MSD), Haploidentical relative (Haplo), Matched unrelated donor (MUD), Mismatched unrelated donor (MMUD)

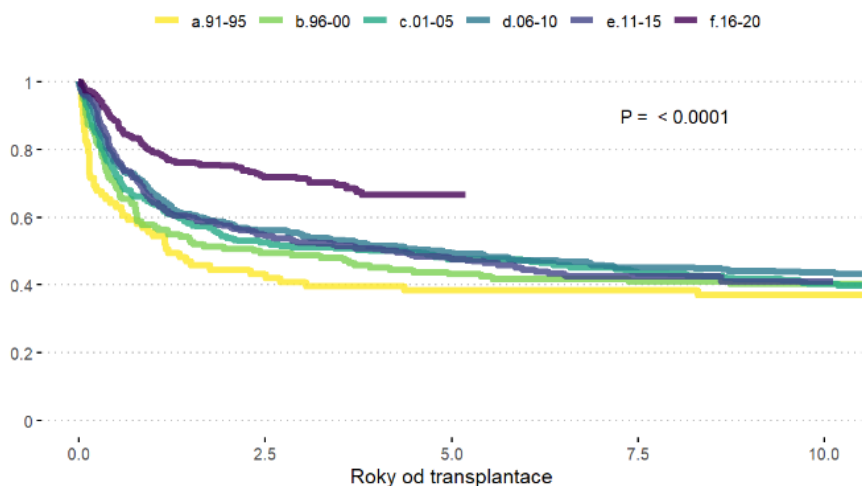
/labels in the chart, from left to right: Number, Type of donor/



Obrázek 2 Onemocnění, pro které byla provedena alogenní transplantace krvetvorby

Fig. 2 Diseases where allogeneic hematopoietic stem cell transplantation was performed

/labels in the chart, top to bottom: Acute myeloid leukemia, Myelodysplastic syndrome, ALL and LBL, Myeloproliferative disease and MDS/MPS, Chronic myeloid leukemia, Neoplasms in mature T- and NK cells, Other diseases, Hodgkin lymphoma, B-non-Hodgkin lymphoma, Acute promyelocytic leukemia; dole uprostřed: Number/



Obrázek 3 Celkové přežití pacientů od transplantace podle období, ve kterém byla transplantace provedena

Fig. 3 Total survival rate of patients since transplantation as for the stage when transplantation was performed

/text under chart: Years since transplantation/

Šance na dlouhodobé přežití a vyléčení pacientů po transplantaci se postupně zlepšuje díky pokrokům v podpůrné léčbě, léčbě potransplantačních relapsů a léčbě reakce štěpu proti hostiteli.

Pro další vážné diagnózy a mimořádně těžké stavy slouží Jednotka intenzivní hematologické péče. Zde je možnost napojení pacientů na umělou plicní ventilaci, která byla v roce 2020 provedena u 8 pacientů, neinvazivní ventilace byla aplikována u 2 pacientů, hi-flow O2 terapie u 3 pacientů. Kontinuální hemodialýzou byli léčeni 2 pacienti. Celkem bylo v tomto roce na Jednotce intenzivní hematologické péče a Transplantační jednotce přijato k léčbě 224 pacientů včetně 82 transplantačních pobytů.

Centrum pro koordinaci transplantací

Vedoucí: Kateřina Waldmannová

Katerina.Waldmannova@uhkt.cz, +420 221 977 486

V roce 2020 došlo k úpravě organizace v transplantačním programu a tím k rozdělení oddělení na Dokumentační centrum a Centrum pro koordinaci transplantací, které bylo připojeno k Transplantační jednotce. V oddělení je nyní jeden transplantační koordinátor a dvě datamanažerky. Hlavním úkolem pracoviště je koordinovat program alogenních transplantací kmenových buněk krvetvorby. Znamená to úzkou spolupráci s registry dobrovolných dárců (a to jak s českými, tak i se zahraničními), dále spolupráci s klinickými pracovišti, aferetickým odd. a laboratořemi. Centrum zajišťuje a shromažďuje veškeré podklady pro správný výběr vhodného dárce, komunikuje se zdravotními pojišťovnami, koordinuje zajištění termínů souvisejících s odběrem a transportem štěpu. V roce 2020 bylo připraveno a uskutečněno 82 transplantací, příbuzenských 43 (z toho haplo 30) a nepříbuzenských 39.

V oddělení datamanažerky sledují a zpracovávají údaje o pacientech, kteří podstoupili transplantaci kmenových buněk krvetvorby. Vypracovávají hlášení pro registry (CIBMTR, EBMT a CSCR).

The chance for a long-term survival and recovery of patients after transplantation has been increasing thanks to advances in supportive care, the treatment of post-transplant relapses and the treatment of graft versus host disease.

Patients with other serious diagnoses and exceptionally severe conditions are attended by the Hematological Intensive Care Unit. Here we have the possibility of connecting patients to artificial lung ventilation, which we used for 8 patients in 2020; non-invasive ventilation was used for 2 and hi-flow O2 therapy for 3 patients. Continuous hemodialysis was used for the treatment of 2 patients. In 2020 we admitted a total of 224 patients at the Hematological Intensive Care Unit and the Transplant Unit, including 82 for transplantation stays.

Center for Transplant Coordination

Head: Kateřina Waldmannová

Katerina.Waldmannova@uhkt.cz, +420 221 977 486

The year 2020 saw an adjustment in the transplant program organization, whereby the center was divided into the Documentation Center and the Center for Transplant Coordination that was attached to the Transplant Unit. Now, the center is staffed with 1 transplant coordinator and 2 data managers. The main task of the center is to coordinate the program of allogeneic transplants of hematopoietic stem cells. This entails a close cooperation with registries of voluntary donors (both Czech and foreign ones), as well as with clinical centers, the Apheresis Department and laboratories. We provide and collect all documents for a correct selection of suitable donors, communicate with health insurance companies and coordinate the fixing of dates related to the graft collection and transport. In 2020 we prepared and performed 82 transplants, namely 43 from related donors (of which 30 haplo) and 39 from unrelated donors.

Our data managers monitor and process data of patients who underwent transplantation of hematopoietic stem cells. They prepare reports for registries (CIBMTR, EBMT and CSCR).

Ambulance a Denní stacionář

Vedoucí: MUDr. Jacqueline Soukupová Maaloufová
Jacqueline.Maaloufova@uhkt.cz, +420 221 977 301

Zástupkyně vedoucí: MUDr. Marie Lauermannová
Marie.Lauermannova@uhkt.cz, +420 221 977 312

Ambulance je pro většinu pacientů místem prvního kontaktu. Jsou zde však sledováni a léčeni i nemocní, kteří již prošli lůžkovými částmi ÚHKT. Mnoho pacientů je léčeno i v ambulantním režimu. Práce probíhá celkem v jedenácti ordinacích. Počet ošetření byl i přes období pandemie covid-19 stále vysoký (24 134), provádí se superkonziliární vyšetření pacientů z jiných pracovišť a k dispozici jsou také specializované ambulance. V **Denním stacionáři** jsou podávány především krevní přípravky, krevní deriváty, chemoterapii i biologickou léčbu. V Denním stacionáři bylo v roce 2020 provedeno 8 337 ošetření, což je více než v loňském roce, a bylo podáno 3 515 terapeutických jednotek erytrocytových koncentrátů, 1 401 terapeutických jednotek destičkových přípravků a 231 jednotek čerstvě zmražené plazmy. V době pandemie covid-19 existovala jasná strategie vstupu do našeho zařízení. Výběrově byly ošetřeni pacienti s lehkým průběhem infekce vyžadující speciální hematologickou péči, a to v odpoledních hodinách v uzavřeném boxu při dodržování všech hygienických předpisů.

Ambulantně bylo v roce 2020 provedeno 1 057 sternálních punkcí a 159 trepanobiopsií. Oddělení se věnuje diagnosticky celému spektru hematologických diagnóz, zvláště se zaměřuje na diagnostiku a léčbu akutních leukemií a dalších onemocnění myeloidní řady s výhledem provedení alogenní transplantace kostní dřeně. K dispozici jsou zde specializované ambulance, například ambulance pro péči o dospělé pacienty s vrozenými deficitem koagulačních faktorů, ambulance, kde jsou dispenzarizováni a léčeni pacienti se vzácnými onemocněními červené krevní řady, ambulance pečující o pacienty transplantované, ambulance se zaměřením na akutní myeloidní leukemii a chronickou myeloidní leukemii (CML).

V roce 2020 se stále rozvíjí péče o pacienty nevyléčitelně

Outpatient Department and Day Hospital

Head: MUDr. Jacqueline Soukupová Maaloufová
Jacqueline.Maaloufova@uhkt.cz, +420 221 977 301

Deputy Head: MUDr. Marie Lauermannová
Marie.Lauermannova@uhkt.cz, +420 221 977 312

The **Outpatient Department** is the first contact point for most patients. However, we also monitor and treat patients who have already passed through inpatient parts of IHBT. We treat many patients in the outpatient regimen too. We work in a total of 11 consulting rooms. Despite the period of the Covid-19 pandemic, the number of examinations continued to be high (24,134); since we perform superconsultation examinations of patients from other establishments, our outpatient centers are specialized. In the **Day Hospital** we primarily administer blood products, blood derivatives, chemotherapy and biological treatment. In 2020 our Day Hospital performed 8,337 treatments which is more than the year before, and administered 3,515 therapeutic units of erythrocyte concentrates, 1,401 therapeutic units of platelet products and 231 units of freshly frozen plasma. At the time of the Covid-19 pandemic we have been pursuing a clear strategy of access to our establishment. We attend to selected patients with a mild course of the disease requiring special hematological care, namely in afternoon hours in a closed box, while complying with all hygienic regulations.

In 2020 we performed 1,057 sternal punctions and 159 trepanobiopsies on a day-case basis. We are engaged in diagnostics of a whole spectrum of hematological diagnoses, focusing especially on diagnostics and treatment of acute leukemias and other diseases of myeloid lineage with a prospect of performing allogeneic bone marrow transplantation. In this area we have specialized outpatient centers, e.g. the center for the care of adult patients with congenital coagulation-factor deficiencies, the center for continuing care and treatment of patients with rare diseases of the red blood system, the center taking care of transplanted patients, and the center focusing on acute myeloid leukemia and chronic myeloid leukemia (CML).

The year 20120 saw the development of care of terminally

nemocné. Pacientům je nabízena pomoc paliativního týmu.

Nemocným s myelodysplastickým syndromem (MDS) je podáván lenalidomid, azacitidin, erythropoetin či chemoterapie nebo jsou zařazeni do transplantačního programu. Data týkající se léčby MDS zadáváme do registru Czech MDS Group a do evropského MDS registru. V rámci studijních protokolů je možné pacientům nabídnout léčbu novými léky (biologická terapie, nové inhibitory tyrozinkinázy).

Centrum pro trombózu a hemostázu

Vedoucí: MUDr. Viera Pohlreichová

Viera.Pohlreichova@uhkt.cz, +420 221 977 318

Zástupce vedoucího: MUDr. Jan Loužil

Jan.Louzil@uhkt.cz, +420 221 977 427

Centrum pro trombózu a hemostázu (CTH) je jedním ze tří center komplexní péče pro dospělé pacienty s vrozenými deficity koagulačních faktorů v Česku. Jedná se zejména o pacienty s hemofilii A a hemofilii B, včetně pacientů s inhibítorem. Dispenzarizované jsou přenašečky hemofilie s fyziologickou i sníženou hladinou FVIII/FIX, nemocní s von Willebrandovou chorobou a s dalšími vzácnými deficity koagulačních faktorů. Celkový počet pacientů s uvedenými diagnózami se v současné době blíží 600.

U výše uvedených diagnóz je zajištěna profylaxe a jak léčba plazmatickými a rekombinantními koncentráty faktorů, tak i nefaktorová léčba hemofilie A. Centrum zajišťuje vstupní rehabilitační vyšetření, na které v případě zájmu pacienta navazuje dlouhodobá rehabilitace pohybového aparátu pacientů s těžkými formami hemofilie, včetně možnosti lázeňského pobytu. Pacienti mají v rámci centra možnost konzultace klinického psychologa. Je poskytováno též hematologické zajištění všech typů stomatologických, chirurgických včetně kardioinvasivních a samozřejmě ortopedických výkonů pro pacienty z celé České republiky.

U přenašeček hemofilie A/B je zajištěna prenatalní diagnostika. U všech těhotných je zajištěno komplexní

ill patients who were offered the assistance of a palliative care team.

We treat patients suffering from myelodysplastic syndrome (MDS) with lenalidomide, azacitidine, erythropoietin or chemotherapy, or they are included in our Transplant Program. We enter data related to the treatment of MDS into the Czech MDS Group Registry and the European MDS Registry. In the framework of study protocols we can offer patients a treatment with new medicines (biological therapy, new inhibitors of tyrosine kinase).

Center for Thrombosis and Hemostasis

Head: MUDr. Viera Pohlreichová

Viera.Pohlreichova@uhkt.cz, +420 221 977 318

Deputy Head: MUDr. Jan Loužil

Jan.Louzil@uhkt.cz, +420 221 977 427

The Center for Thrombosis and Hemostasis (CTH) is one of three Comprehensive Care Centers for adult patients with congenital coagulation factor deficiencies in the Czech Republic. They are chiefly patients with hemophilia A and hemophilia B, including patients with an inhibitor. On a long-term basis we follow up carriers of hemophilia with both physiological and reduced FVIII/FIX levels, patients with von Willebrand disease and rare coagulation factor deficiencies. The total number of patients with the above diagnoses is currently close to 600.

For the above diagnoses we provide prophylaxis and treatment with both plasmatic and recombinant concentrates of coagulation factors, as well as non-factor treatment of hemophilia A. The center provides the admission rehabilitation examination which, in case of the patients' interest, is followed up by long-term rehabilitation of the locomotor system of patients with serious forms of hemophilia, including spa resort stays. In the framework of the center, patients can consult a clinical psychologist. We also provide hematological backup of all types of stomatological and surgical services, including cardiac invasive services, and naturally orthopedic services for patients from the entire

sledování pacientek v graviditě a peripartální péči.

CTH je také významným centrem pro diagnostiku a léčbu závažných získaných poruch hemostázy, především získaných inhibitorů koagulačních faktorů (zhruba 50 pacientů) či trombotické trombocytopenické purpury (aktuálně v dispenzarizaci 44 pacientů).

Dále se věnuje diagnostice a péči o pacienty s vrozenými a získanými trombofilními stavy.

V rámci vzdělávací činnosti centrum každoročně pořádá kongres zaměřený na diagnostiku a léčbu vrozených a získaných krvácivých poruch, který se v roce 2020 vzhledem k epidemiologické situaci konal online formou.

Centrum pro vzácné choroby krve tvorby a laboratoř diagnostiky anemií

Vedoucí: prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
Jaroslav.Cermak@uhkt.cz, +420 221 977 206

Centrum pro vzácné choroby krve tvorby bylo vyhlášeno ve Věstníku MZD v roce 2014 a reakreditováno v roce 2019. Věnuje se komplexní péči zejména o nemocné s vzácnými vrozenými a získanými poruchami červené krevní řady, s myelodysplastickým syndromem (MDS) a s paroxysmální noční hemoglobinurií (PNH). Současně je ÚHKT Centrem excelence pro diagnostiku a léčbu MDS v rámci MDS Foundation a členem EuroBloodNet při Evropské unii. Data týkající se vzácných chorob krve tvorby jsou zadávána do národních a mezinárodních registrů. V roce 2020 bylo v ÚHKT diagnostikováno 25 nových nemocných s primárním MDS, z toho 15 s časnými formami choroby a 4 s pokročilou formou choroby s nadbytkem blastů, kromě toho byli diagnostikováni 2 nemocní s chronickou myelomonocytární leukémií (CMML) a 4 nemocní s diagnózou RAEB-T, dnes

Czech Republic.

We provide prenatal diagnostics to carriers of hemophilia A/B. We are in charge of a comprehensive follow-up of all pregnant women both in pregnancy and an perinatal care.

The CTH also is an important site for diagnostics and treatment of serious acquired disorders in hemostasis, chiefly acquired inhibitors of coagulation factors (some 50 patients) or thrombotic thrombocytopenic purpura (44 patients are currently followed up on a long-term basis).

Furthermore, we are engaged in diagnostics and care of patients with congenital and acquired thrombophilic conditions.

In the framework of education activity, the center organizes annual congresses focused on diagnostics and treatment of congenital and acquired bleeding disorders; in 2020, owing to the epidemiological situation, the congress was held in online form.

Center for Rare Hematopoietic Diseases and Laboratory of Diagnostics of Anemias

Head: prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
Jaroslav.Cermak@uhkt.cz, +420 221 977 206

The **Center for Rare Hematopoietic Diseases** was announced in a Bulletin of the Ministry of Health of the Czech Republic in 2014 and reaccredited in 2019. It is engaged in comprehensive care chiefly of patients with rare congenital and acquired disorders of the red blood system, with myelodysplastic syndrome (MDS) and paroxysmal night hemoglobinuria (PNH). At the same time, IHBT is a Center of Excellence for Diagnostics and treatment of MDS in the framework of the MDS Foundation, and a member of the ERN-EuroBloodNet Collaborative platform. Data related to the treatment of MDS are input into national and international registries. In 2020 we diagnosed 25 new patients suffering from primary MDS, 15 of whom having early forms of the disease, and 4 patients having an advanced form of the disease with an excess of blasts. Apart from that, 2 patients were

řazenou mezi akutní myeloidní leukemie (AML). Nemocní s časnými formami MDS jsou většinou léčeni konzervativně, nemocní s pokročilou formou MDS byli léčeni podáním hypometylačních látek (Vidaza v monoterapii či v kombinaci v rámci studií), 4 nemocní byli transplantováni. V ÚHKT je sledováno 45 nemocných s diagnózou paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH), v roce 2020 byli diagnostikováni 2 noví nemocní s lehčí formou PNH, 12 nemocných se závažným průběhem choroby je léčeno dlouhodobým podáváním eculizumabu či ravolizumabu.

Centrum pro vzácné choroby krvetvorby v současné době participuje na třech studiích léčby PNH perorálními inhibitory komplementu či deriváty eculizumabu s prodlouženým účinkem, na třech studiích léčby novými látkami u MDS a na dvou studiích léčby autoimunní hemolytické anémie fostamatinibem.

Laboratoř diagnostiky anémií se věnuje diagnostice vrozených anémií a některých získaných poruch červené krevní řady. V roce 2020 bylo diagnostikováno 69 nových nemocných s heterozygotní formou beta thalasemie a 19 nemocných s heterozygotní formou alfa thalasemie, 9 nemocných s deficitem glukoso-6-fosfát dehydrogenázy, 7 nemocných s heterozygotní formou srpkovité anemie a 2 děti s homozygotní formou této choroby. Pomocí kapilární elektroforézy bylo vysloveno podezření na další formy vzácných hemoglobinopatií (HbD, HbC, HbE, Hb Knossos) u 11 nemocných a choroba byla potvrzena molekulárně genetickou analýzou. Celkové množství vyšetření vzácných onemocnění krvetvorby v roce 2020 činilo 2 201.

Při laboratoři je současně budován registr vzácných anémií ve spolupráci s FN Motol a FN Olomouc, v současné době je v ÚHKT a FN Motol sledováno 156 nemocných s těmito chorobami.

diagnosed with chronic myelomonocytic leukemia (CMML) and 4 patients with diagnosed RAEB-T, currently counted among acute myeloid leukemias (AML). Most patients with early forms of MDS receive conservative treatment, while those with an advanced form of MDS were administered hypomethylating substances (Vidaza immunotherapy or in combination in the framework of studies); 4 patients were transplanted. We have been monitoring 45 patients diagnosed with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH); in 2020, we diagnosed 2 new patients with a mild form of PNH, 12 patients with a grave course of the disease have been administered eculizumab and ravolizumab on a long-term basis.

At present, the Center for Rare Hematopoietic Diseases takes part in 3 studies of treatment of PNH by peroral inhibitors of the complex or derivatives of eculizumab with a prolonged effect in 3 studies of treatment with new substances for MDS and 2 studies of treatment of autoimmune hemolytic anemia with fostamatinib.

The **Laboratory of Diagnostics of Anemias** provides diagnoses of congenital anemias and certain acquired disorders of the red blood system. In 2020, it diagnosed 69 new patients with heterozygous form of beta thalassemia and 19 patients with heterozygous form of alpha thalassemia, 9 patients with deficit of glucose-6-phosphate dehydrogenase, 7 patients with heterozygous form of sickle-cell anemia and 2 children with homozygous form of this disease. With the help of capillary electrophoresis we expressed a suspicion of other forms of rare hemoglobinopathy (HbD, HbC, HbE, and Hb Knossos) in 11 patients, and the disease was confirmed through molecular genetic analysis. The total number of tests of rare hematopoietic diseases equaled 2,201 in 2020.

At the same time, a registry of rare anemias has been built at the laboratory in cooperation with the FN Motol and FN Olomouc. Currently 156 patients with these diagnoses are monitored at IHBT and the FN Motol.

Podpůrný tým ÚHKT

Vedoucí: MUDr. Michal Kouba

Michal.Kouba@uhkt.cz, +420 221 977 365

Zástupkyně vedoucího: Martina Klejnová, DiS.

Martina.Klejnova@uhkt.cz

Součástí komplexně pojaté péče na půdě ÚHKT byla i v roce 2020 nabídka lidsky odpovědného a odborně zakotveného doprovázení pracovníky multidisciplinárního podpůrného týmu. Činnost podpůrného týmu vychází ze zkušenosti, že hemato-onkologické onemocnění znamená novou životní situaci, která působí značnou duševní a existenciální zátěž. Pacient se potřebuje v nové situaci zorientovat a nastartovat funkční adaptační procesy. Mnohdy se probouzí potřeba urovnání životních hodnot, hledání smyslu v životě i vyrovnání se s nejistotou, která přirozeně provází život s nemocí od momentu jejího propuknutí. Soustředěná podpora na rovině sociální, psychologické a spirituální může pomoci se s nejistotou náročné životní situace vyrovnat.

Specifickou a zásadní oblastí podpory je také péče o pacienty s nevyлéčitelným onemocněním a jejich rodiny včetně pomoci pozůstalým po úmrtí nemocného člověka.

Výzvy spojené s epidemiologickou situací ještě zvýraznily potřebu dostupné podpůrné péče. Pandemie covid-19 přinesla pocit ohrožení a také nutná epidemiologická opatření vedoucí k izolaci pacientů v lůžkovém provozu i v domácím prostředí. Potřeba mezilidské blízkosti a poptávka po psychologické, spirituální i sociální péči tak adekvátně situaci narostly. Zároveň byla s ohledem na bezpečnost pacientů část činnosti transformována do distanční formy (telefonické a online intervence a konzultace). Další důležitou oblastí činnosti podpůrného týmu se stala kolegiální podpora personálu nemocnice.

Podpůrný tým tvoří především psychologičky, kaplan a sociální pracovnice, úzce s nimi potom spolupracují paliativní a paliativní sestry.

Sociální pracovnice nabízí poradenství v oblasti otázek sociální podpory, příspěvků, pracovní neschopnosti, jiné finanční pomoci, ale i konzultace širších praktických

IHBT Supportive Team

Head: MUDr. Michal Kouba

Michal.Kouba@uhkt.cz, +420 221 977 365

Deputy Head: Martina Klejnová, DiS.

Martina.Klejnova@uhkt.cz

The comprehensive approach to care at IHBT in 2020 included the offer of humanly responsible and professionally grounded accompaniment by staff members of the multidisciplinary Supportive Team. The activity of the team is based on the experience that hemato-oncological diseases mean a new life situation that causes a considerable mental and existential strain. Patients in the new situation need to orient themselves and to start functional adaptation processes. Often a need arises to settle life values, to seek sense in one's life and to cope with uncertainty that naturally accompanies one's life with the disease ever since it breaks out. A concentrated support at the social, psychological and spiritual level can help come to terms with the uncertainty of a difficult situation in one's life.

A specific and basic field of support is the care of patients with an incurable disease and their families, including the help to the bereaved after the death of a sick person.

The challenges linked to the epidemiological situation put a further emphasis on the need of accessible supportive care. The Covid-19 pandemic brought about the feeling of danger, as well as necessary epidemiological measures leading to the isolation of patients both in inpatient regimen and in home environment. Thus, the need of interpersonal closeness and the demand of psychological, spiritual and social care grew proportionately to the situation. At the same time, in view of patients' safety, a part of the activity was transformed into distance form (telephone and online interventions and consultations). A friendly support of hospital staff members became another important field of activity of the Supportive Team.

The Supportive Team chiefly consists of psychologists, a chaplain and a social worker; their close collaborators are palliative workers and nurses.

souvislostí, které vznikají při pobytu v nemocnici, při přípravě hladkého přechodu do domácího ošetřování a v období zotavování se po hospitalizaci.

Psycholožky se pohybují na všech lůžkových odděleních i v ambulanci a jsou k dispozici pacientům i jejich rodinám. V rámci psychologické podpory nabízí krizovou intervenci v období náhlé psychické zátěže, práci s emocemi, pomoc v hledání vhodné strategie zvládnání nemoci, dlouhodobější podpůrně psychotherapeutickou péči v období hospitalizace a také po ní.

Nemocniční duchovní (kaplan) je rovněž k dispozici na všech lůžkových odděleních i na ambulanci pacientům i jejich blízkým. Poskytuje jak pomoc v období náhlé zátěže, tak dlouhodobou lidskou podporu během léčby a po ní. V případě zájmu poskytuje také ryze spirituální péči formou rozhovoru o duchovních otázkách, modlitby nebo poskytnutí svátostné služby. Náš kaplan ctí osobní svobodu každého člověka ve věci náhledu na život. Věnuje se komukoli bez rozdílu přesvědčení nebo náboženského vyznání.

Lékaři s atestací v paliativní medicíně a sestry se vzděláním v paliativní medicíně úzce spolupracují v multidisciplinárním týmu s kolegy nezdravotnického vzdělání. Na všech odděleních klinického úseku nabízí expertní komunikaci, asistenci v symptomové léčbě, někdy také koordinaci zdravotní a potřebné odborné psychologické, sociální a spirituální podpory. Jeden den v týdnu funguje ambulance podpůrně a paliativní péče, kde jsou většinou konziliárně vyšetřováni pacienti, kteří jsou v péči jiného hematologa na ÚHKT, který požádal o spolupráci pro pacientovu velkou symptomovou zátěž nebo komplexní obtíže vyžadující delší čas k řešení, multidisciplinární přístup, zapojení rodiny či blízkých pečujících. Stejná konziliární služba je k dispozici i na lůžkových stanicích. Významná je zvláště strukturovaná spolupráce s ambulancí pro akutní myeloidní leukemii ÚHKT, s Klinikou paliativní medicíny VFN a s poskytovateli domácí i lůžkové specializované paliativní péče v celé republice.

The social worker offers consultancy in the area of social welfare benefits, incapacity to work, other financial allowances, as well as consultations related to practical implications arising during hospital stay, the preparation of a smooth transition to home care, and during recovery after hospitalization.

The psychologists are present at all inpatient centers and the Outpatient Department, and are available both to patients and their families. In the framework of psychological backing, they provide crisis intervention in sudden mental strain, the work with emotions, assistance in the quest for a suitable strategy for coping with a disease and a longer-term psychotherapeutic support during hospitalization and, if needed, also after its end.

The hospital priest (chaplain) is also present at all inpatient centers and the Outpatient Department, and is available both to patients and their related persons. He provides help in sudden strain, as well as long-term human support during and after treatment. In case of interest, he also provides purely spiritual care in the form of conversations about spiritual issues, prayers or the service of sacraments. Our chaplain respects the personal freedom of every individual in the life outlook. He attends to anybody irrespective of their belief or creed.

Physicians specialized in palliative medicine and nurses trained in palliative medicine closely cooperate in the multidisciplinary team with their colleagues untrained in medicine. At all departments of the Clinical Division they offer expert communication, assistance in symptom treatment, sometimes also the coordination of the needed medical and specialized psychological, social and spiritual support. The outpatient center of supportive and palliative care serves one day a week when mostly consultation examinations are offered to patients who are attended by another IHBT hematologist who requested cooperation owing to a patient's severe symptom strain or complex difficulties requiring a lengthy solution, multidisciplinary approach, the involvement of the patient's family or attending close relatives. The same consulting service is available at inpatient centers. Of special importance is the

Oddělení imunoterapie

Vedoucí: MUDr. Petr Lesný, Ph.D.

Petr.Lesny@uhkt.cz, +420 221 977 327

Oddělení imunoterapie v roce 2020 podstatně přepracovalo metodu výroby a kontroly kvality T buněk s chimérickými antigenními receptory proti CD19 (CAR19) a podalo doplněnou žádost o povolení klinického hodnocení. Podílelo se na vývoji výrobního postupu emergentní inaktivované vakcíny proti SARS-CoV-2 – zřídilo banku buněk a zajistilo kontrolní metody v režimu Správné výrobní praxe.

Imunoterapeutická skupina

V roce 2020 pokračoval výzkum a vývoj původních imunoterapeutických léčivých přípravků pod vedením Imunoterapeutické skupiny, která je složena z vědců pracujících v základním a aplikovaném výzkumu, odborníků na translační výzkum a klinických lékařů. Imunoterapeutická skupina, která byla založena v roce 2015, se v roce 2020 pravidelně setkávala a koordinovala návrh nových léčivých přípravků moderní a genové terapie od fáze aplikovaného výzkumu až do podání klinických hodnocení.

Oddělení výzkumu genové imunoterapie

Vedoucí: MUDr. Pavel Otáhal, Ph.D.

Pavel.Otahal@uhkt.cz, +420 221 977 222

Zástupkyně vedoucího: RNDr. Martina Petráčková, Ph.D.

Martina.Petrackova@uhkt.cz, +420 221 977 222

V roce 2020 probíhaly práce spojené s přípravou klinického hodnocení CAR19 T lymfocytů pro léčbu r/r B-ALL/B-NHL, jednalo se zejména o provádění funkčních testů připravených buněk. Dále byla dokončena publikace ukazující stimulační

structured cooperation with the outpatient center for acute myeloid leukemia of IHBT, the Clinic of Palliative Care of VFN and the providers of specialized palliative care in the whole Czech Republic.

Department of Immunotherapy

Head: MUDr. Petr Lesný, Ph.D.

Petr.Lesny@uhkt.cz, +420 221 977 327

In 2020, the Department of Immunotherapy made a substantial revision of the method of manufacture and quality control of T cells with chimeric antigen receptors against CD19 (CAR19) and submitted a complemented application for the permission of clinical evaluation. It took part in the development of a manufacturing procedure of an emergent inactivated vaccine against SARS-CoV-2 – it established a cell bank and established control methods in the regimen of Good Manufacturing Practice.

Immunotherapeutic Group

The year 2020 saw the continuation of research and development of original immunotherapeutic medicinal products under the leadership of the Immunotherapeutic Group that consists of scientists working both in basic and applied research, experts in translational research and clinical physicians. The Immunotherapeutic Group, founded in 2015, held regular meetings in 2020 and coordinated the proposal of new medicinal products of modern and gene therapy from the stage of applied research to the submission of clinical evaluations.

Department of Gene Immunotherapy Research

Head: MUDr. Pavel Otáhal, Ph.D.

Pavel.Otahal@uhkt.cz, +420 221 977 222

Deputy Head: RNDr. Martina Petráčková, Ph.D.

Martina.Petrackova@uhkt.cz, +420 221 977 222

The year 2020 saw the progress of work related to the preparation of a clinical trial of CAR19 T lymphocytes for the treatment of r/r B-ALL/B-NHL; this chiefly applied to the execution of functional tests of prepared cells. Furthermore,

funkci interleukinu 21 na protinádorový efekt CAR-T lymfocytů a byly zahájeny práce na novém projektu přípravy TCR-transgenních T lymfocytů specifických na antigen WT1 pro léčbu akutní myeloidní leukemie.

Oddělení výzkumu moderní imunoterapie

Vedoucí: Mgr. Jan Frič, Ph.D.

Jan.Fric@uhkt.cz, +420 221 977 648

Hlavním cílem výzkumu oddělení je vývoj nových léčivých přípravků aktivní buněčné imunoterapie za účelem zlepšení léčby hemato-onkologických onemocnění. Zaměřujeme se na využití buněk s přirozenou cytotoxickou aktivitou proti nádorovým buňkám, především NK buněk, gamma-delta T lymfocytů, NK-T buněk nebo cytokiny indukovaných cytotoxických buněk. Na vývoj nových protokolů pro buněčnou imunoterapii úzce navazuje výzkum základních vlastností a mechanismů, které kontrolují diferenciaci a aktivaci protinádorových cytotoxických funkcí buněk. Náš výzkum se snaží získat nové informace o molekulární kontrole vývoje cytotoxických vlastností buněk, jejich heterogenitě a možnostech manipulace fenotypu využitelných při imunoterapii. Současně vyvíjíme nové experimentální modely pro analýzu cytotoxicity, které přispějí k výběru a validaci nejlepších kandidátů na léčivý přípravek. Hlavním cílem je využití výsledků našeho výzkumu při optimalizaci podmínek pro maximální expanzi buněk a jejich cytotoxickou aktivitu a pro zachování cytotoxických schopností buněk i po adoptivním transferu do krevního oběhu pacientů.

Hlavní oblasti výzkumu

Heterogenita populací a funkčních vlastností cytotoxických buněk

In vitro expanze cytotoxických buněk pomocí cytokinů, jejich další stimulace a následný adoptivní transfer pacientům jsou jedním z nástrojů buněčné imunoterapie hemato-onkologických malignit. Vznik cytotoxických vlastností a účinná expanze počtu buněk jsou hlavním cílem pro vývoj optimálního protokolu pro přípravu léčivého přípravku. Kromě optimalizace expanzního protokolu se snažíme

a publication was finished showing the stimulation function of interleukin 21 on antineoplastic effect of CAR-T lymphocytes, and work began on a new project of the preparation of TCR-transgenic WT1 specific T lymphocytes for the treatment of acute myeloid leukemia.

Department of Modern Immunotherapy Research

Head: Mgr. Jan Frič, Ph.D.

Jan.Fric@uhkt.cz, +420 221 977 648

The main goal of our research is the development of new medical products of active cell immunotherapy with the aim of improving the treatment of hemato-oncological diseases. We focus on the use of cells with natural cytotoxic activity against neoplastic cells, mainly NK cells, gamma-delta T lymphocytes, NK-T cells or cytokine-induced killer cells. The development of new protocols for cellular immunotherapy is closely connected to the research of basic properties and mechanisms controlling the differentiation and activation of antineoplastic cytotoxic functions of cells. Our research strives for acquiring new information about molecular control of the development of cytotoxic properties of cells, their heterogeneity and about possibilities of phenotype manipulations that can be used in immunotherapy. At the same time, we have been developing new experimental methods for cytotoxicity analysis that will contribute to the selection and validation of the best prospective medicinal products. The main goal is to use the results of our research to optimize the conditions for a maximum expansion of cells and their cytotoxic activity and for preserving cytotoxic capabilities of cell also after their transfer into patients' blood stream.

Main research areas

Heterogeneity of populations and functional properties of cytotoxic cells

In vitro expansion of cytotoxic cells with the help of cytokines, their further stimulation and subsequent adoptive transfer to patients constitute one of the instruments of cell immunotherapy of hemato-oncological malignities. The formation of cytotoxic properties and an efficient expansion

identifikovat subpopulace nejlépe proliferujících buněk a zlepšit možnosti identifikace neúčinnějších cytotoxických buněk. Za tímto účelem připravujeme nové experimentální modely cytotoxických testů, které umožní detailní analýzu heterogenity takto připravených buněk. Tyto výsledky budou použity pro vývoj nových protokolů a pomohou s identifikací vhodných dárců pro expanzi buněk.

Imunometabolismus cytotoxických buněk

Intenzivní kultivace a expanze buněk v podmínkách tkáňové kultury je nezbytná k dosažení cílového množství buněk v léčivém přípravku. Tyto buňky jsou kultivovány v optimálním prostředí v nadbytku živin a růstových faktorů. Cílem je popsat, jak budou buňky léčivého přípravku reagovat na nové prostředí po adoptivním transferu. Při adoptivním transferu do krevního oběhu pacientů se pro buňky významně změní podmínky vnějšího prostředí a současně jsou transferované buňky vystaveny některým látkám (metabolitům, prozánětlivým cytokinům), které mohou snížit jejich cytotoxické vlastnosti. Hlavním cílem je pochopit molekulární procesy, které řídí cytotoxicitu buněk po adoptivním transferu léčivého přípravku pacientovi a tyto znalosti využít ke zlepšení a prodloužení cytotoxické funkce buněk při buněčné imunoterapii hemato-onkologických onemocnění.

Vývoj nových modelů pro testování buněčné cytotoxicity

Výzkum imunoterapie zaměřené na eliminaci buněk akutní myeloidní leukemie se potýká s nedostatkem vhodných modelů. Preklinické myší modely ani *in vitro* aplikace s použitím buněčných linií nebo primárních AML buněk nejsou dostatečné pro predikci terapeutického účinku cytokiny indukovaných cytotoxických buněk. Cílem tohoto projektu je vyvinout nové experimentální modely, které umožní lepší přežití primárních buněk AML za využití moderních metod 3D kultur, a které umí například mimikovat mikroprostředí kostní dřeně. Cílem je testovat cytotoxicitu buněk v komplexnějších podmínkách v současnosti již používaných při testování chemoterapeutických léčiv.

of the number of cells is the main goal of the development of an optimal protocol for the preparation of a medicinal product. Apart from the optimization of the expansion protocol we have been trying to identify subpopulations of the best proliferating cells and to improve the possibilities of the identification of the most efficient cytotoxic cells. For this purpose we have been preparing new experimental models of cytotoxic tests that will facilitate a detailed analysis of the heterogeneity of cells prepared in this manner. The results will be used for the development of new protocols and will help to identify suitable donors for the expansion of cells.

Immunometabolism of cytotoxic cells

Intensive cultivation and expansion of cells in conditions of tissue culture is essential for reaching the target quantity of cells in a medicinal product. These cells are cultivated in an optimal milieu with an excess of nutrients and growth factors. The target is to describe the response of the cells of a medicinal product to the new milieu after the adoptive transfer. During the adoptive transfer into patients' bloodstream a major change occurs in the conditions of external environment and, at the same time, transferred cells are exposed to certain substances (metabolites, pro-inflammatory cytokines) that can reduce cytotoxic properties of transferred cells. The main goal is to understand molecular processes controlling cytotoxicity of cells after the adoptive transfer of a medicinal product to a patient, and to use this knowledge for improving and prolonging the cytotoxic functions of cells in cell immunotherapy of hemato-oncological diseases.

Development of new models for cell cytotoxicity testing

The research of immunotherapy aimed to eliminate acute myeloid leukemia is confronted with a lack of suitable models. Neither preclinical mouse models nor *in vitro* applications with the use of cell lines or primary AML cells are sufficient for predicting the therapeutic effect of cytokine-induced killer cells. The goal of this project is to develop new experimental models that will facilitate a better survival of primary AML cells with the use of modern methods of 3D cultures, and that can, for instance, mimic the micro-environment of bone marrow. The aim is to test the cytotoxicity of cells in more complex conditions as currently already used in testing of chemotherapeutic medicines.

Spolupráce

- Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze
- Ústav patofyziologie, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova
- Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova
- Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně
- Department of Experimental Medicine, Pathology section, University of Perugia, Perugia, Italy
- Diamantina Institute, The University of Queensland

Další osobní informace

Viz <https://publons.com/researcher/2337561/jan-fric/>

Oddělení klinické farmacie

vedoucí: Mgr. Jana Vedrová

Jana.Vedrova@uhkt.cz, +420 221 977 324

V rámci zvyšování bezpečnosti terapie zajišťuje OKF již šestým rokem poskytování systematické i konziliární klinickofarmaceutické péče jednotlivým oddělením ÚHKT. Vychází nejenom z potřeb nemocnice, ale také z bezpečnostních akreditačních standardů JCI, JACIE a SAK.

Základní činností OKF je posouzení lékové anamnézy všech hospitalizovaných pacientů. Optimalizace farmakoterapie začíná vstupním zhodnocením při příjmu a pacienti jsou sledováni po celou dobu hospitalizace. Medikace je hodnocena v širokém kontextu a posuzuje příčinnou souvislost mezi konkrétními potížemi pacienta a současnou medikací.

Na základě vstupní a průběžné kontroly jsou řešeny farmakoterapeutické komplikace, lékové interakce mezi jednotlivými léčivými, spjitost výskytu vedlejších nežádoucích účinků s podanou léčbou či úprava dávkování léčiv s ohledem na pacientův zdravotní stav, věk a souběžně podávané

Cooperation

- Institute of Immunology and Microbiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital (VFN) in Prague
- Institute of Pathophysiology, 1st Faculty of Medicine Charles University
- Faculty of Natural Sciences, Charles University
- International Center of Clinical Research, St. Anne's University Hospital in Brno
- Department of Experimental Medicine, Pathology Section, University of Perugia, Perugia, Italy
- Diamantina Institute, The University of Queensland

Further personal information

<https://publons.com/researcher/2337561/jan-fric/>

Department of Clinical Pharmacy

Head: Mgr. Jana Vedrová

Jana.Vedrova@uhkt.cz, +420 221 977 324

In the framework of increasing the safety of therapy, the Department of Clinical Pharmacy is in charge of the provision of systematic and consultation clinical pharmaceutical care to the various IHBT departments for six years now. We base ourselves not only on the hospital needs, but also on safety accreditation standards of JCI, JACIE and SAK.

The fundamental activity of our department is the assessment of pharmaceutical anamnesis of all hospitalized patients. The optimization of pharmacotherapy begins with initial assessment during admission and patients are monitored throughout their hospitalization. The medication is evaluated in a broad context, and the causality between the patients' specific complaints and the current medication is considered.

On the basis of the admission and continuous checking, we deal with pharmaco-therapeutic complications, drug interaction between individual pharmaceuticals, the connection between the occurrence of side/adverse effects

léčivé přípravky. V případě potřeby je vydáno doporučení přehodnocení medikace pro ambulantní specialisty s ohledem na medikaci spojenou s léčbou v ÚHKT.

Za rok 2020 bylo provedeno více než 400 vstupních zhodnocení, přičemž u více než třetiny z nich došlo na základě intervence klinického farmaceuta k úpravě medikace během hospitalizace. Jednalo se zejména o změny v dávkování léčiv na základě klinicky významných lékových interakcí, řešení závažných nežádoucích účinků, kontraindikací, zbytnosti léčiv a dalších případů.

OKF se dále podílí na racionální lékové politice ÚHKT, klinických studiích, farmakovigilančních aktivitách a participuje na tvorbě a optimalizaci vnitřních doporučených postupů.

Oddělení klinických studií

Vedoucí: Ing. Eva Milatová

Eva.Milatova@uhkt.cz, +420 221 977 646

Oddělení klinických studií působí na ÚHKT již od roku 2018.

Oddělení je primárním kontaktním místem pro oblast klinických hodnocení a zajišťuje administrativní podporu jejich provádění. Podílí se na všech fázích klinického hodnocení: proveditelnost studie (feasibilita studie), selekční (kvalifikační) návštěva, iniciační návštěva, monitorovací návštěvy, uzavírací návštěva a následná archivace studijních dokumentů. Oddělení provádí také kontrolu smluv včetně studijních rozpočtů, kontrolu plateb, evidenci klinických hodnocení a podkladů pro fakturaci. Oddělení zajišťuje veškerou komunikaci se zadavateli klinických studií a současně napomáhá spolupráci mezi členy studijního týmu.

Význam klinických studií je pro rozvoj medicíny zcela zásadní. Jsou nezbytnou součástí životního cyklu každého léku před jeho registrací a uvedením na trh. V rámci klinických studií může být našim pacientům nabídnuta kromě tzv.

and the administered treatment, or the modification of the dosage of pharmaceuticals in view of the patients' health condition, age and simultaneously administered medicinal products. If needed, a recommendation is issued for a reassessment of medication by outpatient specialists with regard to the medication related to treatment at IHBT.

In 2020, over 400 admission assessments were made and, on the basis of the intervention of a clinical pharmacist, medication was modified during hospitalization in more than a third of cases. This mainly applied to changes in the dosage of medicines based on clinically relevant drug interactions, the solution of adverse effects, contraindications, dispensing of medicines and other cases.

Furthermore, we contribute to rational drug policy of IHBT, clinical studies and pharmacovigilance activities, and take part in the drafting and optimization of internal recommended procedures.

Department of Clinical Studies

Head: Ing. Eva Milatová

Eva.Milatova@uhkt.cz, +420 221 977 646

The Department of Clinical Studies has been functioning at IHBT since 2018.

The department is a primary contact point for the area of clinical trials and is in charge of the administrative support of their execution. It is involved in all the stages of a clinical trial: the feasibility study, the selection (qualification) visit, the initiation visit, monitoring visits, the closing visit and the subsequent archiving of study documents. The department also carries out checks of contracts, including study budgets, checks of payments, and record keeping of clinical trials and files for invoicing. The department is in charge all communication with customers of clinical studies and, at the same time, it encourages cooperation between members of the study team.

Clinical studies are of paramount importance for the development of medicine. They are part and parcel of the

léčby standardní i léčba, která využívá nejnovější léčebné postupy a nadějně léčivé přípravky. Na klinickém oddělení ÚHKT probíhají v současné době více než dvě desítky klinických studií se zaměřením zejména na tato onemocnění: myelodysplastický syndrom, chronická myeloidní leukemie, akutní myeloidní leukemie, akutní lymfoblastická leukemie, potransplantační komplikace (reakce štěpu proti hostiteli), deficeince pyruvátkinázy, autoimunitní hemolytické anémie či cytomegalovirové infekce. V přípravě jsou klinická hodnocení zaměřená na léčbu dalších onemocnění: paroxysmální noční hemoglobinurie a hemofilie.

Naši pacienti mohou být do studie zařazováni pouze po splnění všech kritérií daných protokolem týkajících se jejich onemocnění a celkového zdravotního stavu a po absolvování předepsaných vstupních vyšetření. Souhlas s účastí v klinické studii potvrzují podpisem informovaného souhlasu, svůj názor však mohou kdykoliv změnit a účast bez dalších následků ukončit. Účast pacientů ve studii je bezplatná.

Oddělení akademických klinických studií

Vedoucí: PharmDr. Jana Brzoňová

Jana.Brzonova@uhkt.cz, +420 221 977 115

Oddělení akademických klinických studií (OAKS) vzniklo nově v lednu 2020 v reakci na rostoucí potřebu profesionální podpory nekomerčních, tzv. akademických klinických hodnocení, ve kterých ÚHKT vystupuje v roli zadavatele nebo národního koordinátora pro Českou republiku. Oddělení převzalo agendu již běžících akademických studií (tři studie s moderními přípravky cílené léčby u akutní lymfoblastové leukemie). Prvním klinickým hodnocením, které oddělení OAKS provázelo celým realizačním procesem, zahrnujícím finalizaci protokolu, schvalování regulačními a etickými autoritami, iniciaci prvního centra až po zařazení prvního pacienta, byla studie Pona-CELL. Tento klinický projekt vznikl na půdě ÚHKT v úzké spolupráci s Českou leukemickou

life cycle of every medicine before its registration and market launch. In the framework of clinical studies, apart from the so-called standard treatment, our patients can be offered a type of treatment using the latest therapies and promising medicinal products. At the IHBT Clinical Department over two dozens of clinical studies are under way at present with a particular focus on the following diseases: myelodysplastic syndrome, chronic myeloid leukemia, acute myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia, post-transplant complications (graft versus host disease), pyruvate kinase deficiency, autoimmune hemolytic anemias or cytomegalovirus infections. We have been preparing clinical trials aimed at the treatment of other diseases: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and hemophilia.

Our patients can be included in a study only after meeting all criteria defined by the protocol related to their diseases and overall health condition, and after undergoing all required admission tests. They confirm their consent with their inclusion in a study through signing an Informed Consent; however, patients can change their mind any time and end their involvement without further consequences. Their involvement in a study is free of charge.

Department of Academic Clinical Studies

Head: PharmDr. Jana Brzoňová

Jana.Brzonova@uhkt.cz; +420 221 977 115

The Department of Academic Clinical Studies (Czech abbreviation OAKS) was newly established in January 2020 in response to a growing need of professional support of non-commercial, so called academic clinical trials where IHBT acts as the contractor or the national coordinator for the Czech Republic. The department took over the administration of ongoing academic studies (three studies of modern products of targeted treatment of acute lymphoblastic leukemia). The first clinical trial accompanying the department throughout the implementation process, including the protocol finalization, the authorization by regulatory and ethical authorities, the initiation of the first center up to the inclusion of the first patient, was the Pona-CELL study. This clinical project emerged at the IHBT premises in close

studijní skupinou – pro život (CELL), je zaměřen na cílenou léčbu pacientů s Ph-pozitivní akutní lymfoblastovou leukémií a k účasti na něm se přihlásilo všech sedm univerzitních center, které se v Česku věnují léčbě akutních leukémií dospělých. Studie Pona-CELL obsahuje kromě klinických cílů i výzkumný záměr, který je zaměřen na citlivé sledování minimální reziduální nemoci pomocí moderních molekulárně genetických technik. Tento aspekt studie zajišťuje pro všechna participující centra Oddělení molekulární genetiky ÚHKT.

OAKS se v průběhu roku 2020 zasazoval o zapojení ÚHKT do sítě spolupracujících klinických jednotek celonárodní vědecké sítě CZECRIN (Czech Clinical Research Infrastructure Network), která je českou jednotkou evropského konsorcia ECRIN-ERIC. Skutečnost, že se pro ÚHKT podařilo zajistit řádné členství v této síti, včetně zastoupení ve výboru této instituce, svědčí o uznání aktivit našich lékařů na poli akademického výzkumu. Díky členství v CZECRINU mohou akademické klinické projekty vznikající v ÚHKT využívat profesionální servis, kterého ÚHKT v současné době využívá především pro sběr dat a monitoraci studií.

Laboratoř pro poruchy hemostázy

Vedoucí: RNDr. Ingrid Hrachovinová, Ph.D.
Ingrid.Hrachovinova@uhkt.cz, +420 221 977 271
Zástupce vedoucí: Ing. Dr. František Mareček
Frantisek.Marecek@uhkt.cz, +420 221 977 461

Činnost **Laboratoře pro poruchy hemostázy (LPH)** je zaměřena na komplexní diagnostiku hemostázy: rutinní, specializovanou včetně translační medicíny zaměřené na poruchy hemostázy. Provádí jedinečná vyšetření hemostázy v Česku, jako jsou komplexní fenotypový a genetický screening pacientů s vrozeným krvácivým onemocněním (hemofilie A a B, von Willebrandova choroba, vrozené poruchy dalších koagulačních faktorů), s vrozeným trombotickým onemocněním (deficit antitrombinu,

cooperation with the Czech Leukemia Study Group – for Life (CELL), it is aimed at targeted treatment of patients with Ph+ acute lymphoblastic leukemia, and participation in it was requested by all the 7 university centers that are engaged in the treatment of acute leukemias in adults in the Czech Republic. Apart from clinical targets, the Pona-CELL study has a research goal geared towards a sensitive monitoring of minimal residual disease with the help of modern molecular genetic techniques. This aspect of the study is supported for all the participating centers by the IHBT Department of Molecular Genetics.

In the course of 2020, the Department of Academic Clinical Studies promoted the involvement of IHBT in the network of cooperating clinical units of the nationwide structure called CZECRIN (Czech Clinical Research Infrastructure Network), which is the Czech unit of the European Clinical Research Infrastructure Network (ECRIN-ERIC). The fact that IHBT succeeded in obtaining full membership in this network, including the representation in the committee of this institution, proves the recognition of our physicians' activities in the field of academic research. Thanks to our membership in CZECRIN, academic clinical projects arising at IHBT can make use of professional service that is currently used by IHBT primarily for data collection and monitoring of studies.

Laboratory for Disorders in Hemostasis

Head: RNDr. Ingrid Hrachovinová, Ph.D.
Ingrid.Hrachovinova@uhkt.cz, +420 221 977 271
Deputy Head: Ing. Dr. František Mareček
Frantisek.Marecek@uhkt.cz, +420 221 977 461

The activity of the **Laboratory for Disorders in Hemostasis** (Czech abbreviation **LPH**) is aimed at comprehensive diagnostics of hemostasis: routine and specialized, including translational medicine geared towards disorders in hemostasis. It performs unique examinations of hemostasis in the Czech Republic, such as complete phenotype and genetic screening of patients with a congenital bleeding disease (hemophilia A and B, von Willebrand disease, congenital disorders in other coagulation factors), a congenital thrombotic disease (deficiency of antithrombin,

proteinu S, proteinu C) a vrozenými trombopatií. Nedílnou součástí činnosti laboratoře je diferenciální diagnostika TMA (trombotické mikroangiopatie), zahrnující vyšetření aHUS (atypického hemolyticko-uremického syndromu) a TTP (trombotické trombocytopenické purpury). Množství požadavků na vyšetření TMA výrazně stoupl v roce 2020, protože onemocnění SARS-CoV-2 se velmi často manifestuje jako TMA. Laboratoř se soustřeďuje také na diagnostiku vzácných získaných poruch hemostázy (AHA, AWS, iTTP aj.) a prediktivních faktorů jejich léčby. Provádí rovněž molekulárně-genetická vyšetření, jako je stanovení přenašečství hemofilie a prenatální vyšetření hemofilie i jiných poruch hemostázy. Při zavádění inovativních metod vyšetření hemostázy laboratoř spolupracuje s kardiologickými, nefrologickými, pediatrickými, neurologickými, porodnickými, genetickými a jinými pracovišti. Provádí konziliární činnost v diagnostice poruch hemostázy a laboratorní diagnostice pro celou Českou republiku. Spolupracuje na mezinárodních studiích laboratorní monitorace nových antikoagulancií a nových druhů léčby hemofilie. Laboratoř je úzce spjata s činností **Centra pro trombózu a hemostázu ÚHKT**. Laboratoř je akreditovaná podle ISO:15189. Kvalita její činnosti je monitorována účastí v externí kontrole kvality (EKK) mezinárodních organizací, jako je UK NEQAS a ECAT. Pracoviště se podílí na praktické i teoretické výuce středoškolských a vysokoškolských pracovníků, kteří se připravují na specializační zkoušky z hematologie i jiných laboratorních oborů včetně postgraduálního doktorského studia (Ph.D.).

LPH plní také úlohu **Národní referenční laboratoře pro poruchy hemostázy**. V této funkci organizuje každoročně EKK trombofilních rizikových faktorů, má supervizi nad přípravou materiálu pro EKK organizace SEKK ve specializovaných koagulačních metodách. Pravidelně se zúčastňuje testování mezinárodních kalibračních materiálů pro rutinní i vysoce specializované metody, které je organizováno ISTH (International Society for Thrombosis and Hemostasis) a NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control). NRL spravuje **Národní registr nemocných s vrozenými poruchami koagulace**, který obsahuje data sbíraná od roku 1980.

S protein, C protein) and congenital thrombopathies. Part and parcel of the laboratory is differential diagnostics of TMA (thrombotic microangiopathy), including the atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) test and the thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) test. The quantity of requirements for TMA examination increased considerably in 2020 because the SARS-CoV-2 disease very frequently manifests itself as TMA. The laboratory also focuses on diagnostics of rare acquired disorders in hemostasis (AHA, AWS, iTTP, etc.) and predictive factors of their treatment. It also performs molecular genetic examinations such as the determination of the carrying of hemophilia and prenatal testing of hemophilia and other disorders in hemostasis. When introducing innovative methods of hemostasis examination the laboratory cooperates with cardiological, nephrological, pediatric, neurological, obstetrical, genetic and other centers. It carries out consultation activity in diagnostics of disorders in hemostasis and laboratory diagnostics for the entire Czech Republic. It cooperates in international studies of laboratory monitoring of new anticoagulants and new types of treatment of hemophilia. The laboratory is closely connected with the activity of the **Center for Thrombosis and Hemostasis of IHBT**. The laboratory is accredited according to the standard ISO:15189. The quality of its activity is monitored through the involvement in external quality control (EQC) of international organizations such as UK NEQAS and ECAT. It is involved in practical and theoretical training of high-school and university graduates who prepare themselves for specialization exams in hematology and other laboratory fields, including postgraduate (PhD) studies.

The laboratory also acts as the **National Reference Laboratory for Disorders in Hemostasis**. In this function it organizes annual EQAs of thrombophilia risk factors, supervises over the preparation of material for EQA organizations of SEKK in specialized coagulation methods. On a regular basis, it takes part in the testing of international calibration materials for both routine and highly specialized methods which is organized by the ISTH (International Society for Thrombosis and Hemostasis) and NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control). The NRL administers the **National Registry of Patients with Congenital Coagulation Disorders** comprising data collected since 1980.

Laboratoř průtokové cytometrie

Vedoucí: doc. MUDr. Iuri Marinov, CSc.

Iuri.Marinov@uhkt.cz, +420 221 977 458

Zástupce vedoucího: Mgr. Adam Pešek

Adam.Pesek@uhkt.cz, +420 221 977 337

Laboratoř klinické průtokové cytometrie je specializovaná laboratoř pro diagnostiku a sledování onemocnění hematologických (akutní leukemie, lymfoproliferace, myeloproliferace, myelodysplastický syndrom, mnohočetný myelom) a neonkologických (paroxysmální noční hemoglobinurie, vrozené poruchy krevních destiček, korpuskulární anémie).

Laboratorní postupy jsou validovány v souladu s doporučeními European Leukemia Net (ELN), International Clinical Cytometry Society (ICCS), European Society of Clinical Cell Analysis (ESCCA) a akreditovány dle normy ČSN EN ISO 15189. Velký důraz je kladen na validaci vysoce senzitivních a specifických metod pro záchyt a sledování měřitelné zbytkové choroby po terapii/transplantaci akutních leukemií (AML MRD, B-ALL MRD, T-ALL MRD), lymfoproliferací (B-CLL MRD, MCL MRD, HCL MRD) a mnohočetného myelomu (MM MRD). V laboratoři je ročně vyšetřeno cca 5 000 pacientů a provedeno cca 135 000 výkonů pro ústavní pacienty a extramurální konzilia z velké části republiky.

Laboratoř se podílí na řešení výzkumných projektů a klinických studií a zajišťuje postgraduální výuku středoškolských a vysokoškolských zdravotníků. Laboratoř se pravidelně zúčastňuje mezinárodních cyklů externí kontroly kvality (UK NEQAS) a je organizátorem programu mezilaboratorního porovnání (MLP) pro Českou a Slovenskou republiku a mezinárodního programu externí kontroly kvality v rámci Evropské společnosti pro klinickou buněčnou analýzu EILCP.

Laboratory of Flow Cytometry

Head: doc. MUDr. Iuri Marinov, CSc.

Iuri.Marinov@uhkt.cz, +420 221 977 458

Deputy Head: Mgr. Adam Pešek

Adam.Pesek@uhkt.cz, +420 221 977 337

The Laboratory of Flow Cytometry is a specialized clinical Laboratory for diagnostics and monitoring hematological diseases (acute leukemia, lymphoproliferative disease, myeloproliferative disease, myelodysplastic syndrome, multiple myeloma) and non-oncological diseases (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, congenital platelet disorders, corpuscular anemia).

Laboratory techniques are validated in conformity with the recommendations of the European Leukemia Net (ELN), the International Clinical Cytometry Society (ICCS), the European Society of Clinical Cell Analysis (ESCCA), and accredited according to the standard CSN EN ISO 15189. Big emphasis is put on the validation of highly sensitive and specific methods for capturing and monitoring measurable residual disease after therapy/transplantation of acute leukemias (AML MRD, B-ALL MRD, T-ALL MRD), lymphoproliferative disorders (B-CLL MRD, MCL MRD, HCL MRD) and multiple myeloma (MM MRD). Annually, the laboratory examines approximately 5,000 patients, and performs some 135,000 procedures for IHBT patients and extra mural consultations for most of the Czech Republic.

The laboratory takes part in research projects and clinical studies, and provides postgraduate training of high-school and university graduates in medicine. On a regular basis, it participates in international cycles of external quality assessment (UK NEQAS) and organizes the program of inter-laboratory comparison (ILC) for the Czech and Slovak Republic and the international program of external proficiency testing in the framework of the European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA).

Morfologicko-cytochemická laboratoř

Vedoucí: MUDr. Dana Mikulenková

Dana.Mikulenkova@uhkt.cz, +420 221 977 411

Zástupkyně vedoucí: MUDr. Radka Šimečková

Radka.Simeckova@uhkt.cz, +420 221 977 310

Morfologicko-cytochemická laboratoř je laboratoří klinického úseku, která pro pacienty lůžkových stanic a ambulance rutinně vyšetřuje krevní obraz včetně mikroskopického hodnocení a hodnotí panopticky obarvené nátěry aspirátů kostní dřeně. Zajišťuje tedy kompletní cytologickou diagnostiku z krevního obrazu a kostní dřeně, přičemž ke stanovení diagnóz dále využívá dvanáct cytochemických metod (viz obr. nátěr aspirátu kostní dřeně od pacienta s akutní myeloidní leukemií barvený na přítomnost myeloperoxidázy s četnými Auerovými tyčkami v myeloblastech). Poskytuje cytologická konzilia pro velkou část České republiky. Je jednou z deseti referenčních laboratoří tvořících Skupinu expertních pracovišť (SEP) pro mikroskopickou analýzu nátěrů periferní krve v rámci externího hodnocení kvality organizovaného firmou SEKK, s. r. o. Rutinní diagnostické metody jsou akreditovány dle ČSN EN ISO:15189 společností ČIA, o. p. s., (vyšetření krevního obrazu s analyzátorovým diferencíálem, retikulocyty na analyzátoru a mikroskopické hodnocení nátěru periferní krve). Krevní obrazy vyšetřuje na analyzátoch firmy SYSMEX CZ řady XN, které nabízejí i další, nadstavbové parametry (IPF, IG, PLT-F) využitelné v diagnostice hematologických chorob. Přístroj pro přípravu nátěru periferní krve a jeho barvení usnadňuje svou výkonností laboratorní práci. Digitální morfologické přístroje (DM96, DI60) pomáhají v hodnocení nátěru periferní krve a významně se tak podílejí na diagnostice hematologických onemocnění hlavně u pacientů s těžkou leukopenií či s neoplazmi z lymfoidní řady. Na pracovišti celoročně probíhá výuka středoškolských a vysokoškolských pracovníků včetně lékařů, kteří se připravují na specializační zkoušku z hematologie.

Laboratory for Morphology and Cytochemistry

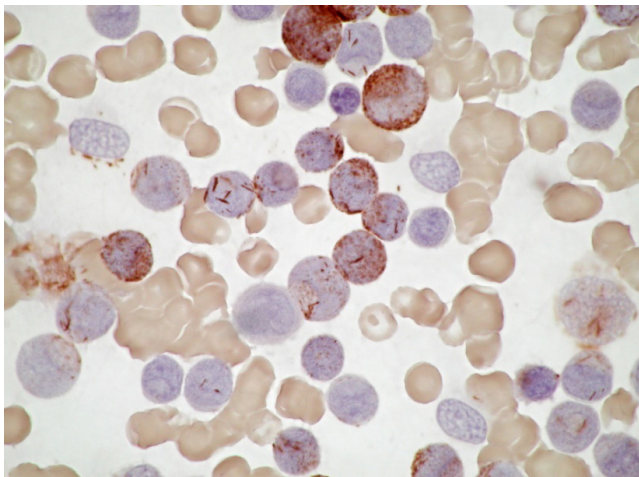
Head: MUDr. Dana Mikulenková

Dana.Mikulenkova@uhkt.cz; +420 221 977 411

Deputy Head: MUDr. Radka Šimečková

Radka.Simeckova@uhkt.cz, +420 221 977 310

The Laboratory of Morphology and Cytochemistry is a laboratory of the Clinical Division that performs routine blood count tests for patients of inpatient centers and the Outpatient Department, including microscopic assessment, and evaluates panoptically stained smears of bone marrow aspirates. Thus, it performs complete cytological diagnostics based on blood count and bone marrow, and for establishing diagnoses it also uses twelve cytochemical methods (see Fig. Bone marrow aspirate smear from a patient with acute myeloid leukemia being stained for the presence of myeloperoxidase with numerous Auer rods in myeloblasts). It offers cytology consultations for most of the Czech Republic. It is one of ten reference laboratories comprising the Group of Expert Centers (Czech abbreviation SEP) for microscopic analysis of peripheral blood smears in the framework of external proficiency testing organized by the SEKK, s. r. o. company Routine diagnostic methods are accredited according to the standard CSN EN ISO:15189 of the CAI company (examination of blood count with an analyzer differential, reticulocytes on an analyzer and microscopic assessment of peripheral blood smear). Blood counts are examined on analyzers made by the SYSMEX CZ company of the XN series, offering other extension parameters (IPF, IG, PLT-F) that can be used in diagnostics of hematological diseases. The efficiency of the device for the preparation of peripheral blood smear and its staining facilitates laboratory work. Digital morphological devices (DM96, DI60) help to evaluate peripheral blood smear, thus contributing an important share to diagnostics of hematological diseases, chiefly in patients with grave leukopenia and/or neoplasms of the lymphoid line. The laboratory is a year-round training center of high-school and university graduates, including physicians, who prepare themselves for an examination of specialization in hematology.



Laboratoř PCR diagnostiky leukemií

Vedoucí: MUDr. Jiří Schwarz, CSc.

Jiri.Schwarz@uhkt.cz, +420 221 977 278

Zástupkyně vedoucího: Ing. Jana Marková, Ph.D.

Jana.Markova@uhkt.cz, +420 221 977 278

Laboratoř provádí standardní molekulární vyšetření fúzních genů u akutní myeloidní leukemie (AML), včetně urgentního stanovení fuze PML/RAR α u akutní promyelocytární leukemie (APL), včetně dalších fúzí u molekulárně variantních forem APL. Laboratoř provádí i záchyt klonality u lymfoproliferativních onemocnění B i T řady; u chronické lymfatické leukemie (CLL) je přitom vyšetřen mutační stav IgHV (důležitý prognostický faktor). Dále vyšetřuje klonální mutace u myeloproliferativních neoplázií (MPN): mutace tyrozinové kinázy JAK2, mutace genů CALR a MPL. Vyšetřuje i řadu dalších mutací s prognostickým významem u pacientů jak s AML, tak i CLL a MPN. Kromě uvedených vyšetření při záchytu onemocnění provádí také následné molekulární sledování minimálního reziduálního onemocnění u AML, APL, CLL a u vybraných případů MPN. V roce 2019 bylo vyšetřeno celkem 1 570 vzorků krve nebo kostní dřeně. Činnost laboratoře spočívá převážně v rutinní diagnostice uvedených stavů, většina výkonů je hrazena z prostředků

Laboratory of PCR Diagnostics of Leukemias

Head: MUDr. Jiří Schwarz, CSc.

Jiri.Schwarz@uhkt.cz, +420 221 977 278

Deputy Head: Ing. Jana Marková, Ph.D.

Jana.Markova@uhkt.cz, +420 221 977 278

The laboratory performs standard molecular detection of fusion genes in acute myeloid leukemia (AML), including urgent determination of PML/RAR α fusion in acute promyelocytic leukemia (APL), plus other fusions of molecular variants of APL. The laboratory performs the capture of clonality of lymphoproliferative diseases of B and T cell origin; in case of chronic lymphatic leukemia (CLL) the laboratory examines the IgHV mutation status (an important prognostic factor). Furthermore, it tests clonal mutations in myeloproliferative neoplasias (MPN): mutations of JAK2 tyrosine kinase, and CALR and MPL gene mutations. It also tests a number of other mutations of prognostic relevance in patients with AML, as well as CLL and MPN. Apart from the above-mentioned disease detection tests, it performs follow-up monitoring of minimal residual disease for AML, APL, CLL and selected cases of MPN. In 2020, the laboratory tested a total of 1,570 blood or bone marrow samples. The core of the laboratory activity is routine diagnostics of the

veřejného zdravotního pojištění. Výzkumná činnost je spojena s uvedenými tématy. Pro pacienty s MPN má laboratoř vlastní vyšetřovací panel k záchytu dalších mutací pomocí sekvenování nové generace.

above conditions, and most services are reimbursed from public health insurance. Research activity is connected with the above-mentioned topics. For patients with MPN the laboratory has its own testing panel for detecting other mutations with the help of new generation sequencing.

**TRANSFUZIOLÓGICKÝ
ÚSEK**

**TRANSFUSIOLOGICAL
DIVISION**

Transfuzní oddělení
Aferetické oddělení
Oddělení imunohematologie
Oddělení buněčné terapie

Transfusion Department
Apheresis Department
Department of Immunohematology
Cell Therapy Department

Přednosta: MUDr. Martin Písačka
Martin.Pisacka@uhkt.cz, +420 221 977 205
Zástupkyně přednosta: doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
Zdenka.Gasova@uhkt.cz, +420 221 977 342

Na Transfuziologickém úseku působí čtyři oddělení, jejichž práce spočívá především v přípravě transfuzních přípravků z plné krve a z aferézy, v předtransfuzní přípravě, v zajištění terapeutických hemaferéz v nejširším rozsahu, včetně přípravy krvetvorných buněk pro transplantace a mononukleárních buněk pro aktivní protinádorovou terapii.

Transfuziologický úsek zároveň organizuje výuku studentů 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a vzdělávání specialistů v transfuzním lékařství.

Transfuzní oddělení

Vedoucí: MUDr. Jana Žlabová
Jana.Zlabova@uhkt.cz, +420 221 977 348

Na Transfuzním oddělení byla v roce pandemie covid-19 a v roce stěhování dárcovské části oddělení do náhradních prostor (z důvodu rozsáhlé přestavby ÚHKT) odebírána stejně jako v uplynulých letech v běžném režimu především plná krev (5 148 odběrů) a plazma z aferézy.

Z každého odběru plné krve jsou připraveny standardně tři vysoce kvalitní transfuzní přípravky ERD erytrocyty deleukotizované resuspendované 5148 TU, TBSD trombocyty směsné deleukotizované 917 TU, z toho TBSDR trombocyty směsné deleukotizované v náhradním roztoku 296 TU a ČŽP – plazmy jsou připraveny 4 959 TU a PA plazmy z aferézy 660 TU. Z části odběrů je navíc běžně dodáváno pro vědecké účely BFC (např. ÚOCHB, ÚHKT – laboratoř molekulární genetiky, I. lékařská fakulta, Motol), bylo vydáno BFC 361 TU. V případě potřeby je připraveno do rezervy TAD (trombocyty z aferézy deleukotizované) 90 TU.

V tomto roce byla v souvislosti s pandemií zahájena příprava rekonvalescentní patogeninaktivované plazmy PAR PI 297 TU.

Head of Division: MUDr. Martin Písačka
Martin.Pisacka@uhkt.cz, +420 221 977 205
Deputy Head: doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
Zdenka.Gasova@uhkt.cz, +420 221 977 342

The Transfusiology Division comprises four departments, the work of which consists mainly of the preparation of transfusion products from whole blood and from apheresis, of pre-transfusion preparation, securing therapeutic hemapheresis procedures in the broadest scope, including the preparation of hematopoietic cells for transplants and mononuclear cells for active antineoplastic therapy.

At the same time, the Transfusiology Division organizes teaching for students of the 1st Faculty of Medicine of Charles University and education of specialists in transfusion medicine.

Transfusion Department

Vedoucí: MUDr. Jana Žlabová
Jana.Zlabova@uhkt.cz, +420 221 977 348

In the year of the SARS-CoV 19 pandemic and of the relocation of the donation part of the department to substitute premises (owing to a major reconstruction of IHBT), we chiefly collected whole blood (5,148 collections) and plasma from apheresis in standard regimen just like in previous years.

On a routine basis, from every whole blood collection we prepare three high quality transfusion products: ERD deleucotized suspended erythrocytes (5,148 TUs), TBSD mixed deleucotized thrombocytes (917 TUs), of which TBSDR mixed deleucotized thrombocytes in an alternative solution (296 TUs) and we prepared 4,959 TUs of fresh frozen plasma (FFP) and 660 TUs of PA plasma from apheresis. Moreover, we normally supply BFC from a part of collections for scientific purposes (e. g. Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, IHBT Laboratory of Molecular Genetics, 1st Faculty of Medicine, Motol hospital); we supplied 361 TUs of BFC. If needed, we prepare a reserve of 90 TUs of deleucotized thrombocytes from apheresis.

V Odběrové laboratoři, která je součástí Transfuzního oddělení, jsou prováděny odběry a vyšetření krevních obrazů dárců před vlastním dárcovským odběrem a také kontroly kvality transfuzních přípravků vyrobených na TO i AO.

Dále je součástí Transfuzního oddělení i Laboratoř prevence virových nákaz (LPVN). V ní bylo v r. 2020 vyšetřeno 7 465 vzorků krve dárců. Žádný z nich nebyl v NRL pozitivně potvrzen, to znamená, že nebyl zaznamenán žádný výskyt povinně testované infekce přenosné krví.

Transfuzní oddělení spolupracuje s Aferetickým oddělením při provádění extrakorporální fotochemoterapie ECP (zajišťuje fotomodifikaci mononukleárních buněk pomocí 8 metoxy-psoralenu a UVA – takto bylo připraveno 203 TU fotomodifikovaných MNC). Spolupracuje též při patogeninaktivaci trombocytů a PAR PI.

Transfuzní oddělení zajišťuje také provoz ozařovače transfuzních přípravků 8342 TU, navíc se standardně ozařuje pro Transfuzní oddělení VFN.

Aferetické oddělení

Vedoucí: doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.

Zdenka.Gasova@uhkt.cz, +420 221 977 295

Zástupkyně vedoucí: MUDr. Martina Böhmová

Martina.Bohmova@uhkt.cz, +420 221 977 213

Aferetické oddělení využívá techniku hemaferézy za pomoci separátorů krevních komponent. Přípravuje transfuzní a buněčné přípravky a provádí terapeutické výkony.

Aferetické oddělení připravuje:

- **Transfuzní přípravky** – de leukotizované trombocyty a koncentráty granulocytů. Přípravky se separují pro nejvíce rizikovou skupinu příjemců: pro pacienty s hematologickými onemocněními, jako jsou

In 2020, in relation to the pandemic, we started to prepare convalescent pathogen inactivated plasma (PAR PI 297 TUs).

The Sampling Laboratory, which is a part of the Transfusion Department, collects blood samples and examines the blood count of donors prior to the actual donor collection, and it also checks the quality of transfusion products prepared at the Transfusion Department and Apheresis Department. Another part of the Transfusion Department is the Laboratory for Prevention of Viral Infections (Czech abbreviation LPVN). In 2020, this laboratory tested 7,465 donors' blood samples. No sample was positively confirmed by the NRL, which means that we did not detect any presence of obligatorily tested blood transmissible infection.

The Transfusion Department cooperates with the Apheresis Department in performing extracorporeal photochemotherapy ECP (it is in charge of photomodification of mononuclear cells with the help of 8-methoxypsoralen and UVA – in this manner, 203 TUs of photomodified MNCs were prepared. It also cooperates in pathogen inactivation of thrombocytes and PAR PI.

The Transfusion Department is also in charge of the operation of an irradiator of transfusion products (8,342 TUs); moreover, we provide irradiation services to the Transfusion Department of the General University Hospital (Czech abbreviation VFN).

Apheresis Department

Head: doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.

Zdenka.Gasova@uhkt.cz, +420 221 977 295

Deputy Head: MUDr. Martina Böhmová

Martina.Bohmova@uhkt.cz, +420 221 977 213

The **Apheresis Department** makes use of hemapheresis technique with the help of separators of blood components. It prepares transfusion and cell products and provides therapeutic services.

The department prepares the following items:

- **Transfusion products** – de leukotized thrombocytes and concentrates of granulocytes. Products are separated for the highest-risk group of recipients – for patients with

polytransfundování, aloimmunizování a transplantování pacienti se závažnými imunitními a infekčními komplikacemi. V indikovaných případech připravujeme trombocyty dle kompatibility v HLA a v HPA znacích mezi dárce a příjemcem. Dle potřeby připravujeme také CMV negativní trombocyty a patogen-inaktivované trombocyty. Aferetické oddělení připravuje trombocyty a granulocyty nejen pro pacienty z ÚHKT, ale i pro dětské pacienty z FN Motol a z VFN.

- **Přípravky lidských tkání a buněk** – kmenové krvetvorné buňky z periferní krve (autologní a alogenní) a mononukleární buňky (pro DLI) pro pacienty ÚHKT a VFN a pro Český registr dárců krvetvorných buněk. Příprava lidských tkání a buněk probíhá v režimu Tkářového zařízení.

- **Mononukleární buňky pro moderní terapie** – pro přípravu CAR-T lymfocytů, pro aktivní protinádorovou imunoterapii ve spolupráci se společností Sotio, a. s., a pro přípravu ex-vivo expandovaných $\gamma\delta$ T lymfocytů pro pacienty ÚHKT.

Na Aferetickém oddělení se dále provádějí **terapeutické výkony**: depleční erythrocytaferéza, leukocytaferéza a trombocytaferéza, výměnná plazmaferéza, výměnná erythrocytaferéza, extrakorporální fotochemoterapie, imunoabsorpce IgG a extrakorporální hemorheoferéza. Výkony provádíme jak pro pacienty ÚHKT, tak pro pacienty VFN, FN Motol, FN Bulovka a dalších zdravotnických zařízení v České republice.

Na Aferetickém oddělení dlouhodobě sledujeme bezpečnost mobilizace a separace u dárců krvetvorných buněk a granulocytů. Sledujeme a vyhodnocujeme také frekvence a závažnost nežádoucích reakcí v souvislosti s dárcovskými a terapeutickými hemaferézami.

Oddělení dlouhodobě spolupracuje s Českým registrem dárců krvetvorných buněk IKEM. V mezinárodním měřítku spolupracujeme se Světovým registrem pro aferézy (WAA) při sledování nežádoucích reakcí v souvislosti s prováděním terapeutických hemaferéz.

Aferetické oddělení v roce 2020

- Oddělení připravilo **3 262** terapeutických dávek deleukotizovaných trombocytů z **1 939** odběrů trombocytů. Celkem bylo provedeno **1 076** bezpříspěvkových odběrů, což

hemato-onkologických onemocněních, jako je polytransfundování, aloimmunizování a transplantování pacientů s závažnými imunitními a infekčními komplikacemi. V indikovaných případech připravujeme trombocyty dle kompatibility v HLA a HPA znacích mezi dárce a příjemcem. Pokud je třeba, připravujeme také CMV negativní trombocyty a patogen-inaktivované trombocyty. Oddělení Aferese připravuje trombocyty a granulocyty nejen pro pacienty s IHBT, ale také pro dětské pacienty FN Motol a pro pacienty Obecné nemocnice (VFN) v Praze.

- **Human tissue and cell products** – (autologous and allogeneic) hematopoietic stem cells and mononuclear cells of peripheral blood and mononuclear cells (for DLI) for patients of IHBT, VFN and for the Czech Stem Cells Registry. The preparation of human tissues and cells takes place in the regimen of a Tissue Establishment.

- **Mononuclear cells for modern therapies** – for the preparation of CAR-T lymphocytes, for active antineoplastic immunotherapy in cooperation with the Sotio, a. s. company, and for the preparation of ex-vivo expanded $\gamma\delta$ T lymphocytes for IHBT patients.

Furthermore, the Apheresis Department provides therapeutic services: depletion erythrocytapheresis, leukocytapheresis and thrombocytapheresis, plasma Exchange (plasmapheresis), RBC exchange (erythrocytapheresis), extracorporeal photochemotherapy, IgG immunoabsorption and extracorporeal hemorheopheresis. We provide services both for IHBT patients and patients of VFN, FN Motol, FN Bulovka and other healthcare establishments in the Czech Republic.

At the Apheresis Department we carry out a long-term monitoring of the safety of mobilization and separation in donors of hematopoietic cells and granulocytes. We also monitor and evaluate frequencies and seriousness of adverse reactions in relation to donor and therapeutic hemapheresis procedures.

Our department cooperates on a long-term basis with the Czech Stem Cells Registry of IKEM. On an international scale, we cooperate with the World Apheresis Registry (WAA)

je cca **55 %** všech odběrů.

- Aferetické a Transfuzní oddělení ÚHKT spolupracují při přípravě patogen-inaktivovaných trombocytů z aferézy. V r. 2020 bylo připraveno **126** terapeutických dávek patogen-inaktivovaných trombocytů. V Česku se patogen inaktivované trombocyty připravují pouze v ÚHKT.
- Oddělení provedlo **751** terapeutických výkonů, včetně autologních a alogenních separací kmenových krvetvorných buněk (PBPC) a mononukleárních buněk (MNC) u **260** pacientů a dárců.
- Oddělení provedlo celkem **109** autologních a **83** alogenních separací PBPC, včetně mononukleárních buněk pro DLI. Separace se prováděly celkem u **80** pacientů a **69** dárců.
- Oddělení zavedlo do rutinní praxe protokol pro separace mononukleárních buněk pro přípravu CAR-T lymfocytů. Celkem bylo provedeno **22** separací u **22** pacientů.
- Oddělení pokračovalo v dlouhodobém sledování účinnosti a bezpečnosti mobilizace a separace krvetvorných buněk u dárců po podání biosimilárního G-CSF.

Oddělení imuno hematologie

Vedoucí: MUDr. Martin Písačka

Martin.Pisacka@uhkt.cz, +420 221 977 205

Zástupkyně vedoucího: Mgr. Hana Tereza Bolcková

Hana.Bolckova@uhkt.cz, +420 221 977 254

Oddělení imuno hematologie je rozděleno do dvou základních částí. Rutinní laboratoř provádí vyšetření dárců krve a pacientů ÚHKT a zajišťuje komplexní předtransfuzní

in the monitoring of adverse reactions in relation to the performance of hemapheresis procedures.

The Apheresis Department in 2020

- Prepared **3,262** therapeutic doses of delectocitized thrombocytes from **1,939** thrombocytes collections. A total of **1,076** non-remunerated collections were carried out which corresponds to approximately **55%** of all collections.
- Cooperated, together with the IHBT Transfusion Department, in the preparation of pathogen-inactivated thrombocytes from apheresis. In 2020, it prepared **126** therapeutic doses of pathogen-inactivated thrombocytes. IHBT is the only site in the Czech Republic where pathogen-inactivated thrombocytes are prepared.
- Performed **751** therapeutic procedures, including autologous and allogeneic separations of peripheral blood progenitor cells (PBPCs) and mononuclear cells (MNCs) in **260** patients and donors.
- Performed a total of **109** autologous and **83** allogeneic separations of PBPCs, including mononuclear cells for DLI. Separations were carried out in a total of **80** patients and **69** donors.
- Introduced a new protocol into routine practice for the separation of mononuclear cells for the preparation of CAR-T lymphocytes. A total of **22** separations were performed in 22 patients.
- Continued the long-term monitoring of the efficiency and safety of the mobilization and separation of hematopoietic cells in patients after the administration of biosimilar G-CSF.

Department of Immunohematology

Head: MUDr. Martin Písačka

Martin.Pisacka@uhkt.cz, +420 221 977 205

Deputy Head: Mgr. Hana Tereza Bolcková

Hana.Bolckova@uhkt.cz, +420 221 977 254

The activity of the Department of Immunohematology is divided into two basic parts. A routine laboratory performs examinations of blood donors and IHBT patients, and

vyšetření. Specializovaná část provádí složitější vyšetření antigenů a protilátek proti erytrocytům, leukocytům a trombocytům. Do této části spadá Referenční laboratoř pro imunohematologii s národní a mezinárodní působností, sloužící jako diagnostický servis pro komplikované případy pro všechny laboratoře transfuzní služby v Česku a na Slovensku. Podílí se na přípravě a hodnocení externí kontroly kvality (SEKK) všech imunohematologických laboratoří v obou zemích, spolupracuje se zahraničními laboratořemi a pravidelně se účastní mezinárodních cyklů externí kontroly kvality (Instand, Interregionale Blutspende SRK).

Na Oddělení imunohematologie jsou zavedeny molekulárně genetické techniky pro vyšetření HPA antigenů a erytrocytových antigenů (systémy BloodChip, FluoGene) a citlivé laboratorní techniky na bázi mikrokuliček (bead arrays) pro identifikaci HLA, HPA a HNA protilátek. V roce 2020 bylo navíc zařazeno také testování genotypu erytrocytových antigenů metodou PCR-SSP (ReadyGene) a ve spolupráci s oddělením HLA i sekvenování nové generace (NGS) u vzorků s atypickými ABO fenotypy. Pomocí genotypizačních technik jsou vyšetřovány komplikované sérologické nálezy u pacientů z Česka a Slovenska. Zároveň slouží k vyhledávání vzácných znaků u dárců krve, kteří jsou zařazováni do Registru vzácných dárců krve.

Referenční laboratoř pro imunohematologii využívá nejnovější postupy k eliminaci komplikací předtransfuzních vyšetření u pacientů léčených monoklonálními protilátkami (např. Daratumumab, Isatuximab) i k detekci vzácných protilátek proti erytrocytům pomocí rekombinantních antigenů (rBGA). Laboratoř dále provádí vyšetření protilátek asociovaných s HIT (anti-heparin/PF4). Laboratoř provádí také vyšetření dárců covid rekonvalescentní plazmy na přítomnost HLA a HNA protilátek v rámci prevence rizika TRALI. Všechny tyto metody přispívají k podrobnějšímu a přesnějšímu vyšetření dárců a příjemců transfuzních přípravků, což představuje další krok k personalizované substituční terapii na míru.

Na oddělení během roku proběhlo dvanáct krátkodobých stáží (laborantů a vysokoškolských laboratorních pracovníků). Dále je laboratoř zapojena do pregraduální i postgraduální výuky imunohematologických aspektů transfuzního lékařství.

provides comprehensive pretransfusion tests. Its specialized section performs a more comprehensive examination of antigens and antibodies against erythrocytes, leukocytes and thrombocytes. This part comprises a Reference Laboratory for Immunohematology with national and international competence, functioning as a diagnostic service for complicated cases to all laboratories of transfusion service in Czechia and Slovakia. It is involved in the preparation of an evaluation of external proficiency testing (SEKK) of all immunohematological laboratories in both countries, cooperates with foreign laboratories, and, on a regular basis, takes part in international cycles of external proficiency testing (Instand, Interregionale Blutspende SRK).

Molecular genetic techniques are in place at the Department of Immunohematology for the examination of HPA antigens and erythrocyte antigens (BloodChip, FluoGene systems) and sensitive laboratory techniques based on bead arrays for the identification of HLA, HPA and HNA antibodies. Moreover, the year 2020 saw the inclusion and testing of the genotype of erythrocyte antigens with the PCR-SSP (ReadyGene) method, and in cooperation with the Department of HLA also the new generation sequencing (NGS) of samples with atypical ABO phenotypes. With the help of genotyping techniques the department examines complicated serological findings in patients from the Czech Republic and Slovakia. At the same time, it serves for seeking rare characteristics of blood donors who are included in the Registry of Rare Blood Donors.

The Reference Laboratory for Immunohematology uses the latest techniques for eliminating complications of pretransfusion examinations of patients treated with monoclonal antibodies (e.g. Daratumumab, Isatuximab), as well as for detecting rare antibodies against erythrocytes with the help of recombinant antigens (rBGA). moreover, the laboratory examines antibodies associated with HIT (anti-heparin/PF4). It also tests donors of Covid convalescent plasma for the presence of HLA and HNA antibodies in the framework of the prevention of TRALI risk. All these methods contribute to more detailed and accurate examination of donors and recipients of transfusion products which represents another step towards personalized substitution therapy made to measure.

V rámci výběru optimálního dárce pro haploidentickou transplantaci je vyšetřován u pacientů lymfocytotoxický crossmatch a HLA protilátky s důrazem na identifikaci protilátek proti neshodným HLA antigenům dárce.

Laboratoř HLA serologie obhájila v roce 2020 EFI akreditaci na lymfocytotoxický crossmatch a nově získala EFI akreditaci na screening a identifikaci protilátek HLA I. a II. třídy testy pevné fáze na Luminexu.

Na virtuálním kongresu ISBT 2020 byl v rámci spoluautorství prezentován příspěvek Disrupted RUNX1 Motifs in the ABO Gene Explain Samples with A3 and B3 Phenotypes.

Oddělení buněčné terapie

Vedoucí: MUDr. Robert Pytlík, Ph.D.

Robert.Pytlík@uhkt.cz, +420 224 436 065

Zástupkyně vedoucího: MUDr. Šárka Rahmatová

Sarka.Rahmatova@uhkt.cz, +420 224 436 058

Oddělení buněčné terapie (OBT) je tkáňové zařízení schválené a pravidelně kontrolované SÚKL s povolením opatřovat, zpracovávat, uchovávat a propouštět krvetvorné buňky pro alogenní i autologní transplantace. OBT zpracovává a uchovává také lymfocyty dárců krvetvorných buněk pro potransplantační imunoterapii. Tyto činnosti jsou prováděny v souladu se zákonem o lidských tkáních a buňkách (LTB) č. 296/2008 Sb. Dále OBT rozvíjí program výroby léčivých přípravků moderní terapie (LPMT) dle zákona o léčivech (378/2007 Sb.).

Zařízení

OBT je detašované pracoviště umístěné v pavilonu 23 Fakultní nemocnice Motol (FNM), s níž má dlouhodobou smlouvu o pronájmu čistých prostor, kryoskladu, kanceláří

In the course of the year, 12 short-term internships took place (of laboratory technicians and laboratory operators having a university degree). The laboratory is also involved in pregraduate and postgraduate teaching of immunohematological aspects of transfusion medicine.

In the framework of the selection of an optimal donor for haploidentical transplantation, we test patients for lymphocytotoxic crossmatch and HLA antibodies with an emphasis on the identification of antibodies against incompatible HLA antigens of a donor.

In 2020, the Laboratory of HLA Serology successfully defended the EFI accreditation for lymphocytotoxic crossmatch a new EFI accreditation for the screening and identification of HLA antibodies of the 1st and 2nd class through solid phase tests on the Luminex.

At the ISBT 2020 virtual congress we as coauthors presented a contribution entitled Disrupted RUNX1 Motifs in the ABO Gene Explain Samples with A3 and B3 Phenotypes.

Cell Therapy Department

Head: MUDr. Robert Pytlík, Ph.D.

Robert.Pytlík@uhkt.cz, +420 224 436 065

Deputy Head: MUDr. Šárka Rahmatová

Sarka.Rahmatova@uhkt.cz, +420 224 436 058

The Cell Therapy Department (Czech abbreviation **OBT**) is a tissue establishment authorized and regularly inspected by SÚKL with a license to acquire, process, store and release hematopoietic cells for both allogeneic and autologous transplantations. The OBT also processes and stores lymphocytes of donors of hematopoietic cells for post-transplant immunotherapy. These activities are carried out in conformity with the Act no. 296/2008, Coll., on Safeguarding the Quality and Safety of Human Tissues and Cells. Furthermore, the OBT has been developing a program of the manufacture of modern therapy medicinal products according to the Act no. 378/2007 Coll., on Pharmaceuticals.

Equipment

The OBT is a separate unit located in the pavilion 23 of the

a laboratoří. Zpracování buněk pro transplantace i výroba LPMT se provádí v čistých prostorech s filtrovaným vzduchem a kontrolovaným množstvím částic ve vzduchu.

Lidské tkáně a buňky (LTB)

Transplantační programy

Oddělení buněčné terapie zabezpečuje služby pro všechny pražské transplantační programy, jmenovitě:

- Ústav hematologie a krevní transfuze (alogenní program),
- Všeobecná fakultní nemocnice v Praze (VFN), 1. interní klinika (autologní program),
- Fakultní nemocnice Motol (FNM), Klinika dětské hematologie a onkologie (alogenní i autologní program),
- Fakultní nemocnice Královské Vinohrady (FNKV), Interní hematologická klinika (autologní program).

OBT opatřuje, zpracovává a uskladňuje pro ÚHKT a FN Motol též buňky nepříbuzných dárců z českých registrů (Český národní registr dárců dřeně – ČNRDD, Český registr dárců křetvorných buněk – CSCR) i ze zahraničních registrů cestou CSCR. Pro CSCR rovněž opatřuje a zpracovává buňky českých dárců určené k nepříbuzným transplantacím v jiných českých i zahraničních centrech. Účastní se národních i mezinárodních kontrolních a akreditačních programů.

Banka pupečnickové krve

Banka pupečnickové krve České republiky (BPK ČR) slouží k uskladnění krve získané z pupečnicku a placenty bezprostředně po porodu. V současné době probíhá na OBT program příbuzenského dárcovství, tedy od novorozeného sourozence pro pacienta, který již trpí onemocněním léčitelným transplantací. Odběry příbuzenského programu probíhají ve spolupráci se sítí odběrových zařízení (porodnic) společnosti Cord Blood Center. Dále BPK uchovává více než 4 000 štěpů pro nepříbuzenské dárcovství, které jsou nabízeny českým i zahraničním transplantačním centřům zprostředkovaně přes CSCR. Rozšiřování nepříbuzenské části BPK v současné době neprobíhá. Stejně tak se BPK nepodílí ani na programech uchovávání pupečnickové krve

Motol University Hospital (Czech abbreviation FNM) with which it has a long-term contract of lease of clean premises, a cryostore, offices and laboratories. The processing of cells for transplantation and the manufacture of modern therapy medicinal products take place in clean premises with filtered air and controlled quantity of particles in the air.

Human Tissues and Cells (HTCs)

Transplant Programs

The Cell Therapy Department provides services to all Prague transplant programs pursued by the following establishments:

- Institute of Hematology and Blood Transfusion (an allogeneic program)
- General University Hospital (VFN) in Prague; 1st Internal Clinic (an autologous program)
- University Hospital Motol (FNM), Department of Pediatric Hematology and Oncology (an allogeneic and an autologous program)
- University Hospital Vinohrady (FNKV), Internal Clinic of Hematology (an autologous program).

For IHBT and FNM, the OBT also procures, processes and stores cells of unrelated donors from Czech registries (Czech National Registry of Bone Marrow Donors – Czech abbreviation ČNRDD, Czech Stem Cells Registry – CSCR), as well as foreign registries through the CSCR. For the CSCR it also procures and processes cells of Czech donors designed for unrelated donor transplants in other Czech and foreign centers. It is involved in national and international control and accreditation programs.

Umbilical Cord Blood Bank

The Umbilical Cord Blood Bank of the Czech Republic (Czech abbreviation BPK ČR) serves for storing blood from umbilical cord and placenta collected immediately after child delivery. A program is currently underway at the OBT of donation from related donors, i.e. from a newly born sibling for a patient who suffers from a disease treatable through

pro autologní použití.

Léčivé přípravky moderní terapie (LPMT)

OBT jednak rozvíjí svůj vlastní program buněčné terapie (v rámci imunoterapeutického programu ÚHKT), jednak se podílí na přípravě geneticky modifikovaných (tzv. CAR-T) lymfocytů pro léčbu lymfoidních malignit. Vlastní program buněčné terapie zahrnuje:

- Příprava přípravku virus specifické lymfocyty (OBT-LPMT-VSL), určeného k léčbě pacientů s reaktivací či novou nákazou některými virovými onemocněními (cytomegalovirus, EB virus, adenovirus) po alogenní transplantaci. Přípravuje se aktivací lymfocytů zdravého dárce pomocí virových antigenů a následnou selekcí (výběrem) takovýchto lymfocytů na přístroji CliniMACS Prodigy (obr. 1). Povolení k výrobě tohoto preparátu bylo vydáno SÚKL dne 18. června 2019. V současné době je připravována klinická studie pro pacienty s reaktivací cytomegaloviru. Pro pacienty z jiných transplantačních center než ÚHKT je v současné době možno virus specifické lymfocyty připravit po schválení úhrady spotřebního materiálu zdravotní pojišťovnou pacienta (aplikace podle § 8 odst. 3 písm. b) bod 2 zákona č. 378/2007 Sb., o léčivech).
- Příprava lidských mezenchymových stromálních buněk (OBT-LPMT-hMSC) pro imunoterapeutické manipulace, zejména onemocnění štěpu proti hostiteli (GvHD) po alogenní transplantaci (obr. 2). V současné době je dokončována výrobní dokumentace a po výrobě validačních šarží bude podána žádost o povolení k výrobě na SÚKL.
- Příprava CAR-T lymfocytů. OBT se v současné době podílí na přípravě preparátu tisa-cel (Kymriah® Novartis), a to vyšetřováním, zpracováním, uskladněním a distribucí vstupního materiálu. Periferní mononukleární buňky (PBMC) jako surovina pro výrobu CAR-T lymfocytů byly v roce 2020 odebrány 26 pacientům (15 pacientům z ÚHKT, 6 z VFN, 5 z KDHO) a po zamražení byly odeslány do výrobního zařízení firmy Novartis (celkem 57 vaků PBMC). Hotový léčivý přípravek byl pak opět převzat OBT a uskladněn v kryoskladu na detašovaném pracovišti FNM až do podání. V loňském roce bylo na OBT dodáno 12 LPMT Kymriah a tímto přípravkem bylo na ÚHKT léčeno 12 pacientů (obr. 3).

transplantation collection of blood from related donors takes place in cooperation with the network of collection establishments (maternity hospitals) of the Cord Blood Center Group. Moreover, the BPK stores over 4,000 grafts for unrelated donation that are offered both to Czech and foreign transplant centers through the CSCR. No expansion of the blood unrelated part of the BPK is under way. Similarly, the BPK is not involved in the programs of umbilical cord blood storage for autologous use.

Modern Therapy Medicinal Products (Czech abbreviation LPMT)

The OBT has been developing its own cell therapy program (in the framework of the IHBT Immunotherapeutic Program) on the one hand, and has been involved in the preparation of genetically modified (the so-called CAR-T) lymphocytes for the treatment of lymphoid malignities, on the other. The OBT's own cell therapy program comprises:

- Virus-specific lymphocytes (OBT-LPMT-VSL) product. It is intended for treating patients with reactivation of a new infection with some viral diseases (cytomegalovirus, EB virus, and adenovirus) after allogeneic transplantation. It is prepared through the activation of lymphocytes of a healthy donor with the help of viral antigens and the subsequent selection of such lymphocytes using the CliniMACS Prodigy device (Fig. 1). A license for the manufacture of this preparation was issued by SÚKL on 18 June 2019. At present a clinical trial is being prepared for patients with reactivation of cytomegalovirus. For patients from other transplant centers than the IHBT it is currently possible to prepare virus specific lymphocytes after the approval of the reimbursement of consumables by the patient's health insurance company (application according to Art. 8, par. 3, letter b), point 2 of the Act no. 378/2007 Coll. on Pharmaceuticals).
- Human mesenchymal stromal cells (OBT-LPMT-hMSC) for immunotherapeutic manipulations, namely the graft versus host disease (GvHD) after an allogeneic transplantation (Fig. 2). Production documentation is currently completed and, after the production of validation samples, an application for

Nárůst počtu pacientů/dárců, odběrů a počtu vyvezených vaků PBMC k výrobě je znázorněn na obr. 4. Ve spolupráci s Všeobecnou fakultní nemocnicí je připravován program pro léčbu dalšími preparáty (axi-cel – Yescarta® a brexu-cel – Tecartus®, obojí firma Kite/Gilead). V roce 2020 prošlo OBT kontrolou fy Kite/Gilead, a to jak vzdáleným auditem, tak on site zahraniční inspekcí.

Činnost Oddělení buněčné terapie v roce 2020

Celkem byly provedeny odběry od 268 dárců, z toho 130 byli zdraví dárči pro alogenně transplantované pacienty (49 %), 138 pak autologně odebrání pacienti (51 %) (obr. 5). V porovnání s rokem 2019 se zvýšil počet odebraných alogenních i autologních dárců.

Ze 130 zdravých dárců pro alogenní pacienty bylo 94 dárců odebráno pro ÚHKT (72 %) a 36 dárců pro KDHO FN Motol (28 %) (obr. 6). Celkem bylo zpracováno 137 odběrů a z nich bylo připraveno 666 produktů (vaků), což je o 31 % více než v předchozím roce. Většina vyrobených produktů představovala dárcovské lymfocyty (DLI) (66 %), periferní krvetvorné buňky (PBPC) představovaly 33 % a kostní dřev (KD) 1 % (obr. 7). Trendy počtu pacientů, odběrů a vyrobených vaků za poslední čtyři roky jsou znázorněny na obr. 8.

Pro autologní použití bylo přijato ke zpracování 175 odběrů krvetvorných buněk od 138 pacientů, počet pacientů se zvýšil o 5 % a bylo zpracováno o 9 % více odběrů; 57 % nemocných bylo z VFN, 28 % z FNKV, 14 % z FN Motol. Z celkového počtu 383 produktů připadlo 98 % na PBPC a 2 % na kostní dřev. (obr. 9). Trendy počtu pacientů, odběrů a vyrobených vaků za poslední čtyři roky jsou znázorněny na obr. 10.

Aplikace kryokonzervované krvetvorné tkáně

Pracovníci OBT se podílejí na rozmražení kryokonzervovaných buněčných přípravků v spolupracujících transplantačních centrech, v roce 2020 asistovali u 281 aplikací (nárůst o 28 %). V roce 2020 bylo celkem aplikováno 387 vaků buněčných přípravků (nárůst o 44 %): 208 aplikací byly PBPC (307 vaků), 8 aplikací kostní dřev (9 vaků) a 65 aplikací DLI (71 vaků). K nárůstu počtu aplikací kryokonzervovaných přípravků došlo v souvislosti s pandemií covid-19, protože jsou kryokonzervovány alogenní buněčné přípravky od příbuzných i nepříbuzných dárců.

production license will be lodged with SÚKL.

- The OBT is currently involved in the preparation of the tisa-cel (Kymriah® Novartis) product through examination, processing, storage and distribution of input material. In 2020, peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were collected as a raw material for the production of CAR-T lymphocytes from 26 patients (15 patients from IHBT, 6 from VFN and 5 from KDHO) and, when frozen, they were sent to a production plant of the Novartis company (a total of 57 bags containing PBMCs). The finished medicinal product was then taken back by the OBT and stored in a cryostore of the separate unit of the FNM until its administration. In 2020, 12 LPMT Kymriah units were supplied to the OBT, and this product was used at IHBT for the treatment of 12 patients (Fig. 3). The increase of the number of patients/donors, collections and sent PBMC bags to production is shown in Fig. 4. In cooperation with the General University Hospital (VFN) we have been preparing a program for the treatment with other products (axi-cel – Yescarta® and brexu-cel – Tecartus®, both manufactured by Kite/Gilead). In 2020, the OBT underwent an inspection by Kite/Gilead, both in the form of a distance audit and an on-site foreign inspection.

Activity of the Cell Therapy Department in 2020

Blood collections were made from a total of 268 donors, 130 of whom were health donors for patients after allogeneic transplantation (49%), 138 for autologous patients (51%) - (Fig. 5). In comparison with 2019 there was an increase of the number of both allogeneic and autologous donors.

Out of 130 healthy donors for allogeneic patients 94 donors underwent collection for IHBT (72%) and 36 donors for KDHO FN Motol (28%) - (Fig. 6). A total of 137 collections were processed and, from them, 666 products (bags) were prepared – i. e. 31% more than in the previous year. Most manufactured products represented donor lymphocytes (DLI) – 66%, peripheral blood progenitor cells (PBPCs) represented 33% and bone marrow (BM) 1% (Fig. 7). Trends in the number of patients, collections and manufactured bags in the past four years are shown in Fig. 8.

For autologous use, the department received 175 collections

Na ÚHKT bylo provedeno 108 aplikací 43 alogenní PBPC (88 vaků) 65 DLI (71 vaků), ve VFN proběhlo 90 aplikací autologních PBPC (123 vaků) ve FNKV 39 aplikací autologních PBPC (54 vaků), na KDHO 36 aplikací autologních i alogenních PBPC (42 vaků) a 8 aplikací autologních i alogenních kostních dřev (9 vaků), viz obr. 12.

Pro příbuzenskou část banky pupečnickové krve (BPK) bylo prostřednictvím Cord Blood Center provedeno 8 odběrů, 1 odběr pupečnickové krve zpracovalo OBT. Pro transplantaci v r. 2020 nebyly vydány žádné štěpy ani z příbuzenské, ani z nepříbuzenské části BPK.

Výdej alogenních buněčných přípravků do mimopražských a zahraničních center přes CSCR

V roce 2020 OBT spolupracovalo na výdeji alogenních buněčných přípravků od dárců z CSCR do českých mimopražských a zahraničních transplantačních center z 16 odběrů PBPC a 2 odběrů DLI. Jednalo se o čerstvé buněčné přípravky, pouze v jednom případě byla na žádost transplantačního centra (Brazílie) provedena kryokonzervace alogenního PBPC.



Obr. 1 – CliniMACS Prodigy® (Miltényi Biotech) validace sterility zpracování metodou mediafill

Fig. 1. – CliniMACS Prodigy® (Miltényi Biotech) validation of processing sterility through media fill method

of hematopoietic cells from 138 patients for processing, i. e. the number of patients increased by 5% and 9% more collections were processed. 57% of patients were from VFN, 28% from FNKV and 14% from FN Motol. Out of the total number of 383 products, 98% corresponded to PBPCs and 2% to bone marrow. (Fig. 9). Trends in the number of patients, collections and manufactured bags in the past four years are shown in Fig. 10.

Application of Cryopreserved Hematopoietic Tissue

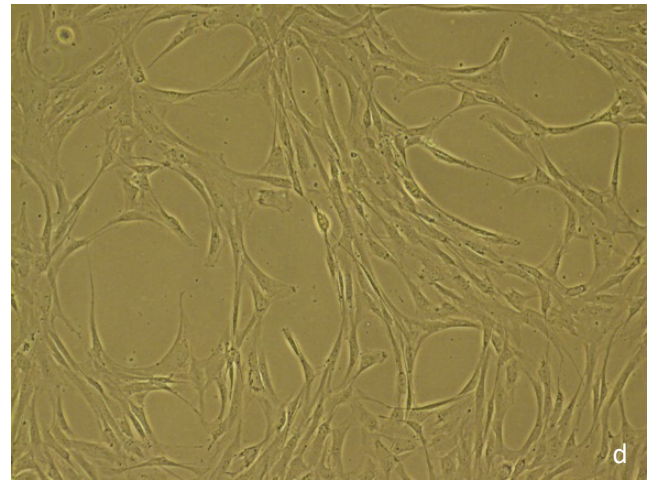
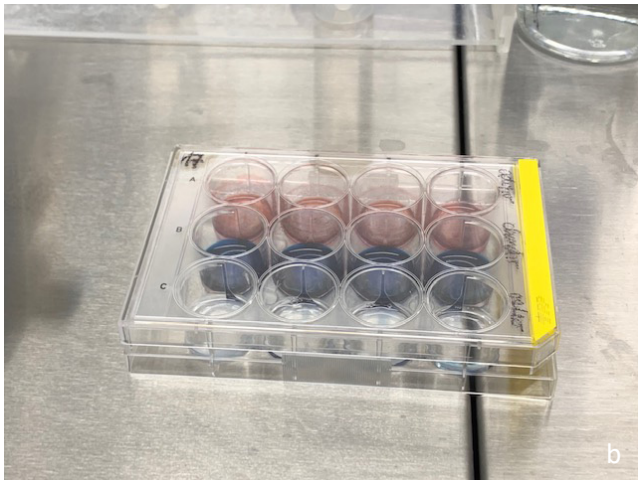
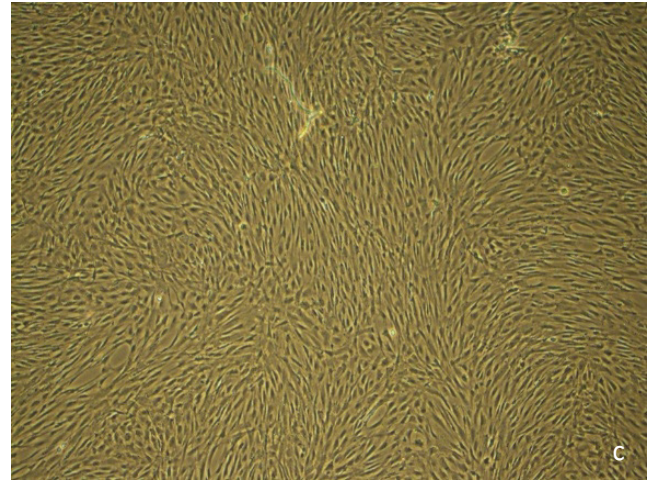
The OBT staff members are involved in unfreezing cryopreserved cell products in cooperating transplant centers; in 2020, they assisted to 281 applications (an increase of 28%). The year 2020 saw the application of a total of 387 bags of cell products (an increase of 44%): 208 applications were PBPCs (307 bags), 8 applications of bone marrow (9 bags) and 65 applications DLI (71 bags). The number of applications of cryopreserved products grew in relation to the COVID-19 pandemic because allogeneic cell products of related and unrelated donors are cryopreserved.

IHBT made 108 applications of allogeneic PBPCs (88 bags), 65 DLI (71 bags); VFN made 90 applications of autologous PBPCs (123 bags), FNKV made 39 applications of autologous PBPCs (54 bags), KDHO made 36 applications of both autologous and allogeneic PBPCs (42 bags) and 8 applications of both autologous and allogeneic bone marrow (9 bags) – see Fig. 12.

For the family related part of the Umbilical Cord Blood Bank (BPK) 8 collections were made through the Cord Blood Center, 1 collection of umbilical cord blood was processed by OBT. In 2020, no grafts were released for transplantation from family related or unrelated part of the Umbilical Cord Blood Bank.

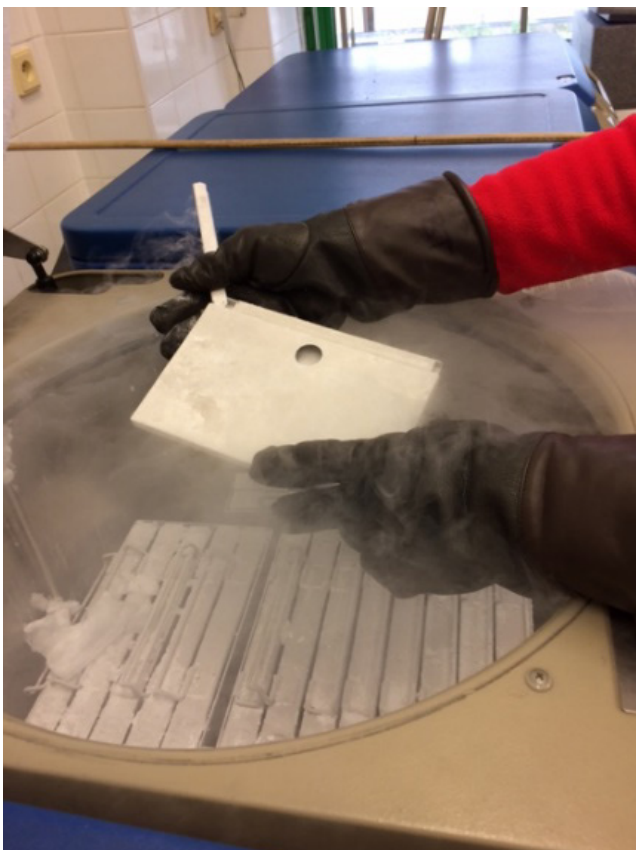
Dispensing of allogeneic cell products to centers outside Prague and abroad through CSCR

In 2020 the department cooperated in the dispensing of allogeneic cell products from donors from CSCR to transplants centers outside Prague and abroad from 16 collections of PBPCs and 2 collections of DLI. They were fresh cell products, only in one case, at the request of one transplant center (Brazil), allogeneic PBPCs were cryopreserved.



Obr. 2a–2d – Program hMSC; a) – příprava v laminárním boxu, b) – trilineární diferenciace, c, d) – buňky pod 40násobným a 100násobným zvětšením

Fig. 2. hMSC Program. a) – preparation in a laminar box, b) – trilinear differentiation, c,d) – cells magnified 40 times and 100 times

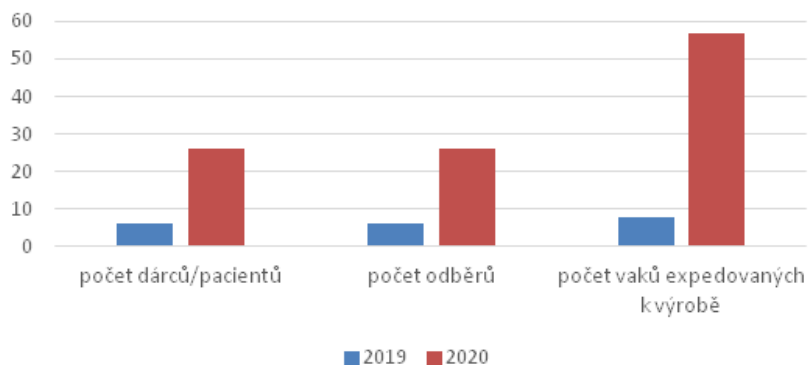


Obr. 3 – Příjem a uložení hotového produktu Kymriah®



Fig. 3. – Receipt and storage of the finished Kymriah® product

PBMC pro výrobu Kymriah, trendy 2019–2020

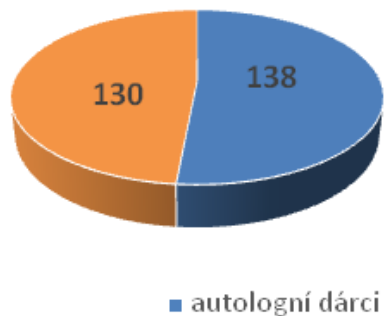


Obr.4 – PBMC pro výrobu Kymriah, trendy 2019–2020

Fig. 4 – PBMCs for the production of Kymriah - 2019 -2020 trends

/text under chart – left to right: Number of donors/patients; Number of collections; Number of bags dispatched for production/

Poměr autologních a alogenních dárců

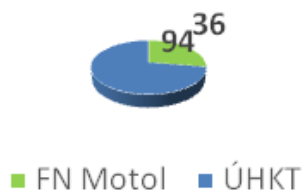


Obr.5

Fig.5 – /text in chart: Proportion of autologous and allogeneic donors

Autologous donors - Allogeneic donors/

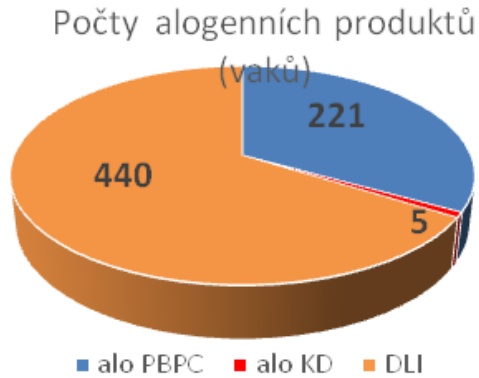
Počet dárců pro alogenní převody



Obr.6

Fig.6 – /text in chart: Number of donors for allogeneic transfers,

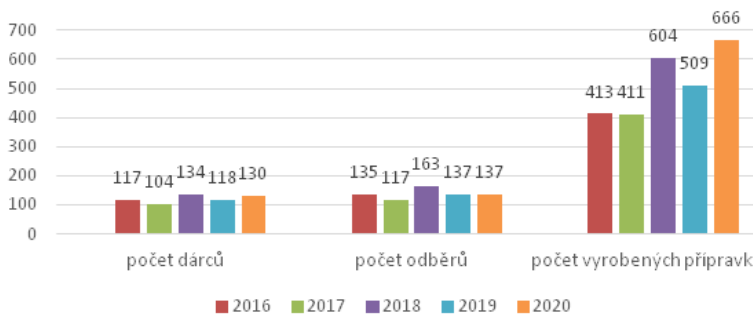
FN Motol - IHBT/



Obr.7

Fig.7 – /text over chart: Numbers of allogeneic products (bags)/

Alogenní dárce, odběry a přípravky - trendy 2016-20

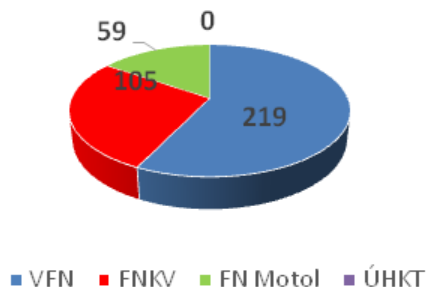


Obr.8

Fig.8 – /text in chart: Allogeneic donors, collections and products, 2016-2020 trends

Number of donors - Number of collections - Number of products/

Počet vyrobených autologních buněčných přípravků podle center

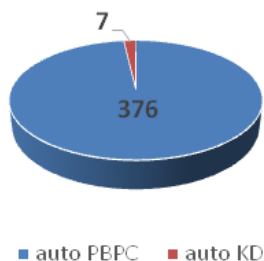


Obr.9

Fig.9 – /text in chart: Number of autologous products by centers

VFN - FNKV - FN Motol - IHBT/

Počty autologních produktů

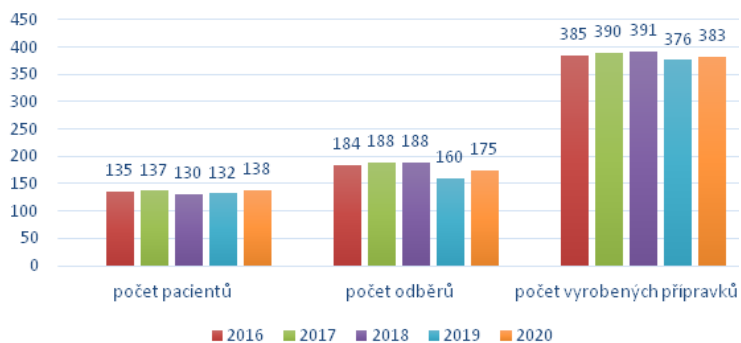


Obr. 10

Fig. 10 – /text over chart: Numbers of allogeneic products (bags)/

/text over chart: Number of autologous products/

Autologní pacienti, odběry a přípravky, trendy 2016-2020

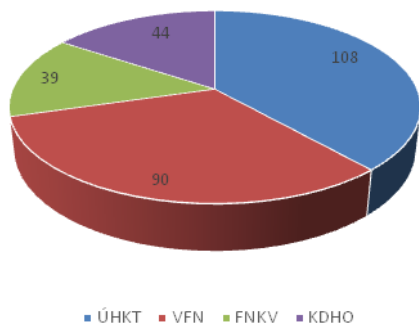


Obr.11

Fig.11 – /text in chart: Autologous patients, collections and products, 2016–20 trends

Number of patients -Number of collections
-Number of products/

Počet aplikací kryokonzervovaných b. p. v jednotlivých Tx centrech



Obr.12 – Počet aplikací kryokonzervovaných b. p. podle jednotlivých Tx center

Fig.12 – Number of applications of cryopreserved cell products by individual Tx centers

/text under chart: IHBT - VFN - FNKV - KDHO/



**OŠETŘOVATELSKÁ
PÉČE**

**NURSING
CARE**

Ošetřovatelský personál Klinického a
Transfuziologického úseku
Oddělení fyzioterapie
Oddělení nutriční terapie
Zdravotně-sociální služby

Nursing staff of the Clinical and Transfusiological
Division
Physiotherapy Department
Nutrition Therapy Department
Medical Social Services

Náměstkyně: Mgr. Lucie Vylitová, DiS.

Lucie.Vylitova@uhkt.cz, +420 221 977 419

Zástupkyně náměstkyně: Mgr. Zdeňka Zabloudilová, DiS.

Zdenka.Zabloudilova@uhkt.cz, +420 221 977 622

Ošetrovatelská péče tvoří nedílnou součást zdravotní péče. Při poskytování péče klademe důraz zejména na poskytování bezpečné individuální komplexní péče.

Pracovníci Úseku pro ošetrovatelskou péči poskytují základní i vysoce specializovanou ošetrovatelskou péči jak pacientům, tak dárčům krevních složek. Dodržují přitom nejmodernější standardy bezpečné ošetrovatelské péče vycházející z programu celoživotního vzdělávání v Česku i celé Evropě.

Cílem je přispívat k tomu, aby nemocní trávili v ÚHKT jen nezbytně nutnou dobu a cítili se zde maximálně příjemně. O pacienty a dárce krevních složek pečuje více než 100 všeobecných sester různého stupně vzdělání i specializace, ošetrovatelky, sanitáři a také například zdravotně-sociální pracovníce, nutriční terapeutky či fyzioterapeuti, přičemž všichni velmi úzce spolupracují také s rodinami a dalšími blízkými pacientů.

Management Úseku pro ošetrovatelskou péči se zároveň spolupodílí na koncepci léčebných programů i strategických cílů v celém ÚHKT. Ošetrovatelský personál významně participuje na procesu systematického a kontinuálního zvyšování kvality poskytované péče. Podstatně tak přispěl k získání akreditace SAK v prosinci 2020.

V průběhu roku se podařilo zaktivizovat a úspěšně rozvíjet činnost PICC týmu a vytvořit informační brožurku pro pacienty.

Oddělení fyzioterapie

Zaměstnanci oddělení fyzioterapie se podílí na preventivní a individuální léčebné rehabilitační péči u hospitalizovaných i ambulantních pacientů. Speciální péče je věnována

Head of Division: Mgr. Lucie Vylitová, DiS.

Lucie.Vylitova@uhkt.cz, +420 221 977 419

Deputy Head: Mgr. Zdeňka Zabloudilová, DiS.

Zdenka.Zabloudilova@uhkt.cz, +420 221 977 622

Nursing care is part and parcel of medical care. While providing care, we place particular emphasis on the provision of safe, individual, comprehensive care.

The staff members of the Nursing Care Division provide basic, as well as a highly specialized nursing care to patients and blood components donors. In their activity they follow the latest standards of safe nursing care based on a program of lifelong learning in the Czech Republic and in all Europe.

Our aim is to contribute that patients spend only the absolutely necessary time at IHBT and feel a maximum comfort. Patients and blood components donors are looked after by more than 100 general nurses with different levels of education and specialization, female and male hospital attendants and also, for instance, medical social workers, nutrition therapists or physiotherapists – all of them cooperate very closely with patients' families and other close persons.

At the same time, the management of the Nursing Care Division contributes to the conception of therapeutic programs and strategic goals of the entire IHBT. The nursing staff members take an important part in the process of a systematic and continuous increase of the quality of provided care. Thus, they made a fundamental contribution to the acquisition of accreditation of the Joint Accreditation Committee (Czech abbreviation SAK) in December 2020.

In the course of the year we succeeded in activating and successfully developing the activity of the PICC team and to produce an information booklet for patients.

Physiotherapy Department

The staff members of the Department of Physiotherapy take part in the preventive and individual curative rehabilitation care of both inpatients and outpatients. Special care is

pacientům s poruchami hemokoagulace. Rehabilitační program zahrnuje základní cíle rehabilitační péče: předcházení komplikacím, obnovení porušených tkání, zabránění progresi poškození a rozvoji komplikací progredujícího onemocnění.

Oddělení nutriční terapie

Oddělení zabezpečuje adekvátní nutriční péči o pacienty se zvláštním zaměřením na dietní opatření v průběhu jednotlivých fází léčby u hospitalizovaných i ambulantních pacientů. Během hospitalizace je sledován a hodnocen nutriční stav pacientů, je prováděna edukace pacientů a rodinných příslušníků o dietních omezeních a stravovacím režimu v období hospitalizace i např. o následných dočasných stravovacích omezeních po propuštění do domácího prostředí. Pacienti mohou s nutričními terapeutkami konzultovat pomocí e-mailu nebo telefonicky. Pro ambulantní pacienty po transplantaci krvetvorných buněk je dvakrát týdně k dispozici nutriční poradna.

Zdravotně-sociální služby

Útvar participuje na řešení zdravotně-sociální problematiky pacientů ÚHKT v kontextu dlouhodobého onemocnění. Zdravotně-sociální péče je cíleně plánována na základě indikace lékaře a individuálních potřeb pacienta s ohledem na sociální zázemí i možnosti rodiny.

V průběhu hospitalizace zdravotně-sociální pracovník kontaktuje pacienta a jeho blízké a společně vytvářejí plán návazných zdravotně-sociálních a podpůrných služeb v terénu nebo v lůžkových zařízeních. Cílem služby je bezpečné propuštění pacienta do přirozeného domácího prostředí, eventuálně do adekvátního lůžkového zařízení hospicové péče. Úzce spolupracujeme s poskytovateli domácí paliativní péče napříč celou Českou republikou. Sociální pracovnice je zapojena do podpůrného a paliativního týmu ÚHKT.

Úspěšně, i když v omezených možnostech také v tomto roce pokračovala spolupráce s dobrovolnickou organizací Amélie, z. s.

provided to patients with hemocoagulation disorders. Our rehabilitation program comprises basic goals of rehabilitation care: prevention of complications, recovery of damaged tissues, prevention of damage progression and of the development of complications of a progressing disease.

Nutrition Therapy Department

It provides adequate nutrition care of patients with a special focus on dietary measures in the course of the various treatment stages of both inpatients and outpatients. In the course of hospitalization we monitor and evaluate the patients' nutrition condition, and educate patients and their family members about dietary limitations and the nutrition regimen in the hospitalization period, and also, for instance, about follow-up temporary dietary limitations after the release to home environment. A nutrition advisory center is available for outpatients after hematopoietic cell transplantation twice a week.

Medical Social Services

The department takes part in dealing with medical social problems of IHBT patients in the context of long-term diseases. Medical social care is purposefully planned on the basis of physicians' indication and patients' individual needs, and with regard to the social background and possibilities of their families.

In the course of hospitalization a medical social worker contacts a patient and his/her close persons, and together they draw up a plan of follow-up medical social and supportive services in the field or at inpatient establishments. The aim of the service is a patient's safe release to his/her natural home environment or to an adequate inpatients establishment of hospice care. We closely cooperate with providers of home palliative care across the entire Czech Republic. Our social workers are integrated in the Supportive and Palliative Team of IHBT.

Although in limited conditions, we continued our successful cooperation with Amelia voluntary service also in 2020.

Vzdělávání ošetrovatelského personálu

Profesní rozvoj ošetrovatelského personálu probíhá v návaznosti na potřeby pacientů léčených v ambulantní i lůžkové části ÚHKT. Sestry jsou do specializačního vzdělávání zařazovány průběžně s ohledem na provozní možnosti pracovišť. Podporujeme také účast na krátkodobých vzdělávacích a odborných akcích, účast je pracovníkům umožňována v závislosti na organizačních a finančních možnostech. Při zařazování jednotlivých pracovníků je vždy zohledněna účast na vzdělávacích aktivitách v předchozím kalendářním roce. V průběhu roku pořádáme vlastní odborné semináře a další vzdělávací akce, například certifikovaný kurz Ošetrovatelská péče o pacienta v hematologii.

V letošním roce do plánu vzdělávání vstoupila pandemie covid-19, a tak byly některé vzdělávací akce zrušeny, přesunuty nebo nahrazeny distanční formou.

Further Education of Nursing Staff

Professional advancement of nursing staff members takes place in connection with the needs of patients treated in the outpatient and inpatient part of IHBT. Nurses are regularly incorporated into specialization education according to operational possibilities of the centers. We also support the staff members' participation in short-term educational and professional activities; we facilitate their involvement depending on organizational and financial possibilities. . When integrating individual staff members, we always take into account their participation in educational activities in the previous calendar year. In the course of a year, we organize our own professional seminars and other educational events such as the Certified Course: Nursing Care of Patients in Hemato-oncology.

The 2020 education plan was affected by the Covid-19 pandemic, and therefore some educational events were cancelled, postponed or replaced with a distance form.



**VĚDA A
VÝZKUM
SCIENCE
AND RESEARCH**

Oddělení molekulární genetiky
Oddělení HLA
Oddělení cytogenetiky
Oddělení biochemie
Oddělení imunologie
Oddělení proteomiky
Oddělení imunomonitoringu a průtokové
cytometrie
Oddělení genomiky
Referát administrativy výzkumu

Department of Molecular Genetics
Department of HLA
Department of Cytogenetics
Department of Biochemistry
Department of Immunology
Department of Proteomics
Department of Genomics
Research Administration Office

Náměstek: prof. Ing. Jan. E. Dyr, DrSc.

Zástupce náměstka: doc. Ing. Mgr. Bc. Roman Kotlín, Ph.D. MHA
Roman.Kotlin@uhkt.cz, +420 221 977 612

Úsek pro vědu, výzkum a vývoj ÚHKT je tvořen sedmi odděleními, z nichž každé provádí výzkumné činnosti úzce spjaté s vysoce specializovanou zdravotnickou péčí v oblasti hematologie, onkohematologie a hemostázy a trombózy poskytovanou ÚHKT. Ve své výzkumné a vědecké činnosti se zabývá jak základním, tak aplikovaným výzkumem v oblastech molekulární genetiky, genomiky, proteomiky, interaktomiky, metabolomiky, biochemie, imunogenetiky, imunologie, cytogenetiky a virologie. Hlavním zaměřením výzkumu je analýza molekulárních mechanismů vzniku a vývoje hematologických onemocnění a laboratorní monitorace působení používaných léčebných postupů. Na výzkumu je spolupracováno se špičkovými institucemi a odborníky z celé České republiky i se špičkovými odborníky a institucemi po celém světě. Nedílnou součástí úseku je poskytování rutinních vyšetření, a to především v oblasti HLA, molekulární genetiky, biochemických metod či virologie. Poslední, ne však nejméně důležitou je také výchova nových odborníků, ať už pregraduálních, nebo postgraduálních studentů.

Oddělení molekulární genetiky

Vedoucí: doc. Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Katerina.Machova@uhkt.cz, +420 221 977 305

Zástupkyně vedoucí: Mgr. Hana Žižková, Ph.D.

Hana.Zizkova@uhkt.cz, +420 221 977 221

Rok v číslech

Proběhlo 2 497 vyšetření molekulárního monitorování transkriptu BCR-ABL1 (2 315 vyšetření hladiny transkriptu BCR-ABL1 a 182 vyšetření pro analýzu mutací v kinázové doméně BCR-ABL1), 195 diagnostických vyšetření přítomnosti a typu transkriptu BCR-ABL1 a 26 vyšetření panelu fúzních genů u pacientů s diagnózou akutní leukemie.

Oddělení molekulární genetiky poskytuje akreditovaná molekulárně genetická vyšetření onkogenu BCR-ABL1 a s tím

Head of Division: prof. Ing. Jan. E. Dyr, DrSc.

Deputy Head: doc. Ing. Mgr. Bc. Roman Kotlín, Ph.D. MHA
Roman.Kotlin@uhkt.cz, +420 221 977 612

The IHBT Division for Science, Research and Development comprises seven departments, every one of which pursues research activities that are closely related to a highly specialized health care in the sphere of hematology, oncohematology and hemostasis and thrombosis provided by IHBT. In our research and scientific activities we deal with both basic and applied research in the areas of molecular genetics, genomics, proteomics, interactomics, metabolomics, biochemistry, immunogenetics, immunology, cytogenetics and virology. The main focus of our research is the analysis of molecular mechanisms of the formation and development of hematological diseases and laboratory monitoring of the effect of the therapeutic procedures. We cooperate with top-level research institutions and experts both from the entire Czech Republic and from all over the world. An inseparable part of the division is the provision of routine examinations, chiefly in the sphere of HLA, molecular genetics, biochemical methods or virology. Last but not least is the education of new experts, whether pregraduate or postgraduate students.

Department of Molecular Genetics

Head: doc. Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Katerina.Machova@uhkt.cz, +420 221 977 305

Deputy Head: Mgr. Hana Žižková, Ph.D.

Hana.Zizkova@uhkt.cz, +420 221 977 221

The year 2020 in numbers

2,497 examinations of molecular monitoring of BCRA-ABL1 transcript (2,315 examinations of the level of BCR-ABL1 transcript and 182 examinations for the analysis of mutations in the BCR-ABL1 kinase domain), 195 diagnostic examinations for the presence and type of BCR-ABL1 transcript and 26 examinations of the panel of fusion genes in patients diagnosed with acute leukemia.

The Department of Molecular Genetics provides accredited

související pravidelné molekulární monitorování měřitelné reziduální nemoci (MRN) u pacientů s onemocněním chronické myeloidní leukemie (CML) a Ph+ akutní lymfoblastické leukemie (ALL) a rovněž detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL1, které způsobují rezistenci k léčbě inhibitory tyrozinových kináz a pro jejichž detekci je od června 2020 používána i nově akreditovaná metoda NGS. Dalšími poskytovanými vyšetřeními jsou analýza panelu fúzních genů, které se vyskytují u pacientů s ALL, a farmakogenotypování jednobodového polymorfismu souvisejícího s odpovědí na léčbu imatinibem.

Swou výzkumnou činnost oddělení směřuje ke zlepšování molekulární diagnostiky CML a ALL pro klinickou praxi s využitím nových technologií (př. sekvenování nové generace, digitální PCR). Cílem je zjistit a s klinickou relevancí včas odhalit rozvíjející se rezistenci na léčbu (výzkum in vitro a in vivo). V rámci svých projektů studuje také další molekulární mechanismy onemocnění (př. rozvoj mutací v nádorově specifických genech, epigenetická regulace ve zdravé a leukemické krevetvorbě; role transportérů léků ve vzniku rezistence na léky).

V roce 2020 oddělení molekulární genetiky:

- organizovalo 5. ročník mezilaboratorního porovnávání zkoušek pro oblast detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL1, kterého se úspěšně zúčastnily čtyři laboratoře z Česka a Slovenska,
- organizovalo 16. ročník mezilaboratorního porovnání pro oblast diagnostické stanovení fúzního genu BCR-ABL1, kterého se úspěšně zúčastnilo 8 laboratoří z Česka,
- 29. února 2020 organizovalo na půdě ÚHKT setkání s pacienty s hematologickými onemocněními s praktickou zkušeností v laboratořích.

Nejvýznamnější dosažené výsledky

- U ČIA byla úspěšně akreditována dle ČSN EN ISO 15189 metoda sekvenování nové generace pro detekci mutací v kinázové doméně (KD) BCR-ABL1. Touto metodou bylo v roce 2020 vyšetřeno 98 pacientů, u kterých bylo provedeno 126 analýz. V roce 2020 byla také zavedena, validována a

molekulární genetické vyšetření BCR-ABL1 onkogenu a související pravidelné molekulární monitorování měřitelné reziduální nemoci (MRD) u pacientů s chronickou myeloidní leukemií (CML) a Ph+ akutní lymfoblastickou leukémií (ALL), stejně jako detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL1, které způsobují rezistenci na léčbu inhibitory tyrosinových kináz, pro jejichž detekci je od června 2020 používána i nově akreditovaná metoda NGS. Dalšími poskytovanými vyšetřeními jsou analýza panelu fúzních genů, které se vyskytují u pacientů s ALL, a farmakogenotypování jednobodového polymorfismu souvisejícího s odpovědí na léčbu imatinibem.

The department gears its research activity towards the improvement of molecular diagnostics of CML and ALL for clinical practice with the use of new technologies (e. g. next generation sequencing, digital PCR). The goal is to find out and, with clinical relevance, to timely detect the developing resistance to treatment (in vitro and in vivo research). In the framework of its projects, it has been also studying other molecular mechanisms of the disease (e.g. the development of mutations in tumor-specific genes, epigenetic regulation in healthy and leukemic hematopoiesis, and the role of transporters of pharmaceuticals in the development of resistance to pharmaceuticals).

In 2020 the Department of Molecular Genetics:

- Organized the 5th edition of Interlaboratory Comparison of Tests for the area of "Detection of Mutations in BCR-ABL1 kinase domain", in which 4 laboratories of the Czech and Slovak Republic took a successful part;
- Organized the 16th edition of Interlaboratory Comparison for the area of "Diagnostic Determination of the BCR-ABL1 Fusion Gene", in which 8 laboratories of the Czech Republic took a successful part;
- Organized a Meeting with patients with hematological diseases with practical experience in laboratories on the IHBT premises on 29 February 2020.

The most important achievements

- According to ČSN EN ISO 15189, the department reached a successful accreditation of the method of new generation

připravena k akreditaci u ČIA dle ČSN EN ISO 15189 doplněná verze SOP umožňující NGS analýzu mutací v KD BCR-ABL1 u pacientů s minor přestavbou BCR-ABL1. Tento postup je zásadní pro pacienty s ALL nesoucí BCR-ABL1 fúzi, kde se většinou jedná o fúzi v oblasti minor.

- V časopise *Leukemia* oddělení publikovalo vědecký článek *Analysis of chronic myeloid leukaemia during deep molecular response by genomic PCR: a traffic light stratification model with impact on treatment-free remission* jako výstup projektu řešeného s podporou institucionálních prostředků ÚHKT a grantu AZV 15-31540A *Molekulární detekce chronické myeloidní leukemie pomocí pacient-specifické fúze genu BCR-ABL1: dopad na efektivitu léčby ve spolupráci s evropským konsorciem EUTOS*.

- Výsledky získané v rámci projektu *Detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL1 pomocí sensitivních technologií nové generace u pacientů s CML a Ph+ ALL* byly prezentovány formou přednášky *Major molecular response is the threshold for NGS analysis and resistant BCR-ABL1 mutation detection in CML* a formou posteru *Do not waste the data: A pipeline for evaluation of BCR-ABL1 kinase domain mutations using individual thresholds* na virtuální konferenci *25th EHA Annual Congress*. Práce je v přípravě pro publikování v odborném časopise. Další výsledky z řešení projektu byly shrnuty do formy Letter to Editor nesoucí název *Sensitivity and reliability of DNA-based mutation analysis by allele-specific digital PCR to follow resistant BCR-ABL1-positive cells*, který byl v roce 2021 publikován v časopise *Leukemia*.

- Výsledky dosažené v průběhu řešení projektu *Skríning frekventovaně mutovaných genů u hematologických onemocnění s poruchou vyzrávání myeloidní krevní řady v průběhu krvetvorby u pacientů s CML, kteří v době diagnózy dosáhli věku 18–30 let* byly v roce 2020 vybrány pro posterová sdělení na třech konferencích: *20. pražské hematologické dny*, *22nd Annual John Goldman Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy (European School of Hematology)* a *62nd ASH Annual Meeting & Exposition*. Předběžné výsledky poskytly dobrý základ pro návrh projektu translačního výzkumu *Spectrum of NGS detected somatic mutations and their association with prognosis and outcome of adolescent and young adult patients with Ph-*

of sequencing for the detection of mutations in BCR-ABL1 kinase domain (KD) with the Czech Accreditation Institute (CAI). This method was used in 2020 for the examination of 98 patients, in whom 126 analyses were made. The year 2020 also saw the introduction, validation and preparation for accreditation with CAI, according to the standard CSN EN ISO 15189, a complemented version of the SOP facilitating NGS analysis of mutations of KD BCR-ABL1 in patients with minor rearrangement of BCR-ABL1. This procedure is essential for patients with ALL carrying BCR-ABL1 fusion gene, where in most cases it is a fusion in the minor region.

- In the *Leukemia* journal the department published a scientific article entitled *Analysis of chronic myeloid leukemia during deep molecular response by genomic PCR: a traffic light stratification model with impact on treatment-free remission* as an output of a project pursued with the support of institutional resources of IHBT and the grant AZV 15-31540A *“Molecular detection of chronic myeloid leukemia with the help of patient-specific fusion of BCR-ABL1 gene: Impact on treatment efficiency”* in cooperation with the European EUTOS consortium.

- The results obtained in the framework of the project entitled *“Detection of mutations in BCR-ABL1 kinase domain with the help of sensitive technologies of a new generation in patients with CML and Ph+ ALL”* were presented in the form of a lecture entitled *“Major molecular response is the threshold for NGS analysis and resistant BCR-ABL1 mutation detection in CML”* and in the form of a poster titled *“Do not waste the data: A pipeline for evaluation of BCR-ABL1 kinase domain mutations using individual thresholds”* at the virtual gathering of *25th EHA Annual Congress*. The lecture has been prepared for publication in a professional journal. Other results of the project pursuit were summarized in the form of a Letter to Editor entitled *“Sensitivity and reliability of DNA-based mutation analysis by allele-specific digital PCR to follow resistant BCR-ABL1-positive cells”*, published in 2021 in the *Leukemia* journal.

- The results reached in the course of the project entitled *“Screening of frequently mutated genes in hematological diseases with disorder in the maturing of myeloid blood line in the course of hematopoiesis in patients with CML who,*

positive leukemias, který byl podán k posouzení Agentuře pro zdravotnický výzkum v ČR.

- Výsledky dosažené v průběhu řešení projektu *Epigenetické, genetické a molekulární faktory potřebné pro mutagenезi onkogenu BCR-ABL1 v průběhu léčby Ph pozitivních buněk inhibítorem tyrosinkináz* (GAČR, č. 18-18407S) byly v roce 2020 prezentovány formou posterového sdělení *Mutace zodpovědné za rezistenci buněk chronické myeloidní leukemie na léčbu jsou získávány de novo během působení imatinibu při aktivaci chybující alt NHEJ dráhy na konferenci 20. pražské hematologické dny – Post-ASH*. Výsledky tříletého řešení grantu ve spolupráci vědeckého a klinického úseku ÚHKT s pracovišti Ústav patologické fyziologie 1. LF UK a CLIP 2. LF UK a FN Motol byly shrnuty do manuskriptu vědeckého článku *Somatic mutations in oncogenes are in CML acquired de novo via deregulated base-excision repair and altNHEJ*, který je v recenzním řízení peer-review.

- V rámci projektů řešených na Oddělení molekulární genetiky vzniká též práce s názvem *Nežádoucí účinky léčby imatinibem vyvolané intracelulárními koncentracemi látek v cílových buňkách v souvislosti s membránovým transportem u pacientů s CML*. První výsledky této práce byly prezentovány jako poster na mezinárodním kongresu *22nd Annual John Goldman Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy* (European School of Hematology). Pro rok 2021 plánujeme výsledky publikovat v odborném časopise.

at the time of diagnosis, reached 18–30 years of age” were selected in 2020 for poster communications at 3 conferences: *20th Prague Hematology Days*, *22nd Annual John Goldman Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy* (European School of Hematology) and *62nd ASH Annual Meeting & Exposition*. Preliminary results offered a good basis for the draft project of the translational research entitled *“Spectrum of NGS detected somatic mutations and their association with prognosis and outcome of adolescent and young adult patients with Ph-positive leukemias”* that was filed for assessment by the Czech Health Research Council.

- The results reached in the course of the project entitled *“Epigenetic, genetic and molecular factors necessary for the mutagenesis of the BCR-ABL1 oncogene during the treatment of Ph+ cells with tyrosine kinases inhibitor”* (GAČR, reg. no. 18-18407S) were presented in 2020 in the form of poster communication entitled *“Mutations responsible for the resistance of cells of chronic myeloid leukemia to treatment are acquired de novo during the action of imatinib in the activation of erring alt NHEJ pathway”* at the conference called *20th Prague Hematology Days – Post-ASH*. The results of the three-year-long grant in cooperation of the IHBT scientific and clinical center with the Institute of Pathological Physiology of the 1st Faculty of Medicine of Charles University (Czech abbreviation LF UK) and the CLIP of the 2nd LF UK, and FN Motol were summarized in a manuscript of a scientific paper entitled *“Somatic mutations in oncogenes are in CML acquired de novo via deregulated base-excision repair and altNHEJ”*, now undergoing a peer-review.

- In the framework of projects pursued at the Department of Molecular Genetics, work is under way on *“Adverse effects of the imatinib treatment caused by intracellular concentrations of substances in target cells in relation to membrane transport in patients with CML”*. The first results of this work were presented as a poster at the international gathering of *22nd Annual John Goldman Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy* (European School of Hematology). For 2021, we plan to publish the results in a scientific journal.

Oddělení HLA

Vedoucí oddělení: Ing. Milena Vraná

Milena.Vrana@uhkt.cz, +420 221 977 430

Zástupkyně vedoucí: Mgr. Hana Čechová

Hana.Cechova@uhkt.cz, +420 221 977 380

Rok v číslech

Během pandemie covid-19 běžel po celý rok program vyhledávání dárců pro naše pacienty indikované k transplantacím krvetvorných buněk. Celkově bylo vyšetřeno na HLA **1 341** vzorků (z toho **421** vzorků pacientů před transplantací krvetvorných buněk, **415** vzorků příbuzných dárců, **256** vzorků nepříbuzných dárců ze zahraničních a českých registrů, **219** vzorků pacientů pro další indikace a **30** vzorků externí kontroly kvality), **4 162** primárních vzorků pro sledování buněčného chimerismu (z toho **238** vzorků příjemců a dárců pro vyšetření informativity a **3 924** vzorků pro potransplantační monitorování). Celkem **67** pacientů bylo testováno na přítomnost mutace v genu NPM1 a **70** pacientů v genu CEBPA. U **1 216** vzorků bylo stanoveno množství transkriptů genu WT1 a u **389** vzorků množství transkriptů mutovaného genu NPM1. Přítomnost mutace v genu HBB byla zjišťována u **100** vzorků a v genech HBA1 a HBA2 u **94** vzorků. Mutační skrínig byl proveden u **39** pacientů s MDS onemocněním.

Oddělení HLA je ve struktuře Ústavu hematologie a krevní transfuze (ÚHKT) samostatným oddělením v rámci Úseku pro vědu, výzkum a vývoj a je součástí Komplementu laboratoří ÚHKT a Národní referenční laboratoře pro DNA diagnostiku (NRL). Hlavním zaměřením oddělení HLA jsou vyšetření pacientů spojená s vyhledáváním vhodných dárců pro transplantace hematopoetických kmenových buněk a následné monitorování potransplantačního průběhu. Oddělení HLA se skládá ze dvou pracovních skupin: ze Skupiny HLA genotypizace a Skupiny pro vyšetřování buněčného chimerismu.

V roce 2020 Oddělení HLA úspěšně získalo akreditaci nejen dle platných českých norem (ČSN EN ISO 15189, ČSN EN ISO 17025), ale splnilo také požadavky dle Standards for Histocompatibility Testing of European Federation for

Department of HLA

Head: Ing. Milena Vraná

Milena.Vrana@uhkt.cz, +420 221 977 430

Deputy Head: Mgr. Hana Čechová

Hana.Cechova@uhkt.cz, +420 221 977 380

The year 2020 in numbers

Despite the COVID-19 pandemic, the whole year saw the continuation of the program of searching donors for our patients indicated for transplants of hematopoietic cells. HGLA antibody testing was performed of a total of **1,341** samples (**421** of which were samples of patients prior to transplants of hematopoietic cells, **415** samples of related donors, **256** samples of unrelated donors from foreign and Czech registries, **219** samples of patients for other indications, and **30** samples of external proficiency testing). **4,162** primary samples were designated for monitoring cell chimerism (**238** of which were samples of recipients and donors for informativity testing and **3,924** samples for post-transplant monitoring). **67** patients were tested for the presence of the mutation of the NPM1 gene and **70** patients of the CEBPA gene. The amount of the WT1 gene transcripts was determined in **1,216** samples, and the amount of the mutated NPM1 gene in **389** samples. The presence of mutation in the HBB gene was detected in **100** samples, and in HBA1 and HBA2 genes in **94** samples. Mutation screening was performed in **39** patients with MDS.

In the structure of the Institute of Hematology and Blood Transfusion (IHBT) the Department of HLA is an autonomous department in the framework of the Division for Science, Research and Development and it is a part of the IHBT Lab Complex and the National Reference Laboratory (NRL) for DNA Diagnostics. The main focus of the Department of HLA is the examination of patients related to the search of suitable donors for transplants of hematopoietic stem and the subsequent post-transplantation monitoring. The Department of HLA comprises two working groups: the Group of HLA Genotyping and the Group for the Examination of Cell Chimerism.

In 2020, the Department of HLA successfully obtained

Immunogenetics pro oblast Haematopoietic Stem Cell Transplantation, Haemopoietic Chimerism and Engraftment (HCE) Monitoring a Disease Association Studies.

V roce 2020 v rámci NRL obě pracovní skupiny opět organizovaly externí kontroly kvality: *Vazba HLA s chorobami a Kvantitativní vyšetření buněčného chimerismu*. Obě kontroly proběhly na mezinárodní úrovni a jsou zařazeny v seznamu poskytovatelů External Proficiency Testing (EPT) u European Federation for Immunogenetics a u Českého institutu pro akreditaci. *Kontroly Vazby HLA s chorobami* se ve dvou kolech zúčastnilo celkem 33 laboratoří, především z Česka, ale i z Rakouska, Slovenska, Itálie a Bosny a Hercegoviny. *Kontroly Kvantitativní vyšetření buněčného chimerismu* se zúčastnilo v řádném kole celkem 14 laboratoří (3 z Česka, 1 ze Slovenska, 2 z Polska, 1 z Maďarska, 3 z Ruska, 2 z Turecka, 1 z Řecka, 1 z Rakouska) a doplňkového kola se zúčastnily 2 tuzemské laboratoře. Počty českých a zahraničních účastníků externích kontrol kvality v posledních deseti letech jsou uvedeny v grafu.

Ve spolupráci se Sekcí imunogenetiky České společnosti alergologie a klinické imunologie byl uspořádán další pravidelný edukační workshop *Vazba HLA s chorobami*.

Přesné určení alel HLA systému a určení míry HLA shody mezi pacientem a jeho dárce je klíčovým požadavkem úspěšnosti alogenní transplantace krvetvorných buněk (HSCT – hematopoietic stem cell transplantation).

V průběhu roku 2020 bylo u pacientů a jejich dárců HSCT identifikováno pět nových alel, dvěma z nich byly v průběhu roku 2020 přiděleno mezinárodní označení a byly již publikovány v katalogu alel HLA v celosvětové databázi IMGT. Jedná se o alely HLA-B*51:329Q a HLA-C*03:544. Další z nových alel jsou v procesu zadávání.

V rámci rozšíření projektu IFP 3767-16 i nadále probíhalo testování nových možností potransplantačního monitorování buněčného chimerismu, a to jak detekce specifických non-HLA, tak i HLA markerů u pacientů po haploidentických HSCT. Haploidentický dárce sdílí jeden HLA haplotyp s pacientem (shoda minimálně 5/10). Při relapsu onemocnění může

accreditation not only according to Czech standards (CSN EN ISO 15189 and CSN EN ISO 17025), but it also met the requirements of the Standards for Histocompatibility Testing of European Federation for Immunogenetics for the areas of Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Hemopoietic Chimerism and Engraftment (HCE) Monitoring and Disease Association Studies.

In 2020, in the framework of the NRL, both working groups again organized external proficiency testing: *“Association between HLA and Diseases”* and *“Quantitative Examination of HLA Chimerism”*. Both of these quality assessments took place at the international level and are included in the list of providers of External Proficiency Testing (EPT) at the European Federation for Immunogenetics and the Czech Accreditation Institute (CAI). A total of 33 laboratories took part in the two rounds of the *“Association between HLA and Diseases”*, chiefly from the Czech Republic, as well as from Austria, Slovakia, Italy and Bosnia and Herzegovina. A total of 14 laboratories (3 from Czechia, 1 from Slovakia, 2 from Poland, 1 from Hungary, 3 from Russia, 2 from Turkey, 1 from Greece and 1 from Austria) took part in the regular round of the *“Quantitative Examination of HLA Chimerism”*, and 2 Czech laboratories took part in the complementary round. The numbers of domestic and foreign participants in external proficiency testing in the past ten years are shown in the following figure.

In cooperation with the Division of Immunogenetics of the Czech Society of Allergy and Clinical Immunology we organized another regular education workshop *“Association between HLA and Diseases”*.

The exact identification of HLA alleles of the system and the determination of the degree of HLA matching between the patient and his/her donor is a key requirement for the success for allogeneic the HSCT (hematopoietic stem cell transplantation).

In the course of 2020 we identified 5 new alleles in our patients and their HSTC donors; two of them were assigned international classification in the same period, and they were already published in the catalog of HLA alleles and identified

dojít v důsledku genetické přestavby ke ztrátě neshodného specifického HLA haplotypu pacienta, což je označováno jako HLA loss relaps. Odlišení od klasického relapsu je nutné pro správné určení následné strategie léčby (podání infúze dárcovských T-lymfocytů je u HLA-loss relapsu neefektivní, naopak důsledkem může být Graft versus Host Disease (GvHD). Pro detekci HLA-specifických markerů pomocí metody kvantitativní real-time PCR (qPCR) je využíván komerční kit, který testuje HLA lokusy A, C a DPB1. Vzhledem k většímu počtu případů nenalezení vhodného HLA markeru pro detekci HLA loss relapsu, jsme se v roce 2020 zaměřili na porovnání metod qPCR a PCR se sekvenčně specifickými primery pro genotypizaci HLA (PCR-SSP). Cílem je určit, zda je možné metodu PCR-SSP použít pro detekci HLA loss relapsu u pacientů s neinformativním markerem pro qPCR. Prozatím bylo vyšetřeno 35 nových vzorků pomocí qPCR a 107 vzorků pomocí PCR-SSP (zahrnuje i dříve analyzované vzorky pomocí qPCR). U žádného z nově testovaných vzorků nebyl detekován HLA loss relaps, jednalo se relaps klasický.

worldwide (IMGT database). They are the following alleles: HLA-B*51:329Q and HLA-C*03:544. Other new alleles are in the process of assignment.

In the framework of the extension of the IFP 3767-16 project there was a continuous testing of new possibilities of post-transplantation monitoring of cell chimerism, the detection of specific non-HLA, as well as HLA markers in patients after haploidentical HSCTs. A haploidentical donor shares one HLA haplotype with a patient (a minimum match of 5/10). In case of the disease relapse, as a consequence of genetic rearrangement, the patient's unmatched genetic haplotype can be lost and this is labelled as HLA-loss relapse. The differentiation of standard relapse is necessary for a correct determination of the subsequent treatment strategy (the administration of an infusion of donor T-lymphocytes) is inefficient in case of HLA-loss relapse, on the contrary, it can result in Graft versus Host Disease (GvHD). For detecting HLA-specific markers with the help of quantitative real-time PCR (qPCR) method, the use is made of a commercial kit for testing HLA locuses A, C and DPB1. Owing to a higher number of cases when a suitable HLA marker for detecting HLA-loss relapse failed to be found, we focused our activity in 2020 on the comparison of qPCR and PCR methods with sequentially specific primers for genotyping HLA (PCR-SSP). The goal is to determine whether the PCR-SSP method can be used for detecting HLA-loss relapse in patients with a non-informative marker for qPCR. For the time being, 35 new samples were tested with the help of qPCR and 107 samples with the help of PCR-SSP (including the samples analyzed earlier with the help of qPCR). No HLA-loss relapse was detected in any of the newly tested samples, it was standard relapse.

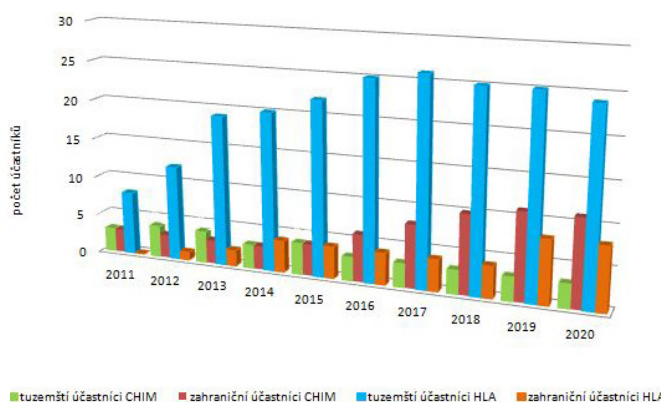
Number of Czech and foreign participants of external proficiency testing organised by HLA department



/texts in graph – Domestic participants CHIM - Domestic participants HLA - Foreign participants CHIM - Foreign participants HLA/

počty účastníků	CHIM		HLA	
	tuzemští účastníci CHIM	zahraniční účastníci CHIM	tuzemští účastníci HLA	zahraniční účastníci HLA
2011	3	3	8	0
2012	4	3	12	1
2013	4	3	19	2
2014	3	3	20	4
2015	4	4	22	4
2016	3	6	25	4
2017	3	8	26	4
2018	3	10	25	4
2019	3	11	25	8
2020	3	11	24	8

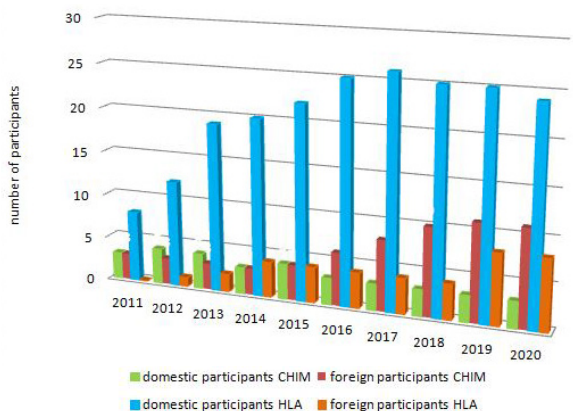
/„počty účastníků“ = Number of participants/



počty účastníků externích kontrol kvality pořádaných oddělením HLA



počty účastníků	CHIM		HLA	
	domestic participants CHIM	foreign participants CHIM	domestic participants HLA	foreign participants HLA
2011	3	3	8	0
2012	4	3	12	1
2013	4	3	19	2
2014	3	3	20	4
2015	4	4	22	4
2016	3	6	25	4
2017	3	8	26	4
2018	3	10	25	4
2019	3	11	25	8
2020	3	11	24	8



Dosažené výsledky

V roce 2020 vyšla kniha Rare Diseases, která obsahuje kapitolu Suitable Molecular Genetic Methods for the Monitoring of Cell Chimerism, jež je odbornou veřejností velmi kladně hodnocena.

The results reached

The year 2020 saw the publication titled “Rare Diseases” which includes the chapter “Suitable Molecular Genetic Methods for the Monitoring of Cell Chimerism”, evaluated very positively by professional public.

Oddělení cytogenetiky

Vedoucí: Mgr. Šárka Ransdorfová, Ph.D.

Sarka.Ransdorfova@uhkt.cz, +420 221 977 352, +420 224 96 3307

Zástupkyně vedoucí: Mgr. Marie Valeriánová, Ph.D.

Marie.Valerianova@uhkt.cz, +420 221 977 352, +420 224 96 3307

Oddělení cytogenetiky je součástí Centra nádorové cytogenomiky (CNC) ÚLBLD VFN a 1. LF UK a je umístěno v areálu Všeobecné fakultní nemocnice v pavilonu A7 v suterénu a v 1. patře.

Cytogenetické oddělení zajišťuje vyšetření chromosomů z buněk kostní dřeně a periferní krve u nemocných s krevními chorobami, jako jsou preleukemie, myelodysplastické syndromy, leukemie i lymfomy. Tato vyšetření slouží k potvrzení diagnózy, určení prognózy i ke sledování průběhu terapie a monitorování úspěšnosti léčby. Chromosomové změny jsou u výše zmíněných onemocnění identifikovány jednak metodou klasické cytogenetické analýzy konvenčního G-pruhování, jednak molekulárněcytogenetickými metodami, jako je fluorescenční in situ hybridizace (FISH), mnohobarevná FISH (mFISH), mnohobarevné pruhování s vysokou resolucí (mBAND), popř. čipovými technologiemi array CGH/SNP (ve spolupráci s VFN). FISH s centromerickými sondami slouží k identifikaci početních změn chromosomů, FISH s lokus specifickými sondami potvrzuje nálezy delecí, amplifikací, inverzí a inzercí jednotlivých chromosomových úseků i genů, mnohobarevná FISH (mFISH) a mnohobarevné pruhování (mBAND) identifikují všechny chromosomové změny v jednom hybridizačním pokusu a umožňují určení přesného rozsahu delecí/amplifikací. K vyhledávání mitos je využíván systém pro automatické vyhledávání a ukládání mitos, metafer. Analýza chromosomů a určování karyotypů se provádí pomocí mikroskopu a počítačové analýzy obrazu. Všechny patologické nálezy odhalené na základě klasické cytogenetické analýzy jsou ověřovány metodou FISH za využití fluorescenčního mikroskopu. Detailní molekulárněcytogenetická analýza genomu leukemických buněk v době stanovení diagnózy a v průběhu onemocnění nejen umožňuje detekci kryptických přestaveb, identifikaci rekurentních

Department of Cytogenetics

Head: Mgr. Šárka Ransdorfová, Ph.D.

Sarka.Ransdorfova@uhkt.cz, +420 221 977 352, +420 224 963 307

Deputy Head: Mgr. Marie Valeriánová, Ph.D.

Marie.Valerianova@uhkt.cz, +420 221 977 352, +420 224 96 3307

The Department of Cytogenetics is a joint site with the Center of Oncocytogenetics, the Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, the General University Hospital and the First Faculty of Medicine of Charles University, and it is located on the premises of the General University Hospital, pavilion A7, in the basement and on the first floor.

The department is in charge of examinations of chromosomes of bone marrow and peripheral blood cells of patients with hematological diseases, such as preleukemias, myelodysplastic syndromes, leukemias and lymphomas. These examinations serve for confirming diagnoses, determining prognoses, as well for monitoring the therapy and the treatment success rate. Chromosomal changes in the above-mentioned diseases are identified using the method of standard cytogenetic analysis of conventional G-stripping, as well as molecular cytogenetic methods, such as fluorescent in situ hybridization (FISH), multicolor FISH (mFISH), multicolor stripping with high resolution (mBAND), or chip technologies of CGH/SNP arrays (in cooperation with VFN). FISH with centromeric probes serve for identifying numerical changes of chromosomes, FISH with locus specific probes confirm the deletions, amplifications, inversions or insertions of individual chromosome sections or genes, multicolor FISH (mFISH) a multicolor stripping (mBAND) identify all chromosomal changes in one hybridization assay and allow an accurate determination of the extent of deletions/amplifications. A metaphase finder (Metafer) is used for automated scanning and saving of cytogenetic slides. Chromosomes are analyzed and karyotypes are determined using a microscope and digital image analysis. All pathological findings, detected on the basis of the classical cytogenetic analysis, are confirmed with FISH techniques and a fluorescent microscope. Detailed

zlomových míst a určení genů zahrnutých v molekulární patogenezi leukemií a preleukemií, ale přispívá i k identifikaci chromosomových oblastí a/nebo genů spjatých s progresí maligních buněk. Tyto oblasti a geny pak mohou být dále klonovány a mapovány pomocí molekulárně genetických technik. Molekulárněcytogenetické studie tak mohou v budoucnu přispět nejen k vývoji nových diagnostických metod, ale i k zavedení moderních molekulárně cílených léčebných přístupů.

Výzkumná činnost je významnou součástí práce oddělení. Při ní jsou mimo FISH technik ve spolupráci s VFN využívány i metody array CGH v kombinaci se SNP sondami. Kromě řešení vlastních projektů dochází ke spolupráci na výzkumné činnosti ostatních oddělení ústavu. Detailně se oddělení zaměřuje na analýzu komplexních přestaveb a studium zlomových míst na chromosomech s následnou identifikací genů podílejících se na vzniku a vývoji hematologických onemocnění.

Nejvýznamnější dosažené výsledky

V loňském roce se oddělení zaměřilo na vzácné a kryptické přestavby chromosomů a **identifikaci vzácných fúzních genů, které by mohly hrát významnou roli v patogenezi akutní myeloidní leukemie (AML)**. Bylo vyšetřeno 62 nově diagnostikovaných dospělých pacientů pomocí kombinace cytogenomických metod. U 12/62 pacientů (19 %) byla prokázána rekurentní translokace t(15;17)(q22;q21), t(16;16)(p13;q22) nebo inv(16)(p13.1q22). U 25/62 pacientů (40 %) byly nalezeny další chromosomové přestavby nebo komplexní karyotyp. U 3/25 nemocných (5 %) byly detekovány i vzácné kryptické translokace. Ve spolupráci s oddělením molekulární genetiky (Ing. J. Marková) byly s pomocí RT-PCR a přímého sekvenování identifikovány jednotlivé geny a jejich fúzní partnery podílející se na vzniku a rozvoji onemocnění: kryptická translokace t(5;12)(q31.1;p13) s fúzním genem ACSL6/ETV6 u nemocného (muž, 74 let) s AML M0, vzácná translokace (5;11)(q35;p15.5) s fúzním genem NSD1/NUP98 prokázána u dvou nemocných (žena, 64 let a muž, 64 let, oba AML M5b). Na základě těchto výsledků byly navrženy specifické primery a sondy tak, aby umožnily monitorovat minimální

molekulární cytogenetické analýzy genomu leukemických buněk v době, kdy je stanovena diagnóza a během onemocnění nejen umožňuje detekci kryptické reorganizace, identifikaci rekurentních zlomových míst a určení genů zahrnutých v molekulární patogenezi leukemií a preleukemií, ale také přispívá k identifikaci chromosomových oblastí a/nebo genů spjatých s progresí maligních buněk. Tyto oblasti a geny pak mohou být dále klonovány a mapovány pomocí molekulárně genetických technik. Molekulárněcytogenetické studie tak mohou v budoucnu přispět nejen k vývoji nových diagnostických metod, ale i k zavedení moderních molekulárně cílených léčebných přístupů.

An important part of our work is research activity. In this field, in cooperation with VFN, apart from FISH techniques, we also use methods of CGH arrays in combination with SNP probes. Besides our own projects, we cooperate in research activities of the other IHBT departments. Our in-depth focus is the analysis of complex rearrangements and study of breakpoints in chromosomes with subsequent identification of genes involved in the emergence and development of hemato-oncological diseases.

The most important achievements

In 2020 we focused on rare and cryptic rearrangement cases of chromosomes and the **identification of rare fusion genes that could play an important role in the pathogenesis of acute myeloid leukemia (AML)**. We examined 62 newly diagnosed adult patients with the help of a combination of cytogenomic methods. In 12/62 patients (19%) we proved recurrent translocations (15;17)(q22;q21), t(16;16)(p13;q22) or inv(16)(p13.1q22). In 25/62 patients (40%) we found other chromosomal rearrangements or a complex karyotype. In 3/25 patients (5%) we detected rare cryptic translocations. In cooperation with the Department of Molecular Genetics (Ing. J. Marková), with the help of RT-PCR and direct sequencing, we identified individual genes and their fusion partners involved in the origin and development of diseases: cryptic translocation t(5;12)(q31.1;p13) with the fusion gene ACSL6/ETV6 in a patient (male, 74 years) with AML M0, rare

zbytkové onemocnění během intenzivní antileukemické léčby. Díky kombinaci cytogenomických metod byly u pacientů s AML detekovány vzácné translokace. Následně molekulární analýzy těchto přestaveb poskytly informace důležité pro přesné monitorování průběhu terapie. Kromě toho vzhledem k vzácnému výskytu těchto aberací doplňují informace o každém novém případě všeobecné znalosti o klinickém a biologickém profilu onemocnění. Identifikace vzácných fúzních genů tak může přispět k lepšímu pochopení patogeneze AML.

Průběžné výsledky byly prezentovány na virtuální *Konferenci Evropské hematologické společnosti (European Hematology Association EHA 2020)* a na *53. výroční cytogenetické konferenci* v Olomouci.

Výzkum oddělení je zaměřen také na studium **přestaveb genu ASXL1 u nemocných s delecí 20q**. Již dříve bylo prokázáno, že nejen mutace, ale i delece genu ASXL1 jsou spojeny s nepříznivou prognózou a zhoršeným průběhem onemocnění (Březinová a kol., Neoplazma 2019). Uvedený soubor nemocných je nadále rozšiřován, v letošním roce byly analyzováno 9 pacientů se samostatnou delecí 20q, z toho u sedmi nemocných zůstal gen ASXL1 zachován, u jednoho byla prokázána úplná delece a u jednoho pacienta parciální delece genu ASXL1 – tento nález bude dále ověřen na molekulární úrovni.

V roce 2020 byla prezentována retrospektivní studie **výskytu vrozených chromosomových změn u pacientů s hematologickým onemocněním**. Konstituční chromosomové aberace jsou při cytogenetickém vyšetření pacientů s hematologickými onemocněními, s výjimkou trisomie 21, obvykle náhodným nálezem. V retrospektivní studii byly analyzovány karyotypy kostní dřeně nebo buněk periferní krve u 23 201 pacientů s myeloidními nebo lymfoidními poruchami diagnostikovanými v letech 1998 až 2019. Následně bylo ověřeno podezření na konstituční abnormality chromosomů vyšetřením lymfocytů periferní krve stimulovaných PHA. Výskyt vrozených chromosomových změn ve zkoumaném souboru pacientů s hematologickým onemocněním odpovídá četnosti jejich výskytu v populaci.

translocation (5;11)(q35;p15.5) with the fusion gene NSD1/NUP98, proved in two patients (a female, 64 years, and a male, 64 years, both AML M5b). Based on these results, specific primers and probes were designed to facilitate the monitoring of minimal residual diseases during intensive anti-leukemic treatment. Thanks to the combination of cytogenomic methods, we detected rare translocations in patients with AML. Subsequent molecular analyses of these rearrangements yielded important information for accurate monitoring of the course of therapy. Apart from that, in view of the rare occurrence of these aberrations, information about every new case complements general knowledge of clinical and biological profile of the disease. Thus, the identification of rare fusion genes can contribute to a better understanding of the pathogenesis of AML.

We presented current results at the virtual *Conference of the European Hematology Association EHA 2020* and at the *53rd Annual Cytogenetic Conference* held in Olomouc.

Our research is also focused on the study of **ASXL1 gene rearrangements in patients with 20q deletion**. Earlier we proved (Březinová et al., Neoplasma 2019) that not only mutation but also deletions of the ASXL1 gene are associated with unfavorable prognosis and worsened disease progression. We continue to extend our set of patients, in 2020 we analyzed 9 patients with separate 20q deletion, in 7 patients of which the ASXL1 gene was preserved, in one patient we proved complete deletion and in one patient partial deletion of the ASXL1 gene – this finding will be checked at the molecular level.

In 2020, we presented a retrospective study of **the occurrence of congenital chromosomal changes in patients with a hematological disease**. Constitutional chromosomal aberrations in cytogenetic examination of patients with hematological diseases usually constitute a random finding, with the exception of trisomy 21. In the retrospective study we analyzed karyotypes of bone marrow or peripheral blood cells of 23,201 patients with myeloid or lymphoid disorders diagnosed in the years 1998–2019. Then we checked our suspicion of constitutional abnormality of chromosomes by

Tyto změny zahrnují různé typy chromosomových aberací: trisomii chromosomu 21, balancované i nebalancované přestavby chromosomového materiálu a aneuploidie pohlavních chromosomů. Výsledky ve shodě s ostatními studii naznačují, že asociace hematologické malignity s vrozenou chromosomovou odchylkou se jeví jako náhodná s výjimkou akutní leukemie a konstituční trisomie 21. Během roku 2020 nepřibyl žádný nový pacient s vrozenou chromosomovou aberací. Výsledky retrospektivní studie byly prezentovány na virtuální konferenci Evropské společnosti lékařské genetiky (European Human Genetics Virtual Conference ESHG 2020) a jsou připravovány k publikování.

V uplynulém roce bylo také pokračováno ve studiu **úplných či částečných ztrát chromosomu 7** u dospělých pacientů s myelodysplastickými syndromy (MDS) a akutní myeloidní leukemií (AML). Tento rekurentní nález je velmi důležitým prognostickým ukazatelem, protože aberace jsou obvykle spojeny se špatnou odezvou na léčbu a rychlejší progresí onemocnění. V roce 2020 byl soubor dospělých pacientů s AML/MDS a aberacemi chromosomu 7, sledovaných od roku 2017, rozšířen o 25 nově diagnostikovaných nemocných. Celkem je nyní v souboru 76 pacientů. Karyotypy byly analyzovány za použití kombinace konvenčních a molekulárně-cytogenomických metod (FISH, mFISH/mBAND, array CGH/SNP). Monosomie chromosomu 7 jako samostatná aberace byla zjištěna u devíti pacientů (9/76, 12 %). Izolovaná delece 7q byla prokázána pouze v jednom případě. V 65 případech byla aberace chromosomu 7 detekována v kombinaci s jinými změnami (19/76) nebo jako součást komplexního karyotypu (46/76, 61 %). Nejčastější zlomová místa byla lokalizována v oblastech 7q22, 7q31 a 7q33–7q36. U 16 pacientů (21 %) pak byla prokázána strukturální přestavba krátkých i dlouhých ramen 7p/7q. Byla potvrzena značná heterogenita zlomových míst na dlouhém rameni chromosomu 7. Delece tumoru supresorového genu EZH2 v oblasti 7q36.1 byla zatím prokázána u 25 pacientů (33 %) a v analýze je dále pokračováno. Ztráty genetického materiálu na chromosomu 7 spolu s dalšími změnami byly spojeny se špatnou prognózou a rychlou progresí onemocnění. U pacientů s myeloidními malignitami je proto včasná detekce delecí 7p/7q důležitá pro správné

examining peripheral blood lymphocytes stimulated with PHA. The occurrence of congenital chromosomal changes in our set of patients with a hematological disease corresponds to the incidence in population. These changes include different types of chromosomal aberrations: trisomy of chromosome 21, both balanced and imbalanced rearrangements of chromosomal material and sex chromosome aneuploidies. Our results indicate, in conformity with other studies, that the association of hematological malignity with congenital chromosomal aberration appears to be accidental, with the exception acute leukemia and constitutional trisomy 21. In the course of 2020 we did not have any new patient with a congenital chromosomal aberration. We presented the results of the retrospective study at the European Human Genetics Virtual Conference ESHG 2020), and they are being prepared for publication.

In 2020, we also continued to study **complete or partial losses of chromosome 7** in adult patients with myelodysplastic syndromes (MDS) and acute myeloid leukemia (AML). This recurrent finding is a very important prognostic indicator because aberrations are usually connected with a poor response to treatment and a more rapid disease progression. In 2020, we extended the set of adult patients with AML/MDS and aberrations of chromosome 7, monitored since 2017, with 25 newly diagnosed patients. Our current set comprises a total 76 patients. We analyzed karyotypes with the use of a combination of conventional and molecularly cytogenomic methods (FISH, mFISH/mBAND, array CGH/SNP). We detected monosomy of chromosome 7 as a separate aberration in nine patients (9/76, 12%). We proved isolated deletion 7q only in one case. In 65 cases we detected aberrations of chromosome 7 in combination with other changes (19/76) or as part of complex karyotype (46/76, 61%). We localized breakpoints in the 7q22, 7q31 a 7q33–7q36 regions. Structural rearrangement of short and long arms 7p/7q was proved in 16 patients (21%). We confirmed considerable heterogeneity of breakpoints at the long arm of chromosome 7. So far we proved the deletion of tumor suppressor EZH2 gene in the region 7q36.1 in 25 patients (33%), and we continue our analysis. Losses of genetic material in chromosome 7 together with other changes were

vyhodnocení prognostického rizika nemocných a výběr odpovídající léčby. Výsledky byly shrnuty na 53. výroční cytogenetické konferenci v Olomouci.

Oddělení je spoluautory práce, která se zabývá **kryptickými abercemi u pacientů s MDS** (Svobodova a kol., Genes Chromosomes and Cancer, 2020). Využití molekulárně-cytogenetických metod dovoluje přesnější prognózu i subklasifikaci nemocných a může být zásadní při rozhodování o léčbě.

Cytogenomické výsledky se podílely na práci u AML pacientů zabývajících se zvýšenou expresí genu WT1 jako negativního prognostického faktoru přežití (Šálek a kol., Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2020). WT1 zůstává cenným molekulárním markerem v AML bez jakékoli mutace specifické pro leukemii, zvláště pokud rutinně není k dispozici sekvenování příští generace a/nebo digitální polymerázová řetězová reakce.

Oddělení biochemie

Vedoucí oddělení: prof. Ing. Jan. E. Dyr, DrSc.

Zástupce vedoucího: Ing. Jiří Suttnar, CSc.

Jiri.Suttnar@uhkt.cz, +420 221 977 344

Oddělení biochemie se zabývá změnami ve složení a funkci nízkomolekulárních i vysokomolekulárních složek krevní plazmy, ke kterým dochází u onkohematologických onemocnění, u poruch hemostázy a trombózy včetně kardiovaskulárních onemocnění. Jsou sledovány vztahy mezi jednotlivými složkami koagulační kaskády, od sledování aktivit serinových proteáz podílejících se na vzniku fibrinové sítě a struktury vzniklé sítě až po fibrinolýzu. Jsou zjišťovány získané i dědičné mutace fibrinogenu a je hledán vztah mezi změněnou strukturou a jeho vlastnostmi. Metodicky je využíváno nových přístupů v podobě spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) pro metabolomiku a proteomiku, dále 3D zobrazení, sledování

related to a poor prognosis and a rapid disease progression. Therefore, timely detection of deletions of 7p/7q is very important in patients with myeloid malignities for a correct evaluation of their prognostic risk and the selection of adequate treatment. The results were summarized at the 53rd Annual Cytogenetic Conference held in Olomouc.

We are coauthors of a paper (Svobodova et al., Genes Chromosomes and Cancer, 2020) dealing with **cryptic aberrations in patients with MDS**. The use of molecular cytogenetic methods facilitates a more accurate prognosis and sub-classification of patients and can be essential in making decisions about treatment.

Our cytogenomic results were instrumental in a paper (Šálek et al., Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2020) in AML patients dealing with increased expression of the WT1 gene as a negative survival prognostic factor. WT1 remains a valuable molecular marker in AML without any mutation specific for leukemia, especially when next generation sequencing and/or digital polymerase chain reaction is unavailable.

Department of Biochemistry

Head: prof. Ing. Jan. E. Dyr, DrSc.

Deputy Head: Ing. Jiří Suttnar, CSc.

Jiri.Suttnar@uhkt.cz, +420 221 977 344

The Department of Biochemistry deals with changes in the composition and function of blood plasma components that occur in oncohematological diseases, hemostasis disorders and thrombosis, including cardiovascular diseases. We monitor relations between individual components of the coagulation cascade, from the monitoring of activities of serine proteases involved in the formation of fibrin network, the structure of the formed network, up to fibrinolysis. We investigate both acquired and hereditary mutations of fibrinogen and look for a relation between the changed structure and its properties. We make a systematic use of new approaches in the form of linking liquid chromatography with mass spectrometry (LC-MS) for metabolomics and proteomics, as well as 3D imaging, monitoring interactions in

interakcí v reálném čase a teoretické metody strukturní biologie, jako je molekulární modelování a molekulární dynamika. Cílem práce je objasnění fyziologických a patofyziologických pochodů u vybraných chorob a dále využití poznatků v diagnostice či v monitorování léčby.

Nejvýznamnější dosažené výsledky

V rámci projektu GA ČR *Plasmonické biosensory pro studium biomolekulárních interakcí* byli na základě experimentů SPR-LC/MS s proteinovým čipem funkcionalizovaným proteiny souvisejícími s MDS vybráni dva noví kandidáti: suprabasin a annexin A2. Suprabasin byl nedávno publikován jako vhodný biomarker pro MDS s vysokým rizikem progresu. Annexin A2 je spojen s karcinogenezí a jeho vyšší hladina odpovídá horší prognóze onemocnění. Z experimentů SPR-LC/MS s čipem funkcionalizovaným proteinovými frakcemi byl vybrán další kandidát: serpin B3, který se podílí na modulaci protinádorové imunitní odpovědi.

Protein interakce u MDS pacientů byl dále studován pomocí proteinových čipů pro SPR, na kterých bylo imobilizováno celkem deset lektinů s různou selektivitou. Lektiny jsou proteiny, které dokáží s vysokou mírou specifity rozpoznávat a vázat cukry (glykoproteiny, glykolipidy), jejichž strukturní změny v glykanových částech molekul se zdají být typické pro různé typy rakoviny. Pomocí deseti lektinů bylo možné odlišit MDS pacienty s nízkým rizikem od kontrol i od pacientů s AML.

Byl vypracován rychlý a šetrný „in-house“ imunodepleční protokol pro odstranění 14 nejzastoupenějších proteinů ze vzorku krevní plazmy. Pomocí Hsp70 trap metody rozšířené o 4 subcelulární chaperony, vychytávající pouze poškozené proteiny přítomné v depletované plazmě, jsme našli signifikantní rozdíl mezi MDS pacienty s nízkým a vysokým rizikem progresu. Mezi nesprávně složenými proteiny zachycenými endoplazmatickým chaperonem v plazmě nízkorizikového pacienta bylo identifikováno 8 chaperonů a 34 proteinů z endoplazmatického retikula souvisejících s ubiquitinem a proteázovým systémem. Dále jsme identifikovali ASC protein, jehož agregovaná forma byla v roce 2018 nalezena jako marker medulární pyroptotické

real time and theoretical methods of structural biology, such as molecular modelling and molecular dynamics. The goal of our work is to explain physiological and pathophysiological processes in selected diseases, as well as to make use of our findings in diagnostics or treatment monitoring.

The most important achievements

In the framework of the project of the Czech Science Foundation (Czech abbreviation GA ČR) "*Plasmonic biosensors for the study of biomolecular interactions*", on the basis of SPR-LC/MS experiments with protein chip functionalized with proteins related to MDS, we selected two new candidates: suprabasin and annexin A2. Suprabasin has been recently published as a suitable biomarker for MDS with high risk of progression. Annexin A2 is associated with carcinogenesis and its higher level corresponds to a worse disease prognosis. From SPR-LC/MS experiments with the chip functionalized with protein fractions we chose another candidate: serpin B3, involved in the modulation of anti-tumor immunity response.

Protein-protein interactions in MDS patients continued to be studied with the help of protein chips for SPR, in which a total of ten lectins with varying selectivity were immobilized. Lectins are proteins that, thanks to a high degree of specificity, can recognize and bind saccharides (glycoproteins, glycolipids) where structural changes in glycan parts of molecules seem to be typical for different types of cancer. With the help of ten lectins it was possible to distinguish MDS patients with low risk from checks and from patients with AML.

A rapid and careful "in-house" immunodepletion protocol was drawn up for eliminating 14 most represented proteins in a sample of blood plasma. With the help of the Hsp70 trap method extended with 4 subcellular chaperones catching only damaged proteins present in depleted plasma, we found a significant difference between MDS patients with low and high progression risk. Among wrongly composed proteins captured by the endoplasmic chaperone in the plasma of a low risk patient, we identified 8 chaperones and 34 proteins from endoplasmic reticulum associated with ubiquitin

buněčné smrti u pacientů s nízkým rizikem MDS, 3 mRNA splicing faktory, 9 alarminů S100A rodiny podporující zánětlivé mikroprostředí u MDS a 2 proteinové markery z našich dřívějších MDS studií. Takto odhalené poškozené proteiny by mohly tvořit specifický proteinový podpis jednotlivých podskupin MDS.

V letošním roce bylo nalezeno dalších 11 pacientů, u kterých byly identifikovány vrozené mutace ve fibrinogenu (3 jsou nově objevené: 2 heterozygotní mutace B β Ala68Cys a B β Tyr403Stop, 1 homozygotní B β Tyr355Cys), a byly vyšetřeny jejich plazmy pomocí specializovaných metod. Ve spolupráci s Národním centrem pro hemostázu a trombózu v Martině (SR) bylo provedeno funkční a morfologické vyšetření dalších 20 pacientů s vrozenou poruchou fibrinogenu. Výsledkem spolupráce byla publikace Simurda, T., Vilar, R., Zolkova, J., Ceznerova, E. et al. A Novel Nonsense Mutation in FGB (c. 1421G > A; p.Trp474Ter) in the Beta Chain of Fibrinogen Causing Hypofibrinogenemia with Bleeding Phenotype. *Biomedicines* 2020, 8, 605.

V časopisu PLOS One byl publikován článek studující metodou molekulárně-dynamických simulací vliv posttranslačních modifikací na strukturu fibrinogenu (Sovová, Ž., Štikarová, J., Kaufmanová, J. et al. Impact of posttranslational modifications on atomistic structure of fibrinogen. *PLOS One*, 2020 Jan 29;15(1):e0227543). Článek též upozorňuje na možný strukturní a patrně i funkční význam neuspořádané oblasti v coiled-coil doméně γ -řetězce fibrinogenu. Nadále je pokračováno ve studiu této oblasti charakteristikou vlivu dalších posttranslačních modifikací na její strukturu a porovnáváním chování lidské coiled-coil domény s jejími savčími homology.

U pacientů vyšetřovaných na kardiologickém oddělení ÚVN Praha byl sledován vliv různých kardiovaskulárních onemocnění (akutní koronární syndrom, cévní mozková příhoda, nález v karotidách a kontroly) na strukturu fibrinové sítě. V plazmě všech skupin pacientů byla ve srovnání s kontrolami nalezena signifikantně zvýšená koncentrace markeru oxidačního stresu malondialdehydu (MDA). Signifikanční rozdíly mezi pacienty a kontrolami byly zjištěny

and protease system. Furthermore, we identified the ASC protein, the aggregate form of which was found in 2018 as a marker of medullary pyroptotic cell death in patients with a low risk of MDS, 3 mRNA splicing factors, 9 alarmins of the S100A family supporting inflammatory microenvironment in MDS and 2 protein markers from our earlier MDS studies. Damaged proteins discovered in this manner could form a specific protein signature of individual MDS subgroups.

In 2020, 11 more patients were found in whom congenital mutations in fibrinogen were identified (3 are newly discovered – 2 heterozygot mutations B β Ala68Cys and B β Tyr403Stop, 1 homozygot B β Tyr355Cys) and their plasma was examined with the help of specialized methods. In cooperation with the National Center for Hemostasis and Thrombosis in Martin (SR), functional and morphological examination was carried in other 20 patients with congenital fibrinogen disorder. The result of our cooperation was the following publication: Simurda, T.; Vilar, R.; Zolkova, J.; Ceznerova, et al. A Novel Nonsense Mutation in FGB (c.1421G>A; p.Trp474Ter) in the Beta Chain of Fibrinogen Causing Hypofibrinogenemia with Bleeding Phenotype. *Biomedicines* 2020, 8, 605.

In the PlosOne journal we published an article studying, with the help of the methods of molecular dynamic simulations, the influence of post-translational modifications on the fibrinogen structure (Sovová Ž, Štikarová J, Kaufmanová J, et al. Impact of post-translational modifications on atomistic structure of fibrinogen. *PLoS One*. 2020 Jan 29;15(1):e0227543). The article also points out a possible structural and perhaps also functional importance of the non-arranged region in the coiled-coil domain of fibrinogen γ -chain. We continue to study this area by characterizing the impact of other posttranslational modifications on its structure, and comparing the behaviour of human coiled-coil domain to its mammalian homologs.

Patients examined at the Department of Cardiology of the Central Military Hospital (Czech abbreviation ÚVN) were monitored for the influence of different cardiovascular diseases (acute coronary syndrome, vascular brain stroke,

i u konečné optické hustoty, u doby lýzy fibrinového klotu a u počtu vláken a jejich průměru ve fibrinové síti, které mohou souviset s oxidativní modifikací fibrinogenu.

Bylo pokračováno ve stanovení D-dimerů a aktivity jimi vázaného trombinu. Prozatím bylo analyzováno celkově 400 vzorků (100 pacientů a 300 kontrol). Analýzou patientského souboru bylo zjištěno, že přítomnost aktivního vázaného trombinu je u diagnóz spojených se vznikem/uvolněním trombu (např. hluboká žilní trombóza, plicní embólie, infarkt myokardu, trombopatie) detekována v 60 % případů. V případě hlavních diagnóz mimo výše uvedené (např. onkohematologické, pneumonie, komplikace s diabetes mellitus) je přítomnost aktivního trombinu vázaného na D-dimery spojena s těžším průběhem onemocnění, popř. smrtí. U kontrolní skupiny byl aktivní trombin vázaný na D-dimerech detekován v méně než 5 % případů. Tento přístup by mohl usnadnit výběr pacientů, kterým hrozí riziko trombotických komplikací, nebo být použit pro sledování účinnosti antikoagulační léčby např. u covidu19. Výsledky byly prezentovány na konferenci *ISTH 2020 Active thrombin and its value: New approach to diagnosis of thrombosis?*

Profilováním změn proteinů plazmy u vybraných pacientů s MDS byly identifikovány potenciální kandidáti na plazmatické markery. Dalším cílem bylo porovnání individuálních proteomických změn u jednotlivých pacientů v průběhu progresu onemocnění se změnami zmapovanými u celých podskupin pacientů. Celkem bylo identifikováno 50 proteinů vykazujících změny. Pouze několik proteinů vykazovalo změny u většiny pacientů. Většina změn probíhala v malých podskupinách pacientů, tyto skupiny se navíc mezi sebou výrazně lišily. Výsledky práce byly přijaty k publikaci v časopise *JBUON* pod názvem *Proteomic case studies of MDS in progression: Heterogeneity and more heterogeneity.*

Byly sledovány změny v proteomu exosomů izolovaných z krve pacientů s MDS (porovnání nízké a vysoce rizikových skupin). Vzorky byly analyzovány pomocí 2D SDS-PAGE a data byla vyhodnocena statistickým programem. Proteiny vykazující změny byly identifikovány, celkem bylo identifikováno 72 různých proteinů. Dále byly sledovány

finding in carotid arteries and checks) on the fibrin network structure. A significantly increased concentration of the marker of the oxidation stress of malondialdehyd (MDA) was found in the plasma of all groups of patients compared with checks. Significant differences between patients and checks were detected also in final optical density, in the time of fibrin clot lysis and in the number of fibers and their diameter in the fibrin network that can be related to the fibrinogen oxidative modification.

We continued to determine D-dimers and the activity of thrombin bound by them. Up to now, we analyzed a total of 400 samples (100 patients and 300 checks). The analysis of the patient set showed that the presence of actively bound thrombin in diagnoses associated to the formation /release of a thrombus (e .g. deep venous thrombosis, pulmonary embolism, myocardial infarction, thrombopathy) was detected in 60% of cases. In case of main diagnoses, except those mentioned above (e. g. oncohematological, pneumonia, complications with diabetes mellitus,) the presence of active thrombin bound to D-dimers is associated with a a more serious course of the disease, or with death. In the control group, the active thrombin bound to D-dimers was detected in less than 5% of cases. This approach could facilitate the selection of patients who run the risk of thrombotic complications, or could be used for monitoring the efficiency of anticoagulation treatment, for instance in case of COVID-19. The results were presented at the *ISTH 2020 conference: "Active thrombin and its value: New approach to diagnosis of thrombosis?"*

The profiling of changes in plasma proteins in selected patients with MDS identified potential candidates for plasma markers. Another goal was the comparison of individual proteomic changes in individual patients in the course of the disease progression to changes mapped in entire subgroups of patients. A total of 50 proteins showing changes were identified. Only several proteins showed changes in most patients. A majority of changes occurred in small subgroups of patients; moreover, these subgroups widely differed one from another. The results of our work were accepted for publication in the *JBUON* journal under

posttranslační modifikace u těchto proteinů a pomocí CID i ETD fragmentace byly nalezeny především oxidativní modifikace. Kvantifikovány byly jednotlivé proteoformy clusterinu, který vykazoval rozdílnou distribuci změn v exosomech a plazmě. Výsledky byly zpracovány do publikace a odeslány do časopisu.

U pacientů s AML byla zjišťována míra oxidačního stresu (OS) během předtransplantační přípravy. Pro posouzení rozsahu OS byl použit marker lipoperoxidace MDA, měřený pomocí LC-MS/MS. Bylo zjištěno, že OS po předtransplantační přípravě byl signifikantně vyšší vzhledem k počátečnímu stavu (AML pacienti v remisi). Ve skupině pacientů s AML a MDS, kde byl pro předtransplantační přípravu použit busulfan, byla nalezena zvýšená koncentrace MDA. Současně bylo naměřeno signifikantní zvýšení dalšího markeru OS, kterým je poměr koncentrace allantoinu a kyseliny močové.

Změny koncentrací metabolitů citrátového cyklu, glykolýzy a onkometabolitu R-2-hydroxyglutarátu (R2-HG) byly měřeny ve spolupráci s dr. Beličkovou u pacientů s MDS and AML léčených azacitidinem, u kterých docházelo k signifikantním změnám v koncentracích citrátu, alfa-ketoglutarátu, sukcinátu, fumarátu, malátu, R-2-HG a laktátu. Výsledky společné práce byly zpracovány do publikace a odeslány do časopisu.

Ve spolupráci s oddělením molekulární genetiky ÚHKT byla pro sledování nežádoucích účinků léčby imatinibem vyvinuta metoda pro kvantitativní stanovení karnitinu a acetylkarnitinu včetně izotopicky značených forem.

V rámci spolupráce oddělení biochemie s ÚVN Praha byly zkoumány kvantitativní změny 12 metabolitů tryptofanu, zánětlivého markeru neopterinu a markeru oxidačního stresu MDA u pacientů s neurovaskulárními chorobami. Bylo zjištěno, že oxidační stres byl významně vyšší u pacientů s akutní ischemickou příhodou (AIS) ve srovnání s pacienty se signifikantní stenózou karotid (SCAS) a že metabolismus tryptofanu byl významněji deregulován u pacientů s AIS ve srovnání s pacienty se SCAS. Výsledkem spolupráce byla publikace Hajsí, M., Hlavackova, A., Broulikova, K., Sramek, M., Maly, M., Dyr, J. E., Suttner, J. Tryptophan Metabolism,

the title of *“Proteomic case studies of MDS in progression: Heterogeneity and more heterogeneity”*.

Changes were monitored in the proteome of exosomes isolated from blood of patients with MDS (comparison of low-risk and high-risk groups). Samples were analyzed with the help of 2D SDS-PAGE and data evaluated with statistical software. Proteins showing changes were examined and a total of 72 different proteins were identified. Moreover, post-translational modifications were monitored in these proteins and, with the help of both CID and ETD fragmentation, mainly oxidative modifications were found. Individual proteoforms of clusterin were quantified which showed different distribution of changes in exosomes and plasma. The results were compiled in a publication and sent to a journal.

In patients with AML we investigated the degree of oxidation stress (OS) in pre-transplantation period. For assessing the extent of OS we used a lipid peroxidation marker of MDA measured with the help of LC-MS/MS. We found out that OS after pre-transplantation preparation was significantly higher with regard to the initial condition (AML patients in remission). In the group of patients with AML and MDS, where busulfan was used for the pre-transplantation preparation, we found an increased concentration of MDA. At the same time, we measured a significant increase of another OS marker which is the ratio of concentration of allantoin and uric acid.

Changes in concentrations of metabolites of the citrate cycle, glycolysis and oncometabolite R-2-hydroxyglutarate (R-2-HG) were measured in cooperation with Dr. Beličková in patients with MDS and AML treated with azacitidine, in whom there were significant changes in the concentrations of citrate, alpha-ketoglutarate, succinate, fumarate, malate, R-2-HG and lactate. The results of joint work were compiled in a publication and sent to a journal.

In cooperation with the Department of Molecular Genetics of IHBT, for monitoring adverse effects of the treatment with imatinib, we developed a method for quantitative determination of carnitine, including isotopically tagged

Inflammation, and Oxidative Stress in Patients with Neurovascular Disease. *Metabolites*, 2020 May 19;10(5):208.

Oddělení imunologie

Vedoucí: RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

Sarka.Nemeckova@uhkt.cz, +420 221 977 269

Zástupkyně vedoucí: RNDr. Jana Macková, Ph.D.

Jana.Mackova@uhkt.cz, +420 221 977 364

Hlavními směry činnosti oddělení jsou studium imunologických a epidemiologických aspektů hematologických i nehematologických malignit a vývoj moderních imunoterapeutických postupů pro léčbu pacientů. Součástí oddělení je Národní referenční laboratoř pro papillomaviry a polyomaviry (HPV, HPyV).

Nejvýznamnější dosažené výsledky

Pracovníci skupiny, vedené RNDr. Šárkou Němečkovou, DrSc., studovali buněčnou imunitu proti virům ohrožujícím pacienty po transplantaci kmenových hematopoetických buněk (např. BKV), vlastnosti imunitního systému pacientů s hematologickými malignitami léčených transplantací krvetvorných buněk a zaváděli postupy pro imunizaci in vitro.

- Na souboru 153 pacientů léčených transplantací krvetvorných buněk a 120 jejich dárců byl studován vliv

forms.

In the framework of cooperation of our department with the Central Military Hospital (Czech abbreviation ÚVN) Prague, we investigated quantitative changes of twelve metabolites of tryptophan, inflammatory marker of neopterin and oxidative stress marker of MDA in patients with neurovascular diseases. We found out that oxidative stress was significantly higher in patients with acute ischemic stroke (AIS) compared to patients with significant symptomatic carotid artery stenosis (SCAS) and that metabolism of tryptophan was more notably deregulated in patients with AIS compared to patients with SCAS. The result of our cooperation was the following publication: Hajsl M, Hlavackova A, Broulikova K, Sramek M, Maly M, Dyr JE, Suttnar J. Tryptophan Metabolism, Inflammation, and Oxidative Stress in Patients with Neurovascular Disease. *Metabolites*. 2020 May 19;10(5):208.

Department of Immunology

Head: RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

Sarka.Nemeckova@uhkt.cz, +420 221 977 269

Deputy Head: RNDr. Jana Macková, PhD.

Jana.Mackova@uhkt.cz, +420 221 977 364

The main directions of the activity of the Department of Immunology are: study of immunological and epidemiological aspects of both hematological and non-hematological malignancies, and the development of modern immunotherapeutic methods for the treatment of patients. Our department comprises the National Reference Laboratory for Papillomaviruses and Polyomaviruses (HPV, HPyV).

The most important achievements

Members of the group led by RNDr. Šárka Němečková DrSc. studied cellular immunity against viruses posing a threat to patients after transplantation of hematopoietic stem cells (e. g. BKV), properties of the immune system of patients with hematological malignities treated through transplantation of hematopoietic cells, and introduced methods for in vitro immunization.

protilátkové a buněčné imunity specifické pro lidské polyomaviry BKV1, 2 a 4 a JCV na výskyt virové hemorhagické cystitidy (HC) v prvním roce po transplantaci. Analýza ukázala, že velmi vysoké hladiny protilátek proti BKV u pacientů před transplantací mají ochranný efekt, zatímco pacienti, kteří měli menší množství protilátek, chránění nebyli. Ochranný efekt měly také vysoce pozitivní odpovědi T buněk před transplantací. Imunita dárců žádný vliv neměla. Bylo ukázáno, že měření BKV specifických protilátek před transplantací by umožnilo najít pacienty se sníženým rizikem HC.

- Byla zavedena metodika a zahájena dlouhodobá klinická studie, jejímž cílem je popsat vztah průběhu rekonstituce imunitního systému a klinického stavu během rekonvalescence pacienta. Vzorky ve spolupráci s oddělením imunomonitoringu a průtokové cytometrie jsou průběžně analyzovány pomocí průtokové cytometrie (29 markerů), je stanovena nespecifická i specifická buněčná odpověď proti antigenům asociovaných s leukemickými buňkami (LAA) a jsou monitorovány některé solubilní markery v plazmě ve vztahu k predikci GvHD. Výsledky jsou postupně analyzovány.

- Výrobní dokumentace postupu přípravy MVST zaměřené proti antigenům pp65 lidského cytomegaloviru a VP1 a LTag lidského polyomaviru BK byla předána oddělení imunoterapie pro výrobu v čistých prostorách za podmínek správné výrobní praxe (SVP).

- Byla provedena validace zkoušky účinnosti MVST pomocí interferon γ -release testu a připravena příslušná dokumentace ke zkoušení MVST v Laboratoři funkčních testů.

- V souvislosti s výrobou antivirových T buněk pro imunoterapii byla studována úloha antigenní kompetice, jež vede ke snížení výtěžků specifických T buněk. Tento efekt byl popsán v publikaci uveřejněné v časopisu Immunology Letters.

- Byl zaveden systém pro stimulaci T-lymfocytů in vitro, kde bylo jako antigen prezentující buňky (APC) místo dendritických buněk (DC) využito netříděné rozmrazené PBMC. Bylo ukázáno, že odpověď T buněk je možné zvýšit

- We studied a set of 153 patients treated through transplantation of hematopoietic stem cells and 120 their donors for the influence of antibody and cellular immunity specific for human polyomaviruses BKV1, 2 and 4, and JCV for the occurrence of virus hemorrhagic cystitis (HC) in the first year after transplantation. Our analysis showed that very high levels of antibodies against BKV in patients prior to transplantation have a protective effect, while patients who had fewer antibodies were not protected. Highly positive responses of T cells prior to transplantation also had protective effect. The immunity of donors had no impact. We showed that measuring BKV specific antibodies prior to transplantation could make it possible to find patients with reduced HC risk.

- We introduced a methodology and started a long-term clinical study aimed at describing the relationship between the course of the immune system reconstruction and clinical condition during the patient's convalescence. In cooperation with the Department of Immunomonitoring and Flow Cytometry, we have been continuously analyzing samples with the help of flow cytometry (29 markers), non-specific and specific cell response to antigens associated with leukemic cells (LAA), and monitoring some markers soluble in plasma in relation to the prediction of GvHD. We have been gradually analyzing our results.

- We handed over the production documentation of the preparation of MVSTs aimed against pp 65 antigens of human cytomegalovirus and VP1 and LTag of BK human polyomavirus to the Department of Immunotherapy for the production in clean premises under the conditions of good manufacturing practice (GMP).

- We validated the test of efficiency of MVSTs with the help of the interferon γ - release test, and prepared the relevant documentation for testing MVSTs in the Laboratory of Functional Tests.

- In relation to the production of antiviral T cells for immunotherapy we studied the role of antigen competition which leads to a decrease of yields of specific T cells. We described this effect in the publication issued in the

vnesením IVTmRNA pro kostimulační molekuly (OX40L, 41BBL, CD40CD70), ovšem ve vyšší koncentraci než u DC. Při optimalizaci postupu byla ukázáno, že elektroporace APC zvyšuje jejich imunostimulační aktivitu. Tento systém byl optimalizován s virovým antigenem pp65 pro dlouhodobou kultivaci T buněk. Po čtyřiceti dnech byly získány vysoké výtěžky specifických T lymfocytů s převahou populace CD8+.

Národní referenční laboratoř pro papillomaviry a polyomaviry, která byla do konce roku 2020 součástí Oddělení imunologie, pracující pod vedením RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D., provádí klinickou diagnostiku infekcí těmito viry v akreditovaném režimu dle ISO 15 189.

- V tomto roce bylo prováděno vyšetřování na přítomnost lidských papillomavirů a polyomavirů a na protilátky proti papillomavirům. V rámci EHK byly připraveny vzorky pro 45 laboratoří a bylo absolvováno mezinárodní srovnání kvality pro HPV a polyomaviry (EHEQAS HPV Kypr, INSTAND 2020 HPV, INSTAND 2020 BKV a JCV qPCR). Pro studii prováděnou ve spolupráci s firmou Genomic Vision z Francie na vývoj nového diagnostického systému pro detekci virových genomů integrovaných do hostitelské DNA bylo vyšetřeno 22 vzorků dodaných z opakovaných odběrů. V rámci projektu TAČR GAMA byl dokončen náběr vzorků a jejich vyšetření pro projekt Infekce u léčby vybraných chronických imunologických zánětlivých onemocnění, na které probíhá spolupráce s Dermatovenerologickou klinikou 2. LF UK a Nemocnicí Na Bulovce.

- Laboratoř se v letošním roce zapojila do testování SARS-CoV-2 pro pacienty a zaměstnance UHKT. Při zahájení testování, kdy byl nedostatek komerčních kitů, byla zavedena „in house“ RT PCR metoda, která byla validována, a bylo získáno povolení SZÚ k provádění detekce tohoto viru. Později došlo k adaptaci této metody na vyšetřování většího počtu vzorků. Od března do prosince 2020 bylo vyšetřeno 1 140 vzorků. Laboratoř prošla dvakrát úspěšně externím hodnocením kvality pro mikrobiologické laboratoře pro molekulárně-biologickou detekci SARSCoV2 (ICOVEQAS Kypr, SZÚ Praha).

Immunology Letters journal.

- We introduced a system for in vitro stimulation of T-lymphocytes where, as the antigen presenting cells (APC) we used unclassified unfrozen PBMCs instead of dendritic cells (DCs). We showed that the response of T cells can be enhanced by the introduction of IVTmRNA in the constitution molecule (OX40L, 41BBL, CD40CD70), but in a higher concentration than in DCs. In optimizing the method, we showed that electroporation of APCs increases their immunostimulating activity. We optimized this system with pp65 virus antigen for long-term cultivation of T cells. After 40 days we obtained high yields of specific T lymphocytes with a prevailing population of CD8+.

The **National Reference Laboratory for Papillomaviruses and Polyomaviruses**, which was part of the Department of Immunology until the end of 2020, headed by RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D., performs clinical diagnostics of infection with these viruses in an accredited regimen according to ISO 15 189.

- In 2020, we tested the presence of human papillomaviruses and polyomaviruses and antigens against papillomaviruses. In the framework of EQA we prepared samples for 45 laboratories and underwent international quality comparison for HPV and polyomaviruses (EHEQAS HPV Cyprus, INSTAND 2020 HPV, INSTAND 2020 BKV and JCV qPCR). For a study pursued in cooperation with the Genomic Vision company from France in the development of a new diagnostic system for detecting virus genomes integrated in the host DNA, we examined 22 samples supplied from repeated collections. In the framework of the TAČR GAMA project we completed the gathering of samples and their examination for the project “Infection in the treatment of selected chronic immunological inflammatory diseases” in which we cooperate with the Dermatovenerological Clinic of the 2nd Faculty of Medicine of Charles University and the Hospital Na Bulovce.

- In 2020, our laboratory took part in SARS-CoV-2 testing for patients and employees of IHBT. At the beginning of testing,

- Na začátku epidemie byla provedena srovnávací studie různých diagnostických ELISA souprav pro testování protilátek proti SARS-CoV-2. K dispozici byly IVD soupravy firem EUROIMMUN (EI), EPITOPE Diagnostics (ED) a Dia. Pro (DP). Analýzou souboru 83 vzorků sér od pacientů s onemocněním covid-19 a dárců krve po prodělaném onemocnění, potvrzeném testem na přítomnost virové RNA nebo s příznaky této nemoci bez molekulárně-biologické konfirmace, bylo zjištěno, že tvorba IgG protilátek proti S1 antigenu je doprovázena tvorbou IgG protilátek proti nukleoproteinu. Na základě výsledků srovnávací studie bylo rozhodnuto pro další testování používat IVD firmy EI pro detekci IgG a IgA protilátek na bázi S1 proteinu.

- Od května do konce roku bylo vyšetřeno 448 vzorků sér od pacientů s onemocněním covid-19 a dárců krve po prodělaném onemocnění, z toho 232 vzorků odebraných před odběrem rekonvalescentní plazmy. Pozitivní výsledky ELISA testů u 188 z nich byly srovnávány s výsledky titrů virus-neutralizačních protilátek (VNP) stanovených v Centru biologické ochrany v Těchoníně. Na základě těchto výsledků se dospělo ke stanovisku, že rekonvalescentní plazmy s optickou densitou v testu EI IgG vyšší než 1 obsahují dostatečné množství VNP pro použití při léčbě závažných projevů covid-19.

Tituly

Titul Bc. – Ing. Jana Kvirencová, obor zdravotní laborant, Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT, Kladno (červen 2020)

when there was a lack of commercial kits, we introduced an in house RT PCR method which we validated and acquired a license of the State Health Institute (Czech abbreviation SZÚ) for detecting this virus. Later we adapted the method to the examination of a larger number of samples. From March to December 2020 we tested 1,140 samples. The laboratory underwent two successful external quality assessments of microbiological laboratories for molecular biological detection of SARS-CoV-2 (ICOVEQAS Cyprus, SZÚ Prague).

- At the beginning of the epidemic, we made a comparison study of different diagnostic ELISA kits for testing antibodies against SARS-CoV-2. We IVD kits the EUROIMMUN (EI), EPITOPE Diagnostics (ED) and Dia.Pro (DP) companies at our disposal. By analyzing a set of 83 samples of sera from patients with the COVID-19 disease and blood donors after the suffered disease, the confirmed test for the presence of viral RNA or symptoms of this disease without molecular biological confirmation, we found out that the formation of IgG antibodies against S1 antigen is accompanied by the formation of IgG antibodies against nucleoprotein. On the basis of the results of the comparative study, we decided that in a further testing we would use IVD of the EI company for the detection of IgG and IgA antibodies based on the S1 protein.

- From May to the end of the year we tested 448 samples of sera from patients with the COVID-19 disease and blood donors after the suffered disease, 232 of which were samples collected prior to the collection of convalescent plasma. We compared the positive results of the ELISA tests in 188 of them with the results of titres of virus-neutralization antibodies (VNAs) defined at the Biological Defense Center in Těchonín. On the basis of these results, we reached the view that convalescent plasma with the optical density in the EI IgG test higher than 1 contain sufficient quantity of VNP to be used in treating serious symptoms of COVID-19.

Degrees

Bc. degree - Ing. Jana Kvirencová, specialization: medical laboratory technician, Faculty of Biomedical Engineering CVUT, Kladno (June 2020)

Oddělení proteomiky

Vedoucí: RNDr. Kateřina Kuželová, Ph.D.

Kuzelova@uhkt.cz, +420 221 977 285

Zástupkyně vedoucí: Mgr. Barbora Brodská, Ph.D.

Brodská@uhkt.cz, +420 221 977 354

V Oddělení proteomiky probíhá základní i aplikovaný výzkum zaměřený zejména na analýzu proteinů a funkční testy v modelových buněčných systémech. Mezi běžně používané techniky patří gelová elektroforéza, western blotting, průtoková cytometrie, imunofluorescenční mikroskopie, časově rozlišená konfokální mikroskopie a metody proteomové analýzy. Podle potřeb jednotlivých projektů jsou zaváděny další metody a postupy, které umožňují komplexní pohled. Aktuálně řešená témata zahrnují například hledání nových ukazatelů rizika a terapeutických cílů u chronické myeloidní leukemie, mechanismy působení látek používaných pro léčbu akutní myeloidní leukemie, imunosupresivní mechanismy u akutní myeloidní leukemie nebo mechanismy regulující interakce hematopoetických buněk s proteiny mezibuněčné hmoty.

Nejvýznamnější dosažené výsledky

V rámci analýzy známek rezistence leukemických blastů k protileukemické imunitní odpovědi bylo nalezeno několik souvislostí mezi imunofenotypem blastů a rekurentními mutacemi u AML. Mutace nukleofosminu (NPM1) byla spojena se sníženou expresí HLA 1. i 2. třídy a se zvýšeným povrchovým množstvím znaku CD47, který slouží jako inhibiční receptor pro makrofágy. Pokud se v buňkách současně vyskytovala mutace DNA methyltransferázy 3A (DNMT3A), exprese HLA byla normální, ale buňky měly zvýšené povrchové množství invariantního peptidu CLIP, který je indikátorem potlačené prezentace antigenů. Zvýšená exprese CLIP byla nalezena i u buněk s interní tandemovou duplikací v genu pro kinázu FLT3 (FLT3-ITD). Bylo potvrzeno také naše dřívější zjištění, že vysoká exprese inhibičního receptoru PD-L1 při diagnóze AML značí méně příznivou prognózu.

Department of Proteomics

Head: RNDr. Kateřina Kuželová, Ph.D.

Kuzelova@uhkt.cz, +420 221 977 285

Deputy Head: Mgr. Barbora Brodská, Ph.D.

Brodská@uhkt.cz, +420 221 977 354

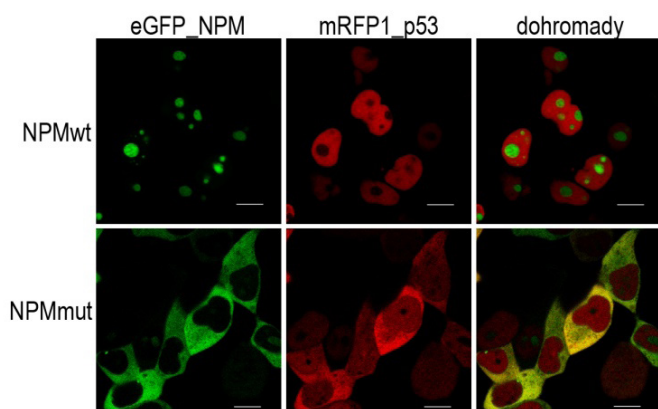
The Department of Proteomics is engaged in both basic and applied research mainly focusing on the analysis of proteins and functional tests in model cell systems. The routinely used techniques include gel electrophoresis, western blotting, flow cytometry, immunofluorescence microscopy, time-resolved confocal microscopy, and methods of proteomic analysis. According to the needs of individual projects, other methods and techniques have been introduced facilitating a comprehensive view. The currently addressed topics include, for instance, the search of new risk markers and therapeutic targets in chronic myeloid leukemia, mechanisms of the effect of compounds used for the treatment of acute myeloid leukemia, immunosuppressive mechanisms in acute myeloid leukemia, or mechanisms regulating interactions of hematopoietic cells with proteins of the extracellular matrix.

The most important achievements

In the framework of the analysis of symptoms of resistance of leukemic blasts to antileukemic immune response we found several associations between the immunophenotype of blasts and recurrent mutations in AML. Mutation of the nucleophosmin gene (NPM1) was linked to a reduced expression of HLA class I and II, as well as an increased surface amount of CD47 marker which serves as an inhibitory receptor for macrophages. In cells with concomitant mutation in DNA methyltransferase 3A (DNMT3A), the HLA expression was normal, but cells had an increased surface amount of the invariant peptide CLIP which is an indicator of defective antigen presentation. An increased expression of CLIP was found also in cells with internal tandem duplication in the gene for FLT3 kinase (FLT3-ITD). We also confirmed our earlier finding that a high expression of the inhibitory receptor PD-L1 at AML diagnosis implies a less favorable prognosis.

Bylo dokončeno studium oligomerizačních vlastností přirozené a mutované formy NPM1 a výsledky byly zpracovány do publikace (Šašinková et al., Scientific Reports 2021). Bylo zjištěno, že oligomerizační doména NPM1 je nezbytná pro interakci s mnoha dalšími proteiny, některé jadérové proteiny mají ovšem naopak větší afinitu ke zkrácenému NPM1 s odstraněnou oligomerizační doménou. Dále se oddělení věnovalo studiu interakční sítě NPM1, zejména jeho spojení s nádorovým supresorem p53. Ve spolupráci s Fyzikálním ústavem Univerzity Karlovy bylo na fluorescenčně značených formách proteinů prokázáno, že vazba NPM1 k p53 není ovlivněna mutací NPM1 a má za následek delokalizaci p53 do cytoplazmy (obr.). V důsledku toho může být v buňkách s mutovaným NPM1 porušena fyziologická funkce p53.

We finished the study of oligomerization properties of the natural and mutated form of NPM1 and compiled the results in a publication (Šašinková et al., Scientific Reports 2021). We found out that the oligomerization domain of NPM1 is essential for interaction with many other proteins, but on the other hand, some nucleolar proteins have a higher affinity to a shortened NPM1 with removed oligomerization domain. Furthermore, we were engaged in the study of the NPM1 interaction network, especially in its connection with the tumor suppressor p53. In cooperation with the Institute of Physics of Charles University, we proved, using fluorescently labelled forms of proteins, that NPM1 binding to p53 is not influenced by the mutation of NPM1, and that it results in the delocalization of p53 into cytoplasm (Fig.). As a consequence, physiological function of p53 cells with mutated NPM1 can be disrupted.



Obr. Lokalizace červeně značeného p53 v buňkách linie HEK-293T se současně vnesenými zeleně značenými formami nukleofosminu: nahoře divoká forma (NPMwt), dole mutovaná (NPMmut). Vlevo a uprostřed je samotný zelený a samotný červený signál, vpravo jejich superpozice. Měřítko představuje 10 μm .

Je známo, že základní léčivo užívané pro chemoterapii AML cytarabin způsobuje zástavu buněčného cyklu v S-fázi. Po jednorázovém ošetření efekt po 24 hod. pomine a buňky dále normálně proliferují. Bylo ukázáno, že jedním z mechanismů, kterými se buňka brání apoptóze indukované

Fig.: Localization of p53 labelled in red color in HEK-293T cell line co-transfected with forms of nucleophosmin labelled in green color: wild form (NPMwt) on top, mutated form (NPMmut) at the bottom. Green signal and red signal are shown separately on the left and in the center, their superposition is on the right. The scale represents 10 μm .

It is known that cytarabine, the basic drug used for AML chemotherapy, causes a cell cycle arrest in S-phase. Twenty four hours after a one-dose treatment the effect passes and cells continue to proliferate normally. We showed that one of the mechanisms through which a cell resists to apoptosis

cytarabinem, je zvýšení exprese Survivinu v interfázních buňkách. Tento jev byl detekován ve všech testovaných leukemických buněčných liniích bez ohledu na přítomnost mutací typických pro AML (NPM1, DNMT3A, TP53, FLT3-ITD). Dále bylo zjištěno, že u většiny buněčných linií je cytarabinem indukovaná overexprese Survivinu inhibována současným ošetřením idarubicinem. Alternativou pro linie, ve kterých idarubicin snížení Survivinu neindukuje, je použití specifického inhibitoru YM-155, který v některých liniích kromě Survivinu snižuje rovněž expresi antiapoptotického proteinu XIAP. Na rozdíl od působení cytarabinu jsou účinky idarubicinu i inhibitoru YM-155 v souboru leukemických linií heterogenní a odrážejí tak pravděpodobně různorodost onemocnění AML. Tyto výsledky jsou shrnuty v další publikaci (Otevřelová and Brodská, *Applied Sciences* 2021).

V pracovní skupině věnující se výzkumu rezistence k léčbě chronické myeloidní leukemie bylo doposud ustaveno celkem 10 rezistentních modelových linií. V souboru jsou zastoupeny oba hlavní transkripty BCR-ABL: e13a2 (b2a2) a e14a2 (b3a2). K dispozici jsou modely s přítomností i bez přítomností mutace T315I v kinázové doméně BCR-ABL. Na těchto modelech jsou testovány možnosti překonání rezistence k léčbě inhibitory tyrozinových kináz. Prozatím se ukazuje, že inhibice CK2 kinázy ve všech rezistentních liniích zpomaluje proliferaci leukemických buněk a u některých modelů zesiluje účinek inhibitorů tyrozinových kináz. Další možnosti eradikace leukemických buněk byly testovány ve spolupráci s firmou Selecta Biotech SE (Slovensko). Předběžné výsledky ukázaly, že inhibice translace BCR-ABL pomocí na míru navržené strukturně modifikované „antisense“ molekuly nové generace indukuje apoptózu u BCR-ABL pozitivních buněk, zatímco BCR-ABL negativní buňky nebyly nijak ovlivněny.

Na základě proteomické analýzy buněk senzitivních a rezistentních k imatinibu byly vytipovány potenciální zásahové dráhy (IGF-1 signalizaci a STAT signalizace). Pro tyto dráhy jsou dostupné inhibitory (Stattic, PPP, NT157), jejichž účinnost byla testována pomocí MTT esejí. Dále bylo pokračováno ve studiu exosomů uvolňovaných ze senzitivních a rezistentních buněk. Markery zjištěné na

induced by cytarabine is an increased expression of survivin in interphase cells. This phenomenon was detected in all the tested leukemic cell lines, irrespective of the presence of mutations typical for AML (NPM1, DNMT3A, TP53, and FLT3-ITD). Furthermore, we found out that in most cell lines the overexpression of survivin induced by cytarabine is inhibited by simultaneous treatment with idarubicin. As an alternative for the lines where idarubicin does not induce a reduction of survivin, the specific survivin inhibitor YM-155 also reduces the expression of the antiapoptotic XIAP protein in some cell lines. Unlike the effect of cytarabine, the effects of idarubicin and the YM-155 inhibitor in the set of leukemic lines are heterogeneous, thus probably reflecting the heterogeneity of AML disease. These results are summarized in another publication (Otevřelová and Brodská, *Applied Sciences* 2021).

The working group dealing with the research of resistance to the treatment of chronic myeloid leukemia has so far established a total of 10 resistant model lines. Both main BCR-ABL transcripts: e13a2 (b2a2) and e14a2 (b3a2) are represented in the set. Available are models with and without the presence of T315I mutation in the BCR-ABL kinase domain. We use these models for testing the possibilities of overcoming the resistance to the treatment with inhibitors of tyrosine kinases. For the time being it appears that the inhibition of CK2 kinase in all resistant lines slows down the proliferation of leukemic cells and in some models it intensifies the effect of inhibitors of tyrosine kinases. Other possibilities of the eradication of leukemic cells were tested in cooperation with the Selecta Biotech SE company (Slovakia). Preliminary results showed that the inhibition of BCR-ABL translation with the help of a new generation “antisense” molecule designed to measure and structurally modified induces apoptosis in BCR-ABL positive cells, while BCR-ABL negative cells were not affected at all.

On the basis of proteomic analysis of cells sensitive and resistant to imatinib, we selected potential intervention points (IGF-1 signaling and STAT signaling). Inhibitors of these pathways are available (Stattic, PPP, NT157), and we tested their efficiency with the help of MTT assays. Furthermore,

základě proteomické analýzy byly ověřeny pomocí western blotů a průtokové cytometrie. Studované povrchové markery by mohly sloužit k experimentálnímu či terapeutickému rozlišení senzitivních buněk od rezistentních, jako markery rezistence, prognózy onemocnění a případně i jako terapeutická zásahová místa. Výsledky byly sepsány a publikovány (Hrdinová et al., *International Journal of Oncology* 2020).

Byl doplněn soubor měření exprese integrinů a buněčné adhezivity na AML blastech, výsledky byly zanalyzovány a publikovány (Kuželová et al., *European Journal of Haematology* 2020). Mimo jiné bylo nalezeno zvýšené množství integrinu $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ na CD34-pozitivních buňkách specificky u pacientů s mutovaným NPM1. Jedná se o adhezní receptor, který může přispívat k udržení reziduální nemoci v této skupině AML. Dále byla dokončena analýza exprese jednotlivých členů rodiny kináz PAK a vlivu jejich inhibice na buněčnou adhezi v leukemických buňkách, výsledky byly sepsány a manuskript byl přijat k publikaci (Kuželová et al., *Cell Adhesion & Migration* 2021). V rámci spolupráce se švýcarskými kolegy bylo také prokázáno, že nově objevená bodová mutace v PAK2, která způsobuje Knoblochův syndrom typu 2, vede k podstatné ztrátě kinázové aktivity PAK2. Tyto výsledky jsou součástí společného článku, který byl přijat k publikaci v časopise *Human Molecular Genetics*.

Oddělení imunomonitoringu a průtokové cytometrie

Vedoucí: RNDr. Jan Musil, Ph.D.

Jan.Musil@uhkt.cz, +420 221 977 668

Zástupkyně vedoucí: Mgr. Hana Kynclová

Hana.Kynclova@uhkt.cz, +420 221 977 252

Oddělení imunomonitoringu a průtokové cytometrie vzniklo na jaře roku 2020 jako vědecko-servisní pracoviště. Hlavní vědeckou činností je výzkum funkce imunitního systému

we continued to study exosomes released from sensitive and resistant cells. We confirmed the markers detected on the basis of proteomic analysis with the help of western blots and flow cytometry. The surface markers we studied could serve to experimental or therapeutic differentiation of sensitive cells from resistant ones, as markers of resistance or disease prognosis, and possibly also as therapeutic intervention points. The results were summarized and published (Hrdinová et al., *International Journal of Oncology* 2020).

We complemented the set of measurements of the expression of integrins and cell adhesivity in AML blasts, and the results were analyzed and published (Kuželová et al., *European Journal of Haematology* 2020). Among other things, we found an increased amount of integrin $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ in CD34-positive cells specifically in patients with mutated NPM1. It is an adhesion receptor that can contribute to the residual disease persistence in this AML group. Furthermore, we finished the analysis of the expression of individual members of the PAK kinase family and the influence of their inhibition on cell adhesion in leukemic cells; the results were summarized and the manuscript was accepted for publication (Kuželová et al., *Cell Adhesion & Migration* 2021). In the framework of our cooperation with Swiss colleagues we also proved that the newly discovered PAK2 point mutation, which causes Knobloch syndrome of type II, leads to a substantial loss of PAK2 kinase activity. The results are included in a joint article accepted for publication in the *Human Molecular Genetics* journal.

Department of Immunomonitoring and Flow Cytometry

Head: RNDr. Jan Musil, Ph.D.

Jan.Musil@uhkt.cz, +420 221 977 668

Deputy Head: Mgr. Hana Kynclová

Hana.Kynclova@uhkt.cz, +420 221 977 252

The Department of Immunomonitoring and Flow Cytometry was established in spring 2020 as a scientific service center. Its main scientific activity is the research of the function of

u hematologických malignit a identifikace znaků imunitní dysfunkce spojené s progresí či relapsem onemocnění. Jako hlavní metoda je použita vysoce multiparametrická průtoková cytometrie, která umožňuje kvalitativní i kvantitativní charakterizaci buněk imunitního systému s jednobuněčným rozlišením. Oddělení se dále specializuje na analýzu rekonstituce imunitního systému po transplantaci krvetvorných kmenových buněk. V rámci své servisní funkce zpřístupňuje vyvinuté cytometrické technologie ostatním vědeckým oddělením a nabízí podporu při návrhu cytometrických panelů, měření vzorků a jejich analýzu a dále odborné imunologické poradenství při sepisování grantových aplikací.

Nejvýznamnější dosažené výsledky

- Ve spolupráci s Ústavem organické chemie a biochemie se oddělení spolupodílelo na vývoji optimalizovaného počítačového algoritmu EmbedSOM, který představuje rychlý nástroj pro redukci multidimenzionálních cytometrických dat. Navržený algoritmus je v porovnání s ostatními standardně používanými algoritmy pro analýzu cytometrických dat, jako např. t-SNE a UMAP, výrazně rychlejší a méně náročný na výpočetní výkon použitého počítačového systému (Kratochvíl et al, 2020).
- V rámci iniciativy MZČR se oddělení podílelo na vývoji inaktivované vakcíny proti covidu-19. Hlavním úkolem bylo charakterizovat reakci imunitního systému na podání vakcíny na myším modelu BALB/c. Pro analýzu byl sestaven 24parametrický cytometrický panel schopný analyzovat individuální subpopulace T-lymfocytů (regulační T-lymfocyty, pomocné T-lymfocyty typu 1, 2 a 17 a folikulární pomocné T-lymfocyty) a B-lymfocytů včetně plasmatických buněk. Ukázalo se, že po podání vakcíny dochází k expanzi folikulárních pomocných Tlymfocytů a nedochází k hyperaktivaci imunitního systému, jako je pozorovatelné u závažného průběhu infekce SARS-Cov-2 virem (Petráš et al, 2020).
- Pro potřeby výzkumu Oddělení genové imunoterapie vedené dr. Otáhalem byl sestaven panel pro analýzu diferenciačního fenotypu CAR-T-lymfocytů, který byl použit

the immune system in hematological malignities and the identification of markers of immune dysfunction connected with the disease progression or relapse. The main method used is highly multiparametric flow cytometry facilitating both qualitative and quantitative characterization of cells of the immune system with a single-cell resolution. Furthermore, the department specializes in the analysis of reconstitution of the immune system after hematopoietic stem cell transplantation. In the framework of its service function, it makes developed cytometric technologies available to the other scientific departments and offers its support of the design of cytometric panels, measuring and analysis of samples, as well as professional consultancy in immunology in drawing up grant applications.

The most important achievements

- In cooperation with the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry we were involved in the development of the optimized EmbedSOM computer algorithm, which represents a rapid tool for the reduction of multidimensional cytometric data. In comparison with the other algorithms used in a standard way for cytometric data analysis, such as t-SNE and UMAP, the designed algorithm is considerably more rapid and less demanding in terms of the computing power of the computer system in use (Kratochvíl et al, 2020).
- In the framework of the initiative of MoH of CR, we were involved in the development of an inactivated vaccine against COVID-19. Our main task was to characterize the immune system reaction to the vaccine administration in the BALB/c mouse model. For the analysis, we put together a 24-parameter cytometry panel capable of analyzing individual subpopulations of T-lymphocytes (regulation T-lymphocytes, auxiliary T-lymphocytes of type 1, 2 and 17, and follicular auxiliary T-lymphocytes) and B-lymphocytes, including plasmatic cells. We showed that after the administration of the vaccine, follicular auxiliary T-lymphocytes expand, and the immune system is not hyperactivated, as it can be observed in the course of a serious infection with SARS-Cov-2 virus (Petráš et al, 2020).
- For the needs of the Department of Gene Immunotherapy

pro analýzu CAR19 T-lymfocytů produkujících IL21 pod kontrolou inducibilního NFAT promotoru.

Oddělení genomiky

Vedoucí: RNDr. Monika Beličková, Ph.D.

Monika.Belickova@uhkt.cz, +420 221 977 306

Zástupkyně vedoucí: Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Michaela.Merkerova@uhkt.cz, +420 221 944 363

Rok v číslech

V roce 2020 byla vyšetřena přítomnost mutací v genu NPM1 u 71 pacientů a v genu CEBPA u 69 pacientů. V rámci sledování minimální reziduální nemoci byla stanovena exprese genu WT1 u 1 150 pacientů a mutovaného genu NPM1 u 440 pacientů. Sekvenováním nové generace (NGS) byla analyzována přítomnost somatických mutací v panelu 54 nejčastěji mutovaných genů vyskytujících se u myeloidních malignit celkem u 214 pacientů. V rámci vyšetření hemoglobinopatií byla analyzována přítomnost mutace v genu HBB u 90 vzorků a v genech HBA1 a HBA2 u 70 vzorků.

Oddělení genomiky provádí molekulární diagnostiku a monitorování pacientů s myelodysplastickým syndromem (MDS), akutní myeloidní leukemie (AML) a hemoglobinopatií. Pro rutinní diagnostické účely se u AML pacientů stanovují mutace v genech NPM1 a CEBPA. Kvantifikace expresní hladiny WT1 genu a mutovaného genu NPM1 se využívá pro monitorování minimální reziduální nemoci (MRN). Sekvenováním nové generace (NGS) jsou u MDS a AML pacientů identifikovány mutace v panelu 54 genů asociovaných s myeloidními malignitami. V rámci diagnostiky hemoglobinopatií jsou vyšetřovány mutace a dlouhé delece v genech HBA a HBB.

Paralelně k rutinním vyšetřením probíhají výzkumné aktivity. Oddělení genomiky řeší řadu výzkumných projektů, které si kladou za cíl zlepšit naše porozumění patogeneze MDS a AML na molekulární úrovni. Hlavním předmětem zájmu

Research headed by Dr. Otáhal, we assembled a panel for the analysis of the differentiation phenotype of CAR-T-lymphocytes which was used for analyzing CAR19 T-lymphocytes producing IL21 under the control of inducible NFAT promoter.

Department of Genomics

Head: RNDr. Monika Beličková, Ph.D.

Monika.Belickova@uhkt.cz, +420 221 977 306

Deputy head: Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Michaela.Merkerova@uhkt.cz, +420 221 944 363

The year 2020 in numbers

In 2020, 71 patients were tested for the presence of NPM1 mutations and 69 patients for the presence of CEBPA mutations. Further, we measured gene expression of WT1 in 1,150 patients and expression of mutated NPM1 in 440 patients for the purpose of monitoring of minimal residual disease. Next generation sequencing (NGS) was applied in 214 patients for the identification of somatic mutations in the 54 most frequently mutated genes occurring in myeloid malignancies. Within testing of hemoglobinopathies, we analyzed the presence of HBB gene mutations in 90 samples and HBA1 and HBA2 mutations in 70 samples.

The Department of Genomics focuses on molecular diagnostics and regular monitoring of patients with myelodysplastic syndromes (MDSs), acute myeloid leukemia (AML), and hemoglobinopathies. For the purpose of routine diagnostics of AML, mutations in NPM1 and CEBPA genes are determined. Quantification of expression levels of WT1 gene and mutated NPM1 gene is applied to monitor minimal residual disease (MRD). Mutations in a panel of 54 genes associated with myeloid malignancies are identified by next generation sequencing (NGS) in MDS and AML patients. Within the diagnostics of hemoglobinopathies, mutations and long deletions in HBA and HBB genes are investigated.

In parallel to the routine examinations, multiple research activities are performed. The Department of Genomics has been working on a number of research projects that aim to improve our understanding of the pathogenesis of MDS and AML at the molecular level. The major subject of applied

aplikovaného výzkumu je pomocí moderních genomických metod, zejména NGS, identifikovat nové molekulární markery onemocnění. Tyto biomarkery by v budoucnu, po jejich začlenění do současných diagnostických a prognostických postupů používaných v rutinní klinické praxi, měly pomoci k zavedení vysoce individualizovaného přístupu k pacientům.

Nejvýznamnější dosažené výsledky

- V roce 2020 byl ukončen projekt AZV ČR zaměřený na studium molekulárních mechanismů účinků chelatačních látek. V rámci projektu byl analyzován transkriptom pacientů s nízkorizikovým MDS léčených deferasiroxem (DFX). Studie ukázala, že DFX významně moduluje imunitní odpověď, přičemž v této modulaci hrají důležitou roli geny funkčně asociované s neutrofily. V tomto kontextu byla detekována významná deregulace procesů pozitivní regulace zánětlivé odpovědi a produkce cytokinů, což ukazuje na indukci zánětu po podání DFX. Naopak suprese genů kódující negativní regulátory diferenciací krevních buněk může přispívat ke zlepšení hematopoézy u pacientů léčených DFX.

- Další dokončený grantový projekt AZV ČR byl orientován na sledování změn v DNA reparačních systémech u pacientů s MDS. Nejvíce byly deregulovány geny zapojené do oprav dvouřetězcových zlomů DNA a hladinu některých těchto genů (RAD51) lze použít jako nezávislý prognostický faktor celkového přežití. Cílené exomové sekvenování reparačních genů odhalilo 6 jednonukleotidových polymorfismů asociovaných s MDS a 4 mutace, z nichž jedna v genu XRCC2 byla zárodečného původu a vedla k snížení úrovně exprese genu. U pacientů léčených azacitidinem (AZA) bylo zjištěno, že pokud jsou CD34+ buňky v klidovém stavu se sníženou acetylací histonů, dochází k progresi onemocnění brzy od zahájení léčby bez odpovědi na AZA.

- V roce 2020 bylo pokračováno ve studiu role nekódujících RNA v patogenezi hematologických malignit. Byla publikována studie analyzující hladiny krátkých nekódujících RNA (sncRNA) cirkulujících v plazmě MDS pacientů pomocí NGS. Výsledky studie ukazují, že cirkulující sncRNA mají u MDS specifický profil a že jejich hladina se mění během progresu onemocnění, což poukazuje na jejich potenciální klinickou

research activities is the identification of novel molecular markers of these diseases by modern genomic technologies, such as NGS. In the future, these biomarkers, once integrated into current diagnostic and prognostic procedures in routine clinical practice, should contribute to the introduction of a highly individualized approach to patients.

The most important achievements

- In 2020, we completed the AZV ČR project focused on the study of the molecular mechanisms of effects of chelating agents in low-risk MDS, we analyzed the transcriptome in patients before and after treatment with deferasirox (DFX). The study showed that DFX significantly modulates the immune response in which genes functionally associated with neutrophils play an important role. In this context, we detected a significant deregulation of the processes of positive regulation of the inflammatory response and cytokine production, indicating the inflammation induction after DFX administration. In contrast, suppression of genes encoding negative regulators of blood cell differentiation may contribute to improved hematopoiesis in patients treated with DFX.

- Another completed grant project of AZV ČR was focused on monitoring changes in DNA repair systems in patients with MDS. The genes involved in the repair of double-stranded DNA breaks showed the most significant deregulation, and the levels of some of these genes (RAD51) can be used as an independent prognostic factor for overall survival. Targeted exome sequencing of repair genes revealed six single nucleotide polymorphisms associated with MDS and four mutations, one of which in XRCC2 gene was of germline origin and led to the decreased expression of the gene. In patients treated with azacitidine (AZA), it was shown that when CD34+ cells are at rest with reduced histone acetylation, disease progression occurs soon after treatment initiation, without response to AZA.

- In 2020, we continued to study roles of noncoding RNAs in the pathogenesis of hematological malignancies. We published a study analyzing levels of small noncoding RNAs (sncRNAs) circulating in the plasma of MDS patients

užitečnost. Dalším publikačním výstupem byla analýza expresních profilů dlouhých nekódujících RNA (lncRNA) u MDS, studovaná pomocí microarray technologie. Výsledky studie odhalily řadu odlišně exprimovaných lncRNA napříč MDS subtypy a poukázaly na potenciál konkrétních lncRNA jako diagnostických a prognostických markerů onemocnění. Zejména lncRNA H19, WT1-AS, LEF1-AS1 a TCL6 se by mohly sloužit jako potenciálně relevantní markery progresu MDS. V roce 2020 byl nově rozšířen zájem oddělení o studium dalších typů nekódujících RNA. Pomocí NGS technologie byly měřeny změny exprese cirkulárních RNA (circRNA), PIWI interagujících RNA (piRNA) a transpozibilních elementů (TE) u MDS, a to primárně s ohledem na mutační status pacientů. Bylo zjišťováno, zda specifické mutace hrají roli v regulaci exprese těchto transkriptů. Tato nová data jsou v současné době bioinformaticky zpracovávána.

- Pro komplexní studium změn metylace DNA byla pomocí DNA sekvenčního panelu (MiSeq, Illumina) změřena úroveň metylace DNA u 239 genů/oblastí, které byly již dříve popsány ve spojitosti s prognózou a patogenezí AML. Vyšetřeno bylo celkem 178 pacientů s AML, rozdělených do testovací (n = 128) a validační kohorty (n = 50). Analýza všech studovaných oblastí odhalila 1,935 CpG ovlivňujících přežití ($p < 0.05$) AML pacientů. Z těchto signifikantních CpG byla pak vypočtena sumarizační hodnota metylace tzv. MethScore. Pacienti s nižším MethScore měli výrazně delší celkové přežití (OS) a přežití bez relapsu (EFS) než pacienti s vyšším MethScore ($p < 0.001$). Tato spojitost s prognózou byla ověřena na nezávislé validační kohortě ($p < 0.03$). MethScore bylo také schopno spolehlivě stratifikovat AML pacienty v rámci středního rizika. Naše výsledky ukázaly, že MethScore může sloužit jako nový epigenetický marker, který zpřesňuje prognózu pacientů s AML.

- V leukemických blastech AML pacientů odebraných při diagnóze a během indukční terapie 3+7 byla u vybraných ABC transportérů sledována genová exprese, sekvenční varianty a aktivita. U pacientů nedosahujících remise po prvním cyklu léčby byla detekována významně vyšší exprese transportérů při diagnóze. Po zahájení léčby docházelo u pacientů reagujících na terapii k významnému nárůstu

using NGS. The results of the study show that circulating sncRNAs have a specific profile in MDS and that their levels change during the disease progression, indicating their potential clinical utility. Another publication was the study of expression profiles of long non-coding RNAs (lncRNAs) in MDS measured by microarray technology. The results of the study revealed a number of differentially expressed lncRNAs across MDS subtypes and highlighted the potential of specific lncRNAs as diagnostic and prognostic markers of the disease. In particular, lncRNAs H19, WT1-AS, LEF1-AS1, and TCL6 could serve as potentially relevant markers of MDS progression. In 2020, we expanded our interest to other types of non-coding RNAs. Using NGS technology, we measured changes in the expression of circular RNAs (circRNAs), PIWI interacting RNAs (piRNAs), and transposable elements (TEs) in MDS, primarily with respect to the mutation status of patients. We investigated whether specific mutations play a role in the regulation of expression of these transcripts. These new data are currently in bioinformatics processing.

- For the comprehensive study of DNA methylation changes, we used a DNA sequencing panel (MiSeq, Illumina) to measure the level of DNA methylation in 239 genes/regions previously described in association with AML prognosis and pathogenesis. A total of 178 AML patients divided into a test (n=128) and a validation cohort (n=50) were examined. Analysis of all studied regions revealed 1,935 CpGs affecting survival ($p < 0.05$) in AML. From these significant CpGs, a summarizing MethScore methylation value was calculated. Patients with lower MethScore had significantly longer overall survival (OS) and event-free survival (EFS) than those with higher MethScore ($p < 0.001$). This association with prognosis was verified on the independent validation cohort ($p < 0.03$). MethScore was also able to reliably stratify AML patients within intermediate risk group. Our results showed that MethScore can serve as a novel epigenetic marker that refines the prognosis of AML patients.


- In leukemia blasts of AML patients collected at diagnosis and during 3+7 induction chemotherapy, we monitored gene expression, sequence variants, and activity of selected ABC transporters. We detected significantly higher expression of transporters at diagnosis in patients who did

exprese, naopak u pacientů rezistentních se exprese neměnila. Pomocí NGS byly transportéry sekvenovány a byly identifikovány 6 prognosticky příznivé a 3 nepříznivé sekvenční varianty. S využitím inhibitorů ABC transportérů byla změřena jejich aktivita při diagnóze a jako nejaktivnější byl identifikován transportér ABCC1. Pro komplexní zhodnocení buněčných transportních systémů a dalších mechanismů ovlivňujících účinnost terapie byl sestaven celkový expresní profil leukemických blastů při diagnóze a po zahájení léčby. Bylo identifikováno 111 diferencially exprimovaných genů mezi diagnózou a párovými odběry a 15 diferencially exprimovaných genů mezi pacienty dosahujícími a nedosahujícími remise.

- Pacienti s del(5q) MDS o nízkém riziku často vyvinou v průběhu terapie lenalidomidem rezistenci na léčbu, kterou lze překonat přidáním erythropoetinu (EPO) a steroidních hormonů (prednison nebo dexametazon). V roce 2020 byla řešena úloha exprese genu pro cereblon a přidavku výše jmenovaných látek v terapii pacientů s del(5q) MDS. Další testovanou látkou zvyšující in vitro expresi cereblonu v kulturách linií buněk odvozených od pacientů s MDS byl oxid arsenitý. Ze vzorků mononukleárních buněk získaných od MDS pacientů v průběhu terapie byl kromě RNA izolován i celkový protein pro analýzu na úrovni odpovídajících proteinů. Byly vyzkoušeny i protilátky pro úspěšnou kvantifikaci vybraných proteinů při Western blot metodě.

not achieve remission after the first line of treatment. There was a significant increase in expression after the therapy initiation in patients responding to therapy, while expression did not change in resistant patients. We analyzed the sequence of ABC transporters using NGS and we identified six prognostically favorable and three unfavorable genetic variants. Using inhibitors of ABC transporters, we measured their activity at diagnosis and identified ABCC1 as the most active transporter. For a comprehensive assessment of cellular transport systems and other mechanisms influencing the effectiveness of chemotherapy, we analyzed the whole expression profile of leukemia blasts at diagnosis and after the treatment initiation. We identified 111 differentially expressed genes between diagnosis and pair samples, and 15 differentially expressed genes between chemotherapy sensitive and resistant patients.

- Patients with low-risk del(5q) MDS treated with lenalidomide often develop resistance to the treatment. This resistance can be reduced by the addition of erythropoietin (EPO) and steroid hormones (prednisone or dexamethasone). In 2020, we addressed the role of cereblon gene expression and the addition of the above-mentioned substances in the therapy of patients with del(5q) MDS. Arsenic trioxide was another tested substance that increases cereblon expression in vitro in cell lines derived from MDS patients. We isolated RNA and total protein from mononuclear cells of lower-risk del(5q) MDS patients during the therapy. We tested antibodies for quantification of cereblon and other proteins by Western blot method.

The image shows two women in a classroom or office setting. They are both wearing face masks. The woman on the left is pointing towards a computer monitor. The woman on the right is leaning over a desk covered with papers. The entire image has an orange tint. The text 'VZDĚLÁVÁNÍ' and 'EDUCATION' is overlaid in white, bold, sans-serif font, with a horizontal line separating the two words.

VZDĚLÁVÁNÍ

EDUCATION

Referát vzdělávání



Education department

Náměstek: prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
Jaroslav.Cermak@uhkt.cz, +420 221 977 206
Zástupce náměstka: doc. Ing. Mgr. Bc. Roman Kotlín, Ph.D. MHA
Roman.Kotlin@uhkt.cz, +420 221 977 612

Referát vzdělávání

Ústav hematologie a krevní transfuze se významně podílí na pregraduálním a postgraduálním vzdělávání vysokoškoláků a středoškolských pracovníků ve zdravotnictví. V rámci Ústavu klinické a experimentální hematologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a ÚHKT probíhá výuka hematologie na Fakultě všeobecného lékařství UK.

V rámci postgraduálního vzdělávání lékařů v oboru Hematologie a transfuzní lékařství proběhl v ÚHKT ve spolupráci s 2.LF, 3. LF UK, LF v Plzni a LF v Hradci Králové v dubnu 2020 předatestační kurz (distanční formou) a ÚHKT se podílel stejně jako v minulosti na organizaci specializačních atestací v tomto oboru. V rámci vzdělávání vysokoškolských a jiných odborných pracovníků v oboru Klinická hematologie a transfuzní služba byly v roce 2020 uskutečněny dva vzdělávací moduly, dva moduly byly z epidemiologických důvodů odloženy. V červnu a v listopadu proběhly v ÚHKT v tomto specializačním oboru atestace. Dále v ÚHKT proběhla v rámci postgraduálního vzdělávání řada individuálních stáží.

Na odborné stáži bylo v ÚHKT 5 lékařů a 16 odborných pracovníků, 4 zdravotní laboranti. V roce 2020 pracovalo v ÚHKT 29 doktorandů v rámci postgraduálního studia a 15 vysokoškolských studentů na diplomové práci.

V únoru 2020 proběhla soutěž mladých badatelů. Konference doktorandů byla z epidemiologických důvodů zrušena. V soutěži o nejlepší práci mladých badatelů realizované v roce 2019 vyhrála Ing. Šárka Šestáková za publikace DNA methylation and hydroxymethylation patterns in acute myeloid leukemia patients with mutations in DNMT3A and IDH1/2 and their combinations a DNA methylation validation methods: a coherent review with practical comparison.

V rámci celoživotního kontinuálního vzdělávání se v roce 2020 zúčastnilo 145 zaměstnanců ÚHKT akcí pořádaných

Head of Division: prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
Jaroslav.Cermak@uhkt.cz, +420 221 977 206
Deputy Head: doc. Ing. Mgr. Bc. Roman Kotlín, Ph.D. MHA
Roman.Kotlin@uhkt.cz, +420 221 977 612

Education Department

The Institute of Hematology and Blood Transfusion takes an important part in pregraduate and postgraduate education of university degree holders and secondary school graduates in health service. In the framework of the Institute of Clinical and Experimental Hematology of the 1st Faculty of Medicine of Charles University and IHBT, hematology is taught at the Faculty of General Medicine of Charles University.

Within postgraduate education of physicians in the field of hematology and transfusion medicine, a pre-specialization course took place (in a distance form) at IHBT, in cooperation with the 2nd and 3rd Faculty of Medicine of Charles University, the Faculty of Medicine in Pilsen and the Faculty of Medicine in Hradec Králové in April 2020 and, just like in the past, IHBT was involved in the organization of specialization courses in this field. Within education of university graduates and other specialists in the field of clinical hematology and transfusion service, 2 training modules were postponed for epidemiological reasons. Specialization courses took place in this field at IHBT in June and November. Furthermore, a number of individual internships took place in IHBT in the framework of postgraduate studies.

Professional internships at the IHBT were completed by 5 physicians and 16 experts, plus 4 laboratory technicians. In 2020, IHBT hosted 29 graduate students in postgraduate study and 15 undergraduates writing their diploma theses.

A competition of young researchers took place in February 2020. The conference of graduate students was cancelled for epidemiological reasons. The winner of the competition for the best paper of young researchers held in 2019 was Ing. Šárka Šestáková for the publications entitled "DNA methylation and hydroxymethylation patterns in acute myeloid leukemia patients with mutations in DNMT3A and

v Česku a v zahraničí; 114 zaměstnanců ÚHKT se účastnilo vzdělávacích akcí v Česku, 31 lékařů a dalších vědeckých pracovníků se zúčastnilo kongresů a konferencí v zahraničí. Většina akcí proběhla kvůli epidemiologické situaci virtuálně.

IDH1/2 and their combinations” and “DNA methylation validation methods: a coherent review with practical comparison”.

In 2020, within continuous lifelong learning, 145 IHBT staff members attended events organized both in the Czech Republic and abroad. 114 IHBT staff members took part in educational events in the Czech Republic, and 31 physicians and other research workers attended congresses and conferences abroad. Owing to the epidemiological situation, most events took place virtually.



**AKREDITACE
A KVALITA**

**ACCREDITATION
AND QUALITY**

Oddělení kvality
Tým kvality péče
Oddělení nemocniční hygieny
Oddělení pro správnou výrobní praxi léčivých
přípravků

Quality Department
Care Quality Team
Hospital Hygiene Department
Department for Good Manufacturing Practice
of Medicinal Products

Náměstek: Ing. Martin Mayer, Ph.D. MHA
Martin.Mayer@uhkt.cz, +420 221 977 265
Zástupkyně náměstka: Mgr. Simona Brixiová
Simona.Brixiova@uhkt.cz, +420 221 977 195

Akreditační procesy pomáhají vytvářet kulturu kvality a bezpečí. V rámci toho pak dochází k trvalému zlepšování všech procesů zajišťujících péči o pacienty a ke zlepšení výsledků poskytované péče. Získané certifikáty vedou k posílení důvěry veřejnosti v kvalitní a bezpečné prostředí ve zdravotnickém zařízení a vytvářejí bezpečné a efektivní pracovní prostředí, což přispívá i ke spokojenosti zaměstnanců. Soulad mezi požadavky normy ČSN EN ISO 15189 a požadavky dalších systémů kvality (JCI, SAK, SÚKL, EFI, JACIE) či požadavky odborných společností koordinuje Oddělení kvality ÚHKT. Mezinárodní akreditaci v ÚHKT v roce 2019 vydal Joint Commission International (JCI). ÚHKT získal v květnu 2019 v pořadí již čtvrtou reakreditaci dle šestého vydání mezinárodních akreditačních standardů platných od 1. dubna 2017, s účinností od 1. července 2017. Nová ustanovení byla implementována do vnitřních předpisů ÚHKT a následně bylo auditováno jejich dodržování. Celkem bylo auditory posuzováno zhruba 300 akreditačních standardů, které obsahovaly asi 1 200 hodnocených indikátorů. Národní akreditaci dle SAK získal ÚHKT v roce 2020. Stal se tak jedinou nemocnicí v Česku, která má kvalitu zdravotní péče externě ověřenou jak na mezinárodní, tak na národní úrovni.

Akreditace dle společné akreditační komise ISCT– EBMT (JACIE) je jediným oficiálním akreditačním orgánem v Evropě pro oblast transplantací hematopoetických kmenových buněk a buněčné terapie. Cílem této profesionální dobrovolné akreditace je podpora řízení kvality lékařské i laboratorní praxe v transplantačním programu a tím dosažení dlouhodobé kvality poskytované zdravotní péče v souladu s nejnovějšími vědeckými poznatky a léčebnými postupy.

ÚHKT získal pro svůj Transplantační program status akreditovaného centra v lednu 2019 na základě předchozího místního šetření vyškolených zahraničních odborníků, kteří hodnotili dodržování předem stanovených standardů činnosti a výkonnosti dlouhodobě fungujícího transplantačního

Head of Division: Ing. Martin Mayer, Ph.D. MHA
Martin.Mayer@uhkt.cz, +420 221 977 265
Deputy Head: Mgr. Simona Brixiová
Simona.Brixiova@uhkt.cz, +420 221 977 195

Accreditation processes help to create a culture of quality and safety. This is the framework for the subsequent permanent improvement of all processes ensuring patient care and better results of provided care. Acquired certificates lead to the strengthening of public confidence in a quality and safe environment at a healthcare establishment, and create a safe and effective working environment which contributes to staff satisfaction. The harmony between the requirements of the standard CSN EN ISO 15189 and those of other quality systems (JCI, SÚKL, EFI, and JACIE) or the requirements of professional societies is coordinated by the IHBT Quality Department. In May 2019 IHBT was re-accredited already for the fourth time by the Joint Commission International (JCI) according to the 6th edition of international accreditation standards valid from 1 April 2017 and effective as of 1 July 2017. The new provisions were implemented in the IHBT internal regulations, and after that their observance was audited. Auditors assessed a total of some 300 accreditation standards comprising approximately 1,200 assessed indicators. In 2020, IHBT was national accreditation by the United Accreditation Commission of the Czech Republic (Czech abbreviation SAK). Thus, it became the only hospital in the Czech Republic that has a certified quality of health care both on international and national level.

The Joint Accreditation Committee – ISCT and EBMT (JACIE) is the only official accreditation body in Europe for the field of transplantation of hematopoietic stem cells and cell therapy. The goal of this professional voluntary accreditation is the support of the quality management of medical and laboratory practice in the Transplant Program, and thereby thereby the reaching of a long-term quality of provided medical care in conformity with the latest scientific knowledge and therapeutic methods.

For its Transplant Program, IHBT acquired the status of an accredited center in January 2019 based on a previous on-

programu krvetvorných buněk v ÚHK. V roce 2020 se i přes probíhající koronavirovou pandemii podařilo udržet počet provedených transplantací na úrovni minulých let (82 provedených převodů). Při potížích s dostupností dárců ze zahraničních registrů nepříbuzných dárců (restrikce v přeshraniční dopravě štěpů) byla častěji volenou alternativou haploidentická transplantace od příbuzného dárce (30 transplantací), která dosahuje při vhodné úpravě léčebného protokolu výsledky dlouhodobě srovnatelné s transplantací od plně HLA shodného nepříbuzného dárce. Pro pacienty a jejich potenciální dárce se rovněž podařilo v krátkém čase zpřístupnit diagnostiku SARS-CoV-2 viru jako primární předpoklad zajištění i nadále dostupné onkohematologické péče v souladu s národními hygienickými nařízeními i mezinárodními doporučeními EBMT. Rovněž se podařilo pokračovat v rozvoji nastaveného systému řízení kvality, efektivně sledovat a vyhodnocovat jeho funkčnost a adekvátnost zavedených postupů. V rámci zkvalitňování vnitřních kontrolních mechanismů byly pro několik oblastí nově, nad rámec JACIE standardů, rozpracovány kvalifikační plány. Úvaha o jejich využití jako univerzálního kontrolního nástroje v oblastech se zvýšenou pravděpodobností výskytu možných neshod či specifických rizik umožňujícího jejich včasné rozpoznání, řešení a návrh vhodných preventivních opatření byla úspěšně prezentována jako posterové sdělení na virtuální EBMT konferenci na přelomu srpna a září 2020. Závěrem roku 2020 byly zpracovány podklady pro JACIE Interim Audit, kterým akreditovaná centra na konci druhého roku svého akreditačního cyklu (z důvodu pandemie byl cyklus automaticky všem centřům prodloužen o rok) deklarují svoji trvající shodu s požadavky akreditačních standardů. Celosvětově bylo v roce 2020 evidováno více než 270 JACIE akreditovaných center, z toho v Česku tři. Vzhledem ke skutečnosti, že další dvě centra v Česku přihlášku k akreditaci již podala a jedno centrum je v přípravě, ukazuje se, že do budoucna budou i na národní úrovni otázky řízení kvality TP poutat stále více pozornosti a stanou se i tématem pro vzájemné sdílení a výměnu odborných zkušeností.

Laboratoře ÚHK již mnoho let dodržují standardy požadavků na systém kvality v laboratořích (ČSN EN ISO 15189 a ČSN EN ISO/IEC 17025). Dokladem je akreditace Českého institutu

site investigation of trained foreign experts who evaluated the compliance with pre-established standards of the activity and efficiency of a long-term functional Transplant Program of hematopoietic cells at IHBT. In 2020, despite the ongoing coronavirus pandemic, IHBT succeeded in preserving the number of performed transplantations at the levels of previous years (2020: 82 performed transfers). When there were difficulties in the availability of donors from foreign registries of unrelated donors (restrictions in cross-border transport of grafts), a more frequent alternative was haploidentical transplantation from a related donor (30 transplantations) which, if the treatment protocol is adequately adjusted, reaches comparable results on a long-term basis with transplantation from a fully HLA identical unrelated donor. For patients and their potential donors, IHBT also succeeded in making the diagnostics of SARS-CoV-2 virus accessible in a short time as a primary condition of the continuing provision of accessible onco-hematological care in conformity with national hygienic regulations, as well as international EBMT recommendations. Similarly, IHBT succeeded in continuing to develop the established quality management system, to efficiently monitor and evaluate its functionality and adequacy of introduced methods. In the framework of increasing the quality of internal control mechanisms, qualification plans were newly developed for several areas, in addition to JACIE standards. The consideration of their use as a universal control instrument in areas of a higher probability of the occurrence of possible differences or specific risks facilitating their timely detection, solution and proposal of suitable preventive measures, was successfully presented as a poster communication at the virtual EBMT conference at the turn of August and September 2020. The end of 2020 saw the processing of materials for a JACIE Interim Audit, whereby the accredited centers at the end of the second year of the accreditation cycle (owing to the pandemic, the cycle was automatically prolonged to all centers by one year) declare their continuing compliance with the requirements of accreditation standards. In 2020, over 270 JACIE accredited centers were registered worldwide, 3 of which in the Czech Republic. In view of the fact that other 2 Czech centers already filed their application

pro akreditaci pro tři subjekty ÚHK: Komplement laboratoří ÚHK, Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku a Kalibrační centrum ÚHK. Komplement laboratoří ÚHK provádí vysoce specializovaná laboratorní vyšetření. Kvalita výsledků laboratorních vyšetření je zajištěna personálním obsazením laboratoře a uplatněním nejnovějších poznatků při realizaci laboratorních vyšetření. V souladu s vývojem vědy a techniky a s potřebami klientů neustále aktualizujeme rozsah vyšetření. Některé laboratoře slouží jako národní referenční laboratoře a spolupracují na přípravě vzorků pro externí hodnocení kvality v rámci České republiky.

Oddělení biomedicínského inženýrství (OBMI) poskytuje specializovanou podporu klinickým, transfuziologickým i výzkumným pracovištím. Zajišťuje především pravidelné bezpečnostně-technické kontroly a opravy zdravotnických prostředků a laboratorní techniky v rozsahu požadovaném zákonem o zdravotnických prostředcích, standardy JCI, JACKIE, SAK a normami ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 a ČSN EN ISO 15189:2007. Je zodpovědné za zajištění metrologického pořádku v Komplementu laboratoří a v Kalibrační laboratoři. OBMI se podílí na výuce s biomedicínskou problematikou na několika vysokých školách v Česku a má svého zástupce ve výboru České společnosti biomedicínského inženýrství a lékařské informatiky ČLS JEP.

Oddělení nemocniční hygieny společně s Covid teamem v roce 2020 úspěšně organizovalo opatření proti probíhající pandemii. Kromě této náročné činnosti provádí i svou běžnou agendu, jako je například provádění sěrů či jiných odběrů a jejich vyhodnocení, sledování a kontrolování dodržování platné legislativy a její implementace do prostředí ÚHK. Kromě kontrolní činnosti je účelem tohoto oddělení i činnost edukační.

Oddělení pro správnou výrobní praxi léčivých přípravků udržuje systém jistění jakosti správné výrobní praxe na třech pracovištích, kde probíhá výroba a kontrola kvality vlastních léčivých přípravků moderní terapie pro klinická hodnocení.

ÚHK je od roku 2017 výrobcem povoleným SÚKL. Jedním z výstupů aplikovaného výstupu v ÚHK jsou i nové metody léčby hematologických onemocnění a nově navrhované

for accreditation and 1 center is in preparation, it appears that in future and at the national level the questions of quality management of TPs will attract ever more attention and will become a topic for mutual sharing and exchange of professional experience.

For many years now the IHBT laboratories have been observing the quality system standards valid for laboratories (CSN EN ISO 15 189 and CSN EN ISO/IEC 17 025). This is proved by the accreditation granted by the Czech Accreditation Institute to three IHBT entities: the IHBT Lab Complex, the National Reference Laboratory for DNA Diagnostics and the IHBT Calibration Centre. The IHBT Lab Complex performs highly specialized laboratory tests. The quality of laboratory tests results is guaranteed through laboratory staffing and the application of the latest findings in the implementation of laboratory tests. In conformity with the development of science and technology and with the clients' needs, we have been continuously updating the range of our tests. Some of our laboratories serve as national reference laboratories and cooperate in the preparation of samples for external quality assessment within the Czech Republic.

The Department of Biomedical Engineering (Czech abbreviation OBMI) provides specialized support of clinical, transfusiology and research centers. It is primarily in charge of regular safety and technical checks and repairs of medical devices and laboratory technology in the extent required by the Medical Devices Act, JCI standards, JACKIE, SAK and the standards CSN EN ISO/IEC 17025:2005 and CSN EN ISO 15189:2007. It is responsible for securing metrological order in the Lab Complex and the Calibration Laboratory. The department is involved in the education in the area of biomedical problems at several Czech higher schools, and it has its representative in the Committee of the Czech Society of Biomedical Engineering and Medical Informatics CMA JEP.

In 2020, the Department of Hospital Hygiene together with the Covid team organized successful measures against the ongoing pandemic. Apart from this demanding activity, it performs its routine work, such as smears or other collections and their evaluation, monitoring and checking

experimentální léčivé přípravky.

the compliance with valid legislation and its implementation in the IHBT environment. Besides control activity, the aim of the department is educational activity.

The Department for Good Manufacturing Practice of Medicinal Products maintains the system for securing the quality of good manufacturing practice at three centers where actual medicinal products of modern therapy are manufactured and their quality is checked for clinical trials.

Since 2017, IHBT is a manufacturer licensed by SÚKL. The outputs of applied research at IHBT include new methods of treatment of hemato-oncological diseases and newly designed experimental medicinal products.



**EKONOMIKA
A PROVOZ
ECONOMICS
AND OPERATION**

Oddělení komunikace se zdravotními
pojišťovnamí
Finanční účtárna
Personální a mzdové oddělení
Oddělení finančního plánování a controllingu
Oddělení evidence majetku
Oddělení veřejných zakázek
Oddělení informačních technologií
Správní oddělení
Provozní oddělení
Obchodní oddělení

Department of Communication with Health
Insurance Companies
Financial Accounting Department
Personnel and Payroll Department
Financial Planning and Controlling Department
Property Records Department
Department of Public Contracts
Department of Information Technologies
Administrative Department
Operation Department
Business Department

Úsek pro ekonomiku

Náměstek: Ing. Janka Sigačevová

Janka.Sigacevova@uhkt , +420 221 977 450

Zástupce náměstka: Ing. Václava Hlaváčková

Vaclava.Hlavackova@uhkt.cz, +420 221 977 267

Úsek pro ekonomiku zajišťuje v ÚHKT komplexní podporu všech procesů poskytovaných ekonomických a personálních služeb. Jeho hlavním úkolem je hospodaření v rámci schváleného rozpočtu v souladu se zákonem o majetku České republiky. Nedílnou součástí aktivit Úseku pro ekonomiku je hledání a navrhování opatření směřujících k zefektivnění činností Ústavu hematologie a krevní transfuze s cílem dlouhodobé ekonomické stability organizace a zajištění podmínek pro realizaci rozvojových vizí ústavu.

Úsek pro ekonomiku se člení na:

- finanční účtárna
- oddělení finančního plánování a controllingu
- oddělení evidence majetku
- personální a mzdové oddělení
- oddělení komunikace se zdravotními pojišťovnami (OKZP)

Rok v číslech

Hospodářský výsledek organizace představoval **122,9** milionu korun po zdanění. Výnosy ÚHKT v roce 2020 byly ve výši **1 780** milionů korun; plán se tak podařilo překročit o **14,5 %**. Objem poskytnuté péče vyjádřený v bodech činil **516,8 milionu bodů**, ve srovnání s rokem 2019 je úroveň péče vyjádřená v bodech vyšší o **2 %**. Počet DRG případů lůžkové péče činil celkem 478 a ve srovnání s předchozím rokem byl pokles o **2 %**. Ošetřovacích dnů bylo **10 893**. Počet pacientů v ambulantní specializované péči byl **24 931** a byl o **434** vyšší než v roce 2019.

Na pořízení nových přístrojů, zdravotní techniky

The Economic Division

Head of Division: Ing. Janka Sigačevová

Janka.Sigacevova@uhkt , +420 221 977 450

Deputy Head: Ing. Václava Hlaváčková

Vaclava.Hlavackova@uhkt.cz, +420 221 977 267

The Economic Division of IHBT is in charge of comprehensive support of all processes by providing economic and personnel service. Its main task is economic activity within the approved budget in conformity with the Act on the Property of the Czech Republic. Part and parcel of the activities of the Economic Division is the search and suggesting of measures geared towards increasing the efficiency of activities of the Institute of Hematology and Blood Transfusion with the aim of reaching a long-term economic stability of the organization and securing conditions for the implementation of development visions of IHBT.

The Economic Division is divided into:

- Financial Accounting Department
- Financial Planning and Controlling Department
- Property Records Department
- Personnel and Payroll Department
- Department of Communication with Health Insurance Companies

The year 2020 in numbers

The economic result of IHBT was **122.9** million CZK after tax. The revenues of IHBT in 2020 amounted to **1,780** million CZK; thus, the target was exceeded by **14.5%**. The volume of provided care expressed in points equaled **516.8 million points**; in comparison with 2019 the level of care expressed in points was **2%** higher. The number of DRG cases of inpatient care totaled **478** and, compared to the previous year, the decrease was **2%**. The number of nursing days equaled **10,893**. The number of patients in outpatient specialized care was **24,931** and was by **434** patients higher than in 2019.

147 million CZK was spent on the acquisition of new instruments, medical products and technological equipment

a technologického vybavení budov včetně výstavby a rekonstrukce bylo vynaloženo **147** milionů korun. Průměrný plat zaměstnanců byl **58 000** korun a meziročně vzrostl o **7 %**. Z celkového počtu zaměstnanců má vysokoškolské vzdělání **45 %**.

Finanční účtárna

Kolektiv pracovníků účtáren zajišťuje veškeré činnosti finančního účetnictví. Vykonává funkce vyplývající ze zákona o finanční kontrole. Přípravuje metodiku a stanovuje postupy účtování v souladu s platnými právními předpisy. Zpracovávají statistické výkazy, výkazy dle požadavků MZ ČR, podklady pro daňová přiznání. Zajišťují účetní evidenci jednotlivých grantů, projektů a dotací včetně přípravy podkladů pro průběžné a závěrečné zprávy.

Oddělení finančního plánování a controllingu

Přípravuje krátkodobé a střednědobé rozpočty ÚHKT, finanční plány a rozborů hospodaření organizace. Sleduje hospodaření a plnění finančních plánů dle jednotlivých nákladových středisek, zajišťuje ekonomickou stránku projektů.

Oddělení evidence majetku

Zajišťuje veškerou evidenci hmotného, nehmotného majetku organizace a zapůjčeného majetku včetně smluv. Provádí zařazení, vyřazení a převody dlouhodobého majetku ve spolupráci s inventarizačními pracovníky a podle pokynů vedoucích útvarů. Realizuje řádné a mimořádné inventury majetku, připravuje odpisové plány, spolupracuje s finanční účtárnou.

Personální a mzdové oddělení (PaM)

Do působnosti oddělení náleží zejména zajišťování plnění veškerých povinností, které plynou ÚHKT z jeho postavení zaměstnavatele a povinností zajišťovat kompletní personální

of buildings, including construction and reconstruction. The employees' monthly salary averaged **58,000 CZK**, rising by **7%** year on year. **45%** of the total number of employees has university education.

Financial Accounting Department

The team of accounting staff members is in charge of all financial accounting activities. They perform functions stemming from the Act on Financial Control. They prepare methodology and establish accounting practices in conformity with valid legislation. They process statistical reports, statements according to requirements of the Ministry of Health of the CR, and data for tax returns. They keep records of individual grants, projects and subsidies, including the preparation of data for current and final reports.

Financial Planning and Controlling Department

Its staff members prepare short-term and medium-term budgets of IHBT, financial plans and analyses of the organization's economic activities. They monitor the economic activities and the execution of financial plans by the various cost centers, and are in charge of the economic aspect of projects.

Property Records Department

The department is in charge of all records of the organization's tangible and intangible assets and loaned property, including contracts. It performs the inclusion, exclusion and transfers of long-term assets in cooperation with inventory staff members and according to instructions given by heads of the various departments. It carries out periodic and extraordinary stocktaking, prepares depreciation plans and cooperates with the Financial Accounting Department.

Personnel and Payroll Department

The particular competence of this department comprises the supervision over the meeting of all obligations ensuing from the position of IHBT as an employer and of the obligations

evidence zaměstnanců. Přípravuje a eviduje všechny smluv se zaměstnanci týkající se pracovněprávních vztahů a všechna právní jednání s těmito smlouvami související. Zajišťuje oblast personálního plánování, podílí se na kontrole a plnění kvalifikačních předpokladů zaměstnanců ve spolupráci s dalšími vedoucími pracovníky. Zajišťuje kompletní zpracování mezd, včetně všech odvodů a srážek ze mzdy podle dotčených právních předpisů, přípravu podkladů pro finanční účtárnu, zúčtování tuzemských cestovních příkazů. Jedná se zdravotními pojišťovnami, správou sociálního zabezpečení, finančním úřadem v otázkách správného výpočtu odvodů z mezd.

Oddělení komunikace se zdravotními pojišťovnami (OKZP)

Do působnosti oddělení náleží zejména evidence a kontrola smluv se zdravotními pojišťovnami o úhradě poskytnuté zdravotní péče. Administruje a koordinuje nasmlouvání a dosmlouvání kapacit a výkonů, vede agendu záloh a ročního vyúčtování poskytnuté zdravotní péče zdravotním pojišťovnám. Kontroluje a vyúčtovává měsíční dávky dokladů, navrhuje opatření na odstranění chyb. Eviduje kontrolní a revizní zprávy zdravotních pojišťoven a koordinuje postup při podávání námitek proti nim. Sleduje a informuje o změnách vnějších i vnitřních podmínek úhrady zdravotní péče, zpracovává podklady pro jednání o úhradách se zdravotními pojišťovnami. Metodicky vede vedoucí útvarů s cílem dosažení optimálního a úplného vykázání poskytované péče.

Úsek pro provoz a investice

Náměstek: Mgr. Michal Tůma

Michal.Tuma@uhkt.cz, +420 221 977 242

Zástupce náměstka: Ing. Václav Náprstek

Vaclav.Naprstek@uhkt.cz, +420 221 977 211

related to the complete personnel record keeping for employees. It prepares and registers all contracts with employees related to labor relations and all legal proceedings connected with these contracts. It is in charge of personnel planning, and it takes part in the control and meeting of all qualification conditions of employees in cooperation with other officials. It provides complete processing of wages, including all levies and income deductions according to relevant legislation, the preparation of data for the Financial Accounting Department, and the settlement of national travel expense reports. It negotiates with health insurance companies, the administration of the welfare system, and the revenue authority about issues of tax payments.

Department of Communication with Health Insurance Companies

The main competence of this department includes the record keeping and control of contracts with health insurance companies on the reimbursement of provided health care. It administers and coordinates negotiations about the initiation and termination of contracts on capacities and procedures; it keeps the records of advance payments and annual settlement of provided health care for health insurance companies. It controls and settles monthly batches of documents, and proposes measures for the elimination of errors. It keeps records of audit and revision reports of health insurance companies and coordinates the process of filing objections against them. It monitors and reports changes of external and internal conditions of the reimbursement of health care, and it processes data for negotiations on reimbursements with health insurance companies. It gives methodological guidance to heads of the various with the aim of reaching an optimal and complete reporting of provided health care.

The Operation and Investments Division

Head of Division: Mgr. Michal Tůma

Michal.Tuma@uhkt.cz, +420 221 977 242

Deputy Head: Ing. Václav Náprstek

Vaclav.Naprstek@uhkt.cz, +420 221 977 211

Úsek pro provoz a investice zajišťuje komplexní technickou a logistickou podporu všech klinických a vědeckých pracovišť, výstavbu a provoz budov včetně souvisejících technologií.

Oddělení veřejných zakázek a obchodu

Vedoucí: Ing. Václav Náprstek

Vaclav.Naprstek@uhkt.cz, +420 221 977 211

Zástupkyně vedoucího: Mgr. Radka Straková
Radka.Strakova@uhkt.cz, +420 221 977 640

Oddělení veřejných zakázek a obchodu se skládá z obchodního referátu a referátu veřejných zakázek. Obchodní referát zajišťuje činnosti v oblasti nákupu a zásobování jednotlivých pracovišť ÚHKT zdravotnickým i nezdravotnickým materiálem dle zásad hospodárnosti nákupu, a to včetně realizace výběrových řízení v systému elektronického tržiště. Zodpovídá za řádné vedení předepsané agendy a řádný provoz skladového hospodářství.

Referát veřejných zakázek připravuje dokumentace veřejných zakázek a zajišťuje jejich kompletní administraci s důrazem na maximální transparentnost, přiměřenost a účelnost, rovné zacházení a zákaz diskriminace, vše v souladu s platnou legislativou. Dále zodpovídá za uzavření smluv na základě výsledků veřejných zakázek.

Správní oddělení

Vedoucí: Jana Preislerová

Jana.Preislerova@uhkt.cz, +420 221 977 402

Správní oddělení zajišťuje službu pokladny a podatelny, koordinuje správu a oběh dokumentů, datové schránky, archivní služby a skartační řízení v rámci celé organizace. Ve své gesci má též evidenci smluvních vztahů, administrativní podporu náměstka provozně-investičního úseku a oddělení veřejných zakázek, dále správu Registru smluv a koordinaci parkovacího systému. V návaznosti na Registr smluv se dále podílí na controllingu zveřejnění objednávek a smluv před samotným finančním plněním.

The Operation and Investments Division is in charge of comprehensive technical and logistical support of all clinical and scientific centers, and the construction and operation of buildings, including related technologies.

Department of Public Contracts and Trade

Head: Ing. Václav Náprstek

Vaclav.Naprstek@uhkt.cz, +420 221 977 211

Deputy Head: Mgr. Radka Straková
Radka.Strakova@uhkt.cz, +420 221 977 640

The Department of Public Contracts and Trade comprises a trade office and an office of public contracts. The trade office is in charge of activities in the field of purchase and procurement of medical and non-medical material for individual IHBT centers according to principles of economy of purchase, including the implementation of tendering procedures in the system of an electronic marketplace system. It is responsible for proper record keeping and proper stock control.

The office of public contracts prepares documents of public contracts and is in charge of their complete administration with an emphasis on maximum transparency, adequacy and purposefulness, equal treatment and prohibition of discrimination, all this in conformity with valid legislation. Furthermore, it is responsible for concluding contracts based on the results of public tenders.

Administrative Department

Head: Jana Preislerová

Jana.Preislerova@uhkt.cz, +420 221 977 402

The Administrative Department is in charge of the service of the cash office and the filing office. It coordinates the administration and circulation of documents, the data box, archival service and shredding equipment within the entire organization. It also manages the keeping of records of contractual relations, administrative support of the deputy director in charge of the Operation and Investments Division and the Department of Public Contracts, plus the administration of the Registry of Contracts and the

Provozní oddělení

Vedoucí: Daniela Prouzová

Daniela.Prouzova@uhkt.cz, +420 221 977 258

Provozní oddělení zajišťuje služby údržby, elektra, ostrahy objektů, úklidu, parkových úprav a nakládání s odpady. Má za cíl řádně koordinovat a uvádět do praxe veškeré legislativní požadavky plynoucí ze správy objektů a pozemků, dále minimalizovat dopady na zhoršené pracovní podmínky zaměstnanců, klást velký důraz na BOZP a PO a v neposlední řadě eliminovat i dopady ekonomické.

Oddělení IT

Vedoucí: Petr Ševčík DiS.

Petr.Sevcik@uhkt.cz, +420 221 977 120

Zástupce vedoucího: Ondřej Tomášek

Ondrej.Tomasek@uhkt.cz, +420 221 977 338

Oddělení informačních technologií zajišťuje komplexní správu počítačové a komunikační infrastruktury. Spravuje informační systémy v rámci ÚHKT a provozní hardware. Rovněž zajišťuje provoz webu www.uhkt.cz a komunikaci s dodavateli. V roce 2020 byl spuštěn nový klinický informační systém, na jehož implementaci se oddělení IT podílí. Maximální pozornost je věnována kybernetické bezpečnosti, bezpečnostním pravidlům a opatřením.

coordination of then parking system. In connection with the Registry of Contracts it is also involved in the controlling of the publication of orders and contracts prior to their actual fulfilment.

Operation Department

Head: Daniela Prouzová

Daniela.Prouzova@uhkt.cz, +420 221 977 258

The Operation Departments looks after the services of maintenance, electrical installation, guarding of buildings, cleaning, park vegetation and waste management. Its goal is to properly coordinate and practically implement all legislative requirements ensuing from the administration of buildings and grounds, as well as to minimize the impact on staff members' worsened work conditions, laying much emphasis on occupational health and safety and fire protection and, last but not least, eliminating the economic impact.

Department of IT

Head: Petr Ševčík DiS.

Petr.Sevcik@uhkt.cz, +420 221 977 120

Deputy Head: Ondřej Tomášek

Ondrej.Tomasek@uhkt.cz, +420 221 977 338

The Department of Information Technologies is in charge of a comprehensive administration of computer and communication infrastructure. It administers the information systems in the framework of IHBT and operation hardware. It also runs the website www.uhkt.cz and communication with contractors. The year 2020 saw the launching of a new clinical information system and the IT Department has been involved in its implementation. Maximum attention is paid to cyber security, and to safety rules and measures.

Oddělení výstavby

Vedoucí: Ing. Veronika Mihulková

Veronika.Mihulkova@uhkt.cz, +420 221 977 605

Oddělení výstavby v rámci koncepce stavebního rozvoje ÚHKT připravuje a realizuje činnosti v oblasti stavebních investic. Oddělení koordinuje plnění všech kontrolních bodů s výstavbou spojených, od přípravy zadávací dokumentace a výběrových řízení až k samotné realizaci díla.

Významným krokem v roce 2020 bylo zahájení stavby pavilonu progresivní medicíny a rozsáhlé rekonstrukce dárcovské části objektu A.


Construction Department

Head: Ing. Veronika Mihulková

Veronika.Mihulkova@uhkt.cz, +420 221 977 605

In the framework of the conception of the IHBT construction development, the Construction Department prepares and carries out activities in the field construction investments. It coordinates the fulfilment of all control points connected to construction, from the preparation of tender documents to tendering procedures and the actual work implementation.

An important step in 2020 was the start of the construction of the Pavilion of Progressive Medicine and an extensive reconstruction of the donor section of building A.



**GRANTOVÉ PROJEKTY
KLINICKÉ STUDIE
PUBLIKACE**

**GRANT PROJECTS
CLINICAL STUDIES
PUBLICATIONS**

Grantové projekty

AZV MZ – Agentura pro zdravotnický výzkum MZ ČR

Reg. č.: AZV 16-31689A

Název: Protinádorové účinky chelatační léčby u myelodysplastického syndromu a identifikace nových terapeutických biomarkerů

Trvání: 2016–2020

Řešitel: prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

Spoluřešitel: Doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D., LF UP Olomouc

Anotace: Myelodysplastický syndrom (MDS) je klonální onemocnění charakterizované neefektivní krvetvorbou projevující se periferní cypopenií a dysplastickými změnami v kostní dřeni. Pro pacienty ze skupiny s nízkým rizikem je typická transfúzní závislost, která vede k přetížení organismu železem. Chelatační terapie by mohla mít, kromě odstranění nadbytku toxického železa, i antiproliferační a proapoptotické účinky. Ukázali jsme, že in vitro došlo u pluripotentních kmenových buněk vystaveným chelátoru k aktivaci odpovědi na poškozenou DNA a k indukci apoptózy. In vivo, u myšího modelu preleukemie, vedla 6týdenní aplikace chelatačních látek k poklesu aktivně replikujících buněk a k aktivaci G2/M kontrolního uzlu buněčného cyklu. Cílem projektu je popsat vliv chelatace na aktivaci stresových drah a kontrolních bodů buněčného cyklu a nalézt nové molekulární markery k identifikaci pacientů, kteří budou z léčby profitovat vzhledem k délce přežití bez progresu do leukemie. Kandidátní biomarkery budou ověřovány molekulárně-geneticky a imunohistochemicky na souboru chelatovaných nemocných s MDS.

Reg. č.: AZV 16-33485A

Název: Integrativní analýza genomických změn v DNA reparačních systémech u myelodysplastického syndromu a jejich význam v patogenezi

Trvání: 2016–2020

Řešitel: Mgr. Monika Belíčková, Ph.D.

Anotace: Myelodysplastický syndrom (MDS) se vyznačuje vysokou heterogenitou klinického průběhu a sklonem k

Grant Projects

AZV MZ – Czech Health Research Council

Reg. no.: AZV 16-31689A

Title: Anti-tumor effects of chelation therapy in myelodysplastic syndrome and identification of new therapeutic biomarkers

Duration: 2016–2020

Investigator: prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

Co-investigator: Doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D., LF UP Olomouc

Abstract: Myelodysplastic syndrome (MDS) is a clonal disorder characterized by ineffective hematopoiesis and increased risk of transformation to leukemia. Low-risk MDS patients are typically transfusion dependent, and their chelation therapy not only removes surplus of toxic iron stores, but has also antiproliferative and proapoptotic effects on tumor cells. Our preliminary data revealed an activation of DNA damage response (DDR) signaling and induction of apoptosis in pluripotent stem cells exposed to iron chelator in vitro. In vivo, 6-week applications of chelator to preleukemia mice lead to a decrease of actively replicating myeloid cells and an activation of G2/M checkpoint. Correspondingly, we observed an activation of stress signaling pathways in CD34+ cells from low-risk MDS patients receiving chelation therapy. We propose: to elucidate how iron chelation reinforces DDR and cell cycle checkpoints in oncogene-positive preleukemia cells in vivo; to identify biomarkers in MDS useful in clinical practice, allowing the prediction of a positive effect of chelation therapy for leukemia free survival.

Reg. no.: AZV 16-33485A

Title: Integrative analysis of genomic changes in DNA repair systems in myelodysplastic syndrome and their relevance in the pathogenesis

Duration: 2016–2020

Investigator: Mgr. Monika Belíčková, Ph.D.

Abstract: Myelodysplastic syndrome is characterized by a high heterogeneity of clinical course and an increased risk

rozvoji akutní myeloidní leukemie. Nabízí se, že za dosud neobjasněným mechanismem vzniku nemoci, leukemickou transformací a velkým počtem mutací detekovaných v nedávné době by mohla být snižená funkce DNA reparačních systémů, které za fyziologických podmínek tvoří účinnou protektivní bariéru proti malignizaci buněk. V rámci projektu chceme sledovat změny na úrovni genomu, transkriptomu a proteomu v 84 genech zapojených do mechanismů reparace DNA a detekovat reparační aktivitu buněk pomocí in vitro testů. Vzhledem k tomu, že onemocnění má klonální charakter, budou změny sledovány hlavně na úrovni CD34+ pluripotentních hematopoetických buněk kostní dřeně. Data získána pomocí moderních technik molekulární genetiky, jako např. cíleného sekvenování nové generace, budou podrobně korelována s klinickými daty pacientů. Navrhovaný projekt si klade za cíl identifikovat nové molekulární biomarkery podílející se na vzniku a progresi onemocnění a nalézt nové potenciální terapeutické cíle.

Reg. č.: AZV 17-31398A

Název: Dlouhé nekódující RNA u myelodysplastického syndromu: klinický význam a implikace pro patogenezi

Trvání: 2017–2020

Řešitel: Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Spoluřešitel: doc. Ing. Jiří Kléma, Ph.D., FEL ČVUT Praha

Anotace: Dlouhé nekódující RNA (lncRNA) regulují diferenciaci krevních buněk na mnoha úrovních a jejich abnormální exprese přispívá k různým hematopoetickým onemocněním. lncRNA se mohou ukázat jako významné diagnostické a prognostické markery přispívajícími k včasné detekci progresu MDS a zlepšení přežití pacientů či se mohou v budoucnu stát potenciálními terapeutickými cíli. V navrhovaném projektu budou prováděna celogenomová vyšetření hladin lncRNAs u pacientů s MDS a srovnání expresních profilů mezi různými skupinami pacientů s cílem najít lncRNAs s výrazně odlišnými hladinami a potenciálním využitím v diagnostice MDS. Protože znalosti o jednotlivých lncRNA jsou často limitovány na pouhou anotaci transkriptu, budou v rámci projektu dále studovány příčiny, role a důsledky deregulovaných lncRNA pro patogenezi MDS

of development of acute myeloid leukemia. We assume that the as yet unexplained mechanism of the disease, leukemia transformation and a large number of mutations detected recently may be related to a decreased function of DNA repair systems, which under physiological conditions form an effective protective barrier against malignant transformation of cells. The project will monitor changes in 84 genes involved in DNA repair mechanisms at the level of genome, transcriptome and proteome, and reparative cell activity using in vitro assays. Due to the clonal character of the disease, the changes will be observed mainly in pluripotent hematopoietic CD34+ bone marrow cells. Data obtained using modern molecular genetic techniques such as targeted next generation sequencing will be closely correlated with clinical data of the patients. The proposed project aims to identify new molecular biomarkers involved in the formation and progression of the disease and to find new potential therapeutic targets.

Reg. no.: AZV 17-31398A

Title: Long non-coding RNAs in myelodysplastic syndromes: clinical relevance and implication in the pathogenesis

Duration: 2017–2020

Investigator: Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Co-investigator: Doc. Ing. Jiří Kléma, Ph.D., FEL ČVUT Praha

Abstract: Long non-coding RNAs (lncRNAs) regulate hematopoietic lineage differentiation at almost every stage and their abnormal expression may contribute to various hematopoietic disorders. They may become useful diagnostic and prognostic markers contributing to detection of the MDS progression and increase of the patients' survival, and even potential therapeutic targets in future. In the proposed project, genome-wide screening of lncRNA levels in MDS patients will be employed to compare expression profiles between various risk groups of patients with the aim to find lncRNAs with significantly different levels and relevance to MDS diagnostics. Because the knowledge about individual lncRNAs is often limited to the simple transcript annotation, the causes, roles and consequences of deregulated lncRNAs in the

pomocí experimentálních a výpočetních přístupů.

Reg. č.: AZV 17-31593A

Název: Analýza T buněk proti BK polyomaviru a lidskému adenoviru u příjemců haploidentického štěpu s hemoragickou cystitidou

Trvání: 2017–2021

Řešitel: RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

Anotace: Cílem je analyzovat rizikové faktory zodpovědné za růst případů hemoragické cystitidy (HC) u onkohematologických pacientů po alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk (HSCT), což by mělo pomoci při hledání osob s vysokým rizikem HC. Hlavními analyzovanými faktory budou typ imunosupresivní terapie pro prevenci reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) aplikované po transplantaci, spojitost s haploidentickou HSCT, přítomnost infekce viry BKV a AdV a stav protivirové buněčné imunity. Analýza antivirové specifické T buněčné odpovědi u pacientů s HC s infekcí BKV a AdV umožní určit protektivní hladinu antivirových efektorových T buněk a charakterizovat fenotyp, funkční aktivitu a antigenní specifitu T buněk odpovědných za virologickou a klinickou odpověď. Výsledky studie jsou nepostradatelné pro zavedení a optimalizaci protokolů pro expanzi antivirových T buněk využitelných pro adoptivní imunoterapii oportunních virových infekcí ohrožujících dospělé i dětské pacienty po transplantaci HSCT.

Reg. č.: AZV NV18-03-00227

Název: Identifikace a monitorování prognostických a prediktivních molekulárních markerů progresu u pacientů s myelodysplastickým syndromem s nízkým rizikem

Trvání: 2018–2021

Řešitel: Mgr. Monika Beličková, Ph.D.

Anotace: Myelodysplastický syndrom (MDS) je heterogenní skupina klonálních onemocnění s neefektivní hematopoézou a se zvýšeným rizikem transformace do akutní myeloidní leukemie. Časně fáze MDS se dají považovat za premaligní stav s relativně dobrou prognózou. Navzdory tomu dojde u části pacientů k progresi nemoci a zkrácení celkové doby přežití.

pathogenesis of MDS will be studied by experimental and computational approaches.

Reg. no.: AZV 17-31593A

Title: Analysis of T cells specific for BK polyomavirus and Adenovirus in haploidentical transplant recipients with hemorrhagic cystitis

Duration: 2017–2021

Investigator: RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

Abstract: The aim of the proposed project is to analyze risk factors contributing to recently recorded elevation in number of cases of hemorrhagic cystitis (HC) in oncohematological patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) what could help to find subjects at high risk of this type of morbidity. The main analyzed factor will include the type of used posttransplant immunosuppressive prevention of GvHD, connection with haploidentical HSCT and association with BKV and AdV infection and the state of antiviral cellular immune response. Analysis of anti-viral effector T cells in HC patients with BK or AdV infection will result in determination of protective levels of anti-viral effector T cells and in characterization of phenotype, functional activity and antigenic specificity of T cells responsible for virological and clinical response. The results of the study are essential for adoption and optimization of protocols for expansion of T cells for immunotherapy of opportunistic viral infections that endanger adult and children HSCT patients.

Reg. no.: AZV NV18-03-00227

Title: Identification and monitoring of prognostic and predictive molecular markers in patients with low risk myelodysplastic syndrome

Duration: 2018–2021

Investigator: Mgr. Monika Beličková, Ph.D.

Abstract: Myelodysplastic syndrome (MDS) is a heterogeneous group of clonal diseases with ineffective

V tomto projektu se zaměříme na identifikaci molekulárních markerů, které by predikovaly progresi onemocnění u pacientů s MDS s nízkým rizikem v době diagnózy. Plánujeme provést mutační skrining retrospektivních párových vzorků pacientů s progresí a bez ní. Na základě zjištěných markerů progresi provedeme prospektivní mutační studii u pacientů s detekovanými nepříznivými mutacemi a budeme sledovat dynamiku mutační zátěže pomocí citlivé metody droplet digitální PCR. Pro kompletnější obraz progresi provedeme také komparativní analýzu mRNA expresních profilů sériových vzorků pacientů. Zavedené metody zpřesní prognózu pacienta, umožní předvídat progresi a optimalizovat léčbu.

Reg. č.: AZV NU20-03-00412

Název: Role transpozibilních elementů a PIWI-interagujících RNA u myelodysplastického syndromu a jejich možné klinické využití

Trvání: 2020–2023

Řešitel: Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Spoluřešitel: doc. Ing. Jiří Kléma, Ph.D., FEL ČVUT Praha

Anotace: Myelodysplastický syndrom (MDS) je maligní porucha krvetvorby způsobená narušenou diferenciací hematopoetických kmenových buněk (HSC). Významným rysem HSC u MDS je nestabilita genomu, přičemž jedním z faktorů destabilizujících jeho integritu je mobilizace transpozibilních elementů (TE). PIWI-interagující RNA (piRNA) mobilizaci TE potlačují a fungují tak jako centrální molekuly kmenových buněk v mechanismech zachování integrity genomu. Navzdory nedávnému pokroku v pochopení patogeneze MDS nebyl dosud vliv TE a piRNA na vznik a progresi tohoto onemocnění studován. Cílem tohoto projektu je analýza transkripce TE a piRNA pomocí sekvenování nové generace a charakterizace jejich role u MDS. Kromě studia zapojení těchto molekul na patogenezi MDS bude testována zejména jejich využití jako potenciálních molekulárních markerů progresi onemocnění. Dále budou analyzovány možné vlivy léčby azacitidinem na transkripci TE a piRNA, tak aby se ověřila jejich možná použitelnost jako nových prediktivních markerů léčebné odpovědi a prevence relapsu.

hematopoiesis and a higher risk of transformation to acute myeloid leukemia. The early stages of MDS can be considered a premalignant condition with relatively good prognosis. Despite this, some patients experience disease progression and shorten the overall survival time. In this project, we will focus on the identification of specific mutations at the time of diagnosis in patients with *low risk* MDS that would predict the disease progression. We will perform a mutational screening in retrospective paired samples of progressing patients and those without progression. We will carry out a prospective mutational study in patients with detected unfavorable mutations and monitor the dynamics of mutational burden using sensitive droplet digital PCR. To complete background of the progression process, we will perform a comparative analysis of mRNA expression profiles of patients' serial samples. Introduced methods will refine the patient's prognosis, allow progression prediction and optimize treatment.

Reg. no.: AZV NU20-03-00412

Title: Role of transposable elements and PIWI-interacting RNAs in myelodysplastic syndrome and their potential clinical applications

Duration: 2020–2023

Investigator: Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Co-investigator: Doc. Ing. Jiří Kléma, Ph.D., FEL ČVUT Praha

Abstract: Myelodysplastic syndrome (MDS) is a malignant hematopoietic disorder characterized by aberrant differentiation of hematopoietic stem cells (HSCs). Genome instability is one of the key features of MDS HSCs and mobilization of transposable elements (TEs) is a known destabilizing factor of the genome integrity. *PIWI*-interacting RNAs (piRNAs) inhibit TE mobilization, functioning as central players in stem cell mechanisms to preserve genome integrity. Despite recent advances in the understanding of MDS pathogenesis, the role of TEs and piRNAs in development and progression of the disease has not been studied yet. We will analyze transcription of TEs and piRNAs by next generation sequencing and examine

GA ČR – Grantová agentura České republiky

Reg. č.: 18-18407S

Název: Epigenetické, genetické a molekulární faktory potřebné pro mutagenезi onkogenu BCRABL1 v průběhu léčby Ph pozitivních buněk inhibítorem tyrosinkináz

Trvání: 2018–2020

Řešitel: doc. Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Anotace: Úspěšná léčba chronické myeloidní leukémie (CML) je založena na cílené inhibici aktivity BCRABL1 kinázy specifickými inhibitory (TKI), v první linii léčby zejména imatinibem. Mutace v kinázové doméně BCR-ABL1 představují významný mechanismus vzniku rezistence na léčbu TKI. V tomto projektu vycházíme z hypotézy, že rozvoj rezistence na TKI související s mutacemi v kinázové doméně BCR-ABL1 nepředstavuje pouze pasivní proces selekce již pre-existujících klonů nesoucích mutace. Mutace v kinázové doméně BCR-ABL1 mohou vznikat de novo během léčby na základě působení subletálních koncentrací TKI za účasti genetických, epigenetických a molekulárních faktorů, umožňujících leukemické buňce uniknout kontrole buněčného cyklu a DNA reparačním procesům. Předpokládáme, že identifikujeme molekuly a klíčové spojující články signálních drah odpovědných za rezistentní fenotyp, které mohou být terapeuticky ovlivnitelné a mohou nalézt uplatnění v časně předpovědi náchylnosti CML buněk k mutagenезi BCR-ABL1.

Cíle projektu: Odhalení genetických, epigenetických a environmentálních faktorů potřebných pro mutagenезi onkogenu BCR-ABL1 v průběhu léčby CML buněčných linií a krvetvorných buněk in vitro.

Reg. č.: 20-19162S

Název: Cirkulární RNA a jejich vztah k sestřihu RNA v patogenezi myelodysplastického syndromu

Trvání: 2020–2022

Řešitel: Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Spoluřešitel: doc. Ing. Jiří Kléma, Ph.D., FEL ČVUT Praha

Anotace: Mutace v sestřihových faktorech představují nejčastější molekulární změny u myelodysplastického

their activity in MDS. Besides the implication in the MDS pathogenesis, utilization of TEs and piRNAs as potential molecular markers of the disease progression will be tested. Moreover, possible effect of azacitidine treatment on TE and piRNA transcriptions will be evaluated to prove their applicability as novel predictive markers for the drug responsiveness and prevention of relapse.

GA ČR – Czech Science Foundation

Reg. no.: 18-18407S

Title: Epigenetic, genetic and molecular factors required for mutagenesis of oncogene BCR-ABL1 during Ph+ cells treatment with tyrosine kinase inhibitor

Duration: 2018–2020

Investigator: doc. Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Abstract: The successful therapy of chronic myeloid leukemia (CML) is based on targeted inhibition of *BCR-ABL1* kinase activity by specific inhibitors (TKI), preferentially by imatinib in the first line treatment. Mutations in the *BCR-ABL1* kinase domain represent a quite frequent mechanism of acquired resistance to the TKI therapy. We hypothesize, that development of TKI resistance by acquisition of *BCR-ABL1* mutations during imatinib treatment is not just passive process of selection of preexisting mutated clones. *BCR-ABL1* mutations may be acquired de novo, requiring a sublethal concentration of imatinib in concert with intrinsic epigenetic, genetic and molecular factors enabling to escape of subclones in early apoptosis from cell cycle control and DNA reparation process. We expect that identified molecules and connected nodes of the networks required for resistant phenotype may be potentially druggable and useful for early prediction of predisposition of CML cells to acquire *BCR-ABL1* mutations.

Project goals Detection of genetic, epigenetic and environmental factors required for mutagenesis of oncogene BCR-ABL1 during treatment of CML cell lines and hematopoietic cells in vitro.

syndromu (MDS). I přes určité pokroky v pochopení jejich role v patogenezi MDS, nebyl doposud studován vliv těchto mutací na cirkulární RNA (circRNA).

CircRNA tvoří skupinu RNA s kovalentně uzavřenou kontinuální smyčkou, jejichž rozšířenost a četnost byla popsána teprve nedávno. Protože většina circRNA je produkována procesem tzv. backsplicing, předpokládáme, že aberantní sestřih pozorovaný v MDS ovlivňuje také tvorbu circRNA. S ohledem na rozličné regulační funkce circRNA pravděpodobně přispívá jejich deregulace k patogenezi MDS. Změněné hladiny jednotlivých circRNA mohou navíc sloužit jako nové molekulární biomarkery pro stanovení prognózy a terapeutické odpovědi na léčbu MDS. CircRNA mohou také tvořit novou třídu molekulárních cílů pro léčbu tohoto onemocnění. V navrhovaném projektu využijeme sekvenování nové generace, integrativní datové analýzy a funkční studie k identifikaci a charakterizaci rolí circRNA v patogenezi MDS. Budeme zkoumat vztah mezi circRNA a sestřihovými mutacemi u MDS pomocí sekvenování nové generace. Budeme korelovat hladiny circRNA a lineárních transkriptů. Funkce vybraných circRNA budou stanoveny pomocí integrativních datových analýz a funkčních testů.

Ostatní

Merck & Dohme, s. r. o.

Reg. č.: Merck & Dohme, s. r. o., IIS ID 37651

Název: **Očkování proti HPV u pacientů s rekurentní laryngální papillomatózou – je možné zlepšit kvalitu jejich života?**

Trvání: 2011–2021

Řešitel: **RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.**

Spoluřešitel: MUDr. Jitka Vydrová – Medical Healthcom., s. r. o., Hlasové centrum, Praha

Anotace: Klinická studie fáze III b. Hlavním cílem studie bude ověřit vliv očkování tetravalentní HPV vakcínou na vznik rekurentních papillomatózních lézí a interval remisí u pacientů s RRP. Vedlejšími cíli bude zjištění typu HPV v lézi RRP, sledování hladin protilátek proti HPV antigenům obsaženým ve vakcíně, případně složkám imunitního systému v odebraném séru.

Reg. no.: **20-19162S**

Title: **Circular RNAs and their relation to RNA splicing in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes**

Duration: 2020–2022

Investigator: **Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.**

Co-investigator: Doc. Ing. Jiří Kléma, Ph.D., FEL ČVUT Praha

Abstract: Mutations in RNA splicing factors represent the most common molecular alterations in myelodysplastic syndromes (MDS). Despite some advances in the understanding of their roles in MDS pathogenesis, the impact of mutated splicing factors on *circular RNAs* (circRNAs) has not been studied. CircRNAs constitute a class of RNAs with a covalently closed continuous loop that has recently been discovered to be widespread and abundant. Because most circRNAs are produced by backsplicing, we hypothesize that the aberrant splicing seen in MDS also affects circRNA formation. With respect to the various regulatory functions of circRNAs, their deregulation likely contributes to MDS pathogenesis. Moreover, altered levels of particular circRNAs might serve as new molecular biomarkers for the prognosis and therapeutic response in MDS management. Moreover, circRNAs might form a new class of molecular targets for MDS treatment. In this project, we will use next generation sequencing and perform integrative data analyses and functional studies to identify and characterize circRNA roles in MDS pathogenesis. We will explore the relationship between circRNA and splicing mutations in MDS with the help of new generation sequencing. We will correlate circRNA levels and linear transcripts. Functions of selected circRNAs will be determined with the help of integrative data analyses and functional tests.

Others

Merck & Dohme s.r.o.

Reg. no.: Merck & Dohme s.r.o. IIS ID 37651

Title: **Vaccination against HPV in patients with recurrent laryngeal papillomatosis – Is it possible to improve the quality of their lives?**

Spolupráce na mimoústavních projektech
AZV MZ – Agentura pro zdravotnický výzkum MZ ČR

Reg. č.: **AZV 17-28055A**

Název: Stanovení fenotypu a funkce imunitních buněk jakožto prediktorů odpovědi na léčbu u pacientů se spinocelulárním karcinomem hlavy a krku

Trvání: 2017–2021

Řešitel: RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D., PŘF UK Praha

Spoluřešitel: **RNDr. Eva Hamšíková**

Anotace: Naším cílem je stanovení prognostických faktorů u pacientů se spinocelulárním karcinomem hlavy a krku (HNSCC) ve snaze zlepšit předpověď klinické odpovědi na současné léčebné postupy. Provedeme komplexní srovnávací analýzu infiltrujících a cirkulujících buněk imunitního systému u pacientů s nádorem HNSCC, asociovaným či neasociovaným s papilomavirovou infekcí. Konkrétním cílem naší studie je vyhodnotit roli imunosupresivních regulačních CD4+ T buněk a PD-1+CD8+ T buněk a jejich nově stanovených podtypů a význam exprese proangiogenního faktoru VEGF. Bude posouzen i prognostický význam úrovně exprese specifických molekul v epiteliálních nádorových buňkách a v plasmacytoidních dendritických (pDC) buňkách sdružených s nádorem. Sto bioptických vzorků zalitých do parafinu bude vyšetřeno retrospektivně a přibližně sto padesát vzorků čerstvých bioptických tkání a krve od pacientů s HNSCC bude vyšetřeno prospektivně pomocí metod imunohistochemie, PCR, hmotnostní cytometrie a funkčních testů. Imunitní parametry v periferní krvi budou sledovány u pacientů i po léčbě.

Reg. č.: **AZV 17-28778A**

Název: Molekulární a imunologická charakterizace hraničních změn ledvinných štěpů

Trvání: 2017–2020

Řešitel: Mgr. Petra Hrubá Ph.D., IKEM Praha

Spoluřešitel: **Ing. Michaela Dostálová Merkerová Ph.D.**

Anotace: Hraniční změny jsou častým histologickým nálezem ledvinných štěpů jak v období brzy po transplantaci, tak v tříměsíčních protokolárních biopsiích. Přestože tento nález

Duration: 2011–2021

Investigator: **RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.**

Co-investigator: MUDr. Jitka Vydrová – Medical Healthcom., s.r.o.,

Voice Center (Hlasové centrum), Prague

Abstract: Clinical study phase III b. The main objective will be to check the influence of vaccination with tetravalent HPV vaccine on the formation of recurrent papillomatosis lesions and the interval of remissions in patients with RRP. Secondary objectives will include the detection of the HPV type in SRP lesion, the monitoring of levels of antibodies against HPV antigens contained in the vaccine, and possibly components of the immune system in the collected serum.

Cooperation in extra mural projects
AZV MZ – Czech Health Research Council

Reg. no.: **AZV 17-28055A**

Title: Identification of the phenotype and function of immune cells as predictors of the treatment response in patients with squamous cell head and neck cancer

Duration: 2017–2021

Investigator: RNDr. Ruth Tachezy Ph.D., PŘF UK Praha

Co-investigator: **RNDr. Eva Hamšíková**

Abstract: Our aim is the identification of prognostic factors in patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) in an effort to improve the prognosis of clinical response to current therapies. We will make a comprehensive comparative analysis of infiltrating and circulating cells of the immune system in patients with HNSCC, associated or unassociated with papillomavirus infection. A specific aim of our study is to evaluate the role of immunosuppressive regulatory CD4+ T cells and PD-1+CD8+ T cells and their newly identified subtypes and the importance of expression of pro-angiogenic VEGF factor. Prognostic importance of the level of expression of specific molecules in epithelial neoplastic cells and in plasmacytoid dendritic (pDC) cells with associated carcinoma will be also evaluated. One hundred bioptic samples dipped in paraffin will be tested retrospectively and approximately 150 samples

není považován za rejekci, jeho prognóza je nejistá a u podskupiny pacientů dochází následně ke vzniku chronické rejekce. Predikce chronické rejekce v době diagnózy hraničních změn je v současné době problematická. Cílem tohoto projektu je korelovat imunologické a molekulární markery hraničních změn s následnou tvorbou donor specifických protilátek a přítomností dalších znaků chronické T buňkami či protilátkami zprostředkované rejekce.

Reg. č.: AZV 17-29992A

Název: Genetická variabilita BKV v ČR a její vliv na patogenezi infekce u pacientů po transplantaci ledvin

Trvání: 2017–2021

Řešitel: RNDr. Martina Saláková, Ph.D., PŘF UK Praha

1. spoluřešitel: MUDr. Mariana Wohlfahrtová, Ph.D., IKEM Praha

2. spoluřešitel: **RNDr. Viera Ludvíková**

3. spoluřešitel: MUDr. Miroslav Fajtr, FN Hradec Králové

Anotace: Polyomavirem BK (BKV) je infikováno 80 % dospělé populace. Po primární infekci, která proběhne většinou v dětství, zůstává virus celoživotně latentní v ledvinách, může však opakovaně docházet k jeho reaktivaci. Zatímco u imunokompetentních jedinců jsou primoinfekce či reaktive klinicky inaparentní, u imunodeficientních pacientů mohou způsobit závažné komplikace. K reaktivaci BKV dochází asi u 30 % příjemců ledviny, nekontrolovaná infekce může vést ke vzniku polyomavirové nefropatie (PVAN) a ke ztrátě štěpu. Faktory ovlivňující progresi infekce nejsou dosud zcela jasné. Cílem této studie je stanovit genetickou variabilitu BKV, stejně jako výskyt jednotlivých genotypů BKV a typově specifických protilátek u dárců a příjemců ledvin, a objasnit rizikové faktory progresu BKV infekce a rozvoje PVAN.

Reg. č.: AZV 17-31777A

Název: Validace analýzy metylace promotorů TSG spojených s HPV indukovanou karcinogenezí jako screeningového vyšetření análního karcinomu v rizikové populaci

Trvání: 2017–2021

of fresh bioptic tissues and blood of patients with HNSCC will be tested retrospectively with the help of methods of immunohistochemistry, PCR, Mass cytometry and functional tests. Immunity parameters in peripheral blood will continue to be monitored after treatment.

Reg. no.: AZV 17-28778A

Title: Molecular and immunological characterization of borderline changes of kidney allografts

Duration: 2017–2020

Investigator: Mgr. Petra Hrubá Ph.D., IKEM Praha

Co-investigator: **Ing. Michaela Dostálová Merkerová Ph.D.**

Abstract: Borderline changes are frequent histological findings in kidney grafts, both in the period shortly after transplantation and three-month protocol biopsies. Although this finding is not considered a rejection, its prognosis is uncertain and chronic rejection arises subsequently in a subgroup of patients. Prediction of chronic rejection at the time of diagnosis of borderline changes is currently problematic. The aim of this project is to correlate immunological and molecular markers of borderline changes with subsequent formation of donor specific antibodies and the presence of other symptoms of chronic rejection mediated by T cells or antibodies.

Reg. no.: AZV 17-29992A

Title: Genetic variability of BKV in the Czech Republic and its influence on pathogenesis of infection in kidney transplant recipients

Duration: 2017–2021

Investigator: RNDr. Martina Saláková Ph.D., PŘF UK Praha

1st co-investigator: MUDr. Mariana Wohlfahrtová Ph.D., IKEM Praha

2nd co-investigator: **RNDr. Viera Ludvíková**

3rd co-investigator: MUDr. Miroslav Fajtr, FN Hradec Králové

Abstract: Eighty percent of adult population is infected with BK polyomavirus (BKV). After primary infection which

Řešitel: RNDr. Jana Kašpírková Ph.D., LF Plzeň, UK Praha

1. *spoluřešitel:* **RNDr. Jana Šmahelová**

2. *spoluřešitel:* prof. MUDr. Jana Hercogová, CSc., Nemocnice Na Bulovce, Praha

Anotace: Anální karcinom (AK) patří mezi malignity se stoupající incidencí, hlavně ve specifických populacích mužů, kteří mají sex s muži (MSM), a HIV pozitivních pacientů. V těchto skupinách je incidence až 131 případů na 100 000 obyvatel. Vzhledem k rostoucímu počtu HIV pozitivních pacientů nejen v Česku, zejména u MSM, je včasná diagnostika prekanceróz základním předpokladem v boji s tímto onemocněním. AK je svou etiologií a biologickým chováním velmi podobný karcinomu děložního hrdla, proto i vyšetřovací a screeningové postupy jsou téměř identické. Základem je klinické vyšetření a cytologická analýza stěru sliznice. Anální cytologie nepatří mezi vysoce senzitivní ani specifická vyšetření. Naopak metylace DNA tumor-supresorových genů se takovou metodou být zdá, s již potvrzenou efektivitou ve screeningu karcinomu děložního hrdla. Tento výzkum by měl ověřit metylaci DNA jako novou diagnostickou a potencionální screeningovou metodu pro AK a porovnat její senzitivitu a specifitu s již zavedenými vyšetřovacími metodami u imunokompetentních i imunosuprimovaných pacientů.

Reg. č.: **AZV 18-08-00149**

Název: **Kritické zhodnocení lipidomu u pacientů s akutním koronárním syndromem a cévní mozkovou příhodou ve vztahu ke stupni oxidačního stresu**

Trvání: 2018–2021

Řešitel: doc. MUDr. Martin Malý, Ph.D., ÚVN Praha

1. *spoluřešitel:* prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., VŠCHT Praha

2. *spoluřešitel:* **prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.**

Anotace: Ateroskleróza a trombóza jsou podkladem akutního koronárního syndromu a cévní mozkové příhody. V klinické praxi se ke stratifikaci rizika používají různé markery (LDL, HDL cholesterol, glykémie, C-reaktivní protein atd.), nicméně transformace populačního do individuálního rizika může být diskutabilní. Přes „normální“ hodnoty těchto markerů je stále

usually occurs in childhood, virus establishes lifelong persistency in kidney with occasional reactivation. While in immunocompetent subject the infection or reactivation is clinically inapparent, in immunocompromised patients may cause severe complications. Reactivation BKV is observed in about 30% kidney transplant recipients, uncontrolled infection may lead to polyomavirus nephropathy (PVAN) and loss of graft. The factors affecting progression of infection are not yet well understood. The aim of this study is evaluate the genetic variation of BKV, as well as prevalence of various BKV genotypes and the type-specific antibodies in kidney donors and recipients and clarify risk factors for the progression of BKV infection and for the development of PVAN.

Reg. no.: **AZV 17-31777A**

Title: **A promotor methylation of TSGs associated with HPV-driven carcinogenesis as a screening tool for anal carcinoma at risk population - validation study**

Duration: 2017–2021

Investigator: RNDr. Jana Kašpírková Ph.D., LF Plzeň, UK Praha

1st co-investigator: **RNDr. Jana Šmahelová**

2nd co-investigator: Prof. MUDr. Jana Hercogová, CSc., Hospital Na Bulovce, Praha

Abstract: Anal cancer is one of the malignancies with the rising incidence, especially at specific populations of men who have sex with men (MSM) and HIV positive patients. In these groups incidence reaches up 131 cases per 100 thousand inhabitants. Due to steeply increasing number of HIV positive patients in the Czech Republic (CR), whose vast majority belongs to MSM, early diagnosis of precancerous lesions is an essential prerequisite in the fight against this disease. Anal cancer is in its etiology and biological behavior very similar to cervical cancer, therefore the investigative and screening procedures are virtually identical. Currently used cytology in the anal area is not among the highly sensitive nor specific methods of investigation. DNA methylation appears to be a new method having already confirmed efficiency in screening of cervical cancer. This research should therefore validate DNA methylation as a potential new diagnostic and

přítomno riziko příhody. Pokročilé techniky, reprezentované ultraúčinnou kapalinovou chromatografií spojenou s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií, umožní na základě chemometricky vyhodnocených záznamů „fingerprintů“ složek metabolomu hledání rozdílů mezi skupinami pacientů, které se v základních, běžně měřených parametrech významně neliší. Vzorky krve budou odebírány pacientům v akutní a subakutní fázi akutního koronárního syndromu a cévní mozkové příhody a budou srovnávány s kontrolní skupinou. Výsledky budou vztaheny ke stupni oxidačního stresu. Provedený předběžný screening ukázal změny především na úrovni lipidomu, které mohou reprezentovat spojenci mezi aterosklerózou a atherotrombózou.

Reg. č.: AZV 19-08-00147

Název: Pre-klinická validace cGMP produkce CAR T-lymfocytů pro léčbu solidních tumorů

Trvání: 2019–2022

Řešitel: doc. RNDr. Irena Krontorád Koutná, Ph.D., FNUSA Brno

1. spoluřešitel: MUDr. Pavel Otáhal, Ph.D.

2. spoluřešitel: Mgr. Pavel Šimara, Ph.D., MU Brno

Anotace: T-lymfocyty s chimerickým antigenním receptorem (CAR) představují nejmodernější technologii v cílené buněčné terapii onkologických onemocnění. Slibné klinické výsledky byly publikovány v léčbě hemato-onkologických malignit, avšak výsledky v léčbě solidních nádorů nejsou zatím tak povzbudivé. V navrhovaném projektu se budeme věnovat validaci protokolů pro výrobu CAR Tlymfocytů proti solidním nádorům v režimu správné laboratorní praxe. Zaměříme se hlavně na cílové antigeny GD2, PSMA a PSCA. Standardní operační protokoly a analytické certifikáty budou předány Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv ke schválení. Na projektu budou spolupracovat tři špičková výzkumná pracoviště: (i) Mezinárodní centrum klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, (ii) Centrum analýzy biomedicínského obrazu na Masarykově univerzitě v Brně (MU-CBIA) a (iii) Ústav hematologie a krevní transfuze v Praze (ÚHKF). Naším hlavním cílem je zavést technologii výroby

screening method for anal cancer and compare its sensitivity and specificity with established screening methods in immunocompetent and immunosuppressed patients.

Reg. no.: AZV 18-08-00149

Title: Critical evaluation of the lipidome in acute coronary syndrome and acute stroke patients in correlation with the level of oxidative stress

Duration: 2018–2021

Investigator: Doc. MUDr. Martin Malý, Ph.D., ÚVN Praha

1st co-investigator: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., VŠCHT Praha

2nd co-investigator: Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.

Abstract: Atherosclerosis and thrombosis are underlying causes of acute coronary syndrome and stroke. In clinical practice, several markers (such as LDL, HDL cholesterol, glycaemia, C-reactive protein etc.) of elevated risk are available, however, translation of the population risk to personal risk is rather questionable. For this reason, additional information to explain such condition is of a great interest. Advanced instrumental technique represented by high performance liquid chromatography coupled to high-resolution tandem mass spectrometry will enable, based on chemometric assessment fingerprints of metabolome components, to identify the differences between patients' groups that are not evident when employing conventionally measured parameters. Blood samples will be obtained from patients with acute and subacute phase of acute coronary syndrome and stroke. The relationship between the generated data and the degree of oxidative stress will be searched. The possibly detected changes may represent the interface between the atherosclerosis and thrombosis.

Reg. no.: AZV 19-08-00147

Title: Pre-clinical validation of cGMP production of CAR T-cells for solid tumors therapy

Duration: 2019–2022

Investigator: Doc. RNDr. Irena Krontorád Koutná, Ph.D., FNUSA Brno

CAR T-lymfocytů pro cílenou buněčnou terapii solidních tumorů a tím umožnit přenos do klinické praxe.

GA ČR – Grantová agentura České republiky

Reg. č.: **GA ČR 19-02739S**

Název: Plasmonické biosenzory pro studium biomolekulárních interakcí

Trvání: 2019–2021

Řešitel: prof. Ing. Jiří Homola, CSc., DSc., Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR

1. *spoluřešitel*: **prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.**

2. *spoluřešitel*: Ing. Tomáš Riedel, Ph.D., Ústav makromolekulární chemie AV ČR

Anotace: Život je na molekulární úrovni výsledkem obrovského množství interakcí mezi různými druhy biomolekul. Pochopení těchto interakcí a jejich rolí představuje výzkumný úkol zásadního významu. Cílem tohoto projektu je vyvinout nový biofotonický nástroj založený na pokročilých optických biosenzorech s povrchovými plasmony, které umožní studium biomolekulárních interakcí v komplexních biologických prostředích a významně tak posune hranice možností současné biomolekulární interakční analýzy. Tento multidisciplinární projekt zahrnuje aktivity v řadě oblastí, především výzkum optických biosenzorů založených na plasmonických nanostrukturách, studium transportních jevů v mikrofluidních systémech a vývoj metod pro imobilizaci biomolekul a metodologií pro studium biomolekulárních interakcí. Realizované biosenzory budou využity pro získání nových poznatků o interakcích biomolekul se vztahem k onkohematologickým onemocněním, jako jsou myelodysplastický syndrom a akutní myeloidní leukemie.

Reg. č.: **GA ČR 19-04099S**

Název: Role interakční sítě nukleofosminu v akutní myeloidní leukemii s mutovaným NPM

Trvání: 2019–2021

Řešitel: prof. RNDr. Petr Heřman, CSc., MFF UK Praha

Spoluřešitel: **Mgr. Barbora Brodská, Ph.D.**

1st co-investigator: **MUDr. Pavel Otáhal, Ph.D.**

2nd co-investigator: Mgr. Pavel Šimara, Ph.D., MU Brno

Abstract: Chimeric antigen receptor (CAR) T-cell is a cutting edge technology for targeted cell therapy of oncologic diseases. Promising clinical results were reported for hematological malignancies, but the results in solid tumors are not that encouraging yet. Here we propose to validate protocols for the production of CAR T-cells against solid tumor antigens under cGMP rules. We will focus mainly on target antigens GD2, PSMA, and PSCA. Standard operation protocols and analytical certificates will be presented to the State Institute for Drug Control for their approval. The consortium of three prominent research facilities will participate on this project: (i) International Clinical Research Center of St. Anne's University Hospital Brno (FNUSA-ICRC), (ii) Centre for Biomedical Image Analysis at Masaryk University Brno (MU-CBIA), and (iii) Institute of Hematology and Blood Transfusion in Prague (UHKT). Our main aim is to establish production of CAR T-cells for anti-solid tumor therapy which can be translated into clinical applications.

GA ČR – Czech Science Foundation

Reg. no.: **GA ČR 19-02739S**

Title: Advanced plasmonic biosensors for the study of biomolecular interactions

Duration: 2019–2021

Investigator: prof. Ing. Jiří Homola, CSc., DSc., Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR

1st co-investigator: **Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.**

2nd co-investigator: Ing. Tomáš Riedel, Ph.D., Ústav makromolekulární chemie AV ČR

Abstract: Life is associated with myriad of interactions that occur among a large variety of biomolecules. Hence, the understanding of biomolecular interactions and their roles in diseases represents a research goal of paramount importance. This project aims to develop a new plasmonic biosensor-based technology that will enable investigation of biomolecular interactions in complex real-world biological environments, which will advance the field of biomolecular

Anotace: Třetina výskytů akutní myeloidní leukemie (AML) nese charakteristickou mutaci nukleofosminu (NPM) způsobující jeho chybnou lokalizaci v cytoplasmě. Následně pak dochází k nesprávné lokalizaci interakčních partnerů NPM interagujících také s mutovaným NPM nebo jeho komplexem a k ovlivnění jejich funkce. Kombinací spektroskopických, mikroskopických, biochemických a imunochemických metod (např. FLIM, FRET, GFP-Trap) prozkoumáme neznámé/opomíjené souvislosti mezi AML-specifickými mutacemi, mutacemi ovlivňujícími oligomerizaci a schopnosti přirozené a mutovaných forem NPM interagovat s nádorovým supresorem p53. Zaměříme se na objasnění mechanismu relokace a dynamiky redistribuce těchto proteinů v živých buňkách a objasnění role interakčních partnerů NPM regulovaných proteinem p53 a následných funkčních důsledků. Bude vyhodnocena odezva interakčního systému NPM na aplikaci vybraných protinádorových léčiv v závislosti na konkrétním typu mutace. Výsledky přispějí k pochopení významu mutací NPM v leukemogenezi a otevřou nové strategie léčby AML.

Reg. č.: GA ČR 20-108455

Název: Individuální variabilita a patofyziologie krevní plasmy a jejich vliv na interakci s umělými povrchy potlačujícími nescifické interakce

Trvání: 2020–2022

Řešitel: Ing. Tomáš Riedel, Ph.D., Ústav makromolekulární chemie AV ČR

Spoluřešitel: Ing. Pavel Májek, Ph.D.

Anotace: Raná detekce biomarkerů zvyšuje šanci úspěšné léčby, přežití a kvality života. Zejména optické biosenzory nabízejí řadu výhod pro včasnou diagnostiku: minimálně invazivní přístup (plasma, sliny), rychlou a citlivou detekci, nízkou spotřebu vzorku. Hlavním nedostatkem optických biosenzorů je neschopnost odlišit specifickou odpověď od nescifické, způsobené adsorpcí především proteinů po kontaktu umělých povrchů s biologickým médiem (fouling). Důsledkem foulingu může být např. iniciace komplementu či koagulace. To doposud bránilo rozšíření biosenzorů v klinické praxi. Fouling je z principu ovlivněn individuální biologickou

interakční analýzou mimo současnost. Tento multidisciplinární projekt zahrnuje výzkumné úsilí v mnoha oblastech, včetně plasmonických (nano)strukturovaných biosenzorů, masového transportu v mikrofluidních systémech, imobilizace biomolekul, a metodologií pro výzkum biomolekulárních interakcí. Výsledná biosenzorová technologie poskytne nové poznatky o interakci biomolekul zapojených v onkologických onemocněních, jako je myelodysplastický syndrom a další častě se vyskytující hematologická malignita.

Reg. no.: GA ČR 19-040995

Title: Role of nucleophosmin interactome in acute myeloid leukemia with mutated NPM

Duration: 2019–2021

Investigator: Prof. RNDr. Petr Heřman, CSc., MFF UK Praha

Co-investigator: Mgr. Barbora Brodská, Ph.D.

Abstract: One third of acute myeloid leukemia (AML) occurrences exhibits characteristic nucleophosmin (NPM) mutation causing its aberrant cytoplasmic localization. Subsequently, multiple NPM-interaction partners, interacting also with mutated NPM or its complexes, become mislocalized from their site-of-action with functional and regulatory consequences. By combination of spectroscopic, microscopic, biochemical and immunochemical methods (e. g. FLIM, FRET, GFP-Trap) we will evaluate unknown/neglected relations between AML-related NPM mutations, oligomerization, and ability of wild-type and mutated NPM to interact with the tumor suppressor p53. Dynamics and cellular trafficking of NPM and p53 will be assessed in vivo and the role of NPM-interacting proteins regulated by p53 in the leukemogenesis will be elucidated. We will characterize cellular response of the NPM interaction network to anticancer drug treatment in relation to the NPM mutation and the drug used. Results will contribute to understanding of the role of NPM mutation in leukemogenesis and will open new strategies for AML treatment.

variabilitou nebo patofyziologií – tyto faktory a jejich vliv jsou však až na výjimky neznámé, přestože pro klinické uplatnění hrají zásadní roli. Porozumění procesu adsorpce proteinů z biologických médií a jejich následný vliv jsou klíčové pro aplikaci umělých povrchů. Tento projekt si klade za cíl popsat tyto faktory a jejich vliv a navrhnout postupy k potlačení nebo eliminaci těchto vlivů. Cílem projektu je identifikovat faktory způsobené individuální biologickou variabilitou krevní plasmy a patofyziologickými stavy ovlivňující klinické využití biomateriálů v kontaktu s krví, nalézt vzájemný vztah mezi jednotlivými vzorky a navrhnout protokol eliminující/potlačující tyto faktory.

EU_OPVVV

Reg. č.: **OP VVV CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007428**

Název: **Pokročilý imunomonitoring a imunoterapie u hematologických a hematooonkologických pacientů**

Trvání: 2018–2021

Řešitel: **RNDr. Jan Musil, Ph.D.**

Anotace: Předkládaný projekt je zaměřen na komplexní řešení problematiky hematooonkologických pacientů léčených na Ústavu hematologie a krevní transfúze (ÚHKT) v oblasti *A) pokročilého imunomonitoringu hematooonkologických pacientů, B) imunoterapie pacientů s akutní myeloidní leukemií (AML), C) imunomonitoringu a imunoterapie pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk (HSCT), D) přípravy nové generace chimerických antigenních receptorů (CAR).*

Realizací projektu bude umožněno zavedení diagnostických metod pro stanovení imunosupresivních únikových mechanismů leukemických buněk, které by měly sloužit pro výběr individualizované imunoterapie hematooonkologických pacientů. Dalším cílem je zavedení postupů pro expanzi Tlymfocytů schopných rozpoznat antigeny leukemických buněk u pacientů s AML a zavedení monitoringu rekonstituce imunitního systému u pacientů po HSCT pro identifikaci pacientů s nedostatečnou rekonstitucí imunitního systému. Mezi hlavní cíle projektu patří také identifikace markerů predikujících dlouhodobou in vivo perzistenci transferovaných multivirů-specifických Tlymfocytů a jejich

Reg. no.: **GA ČR 20-10845S**

Title: **Blood plasma individual variability and pathophysiology and their influence on the interactions with synthetic antifouling surfaces**

Duration: 2020–2022

Investigator: Ing. Tomáš Riedel, Ph.D., Ústav makromolekulární chemie AV ČR

Co-investigator: **Ing. Pavel Májek, Ph.D.**

Abstract: Early biomarker detection improves treatment outcomes, survival and quality of life. In particular optical biosensors are promising technology for early diagnostics: minimally invasive procedures (plasma, saliva), rapid and sensitive detection, and low sample consumption. The main pitfall of optical biosensors is the inability to differentiate a specific signal from an interfering signal caused by adsorption of particularly proteins during the contact of artificial surfaces with biological media (fouling). Fouling can result in complement or coagulation initiation, etc. It has prevented the advance of biosensors into clinical applications. In principle, fouling is influenced by individual biological variability and pathophysiology – with a few exceptions, these factors and their influence are unknown although they play a key role in clinical applicability. The aim of this project is to identify these factors and their effects, and to design sample pre-treatments to minimize or eliminate these factors.

EU_OPVVV

Reg. no.: **OP VVV CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007428**

Title: **Advanced Immunomonitoring and Immunotherapy of Hematological and Hemato-oncological Patients**

Duration: 2018–2021

Investigator: **RNDr. Jan Musil, Ph.D.**

Abstract: The presented project is aimed at comprehensive solution of problems of hemato-oncological patients treated at the Institute of hematology and Blood Transfusion (IHBT) in the area of *A) Advanced immunomonitoring of hemato-oncological patients, B) Immunotherapy of patients with acute myeloid leukemia (AML), C) Immunomonitoring and*

sledování u léčených pacientů a rovněž konstrukce nové generace CAR-T-lymfocytů.

Ad A, B) Imunoterapeutické postupy zavedené v rámci projektu povedou ke zlepšení kvality a prodloužení délky života hematologických pacientů. Vyvinuté metody sledování imunitního systému by mohly do budoucna sloužit jako základ nových diagnostických vyšetření pacientů s AML, které umožní ošetřujícím lékařům rozhodnout o vhodné formě imunoterapie. Dá se očekávat, že kromě AML bude možné tyto metody adaptovat také na jiné formy leukemií. Postupy tohoto typu, umožňující sledování imunity u pacientů s AML, nejsou v Česku ani ve světě dostupné. Dá se tedy předpokládat zájem aplikační sféry o další testování těchto metod v rámci navazujících klinických studií, které by mohly vyústit v tvorbu komerčně dostupných klinických testů.

Ad C) Sledování imunity u pacientů po HSCT by mělo identifikovat pacienty, jejichž imunita se neobnovuje požadovaným tempem a jejichž život by mohl být ohrožen virovými infekcemi. K regeneraci imunity u těchto pacientů by měly být použity multivirální specifické T-lymfocyty. Opět se dá očekávat celkové zlepšení kvality života těchto pacientů a snížení úmrtnosti v důsledku infekčních komplikací.

Ad D) V rámci projektu budou vyvíjeny nové generace chimerických antigenních receptorů (CAR), které by měly mít vyšší účinnost v porovnání s aktuálně dostupnými CAR. Nová generace CAR by mohla do budoucna sloužit jako platforma pro zavedení CAR terapie nejen pro léčbu hematologických onemocnění, ale také pro terapii solidních nádorů.

immunotherapy of HSTC patients, D) Preparation of a new generation of chimeric antigen receptors (CAR).

The project implementation will facilitate the introduction of diagnostic methods for identifying immunosuppressive escape mechanisms of leukemic cells that should serve to the selection of individualized immunotherapy of hematological patients. Another aim is the introduction of techniques for the expansion of T-lymphocytes capable of distinguishing antigens of leukemic cells in patients with AML, and the introduction of immune system reconstruction monitoring in HSTC patients for identifying patients with insufficient immune system reconstruction. The main goals of the project include the identification of markers predicting long-term *in vivo* persistence of transferred multivirus-specific T-lymphocytes and their monitoring in treated patients, as well as the construction of a new generation of CAR-T-lymphocytes A+B: Immunotherapeutic techniques introduced in the framework of the project will lead to quality improvement and prolongation of lifespan of hemato-oncological patients. The developed methods of the immune system monitoring could serve in the near future as a basis of new diagnostic tests of patients with AML that will make it possible for attending physicians to opt for a suitable form of immunotherapy. It can be expected that, apart from AML, it will be possible to adapt these methods also to other forms of leukemia. This type of techniques facilitating the monitoring of immunity in patients with AML is not available in the Czech Republic or in the world. Thus, it is possible to expect the interest of the application sphere in a further testing of these methods in the framework of follow-up clinical studies that could lead to the production of commercially accessible clinical tests. C: Monitoring the immunity of HSTC patients should identify patients whose immunity is not restored at a required rate and whose lives could be threatened by viral infections. Then, these patients' immunity should be restored with multivirus specific T-lymphocytes. Again, it can be expected that the overall quality of these patients' lives will improve and the mortality rate will decrease in consequence of 3 infection complications. D: In the framework of the project, new generations of chimeric antigen receptors (CARs) will be developed which should be more efficient in comparison

IFP 2020

V roce 2020 pokračovalo řešení výzkumných projektů hrazených z institucionálních finančních prostředků.

Víceleté projekty započaté v minulých letech nebo v roce 2020

V roce 2020 jsme se zaměřovali na řešení následujících dílčích projektů:

- výzkum faktorů podílejících se na účinnosti lenalidomidu u nízkorizikových pacientů MDS
- detekce zárodečných mutací spojených se vznikem myeloidních malignit
- nestabilita genomu u leukémií a preleukémií
- dysfibrinogenémie a afibrinogenémie
- metabolomika onkohematologických onemocnění
- proteomika v onkohematologii a hemostáze
- hemokoagulace a fibrinolýza
- interaktomika v hematologii
- proteomika v hematologii
- zásahová místa buněk chronické myeloidní leukemie (CML) rezistentních k tyrozinkinázovým inhibitorům (TKI)
- studium interakcí hematopoietických buněk s proteiny extracelulární matrice
- studium jadérových a apoptotických proteinů u akutní myeloidní leukémie
- DNA metylační panel u pacientů s AML
- vytvoření modelové buněčné linie pro studium funkčních následků mutace D835 v genu *flt3*

with currently available CARs. The new CAR could serve in future as a platform for the introduction of CAR therapy not only for the treatment of hemato-oncological diseases, but also for solid tumor therapy.

IFP 2020

The year 2020 saw the continued work on research projects funded from institutional resources.

Multi-annual projects initiated in past years or in 2020

In 2020 we focused on the solution of the following partial projects:

- research of factors contributing to the efficiency of lenalidomide in low-risk MDS patients,
- detection of embryonic mutations connected with the formation of myeloid malignities,
- genome instability in leukemias and preleukemias,
- dysfibrinogenemia and afibrinogenemia,
- metabolomics of oncohematological diseases,
- proteomics in oncohematology and hemostasis,
- hemocoagulation and fibrinolysis,
- interactomics in hematology,
- proteomics in hematology,
- intervention points of cells of chronic myeloid leukemia (CML) resistant to tyrosine kinase inhibitors (TKI),
- research of interactions of hematopoietic cells with proteins of extracellular matrix,
- research of nucleolar and apoptotic proteins in acute myeloid leukemia,
- DNA methylation panel in patients with AML,
- formation of model cell line for studying functional consequences of the D835 mutation in the *flt3* gene,

- skríníng frekventovaně mutovaných genů u hematologických onemocnění s poruchou vyzrání myeloidní krevní řady v průběhu krvetvorby u pacientů s CML, kteří v době diagnózy dosáhli věku 18-30 let
- studium přestavb a kryptických aberací chromosomu 7 u hematologických malignit
- role ABC transportérů v chemorezistenci a prognóze pacientů s AML
- nové technologie pro studium nekódujících RNA u myelodysplastického syndromu
- identifikace pacientů s BCR-ABL1 like ALL a dalších podskupin pacientů s ALL pomocí molekulárně genetických analýz
- detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL1 pomocí sensitivních technologií nové generace u pacientů s CML a Ph+ ALL
- studium heterogenity chronické myeloidní leukémie, příčiny a ukazatele rezistence k léčbě tyrosinkinázovými inhibitory.
- hledání nových terapeutických cílů k překonání refrakterních / recidivujících Ph pozitivních leukémií
- vývoj APC pro rychlou in vitro expanzi T buněk specifických pro nádorové antigeny.
- zavedení přípravy in vitro expandovaných T buněk specifických pro antigen CCNA1 cyclinA1, který je jedním z LAA antigenů blastů a kmenových buněk AML.
- stanovení imunologických markerů u posttransplantačního relapsu
- LC-MS charakterizace ustavených linií odvozených od chronické myeloidní leukémie rezistentních k imatinibu a dasatinibu - odhalení možných společných rysů při vzniku rezistence k léčbě
- využití solubilních biomarkerů pro diagnostiku a prognózu GVHD u pacientů po transplantaci HSC
- screening of frequently mutated genes in hematological diseases with the disorder of the maturing of myeloid blood line in the course of hematopoiesis in CML patients who reached the age of 18-30 at the time of diagnosis,
- research of rearrangement of cryptic aberrations of chromosome 7 in hematological malignities,
- role of ABC transporters in chemoresistance and prognosis of AML patients,
- new technologies for the research of non-coding RNAs in myelodysplastic syndrome,
- identification of patients with BCR-ABL1 like ALL and other subgroups of ALL patients with the help of molecular genetic analyses,
- detection of mutations in the BCR-ABL1 kinase domain with the help of sensitive technologies of new generation in patients with CML and Ph+ ALL,
- research of heterogeneity of chronic myeloid leukemia, causes and indicators of resistance to treatment with tyrosine kinase inhibitors,
- quest of new therapeutic goals for overcoming refractory / relapsing Ph+ leukemias,
- development of APC for a rapid in vitro expansion of T cells specific for neoplastic antigens,
- introduction of the preparation of in vitro expanded T cells specific for the CCNA1 cyclin A1 antigen, which is one of the LAA antigens of AML blasts and stem cells,
- determination of immunological markers in post-transplant relapse,
- LC-MS characterization of established lines derived from chronic myeloid leukemia resistant to imatinib and dasatinib – detection of possible common features in the formation of resistance to treatment,
- use of soluble biomarkers for diagnostics and prognosis of GVHD in patients after transplantation of HSCs,

- molekulární stimulanty pro maturaci dendritických buněk
- bioinformatická a strukturální analýza tandem repeatů v α C-konektoru fibrinogenu savců s důrazem na člověka (*Homo sapiens*)
- cytotoxický účinek NK buněk v 3D in vitro modelu akutní myeloidní leukemie v mikroprostředí kostní dřeně.
- analýza heterogenity in vitro expandovaných NK buněk.
- AML Compass

Nejdůležitější dosažené výsledky

Zjistili jsme, že pokles hladiny CRBN mRNA je rychlejší prognostický faktor než výše hladiny hemoglobinu pro upozornění na anemii a možnou nastávající resistenci na lenalidomid v průběhu terapie. Zvláště rychlý pokles hladiny CRBN mRNA a přetrvávání velmi nízké hladiny vyžaduje přidání EPO a případně prednisonu nebo dexametazonu. V rámci studie vzácných přestavěb u MDS a AML jsme vyšetřili 62 nově diagnostikovaných dospělých pacientů. U 3 nemocných jsme detekovali vzácné kryptické translokace. Pomocí RT-PCR a přímého sekvenování jsme identifikovali konkrétní geny zahrnuté v translokacích a jejich fúzní partnery. Na základě těchto výsledků byly navrženy specifické primery a sondy tak, aby umožnily monitorovat minimální zbytkové onemocnění během intenzivní anti-leukemické léčby.

U 11 pacientů se podařilo charakterizovat vrozenou mutaci ve fibrinogenu, z tohoto byly 3 nově objevené – 2 heterozygotní mutace B β Ala68Cys a B β Tyr403Stop, 1 homozygotní B β Tyr355Cys.

Na základě proteomické analýzy imatinib senzitivních a imatinib rezistentních buněk jsme vytipovali potenciální zásahové dráhy (IGF-1 signalizaci a STAT signalizace). Pro tyto dráhy jsou dostupné inhibitory (Stattic, PPP, NT157), jejichž účinnost jsme testovali pomocí MTT esejí. Zkonstruovali jsme značené formy NPM nesoucího současně C-terminální mutaci a mutaci v oligomerizační doméně. Sledovali jsme interakci tumor supresoru p53 se značenými formami NPM in vitro pomocí biochemických metod (nativní PAGE, western blot, imunoprecipitace) a také in vivo pomocí fluorescenčních

- molecular stimulants for the maturation of dendritic cells,
- bioinformatic and structural analysis of tandem repeats in the α C-connector of fibrinogen in mammals with an emphasis on the human being (*Homo sapiens*),
- cytotoxic effect of NK cells in a 3D in vitro model of acute myeloid leukemia in the microenvironment of bone marrow,
- analysis of heterogeneity in vitro expanded NK cells,
- AML Compass.

The most important achievements

We found that the decrease of the level of CRBN mRNA is a more rapid prognostic factor than the level of hemoglobin for alerting to anemia and a possible forthcoming resistance to lenalidomide in the course of therapy. An especially rapid decrease of the level of CRBN mRNA and the persistence of the low level requires the addition of EPO and possibly of prednisone or dexamethasone. In the framework of the study of rare rearrangements of MDS and AML we examined 62 newly diagnosed adult patients. We detected rare cryptic translocations in 3 patients. With the help of RT-PCR and direct sequencing we identified particular genes involved in translocations and their fusion partners. On the basis of these results, we proposed specific primers and probes in order to facilitate the monitoring of minimal residual disease in the course of intensive anti-leukemic treatment.

We succeeded in characterizing a congenital mutation of fibrinogen in 11 patients, out of which 3 were newly discovered: 2 heterozygous B β Ala68Cys and B β Tyr403Stop mutations, and 1 homozygous B β Tyr355Cys mutation.

Based on a proteomic analysis of imatinib sensitive and imatinib resistant cells we guessed potential intervention pathways (IGF-1 signaling and STAT signaling). Inhibitors are available for these pathways (Stattic, PPP, NT157), the efficiency of which we tested with the help of MTT assays. We constructed tagged forms of NPM simultaneously carrying the C-terminal mutation in the oligomerization domain. We monitored the interaction of the p53 tumor suppressor with tagged forms of NPM in vitro with the help of biochemical methods (native PAGE, western blot, immunoprecipitation), as well as in vivo with the help of

metod (konfokální mikroskopie, FLIM-FRET). Zjistili jsme, že přestože p53 interaguje s oblastí NPM blízko C-konci, tato interakce není ovlivněna C-terminální mutací NPM. Popsali jsme specifické DNA hydroxy-/metylační změny u pacientů s AML, kteří měli specifické mutační pozadí a vyhodnocovali jsme různé metodické přístupy k validaci DNA metylačních změn a navrhli jsme DNA metylační panel, který umožňuje komplexní vyšetření jak dříve popsaných aberantně metylovaných genů ve spojitosti s prognózou, tak genů asociovaných s patogenezí tohoto onemocnění (HOX geny a WT1).

Sledovali jsme aberace chromosomu 7, přestaveb 7q u nemocných s hematologickými malignitami, analyzovali tumor supresorový gen EZH2 7q36.1., analyzovali přestavby krátkých ramen 7p, porovnávali aberace na 7p a 7q, vybraní pacienti s rozsáhlými změnami karyotypu byli vyšetřeni pomocí array CGH/SNP. V roce 2020 došlo k rozšíření o 25 nově diagnostikovaných nemocných s diagnózou AML/MDS, celkem je v souboru 76 pacientů. U 39 byla potvrzena delece EZH2 tumor supresorového genu (oblast 7q36.1), u 18 nemocných byla prokázána delece IKZF1 genu (7p12.2), u 16 pacientů byla prokázána strukturální přestavba krátkých i dlouhých ramen 7p/7q. V roce 2020 jsme zakončili studium extracelulárních krátkých nekódujících RNA (sncRNA). NGS data získaná v rámci studie ukazují, že cirkulující sncRNA mají u MDS specifický profil a že jejich hladina se mění během progresu onemocnění, což poukazuje na potenciální klinickou užitečnost cirkulujících sncRNA. Dále byla řešena problematika rezistence k léčbě TKI, a to především k imatinibu a dasatinibu u pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML). Pokračovali jsme především ve studiu úlohy CK2 kinázy v rezistenci a možnosti jejího cílení u CML. Prokázali jsme roli CK2 (casein kinase 2) v mechanismech rezistence námi vytvořených buněčných linií rezistentních k imatinibu nebo dasatinibu. Dokončili jsme mutační analýzy všech zmíněných modelů, přestavby e13b2 a e14 b2 byly bez přítomnosti mutací. Analýza mutací v kinázové doméně BCR-ABL potvrdila přítomnost mutace T315I u rezistentních sub-linií JURL-MK1 a MOLM-7, zatímco u linie K562 mutace v kinázové doméně BCR-ABL přítomny nebyly a mechanismus rezistence k TKI je jiný. Výsledky naznačují, že CK2 by mohla

fluorescent methods (confocal microscopy, FLIM-FRET). We found that despite the fact that p53 interacts with the NPM area close to the C-end, this interaction is not influenced by the C-terminal mutation of NPM. We described specific DNA (hydroxy) methylation changes in patients with AML who had specific mutation background, and we evaluated different methodological approaches to the validation of DNA methylation changes and proposed a DNA methylation panel facilitating comprehensive examination of both aberrantly methylated genes described earlier in relation to prognosis and the genes associated with the pathogenesis of this disease (HOX genes and WT1).

We monitored aberrations of chromosome 7, 7q rearrangements in patients with hematological malignities, analyzed the EZH2 7q36.1. tumor suppressor gene, examined the rearrangements of the 7p short arms and compared aberrations at 7p and 7q; selected patients with extensive karyotype changes were examined with the help of the CGH/SNP array. The year 2020 saw an increase of newly diagnosed patients with AML/MDS diagnosis by 25; the group currently totals 76 patients. The deletion of the EZH2 tumor suppressor gene (7q36.1 area) was confirmed in 39 patients, the deletion of the IKZF1 gene (7p12.2) was proved in 18 patients, and a structural rearrangement of both short (7p) and long (7q) arms was proved in 16 patients. In 2020 we finished our study of extracellular short non-coding RNAs (sncRNAs). NGS data acquired within the study show that circulating sncRNAs have a specific profile in MDS and that their level changes during the disease progression, which points to a potential clinical usefulness of circulating sncRNAs. Furthermore, we addressed the problems of resistance to TKI treatment, above all namely to imatinib and dasatinib in patients with chronic myeloid leukemia (CML). In the first place, we continued to study the role of the CK2 kinase in resistance and the possibility of its targeting in CML. We demonstrated the role of CK2 (casein kinase 2) in resistance mechanisms of the cell lines produced by us that are resistant to imatinib or dasatinib. We completed mutation analyses of all the above-mentioned models; mutations were missing in the e13b2 and e14 b2 rearrangements. The analysis of mutations in the BCR-ABL kinase domain confirmed the presence of the T315I mutation in resistant JURL-MK1 and MOLM-7 sublines, while mutations in the BCR-ABL kinase domain were not present in the K562 and the mechanism of resistance to

být vhodným cílem léčby TKI-neodpovídajících případů nezávisle na typu TKI rezistence; inhibice CK2 indukuje apoptózu u všech sledovaných BCR-ABL pozitivních buněk nezávisle na jejich mutačním statusu nebo na přítomnosti tumor supresoru p53. Pro detailní monitorování stavu imunitního systému pacientů po HSCT a pro sledování vlivu podávání DLI, jsme navrhli cytometrický panel, který zahrnuje všechny důležité znaky pro monitorování T a NK populací v krvi a v kostní dřeni pacientů.

Dlouhodobé výzkumné plány

Budeme pokračovat ve výzkumu v hematologii a onkohematologii, především v molekulární genetice, interaktomice, metabolomice, imunohematologii a imunoterapii. Náš výzkum je úzce spjat s klinickým a transfuziologickým úsekem ÚHKT a primárně se i do budoucna chceme zaměřovat na choroby, které jsou v ÚHKT léčeny. Bude dále rozvíjet oblast studia proteomiky krevní koagulace, hemostázy a trombózy. Bude pokračováno ve vývoji nových mikro- a nano-optických on-line metod pro hematologickou diagnostiku umožňujících mimo jiné sledování dějů v reálném čase, stejně jako v rozvíjení bioinformatických nástrojů a molekulárního modelování.

Závěr

Rok 2020 poznamenala epidemie viru SARS-CoV-2, někteří vědečtí a výzkumní pracovníci část roku pracovali formou homeoffice, což se nicméně nakonec negativně neodrazilo na výsledcích naší výzkumné činnosti. V roce 2020 bylo z přidělených IFP financováno celkem 33 dílčích výzkumných projektů. Výstupem je 42 publikací v impaktovaných časopisech, 20 publikací v recenzovaných časopisech bez IF, 1 monografie a 14 kapitol v monografiích. S ohledem na epidemii Covid-19 se v roce 2020 uskutečnilo jen minimum konferencí, nicméně některé výsledky naší výzkumné činnosti byly prezentovány na virtuálních konferencích (např. 20. Pražské hematologické dny, 22nd Annual John Goldman Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy; European School of Hematology; 62nd ASH Annual Meeting & Exposition nebo ISTH 2020). Naším cílem je pokračovat v rozvoji ÚHKT jako špičkového vědeckého a výzkumného pracoviště v hematologii a onkohematologii, hemostáze a trombóze; v molekulární genetice, proteomice,

TKI is different. Results suggest that CK2 could be a suitable target of the treatment of TKA-inadequate response cases irrespective of the type of TKI resistance; the CK2 inhibition induces apoptosis in all monitored BCR-ABL positive cells irrespective of their mutation status or the presence of the p53 tumor suppressor. For a detailed monitoring of the condition of the immunity system of patients after HSCT and for the monitoring of the influence of the administration of DLI, we proposed a cytometric panel that comprises all features relevant to monitoring of T and NK populations in the patients' blood and bone marrow.

Long-term research plans

We will continue our research in hematology and onco-hematology, primarily in the fields of molecular genetics, interactomics, metabolomics, immunohematology and immunotherapy. Our research is closely connected with the Clinical and Transfusiology Division of IHBT and further ahead we want to continue to concentrate primarily on diseases treated at IHBT. We will carry on developing the sphere of the study of proteomics of blood coagulation, hemostasis and thrombosis. We will continue to develop new online micro and nano optical methods for hematological diagnostics facilitating, among other things, real-time the monitoring of actions, as well as the development of bioinformatic tools and molecular modelling.

Conclusion

The year 2020 was affected by the epidemics of the SARS-CoV-2 virus; some scientific and research workers spent a part of the year working in the form of home office which, nevertheless, in the end did not have a negative impact on the results of our research activity. From the IFPs assigned in 2020, a total of 33 partial research projects were financed. The output consists of 42 publications in impacted journals, 20 publications in reviewed journals without IF, 1 monograph and 14 chapters in monographs. In view of the Covid-19 epidemics, only a minimum of conference took place in 2020, but some results of our research activity were presented at virtual conferences (e. g. 20th Prague Hematology Days, 22nd Annual John Goldman Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy; European School of Hematology; 62nd ASH Annual Meeting & Exposition or ISTH 2020). Our aim is to continue to develop IHBT as a top scientific and research center in hematology

interaktomice, imunohematologii a imunoterapii.

Klinické studie

Protocol ACE-536-MDS-002: Otevřená, randomizovaná klinická hodnocení fáze 3 pro srovnání účinnosti a bezpečnosti luspaterceptu (ACE-536) oproti epoetin alfa při léčbě anémie způsobené myelodysplastickým syndromem (MDS) s velmi nízkým, nízkým nebo středním rizikem IPSS-R u pacientů dosud neléčených ESA, kteří potřebují transfuzi červených krvinek (prof. Čermák)

Protocol CA180399: Otevřená, randomizovaná (2:1) studie fáze 2B klinického hodnocení dasatinibu, ve srovnání s imatinibem u pacientů s chronickou fází chronické myeloidní leukemie, kteří nedosáhli optimální odpovědi na léčbu po 3 měsících terapie 400mg imatinibu (dr. Klamová)

Protocol CINC424D2301: Randomizované, otevřené, multicentrické klinické hodnocení fáze III hodnotící ruxolitinib v porovnání s nejlepší dostupnou léčbou u pacientů se steroid-refrakterní chronickou reakcí štěpu proti hostiteli po alogenní transplantaci kmenových buněk (REACH 3) (dr. Válková)

Protocol CINC424C2301: Randomizované, otevřené, multicentrické klinické hodnocení fáze III hodnotící ruxolitinib v porovnání s nejlepší dostupnou léčbou u pacientů se steroid-refrakterní akutní reakcí štěpu proti hostiteli po alogenní transplantaci kmenových buněk (REACH 2) (dr. Vydra)

Protocol AC220-A-U302: Dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie fáze 3 přípravku Quizartinib (AC220) podávaného v kombinaci s indukční a konsolidační chemoterapií a jako udržovací léčba u pacientů ve věku 18 až 75 let s nově diagnostikovanou akutní myeloidní leukemií FLT3-ITD (+) (QuANTUM-First) (dr. Vydra)

Protocol ALXN1210-0622-301A: Randomizované, otevřené klinické hodnocení fáze 3, kontrolované účinným přípravkem, porovnávací přípravek ALXN1210 a ekulizumab u dospělých

and onco-hematology, hemostasis and thrombosis, as well as in molecular genetics, proteomics, interactomics, immunohematology and immunotherapy.

Clinical Studies

Protocol ACE-536-MDS-002: A phase 3, open-label, randomized study to compare the efficacy and safety of luspatercept (ACE-536) versus epoetin alfa for treatment of anemia due to IPSS-R very low, low or intermediate risk myelodysplastic syndromes in ESA naive subjects who requires red blood cell transfusion. (Prof. Čermák)

Protocol CA180399: An Open-Label, Randomized (2:1) Phase 2b Study of Dasatinib vs. Imatinib in patients with Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia who have not achieved an optimal response to 3 months of therapy with 400mg Imatinib. (Dr. Klamová)

Protocol CINC424D2301: A phase III randomized open-label multi-center study of ruxolitinib vs best available therapy in patients with corticosteroid-refractory acute graft vs host disease after allogenic stem cell transplantation (REACH 3). (Dr. Válková)

Protocol CINC424C2301: A phase III randomized open-label multi-center study of ruxolitinib vs best available therapy in patients with corticosteroid-refractory acute graft vs host disease after allogenic stem cell transplantation (REACH 2). (Dr. Vydra)

Protocol AC220-A-U302: A Phase 3, Double-Blind, Placebo-controlled Study of Quizartinib (AC220) Administered in Combination with Induction and Consolidation Chemotherapy, and Administered as Maintenance Therapy in Subjects 18 to 75 Years Old with Newly Diagnosed FLT3-ITD (+) Acute Myeloid Leukemia (QuANTUM-First). (Dr. Vydra)

Protocol ALXN1210-0622-301A: A Phase 3, Randomized, Open-Label, Active-Controlled Study of ALXN1210 Versus Eculizumab in Complement Inhibitor-Naive Adult Patients

pacientů s paroxysmální noční hemoglobinurií (PNH), kteří dosud nebyli léčeni inhibitory komplementu (prof. Čermák)

Protocol CC-486-AML-001: Randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované klinické hodnocení fáze 3 hodnotící účinnost a bezpečnost perorálního Azacitidine plus nejlepší podpůrné péče ve srovnání s placebem plus nejlepší podpůrnou péčí jako udržovací léčby u pacientů s akutní myeloidní leukemií v úplné remisi (prof. Čermák)

Protocol TUD-2DAUNO-058: Randomizovaná studie srovnávající účinnost a bezpečnost rozdílných dávek daunorubicinu a účinnost a bezpečnost jedno- versus dvoucyklů indukční chemoterapie u dospělých pacientů s akutní myeloidní leukemií pod 65 let věku. – Studie Universitätsklinikum Dresden a Technischen Universität Dresden (dr. Mertová)

Protocol INCB39110-301: Randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie fáze 3 hodnotící přípravek Itacitinib nebo placebo v kombinaci s kortikosteroidy při léčbě první linie akutní reakce štěpu proti hostiteli (GraftVersus-Host Disease) (dr. Vítek)

Protocol AG348-C-008: Dlouhodobá globální observační studie u pacientů s nedostatkem pyruvátkinázy (prof. Čermák)

Protocol 20150139: Observační studie zaměřená na bezpečnost a účinnost blinatumomabu, jeho použití a léčebné postupy (dr. Šálek)

Protocol 20180138: Dlouhodobé následné sledování dospělých pacientů s relabovanou/refrakterní akutní lymfoblastickou leukemií s negativitou filadelfského chromosomu zařazených do klinického hodnocení 00103311. (dr. Šálek)

Protocol 04-30: Mezinárodní randomizovaná kontrolovaná studie fáze III hodnotící Rigosertib oproti léčbě zvolené lékařem u pacientů s myelodysplastickým syndromem po selhání léčby hypometylujícím přípravkem (prof. Čermák)

Protocol TCB-202-001: Klinické hodnocení bezpečnosti a účinnosti alogenních $\gamma\delta$ T-lymfocytů expandovaných ex vivo (OmniImmune®) u pacientů s relabovanou nebo rezistentní akutní myeloidní leukemií (AML), kteří nemohou nebo nechtějí podstoupit vysokodávkovanou záchrannou

with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH). (Prof. Čermák)

Protocol CC-486-AML-001: Phase 3, Randomized, Double-blind, Placebo controlled Study to compare efficacy and safety Oral Azacitidine plus best supportive care versus as Maintenance Therapy in subject with Acute myloid Leukemia in complete remission. (Prof. Čermák)

Protocol TUD-2DAUNO-058: Randomized comparison between two dose levels of daunorubicin and between one versus two cycles of induction therapy for adult patients with acute myeloid leukemia ≤ 65 years. – Study of Universitätsklinikum Dresden and Technischen Universität Dresden (Dr. Mertová)

Protocol INCB39110-301: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Study of Itacitinib or Placebo in Combination With Corticosteroids for the Treatment of First-Line Acute Graft Versus-Host Disease. (Dr. Vítek)

Protocol AG348-C-008: A Study of AG-348 in Adult Patients With Pyruvate Kinase Deficiency. (Prof. Čermák)

Protocol 20150139: An observational study of blinatumomab safety and effectiveness, utilisation, and treatment practices. (Dr. Šálek)

Protocol 20180138: Long-term follow-up of adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia relapsed refractory patients enrolled in study 00103311 (Dr. Šálek)

Protocol 04-30: A Phase III, International, Randomized, Controlled Study of Rigosertib versus Physicians Choice of Treatment in Patients with Myelodysplastic Syndrome after Failure of a Hypomethylating Agent. (Prof. Čermák)

Protocol TCB-202-001: Safety and efficacy of ex-vivo expanded allogeneic $\gamma\delta$ T-lymphocytes in patients with active relapsed or refractory acute myeloid leukemia (AML) who are not eligible for or do not consent with high dose salvage chemotherapy and/or

chemoterapii a/nebo alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Otevřená studie fáze I se zvyšující se dávkou. (dr. Vydra)

Protocol SHP620-302: Multicentrické randomizované dvojité zaslepené a dvojité matoucí aktivně kontrolované klinické hodnocení fáze 3 k posouzení účinnosti a bezpečnosti maribaviru v porovnání s valganciklovirem v léčbě cytomegalovirové (CMV) infekce u příjemců transplantátu hematopoetických kmenových buněk (dr. Marková)

Protocol CMBG453B12301: Randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované, multicentrické klinické hodnocení fáze III k posouzení účinků azacitidinu v kombinaci s MBG453 nebo samostatně při léčbě pacientů s myelodysplastickým syndromem (MDS) se středním, vysokým a velmi vysokým rizikem podle kritérií IPSS-R nebo s chronickou myelomonocytární leukémií – 2 (CMML-2) (prof. Čermák)

Protocol CMBG453B12201: Randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované, multicentrické klinické hodnocení fáze II intravenózně podávaného přípravku MBG453 přidávaného k hypometylačním látkám u dospělých pacientů s myelodysplastickým syndromem (MDS) se středním, vysokým a velmi vysokým rizikem podle kritérií IPSS-R (prof. Čermák)

Protocol Ponderosa: Observační studie k léčbě ponatinibem (Iclusig®) u pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) ve všech fázích (dr. Klamová)

Protocol P16/11: Studie fáze 2 s inotuzumabem a ozogamicinem (INO) v kombinaci s chemoterapií v léčbě starších pacientů s Ph-negativní CD22+ akutní B-lymfoblastickou leukémií (dr. Šálek)

Protocol M19-708: Randomizované, otevřené, multicentrické klinické hodnocení fáze 3 s 2 rameny hodnotící venetoclax a azacitidin oproti nejlepší podpůrné péči v udržovací léčbě u pacientů s akutní myeloidní leukémií při první remisi po konvenční chemoterapii (VIALE-M) (prof. Ráčil)

Protocol C-935788-057: Multicentrické, randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované klinické hodnocení fáze III s přípravkem fostamatiniib disodium při léčbě autoimunitní hemolytické anémie s tepelnými protilátkami (prof. Čermák)

allogeneic Hemato-poietic Cell Transplantation (HCT). A mono-centric, dose escalation open-label phase I/IIa study. (Dr. Vydra)

Protocol SHP620-302: A Phase 3, multicenter, randomized, double-blind, double-dummy, active-controlled study to assess the efficacy and safety of maribavir compared to valganciclovir for the treatment of cytomegalovirus (CMV) infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. (Dr. Marková)

Protocol CMBG453B12301: A randomized, double-blind, placebo-controlled phase III multi-center study of azacitidine with or without MBG453 for the treatment of patients with intermediate, high or very high risk myelodysplastic syndrome (MDS) as per IPSS-R, or Chronic Myelomonocytic Leukemia-2 (CMML-2). (Prof. Čermák)

Protocol CMBG453B12201: A Study of MBG453 in Combination With Hypomethylating Agents in Subjects With IPSS-R Intermediate, High or Very High Risk Myelodysplastic Syndrome (MDS). (STIMULUS-MDS1). (Prof. Čermák)

Protocol Ponderosa: Observational study on CML patients in any phase treated with ponatinib (Iclusig®) at any dose. (Dr. Klamová)

Protocol P16/11: A Phase 2 Study of Inotuzumab Ozogamicin (INO) Combined to Chemotherapy in Older Patients With Philadelphia Chromosome-negative CD22+ B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. (Dr. Šálek)

Protocol M19-708: Randomized, Open-label, 2-Arm, Multicenter, Phase 3 Study of Venetoclax and Azacitidine Versus Standard of Care as Maintenance Therapy for Patients with Acute Myeloid Leukemia in First Remission After Conventional Chemotherapy. (Prof. Ráčil)

Protocol C-935788-057: A Phase 3, Multi-Center, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Study of Fostamatinib Disodium in the Treatment of Warm Antibody Autoimmune Hemolytic Anemia. (Prof. Čermák)

Protocol BlinaCell: Jeden cyklus blinatumomabu následovaný vysokodávkovanou chemoterapií v indukční léčbě Ph-negativní akutní lymfoblastové leukemie dospělých (dr. Šálek)

Publikace/Publications

Původní práce v impaktovaných časopisech / Original papers in impacted journals

1. WEI, A.H.; DÖHNER, H.; POCOCCO, C.; MONTESINOS, P.; AFANASYEV, B.; DOMBRET, H.; RAVANDI, F.; SAYAR, H.; JANG, J.-H.; PORKKA, K.; SELLESLAG, D.; SANDHU, I.; TURGUT, M.; GIAI, V.; OFRAN, Y.; ÇAKAR, M.K.; DE SOUSA, A.B.; RYBKA, J.; FRAIRIA, C.; BORIN, L.; BELTRAMI, G.; **ČERMÁK, J.** ET AL.

Oral azacitidine maintenance therapy for acute myeloid leukemia in first remission.

New England Journal of Medicine (NEJM). 2020, vol. 383, no. 26, s. 2526-2537. ISSN 0028-4793.

IF: 74.699, rok: 2019.

2. BERNARD, E.; NANNYA, Y.; HASSERJIAN, R.P.; DEVLIN, S.M.; TUECHLER, H.; MEDINA-MARTINEZ, J.S.; YOSHIZATO, T.; SHIOZAWA, Y.; SAIKI, R.; MALCOVATI, L.; LEVINE, M.F.; ARANGO, J.E.; ZHOU, Y.; SOLÉ, F.; CARGO, C.A.; HAASE, D.; CREIGNOU, M.; GERMING, U.; ZHANG, Y.; GUNDEM, G.; SARIAN, A.; VAN DE LOOSDRECHT, A.A.; JÄDERSTEN, M.; TOBIASSON, M.; KOSMIDER, O.; FOLLO, M.Y.; THOL, F.; PINHEIRO, R.F.; SANTINI, V.; KOTSIANIDIS, I.; BOULTWOOD, J.; SANTOS, F.P.S.; SCHANZ, J.; KASAHARA, S.; ISHIKAWA, T.; TSURUMI, H.; TAKAORI-KONDO, A.; KIGUCHI, T.; POLPRASERT, C.; BENNETT, J.M.; KLIMEK, V.M.; SAVONA, M.R.; **BELICKOVA, M.** ET AL.

Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes.

Nature Medicine. 2020, vol. 26, no. 10, s. 1549-1556. ISSN 1078-8956.

IF: 36.130, rok: 2019.

Protocol BlinaCell: Single cycle of blinatumomab followed by high-dose chemotherapy in the induction therapy for Ph-negative acute lymphoblastic leukemia in adults. (Dr. Šálek)

3. DANEK, P.; KARDOSOVA, M.; JANECKOVA, L.; KARKOULIA, E.; VANICKOVA, K.; FABISIK, M.; LOZANO-ASENCIO, C.; BENOUKRAF, T.; TIRADO-MAGALLANES, R.; ZHOU, Q.; BUROCZIOVA, M.; RAHMATOVA, S.; **PYTLIK, R.** ET AL.

β -Catenin-TCF/LEF signaling promotes steady-state and emergency granulopoiesis via G-CSF receptor upregulation.

Blood. 2020, vol. 136, no. 22, s. 2574-2587. ISSN 0006-4971.

IF: 17.543, rok: 2019.

4. **MACHOVA POLAKOVA, K.; ZIZKOVA, H.; ZUNA, J.; MOTLOVA, E.; HOVORKOVA, L.; GOTTSCHALK, A.; GLAUCHE, I.; KOBLIHOVA, J.; PECHERKOVA, P.; KLAMOVA, H.; STASTNA MARKOVA, M.; SRBOVA, D.; BENESOVA, A.; POLIVKOVA, V.** ET AL.

Analysis of chronic myeloid leukaemia during deep molecular response by genomic PCR: a traffic light stratification model with impact on treatment-free remission.

Leukemia. 2020, vol. 34, no. 8, s. 2113-2124. ISSN 0887-6924.

IF: 8.665, rok: 2019.

5. VON LILIENFELD-TOAL, M.; VEHRESCHILD, J.J.; CORNELLY, O.; PAGANO, L.; COMPAGNO, F.; HIRSCH, H.H.; PAGLIUCA, A.; AKAN, H.; LAGROU, K.; HOENIGL, M.; KLIMKO, N.; VERWEIJ, P.; DUARTE, R.; ZIMMERLI, S.; BRETAGNE, S.; **RACIL, Z.**

Frequently asked questions regarding SARS-CoV-2 in cancer patients-recommendations for clinicians caring for patients with malignant diseases.

Leukemia. 2020, vol. 34, no. 6, s. 1487-1494. ISSN 0887-6924.

IF: 8.665, rok: 2019.

6. DE SWART, L.; CROUCH, S.; HOEKS, M.; SMITH, A.; LANGEMEIJER, S.; FENAUX, P.; SYMEONIDIS, A.; ČERMÁK, J. ET AL.

Impact of red blood cell transfusion dose density on progression-free survival in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes.

Haematologica. 2020, vol. 105, no. 3, s. 632-639. ISSN 0390-6078.

IF: 7.116, rok: 2019.

7. DE WITTE, T.; MALCOVATI, L.; FENAUX, P.; BOWEN, D.; SYMEONIDIS, A.; MITTELMAN, M.; STAUDER, R.; SANZ, G.; ČERMÁK, J. ET AL.

Novel dynamic outcome indicators and clinical endpoints in myelodysplastic syndrome: the European LeukemiaNet MDS Registry and MDS-RIGHT project perspective.

Haematologica. 2020, vol. 105, no. 11, s. 2516-2523. ISSN 0390-6078. SJR: 2.931, rok: 2019.

IF: 7.116, rok: 2019.

8. HOEKS, M.; YU, G.; LANGEMEIJER, S.; CROUCH, S.; DE SWART, L.; FENAUX, P.; SYMEONIDIS, A.; ČERMÁK, J. ET AL.

Impact of treatment with iron chelation therapy in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes participating in the European MDS registry.

Haematologica. 2020, vol. 105, no. 3, s. 640-651. ISSN 0390-6078.

IF: 7.116, rok: 2019.

9. TIEDE, A.; COLLINS, P.; KNOEBL, P.; TEITEL, J.; KESSLER, C.; SHIMA, M.; DI MINNO, G.; D' OIRON, R.; SALAJ, P. ET AL.

International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia.

Haematologica. 2020, vol. 105, no. 7, s. 1791-1801. ISSN 0390-6078

IF: 7.116, rok: 2019.

10. TRUXOVA, I.; KASIKOVA, L.; SALEK, C. ET AL.

Calreticulin exposure on malignant blasts correlates with improved natural killer cell-mediated cytotoxicity in acute myeloid leukemia patients.

Haematologica. 2020, vol. 105, no. 7, s. 1868-1878. ISSN 0390-6078.

IF: 7.116, rok: 2019.

11. PRIBYL, M.; HUBACKOVA, S.; MOUDRA, A.; VANCUROVA, M.; POLACKOVA, H.; STOPKA, T.; JONASOVA, A.; BOKOROVA, R.; FUCHS, O. ET AL.

Aberrantly elevated suprabasin in the bone marrow as a candidate biomarker of advanced disease state in myelodysplastic syndromes.

Molecular oncology. 2020, vol. 14, no. 10, s. 2403-2419. ISSN 1574-7891.

IF: 6.574, rok: 2019.

12. JOSE, S.S.; DE ZUANI, M.; TIDU, F.; HORTOVÁ KOHOUTKOVÁ, M.; PAZZAGLI, L.; FORTE, G.; SPACCAPELO, R.; ZELANTE, T.; FRIČ, J.

Comparison of two human organoid models of lung and intestinal inflammation reveals Toll-like receptor signalling activation and monocyte recruitment.

Clinical & translational immunology. 2020, vol. 9, no. 5, art. no. e1131. ISSN 2050-0068.

IF: 6.464, rok: 2019.

13. SZIKSZAI, K.; KREJCIK, Z.; KLEMA, J.; LOUDOVA, N.; HRUSTINCOVA, A.; BELICKOVA, M.; HRUBA, M.; VESELA, J.; STRANECKY, V.; KUNDRAT, D.; PECHERKOVA, P.; CERMAK, J.; JONASOVA, A.; DOSTALOVA MERKEROVA, M.

LncRNA profiling reveals that the deregulation of H19, WT1-AS, TCL6, and LEF1-AS1 is associated with higher-risk myelodysplastic syndrome.

Cancers. 2020, vol. 12, no. 10, art. no. 2726. ISSN 2072-6694.

IF: 6.126, rok: 2019.

14. HRUBA, P.; KREJCIK, Z.; DOSTALOVA MERKEROVA, M. ET AL.

Molecular fingerprints of borderline changes in kidney allografts are influenced by donor category.

Frontiers in immunology. 2020, vol. 11, no. [March], art. no. 423. ISSN 1664-3224.

IF: 5.085, rok: 2019.

15. SALMANTON-GARCÍA, J.; KOEHLER, P.; KINDO, A.; FALCES-ROMERO, I.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, J.; RÁČIL, Z. ET AL.

Needles in a haystack: extremely rare invasive fungal infections reported in FungiScope®: Global Registry for Emerging Fungal Infections.

Journal of infection. 2020, vol. 81, no. 5, s. 802-815. ISSN 0163-4453.

IF: 4.842, rok: 2019.

16. WHITESIDE, S.; CHIN, A.; TRIPATHI, G.; DHARMANI-KHAN, P.; MARKOVA, M. ET AL.

Curability and transferability of atopy with allogeneic hematopoietic cell transplantation.

Bone marrow transplantation. 2020, vol. 55, no. 7, s. 1282-1289. ISSN 0268-3369.

IF: 4.725, rok: 2019.

17. SIMURDA, T.; VILAR, R.; ZOLKOVA, J.; CEZNEROVA, E. ET AL.

A novel nonsense mutation in fgb (C.1421g>a, p.trp474ter) in the beta chain of fibrinogen causing hypofibrinogenemia with bleeding phenotype.

Biomedicines. 2020, vol. 8, no. 12, art. no. 605. ISSN 2227-9059.

IF: 4.717, rok: 2019.

18. HORTOVÁ KOHOUTKOVÁ, M.; LÁZNIČKOVÁ, P.; BENDÍČKOVÁ, K.; DE ZUANI, M.; ANDREJČINOVÁ, I.; TOMÁŠKOVÁ, V.; SUK, P.; ŠRÁMEK, V.; HELÁN, M.; FRIČ, J.

Differences in monocyte subsets are associated with short-term survival in patients with septic shock.

Journal of cellular and molecular medicine. 2020, vol. 24, no. 21, s. 12504-12512. ISSN 1582-4934.

IF: 4.658, rok: 2019.

19. HORTOVÁ-KOHOUTKOVÁ, M.; LÁZNIČKOVÁ, P.; FRIČ, J.

How immune-cell fate and function are determined by metabolic pathway choice: the bioenergetics underlying the immune response.

BioEssays. 2020, vol. 42, no. [nečíslováno], art. no. 202000067. ISSN 0265-9247.

IF: 4.631, rok: 2019.

20. ACERBI, E.; HORTOVA KOHOUTKOVA, M.; CHOERA, T.; KELLER, N.; FRIC, J. ET AL.

Modeling approaches reveal new regulatory networks in aspergillus fumigatus metabolism.

Journal of fungi. 2020, vol. 6, no. 3, art. no. 108. ISSN 2309-608X.

IF: 4.621, rok: 2019.

21. STOJKOV, K.; SILZLE, T.; STUSSI, G.; SCHWAPPACH, D.; BERNHARD, J.; BOWEN, D.; ČERMÁK, J. ET AL.

Guideline-based indicators for adult patients with myelodysplastic syndromes.

Blood advances. 2020, vol. 4, no. 16, s. 4029-4044. ISSN 2473-9529.

IF: 4.584, rok: 2019.

22. CRUZ-GARCIA, L.; O'BRIEN, G.; SIPOS, B.; MAYES, S.; TICHÝ, A.; SIRÁK, I.; DAVÍDKOVÁ, M.; MARKOVÁ, M. ET AL.

In vivo validation of alternative FDXR transcripts in human blood in response to ionizing radiation.

International journal of molecular sciences. 2020, vol. 21, no. 21, art. no. 7851. ISSN 1422-0067.

IF: 4.556, rok: 2019.

23. DOSTALOVA MERKEROVA, M.; KREJCIK, Z.; SZIKSZAI, K.; KUNDRAT, D.

Circular RNAs in hematopoiesis with a focus on acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome.

International journal of molecular sciences. 2020, vol. 21, no. 17, art. no E5972. ISSN 1422-0067.

IF: 4.556, rok: 2019.

24. KOSEK, V.; HECZKOVA, M.; NOVAK, F.; MEISNEROVA, E.; NOVAKOVA, O.; ZELENKA, J.; BECHYNSKA, K.; VRZACOVA, N.; SUTTNAR, J.; HLAVACKOVA, A. ET AL.

The omega-3 polyunsaturated fatty acids and oxidative stress in long-term parenteral nutrition dependent adult patients: functional lipidomics approach.

Nutrients. 2020, vol. 12, no. 8, art. no. 2351. ISSN 2072-6643.

IF: 4.546, rok: 2019.

25. LÁZNIČKOVÁ, P.; KEPÁK, T.; HORTOVÁ KOHOUTKOVÁ, M.; HORVÁTH, L.; SHEARDOVÁ, K.; MARCINIÁK, R.; VACCA, C.; ŠIKLOVÁ, M.; ZELANTE, T.; ROSSMEISLOVÁ, L.; KŘENOVÁ, Z.; ŠTĚRBA, J.; BENDÍČKOVÁ, K.; FRIČ, J.

Childhood survivors of high-risk neuroblastoma show signs of immune recovery and not immunosenescence.

European journal of immunology. 2020, vol. 50, no. 12, s. 2092-2094. ISSN 0014-2980.

IF: 4.404, rok: 2019.

26. HRUSTINCOVA, A.; KREJCIK, Z.; KUNDRAT, D.; SZIKSZAI, K.; BELICKOVA, M.; PECHERKOVA, P.; KLEMA, J.; VESELA, J.; HRUBA, M.; CERMAK, J.; HRDINOVA, T.; KRIJT, M.; VALKA, J.; JONASOVA, A.; MERKEROVA, M.D.

Circulating small noncoding RNAs have specific expression patterns in plasma and extracellular vesicles in myelodysplastic syndromes and are predictive of patient outcome.

Cells. 2020, vol. 9, no. 4, art. no. E794. ISSN 2073-4409.

IF: 4.366, rok: 2019.

27. ŠTACH, M.; PTÁČKOVÁ, P.; MUCHA, M.; MUSIL, J.; KLENER, P.; OTÁHAL, P.

Inducible secretion of IL-21 augments anti-tumor activity of piggyBac-manufactured chimeric antigen receptor T cells.

Cytotherapy. 2020, vol. 22, no. 12, s. 744-754. ISSN 1465-3249.

IF: 4.218, rok: 2019.

28. HAJSL, M.; HLAVACKOVA, A.; BROULIKOVA, K.; SRAMEK, M.; MALY, M.; DYR, J.E.; SUTTNAR, J.

Tryptophan metabolism, inflammation, and oxidative stress in patients with neurovascular disease.

Metabolites. 2020, vol. 10, no. 5, art. no. 208. ISSN 2218-1989.

IF: 4.097, rok: 2019.

29. PYTLÍK, R.; POLGÁROVÁ, K.; KAROLOVÁ, J.; KLENER, P. JR.

Current immunotherapy approaches in non-Hodgkin lymphomas.

Vaccines. 2020, vol. 8, no. 4, art. no. 708. ISSN 2076-393X.

IF: 4.086, rok: 2019.

30. HRDINOVA, T.; TOMAN, O.; DRESLER, J.; KLIMENTOVA, J.; SALOVSKA, B.; PAJER, P.; BARTOS, O.; POLIVKOVA, V.; LINHARTOVA, J.; MACHOVA POLAKOVA, K.; KABICKOVA, H.; BRODSKA, B.; KRIJT, M.; ZIVNY, J.; VYORAL, D.; PETRAK, J.

Exosomes released by imatinibresistant K562 cells contain specific membrane markers, IFITM3, CD146 and CD36 and increase the survival of imatinibsensitive cells in the presence of imatinib.

International journal of oncology. 2020, vol. 58, no. [December], s. 238-250. ISSN 1019-6439.

IF: 3.899, rok: 2019.

31. OSTHEIM, P.; TICHY, A.; SIRAK, I.; DAVIDKOVA, M.; MARKOVA STASTNA, M.; ET AL.

Overcoming challenges in human saliva gene expression

measurements.

Scientific reports. 2020, vol. 10, no. 1, art. no. 11147. ISSN 2045-2322.

IF: 3.998, rok: 2019.

32. BAZARBACHI, A.; LABOPIN, M.; ANGELUCCI, E.; GULBAS, Z.; OZDOGU, H.; ARAT, M.; DE ROSA, L.; PASTANO, R.; PIOLTELLI, P.; MONTSERRAT, R.; MARTINO, M.; CICERI, F.; KOÇ, Y.; SOCIE, G.; BLAISE, D.; HERRERA, C.; CHALANDON, Y.; BERNASCONI, P.; MAROTTA, G.; CASTAGNA, L.; MCDONALD, A.; VISANI, G.; CARLUCCIO, P.; **VITEK, A.** ET AL.

Haploidentical transplantation with post-transplantation cyclophosphamide for T cell acute lymphoblastic leukemia: a report from the European Society for Blood and Marrow Transplantation Acute Leukemia Working Party.

Biology of blood and marrow transplantation. 2020, vol. 26, no. 5, s. 936-942. ISSN 1083-8791.

IF: 3.853, rok: 2019.

33. RUGGERI, A.; LABOPIN, M.; BATTIPAGLIA, G.; CHIUSOLO, P.; TISCHER, J.; DIEZ-MARTIN, J.L.; BRUNO, B.; CASTAGNA, L.; MOISEEV, I.S.; **VITEK, A.** ET AL.

Timing of post-transplantation cyclophosphamide administration in haploidentical transplantation: a comparative study on behalf of the acute leukemia working party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation.

Biology of blood and marrow transplantation. 2020, vol. 26, no. 10, s. 1915-1922. ISSN 1083-8791.

IF: 3.853, rok: 2019.

34. BENDICKOVA, K.; **FRIC, J.**

Roles of IL-2 in bridging adaptive and innate immunity, and as a tool for cellular immunotherapy.

Journal of leukocyte biology. 2020, vol. 108, no. 1, s. 427-437. ISSN 0741-5400.

IF: 3.757, rok: 2019.

35. SVOBODOVA, K.; LHOTSKA, H.; HODANOVA, L.; PAVLISTOVA, L.; VESELA, D.; **BELICKOVA, M.**; **VESELA, J.**; **BREZINOVA, J.**; **SAROVA, I.**; IZAKOVA, S.; LIZCOVA, L.; SISKOVA, M.; JONASOVA, A.; **CERMAK, J.**; MICHALOVA, K.; ZEMANOVA, Z.

Cryptic aberrations may allow more accurate prognostic classification of patients with myelodysplastic syndromes and clonal evolution.

Genes chromosomes & cancer. 2020, vol. 59, no. 7, s. 396-405. ISSN 1098-2264.

IF: 3.444, rok: 2019.

36. ROUBALOVÁ, K.; NĚMEČKOVÁ, Š.; KRYŠTOFOVÁ, J.; HAINZ, P.; PUMANNOVÁ, M.; HAMŠÍKOVÁ, E.

Antigenic competition in the generation of multi-virus-specific cell lines for immunotherapy of human cytomegalovirus, polyomavirus BK, Epstein-Barr virus and adenovirus infection in haematopoietic stem cell transplant recipients.

Immunology Letters. 2020, vol. 228, no. [December], s. 64-69. ISSN 0165-2478.

IF: 3.276, rok: 2019.

37. PARIKOVA, A.; HRUBA, P.; **KREJCIK, Z.**; STRANECKY, V.; FRANEKOVA, J.; KREDIET, R.T.; VIKLICKY, O.

Peritoneal dialysis induces alterations in the transcriptome of peritoneal cells before detectable peritoneal functional changes.

American journal of physiology: renal physiology. 2020, vol. 318, no. 1, s. F229-F337. ISSN 1931857X.

IF: 3.144, rok: 2019.

38. SALAJ, P.; **GEIEROVÁ, V.**; IVANOVÁ, E.; **LOUŽIL, J.**; **POHLREICHOVÁ, V.**; **HRACHOVINOVÁ, I.**; DULÍČEK, P.

Identifying risk factors and optimizing standard of care for patients with acquired haemophilia A: results from a Czech patient cohort.

Haemophilia. 2020, vol. 26, no. 4, s. 643-651. ISSN 1351-

8216.

IF: 2.990, rok: 2019.

39. PROVAZNÍKOVÁ, D.; MATÝŠKOVÁ, M.; ČÁPOVÁ, I.; GRANČAROVÁ, D.; DRBOHLAVOVÁ, E.; ŠLECHTOVÁ, M.; HRACHOVINOVÁ, I.

Seventeen novel SERPINC1 variants causing hereditary antithrombin deficiency in a Czech population.

Thrombosis research. 2020, vol. 198, no. May, s. 39-41. ISSN 0049-3848.

IF: 2.869, rok: 2019.

40. HORTOVÁ-KOHOUTKOVÁ, M.; TIDU, F.; DE ZUANI, M.; ŠRÁMEK, V.; HELÁN, M.; FRIČ, J.

Phagocytosis-inflammation crosstalk in sepsis: new avenues for therapeutic intervention.

Shock. 2020, vol. 54, no. 5, s. 606-614. ISSN 1073-2322.

IF: 2.960, rok: 2019.

41. SOVOVÁ, Ž.; ŠTIKAROVÁ, J.; KAUFMANOVÁ, J.; MÁJEK, P.; SUTTNAR, J.; ŠÁCHA, P.; MALÝ, M.; DYR, J.E.

Impact of posttranslational modifications on atomistic structure of fibrinogen.

PLoS one. 2020, vol. 15, no. 1, art. no. e0227543. ISSN 1932-6203.

IF: 2.740, rok: 2019.

42. ŠTOLBOVÁ, Š.; BEZDÍČKA, M.; PROHÁSZKA, Z.; CSUKA, D.; HRACHOVINOVÁ, I. ET AL.

Molecular basis and outcomes of atypical haemolytic uraemic syndrome in Czech children.

European journal of pediatrics. 2020, vol. 179, no. 11, s. 1739-1750. ISSN 0340-6199.

IF: 2.305, rok: 2019.

43. VOLEJNIKOVA, J.; VOJTA, P.; URBANKOVA, H.; MOJZIKOVA, R.; HORVATHOVA, M.; HOCHOVA, I.; CERMAK, J. ET AL.

Czech and Slovak Diamond-Blackfan Anemia (DBA) Registry update: clinical data and novel causative genetic lesions.

Blood cells, molecules & diseases. 2020, vol. 81, no. [March], art. no. 102380. ISSN 1079-9796.

IF: 2.460, rok: 2019.

44. ŠÁLEK, C.; VYDRA, J.; CEROVSKÁ, E.; ŠESTÁKOVÁ, Š.; RANSZORFOVÁ, Š.; VÁLKOVÁ, V.; CETKOVSKÝ, P.; REMEŠOVÁ, H.

WT1 expression in peripheral blood at diagnosis and during the course of early consolidation treatment correlates with survival in patients with intermediate and poor-risk acute myeloid leukemia.

Clinical lymphoma myeloma & leukemia. 2020, vol. 20, no. 12, s. e998-e1009. ISSN 2152-2650.

IF: 2.298, rok: 2019.

45. KUŽELOVÁ, K.; OBR, A.; MARKOVÁ, J.; GAŠOVÁ, Z.

Integrin expression and adhesivity to fibronectin in primary acute myeloid leukemia cells: impact of NPM1 and FLT3 mutations.

European journal of haematology. 2020, vol. 105, no. 5, s. 578-587. ISSN 0902-4441.

IF: 2.220, rok: 2019.

46. SUTHERLAND, D.R.; RICHARDS, S.J.; ORTIZ, F.; NAYYAR, R.; BENKO, M.; MARINOV, I.; ILLINGWORTH, A.

CD71 improves delineation of PNH type III, PNH type II, and normal immature RBCs in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.

Cytometry part B: clinical cytometry. 2020, vol. 98, no. 2, s. 179-192. ISSN 0196-4763.

IF: 2.070, rok: 2019.

47. MALEROVA, S.; HEJTMANKOVA, A.; HAMSÍKOVÁ, E.; SALAKOVA, M.; SMAHELOVA, J.; KLOZAR, J.; TACHEZY, R.

Prevalence and risk factors for oral HPV in healthy population, in Central Europe.

Anticancer Research. 2020, vol. 40, no. 3, s. 1597-1604. ISSN 0250-7005.

IF: 1.994, rok: 2019.

48. CERNAN, M.; SZOTKOWSKI, T.; HISEMOVA, M.; CETKOVSKY, P. ET AL.

Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: first retrospective study in the Czech Republic.

Neoplasma. 2020, vol. 67, no. 3, s. 650-659. ISSN 0028-2685.

IF: 1.721, rok: 2019.

49. HOLUB, M.; STRÁNÍKOVÁ, A.; CHALUPA, P.; ARIENTOVÁ, S.; ROUBALOVÁ, K.; BERAN, O.

Frequent recurrences of genital herpes are associated with enhanced systemic HSV-specific T cell response.

Canadian journal of infectious diseases and medical microbiology. 2020, vol. 2020, [nečíslováno], art. no. 5640960. ISSN 1712-9532.

IF: 1.520, rok: 2019.

50. HOLICEK, P.; TRUXOVA, I.; KASIKOVA, L.; VOSAHLIKOVA, S.; SALEK, C. ET AL.

Assessment of NK cell-mediated cytotoxicity by flow cytometry after rapid, high-yield isolation from peripheral blood.

Methods in enzymology. 2020, vol. 631, no. [nečíslováno], s. 277-287. ISSN 0076-6879.

IF: 1.394, rok: 2019.

51. SMETANA, K.; KLAMOVIČ, H.; MIKULENKOVÁ, D.

Dominant nucleolus in the progenitor cell using human erythroid cell lineage as a model: a morphological and

cytochemical note.

Folia biologica. 2020, roč. 66, č. 3, s. 111-115. ISSN 0015-5500.

IF: 0.691, rok: 2019.

52. FUCHS, O.; BOKOROVA, R.

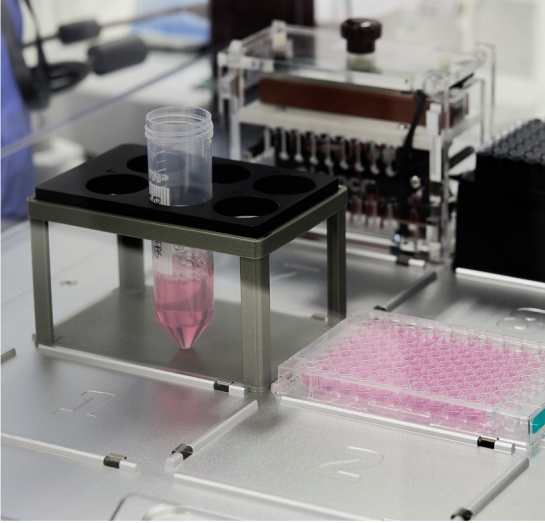
Rationale of targeting protein cereblon as a potential strategy for cancer treatment.

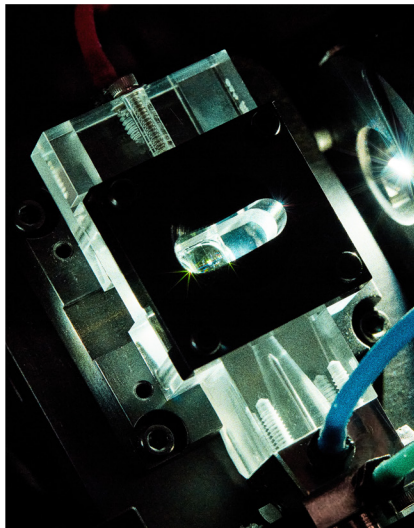
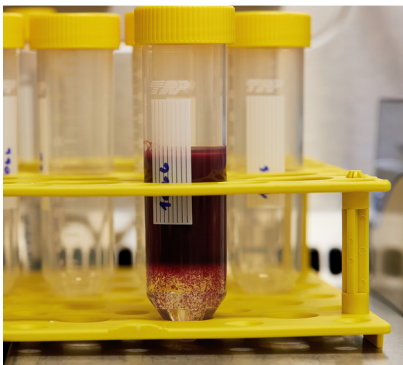
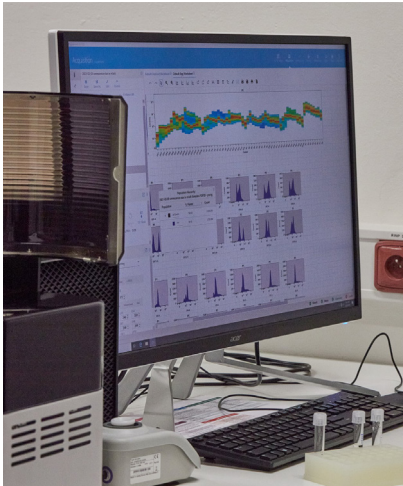
Drugs of the future. 2020, vol. 45, no. 5, s. 305-317. ISSN 0377-8282.

IF: 0.073, rok: 2019.

SPARK.

FOTOGRAFIE A VIZUALIZACE --- PHOTOGRAPHS AND VISUALISATIONS







OBJEKT JE
STŘEŽEN
KAMEROVÝM
SYSTEMEM !

PODĚKOVÁNÍ

ACKNOWLEDGEMENTS

ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVŇÍ TRANSFUZE / INSTITUTE OF HEMATOLOGY AND BLOOD TRANSFUSION

Děkujeme sponzorům a smluvním partnerům, kteří nám v roce 2020 pomáhali.

We would like to thank our sponsors and partners for helping us in 2020.

AOP Orphan Pharmaceu, BAYER AKTIENGESELLSC, BIOGEN PRAHA, s.r.o., BIOMEDICA ČS, s.r.o., East Port Praha, s.r.o., FRESENIUS KABI s.r.o., Fučík Vladimír, Grifols s.r.o., HUGEdiagnostics s.r.o., INTERSOL s.r.o., Seidl Jan, Joklová Jaroslava, Kindlová Markéta, Kozáková Kristina, KRD-OBCHODNÍ SPOLEČNOST, Kroupová Alena, Kyselicová Libuše, Lupínková Romana, Rzehulka Matěj, Nadační fond UMBILICUS, NOVARTIS INVESTMENTS, Pánek Zdeněk, Ing., Kořínek Pavel, PentaGen s.r.o., Pícl Vít, Prchal Stanislav, ROCHE s.r.o., Souček Petr, Swedish Orphan Biovi, Swixx Biopharma s.r.o., TERUMO BCT EUROPE NV IKAROSLAAN 41 1930 ZAVENTEM, Vlček Václav, WERFEN CZECH s.r.o., Zůbek Jan, JUDr.

APR s.r.o., Alexion Pharma International Operation, Angelini Pharma Česká republika s.r.o., Beachklub Ládví z.s., Corbiere s.r.o., Dimitrov Dalibor, Emco s.r.o., I.D.C. Praha, a.s., Kloubek Michal, Ing., Kofola a.s., MASPEX Czech s.r.o., Ministerstvo zdravotnictví, Novák Petr, Pfizer PFE s.r.o., Rudolf Bureš, Solvent ČR s.r.o., UNILEVER ČR, spol. s r.o.