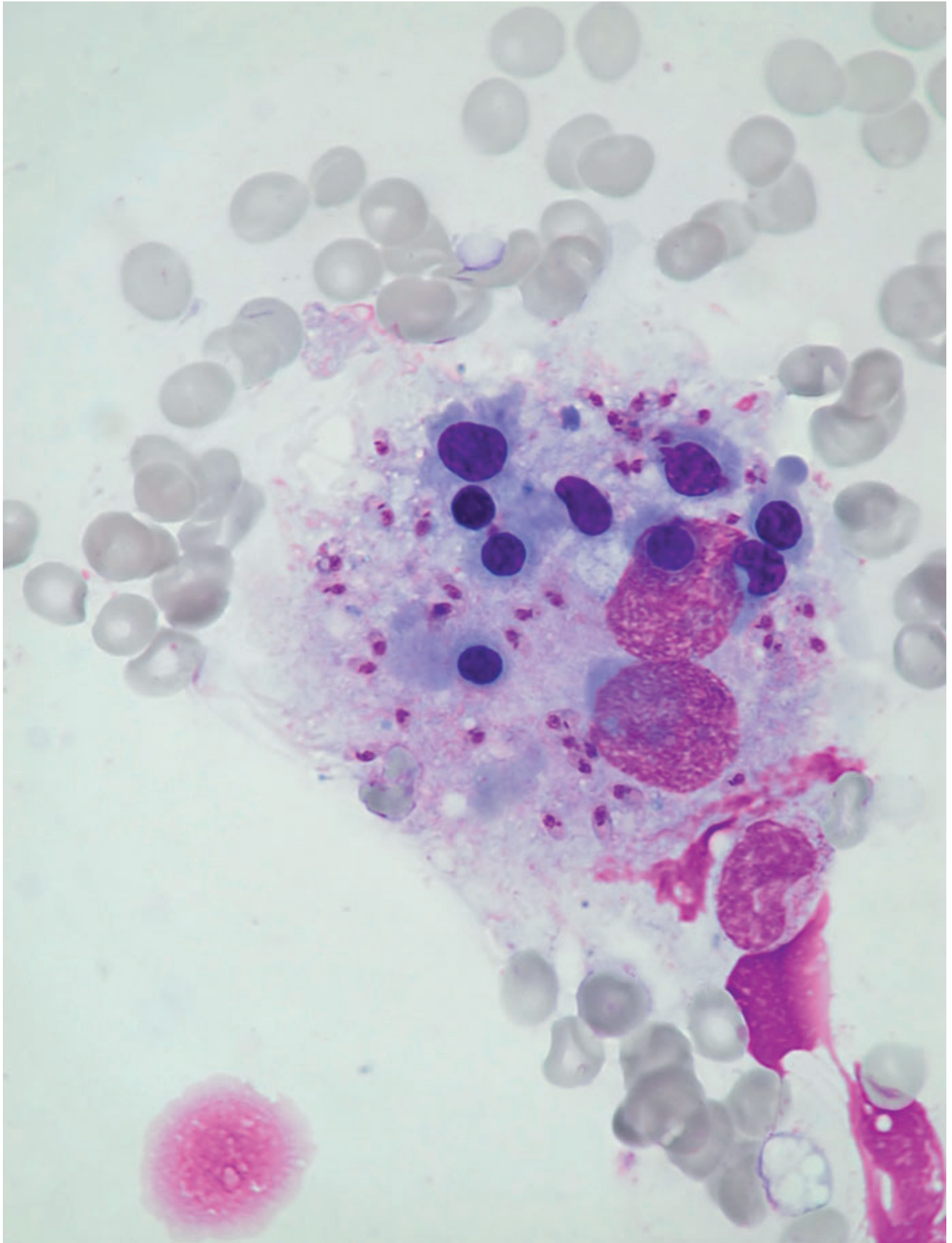






ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVNÍ TRANSFUZE

U Nemocnice 1 • 128 20 Praha 2

Telefon: 221 977 111

Fax: 224 913 728

web: www.uhkt.cz

e-mail: info@uhkt.cz



© 2010 Ústav hematologie a krevní transfuze v Praze
Redakce: MUDr. Jana Sajdová, Grafická úprava: Jakub Zoubek
Obrazový materiál: Fotoklub ÚHKT, Archív ÚHKT, Peter Novitzky, MUDr. Jana Sajdová, Jakub Zoubek
Na titulní straně: průkaz Leishmaniosy v kostní dřeni.

Obsah

Slovo úvodem	2	Komplement laboratoří	65
Organizační schéma	4	Provozně-ekonomický úsek	67
Klinický úsek	7	Ekonomické oddělení	69
Lůžkové oddělení	9	Informační a komunikační technologie	71
Transplantační jednotka (TJ) a Jednotka intenzivní hematologické péče (JIHeP)	11	Technické oddělení	72
Ambulance	13	Středisko vědeckých lékařských informací (SVLI)	73
Centrum pro trombózu a hemostázu (CTH)	14	Věda a výzkum	74
Laboratoře		Výzkumný záměr	74
– Laboratoř pro poruchy hemostázy	14	Grantové projekty	74
– Morfologicko-cytochemická laboratoř	17	Spolupráce na mimoústavních projektech	77
– Laboratoř PCR diagnostiky leukemií	19	Klinické studie	80
– Laboratoř průtokové cytometrie	21	Spolupráce	81
– Laboratoř diagnostiky anémií	22	Ocenění/vyznamenání	82
Dokumentační centrum	23	Vědecko-pedagogické tituly, vědecké hodnosti, atestace	82
Transfuziologický úsek	25	Pedagogická činnost	84
Transfuzní oddělení	27	Členství v radách a komisích	86
Aferetické oddělení	29	Organizace konferencí a školících akcí	88
Oddělení imunohematologie	31	Péče o zaměstnance	89
Oddělení buněčné terapie	33	Publikační činnost 2008 (vybrané publikace)	90
Výzkumný úsek	35	Seznam zkratk	106
Oddělení biochemie	37		
Oddělení buněčné biochemie	39		
Oddělení molekulární genetiky	42		
Oddělení buněčné fyziologie	47		
Oddělení cytogenetiky	50		
Oddělení HLA analýzy	51		
Oddělení experimentální virologie	52		
Ošetrovatelský úsek	57		
Laboranti	58		
Referenční laboratoře	60		
Národní referenční laboratoř pro poruchy hemostázy a referenční pracoviště pro některé DNA metodiky	60		
Referenční laboratoř pro imunohematologii	60		
Akreditovaná národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku ..	61		
Koordinační centrum genetických laboratoří	62		
Kalibrační centrum	63		
Národní referenční laboratoř pro papillomaviry	64		



Slovo úvodem

Rok 2009 byl pro Ústav hematologie a krevní transfuze rokem, kdy utichly diskuse o právu ústavu na samostatnou existenci. Byl rokem, kdy došlo ke jmenování ředitele, rokem, kdy došlo k přestavbě transplantační jednotky, rokem, kdy finisovala příprava na akreditaci komplementu laboratoří podle norem ČIA a tato akreditace byla zahájena, byly zahájeny přípravy na rozsáhlou rekonstrukci laboratorního zázemí. Všechny tyto změny se odehrávaly v zevním prostředí nastupující hospodářské krize se všemi důsledky.

Ústav byl nicméně schopen nadále poskytovat vysoce kvalitní péči v oblasti hemato-onkologie i nenádorové hematologie s narůstající kvalitou a reprezentuje špičkové národní centrum v řadě oblastí, kdy jeho spádová oblast se pohybuje podle jednotlivých diagnóz mezi dvěma až čtyřmi milióny obyvatel. V rámci klinického úseku byla hlavní událostí přestavba transplantační jednotky, která se rozšířila o jedno lůžko a splňuje nyní ty nejprísnejší standardy poskytování léčebné péče. Přestavba probíhala za provozu ostatních oddělení a udržení celého programu transplantací. Zde patří obrovský dík všem zaměstnancům, ošetrovatelskému, lékařskému personálu, lékařům, laborantům a v neposlední řadě nemocným. Všichni

s enormním nasazením a zároveň trpělivostí dokázali udržet kvalitu péče v nadstandardních mezích.

V roce 2009 byl nově ustaven úsek ošetrovatelský, jehož přednostkou byla na základě výběrového řízení jmenována Mgr. Lucie Vylítová. Zřízení úseku odráží význam a postavení nelékařského ošetrovatelského personálu v péči o nemocné a je nástrojem k dalšímu rozvoji v této oblasti.

V rámci výzkumného úseku a v laboratořích klinického a transfuziologického úseku probíhala příprava a dne 26. 11. 2009 byla zahájena akreditace Českého institutu pro akreditaci (ČIA). K několika laboratořím, které již akreditaci mají, tak přistupuje komplex laboratoří spojený do Komplementu laboratoří. Vedoucím Komplementu byl jmenován Prof. Ing. J. E. Dyr, DrSc., a jeho zástupcem RNDr. M. Dobrovolná. Bylo zřízeno a uvedeno do provozu Kalibrační centrum, aby uspokojovalo poptávku po kalibracích pístových pipet v laboratořích ústavu. Centrum zajistí soběstačnost ústavu v této nezbytné a přitom nákladné činnosti, bude tak znamenat ekonomický přínos. V oblasti výzkumné se dále prohlubuje důraz na poznání a využití změn v oblasti genové i proteinové (genomika,



proteomika a další) a využití těchto znalostí jak na úrovni diagnostické, prognostické tak i jako potenciálu pro cílené léčebné zásahy.

Transfuziologický úsek pokračoval v úspěšné činnosti odběrového centra s nárůstem dobrovolných dárců a úspěšně se zapojil do osvětových programů podporujících dobrovolné dárčovství. Jedním z odrazů těchto aktivit bylo i darování krve ministryní zdravotnictví Danou Juráskovou, prvního náměstka Marka Šnajdra a dalších členů vedení Ministerstva zdravotnictví ČR, z nichž se stali pravidelní dárci krve. Celkem přibýlo téměř osm set nových prvodárců. V r. 2009 bylo zavedeno, jako na prvním pracovišti v ČR, provádění výměnné erythrocytaferézy u nemocných se srpkovitou anémií. Transfuziologický úsek je správcem Národních registrů transfuzní služby a byly zahájeny práce na rekonstrukci databázových systémů.

V oblasti vědy a výzkumu patřil i v roce 2009 ústav podle dosažených výsledků v rámci hodnocení dle parametrů nastavených Radou vlády ČR pro vědu a výzkum mezi přední biomedicínská pracoviště. Ústav pracoval jako hlavní řešitel na dvaceti dvou výzkumných grantových projektech, včetně výzkumného záměru MZČR a na dalších šestnácti se podílel. Trend

prohlubující se spolupráce mezi ústavem a dalšími výzkumnými a vědeckými pracovišti jak českými, tak zahraničními, měl stoupající tendenci. Řada výsledků byla publikována v nejprestižnějších vědeckých časopisech. Ústav se podílel stoupající měrou na výuce jak pregraduální, tak postgraduální, o čemž svědčí narůstající počet studentů v rámci doktorandského studia.

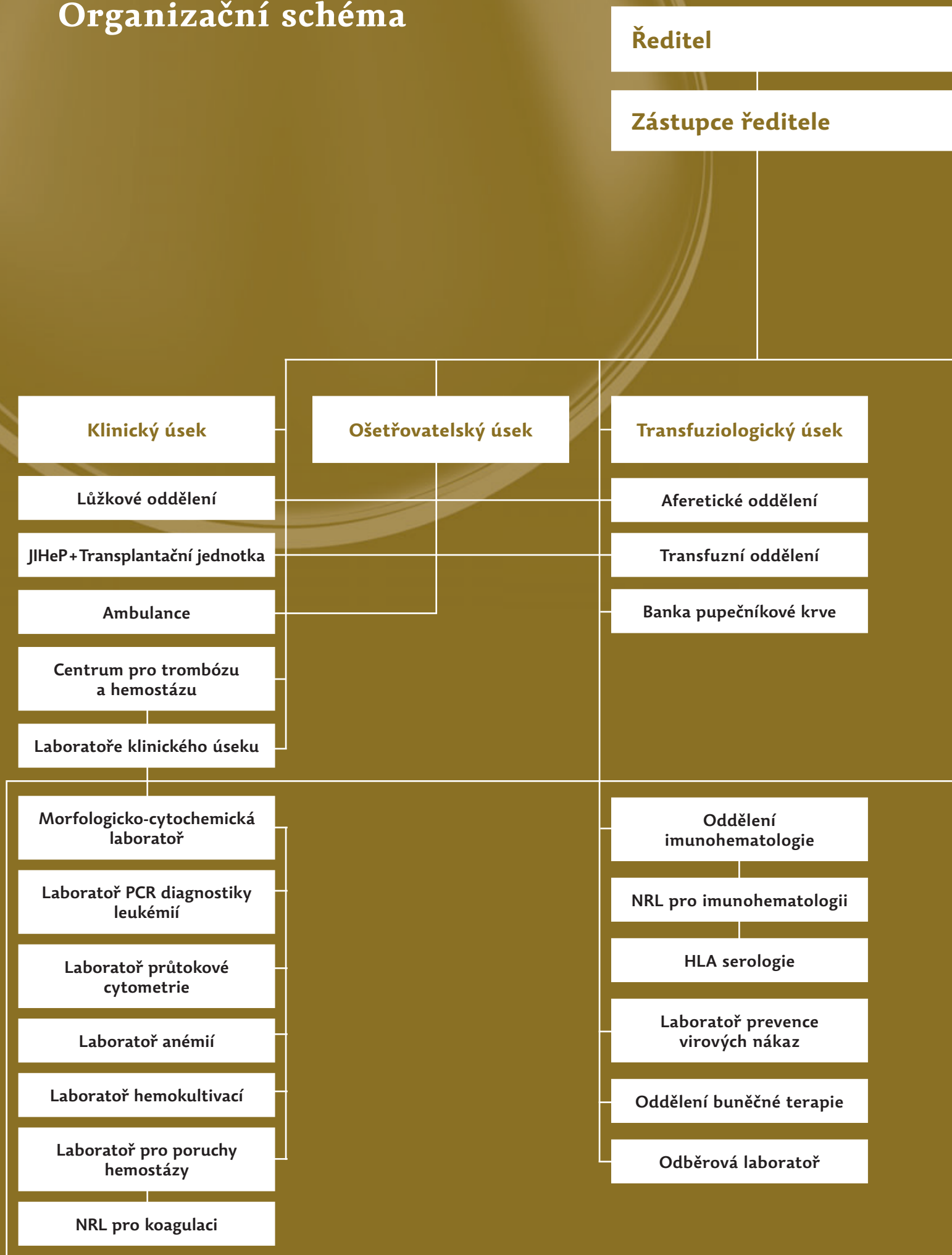
V oblasti ekonomiky se dařilo udržet zdravý ekonomický vývoj. Ústav se v roce 2009 umístil v žebříčku českých nemocnic dle finančního zdraví jako druhý v kategorii příspěvkových organizací do 350 lůžek a jako třetí v absolutním pořadí. Hospodařil se ziskem 6 148 310 Kč. Z důvodů zlepšení efektivity hospodaření a podpůrných činností byla provedena reorganizace, kdy byl zřízen úsek provozně ekonomický, který sloučil několik dosud samostatných oddělení. Do jeho čela byl na základě výběrového řízení jmenován Ing. Radek Lončák.

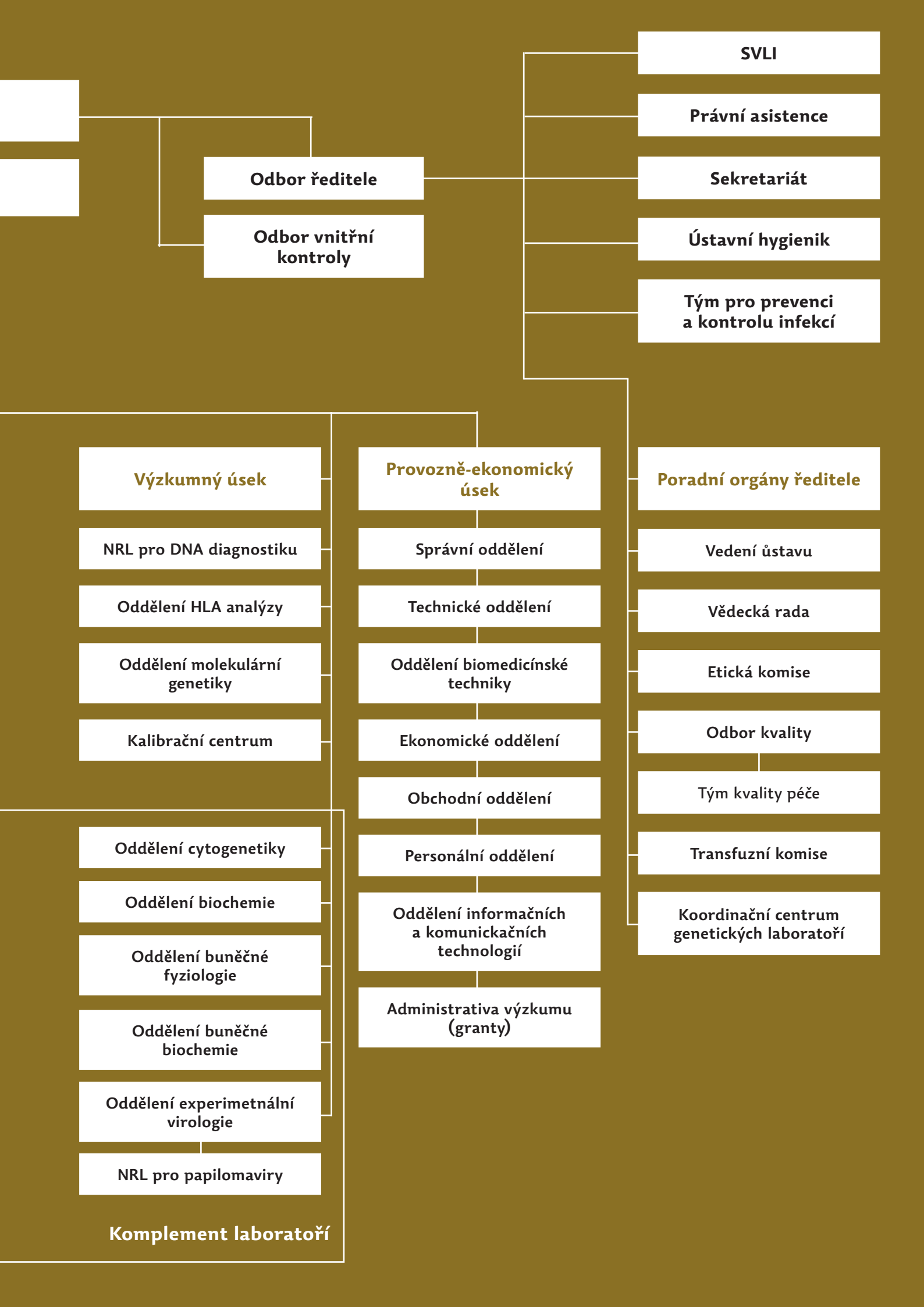
Celkově lze výsledky ústavu po všech stránkách hodnotit jako úspěšné. Je však za tím obrovské úsilí všech zaměstnanců, loajalita k ústavu a oddanost práci. Ústav představuje aktivní, dynamicky se rozvíjející zařízení, které dosahuje stále prohlubujícího se spojení mezi vědou a vysoce specializovanou zdravotnickou péčí.



Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

Organizační schéma







LINET
ERGOMATT

www.linnet.com
Zemmerstr. 5, 474 01, 5089, Cappel, Nordrhein
Westf. e 49 (0) 242 878 111, e-mail: info@linnet.de

Klinický úsek

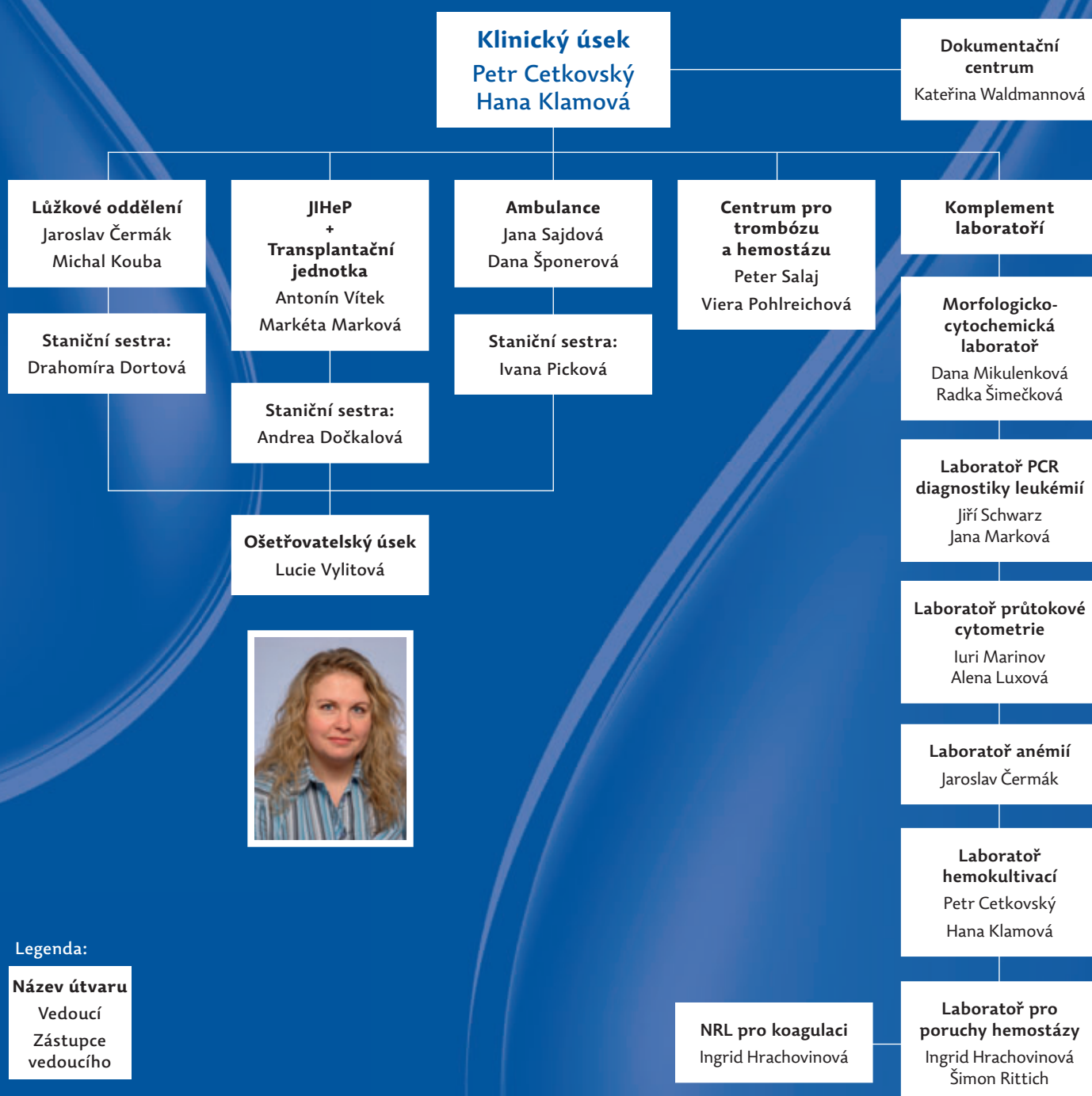
Počet zaměstnanců:	162
Lékaři:	27
VŠ ostatní:	14
Všeobecné sestry:	73
Laboranti:	24
SŠ ostatní:	6
Ostatní personál:	25



Přednosta:
Doc. MUDr.
Petr Cetkovský, PhD.



Zástupce přednosty:
MUDr. Hana
Klamová, CSc.





Na klinickém úseku se provádí diagnostika a léčba nemocných se závažnými onemocněními krvetvorby, zejména akutních a chronických leukémií, myelodysplastického a myeloproliferativních syndromů, vrozených i získaných poruch krevní srážlivosti či krevních destiček, některých typů anémie a dalších chorob.

Klinický úsek tvoří následující spolupracující součásti:

- Transplantační jednotka a jednotka intenzivní hematologické péče
- Lůžkové oddělení
- Ambulantní část a denní stacionář
- Laboratorní část klinického úseku
- Centrum pro trombózu a hemostázu

V roce 2009 byla provedena kompletní rekonstrukce Transplantační jednotky, takže i tato část klinického úseku splňuje ta nejnáročnější kritéria nutná pro péči o těžce imunokompromitované nemocné. Navíc byl vytvořen jeden transplantační pokoj, takže v současné době je na Transplantační jednotce k dispozici 5 jednolůžkových pokojů. Po rekonstrukcích a modernizacích provedených na klinickém úseku v minulých letech splňují všechny lůžkové stanice, ambulance i denní nemocnice ty nejpřísnější parametry nutné pro péči o všechny typy hematologických pacientů. Navzdory rozšíření kapacity o jedno lůžko zůstává na Transplantační jednotce velkým problémem nadále nedostatečný počet hematologických lůžek (transplantačních, intenzivních, standardních i paliativních) v Praze, na kterých se péče o nemocné nejen z Prahy, ale i ze Středočeského kraje a dalších oblastí České republiky, stíhá jen s maximálním úsilím.

Základní programy klinického úseku

- Léčba pacientů s akutní myeloidní leukémií a akutní lymfoblastickou

leukémií dle mezinárodních i národních protokolů.

- Alogenní transplantace kmenových buněk krvetvorby, především od nepříbuzných dárců či dárců s nějakou neshodou v HLA systému (jak po klasické přípravě, tak po přípravě s redukovanou intenzitou). Tento program v posledních letech prodělal významný rozvoj a ÚHKT je centrem s největším počtem těchto náročných výkonů v České republice.
- Hematologická intenzivní péče (včetně umělé plicní ventilace a mimotělních eliminačních metod; specializovanou péčí kromě vlastních specialistů zajišťují též konsiliáři z ostatních medicínských oborů).
- Péče o nemocné s myelodysplastickým syndromem, vzácnými anémiemi a myeloproliferativními syndromy: uznáním kvality diagnostické a léčebné péče o nemocné s MDS je i jmenování ÚHKT *Evropským centrem excellence*.
- Program diagnostiky a léčby nemocných se získanými i vrozenými krvácivými stavy, trombofilní stavy: péče o tyto nemocné je na klinickém úseku soustředěna do *Centra pro trombózu a hemostázu*. Pracovníci této součásti klinického úseku se vedle rutinní léčebné péče zabývají též stanovováním přenašečství a prenatální diagnostikou hemofilí. Součástí úseku, která těsně kooperuje s Centrem trombózy a hemostázy, je i *Národní referenční laboratoř pro koagulaci a referenční pracoviště pro některé DNA metodiky*.
- Léčba nemocných s chronickou myeloidní leukémií a chronickou lymfatickou leukémií.
- Vědecké projekty a výzkum, včetně účasti na grantových projektech a studiích, jsou významnou součástí činnosti všech oddělení klinického úseku.

Péče poskytovaná na klinickém úseku vyžaduje komplexní týmový přístup; ten je zajištěn spoluprací zkušených lékařů, zdravotních sester i dalšího středního a nižšího zdravotního personálu s dalšími specialisty, např. fyzioterapeutkami, nutriční terapeutkou, sociální sestrou, klinickými farmakology, klinickým psychologem atd.

Pracovníci klinického úseku poskytují péči a zajišťují bezpečí nemocných i personálu prací dle nastavených standardů. Tato každodenní praxe byla před 3 roky oceněna Joint Commission International udělením mezinárodní akreditace. V současnosti se všichni připravují k obhájení akreditace u stejné instituce; re-akreditace proběhne v červnu 2010.

Klinický úsek na léčebných, diagnostických, preventivních i vědeckých aktivitách spolupracuje s ostatními úseky a odděleními ÚHKT i s hematologickými pracovišti většiny krajských i ostatních nemocnic v České republice. V posledních letech probíhá na platformě České leukemické skupiny pro život (CELL) spolupráce s ostatními českými hematologickými centry na mnoha zajímavých projektech, například v následující problematice: ALL, AML, CML, podpůrná terapie atd. Na klinickém úseku probíhá postgraduální výuka lékařů ve spolupráci s Institutem postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, v rámci Ústavu klinické a experimentální hematologie, společného pracoviště ÚHKT a 1. LF UK v Praze, je na klinickém úseku zajišťována pregraduální výuka studentů 1. LF UK. ■

Lůžkové oddělení

Počet zaměstnanců: 42
Lékaři: 8
Všeobecné sestry: 24
Ostatní personál: 10



Primář:
Doc. MUDr.
Jaroslav Čermák, CSc.



Zástupce primáře:
MUDr. Michal Kouba



Staniční sestra:
Drahomíra Dortová

Lůžkové oddělení provádí diagnostiku a léčbu nemocných s chorobami krvetvorby, poskytuje specializovanou a superkonsiliární vyšetření a zaměřuje se na vysoce specializované léčebné postupy. Největší počet léčených představují nemocní s hematologickými chorobami, dále nemocní s vrozenými a získanými poruchami koagulace a dalšími závažnými chorobami (aplastická anémie, těžké formy hemolytických anemií).

V roce 2009 bylo na lůžkovém oddělení ÚHKT léčeno celkem 171 nemocných (v roce 2008 184 nemocných), počet hospitalizací činil 362 (v roce 2008 331). Dále jsme zaznamenali pokračující nárůst počtu hospitalizací u nemocných s ALL, kde nárůst souvisí s nutností opakovaných hospitalizací při používání protokolu GMALL, a stejně tak pokračuje pokles počtu hospitalizací nemocných s MDS, což je dáno přechodem na ambulantní léčbu demetylačními látkami u části starších nemocných s prokročilými formami choroby, kteří byli dříve hospitalizováni k podávání chemoterapie.

Nemocní jsou nadále léčeni v rámci různých klinických studií, zejména ve studiích podávajících tzv. demetylační látky starším nemocných s pokročilými fázemi MDS a AML, kteří nemohou být léčeni kominovanou chemoterapií, resp. transplantováni (studie DACO 016 a specifický léčebný program pro přípravky Vidaza firmy Celgene), těmito přípravky bylo v roce 2009 léčeno 9 nemocných. Nemocní s ALL jsou léčeni v rámci studie LeukemiaNet protokolem GMALL (celkem 7 nemocných), dvěma nemocným s MDS typu 5q – syndrom byl v rámci specifického firemního léčebného programu podáván přípravek Revlimid.

Léčba nově diagnostikovaných nemocných

AML

- Léčené intenzívně – 33.

Diagnóza	2008 (N=184)	2009 (N=171)
AML	62	69
MDS	22	19
ALL	18	20
CML	12	11
Hemofilie a jiné krvácivé stavy	12	3
CLL	10	11
MPS	9	11
NHL	8	9
ITP	7	5
Aplastická anémie a PNH	4	3
AIHA	3	4
Jiné anémie	3	2
TTP	2	7
Mmlg	1	0
MM	1	1
Ostatní	8	5

Tab. 1: Přehled jednotlivých diagnóz – počet nemocných léčených na lůžkovém oddělení v letech 2008–2009.

- Intenzivní chemoterapie – počet CR 23 (72 % v roce 2008 80 %), 7× resistance, 3× úmrtí v indukci.
- V další léčbě dosud u 8 nemocných provedena allo SCT, 2× relaps během konsolidace.

Dělení dle WHO

- AML therapy related 4×, AML s MLD 7×, M4 4×, M2 5×, M1 1×, AMK s inv16 1×, M5 2×, AML s transl. 15;17 3×, Mo 2×, biklonál. AL 1×, myelosarkom 1×.

ALL

- Léčeno 12 nemocných, z toho 7 ve studii GMALL, ostatní protokolem HyperCVAD, ve skupině se standardním rizikem byli léčeni 4 nemocní, u všech dosaženo CR, 3 nemocní měli vysoké riziko, rovněž všichni dosáhli CR, 5 nemocných mělo velmi vysoké riziko (2× Ph+ALL, 3× ALL jako sekundární malignita), u 4 z nich bylo dosaženo CR, nemocná relabovala během konsolidace, 1 nemocná zemřela

během indukce, 3 nemocní s ALL byli alogenně transplantováni.

Myelodysplastický syndrom (MDS)

Nově diagnostikováno 32 nemocných:

- RA – 3×, RCMD – 7×, RARS 2×, RARS s trombocytosou 1×, RCMD-RS – 1×, 5q-syndrom – 2×,
- RAEB – 1 – 5×, RAEB – 2 – 7×, CMML 1 – 2×, CMML 2 – 2×.

Léčba

- Nemocní s časnými stádii – podpůrná léčba, EPO, G-CSF u těžké granulocytopenie, Revlimid u 3 nemocných s 5q – syndromem, 2 mladší nemocní s RCMD a těžkou cytopenií indikováni k alogenní SCT.
- 2 nemocní s formou RCMD a těžkou trombocytopenií byli zařazeni do studie firmy Amgen s podáváním romiplostinu (N-Plate).
- Nemocní s pokročilými stádii (> 5% blastů, 4 mladší nemocní indikováni

k alogenní SCT, celkem 2× byli nemocní léčeni kombinovanou chemoterapií, 7× demetylačními látkami).

- CMML: 2 nemocní indikováni k SCT, 2× demetylační látky, ostatní léčení chemoterapií (hydroxyurea).

Pracoviště se podílí na tvorbě Národního registru nemocných s MDS, kam jsou předávány údaje z databáze nemocných léčených v ÚHKT, a dále na tvorbě Evropského registru nemocných s MDS v rámci projektu EHA-LeukemiaNet a na činnosti IWG (International Working Group) v projektu revize IPSS.

Chronická myeloidní leukémie (CML)

V roce 2009 bylo na našem pracovišti (v ÚHKT) diagnostikováno a do péče převzato dalších 29 nemocných, u kterých byla diagnostikována CML.

Soubor všech nemocných léčených v ÚHKT pro CML čítá více než 220 nemocných:

- celkem nově diagnostikovaných 29 pacientů (19 mužů, 10 žen),
- medián věku 55 let (20–82 let),
- ve stadiu chronické fáze bylo 27 nemocných,
- v pokročilejších stádiích onemocněni 2 pacienti.

Po úvodní cytoredukcí hydroxyureou a event. leukodeplecí (u pacientů s klinickými příznaky z leukostázy) byla u všech (29) nově diagnostikovaných nemocných zahájena terapie imatinibem, lékem první volby. Již v průběhu 3–12 měsíců od zahájení léčby docíleno u všech nemocných hematologické remise a u pacientů léčených déle než 6 měsíců také také kompletní cytogenetické odpovědi. Významný byl také pokles hladiny transkriptu BCR-ABL, tedy molekulární odpověď, u 45 % léčených velké molekulární odpovědi.

Poměrně časté dosažení hematologických a cytogenetických odpovědí s dobrou

tolerancí léčby bylo pozorováno také u nemocných léčených imatinibem ve druhé linii, tedy po předchozí terapii INF.

Kromě hodnocení hematologické a cytogenetické odpovědi jsou všichni pacienti monitorováni i ve smyslu molekulární odpovědi (v intervalech 2–3 měsíců). Od letošního roku bylo zavedeno provádění vyšetřování hladiny imatinibu plazmě (dosud vyšetřováno v centrální laboratoři ELN v Bordeaux) a vyšetřování na přítomnost mutací v kinázové doméně BCR-ABL, jedné z příčin rezistence k léčbě, u všech pacientů, u kterých jsou vyšetřeni tohoto typu indikována. Klinický význam těchto vyšetření pak spočívá v pomoci při procesu v rozhodování o další léčebné strategii při ne zcela optimální odpovědi na léčbu stávající.

U vybraných pacientů byly také testovány hladiny transkriptu WT1 (Wilms tumor) a sledována aktivita proteinů, např. Crkl, Src a Lyn, hrajících roli v patogenezi CML.

Počet pacientů léčených imatinibem v 1. linii tedy čítá 116 nemocných, s celkovým přežitím (OS) 91 % po 5 letech terapie a přežíváním bez progresu (PFS) v 78 %. Naše výsledky jsou zcela srovnatelné s výsledky velkých multicentrických studií, např. klinické studie IRIS.

Statisticky významný je také rozdíl v přežívání pacientů léčených v I. linii v současné době imatinibem ve srovnání s dřívější léčbou první linie, kterou byl INF nebo chemoterapie, jak patrně z grafu č. 1.

U více než 40 pacientů s CML, u kterých nebylo dosaženo optimální odpovědi na léčbu imatinibem, kde se rozvinula rezistence nebo lék nebyl dostatečně tolerován, byly podávány tyrozinkinázové inhibitory 2. generace – *dasatinib* a *nilotinib*. Také u těchto pacientů bylo dosahováno významných odpovědí na léčbu, srovnatelných s výsledky

léčby ostatních světových pracovišť. U pacientů léčených *dasatinibem* v chronické fázi navozeno 93 % hematologických remisí a 84 % velkých cytogenetických odpovědí. I tato léčba je dobře tolerována, o čemž svědčí i hodnocení kvality života nemocných.

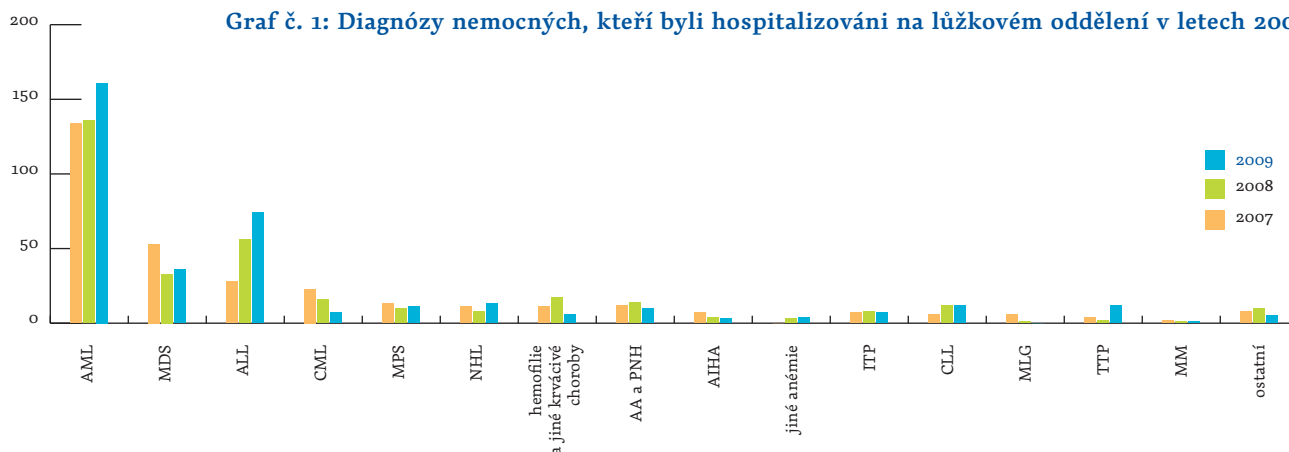
Pacienti, kteří splnili požadovaná kritéria, byli zařazeni a léčeni v rámci některé ze 4 níže uvedených klinických studií fáze 2 a 3, které v současné době na našem pracovišti probíhají.

V rámci činnosti organizace Česká leukemická skupina pro život (CELL) se podílíme na společné databázi pacientů léčených imatinibem – INFINITY I, II, III – v rámci které bylo také řešeno několik klinicko-laboratorních projektů.

Intenzivní spolupráce pokračuje také s The European CML Registry v rámci projektu EUTOS for CML (The European Treatment and Outcome Study) při European LeukemiaNet (ELN), sekce „Out-study patients“ – pacientů s CML léčených imatinibem a nově vzniklé sekce „Population-based registry“ s cílem reálně zmapovat epidemiologii CML v celé Evropě.

Participujeme také na evropském registru nemocných s CML, u kterých selhala léčba imatinibem – European Registry of Chronic Myelogenous Leukemia patients in failure after Imatinib therapy. ■

Graf č. 1: Diagnózy nemocných, kteří byli hospitalizováni na lůžkovém oddělení v letech 2007–2009.



Transplantační jednotka a Jednotka intenzivní hematologické péče



Primář:
MUDr. Antonín Vitek



Zástupce primáře:
MUDr. Markéta Marková, CSc.



Staniční sestra:
Mgr. Andrea Dočkalová

Počet zaměstnanců:	47
Lékaři:	4
Všeobecné sestry:	33
Ostatní personál:	10

V průběhu roku 2009 bylo na Jednotce intenzivní hematologické péče (JIHeP) a Transplantační jednotce (Tj) léčeno 190 pacientů a bylo zde uděláno 58 transplantací. Z tohoto počtu bylo 56 transplantací alogenních a 2 transplantace autologní. 46 alogenních transplantací bylo od nepříbuzných dárců, 10 transplantací od sourozenců či jiných pokrevních příbuzných. 22 transplantací bylo uděláno v nemyeloablativním režimu, ostatní byli transplantováni myeloablativně. 43 pacientů bylo transplantováno progenitory získanými z periferní krve, ostatní transplantace byly udělaný s kostní dřením. Čtyři pacienti byli transplantováni podruhé. 28 transplantací bylo uděláno

od dárců z německých registrů, 11 od dárců českých, 5 výkonů od dárců z USA a 2 transplantace od dárců z Velké Británie.

Na JIHeP byla, kromě standardní péče, poskytována i péče intenzivní včetně umělé plicní ventilace (UPV), která byla prováděna u 40 pacientů a kontinuálních eliminačních metod u 11 pacientů (CVVH).

Výsledky

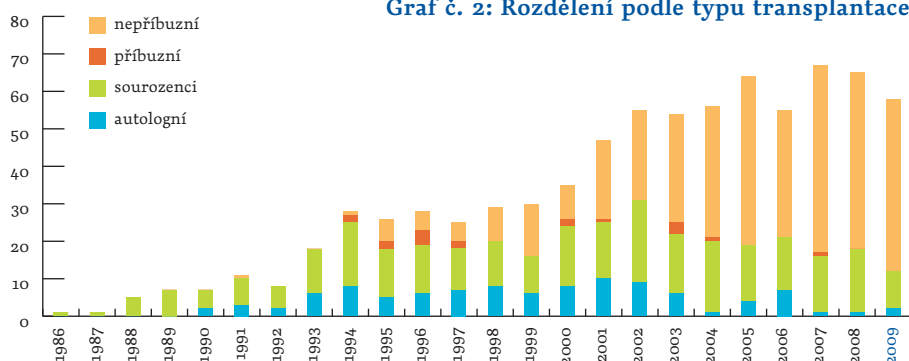
Celkem bylo v UHKT do konce roku 2009 uděláno 786 transplantací. Z toho 686 alogenních (377 od nepříbuzných dárců, 309 od pokrevních příbuzných) a 100 autologních pro následující diagnózy: akutní

myeloidní leukemie (AML) 219, chronická myeloidní leukemie (CML) 156, myelodysplastický syndrom (MDS) 135, akutní lymfatická leukemie (ALL) 87, non-Hodgkin-ský lymfom (NHL) 58, chronická lymfatická leukemie (CLL) 39, myelofibroza (PMF) 34, myelom (MM) 32, maligní lymfogranulom (HD) 14, těžká aplastická anemie (SAA) 10.

V roce 2009 byla udělána analýza přežití pacientů s některými hematologickými malignitami, transplantovaných v letech 2004–2008. Jejich charakteristika a křivky přežití, ilustrující léčebný potenciál alogenních transplantací u těchto diagnóz, jsou uvedeny na následující straně. ➔



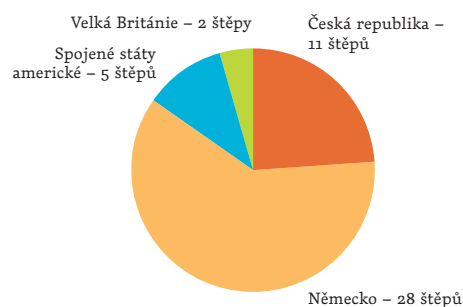
Graf č. 1:
Zastoupení jednotlivých diagnóz, pro které byla provedena transplantace v letech 1986–2009.



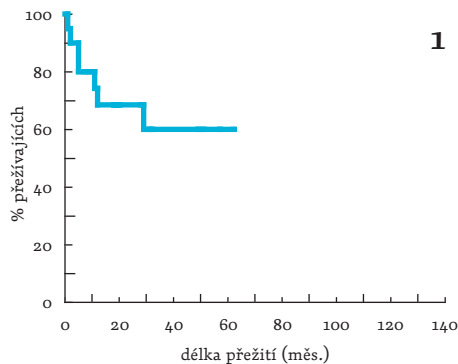
Graf č. 2: Rozdělení podle typu transplantace.

AML	24
ALL	8
MDS	11
CLL	3
NHL	7
HD	1
PMF	1
SAA	2
MM	1

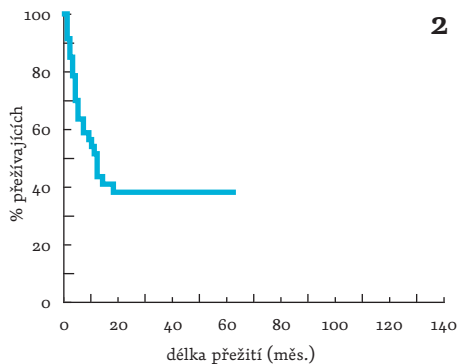
Tabulka č. 1: Diagnózy nemocných, kteří byli transplantováni v roce 2009.



Graf č. 3: Původ štěpů od nepříbuzných dárců.



1



2

AML (2004–2008)

- N=66 (41 žen, 25 mužů)
- věk – med. 46 let (22–63)
- pod 50 let – 40 pacientů
- nad 50 let – 26 pacientů
- dárce: 20× sourozenec, 46× nepříbuzný

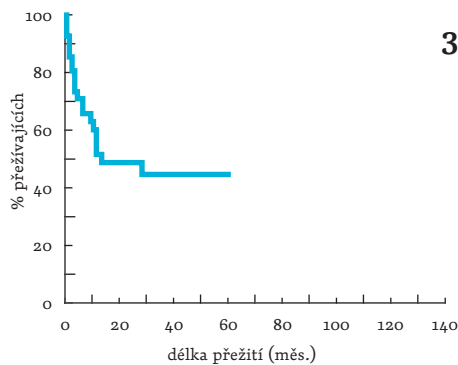
1: Křivka přežití pacientů s AML – sourozenecká HSCT (2004–2008).

2: Křivka přežití pacientů s AML – nepříbuzná HSCT (2004–2008).

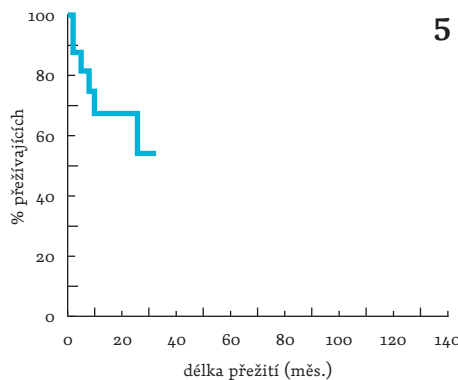
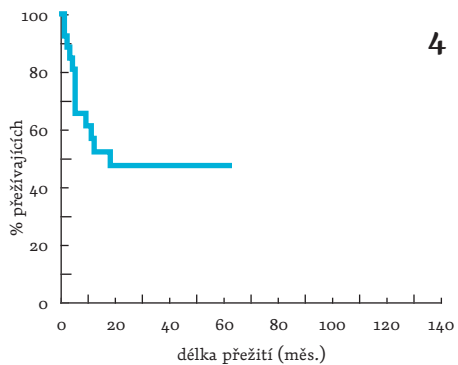
4

3: Křivka přežití pacientů s AML – do 50 let (2004–2008).

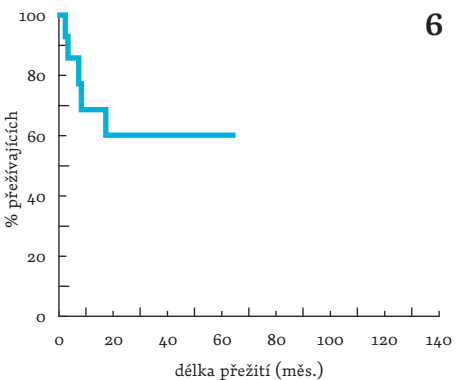
4: Křivka přežití pacientů s AML – nad 50 let (2004–2008).



3



5



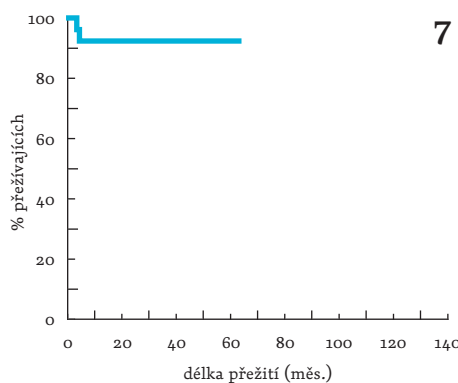
6

ALL (2004–2008)

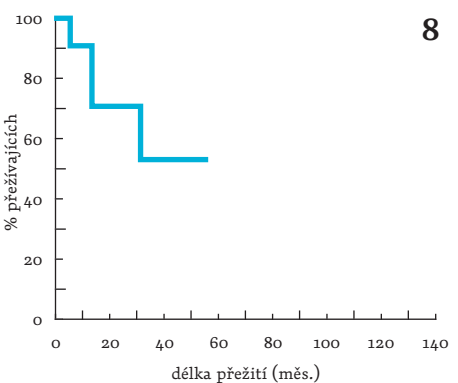
- N=31 pacientů (16 žen, 15 mužů)
- věk – med. 34 let (20–64)
- dg: 17× Ph–, 14× Ph+.
- dárce: 7× sourozenec, 24× nepříbuzný (8× – 1MM, 4× – 2MM, 1× – 3MM, 1× – 4 MM)

5: Ph negat. ALL (2004–2008)

6: Ph pozit. ALL (2004–2008)



7



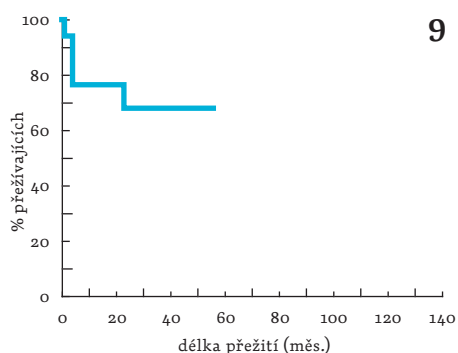
8

7: CML – 1. CP (2004–2008)

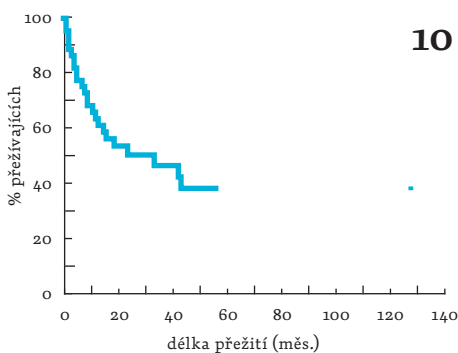
- N=26 pacientů (11 žen, 15 mužů)
- věk – med. 36 let (19–57)
- dárce: 9× sourozenec, 17× nepříbuzný (6× – 1 MM, 1× – 2 MM)

8: CML – pokročilejší (2004–2008).

- N=11 pacientů (4 ženy, 7 mužů)
- věk – med. 45 let (21–62)
- dg: 7× BC (6× 2. CP), 4× AP
- dárce: 2× sourozenec, 9× nepříbuzný (3× – 1MM, 1×-2MM, 1× – 3MM)



9



10

MDS (2004–2008)

- N=61 pacientů (20 žen, 41 mužů)
- věk – med. 53 let (19–64)
- RAEB+ sAML+CMMoL: 44 pacientů
- dárce: 11× sourozenec, 33× nepříbuzný (15× – 1MM, 5× – 2MM, 1× – 3MM)
- RA: 17 pacientů
- dárce: 6× sourozenec, 11× nepříbuzný (5× – 1 MM, 1× – 2 MM)

9: MDS-RA (2004–2008).

10: MDS-RAEB (2004–2008).

Ambulance

Počet zaměstnanců:

Lékaři:

Všeobecné sestry:

Ostatní personál:

27

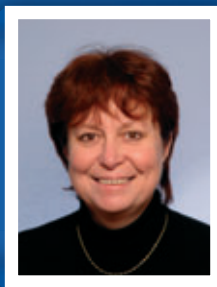
4

18

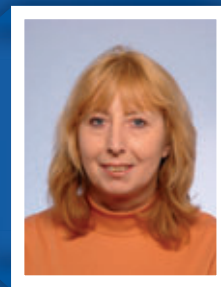
6



Primář:
MUDr. Jana Sajdová



Zástupce primáře:
MUDr. Dana Šponerová



Staniční sestra:
Ivana Picková

Ambulantní prostory byly rekonstruovány v letech 2005–2006 a jejich plocha byla navýšena o více než 500 m².

Ambulance poskytuje superkonziliární vyšetření pacientů z celé ČR a zajišťuje kontinuitu péče pacientů, kteří prošli lůžkovými částmi ÚHKT. Jedná se zejména o nemocné po transplantaci hemopoetických buněk, s akutní leukémií, myelodysplastickým syndromem, myeloproliferativními a lymfoproliferativními chorobami a pacienty s vrozenými i získanými poruchami hemokoagulace.

V levém křídle ambulantní části je umístěno šest vyšetřoven a místnosti pro rehabilitaci, odběry a sál pro provádění výkonů, včetně přílehlé místnosti sloužící k dospávání po zákrocích prováděných v analgosedaci. Nachází se zde i moderní recepce, kde tým vyškolených zaměstnanců přijímá požadavky pacientů na vyšetření a poskytuje informace, včetně telefonických, pacientům i zdravotnickým pracovníkům.

V pravém křídle ambulantní části se nachází Denní stacionář se třemi oddělenými boxy sloužícími pro ošetření pacientů ve zhoršeném zdravotním stavu. V samotném stacionáři jsou jednotlivá lůžka oddělena zástěnami zajišťujícími větší soukromí pacientů. Je zde umístěno několik moderních polohovatelných lůžek určených zejména pro pacienty, u nichž aplikace léčebných režimů trvá více hodin. Další lůžka jsou za komfortnější průběžně měněna. Denní stacionář se 16 lůžky umožňuje podávat pacientům transfuze, infuze, léčebné cytostatické kúry a jiné složité léčebné procedury a na noc se vracet domů.

Ve všech prostorách ambulance je možnost napojit pacienty na monitorovací techniku, včetně přívodu kyslíku a stlačeného vzduchu. Samozřejmostí jsou bezbariérové vstupy. V ambulanci jsou využity i další moderní technologie, např. kamerový systém, elektronický vyvolávací systém pro pacienty, úsporné kartotéky Rotomat.

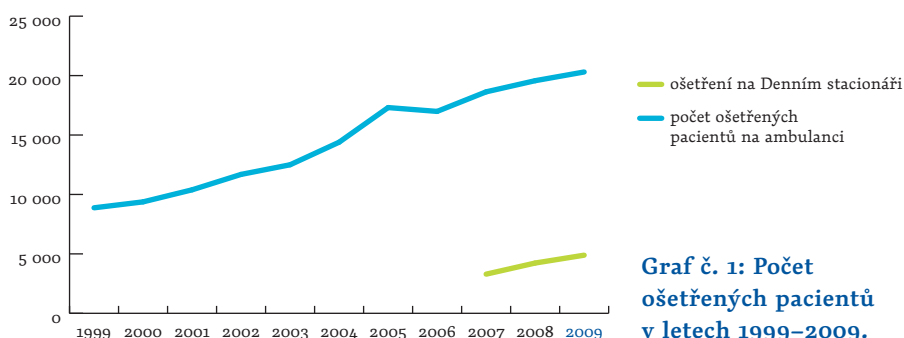
V roce 2009 jsme na ambulanci ošetřili 20 304 pacientů. Počet ošetřených pacientů se v posledních deseti letech více než zdvojnásobil díky stále se rozšiřujícím diagnostickým a léčebným možnostem, včasné diagnostice a stoupajícímu počtu hospitalizovaných pacientů, kteří jsou tak dříve předáváni do ambulantní péče. Stoupá i počet pacientů ošetřených na Denním stacionáři – tento trend je znázorněn v grafu č. 1.

Na navýšení počtu nemocných se podílí také zintenzívnění mezioborové spolupráce a spolupráce s ostatními hematologickými pracovišti a praktickými lékaři.

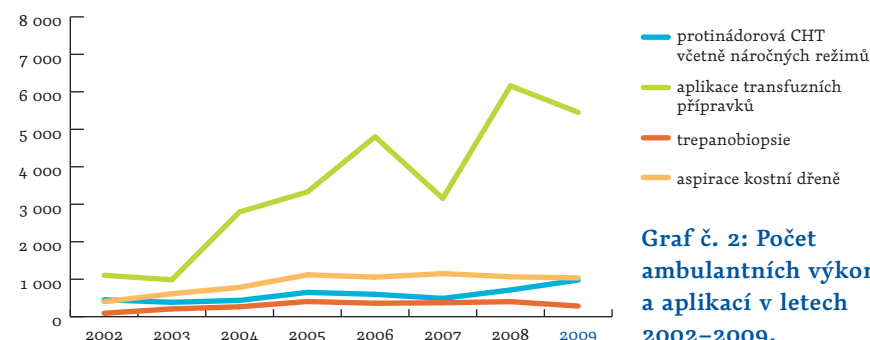
Kapacita ambulance a Denního stacionáře byla již v roce 2009 plně využita.

Díky intenzivní péči narůstá také počet provedených diagnostických výkonů (viz graf č. 2). Veškerá data, zobrazená v grafech, souvisejí se spektrem diagnóz, které se v daném roce kumulují na ambulanci nejvíce.

V roce 2009 probíhaly také na ambulanci audity k přípravě k mezinárodní reakreditaci JCI, kterou ÚHKT získal v roce 2007. Reakreditační proces se má uskutečnit v červnu 2010. Moderní prostory spolu s profesionálním přístupem všech zaměstnanců ambulance zajišťují pacientům nejvyšší kvalitu péče a bezpečnosti na špičkové, mezinárodně srovnatelné úrovni. ■



Graf č. 1: Počet ošetřených pacientů v letech 1999–2009.



Graf č. 2: Počet ambulantních výkonů a aplikací v letech 2002–2009.

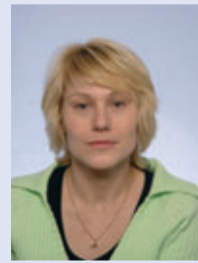
Centrum pro trombózu a hemostázu

Lékaři: 3

Laboranti: 1



Vedoucí lékař:
MUDr. Peter Salaj



Zástupce vedoucího:
MUDr. Viera Pohreichová

Centrum pro trombózu a hemostázu (CTH) se zaměřuje na diagnostiku a terapii poruch hemostázy. V jeho dispenzarizaci jsou pacienti z celé ČR.

Důležitou součástí činnosti centra je péče o dospělé pacienty s vrozeným deficitem koagulačních faktorů – hemofilii A a B (celkem 200 pacientů) a von Willebrandovou chorobou (90 pacientů). CTH je jedním ze dvou hlavních center pro diagnostiku a léčbu výše uvedených onemocnění v ČR. V centru je sledováno a léčeno i 8 pacientů s hemofilií A/B a inhibitorem FVIII/FIX (více než polovina pacientů s touto diagnózou v ČR). V roce 2009 byla u jednoho z těchto vysoce rizikových pacientů provedena ve spolupráci našeho centra a ortopedické kliniky FN Bulovka unikátní operace – simultánní

endoprotéza obou kolenních kloubů. Spolu s tímto pracovištěm (vedoucí lékař as. R. Kubeš) zajišťujeme převážnou většinu endoprotetických výkonů u pacientů s hemofilií z celé ČR. Ve spolupráci s ortopedickou klinikou 2. LF FN Motol (as. P. Teyssler) se v posledním roce úspěšně rozvíjí program radionuklidové synovektomie kloubů u pacientů s menším kloubním postižením. Od roku 2008 je v ÚHKT pacientům k dispozici i ambulantní rehabilitační program.

V CTH jsou dále diagnostikovány a léčeny méně časté vrozené poruchy hemostázy jako např. deficit faktorů V, VII, X, XI, XIII, dysfibrinogenémie, vrozené trombopatie aj.

Naše pracoviště je jedním z nejdůležitějších center pro diagnostiku a léčbu závažných

získaných poruch hemostázy, zejména inhibitoru FVIII (v dispenzarizaci máme t. č. 10 pacientů) a TTP (t. č. dispenzarizováno 20 pacientů).

CTH zajišťuje také konziliární činnost při operačních výkonech u pacientů s poruchami koagulace.

Ve spolupráci s gynekologicko-porodnickými pracovišti je v centru poskytována péče pacientkám s krvácivými poruchami a trombofilními stavy v těhotenství.

Při své práci centrum úzce spolupracuje s koagulační laboratoří ÚHKT (vedoucí RNDr. Ingrid Hrachovinová). ■

Laboratoř pro poruchy hemostázy

VŠ ostatní: 3

Laboranti: 7



Vedoucí lékař:
RNDr. Ingrid Hrachovinová



Zástupce vedoucího:
RNDr. Šimon Rittich, PhD.

Laboratoř pro poruchy hemostázy (LPH) se zabývá diagnostikou a patofyziologií poruch hemostázy. Činnost laboratoře je skloubením rutinní a konziliární práce v laboratorní diagnostice a vědecko-výzkumné práce podporované granty. Laboratoř úzce spolupracuje s *Centrem pro trombózu a hemostázu*, jehož vedoucím je MUDr. Peter Salaj.

V roce 2009 došlo v koagulační laboratoři k jedné personální změně. Nastoupila laborantka Jana Říhová. Ing. František Mareček,

PhD., úspěšně dokončil závěrečnou zkoušku atestační studia *Vyšetřovacích metod v klinické biochemii*. V přípravě na kvalifikační zkoušku z laboratorní hematologie je jedna laborantka. Byla završena několikaletá práce kolektivu laboratoře, soustředěná na vyplnění všech požadavků akreditace ČIA podle mezinárodní normy 15189. Hlavní zásluhu na zdárném ukončení akreditace prvních sedmi metodik v rutinní laboratoři měl Ing. Mareček. Požadavky na vyšetření hemostázy se celoročně opět zvýšily, tentokrát v průměru o 20 %.

Seznam a struktura prováděných vyšetření

Rutinní koagulační vyšetření

Denní rutinní i specializovaná screeningová vyšetření poruch koagulace pro pacienty na klinickém oddělení ÚHKT vzrostly o více než 35 %. Důvodem je častější aplikace léčby, která ovlivňuje hemostázu (např. deriváty asparaginázy). Laboratoř úzce spolupracovala s lékaři na lůžkovém oddělení ÚHKT při sledování změn koagulace, prevence

hyperkoagulačních stavů a při nastavení anti-koagulační léčby heparinem u pacientů s hemato-onkologickým onemocněním. Pokračovali jsme ve skrínungu trombofilních markerů u hemato-onkologických pacientů před léčbou, protože jejich pozitivní přítomnost může nepříznivě ovlivnit prognózu nemocných (na základě výsledků naší laboratoře má v české populaci každý 10. obyvatel významný rizikový faktor pro vznik žilní trombózy). Z běžných vyšetření vzrostl význam stanovení D-dimérů pro sledování protrombotického stavu pacienta. Nedílnou součástí je monitorování antikoagulační léčby. V poslední době se zvýšilo použití nepřímých a přímých inhibitorů trombinu a FXa, tím se zvýšily nároky na variabilitu okamžitě dostupných výsledků sledování léčby. Celkový počet všech běžných rutinních vyšetření se proti loňskému roku zvýšil o 25 %. Meziroční přehled vybraných parametrů je v grafu č. 1.

Specializovaná vyšetření a spolupráce s klinickými pracovišti

V rámci ambulantních a konziliárních vyšetření byla prováděna specializovaná vyšetření pro stanovení diagnózy pacientů s patologickým základním koagulačním skrínungem, osobní nebo rodinnou anamnézou poruchy hemostázy (meziroční přehled vybraných parametrů je v grafu č. 2). Množství většiny speciálních vyšetření mělo stabilní trend. Zvyšoval se počet vyšetření závažných poruch koagulace jako např. inhibitor FVIII a také počet vyšetření spojených s diferenciální diagnózou hemofilie A a von Willebrandovy

choroby nebo získaným inhibitorem FVIII. Zavedli jsme novou metodiku na stanovení zbytkového inhibitoru u sledovaných pacientů se získaným inhibitorem FVIII. Pokračovala diagnostika u nemocných s rozvojem trombózy nebo plicní embolie v relativně mladém věku, kde se předpokládá vrozená dispozice.

V rámci skrínungu trombofilních markerů byla prováděna detekce relativně častých genetických poruch, jako jsou Leidská mutace ve faktoru V a mutace 20210A v protrombinovém genu, ale i méně častých, jako je deficit proteinu C, proteinu S a antitrombinu. Dlouhodobým cílem naší laboratoře je tuto dispozici identifikovat a charakterizovat i na molekulární úrovni v rámci genetických rodinných studií.

V roce 2009 jsme se soustředili na problematiku vyšetřování vrozeného deficitu antitrombinu (AT). Vrozený deficit AT představuje 30násobné riziko pro TEN a při kombinaci s dalším rizikovým faktorem, jako je HAK, těhotenství a větší invazivní výkon, se riziko zvyšuje na 90–100 %. Analýzou přítomnosti vrozeného deficitu AT jsme zjistili, že incidence v ČR je výrazně podhodnocená. Celosvětová incidence předpokládá v ČR minimálně 500 pacientů, zatímco my jsme zatím ve spolupráci s hematologickými centry z celé republiky prokázali 85 pacientů s kauzální mutací v genu pro AT. Existuje tedy mnoho pacientů s nediagnostikovaným vrozeným deficitem. Zjistili jsme, že jedním z důvodů může být, že některé

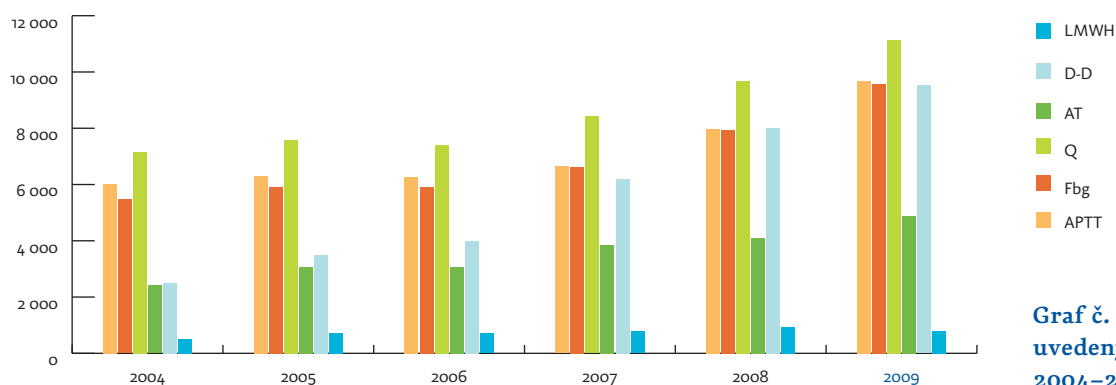
mutace jsou obtížně zachytitelné funkčními testy. Jednou z nich je mutace Leu99Phe (2759C-T). Tuto mutaci jsme našli u 40 % pacientů s deficitem AT. V letošním roce jsme došetřili kauzální mutaci u 10 rodin, celkem to představuje 17 pacientů. Nalezli jsme 2 delece několika exonů, 2 malé inserce a záměnné mutace. V jedné rodině byla nalezena kombinace dvou různých mutací, jednou z nich je mutace Leu99Phe.

Metodika skrínungu hypo/hyperkoagulace byla doplněna testem na stanovení genrace trombinu ve vzorku (TGA). Laboratoř se zúčastnila ISTH/SSC Working Party on TGA, 2nd Collaborative Study on TGA pro standardizaci metody pro stanovení různých „by pasových“ koncentrátů (rFVIIa, Feiba). Laboratoř dále organizovala praktický seminář na laboratorní stanovení FVIII a inhibitoru FVIII.

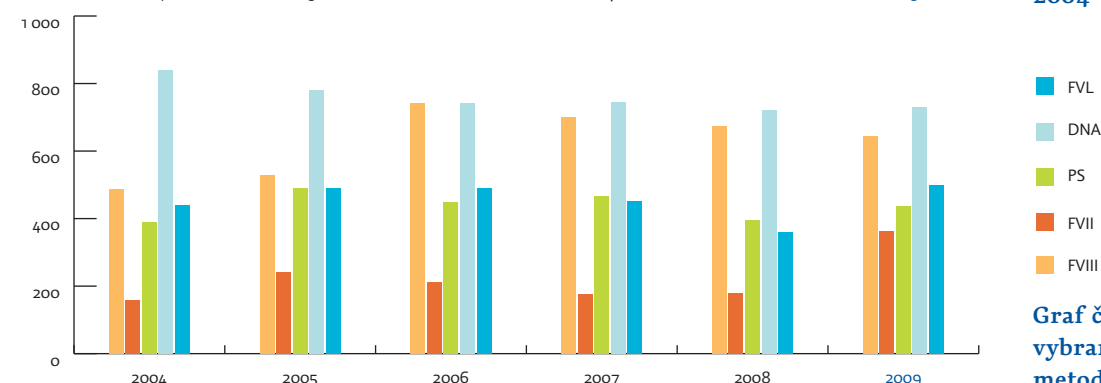
Laboratoř se dále zabývala laboratorní diferenciální diagnostikou HUS/TTP. V roce 2009 byla vyšetřena aktivita ADAMTS13 a protilátky proti ADAMTS13 u 140 pacientů. Bylo diagnostikováno deset nových případů získané formy TTP. Seznam všech vyšetření prováděných v LPH je na webových stránkách UHK.

Výzkumná a vědecká práce

V roce 2009 naše laboratoř pokračovala za podpory grantu IGA ve výzkumu příčin trombotických mikroangiopatií (TTP/HUS). Metody pro diferenciální diagnostiku →



Graf č. 1: Počet vyšetření uvedených metodik v letech 2004–2009.



Graf č. 2: Počet vyšetření vybraných specializovaných metodik v letech 2004–2009.



získané a vrozené TTP jsou již delší dobu v laboratoři zavedeny. Laboratoř spolupracuje s mnoha hematologickými a nefrologickými centry (Pediatrická klinika FN Motol a FN Ostrava-Poruba, Nefrologická klinika VFN a FN Plzeň, OKH Pelhřimov, Česká Lípa a České Budějovice). Prokázali jsme v několika rodinách kauzální mutaci v genu pro ADAMTS13, která způsobuje pozdní nástup TTP. Preventivní vyšetření této mutace v exonu 24 má velký význam pro včasnou léčbu a prevenci závažných komplikací TTP. Vyšetření TMA jsme rozšířili o charakterizaci vrozeného (atypického) hemolyticko-uremického syndromu (aHUS). Předpokládá se, že je způsoben mutacemi v genu pro faktor H (CFH), CMP, faktoru I a ev. trombomodulinu. Prokázali jsme 3 dosud nepopsané mutace v genu pro MCP, které způsobují klinicky závažnou formu aHUS, projevující se v raném dětství, dvě mutace v genu pro CFH a u jednoho pacienta jsme prokázali velmi

vysoké protilátky proti CFH bez přítomnosti mutace v CFH.

Ve spolupráci s kardiologickým oddělením IKEM jsme testovali hyperkoagulační stav u pacientů s/bez fibrilace síní ve vzorcích odebraných z pravé a levé předsíně a z cirkulace. Výzkum se soustředil na vysvětlení příčiny častější přítomnosti trombů v levé předsíni (LA). Prokázali jsme kombinovanou roli hyperkoagulace a aktivace endotelu při tvorbě trombu v LA. Poster prezentující výsledky získal zvláštní cenu na XXII. Kongresu ISTH v Bostonu, USA.

Externí kontrola kvality

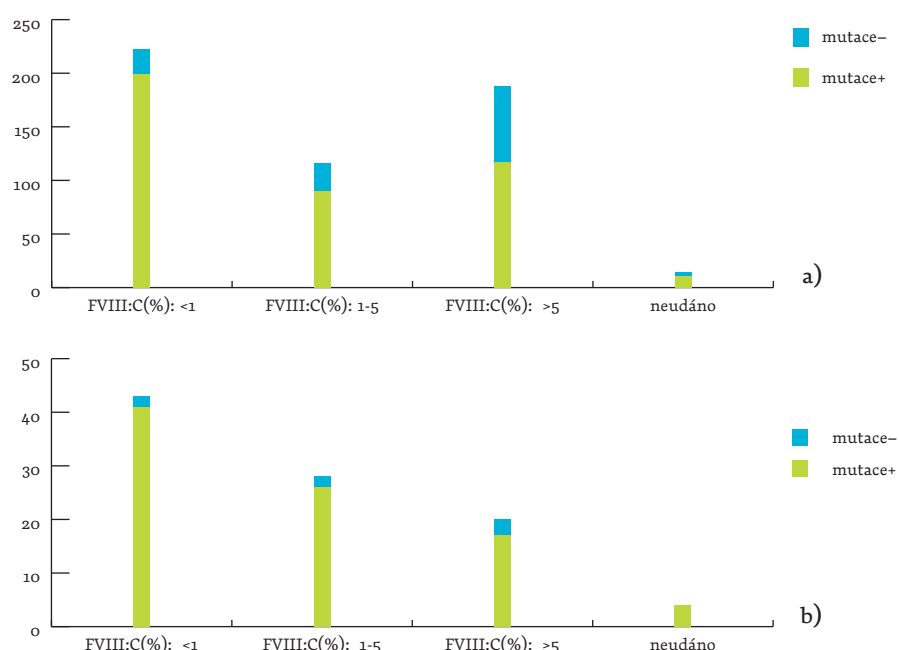
Laboratoř se úspěšně zúčastnila mezinárodní kontroly kvality ECAT (stanovení lupus anti-koagulans, D-diméry, inhibitor FVIII, trombinový generační čas TGA) a NEQAS (stanovení PT, APTT, Fbg, TT, stanovení nefrakcionovaného i LMW heparinu, D-diméry, PS, PC, AT,

APC-R, FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI, FXII, FXIII, vWF:Ag, vWF:RiCo, inhibitor FVIII, TGA, FV Leiden, FII-20210A) a SEKK (D-diméry).

Národní registr nemocných s vrozenými poruchami koagulace

Národní registr nemocných s vrozenými poruchami koagulace, který je spravován naším pracovištěm, registruje více než 1 000 nemocných s deficitem FVIII, FIX, vWF, FXI, FXII, FVII a FV. Důležitou součástí registru je údaj o genetické příčině poruchy hemostázy. Na grafu č. 3 je znázorněn počet nalezených kauzálních mutací v naší laboratoři u pacientů s hemofilii A a B.

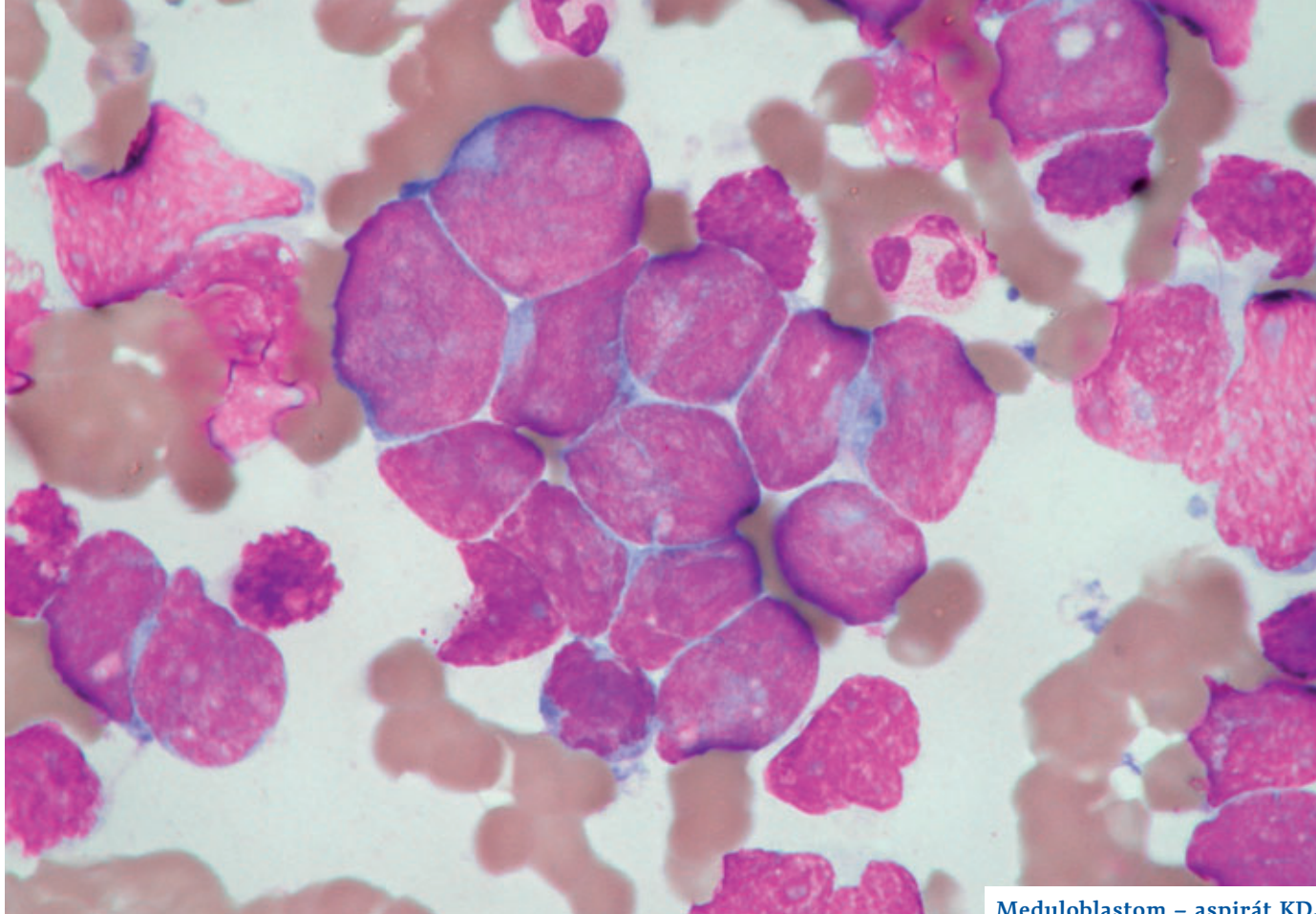
Znalost kauzální mutace v hemofilických rodinách byla v letošním roce využita ke stanovení přenašečství u 20 pacientek a umožnila provedení 10 prenatalních vyšetření hemofilie A i B. ■



Graf č. 3: Celkový počet pacientů s hemofilii A a B, zaslaných k vyšetření kauzální mutace do LPH do roku 2009 je 730;

a) je počet pacientů s vyšetřenou kauzální mutací v genu pro FVIII v závislosti na tíži hemofilie A;

b) je počet pacientů s vyšetřenou kauzální mutací v genu pro FIX v závislosti na tíži hemofilie B.



Meduloblastom – aspirát KD.

Morfologicko-cytochemická laboratoř

Lékaři: 3
Laboranti: 7



Vedoucí lékař:
MUDr. Dana Mikulenková



Zástupce vedoucího:
MUDr. Radka Šimečková

Laboratoř je vybavena 2 analyzátory. Hlavní 5-populační analyzátor SYSMEX XE-5000 měří a vyhodnocuje i jiné parametry krevního obrazu než běžné analyzátory (například absolutní a relativní počet normoblastů, či nezralých granulocytů). Záložním analyzátozem je XS-800i, který je od stejné firmy a to SYSMEX CZ, s. r. o. Nátěry a barvení jsou nově od října 2009 prováděny na novém automatu SP-1000i. Do provozu je postupně zapojován i nový přístroj DM 96 CellaVision, který je určen na hodnocení nátěru periferní krve a který je pomocí digitálního přenosu dat schopen spočítat jednotlivé buněčné populace v nátěru periferie.

Laboratoř rutinně vyšetřuje krevní obraz, sedimentaci erytrocytů, provádí cytologickou analýzu aspirátu kostní dřeně,

mozkomíšního moku, pleurální tekutiny, ascitické tekutiny, tekutiny z bronchoalveolární laváže. Celkem 13 cytochemických vyšetření umožňuje přesnou morfologickou diagnostiku i monitoraci hematologických onemocnění. Laboratoř v rámci svých kompetencí provádí též superkonziliární vyšetření.

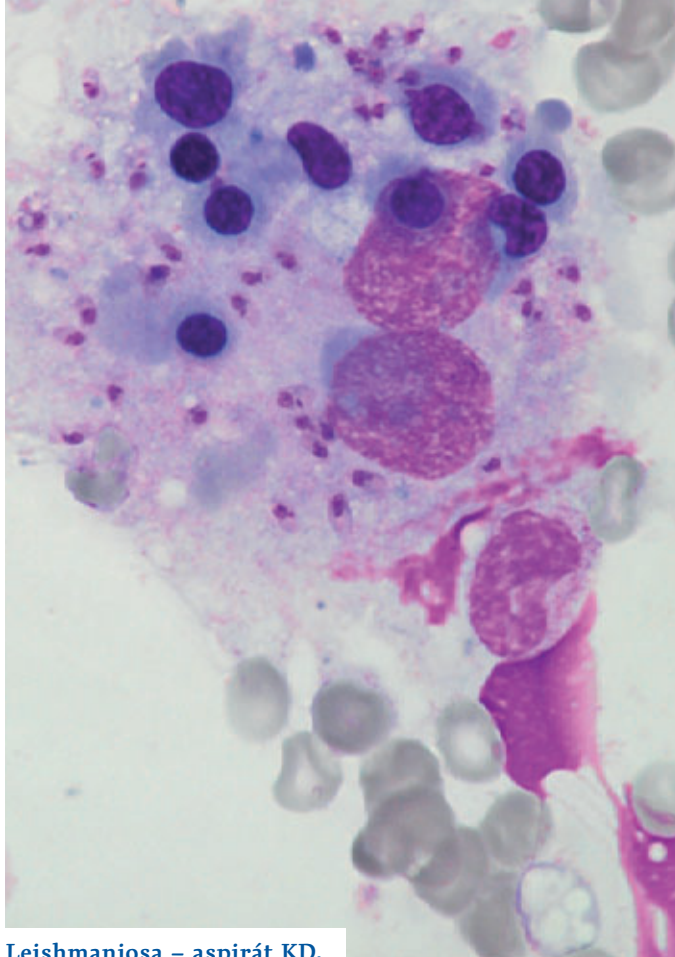
Atestovaní pracovníci laboratoře zajišťují postgraduální výuku morfologie v rámci předatestační přípravy lékařů v oboru „Hematologie a transfúzní služba“ i výuku morfologie pro laboranty. Všichni pracovníci se aktivně účastní hematologických konferencí pořádaných Českou hematologickou společností.

Laboratoř v letošním roce úspěšně splnila podmínky externí kontroly kvality v rámci

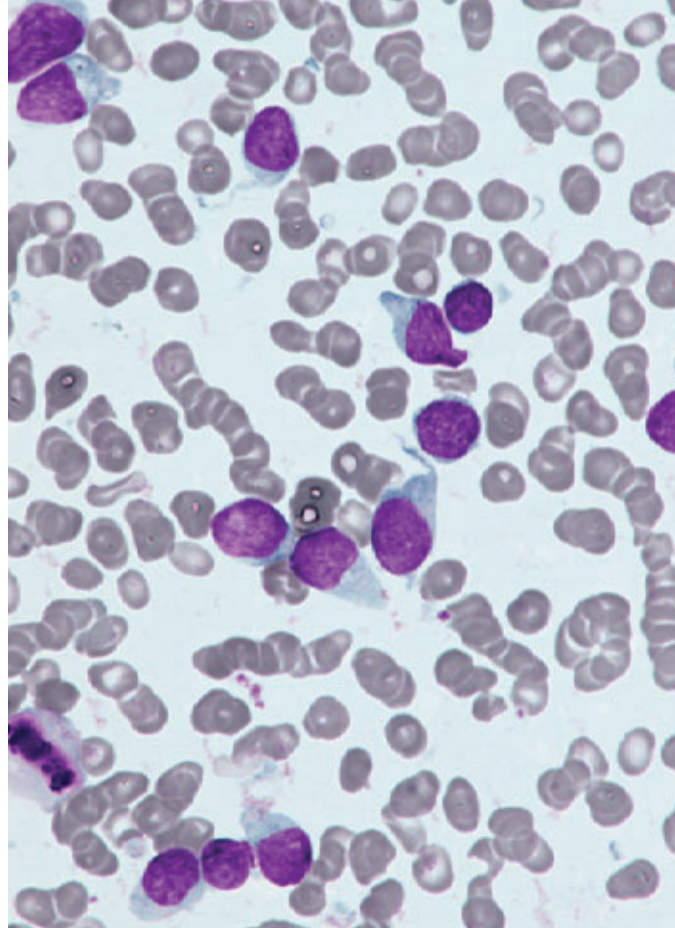
SEKK, s. r. o. a to v měření krevního obrazu včetně parametrů retikulocytů, v mikroskopickém hodnocení nátěru periferní krve, v hodnocení sedimentace erytrocytů. Je jednou z referenčních laboratoří SEP (Skupina expertních pracovišť) pro mikroskopickou analýzu nátěru periferní krve v rámci SEKK. MUDr. Dana Mikulenková je supervizorem cyklu „Nátěr periferní krve ve fotografii“ v rámci SEKK.

Na konci roku laboratoř úspěšně prošla auditem firmou ČIA pro normu ISO 15189.

Dále laboratoř zpracovává histologický materiál (trepanobiopsie) pro histologické vyšetření. As. MUDr. Vít Campr z Ústavu patologie a molekulární medicíny při 2. LF UK ve FN Motole provádí kompletní →



Leishmaniasis – aspirát KD.



Leukémie z dendritických buněk – aspirát KD.

histologickou diagnostiku z trepanobiopsie kostní dřeně, lymfatické uzliny, sleziny či jiných tkání.

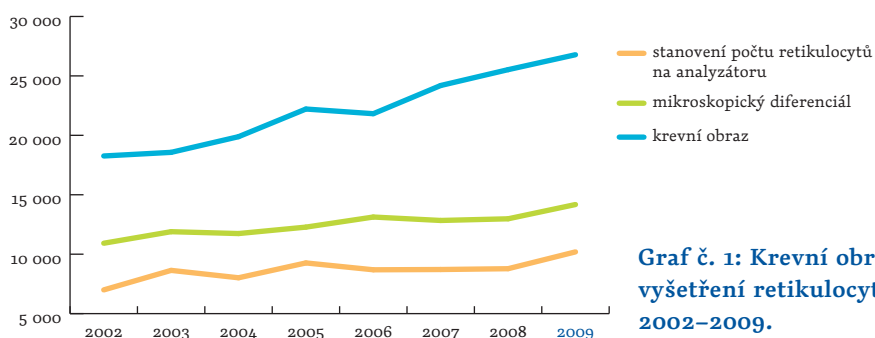
Za rok 2009 bylo provedeno 309 histologických vyšetření kostní dřeně.

Seznam a struktura prováděných vyšetření

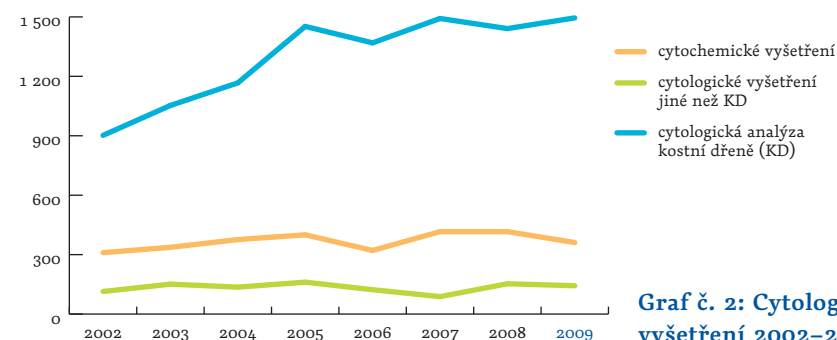
- Kompletní krevní obraz vč. stanovení počtu retikulocytů na analyzátoru.

- Stanovení počtu trombocytů v prokainu a v citrátu.
- Mikroskopická analýza nátěru periferní krve
- Sedimentace erytrocytů.
- Cytologická analýza aspirátu kostní dřeně, mozkomíšního moku, pleurální tekutiny apod.
- Cytochemické vyšetření (průkaz myeloperoxidázy vč. eozinofilní formy, α -naftyl butyrát esterázy vč. inhibice NaF, α -naftyl acetát esterázy vč. inhibice

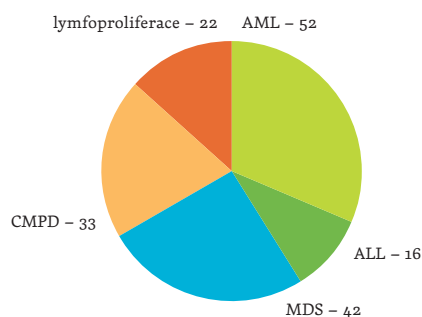
NaF, kyselých fosfatáz, tartarát rezistentní kyselých fosfatáz, alkalických fosfatáz, naftol-ASD chloracetát esterázy, vyšetření PAS reakce, barvení sudanovou černí B, průkaz železa, barvení toluidinovou modří, vyš. ORO – olejová červeň O). ■



Graf č. 1: Krevní obrazy, vyšetření retikulocytů 2002–2009.



Graf č. 2: Cytologická a cytochemická vyšetření 2002–2009.



Graf č. 3: Nově stanovené diagnózy v roce 2009.

Laboratoř PCR diagnostiky leukémií

Lékaři:	1
VŠ ostatní:	2,5
Laboranti:	1,3



Vedoucí lékař:
MUDr. Jiří Schwarz, CSc.



Zástupce vedoucího:
Ing. Jana Marková

Laboratoř provádí rutinní molekulární záchyt fúzních genů u akutní myeloidní leukémie (AML), záchyt klonality u lymfoproliferativních onemocnění B i T řady – u chronické lymfatické leukémie (CLL; u té navíc stanovujeme mutační stav *IgV_H* genů), popř. dalších chronických i akutních lymfoproliferativních onemocnění, a zjišťuje klonální mutace u Ph- myeloproliferativních onemocnění (MPO) – nejčastěji jde o mutaci tyrozinové kinázy *JAK2^{V617F}*. Dále provádí molekulární sledování minimálního reziduálního onemocnění u AML i CLL. Převaha činnosti laboratoře spočívá v rutinní diagnostice uvedených stavů, většina výkonů je hrazena z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Výzkumná činnost je spojená s uvedenými tématy.

Pokud se týká vyšetření AML, laboratoř diagnostikuje dnes již „klasické“ fúzní geny charakterizující AML s relativně příznivou prognózou: *PML/RAR α* , *AML1/ETO* a *CBF β /MYH11*. Nově vyšetřujeme jakoukoli fúzi podle přání klinika (většinou na podkladě znalosti cytogenetického nálezu daného pacienta). Kromě těchto fúzí, prospektivně vyšetřovaných a každého pacienta s AML, je laboratoř schopna vyšetřit i jakýkoli jiný fúzní gen s přihlédnutím k cytogenetickému nálezu a výsledku fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Cytogenetické nálezy nás mohou „navést“ na stopu, kde hledat případnou fúzi na úrovni RNA. Týká se to především nejrozličnějších fúzí genu *MLL* s různými zlomovými místy. V současnosti má laboratoř ve sledování např. pacienti s fúzními geny *AF6/MLL*, *AF9/MLL*, *AF10/MLL* a *MLL/ENL*. Molekulární záchyt těchto fúzních genů je následně využit pro sledování minimálního reziduálního onemocnění (MRO) daných pacientů. Na základě záchytu fúzního genu a charakterizace jeho zlomového místa je pro každého pacienta zavedeno vyšetření MRO pomocí kvantitativního RT-PCR v reálném čase (RQ-PCR). Vyšetřovaný fúzní gen je přitom zaklonován do plazmidu, který pak slouží jako pozitivní kontrola při molekulárním vyšetření.

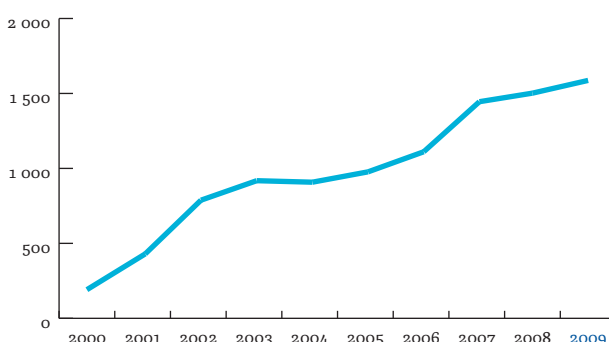
Akutní promyelocytární leukémie (APL) jsou významnou podskupinou AML především tím, že představují naprosto urgentní situaci, kdy je nutné co nejdříve stav přesně diagnostikovat a zahájit specifickou léčbu. Nejčastější fúzní gen u APL, *PML/RAR α* je pro nás samozřejmou součástí diagnostického panelu pro AML. V případě suspekce na APL jsme schopni vyšetřit tuto fúzi do 6 hodin od obdržení vzorku dřeně nebo krve. Laboratoř má možnost vyšetřit i další fúzní geny, které se mohou (extrémně vzácně) vyskytnout u atypických forem akutní promyelocytární leukémie APL, které nenesou běžně vyšetřovaný fúzní gen *PML/RAR α* , ale mohou mít fúzi *PLZF/RAR α* , *NPM/RAR α* , *NuMA/RAR α* , *FIP1L1/RAR α* nebo *PRKAR1A/RAR α* .

U všech pacientů s *de novo* AML a APL je na laboratoři vyšetřována také přítomnost interní tandemové duplikace genu *FLT3*, jakož i jeho bodová mutace v kodónu D835. U indikovaných pacientů vyšetřujeme pomocí sekvenace také mutace v genu *C-KIT*, nejčastější a prognosticky možná závažnou mutaci *C-KIT^{D816}* vyšetřujeme pomocí RQ-PCR. V tomto odstavci zmíněná vyšetření mohou mít prognostický význam u AML. S naší laboratoří spolupracuje také laboratoř Ing. Fuchse z Úseku molekulární genetiky ÚHK. Jeho laboratoř provádí další cenná molekulární stanovení s prognostickým významem, např. mutace genů *NPM1*, *CEBPA*, parciální tandemové duplikace genu *MLL*, kvantitativní stanovení genu *ERG* apod. V laboratořích RNDr. C. Haškovce a Mgr. J. Poláka je stanovována i kvantitativní exprese

genu *WT1*, která má také jistý prognostický význam, navíc však je tento gen nejdůležitějším a nejuniverzálnějším cílem sledování MRO u pacientů jak AML, tak i APL.

Co se týká programu CLL, laboratoř běžně vyšetřuje klonální přestavbu *IgV_H* genů a jejich mutační stav podle naší originální metodiky (S. Peková *et al.*, Mol. Diag. 2005). Pro výzkumné účely byla v r. 2008 zavedena ve spolupráci s FN Brno (Doc. J. Šmardová a RNDr. M. Trbušek) metodika vyšetření FASAY, tedy funkční aktivity genu *TP53*, klíčového regulátoru proliferace, diferenciaci a apoptózy buněk. Lokus *TP53* je u CLL často deletován (v rámci delece 17p) a zbylá alela *TP53* může být zároveň mutována, což ovlivní základní zmíněné biologické charakteristiky leukemického klonu při CLL. U T-buněčných lymfoproliferativních onemocnění stanovujeme klonální molekulární přestavby T-buněčného receptoru (*TcR*).

V programu MPO laboratoř běžně stanovuje mutaci *JAK2^{V617F}* pomocí námi již dříve publikované metodiky (J. Marková *et al.*, Leuk Lymphoma 2007), spočívající v RQ-PCR a LNA modifikovanými sondami, u vybraných pacientů lze vyšetřit i alternativní mutaci *JAK2* genu v exonu 12 (pomocí sekvenace). Dále byla nově v r. 2008 zavedena metoda RQ-PCR s LNA modifikovanými sondami pro detekci u MPO vzácnějších mutací genu trombopoietinového receptoru *MPL^{W515K/L}*. U mastocytózy stanovujeme mutace genu *C-KIT^{D816}* (viz výše), u pacientů →



Graf č. 1: Celkový počet vzorků v letech 2000–2009.

s chronickou eosinofilní leukémií (CEL) či hypereosinofilním syndromem (HES) též fúzní gen *FIP1L1/PDGFRα*. Jsme schopni pátrat po jakékoli fúzi genů *PDGFRα*, *PDGFRβ*, event. *FGFR1*, je-li na ně suspekce na základě předchozího FISH vyšetření.

Rutinní činnost

V roce 2009 bylo dodáno do naší laboratoře 1 587 vzorků k molekulárnímu vyšetření z periferní krve nebo z kostní dřeně (v roce 2008 to bylo 1 502 vzorků, jedná se tedy o nárůst o 5,6 % – viz graf č. 1). Jde zatím o nejvyšší počet vzorků vyšetřených za rok v historii naší laboratoře. Dostáváme k vyšetření vzorky pacientů léčených v ÚHKT i na jiných pracovištích (přibližně polovina všech). Kontinuálně se mění struktura námi prováděných vyšetření – viz graf č. 2. Trvale roste především počet vyšetření u pacientů se suspektním MPO. Laboratoř získala v roce 2009 akreditaci ČIA na vyšetření mutace V617F genu *JAK2*.

Vědecko výzkumná činnost a publikace

Výsledky naší analýzy výskytu mutací genů *C-KIT*, *JAK2* a *FLT3* u non-APL pacientů s AML s dobrou prognózou (tj. pacientů s tzv. core-binding factor leukémií, nesoucích fúze *AML1/ETO* nebo *CBFβ/MYH11*) byly publikovány v impactovaném časopise (J. Marková et al, Leuk Lymphoma 2009). Pracovníci laboratoře jsou dále spoluautory tří dalších článků v impactovaných časopisech a jednoho článku v českém písemnictví, prvními autory čtyř sjezdových abstrakt a spoluautory řady dalších. Laboratoř se podílí na výzkumném záměru ÚHKT, dotovaném MZ ČR, z těchto prostředků je také hrazen vývoj nových metodik, pracovníci laboratoře jsou spoluřešiteli několika grantů IGA MZ ČR. Podílejí se i na pre- a postgraduální výuce.

Seznam a struktura prováděných vyšetření

AML, APL – vyšetření fúzních genů – záchyt i reziduální onemocnění* ze dřeně*

Vyšetřované geny: *PML/RARα*, *AML1/ETO*, *CBFβ/MYH11*, event. jakýkoli jiný fúzní gen u AML a APL; *FLT3/ITD*, *FLT3D835*, *C-KIT*.

*Pozn. 1: jen při nouzi o materiál ze dřeně možno provést z periferie, ale jen za cenu problematického hodnocení reziduálního onemocnění).

†Pozn. 2: Reziduální onemocnění stanovujeme po dosažení kompletní remise



vyšetřením fúzních genů po indukci a každé konsolidaci, dále à 3 měs. v 1. roce, à 6 měs. ve 2. roce, dále à 1 rok. (V kratších intervalech lze vyšetřovat expresi genu *WT1* pouze z periferní krve na Odd. molekulární genetiky ÚHKT – RNDr. Haškovec, Mgr. Polák).

CLL a jiné lymfoproliferace – záchyt i reziduální onemocnění† z periferní krve

Běžně vyšetřované geny: *IgV_H* a *TcR* geny – určení jejich klonality. V případě záchytu klonální přestavby *IgV_H* genu zjišťujeme jeho mutační stav – vyšetření má smysl pouze u CLL a mantle-cell lymfomu.

Je možno provést funkční analýzu genu *TP53* (kódujícího protein p53) pomocí FASAY esej.

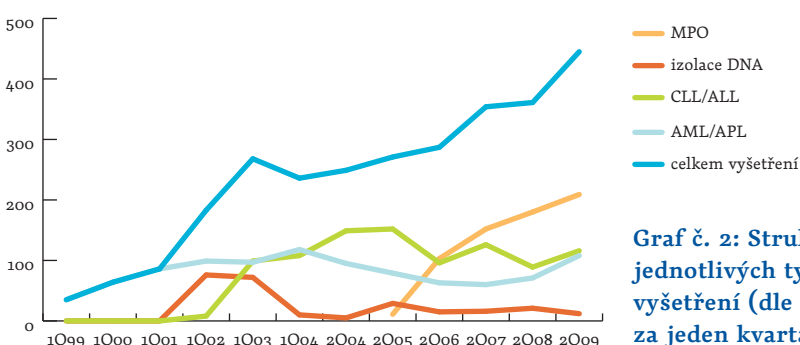
*Pozn.: Vyšetření reziduálního onemocnění má smysl jen u pacientů léčených s kurativním záměrem, u nichž bylo docíleno kompletní nebo velmi dobré parciální remise, a dále u transplantovaných pacientů. Provádíme jej pomocí RT-PCR v reálném čase (RQ-PCR) a primerů specifických pro pacienta (resp. pro jednu nebo více z jeho klonálně přestavěných alel). Jako kontrolu

užíváme zaklonovanou část *Ig* genu pacienta. Metodika je náročná na práci, proto každou indikaci sledování nutno domluvit s vedoucím laboratoře.

Myeloproliferace – záchyt i reziduální onemocnění z periferní krve

Běžně vyšetřované geny: *JAK2^{V617F}*.

Po domluvě s vedoucím laboratoře lze vyšetřit alternativní mutace genu *JAK2* v exonu 12, a také mutace *MPL^{W515K/L}*. Lze provést i vyšetření mutací genu *Epo-receptoru* a von Hippelova-Lindauova (*VHL*) genu. Lze provést i vyšetření mutace *C-KIT* a fúze *FIP1L1/PDGFRα* a na podkladě suspekce cytogenetika také jakoukoli fúzi genů *PDGFRα*, *PDGFRβ* a *FGFR1*. ■



Graf č. 2: Struktura jednotlivých typů vyšetření (dle diagnózy) za jeden kvartál roku.

Laboratoř průtokové cytometrie

Lékaři:	1
VŠ ostatní:	2
Laboranti:	4



Vedoucí lékaři:
MUDr. Iuri Marinov, CSc.



Zástupce vedoucího:
Mgr. Alena Luxová

Laboratoř průtokové cytometrie je specializovaná laboratoř s diagnostickou, výzkumnou a výukovou činností zaměřenou na hematologické malignity (akutní a chronické leukemie, lymfoproliferace, myelodysplastické a smíšené myelodysplastické/myeloproliferativní syndromy), nenádorovou hematologii (vrozené a získané poruchy trombocytů a erytrocytů), transfuzní a transplantační hematologii.

Přístrojové vybavení

- Průtokový cytometr FACSCalibur, BD Biosciences (2 lasery/4 fluorescence)
- Průtokový cytometr FACSCanto, BD Biosciences (2 lasery/6 fluorescence)

Metodické, metodologické podklady a připravenost

Laboratorní postupy jsou zavedené v souladu s konsensuálním doporučením European Leukemia Net (ELN), International Clinical Cytometry Society (ICCS), European Society of Clinical Cell Analysis (ESCCA) a akreditované dle normy ČSN EN ISO 15189.

Seznam prováděných vyšetření

Nádorová hematologie:

- Imunofenotypizace, imunologická diagnostika, klasifikace, prognostická stratifikace, follow-up akutních leukemií (B-ALL, T-ALL, AML, MPAL) a detekce minimální reziduální nemoci (MRN) po chemoterapii/transplantaci
- Imunofenotypizace, imunologická diagnostika, klasifikace, staging, follow-up lymfoproliferací a detekce minimální reziduální nemoci (MRN) po chemoterapii/transplantaci
- Imunofenotypizace, imunologická diagnostika, klasifikace a prognostická stratifikace myelodysplastických a smíšených MDS/MPS syndromů

Nenádorová hematologie:

- Diagnostika paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH) a PNH stavů

- Diagnostika vrozených (Glanzmannova trombastenie, Bernardův-Soulierův syndrom, syndrom šedých trombocytů) a získaných (megakaryocytární, amegakaryocytární, imunní, neimunní) poruch trombocytů
- Imunologické stanovení absolutního počtu trombocytů průtokovou cytometrií
- Monitorování funkce trombocytů průtokovou cytometrií
- Monitorování terapie inhibitory P2Y₁₂ receptoru (clopidogrel, prasugrel)

Transplantační hematologie:

- Stanovení retikulovaných trombocytů
- Stanovení lymfoidních subpopulací při monitorování imunosupresivní terapie a obnovy imunitního systému po transplantaci
- Stanovení progenitorových CD34+ buněk
- Diagnostika potransplantačních lymfoproliferativních onemocnění
- Kvantitativní stanovení CMV specifických, CD3+CD8+ paměťových T lymfocytů

Transfuzní hematologie:

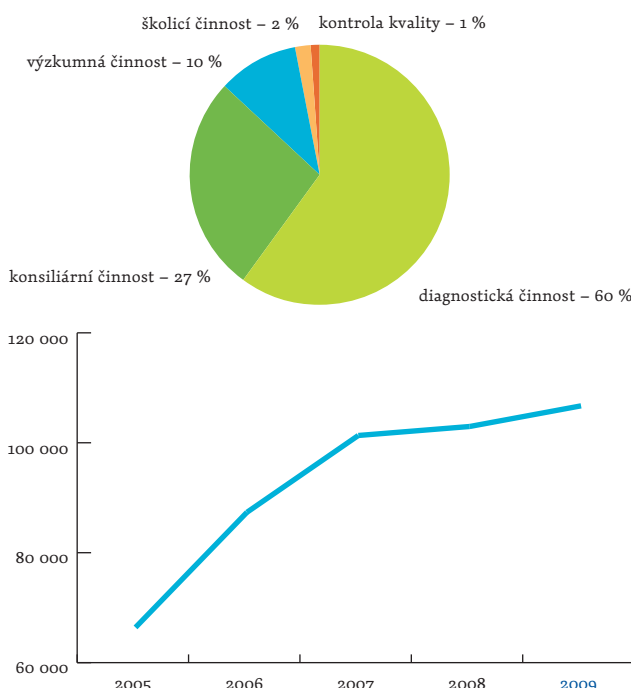
- Kontrola kvality trombocytárních a erytrocytárních přípravků – detekce a kvantifikace reziduálních leukocytů

Výzkumná činnost

Laboratoř průtokové cytometrie se podílí na řešení řady ústavních grantových projektů a výzkumného záměru.

Školící činnost

Laboratoř průtokové cytometrie pravidelně provádí postgraduální, předatestační přednášky a odborné kurzy pro hematology a širokou lékařskou veřejnost. ■



Laboratoř diagnostiky anémií

Lékaři:	1
VŠ ostatní:	1
Laboranti:	3

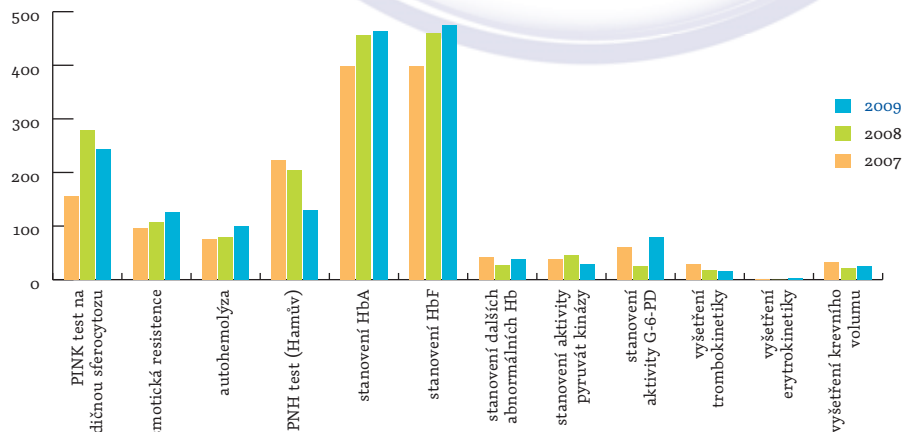


Vedoucí lékař:
Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

Laboratoř diagnostiky anémií se věnuje diagnostice korpuskulárních hemolytických anémií a některých získaných poruch červené krevní řady a dále provádí vyšetření kinetiky krevních elementů.

Seznam a struktura prováděných vyšetření

V roce 2009 bylo pokračováno v rutinních diagnostických vyšetřeních u nemocných s vrozenými poruchami červené krevní řady (dědičná sférocytoza, deficit pyruvát kinázy, deficit G-6-PD, alfa a beta thalasemie a další vzácnější hemolytické anémie). Byla dále pracována metoda kapilární elektroforézy, jež výrazně zcitlivuje a zpřesňuje diagnostiku abnormálních hemoglobinů a připravuje se zavedení elektroforézy membránových bílkovin do rutinní diagnostiky vrozených poruch erytrocytární membrány. Laboratoř dále spolupracuje s laboratoří molekulární genetiky Univerzity Palackého v Olomouci při záchytu některých vzácných hemoglobinopatií. V roce 2009 byly popsány další nemocní s některými vzácnějšími formami hemoglobinu (Hb Lepore aj.) a dále 4 nemocní,



Graf č. 1: Seznam a struktura provedených vyšetření v letech 2007–2009.

u nichž byla diagnostikována kongenitální sideroblastická anémie v dětském věku. Nálezy byly prezentovány na 51. kongresu American Society of Hematology. Dále se laboratoř podílí na řešení grantu IGA NR 9235/3 a Výzkumného záměru MZO 00023736.

Seznam a struktura prováděných vyšetření a počet v roce 2009 je znázorněn v následujícím grafu.

Nižší počet speciálních vyšetření abnormálních Hb souvisí se zavedením nové metodiky, při níž lze abnormální Hb diagnostikovat při běžné kapilární elektroforéze, pokles počtu PNH vyšetření souvisí s přechodem na diagnostiku tohoto onemocnění pomocí pŕtokové cytometrie, nižší počet izotopových vyšetření byl dán problémy s dodávkou izotopu během části roku. ■





Dokumentační centrum

Vedoucí centra:

VŠ:

SŠ:

Kateřina Waldmannová

1

4



*Vedoucí centra:
Kateřina Waldmannová*

Dokumentační centrum spolupracuje s českými a zahraničními registry při vyhledávání vhodných dárců kmenových buněk krvetvorby. Zajišťuje a shromažďuje veškeré podklady pro správný výběr vhodného dárce.

Pracoviště dále sleduje a zpracovává údaje o pacientech, kteří podstoupili transplantaci kmenových buněk krvetvorby, včetně sledování kvality života pacienta po transplantaci.

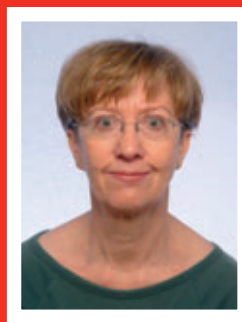
Dokumentační centrum vypracovává hlášení pro registry CIBMTR, ASBMT, EBMT a Český registr dárců krvetvorných buněk. Pořizuje a zpracovává data pro Českou leukemickou skupinu pro život (CELL). Spolupracuje s registry pacientů s dg. CML, MDS, AML a ostatními hematologickými chorobami.

Datamanažeři pomáhají při organizování a zajišťování správného průběhu klinických studií, které probíhají na klinickém úseku ÚHKT, včetně vedení dokumentace. ■



Transfuziologický úsek

Počet zaměstnanců:	83
Lékaři:	17
VŠ ostatní:	8
Zdravotní sestry:	18
Laboranti:	25
Farmaceutický asistent:	2
SŠ ostatní:	4
Ostatní zaměstnanci:	9



Přednosta: *Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.*
 Zástupce přednosty: *MUDr. Martin Písačka*



Legenda:

Název útvaru
 Vedoucí
 Zástupce vedoucího



Na Transfuziologickém úseku působí čtyři spolupracující oddělení:

- Transfuzní oddělení
- Aferetické oddělení
- Oddělení imunohematologie
- Oddělení buněčné terapie

Na pracovištích Úseku se provádějí jak standardní odběry krve, tak odběry krevních složek technikou hemaferézy. Za rok 2009 bylo provedeno celkem 7 771 odběrů. K odběrům krve a krevních složek přišlo 968 nových prvdárců. Mezi dárci je mnoho nositelů bronzových, stříbrných a zlatých Janského plaket a několik dárců bylo v roce 2009 oceněno zlatými kříži 2. a 3. stupně za 80–120 odběrů.

Transfuzní přípravky se připravují především pro nemocné, kteří se léčí v ÚHKT.

- Připravují se vysoce kvalitní deleukotizované koncentráty erytrocytů, trombocytů a plazma, která se používá jak k transfuzní terapii, tak i pro farmaceutické zpracování.
- Pracovníci zajišťují vyšetřování krevních a tkáňových znaků nesených krevními buňkami, vyšetřují slučitelnost transfuzních přípravků před jejich podáním nemocným a provádějí

diagnostiku krevních chorob imunitní povahy.

- V případě potřeby se provádí výběr dárců trombocytů dle HLA a HPA znaků.
- K prevenci potransfuzní GVHD se transfuzní přípravky ozařují ionizujícím zářením.
- Připravují se a zpracovávají štěpy krvetvorných buněk pro autologní a alogenní transplantace a probíhá příprava DLI.
- U nemocných se provádějí aferetické terapeutické výkony jako je výměnná plazmaferéza, deplece leukocytů, erytrocytů a trombocytů, extrakorporální fotochemoterapie a imunoabsorpce IgG. V r. 2009 jsme jako první pracoviště v ČR zavedli provádění výměnné erythrocytaferézy u nemocných se srpkovitou anemií. V minulém roce bylo provedeno celkem 779 terapeutických výkonů.

Transfuziologický úsek je správcem Národních registrů transfuzní služby: registru osob vyřazených z dárcovství a registru dárců vzácných krevních skupin. Dále je na úseku veden i Registr HPA otypovaných dárců.

Na Transfuziologickém úseku působí Národní referenční laboratoř pro imunohematologii

a Banka pupečníkové krve České republiky (BPK ČR).

Pracovníci Úseku řeší řadu výzkumných národních i mezinárodních projektů ve spolupráci:

- s mezinárodní skupinou SCARF pro výměnu vzácných erytrocytů,
- s International Blood Group Reference Laboratory v Bristolu a s mezinárodním konsorciem BloodGen,
- s Českým registrem dárců krvetvorných buněk IKEM,
- s I. a II. interní klinikou a s Neurologickou klinikou VFN a 1. LF UK,
- s 2. LF UK v Praze a s transfuzními odděleními v ČR a na Slovensku.

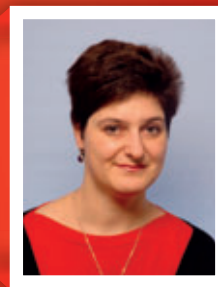
Pracovníci úseku se podílejí na zajištění pregraduální a postgraduální výuky transfuzního lékařství, včetně dárcovských a terapeutických hemaferetických postupů, imunohematologie a přípravy štěpů kmenových krvetvorných buněk pro transplantaci. Výuka probíhá v rámci ÚKEH 1. LF UK a ÚHKT a IPVZ. Pregraduální činnost je zaměřena na výuku studentů IV. až VI. ročníku 1. LF UK v Praze. Pracovníci transfuzních laboratoří Úseku absolvovali úspěšně první fázi akreditace ČIA. ■

Transfuzní oddělení

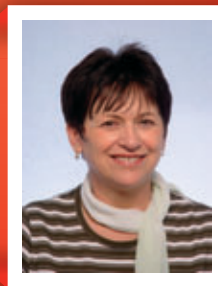
Počet zaměstnanců:	26
Lékaři:	5
VŠ ostatní:	1
Zdravotní sestry:	12
Laboranti:	1
SŠ ostatní:	1
Ostatní zaměstnanci:	6



Vedoucí oddělení:
MUDr. Jana Žlabová



Zástupce vedoucího:
MUDr. Jana Hrušková



Vrchní sestra:
Ludmila Boháčová



Zástupce vrchní sestry:
Jarmila Legnerová

Na Transfuzním oddělení se provádějí standardní odběry plné krve a separace trombocytů a plazmy technikou hemaferézy. V posledních letech dochází k nárůstu počtu odběrů a k vzestupu v počtu provodárců.

V roce 2009 bylo na Transfuzním oddělení provedeno celkem 5 502 odběrů plné krve a 604 odběrů trombocytů technikou afe-rézy. Transfuzní oddělení připravilo 5 065 transfuzních jednotek (dále TU) deleukotizovaných erytrocytů, 4 835 TU trombocytů připravených z buffy coatu a následně deleukotizovaných, 1 062 litrů plazmy k zpracování na krevní deriváty, 85 litrů plazmy pro klinické aplikace a 754 TU deleukotizovaných trombocytů připravených technikou aferézy. K odběrům přišlo 968 provodárců.

V roce 2009 jsme zahájili přípravu směsných deleukotizovaných trombocytů připravených z buffy coatu. Uvedená úprava umožňuje přípravu velké dávky vysoce kvalitních trombocytů a usnadňuje práci ošetřujícímu personálu.

Dárci krve a krevních složek mohou v prostorách pracoviště používat bezplatně internet. Úprava informačního systému umožnila zviditelnění podobenky dárců v průběhu odběru. Tímto krokem se snižuje riziko záměny dárce a zvyšuje se bezpečnost dárcovství.

V běžném režimu se připravují se vysoce kvalitní:

- deleukotizované erytrocytové koncentráty – deleukotizuje se 100 % přípravků,

- trombocyty z buffy coatu – deleukotizuje se 100 % přípravků,
- trombocyty z aferézy deleukotizované – deleukotizuje se 100 % přípravků,
- plazma z plné krve,
- plazma z aferézy.

Plazma z odběrů plné krve se odesílá k průmyslovému zpracování na koncentráty faktorů VIII, IX, albumin, intravenózní imunoglobuliny a antitrombin III. Plazma z aferézy je určena ke klinickému podání a lze ji aplikovat nemocným až po uplynutí karantény po dobu trvání šesti měsíců.

Transfuzní přípravky se ozařují ionizujícím zářením (pro prevenci potransfuzní GVHD) nejčastěji pro nemocné z ÚHKT a z VFN v Praze.

		2004	2005	2006	2007	2008	2009
Dárci krve	HIV Ag/Ab, HBsAg, HCV Ag/Ab, anti Treponema	6 140	6 345	5 565	6 211	7 049	7 770
Pacienti	HIV Ag/Ab	1 538	1 744	1 502	1 480	1 605	2 289
	HBsAg	1 606	1 832	1 554	1 535	1 599	2 264
	HCV Ag/Ab	2 052	2 367	2 016	1 835	1 963	2 527
	anti Treponema	1 451	1 668	1 450	1 493	1 592	2 160
HBV panel	HBsAb	751	882	752	756	734	750
	HBeAg	472	614	449	478	484	388
	HBeAb	462	611	435	448	494	389
	HBcAb	466	613	448	476	515	1 250

Tab. 2: Vyšetření infekčních markerů v Laboratoři prevence virových nákaz 2004–2009.



Pro speciální situace se připravují:

- kryosupernatantní plazma ochuzená o kryoprotein – „K“ plazma, která se podává nemocným s TTP,
- granulocytové koncentráty z plné krve pro terapii neutropenických dětských pacientů z FN Motol,
- promyté erytrocytové a trombocytové koncentráty.

Transfuzní a Aferetické oddělení spolupracují:

- při přípravě trombocytů připravených technikou aferézy. Transfuzní oddělení

připravuje trombocyty obvykle v předstihu do „rezervy“,

- při fotomodifikaci mononukleárních buněk pomocí 8-methoxypsoralenu a UV-A pro extrakorporální fotochemoterapii.

Na Transfuzním oddělení působí:

Laboratoř prevence virových nákaz, kde se vyšetřují transfúzí přenosné choroby – hepatitida B, hepatitida C, HIV a syphilis, a Odběrová laboratoř.

Obě laboratoře úspěšně absolvovaly první fázi akreditace ČIA.

Transfuzní oddělení spravuje Sklad transfuzních přípravků a Centrální sklad krevních derivátů.

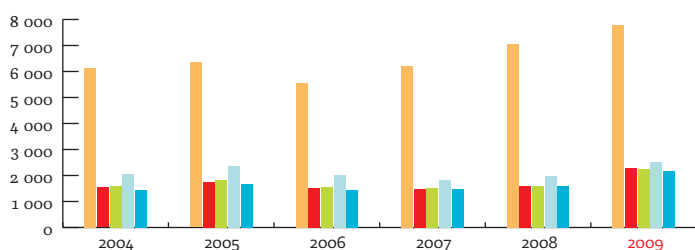
Pracovníci oddělení usilují o zvyšování kvalifikace absolvováním specializačních zkoušek v oboru hematologie a transfuzního lékařství.

Pracovníci oddělení se podílejí na zajištění pregraduální výukové činnosti pro studenty IV. až VI. ročníku 1. LF UK, Praha (ÚKEH, 1. LF UK). Na pracovišti též probíhá postgraduální výuka specialistů v oboru transfuzního lékařství (IPVZ). ■

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Počet odběrů plné krve			3 934	4 279	4 834	5 502
Erytrocyty zbavené buffy coatu resuspendované deleukotizované (ERD)/TU	3 459	3 575	3 758	3 962	4 591	5 065
Trombocyty z buffy coatu (TB)/TU	4 298	3 980	3 609	3 774	4 333	4 835
Trombocyty z aferézy deleukotizované (TAD)/TU		482	421	436	557	754
Plazma z aferézy (PA)/l		663	123	80	70	85
Ozáření transfuzních přípravků*		10 282	7 568	14 350	12 494	17 800

* ÚHKT provádí ozáření transfuzních přípravků také pro VFN v Praze; (TU = transfuzní jednotka, l = litr)

Tab. 1: Produkce transfuzních přípravků na Transfuzním oddělení v letech 2004–2009.



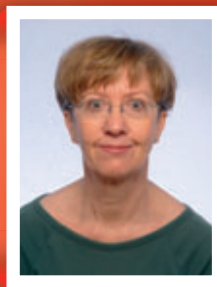
Graf č. 1: Počty vyšetření prováděných v Laboratoři prevence virových nákaz 2004–2009.



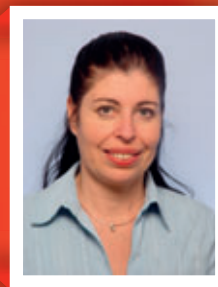
Graf č. 2: Produkce transfuzních přípravků na Transfuzním oddělení 2004–2009.

Aferetické oddělení

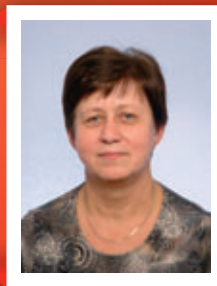
Počet zaměstnanců:	15
Lékaři:	4
VŠ:	1
Zdravotní sestry:	6
Laboranti:	1
SŠ ostatní:	1
Ostatní zaměstnanci:	2



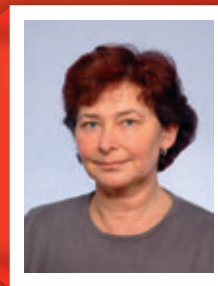
Vedoucí oddělení:
Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.



Zástupce vedoucího:
MUDr. Martina Böhmová



Vrchní sestra:
Vlasta Tomečková



Zástupce vrchní sestry:
Jitka Špičková

Na Aferetickém oddělení se provádějí dárcovské a terapeutické výkony za pomoci separátorů krevních složek. V posledních letech dochází k zvyšování počtu odběrů trombocytů. Aferetické oddělení vyrobilo v r. 2009 celkem 2 172 transfuzních jednotek (dále TU) de leukotizovaných trombocytů. K odběrům přišlo 86 prvdárců.

Dárci mohou využít v prostorách pracoviště bezplatný přístup na internet. Úprava informačního systému umožnila zviditelnění podobenky dárců v průběhu odběru. Tato úprava snižuje riziko záměny dárce a zvyšuje se bezpečnost dárcovství.

Z dárcovských výkonů se nejčastěji provádějí:

Separace krevních destiček – trombocytů. Separace probíhá v tzv. „pohotovostním režimu“. Dárci jsou zváni v krátkém obvykle jednodenním předstihu pro již předem vybraného pacienta. Ve speciálních situacích lze

výběr dárců trombocytů provádět také dle HLA a HPA znaků. Aferetické oddělení používá informační systém pro výběr dárců kompatibilních s příjemci trombocytů v HLA znacích. Trombocyty obsahují velkou dávku účinných krevních destiček. De leukotizuje se 100 % všech přípravků. Trombocyty se mohou resuspendovat jak v plazmě, tak i v roztoku T-sol, který z větší části nahrazuje standardně používanou plazmu. Touto technikou lze omezit nežádoucí reakce příjemce na plazmatické proteiny v přípravku. Ve speciálních situacích se připravují autologní trombocyty ke kryokonzervaci.

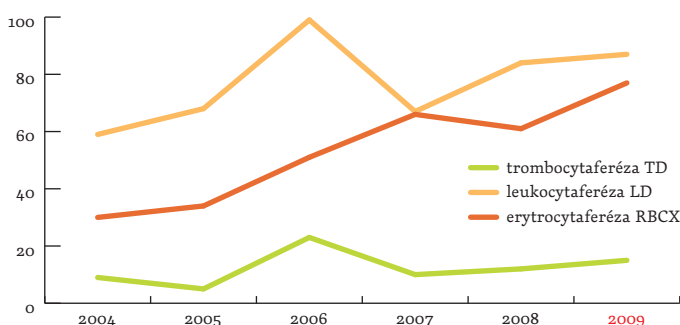
Na Aferetickém oddělení se také připravují koncentráty granulocytů pro nemocné s nedostatkem leukocytů a koncentráty lymfocytů pro DLI (Donor Lymphocyte Infusion), které se používají v potransplantační léčbě nemocných. V roce 2009 jsme připravili 33 terapeutických dávek granulocytů z aferézy.

Další činnosti jsou specializované separace krvetvorných buněk z periferní krve (PBPC) pro alogenní (příbuzenskou a nepříbuzenskou) nebo autologní transplantaci. Aferetické oddělení zavedlo jako první pracoviště v České republice vysoce účinnou velkoobjemovou separační techniku.

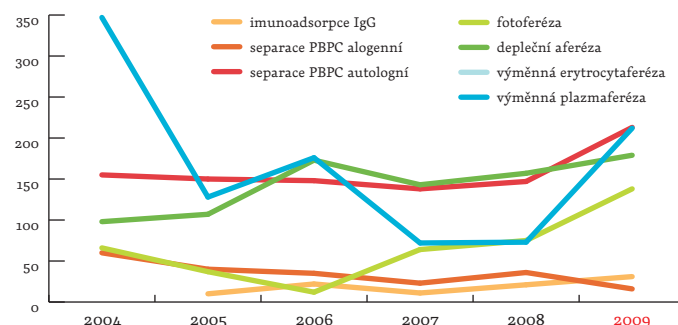
Aferetické oddělení připravuje štěpy PBPC k transplantaci pro nemocné z ÚHKT, I. interní kliniky VFN a 1. LF UK a pro Český registr dárců krvetvorných buněk.

Pracoviště se zabývá dlouhodobým sledováním zdravotního stavu dárců PBPC po mobilizaci a separaci.

U nemocných se provádějí aferetické terapeutické výkony, jako je výměnná plazmaferéza, depleční aferéza, erythrocytaferéza a extrakorporální fotochemoterapie (ECP, fotoferéza). ECP se indikuje v léčbě nemocných s potransplantační reakcí štěpu proti →



Graf č. 1: Léčebné výkony 2004 až 2009.



Graf č. 2: Depleční výkony 2004 až 2009.



s chronickou GVHD (c-GVHD) a s CTCL (lymfomy z T lymfocytů v kožní lokalizaci),

- na sledování účinnosti techniky extrakorporální imunoadsorpce pomocí stafylokokového proteinu A.

Aferetické oddělení spolupracuje s *Transfuzním oddělením* při přípravě trombocytů připravených technikou hemaferézy a při zajištění terapeutického výkonu – extrakorporální fotochemoterapie.

Pracovníci oddělení mají zájem o zvyšování kvalifikace.

V r. 2008 úspěšně proběhlo u jedné pracovnice habilitační řízení v oboru vnitřní nemoci.

hostiteli (GVHD) a u nemocných s lymfomy z T lymfocytů s kožním postižením (Mycosis fungoides/Sézaryho syndrom). Od r. 2009 se využívá systém Macogenic k ozařování buněk pomocí ultrafialového záření.

Aferetické oddělení provádí techniku mimořádně účinné *imunoadsorpce*, pomocí které lze velmi účinně odstranit protilátky, inhibitory a imunokomplexy z cirkulace nemocných. Metoda umožňuje eliminaci IgG pomocí stafylokokového proteinu A a je účinná v terapii nemocných s myasthenia gravis, s dilatační kardiomyopatií, s hemofilií A s inhibitorem proti faktoru VIII a u nemocných s refrakterní TTP.

V roce 2009 jsme zavedli jako první pracoviště v ČR velmi účinnou techniku výměnné erythrocytaferézy u nemocných se srpkovitou anémií.

Pracovníci se zabývají řešením výzkumných projektů, které se zaměřují na:

- separační techniky pro přípravu štěpů kmenových krvetvorných buněk (PBPC) pro transplantace,
- na bezpečnost mobilizace a separace u dárců PBPC,
- na ověření imunomodulačního a klinického efektu extrakorporální fotochemoterapie u nemocných

Pracovníci úseku se podílejí na zajištění pregraduální a postgraduální výuky transfuzního lékařství, včetně dárcovských a terapeutických hemaferetických postupů, imunohematologie a přípravy štěpů kmenových krvetvorných buněk pro transplantaci (ÚKEH, 1. LF UK, IPVZ). Pregraduální činnost je zaměřena na výuku studentů IV. až VI. ročníku 1. LF UK v Praze. ■

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Výměnná plazmaferéza	347	128	176	72	73	212
Výměnná erythrocytaferéza						6
Depleční aferéza	98	107	173	143	157	179
- erythrocytaferéza	30	34	51	66	61	77*
- leukocytaferéza	59	68	99	67	84	87*
- trombocytaferéza	9	5	23	10	12	15*
Fotoferéza	66	37	12	64	75	138
Separace PBPC autologní	155	150	148	138	147	213
Separace PBPC alogenní	60	40	35	23	36	16
Imunoadsorpce IgG		10	22	11	21	31
Celkem všech výkonů	726	462	544	451	509	795

Léčebné výkony na Aferetickém oddělení v r. 2004–2008.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Aferetické oddělení						
Počet odběrů	1 090	1 153	1 193	1 523	1 852	1 660
Vyrobeno přípravků (TU)						
- Trombocyty z aferézy de leukotizované (TAD)	982	1 291	1 379	1 903	2 145	2 172
- Trombocyty z aferézy ochuzené o leukocyty (TAO)	406	8	16	15	0	0
Transfuzní oddělení						
Počet odběrů					366	604
Vyrobeno přípravků (TU)						
- Trombocyty z aferézy de leukotizované (TAD)		482	421	436	557	754
Produkce přípravků z aferézy Aferetické a Transfuzní oddělení (TU)	1 388	1 781	1 816	2 354	2 702	2 926

Produkce trombocytů z aferézy ÚHKT (TU/ks).

*Z jednoho odběru lze připravit v indikovaných situacích dvojitou dávku trombocytů.

** 1TU je transfuzní jednotka.

Oddělení imunohematologie

Počet zaměstnanců:	23
Lékaři:	4
VŠ ostatní:	3
Laboranti:	15
Ostatní personál:	1



Vedoucí oddělení:
MUDr. Martin Písačka



Zástupce vedoucího:
Mgr. Hana Tereza Bolcková

Oddělení má dvě části: rutinní část, imunohematologické oddělení s lokální působností, a specializovanou část s národní i mezinárodní působností – Referenční laboratoř pro imunohematologii.

V roce 2009 se do oddělení začlenila opět laboratoř HLA sérologie, po přechodném zařazení do výzkumného úseku oslabená po stránce personální i prostorové.

Významné události týkající se rozvoje a zkvalitňování pracoviště v r. 2009

- Úspěšná akreditace ČIA – Imunohematologické laboratoře.
- Úspěšná akreditace ČIA v Referenční laboratoři pro imunohematologii v rámci akreditace SEKK Prardubice (RL je dodavatelem materiálu pro systém externí kontroly kvality SEKK).
- První využití CE certifikované microarray BloodChip v rutinním genotypování dárců krve (cca 200 dárců).
- Zavedení screeningu HLA protilátek u dárců krve – prevence TRALI.
- Zlepšení parametrů kvality transfuzních přípravků zavedením techniky microarray genotypování (více informací o ery a trombo znacích – lepší možnost výběru co neoptimálnějších přípravků).

Na oddělení imunohematologie se provádí základní imunohematologické vyšetření dárců krve místního transfuzního oddělení. Je zajišťováno běžné předtransfuzní vyšetření pro pacienty našeho klinického oddělení, eventuálně pro pacienty dětské hematologie ve FN Motol. V rámci co nejbezpečnější transfuze jsou zaváděny nejmodernější postupy. Od roku 2007 se provádí elektronické načítání údajů z krevního vaku (číslo přípravku, krevní skupina, druh přípravku) pomocí čtečky čárového kódu přímo do pracovního protokolu předtransfuzního vyšetření k příslušnému příjemci, tím se eliminuje riziko vzniku chyb při ručním přepisu těchto údajů. V roce 2008 byl

na oddělení instalován imunohematologický analyzátor Galileo Echo a probíhalo pilotní testování kompletně automatizovaného postupu při vyšetřování krevních skupin, screeningu a identifikaci protilátek u dárců i pacientů a v roce 2009 byl přístroj uveden do rutinního provozu.

V roce 2009 oddělení imunohematologie úspěšně prošlo akreditačním auditem ČIA a bylo doporučeno k akreditaci.

U pacientů s vytvořenými protilátkami je zjišťována jejich specifita, provádí se typizace erytrocytů, event. lymfocytů či trombocytů při zajištění optimálního krevního přípravku pro tyto sensibilizované jedince. Je také objasňována příčina hlášených posttransfuzních reakcí.

Je sledován chimerismus erytrocytů po transplantaci kostní dřeně, zejména s ohledem na včasné zachycení změny krevní skupiny příjemce na krevní skupinu dárce – opět pro zajištění správného krevního přípravku pro tyto pacienty.

Na oddělení jsou též vyhledávány, příp. specifikovány, destičkové a leukocytární protilátky u nemocných, u kterých se hledá příčina nízkého počtu těchto elementů. Vyšetřují se případy fetomaternálních aloimunních trombocytopenií a vyhledávají se dárce trombocytů pro takto postižené novorozence (event. plody) z místního registru dárců HPA otypovaných (vzácných) trombocytů. Dále se vyšetřují posttransfuzní reakce způsobené trombocytárními, granulocytárními a/nebo HLA protilátkami.

Laboratoř provádí serologický průkaz protilátek asociovaných s HIT II. typu a ve spolupráci s Oddělením biochemie a Koagulační laboratoří zajišťuje též funkční testy HIT II. typu.

Referenční laboratoř pro imunohematologii poskytuje superkonziliární vyšetření

komplikovaných případů alo- a autoprotilátek a obtížných a atypických případů stanovení antigenů krevních elementů. Významnou roli v diagnostice hraje stále se rozšiřující použití molekulárně-biologických metod. Dále se Referenční laboratoř podílí na organizování a řízení systému externí kontroly kvality v imunohematologii erytrocytů.

Oddělení je zapojeno do výzkumných projektů (Výzkumný záměr ÚHK, konsorcium BloodGen, Nanotechnologický grant).

Zaměstnanci oddělení se podílejí na pregraduální (v rámci ÚKEH) i postgraduální (ILF, NCONZO) výuce v oboru imunohematologie. Zároveň pracují na zvyšování vlastní kvalifikace (PhD studium, atestační příprava – Mgr. Šádková složila úspěšně atestaci v oboru Vyšetřovací metody v klinické hematologii).

V rámci prevence výskytu TRALI se pokračovalo ve vyšetřování HLA protilátek u dárců, které prodělaly imunizační podnět (těhotenství, případně transfuze). V roce 2009 bylo vyšetřeno dalších 128 dárců, celkem bylo od roku 2008 vyšetřeno 256 vzorků od 228 dárců. Pro detekci HLA protilátek byl použit LCT test a ELISA kity firmy GTI: QuikScreen [GTI] pro detekci HLA protilátek I. třídy a B-Screen [GTI] pro detekci HLA protilátek II. třídy. U dárců s pozitivním nálezem v ELISA metodě byla provedena identifikace protilátek pomocí kitů Quik-ID Class I a II, výsledky byly vyhodnoceny pomocí softwaru WinQidEuro [GTI] a stanoveno PRA.

Prevalence HLA protilátek u dárců byla 12,3 % (28/228 případů) detekovaných pomocí ELISA kitů versus 4,4 % (10/228 případů) detekovaných pomocí LCT testu. Z 27 ELISA pozitivních vzorků bylo 17 (60,7 %) anti-HLA protilátek I. třídy, 4 (14,3 %) byly II. třídy a v 6 případech (21,4 %) byla detekována směs HLA protilátek I. i II. třídy. 1 vzorek (3,6 %) byl pozitivní pouze v LCT testu. →



Dárkyně s pozitivními HLA protilátkami byly dočasně vyloučeny z dárcovství, hladina jejich HLA protilátek je dále sledována. Ve dvou případech bylo zaznamenáno vymizení protilátky (jednalo se o slabé protilátky bez specifity).

V rámci sledování HLA imunizace pacientů bylo v roce 2009 vyšetřeno 60 pacientů UHKT LCT testem a ELISA kity firmy GTI: QuikScreen [GTI] pro detekci HLA protilátek I. třídy (s IgG a IgM konjugátem) a B-Screen [GTI] pro detekci HLA protilátek II. třídy. HLA protilátky byly detekovány u 5 pacientů LCT testem, 4 z nich byli pozitivní také v ELISA testech. U všech 4 pacientů pozitivních v ELISA testech byly detekovány HLA protilátky I. třídy u 2 z nich navíc také protilátky II. třídy. Všechny 4 ELISA pozitivní protilátky byly třídy IgG, u jedné byly navíc detekovány protilátky třídy IgM.

Jedná se o pilotní studii HLA imunizace pacientů, ve vyšetřování se bude dále pokračovat.

Dále jsme i v roce 2009 doplňovali rozsáhlý soubor RhD slabých a variantních antigenů, aby byly získány informace o výskytu jednotlivých typů těchto antigenů v naší populaci. Jedním z výstupů byla již druhá publikace v nejvýznamnějším transfuziologickém časopise (Transfusion – spoluautorství) o významných RhD variantách.

Pokračovali jsme v prioritním vyšetřování genotypu dárců krve pomocí microarraye BloodChip. Celkem je touto unikátní technikou vyšetřeno již více než 500 dárců (spoluautorství publikace v Transfus Med Hemother). Touto technikou bylo zachyceno několik vzácných HPA 1a – dárců a dále bylo pozorováno několik velmi pravděpodobně dosud neznámých RhD genotypů.

Podrobně jsme studovali případ klinicky významné aloprotilátky anti-Vel, která má potenciál působit těžké potransfuzní reakce a která působila diagnostické potíže – diskrepantní nálezy současných nejcitlivějších

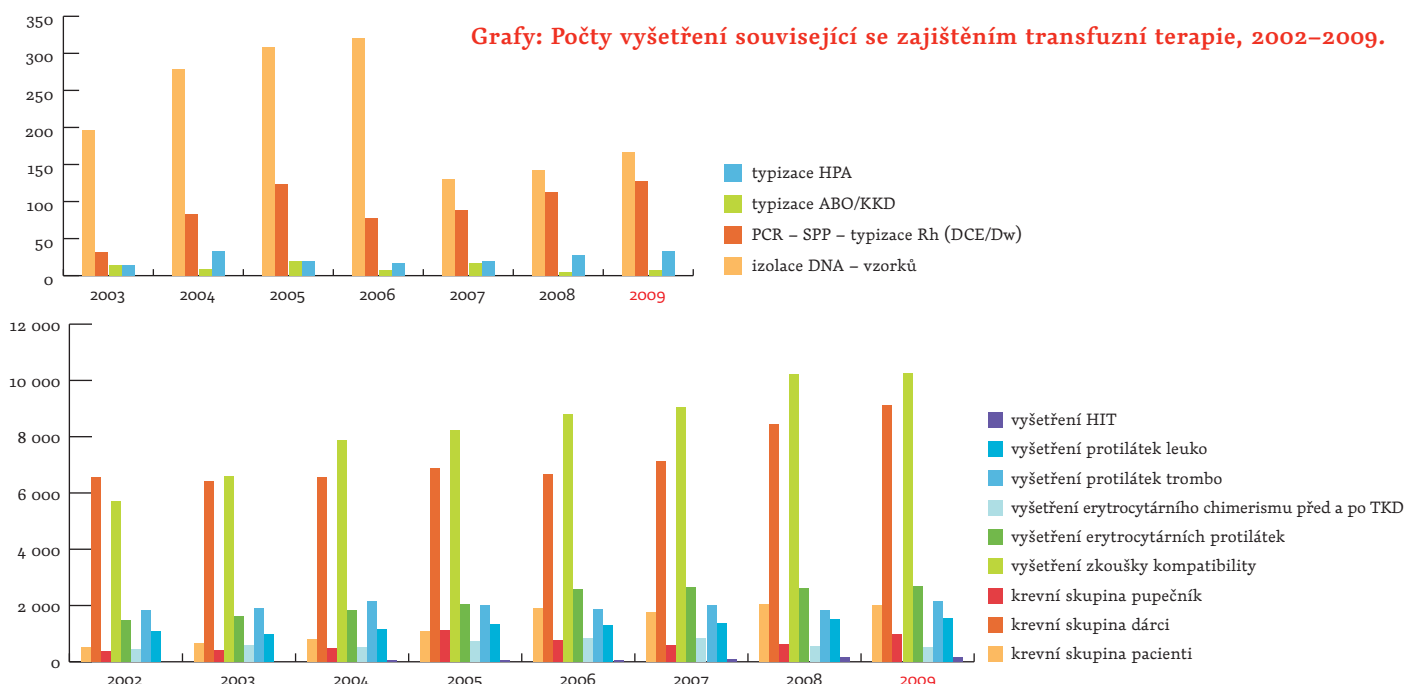
technik sloupcové aglutinace a pevné fáze (přednáška na Pracovních dnech STL a poster na AABB meetingu v New Orleans).

Ve spolupráci s University Lund jsme studovali raritní případy para-Bombay fenotypů. V rámci této studie byly zachyceny mutace FUT1 genu, které byly sice popsány dříve, ale tyto dva naše případy poprvé ukazují, že i heterozygotní stav těchto mutací ovlivňuje fenotypovou expresi. Toto prioritní pozorování bude dále detailně studováno v roce 2010.

Dále budeme v roce 2010 pokračovat v genotypování pomocí microarraye BloodChip a statisticky zpracovávat získaná data a analyzovat případné nové či atypické genotypy.

Pro zdravotní pojišťovny byly vyúčtované výkony v hodnotě cca 16,5 mil.Kč (proti roku 2008 nárůst o 15 %) a dále byla provedena dárcovská vyšetření (neúčtovaná ZP) v hodnotě cca 7 mil. Kč. ■

Grafy: Počty vyšetření související se zajištěním transfuzní terapie, 2002–2009.



Oddělení buněčné terapie

Počet zaměstnanců:	17
Lékaři:	4
VŠ ostatní:	3
Laboranti:	8
SŠ ostatní:	2



Vedoucí oddělení:
MUDr. Petr Kobylka, CSc.



Zástupce vedoucího:
MUDr. Ivan Fales

Oddělení buněčné terapie zpracovává a vyšetřuje štěpy kostní dřeně, periferní kmenové buňky a separované lymfocyty pro pacienty ÚHKT, Kliniky dětské hematologie a onkologie FN Motol, I. Interní kliniky VFN, případně další pracoviště (Hematologické oddělení FNKV, při speciálních způsobech manipulace se štěpy), zajišťuje transport štěpů ze zahraničí, ve výjimečných případech i do zahraničí, ve spolupráci s Českým registrem dárců kostní dřeně IKEM.

Kromě redukce objemu urychlenou sedimentací či centrifugací, zmražení a rozmražení, jsou k dispozici techniky pro CD34+ selekci a T-depleci, CD133+ selekci (CliniMACS), i pro experimentální selekce a deplece (SuperMACS). Stejně tak je oddělení schopno využívat techniky čištění štěpů ex-vivo. Pro alogenní transplantaci oddělení připravuje KD pro kmenové klinické oddělení a pro pracoviště ve FN Motol. Alogenní PBPC pro obě tyto kliniky se připravují buď na separátorech ÚHKT, nebo jsou přiváženy kurýry z mimopražských odběrových center. Vyhodnocení a expedici transplantačním centrem zabezpečuje odd. zpracování štěpů. Připravené autologní štěpy se používají v ÚHKT, na I. interní klinice VFN, ve FN Motol, případně i na dalších pracovištích (zvláště u speciálně manipulovaných štěpů). Pracovníci oddělení buněčné terapie zajišťují expedici, rozmražení a podání buněk transplantátu u lůžka pacienta.

Oddělení buněčné terapie se v oblasti výzkumu zaměřuje na potenciální využití hemopoetických kmenových buněk kostní dřeně pro reparační procesy v nehematologické tkáni. Především se jedná o spolupráci s Ústavem experimentální medicíny ČAV a Ústavem neurověd 2. LF UK v oblasti ovlivnění hojení míšních lezí u akutních a subakutních pacientů.

Oddělení je zapojeno v probíhajících klinických studiích odběrů autologní kostní

BPK ČR
www.bpk.cz

... Kryštof (7 měsíců)
zachránil pětileté dítě nemocné leukémií.
Jeho maminka darovala při porodu
pupečnickovou krev.

KAPKA NADĚJE Nadační fond Kapka naděje podporuje Banku pupečnickové krve ČR.

dřeně a separace MNC pro aplikace u pacientů s poraněním míchy a s ICHDK (spolupráce s Ústavem neurověd 2. LF Motol a I. a II. Interní kliniky VFN a Oddělení klinické hematologie FNKV).

Oddělení je vedoucím pracovištěm projektu Banka pupečnickové krve České republiky (BPK ČR), který je podporován nadačním fondem Kapka naděje. Banka pupečnickové krve se také podílí na aplikovaném výzkumu v oblasti manipulace kmenových buněk získaných z krvetvorné tkáně. Štěpy pupečnickové krve jsou po vyšetření a typizaci pravidelně zařazovány (s půlroční karenténou) do mezinárodního registru dárců BMDW. Manipulace se štěpy krvetvorné tkáně se provádí i mimo pracovní dobu, pro případ odběru i podání o víkendu je udržována telefonická příslužba.

V roce 2009 bylo v rámci projektu ve spádové oblasti laboratoří oddělení odebráno

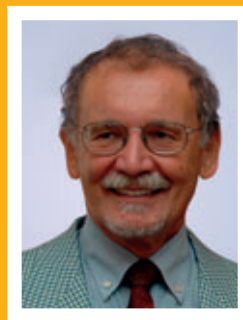
1 369 pupečnickových krví a z toho bylo 489 štěpů zpracováno od nepříbuzenských dárců. Celkový počet štěpů PK v registru je ke konci roku již 3 338.

K transplantaci bylo vydáno rekordních 21 štěpů. ■

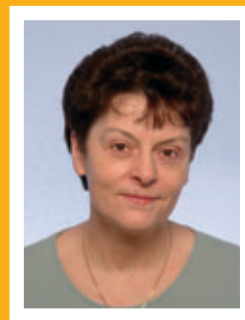


Výzkumný úsek

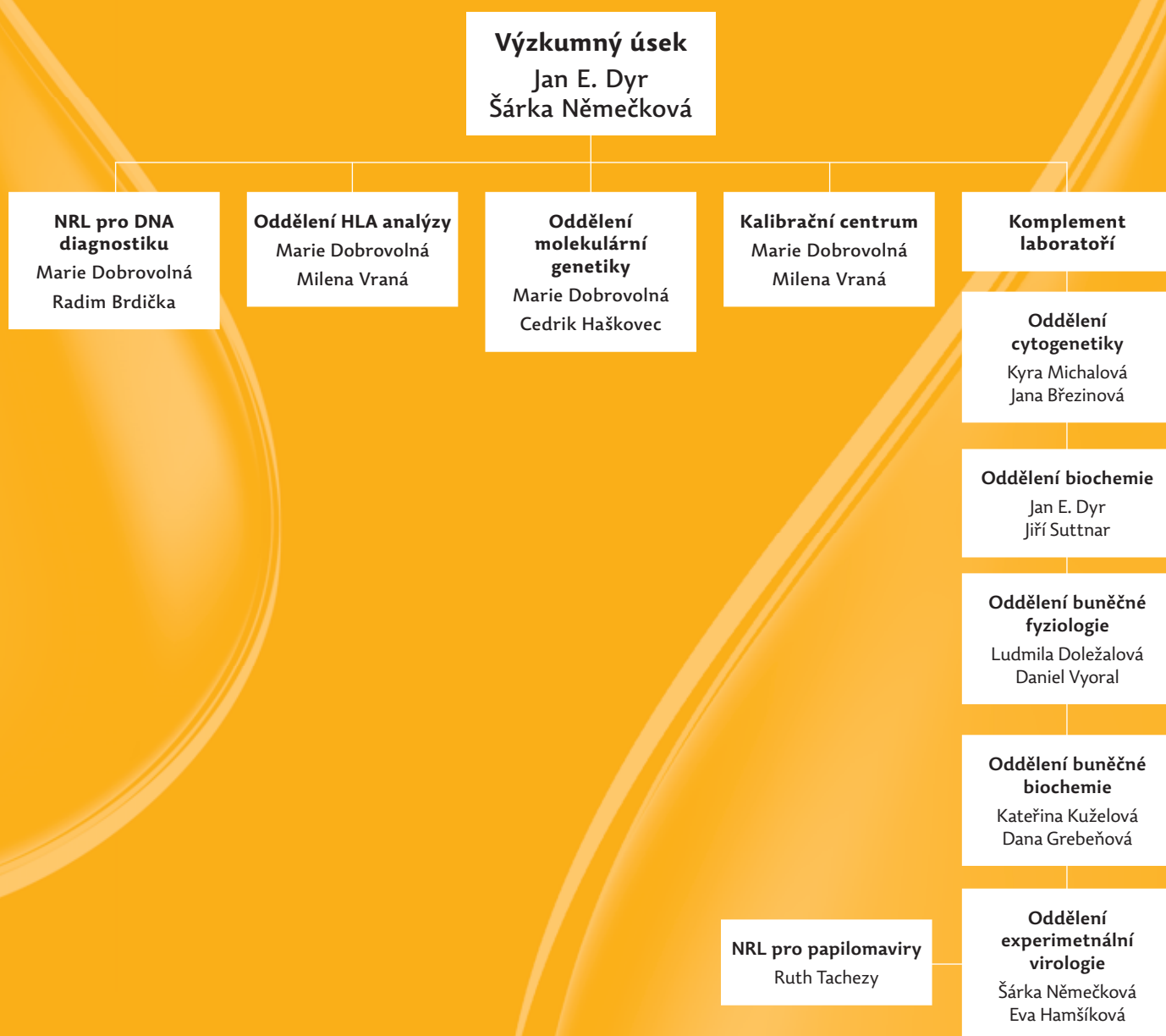
Počet zaměstnanců:	140
Lékaři:	7
VŠ ostatní:	90
Laboranti:	31
SŠ ostatní	5
Ostatní personál	7



Přednosta:
Prof. Ing.
Jan E. Dyr, DrSc.



Zástupce přednosty:
RNDr.
Šárka Němečková, DrSc.



Legenda:

Název útvaru
Vedoucí
Zástupce vedoucího



V ÚHKT pracuje sedm výzkumných oddělení: Oddělení biochemie, Oddělení buněčné biochemie, Oddělení buněčné fyziologie, Oddělení molekulární genetiky, Oddělení analýzy HLA, Oddělení cytogenetiky a Oddělení experimentální virologie.

Výzkumný úsek ve spolupráci s klinickým a transfuzním úsekem řeší tato hlavní vědecká témata:

- studium struktury a funkce krevních destiček a krevních bílkovin účastnících se hemostázy (zástavy krvácení) a trombózy,
- sledování genové exprese u onkohematologických onemocnění,
- studium proteinové exprese (proteomu) leukemických buněk a jejích změn ve vztahu k leukemickým procesům,
- vrozené defekty hematopoézy,
- analýza molekulárních mechanismů leukemogeneze a možnosti cílené regulace,
- studium patogeneze myelodysplastického syndromu,
- studium vstřebávání a zpracování železa v lidském těle,
- úloha cytokinů v rozvoji nemoci štěpu proti hostiteli po alogenní transplantaci hemopoetických kmenových buněk,
- výzkum problematiky nádorů indukovaných DNA viry,
- vývoj terapeutických protinádorových vakcín,
- studium nádorových markerů, které jsou asociovány s resistencí vůči imunitním mechanismům a s progresí tumorogenosti,
- biosenzory s povrchovými plasmony a proteinové čipy pro lékařskou diagnostiku,
- proteomika a metabolomika v hematologii.

Velký důraz je kladen na rozvoj personalizované medicíny, která zahrnuje tzv. „-omické“ vědy – v hematologii zejména genomiku, proteomiku, lipidomiku, metabolomiku, peptidomiku, cytomiku, populační genomiku. Personalizovaná medicína je bezpochyby „fenomén“ budoucnosti, cílem výzkumného úseku ÚHKT je zavádět a rozvíjet všechny relevantní technologie.

Je naprosto zřejmé, že význam proteomiky spolu s dalšími „-omickými“ technologiemi bude v hematologii neustále narůstat. Personalizovaná medicína vychází z individuální jedinečnosti genetického profilu, hledá vztah mezi odpovědí na léčbu určitým lékem

a rozdíly v genomu a proteomu s cílem maximalizovat benefit a minimalizovat vedlejší efekty. Samotný genom neodráží celou funkční komplexnost organismu, zdaleka neexistuje perfektní korelace mezi mRNA a proteiny, uplatňuje se alternativní sestřih, posttranslační modifikace a další regulační mechanismy. Vychází se další – omické vědy, expresní proteomika, proteomika jednotlivých onemocnění, proteomika v jednotlivých tkáních. Proteomika umožňuje časný záchyt onemocnění a sledování průběhu onemocnění a tak ordinovat léčbu „šitou na míru“ pro každého jednotlivce a pro jeho aktuální stav. Proteomika proniká do všech oblastí hematologie. V krvi se odráží (pato) fyziologický stav všech tkání, s krví komunikují přímo nebo nepřímo přes extracelulární tekutiny téměř všechny buňky v těle, mnoho z nich uvolňuje svůj obsah po poranění do krve. Každá buňka v těle tak zanechává v krvi záznam o svém (pato) fyziologickém stavu (produkty, signální molekuly...). ■

Oddělení biochemie

Počet zaměstnanců:	14
Lékaři:	1
VŠ ostatní:	11
Laboranti:	2
Studenti:	4



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



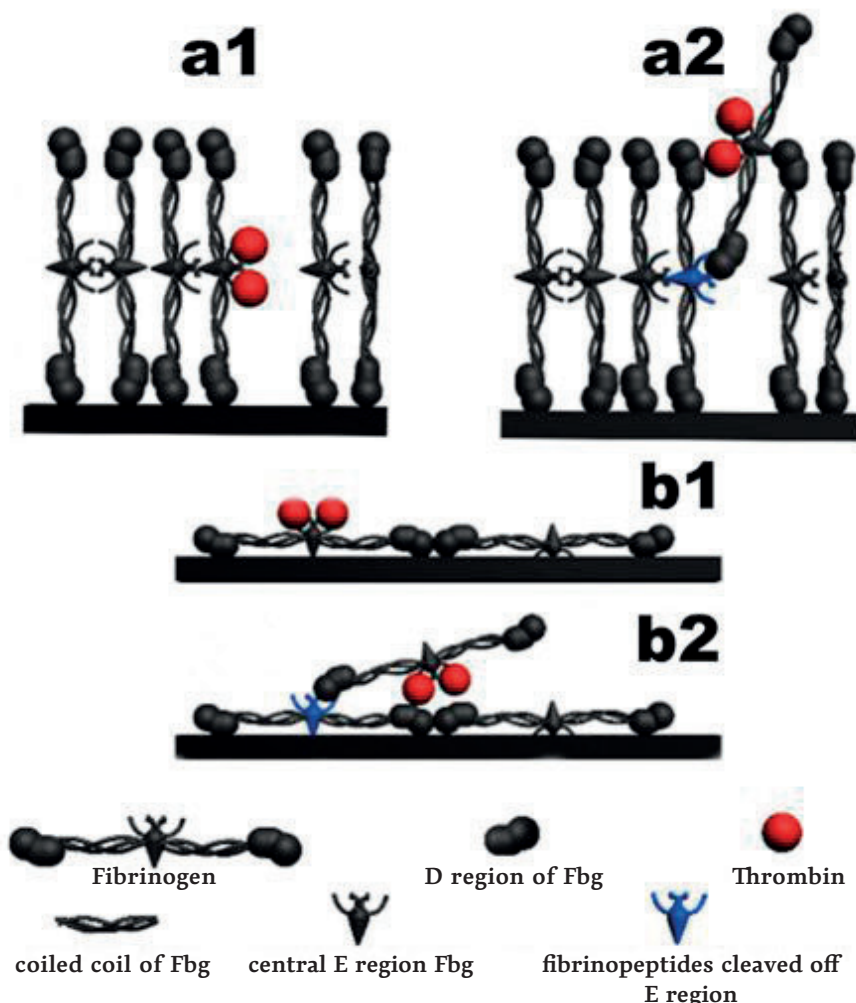
Zástupce vedoucího:
Ing. Jiří Suttar, CSc.

Klíčové metodiky a oblasti výzkumu
oddělení biochemie jsou proteomika a metabolomika v hemostáze a onkohematologii, charakterizace hemokompatibilita biomateriálů a genomika v imunohematologii.

Oddělení biochemie se zabývá studiem struktury a funkce krevních destiček a krevních bílkovin účastnících se hemostázy (zástavy a regulace krvácení) a trombózy. Je studován mechanismus tvorby trombu, komplexního systému desítek vzájemně propojených reakcí s mnoha zpětnými vazbami. Cílem je rozšířit znalosti o funkci tohoto systému s vazbou na zlepšení diagnostických metod charakterizujících vrozené a získané poruchy tohoto systému a navrhnout metody specifických zásahů do tohoto procesu. Je rovněž studován vliv oxidačního stresu na vlastnosti lidských krevních destiček a krevních bílkovin.

Na oddělení se provádí některá speciální DNA diagnostika pro imunohematologii a krevní koagulaci a denaturační vysoce účinná kapalinová chromatografie (DHPLC), která slouží jako screeningová metoda pro vyhledávání mutací v DNA.

Jsou rozvíjeny proteomické metodiky, zvláště dvourozměrné chromatografické (PF2D) a konstrukce proteinových biočipů s optickou detekcí (založené na resonanci povrchových plasmonů). Ty slouží především k přípravě a charakterizaci buněčných proteinů pro onkohematologickou diagnostiku. Probíhá analýza subproteomů bílkovin krevních destiček pomocí hmotnostní spektrometrie (MS) s iontovou pastí s cílem charakterizovat posttranslační modifikace. To by mělo přispívat k objasnění patogeneze myelodysplastického syndromu (MDS), který je spojován s oxidačním stresem a jeho induktory, ve vzorcích pacientů s MDS jsou často pozorovány serologické a molekulární markery oxidačního stresu, včetně zvýšené koncentrace malondialdehydu. Podmínky



Obr. 1: Schématický model interakce trombinu s fibrinogenem na povrchu.

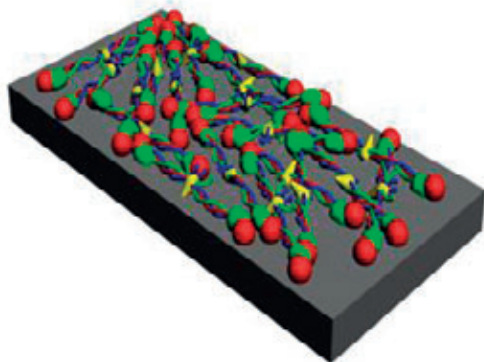
oxidačního stresu rovněž vedou k posttranslačním modifikacím bílkovin plasmy a krevních elementů, včetně krevních destiček.

Na pracovišti biochemie jsou metodami HPLC za pomoci UV nebo fluorescenční detekce stanovovány itakonazol, hydroxyitakonazol, metabolity derivátů tryptofanu (serotonin), marker oxidačního stresu malondialdehyd, deriváty psoralenu, používané ve fotoferéze, a nejnověji je zavedena metoda pro stanovení glivecu a jeho des-methyl derivátu v plasmě leukemických pacientů.

Pomocí metod molekulární biologie a MS jsou soustavně sledovány hypofibrinogenemie a vrozené i získané dysfibrinogenemie. U získaných a dědičných mutací fibrinogenu je hledán vztah mezi změněnou strukturou a jeho vlastnostmi. Získané poznatky jsou využívány k posouzení změn fibrinogenu u onkohematologických pacientů a při oxidačním stresu.

Řešená problematika v roce 2009

V roce 2009 jsme identifikovali další rodiny s poruchou molekuly fibrinogenu – nové mutace projevující se jako hypofibrinogenémie →



Obr. 2: Uspořádání fibrinových monovrstev v závislosti na koncentraci fibrinogenu.

(Zlín: gama 21Thr – Ile) a dysfibrinogenémie (Vizovice: Aalfa 98 Phe-Ile; Praha V: Aalfa 17 Gly-Val).

Ve spolupráci s ÚMCH ČAV jsme pokračovali v charakterizaci fibrinových vrstev vznikajících na povrchu při postupné syntéze fibrinu trombinem. Zjistili jsme, že z těchto vrstev jsou přednostně (na rozdíl od fibrinogenu v roztoku) uvolňovány fibrinopeptidy B, které vykazují řadu cytokinových aktivit a na rostoucím fibrinu jsou tak postupně odhalovány struktury vhodné pro adhezi a proliferaci některých hematopoetických a vaskulárních buněčných populací.

Dokončili jsme první fázi ve studiu změn proteomu krevních destiček při jejich aktivaci různými agonisty. Identifikovali jsme 144 proteinů, z nichž pět zatím u krevních destiček nebylo nalezeno.

Ve spolupráci s oddělením kardiologie FN Motol jsme zahájili projekt hledání souvislostí polymorfismů v genech fibrinogenu FGA, FGB a FGG u pacientů s koronárními syndromy. V současné době jsou hotové analýzy dvou polymorfismů u 120 pacientů. Pokračovali jsme ve studiu proteomiky krevní

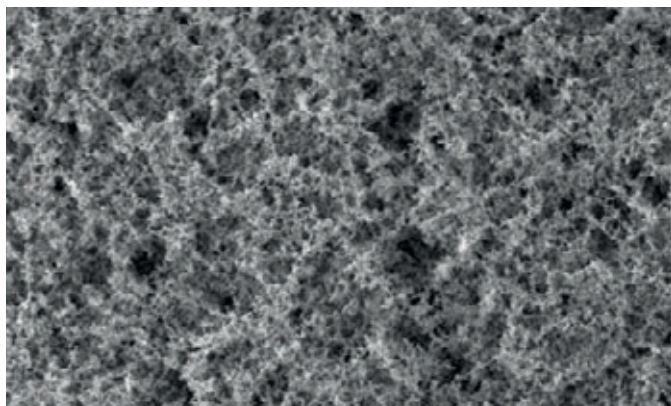
plazmy u kardiologických onemocnění (infarkt myokardu, nestabilní angina pectoris a stabilní angina pectoris) a dokončili jsme pilotní studii.

V rámci studia oxidačních procesů probíhajících při aktivaci krevních destiček jsme pokračovali v charakterizaci vlivu koncentrací antioxidantů, konkrétně resveratrolu, troloxu a vitamínu C na agregabilitu a adhezivitu krevních destiček a na tvorbu markeru oxidačního stresu – malondialdehydu (MDA). Adhezivita byla měřena za statických a dynamických podmínek v přístroji Cone and Plate. Toto zkoumání jsme dále rozšířili o měření vlivu antioxidantů na cyklooxygenasu 1 a 2 (cyklooxygenasa 1 se nachází v krevních destičkách, katalyzuje přeměnu kyseliny arachidonové na eikosanoidy). Zjistili jsme, že resveratrol, ale ne trolox, inhibuje funkci tohoto enzymu a navrhli jsme mechanismus působení tohoto antioxidantu. Pro kvantifikaci procesů oxidačního stresu v neaktivovaných krevních destičkách a v destičkách aktivovaných různými agonisty jsme zavedli izolaci a následnou identifikaci karbonylovaných proteinů. K označení karbonylovaných skupin proteinů jsme použili biotin hydrazid a modifikované bílkoviny jsme izolovali

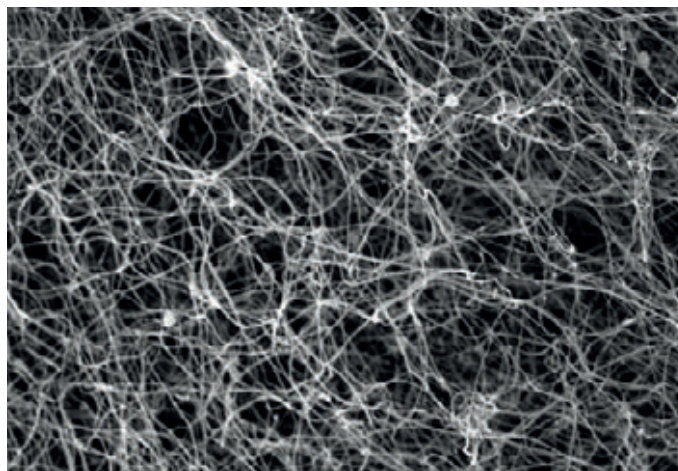
na avidin-agarose. Pomocí biotin-switch techniky byly izolovány S-nitroso bílkoviny krevních destiček klidových a aktivovaných různými agonisty. Avidin-biotinový systém byl rovněž využit k zachytu karbonylovaných bílkovin krevních destiček.

Na pracovišti je řešen projekt programu „Nanotechnologie pro společnost“ Akademie věd ČR, podprogramu „Nanobiologie a nanomedicína“: „Biosenzory s povrchovými plasmony a proteinové čipy pro lékařskou diagnostiku“.

Pracovníci oddělení vykonávají pedagogickou činnost v rámci přednášek na VŠCHT Praha, FPBT („Imunologie a hematologie“ a „Biomedicínská instrumentace a robotika“), ČVUT, FBI („Hemokompatibilita“), a UK Praha, 1. LF (Poruchy hemokoagulace a metody používané pro jejich vyšetřování“ a anglickou verzi „Disorders of hemocoagulation and techniques used in their laboratory investigation“) a dále při vedení bakalářských, diplomových a disertačních prací. V rámci doktorandského studia se na práci oddělení biochemie podílí osm postgraduálních studentů a v rámci pregraduálního studia a diplomové práce čtyři studenti. ■



Obr. 3: Fibrinová síť pacienta se získanou dysfibrinogenémií v souvislosti s mnohočetným myelomem (elektronoptický snímek).



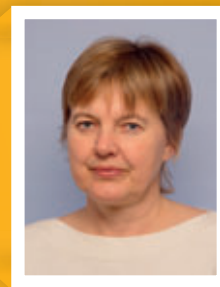
Obr. 4: Normální fibrinová síť (elektronoptický snímek).

Oddělení buněčné biochemie

Počet zaměstnanců:	16
VŠ:	9
Laboranti:	5
Ostatní personál:	2



Vedoucí oddělení:
RNDr. Kateřina Kuželová, Ph.D.

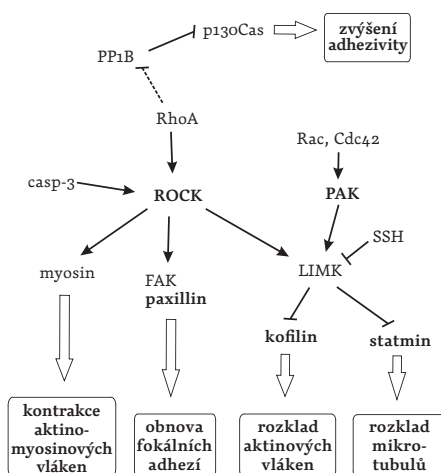


Zástupce vedoucího:
Ing. Dana Grebeňová

Oddělení buněčné biochemie se zabývá výzkumem struktury krevních buněk a jejich chování v souvislosti se vznikem a léčbou hematologických onemocnění. Cílem práce oddělení je porozumět molekulárním příčinám hematologických poruch a objasnit mechanismy působení zavedených i potenciálních terapeutických postupů. Studie jsou prováděny na mnoha ustavených buněčných liniích, jakož i na primárních vzorcích klinického původu. Velká pozornost je rovněž věnována vlivu jednotlivých léčebných metod na funkci normálních krevních buněk, který může být příčinou nežádoucích vedlejších účinků. V oddělení jsou zavedeny a běžně používány moderní metody z oblasti biochemie, proteomové analýzy, imunofluorescence a buněčné a molekulární biologie.

Řešená problematika v roce 2009

- Proteomová analýza vlivu léčiva Imatinib mesylátu na adhezní vlastnosti hematopoietických buněk (projekt s podporou IGA MZ).
- Studium změn adhezních vlastností krevních buněk vyvolaných léčivem SAHA (šuberoylanilid hydroxamové kyseliny, projekt s podporou GA ČR).
- Studium buněčné senescence vyvolané léčivem SAHA.
- Dlouhodobá kultivace a analýza krevních buněk primárních vzorků.
- Studium vlivu demetylačního činidla



Obr. 1: Zjednodušené schéma vazeb mezi důležitými regulátory buněčného cytoskeletu a adhezivitu. Tučně vyznačeny jsou proteiny, u kterých jsme našli změny v expresi nebo fosforylaci po ošetření JURL-MK1 buněk Imatinib mesylátem.

decitabinu na normální lymfocyty z periferní krve.

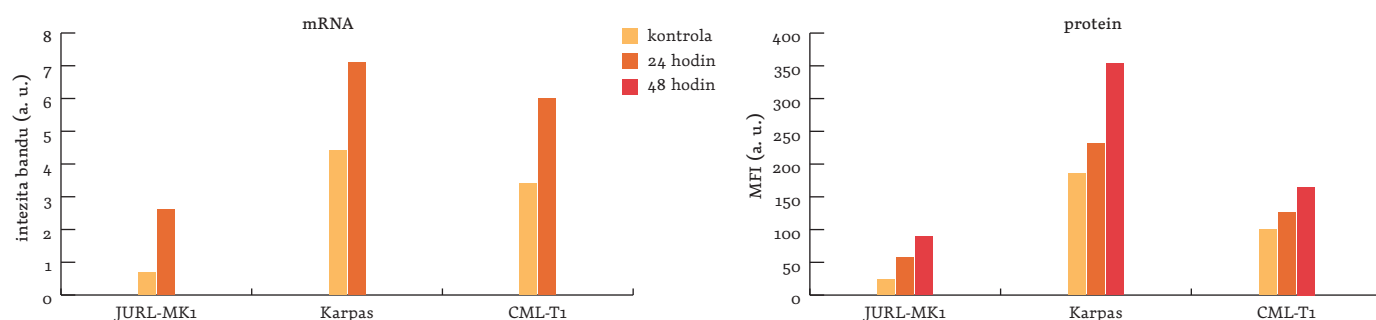
- Studium interakcí jaderných proteinů s proteiny činnými v apoptóze (projekt s podporou IGA MZ).

Výsledky získané v roce 2009 Proteomová analýza vlivu léčiva Imatinib mesylátu na adhezní

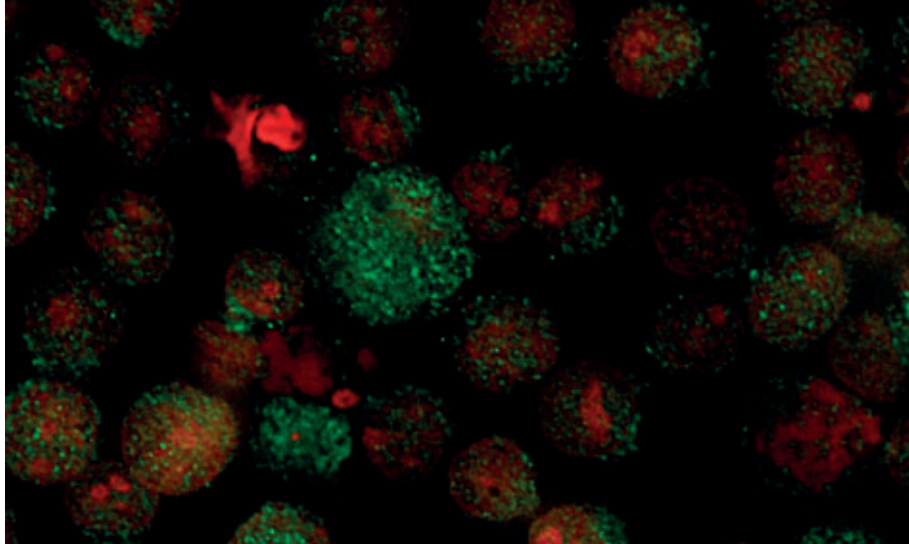
vlastnosti a cytoskeletální struktury buněk chronické myeloidní leukémie

Hematopoietické buňky vyvíjející se v kostní dřeni jsou uchyceny v extracelulární matici (ECM) prostřednictvím interakce membránových proteinů (v první řadě integrinů) se stromálními buňkami a proteinovými komponentami ECM. Integriny nejen mechanicky ukotvují buňky ve vhodném prostředí, ale zprostředkovávají přenos signálů mezi buňkou a ECM, a výrazně tak ovlivňují chování buňky. Adheze buněk k ECM je rovněž úzce spjata s uspořádáním cytoskeletu, což je dynamická struktura, která určuje tvar buňky a její vnitřní uspořádání. Cytoskelet hraje důležitou roli ve všech procesech, při kterých se tyto vlastnosti mění, např. v buněčné migraci, při buněčném dělení nebo v apoptóze. V adhezující buňce se vytvoří silná vlákna aktinu (stresová vlákna), která se prostřednictvím tzv. fokálních adhezí napojují na síť ECM a umožní stabilní uchycení buňky v matici. Aktinové struktury rovněž zajišťují kontrakci apoptotické buňky a její rozpad do apoptotických tělísek. Za klíčové regulátory cytoskeletálních struktur jsou považovány malé GTPázy rodiny Rho, jejímiž nejprozkoumanějšími členy jsou RhoA, Rac1 a cdc42 (obr. 1).

Molekulární příčinou chronické myeloidní leukémie (CML) je vznik fúzního genu BCR-ABL. Proteinový produkt tohoto genu →



Graf č. 1: Zvýšení exprese integrinu beta1 v buňkách linií JURL-MK1, Karpas-299 a CML-T1 po ošetření 0,5 μ M SAHA. Hladina mRNA byla stanovena pomocí RT-PCR a množství proteinu exprimovaného na povrchu buněk pomocí značené protilátky a průtokové cytometrie.



Obr. 2: Buněčná lokalizace fosforylovaného kofilinu zviditelněná pomocí barvení permeabilizovaných JURL-MK1 buněk fluorescenční protilátkou (zelená). Buněčné jádro je obarveno červeně fluoreskujícím propidium iodidem. Snímek byl pořízen na mikroskopu Olympus IX81 se systémem Cell-R s použitím 60× zvětšení.

je tyrozinová kináza Bcr-Abl, která ovlivňuje stav mnoha různých buněčných signálních drah, a tím mimo jiné stimuluje buněčné dělení a zabráňuje spouštění programované buněčné smrti (apoptózy). Je známo, že protein Bcr-Abl interaguje také s některými proteiny, které se účastní regulace struktury cytoskeletu a buněčné adhezivitu.

V rámci řešení grantového projektu NR/9243-3 (IGA MZ) jsme studovali změny v adhezivitě, struktuře cytoskeletu a proteinové expresi buněk linie JURL-MK1, vyvolané působením Imatinib mesylátu, inhibitoru proteinu Bcr-Abl. Ošetření JURL-MK1 buněk Imatinibem po dobu 48 h vedlo k postupnému snižování adhezivitu těchto buněk k fibronektinu. Současně se v buňkách dramaticky snižoval obsah polymerního aktinu, který jsme monitorovali pomocí fluorescenčně značeného phalloidinu (látky, která se váže k polymernímu aktinu a umožňuje vizualizaci cytoskeletálních struktur) a průtokové cytometrie. Oba tyto procesy je možno inhibovat použitím inhibitoru kaspáz Q-VD-OPh, a je tedy pravděpodobné, že nastávají jako součást programované buněčné smrti. Proteomovou analýzou jsme zjistili, že Imatinib mesylát indukují mnohé změny v expresi nebo fosforylaci proteinů, o kterých je známo, že ovlivňují strukturu buněčného cytoskeletu nebo buněčnou adhezivitu. Některým z nich bylo možno zabránit současným použitím inhibitoru Q-VD-OPh (např. pokles exprese integrinu beta1 na povrchu buněk nebo snížení exprese tropomyosinu 1), jiné nastávaly i v přítomnosti tohoto inhibitoru (štěpení proteinu ROCK, snížení exprese paxillinu). Nečekaně jsme po ošetření Imatinibem pozorovali výrazné zvýšení inaktivační fosforylace kofilinu, proteinu, který rozkládá aktinové struktury. Tuto změnu bylo možno částečně inhibovat použitím Q-VD-OPh, nikoli však

inhibitorem proteinu ROCK, který je obecně považován za jeden z nejvýznamnějších regulačních prvků aktivity kofilinu. Lokalizace fosforylovaného kofilinu v buňkách JURL-MK1 byla následně studována pomocí imunofluorescenční mikroskopie. Bylo zjištěno, že fosforylovaný kofilin se soustředí v mnoha malých ohraničených oblastech zatím neznámé povahy (obr. 2). Charakter rozložení fosforylovaného kofilinu v buňce se po ošetření Imatinibem nemění, v souladu s výsledky western-blotů se však zvyšuje intenzita fluorescence těchto oblastí, a tedy celková hladina fosforylovaného kofilinu.

K dělení proteinových směsí z buněčných lyzátů jsme vedle klasické dvourozměrné gelové elektroforézy využili i zařízení, které pracuje na principu dvourozměrné kapalinové chromatografie a proteiny dělí podle isoelektrického bodu a hydrofobicity (přístroj PF2D umístěný v oddělení biochemie). Analýza JURL-MK1 buněk ošetřených současně Imatinib mesylátem a inhibitorem Q-VD-OPh odhalila další proteiny, jejichž exprese se mění vlivem ošetření Imatinib mesylátem (např. statmin).

Studium změn adhezních vlastností krevních buněk, vyvolaných suberoylanilidem hydroxamové kyseliny (SAHA)

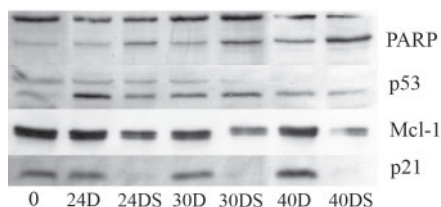
Suberoylanilid hydroxamové kyseliny (SAHA) působí jako inhibitor histonových deacetyláz, a tím ovlivňuje frekvenci přepisu genů. V USA byl zaveden pro léčbu kožních T-buněčných lymfomů a v současné době probíhají další klinické studie, které mají podpořit jeho uplatnění při léčbě dalších onkologických a hematologických onemocnění. Je známo, že SAHA vyvolává zástavu proliferace nádorových buněk a často spouští mitochondriální apoptózu. Spektrum možných účinků SAHA

je však vzhledem k charakteru jeho působení rozmanité a výsledný efekt silně závisí na buněčném typu. Na našem pracovišti byl během uplynulého roku získán rozsáhlý soubor dat týkajících se účinku SAHA v různých koncentracích na proliferaci, viabilitu a adhezivitu šesti buněčných linií (odvozených od chronické nebo akutní myeloidní leukémie nebo T-buněčného lymfomu), normálních lymfocytů izolovaných z periferní krve zdravých dárců a primárních buněk pacientů v chronické fázi chronické myeloidní leukémie (CML). Ošetření inhibitorem SAHA v koncentracích 1 μ M a vyšších vedlo u všech buněčných linií k zástavě proliferace a u většiny z nich byla spuštěna apoptóza, jejíž míra výrazně závisela jak na použité koncentraci, tak na konkrétním typu buněk. U některých linií (K562, Karpas-299) převládal neapoptotický typ buněčné smrti. Naproti tomu následky ošetření SAHA v subtoxické koncentraci (0,5 až 1 μ M) byly pro všechny studované buněčné linie podobné: signifikantně se zvýšila frakce buněk adherujících k povrchu pokrytému fibronektinem. Při použití vyšší koncentrace tento efekt vymizel a docházelo naopak k poklesu buněčné adhezivitu, který byl pravděpodobně způsoben probíhající apoptózou. U normálních lymfocytů ovšem ke zvýšení adhezivitu vlivem 0,5 μ M SAHA nedocházelo.

Proteomová analýza buněk ošetřených subtoxickou koncentrací SAHA vedla k odhalení dvou proteinů, jejichž exprese se vlivem ošetření měnila u většiny studovaných linií: zvýšená exprese integrinu beta1 byla provázána i zvýšením exprese příslušné mRNA (graf č. 1), zatímco za výrazně zvýšenou hladinou paxillinu stojí zřejmě spíše stabilizace mRNA nebo proteinového produktu (hladina mRNA se zvyšuje jen mírně).

Za klíčový regulátor procesu tvorby aktinových stresových vláken a pevné adheze buněk k extracelulární matrici je považována signální dráha vedoucí přes GTPázu RhoA a její efektor ROCK (obr. 1). Možnou účast této dráhy ve zvýšené buněčné adhezivitě k fibronektinu jsme studovali pomocí inhibitoru proteinu ROCK (látky Y-27632). Poměrně překvapivě neměla inhibice ROCKu na zvýšení adheze indukované SAHA žádný konzistentní vliv – v některých liniích inhibitor ROCKu zvýšení adheze částečně zabránil, zatímco v jiných účinek SAHA spíše potencoval. Lišil se i účinek inhibitoru na adhezivitu kontrolních, neošetřených buněk podle jejich typu.

Testovali jsme také účinek jiných inhibitorů histonových deacetyláz (HDAC) – butyrátu sodného (v koncentracích do 2 mM) a trichostatinu A, který patří do stejné strukturní třídy jako SAHA (v koncentracích



Obr. 3: Změny proteinové exprese v normálních lymfocytech, vyvolané decitabinem (D) nebo kombinací decitabinu a SAHA (DS) po dobu 24, 30 nebo 40 h.

do 500 nM) – na adhezivitu JURL-MK1 buněk. Analýza *in vitro* aktivity HDAC v buněčném lyzátu ukázala, že účinnost 0,5 mM butyrátu sodného nebo cca 50 nM trichostatinu A v inhibici HDAC je srovnatelná s účinností 0,5 μ M SAHA. Zatímco ve vyšších koncentracích butyrát sodný i trichostatin A indukovaly zástavu buněčného cyklu a apoptózu, nepodařilo se nám zachytit žádné zvýšení adhezivity působením těchto inhibitorů HDAC při nižších koncentracích. Námi pozorovaný účinek na buněčnou adhezivitu je tedy zřejmě specifický pro SAHA.

Abychom charakterizovali možné vedlejší účinky léčiva, studovali jsme také vliv vyšších koncentrací SAHA na viabilitu normálních lymfocytů izolovaných z krve zdravých dárců a účinek ošetření SAHA na expresi dvaceti proteinů činných v apoptóze. Lymfocyty byly schopny 24 h odolávat účinku SAHA, pravděpodobně díky změnám v expresi proteinů c-Myc a p21 (WAF1). Při delším působení byla však ve většině buněk spuštěna mitochondriální apoptóza provázená výrazným nárůstem v expresi BimEL, který byl pozorován na úrovni mRNA i proteinu.

Studium buněčné senescence

Senescenci můžeme považovat za protirakovinný či tzv. tumor-supresorový mechanismus a jako termín je používána ve spojitosti se stárnutím. Hlavním biomarkerem senescence je vysoká aktivita „senescence associated-beta-galaktosidasy“ měřené při pH 6. Dalším charakteristickým znakem je kromě typické buněčné morfologie zvýšená exprese tumor-supresorových genů a to p53, p21Cip1 a p16INK4A. Senescence byla poprvé popsána v roce 1965 Hayflickem a jeho kolegy, kteří zjistili, že i přes optimální kultivační podmínky má většina typů buněk svou proliferaci omezenou, tedy že buňky mohou dosáhnout jen předem daného počtu buněčných dělení než vstoupí do stavu nevratné zástavy růstu – replikativní senescence. Replikativní senescence je spuštěna kritickým zkrácením telomer, které jako první objasnilo příčinu zástavy buněčného dělení. Některé buňky přecházejí do stavu senescence nezávisle na zkracování telomer. Mluvíme pak o tzv. stresem indukované nebo onkogenem indukované senescenci, která je spuštěna řadou faktorů, jako jsou například stres či zvýšená exprese některých onkogenů. Senescenci mohou vyvolat i protinádorová léčiva. Indukce

buněčné senescence je jedním z významných cílů výzkumu protinádorové léčby.

V pilotní studii jsme studovali účinek inhibitorů histonových deacetyláz – SAHA a kyseliny valproové – na liniích MOLM-7, JURL-MK1, HL-60, PS1 a CML-T1. SAHA indukovala apoptózu všech testovaných buněčných linií v koncentracích 1 μ M a vyšších, zatímco kyselina valproová měla tentýž efekt v koncentracích o několik řádů vyšších (0,5–1 μ M). Oba inhibitory inhibovaly buněčnou proliferaci, byly stanoveny přibližné hodnoty IC₅₀ (koncentrace účinné látky snižující buněčnou proliferaci na polovinu) pro buněčné linie HL-60, MOLM-7 a JURL-MK1. U linie MOLM-7 byla indukována buněčná senescence působením SAHA, kyseliny valproové a kyseliny retinové. V současnosti je vyhledávána nejvhodnější hematopoetická linie ke studiu indukované senescence leukemických buněk.

Dlouhodobá kultivace a analýza krevních buněk z primárních vzorků

Vzorky biopsií obvodové krve a kostní dřeně nemocných s leukemií léčených v ÚHKT a biopsie kostní dřeně pacientů s myelomem léčených na 1. Interní klinice VFN byly dlouhodobě kultivovány v tekutých kulturách v přítomnosti i bez přítomnosti hematopoetických cytokinů. Účelem tohoto postupu je kromě možnosti ustavení permanentních buněčných linií i zjištění schopnosti dlouhodobé nebo trvalé sebeobnovy, diferenciaci a přežití leukemických a myelomových kmenových buněk v podmínkách *in vitro*, tj. bez přímé podpoře stromatu a buněk v „niche“ v kostní dřeni. Kultury jsou ustavovány bez přítomnosti nebo s přítomností především myeloidních cytokinů – granulocytového (G-CSF) a granulocytového-makrofágového kolonie stimulujícího faktoru (GM-CSF).

V průběhu roku 2009 byly ustaveny primární kultury od 123 vzorků kostní dřeně nemocných myelomem nebo periferních leukemických buněk nemocných s AML. Doba přežití leukemických buněk v takovýchto kulturách je v řádu týdnů až měsíců a je závislá na mnoha dalších faktorech, především na přítomnosti vhodných cytokinů případně přítomnosti stromálních buněk kostní dřeně. Ustavení nové prokazatelně leukemické nebo myelomové linie je vzácná a náhodná událost.

Studium vlivu demetylačního činidla decitabinu na normální lymfocyty z periferní krve

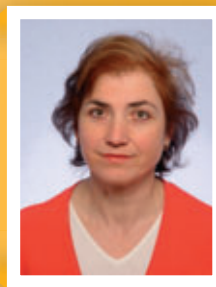
V návaznosti na předchozí studium účinku inhibitoru histonových deacetyláz, SAHA, jsme zkoumali efekt dalšího činidla vyvolávajícího epigenetické změny, 5-aza-2'-deoxycytidinu (decitabine), na expresi vybraných apoptotických a jadérekových proteinů v lymfocytech z periferní krve zdravých dárců. Decitabine jako inhibitor metyltransferáz způsobuje aktivaci nebo inhibici regulačních proteinů a je využíván především při léčbě myelodysplastického syndromu (MDS). V koncentraci 8 μ mol/l vyvolává decitabine po 30 hodinách působení slabý nárůst aktivity kaspáz a mírný pokles mitochondriálního membránového potenciálu, výrazně je aktivována exprese proteinu p21, regulujícího buněčný cyklus, zvýšena je také exprese proteinu p53. Kombinací decitabinu se 4 μ mol/l SAHA naopak exprese proteinu p21 ovlivněna není, ale aktivace exprese proteinu p53 přetrvává a značný pokles proteinové exprese je zaznamenán u antiapoptotického proteinu Mcl-1 (obr. 3). Výrazná aktivita kaspáz a pokles mitochondriálního membránového potenciálu spolu s tvorbou reaktivních kyslíkových radikálů svědčí o dramatickém účinku kombinace SAHA+decitabine na zdravé lymfocyty.

Studium interakcí jadérekových proteinů s proteiny činnými v apoptóze

Pro studium interakcí mezi jadérekovými proteiny a proteiny účastnicími se procesu apoptózy v leukemických buněčných liniích a normálních lymfocytech z periferní krve dárců byly zvoleny dvě metody, jejichž výsledky by se měly navzájem doplňovat: metoda koimunoprecipitace a metoda kvasinkové dvouhybridní analýzy. Obě tyto metody jsou nyní na našem pracovišti souběžně zaváděny a v budoucnu rozšíří soubor našich experimentálních přístupů o možnost sledovat protein-proteinové interakce. Práce je v současné době zaměřena na optimalizaci základních parametrů experimentů. U kvasinkové dvouhybridní analýzy byly v tomto roce nalezeny optimální podmínky pro RT-PCR izolaci genu C23 (o délce 2165 bp) z buněčného lyzátu. Primery pro tuto izolaci byly konstruovány s ohledem na fakt, že gen bude vnášen do plazmidu pro amplifikaci v *E. coli*, a izolovaný gen je připraven pro kontrolu na sekvenaci. Pro imunoprecipitaci proteinu C23 z buněčného lyzátu byly nalezeny takové podmínky, při nichž protein není degradován a nedochází k porušení komplexu s proteinem B23. Dá se předpokládat, že tyto podmínky umožní nalezení dalších interakčních partnerů jadérekového proteinu C23. ■

Oddělení molekulární genetiky

Počet zaměstnanců:	35
Lékaři:	2
VŠ ostatní:	24
Laboranti:	9



Vedoucí oddělení:
RNDr. Marie Dobrovolná



Zástupce vedoucího:
RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.

Laboratorní skupina Mgr. Hany Žižkové, PhD., zabývající se vyšetřováním buněčného chimerizmu po alogenní HSCT (SOP01 NRL pro DNA diagnostiku) zpracovala v roce 2009 celkem 2 903 primárních vzorků. Po stanovení informativních polymorfizmů, rozlišujících pacienta a jeho dárce, sleduje jejich analýzou v potransplantačním období dynamiku štěpu dárce s cílem co nejdříve detekovat případný návrat pacientovy krvetvorby.

V rámci grantových projektů a výzkumného záměru pokračovala skupina ve studiu komponent teloméro-telomerázového komplexu pomocí metod TRF (Metoda Terminálního Repetitivního Fragmentu pro délku telomer) a TRAP (pro stanovení aktivity telomerázy), věnovala se i sledování hladiny metylace promotorové oblasti genu CDKN2B (p15Ink4B) a sledování výskytu bodových mutací N-ras protoonkogenu. Výsledky ukazují, že zkrácené teloméry a aberantní metylace genu p15Ink4B (stanovená metylově specifickou PCR po modifikaci DNA bisulfidem sodným) jsou spojeny s progresí onemocnění MDS. Podobně i u AML a B-CLL se tyto markéry jeví jako prognosticky nejvýznamnější pro rutinní vyšetřování pacientů. Nejčastěji se objevující bodové mutace N-Ras protoonkogenu ve 12. a 13. kodonu prvního exonu byly detekovány sekvenační analýzou u pacientů s MDS a AML. Frekvence výskytu mutací narůstá s progresí onemocnění MDS a nejvíce mutací bylo zjištěno u pacientů s AML.

Výsledky výzkumné činnosti byly prezentovány i na Pražském hematologickém dni, kde byly oceněny vědeckým výborem v sekci Mladí hematologové.

Laboratorní skupina Mgr. Jaroslava Poláka se zabývá nově akreditovaným vyšetřováním (SOP02 NRL pro DNA diagnostiku „Stanovení množství transkriptů genu WT1 pomocí real-time RT-PCR u pacientů s AML a MDS“). Zavedená metodika splňuje doporučení European Leukemia Net (ELN). Technický vedoucí Mgr. Jaroslav Polák je členem ELN pracovní skupiny WP12. V průběhu roku 2009 bylo vyšetřeno 973 pacientů. Relaps onemocnění byl touto metodikou předpovězen s předstihem – medián 38 dní. Problematika sledování exprese genu WT1 byla prezentována formou ústní přednášky na kongresu v Ósace v září 2009 The 4th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, 10.–11. září 2009.

Laboratorní úsek č. 2 se rovněž věnuje studiu exprese genu BAALC jakožto WHO prognostickému markéru a rovněž dle našich předběžných výsledků použitelného jako MRN markéru. Výhledově bychom rádi doplnili v ÚHKT dosud neanalyzované WHO prognostické markéry: mutovaný WT1 a AF1Q.

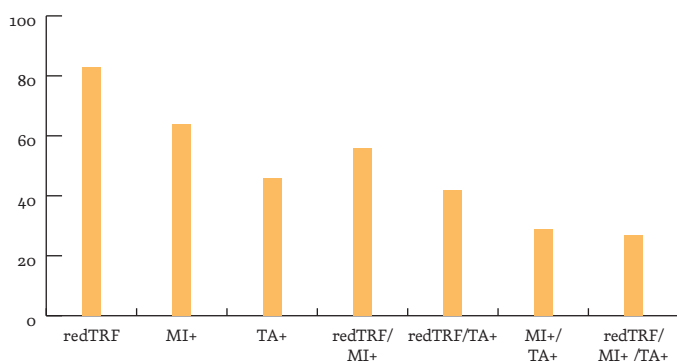
Naše skupina rovněž spolupracuje na řešení problematiky analýzy exprese jednotlivých sestřihových variant genu WT1 se skupinou Dr. Moravcové.

Ve spolupráci se skupinou Ing. Fuchse a pro účely řešení grantu IGA MZD NR8748 a IGA NS 632-3/2009 byla zavedena metodika kvantifikace mutovaného genu NPM1 pomocí RT-PCR v reálném čase. Na základě výsledků skříninku-sekvenování 380 pacientů s AML při diagnóze byli vybraní pacienti s přítomností mutace typu A (n = 14) dále sledováni zavedenou metodikou kvantifikace. Výsledky byly korelovány s expresí genu WT1 s výsledkem vysoce signifikantní korelace $r^2 = 0,84$.

Laboratorní skupina Ing. Evy Otáhalové se zabývá diagnostickým vyšetřováním genu BCR-ABL metodou multiplex RT-PCR (SOP03 NRL pro DNA diagnostiku). Jedná se o jedno z klíčových vyšetření pro potvrzení diagnózy chronické myeloidní leukémie pomocí stanovení jejího markeru – fúzního genu BCR-ABL. V roce 2009 vyšetřila 222 diagnostických vzorků. Pomocí nově akreditovaného zrychleného postupu pro statimová vyšetření bylo vyšetřeno 24 statimových vzorků. SOP03 byl udělen flexibilní rozsah akreditace typu 2, díky které bude rozšířena akreditovaná zkouška na potvrzení raritních přestaveb genu BCR-ABL.

Studium molekulární podstaty somatických mutací klonálních hematologických onemocnění

V rámci mezinárodní spolupráce s laboratoří prof. MUDr. Josefa T. Prchala na University



Porovnání všech analyzovaných dat (% pozitivních vzorků) u pacientů s MDS.

redTRF= zkrácené teloméry, MI+= pozitivní metylace genu p15^{Ink4b}, TA+= pozitivní telomerázová aktivita

Ontology	Genes
cellular process	111
metabolic process	94
biological regulation	56
regulation of biological process	53
developmental process	30
response to stimulus	30
cellular component organization	28
multicellular organismal process	28
cellular component biogenesis	23
localization	21
positive regulation of biological process	20
anatomical structure formation	19
negative regulation of biological process	19

Ontology	Genes
establishment of localization	18
death	15
immune system process	15
reproduction	11
reproductive process	11
growth	9
multi-organism process	9
biological adhesion	4
locomotion	3
cell killing	1
rhythmic process	1
viral reproduction	1

Ontology analýza se zohledněním role v biologickém procesu genů odlišně exprimovaných v erytroidních progenitorech pacientů polycythemia vera ve srovnání se zdravými dárči (den 14 in vitro expanze, převaha bazofilních erytroblastů).

of Utah v Salt Lake City, USA a řešení grantu GAUK 200 095 „Rozdílný expresní profil JAK2 V617F pozitivních klonálních hematologických onemocnění s odlišným fenotypem“ se Ing. Eva Otáhalová věnovala studiu molekulární podstaty somatických mutací klonálních hematologických onemocnění se zaměřením na myeloproliferativní onemocnění (MPD). Mononukleární buňky izolované z periferní krve pacientů s diagnózou polycythemia vera (PV), esenciální trombocytemie (ET), primární myelofibróza (PMF) a zdravých dárců byly pomocí 21denní in vitro kultury v trifázovém tekutém mediu diferencovány do erytroidní linie. Použitá in vitro metoda umožnila selekci homogenních populací jednotlivých stádií erytroidních progenitorů. Pomocí technologie Illumina byla sledována genová exprese vzorků například kultivací. Statistické analýzy v softwaru R vedly k vytipování skupiny kandidátních genů asociovaných s MPD a deregulovaných v jednotlivých stádiích erytroidní expanze. Výsledky byly ověřeny pomocí RT-PCR v reálném čase.

Laboratoř pro studium chronické myeloidní leukémie (vedoucí laboratoře: RNDr. Jana Moravcová, CSc.) se zabývá výzkumem chronické myeloidní leukémie CML s přednostním zaměřením na klinické aplikace, tj. hledání prognostických markerů v diagnóze i průběhu onemocnění, případně hledání nových terapeutických cílů. Laboratoř současně provádí akreditovanou vyšetření stavu hladiny transkriptů BCR-ABL a detekci mutací v kinázové doméně BCR-ABL u pacientů s CML (SOPo4 NRL pro DNA diagnostiku ÚHKT) V roce 2009 laboratoř provedla v akreditovaném režimu vyšetření hladiny transkriptů BCR-ABL u 1 139 vzorků pacientů s CML, což

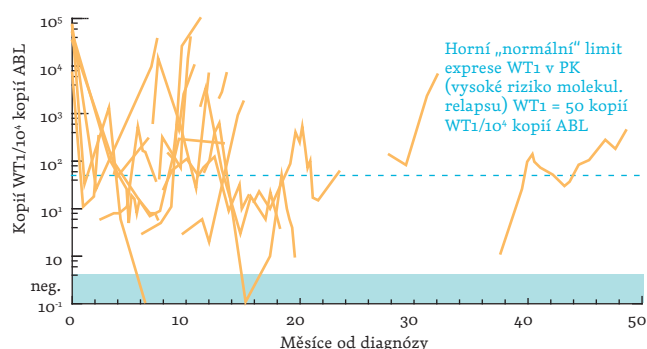
představuje 5% navýšení proti roku 2008. U 53 pacientů bylo provedeno vyšetření na přítomnost mutací.

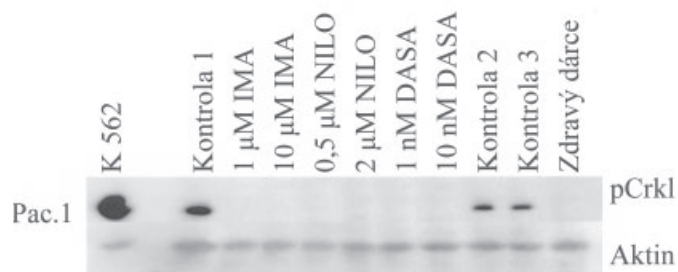
Ve výzkumné oblasti se tato skupina věnovala v rámci projektu GAČR GP301/08/P154 tématu „Studium diverzity exprese miRNA u chronické myeloidní leukémie“, kde byla sledována hladina microRNAs vybraných na základě microarray analýz provedených v předchozím roce a jejich vybraných targetů na souboru 116 vzorků celkových leukocytů periferní krve pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) v různých fázích onemocnění a s různou odpovědí na léčbu. Nejzajímavější je miR-150, jejíž hladina byla snížena u pacientů v diagnóze, akcelerované fázi a blastické krizi a u 68 % pacientů s počínajícím hematologickým relapsem. Aberantní exprese této miRNA byla již publikována v souvislosti s dalšími hematologickými malignitami. Hladina mRNA onkogenů Myb a MycN, přičemž Myb je prokázán a MycN je potenciální target miR-150, byla u těchto skupin pacientů signifikantně zvýšená dávající zrcadlový obraz expresních profilů k miR-150. Dalšími zajímavými potenciálními cíli miR-150 jsou významné transkripční faktory uplatňující

se v hematopoéze; PU.1 a Egr2. Zajímavé je, že u obou genů byla u výše zmíněných skupin pacientů zjištěna snížená exprese, obdobně jako u miR-150. Jejich regulace tak patrně bude zahrnovat ještě další molekuly. Hladiny miR-155 a miR-17-92 klastru, které byly v této souvislosti publikovány u AML, inverzně korelovaly s hladinami PU.1 a EGR-2 v blastické krizi. Výsledky práce byly prezentovány na mezinárodním sympoziu *The 14th Congress of the European Hematology Association, Berlin, Germany*.

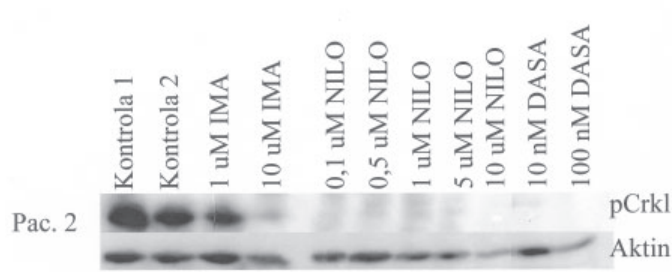
Dalším výzkumným tématem této skupiny je exprese izoforem WT1, která je studována v rámci výzkumného záměru ÚHKT. Byla sledována hladina 4 hlavních sestřihových izoforem WT1 na úrovni transkriptu u 13 pacientů s chronickou myeloidní leukémií v diagnóze a ve spolupráci s Mgr. Polákem a Dr. Schwarzem (ÚHKT) u 41 pacientů v diagnóze s akutní myeloidní leukémií. Bylo zjištěno, že hladina sestřihové varianty +5/-KTS se vyskytuje většinou u CML i AML pacientů v diagnóze. Zdá se, že hladina transkriptu sestřihové varianty +5/+KTS a poměrové zastoupení +/-KTS odlišuje vysoce rizikovou skupinu AML pacientů v diagnóze od skupin se střední a nízkou rizikovostí (hodnocení rizik dle cytogenetického →

Expresí genu WT1 u pacientů s AML – špatná odpověď na léčbu.





Testování citlivosti leukocytů pacientů k imatinibu, nilotinibu a dasatinibu – aktivita Bcr-Abl kinázy je sledovaná fosforylací proteinu CrkL. Kontrola – leukocyty bez přídavku inhibitoru; IMA – imatinib; Nilo – nilotinib; Dasa – dasatinib, K562 – leukemická buněčná linie.



Pacient č. 1 – pacient v době diagnózy – citlivost byla zjištěna ke všem sledovaným inhibitorům. Pacient č. 2 – pacient neodpovídající na léčbu imatinibem – citlivost byla zjištěna pouze v případě nilotinibu a dasatinibu, na imatinib buňky reagují až při jeho vysoké koncentraci.

vyšetření). V rámci společného grantového projektu s pracovištěm FN Motol a z LF UK je studie rozšiřována na dětské pacienty. Výsledky byly prezentovány na dvou mezinárodních konferencích *the 51st Annual Meeting of American Society of Hematology, New Orleans, USA* a *The 4th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Osaka, Japan*. Byly také navrženy primery a TaqMan próba, kvantifikující zkrácenou izoformu sWT1 na úrovni transkriptu (AWT1). Reakce byla optimalizována a byly provedeny testy specifity a citlivosti. Předběžná data ukazují AWT1 variantu u AML i CML pacientů spíše jako minoritní.

V roce 2009 byla dále studována *exprese influxových a efluxových genů (hOCT1 a ABCB1)*, kdy byla provedena optimalizace analýzy real-time PCR pro kvantifikaci transkriptu genů hOCT1 a ABCB1, které kódují influxní a efluxní transportery imatinibu, přičemž se předpokládá, že jejich změněná exprese ovlivňuje biologickou dostupnost imatinibu v průběhu léčby CML. Iniciálně bylo vyšetřeno 76 pacientů s CML s různou odpovědí na léčbu a výsledky byly porovnány s daty zdravé populace (vyšetřeno 11 zdravých dárců). Jako výchozí materiál byly použity celkové leukocyty. Preliminární data poukazují na vysokou variabilitu hladin transkriptů obou genů mezi zdravými dárce a mezi pacienty se stejnou odpovědí na léčbu. Zaměříme se proto na sledování

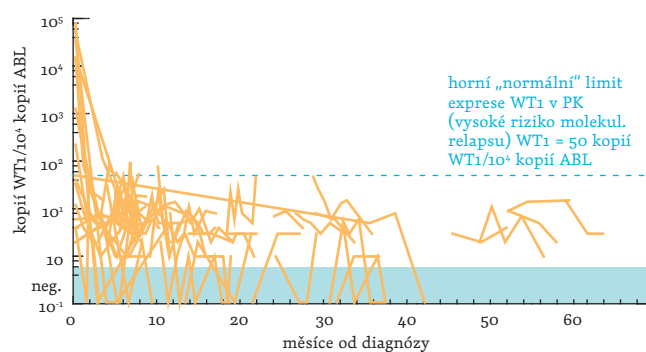
genové exprese v separovaných buněčných subpopulacích.

V návaznosti na výsledky grantového projektu IGA MZ ČR NR/8758-3 (2006–2008) zabývajících se vznikem rezistence k imatinibu byla sledována *incidence mutací v KD BCR-ABL u pacientů s CML v kompletní cytogenetické remisi*. Studie probíhala ve spolupráci s IHOK FN Brno a zaměřila se na pacienty, u kterých došlo k zastavení poklesu hladiny transkriptu BCR-ABL a kteří exprimovali plató BCR-ABL – v minimálně 3 po sobě jdoucích odběrech po dobu minimálně 6–9 měsíců. Mutace byly detekovány u 27 % pacientů, přičemž u poloviny byl následně zjištěn relaps onemocnění. Výsledky poukazují na to, že zastavení poklesu hladiny transkriptu BCR-ABL a vykazání plató je časným a univerzálním kritériem pro zahájení detekce mutací. Výsledky byly publikovány v časopise *Experimental Hematology* a prezentovány na mezinárodní konferenci *the 51st Annual Meeting of American Society of Hematology, New Orleans, USA*, dále pak na mezinárodní konferenci *EICML '09 Meeting Salzburg, Austria a XXIII. Olomouckých hematologických dnech*, na kterých práce získala ocenění za nejlepší přednášku v oblasti laboratorního výzkumu.

V roce 2009 probíhala *validace analýzy HRM (High Resolution Melting)*, kterou laboratoř již dříve vyvinula pro iniciační screening mutací v kinázové doméně (KD) BCR-ABL u pacientů

s CML a která má sloužit jako vyšetřovací metoda v klinické praxi. Byla testována schopnost detekovat 16 různých mutací nacházejících se v různých částech cDNA KD BCR-ABL. Detekce 9 mutací pomocí HRM souhlasila s detekcí pomocí přímého sekvenování. Tři mutace se 100% zastoupením ve vzorku byly detekovány teprve po přidání vzorku s divokým typem sekvence do reakce předcházející HRM pro tvorbu heteroduplexů. HRM poskytovalo nejasné výsledky u 4 typů mutací. Pro odstranění těchto nejasností byly navrženy nové primery, které jsou v současnosti testovány. Bylo zjištěno, že detekce mutací pomocí HRM je ovlivňována typem mutace, její pozicí v cDNA, sekvenčním okolím, složením reakční směsi a použitou interkalační barvou. HRM však detekuje mutace časněji než přímé sekvenování, jak ukázaly retrospektivní analýzy 6 mutací v průběhu follow-up pacientů. Výsledky potvrzují, že HRM je pomocný a ekonomický nástroj pro prescreening mutací nebo pro potvrzení dat sekvenční analýzy. Výsledky byly prezentovány na mezinárodní konferenci *51st Annual Meeting of American Society of Hematology, New Orleans, USA*.

Laboratoř se také věnuje *sledování aktivity Bcr-Abl kinázy a testuje citlivost leukocytů pacientů k léčbě inhibitory tyrozinových kináz*. V roce 2009 bylo zahájeno testování nového metodického přístupu detekce fosforylace adaptorového proteinu Crkl (fosforylace úměrná aktivitě fuzního proteinu Bcr-Abl) s použitím přístroje Bioanalyser 2100 (Agilent Technologies). Bioanalyser 2100 je tzv. Lab-on-Chip technologie umožňující základní aplikace průtokové cytometrie. Metoda by měla v budoucnu nahradit laboratorně a časově náročnou metodu Western blot. Citlivost leukocytů pacientů s CML je testována k léčebně užívaným inhibitorům tyrozin kináz (imatinib, dasatinib, nilotinib). Metoda je založena na in vitro kultivaci patientských leukocytů s danými inhibitory a následném sledování zbytkové fosforylace CrkL a Src kináz metodou Western blot.

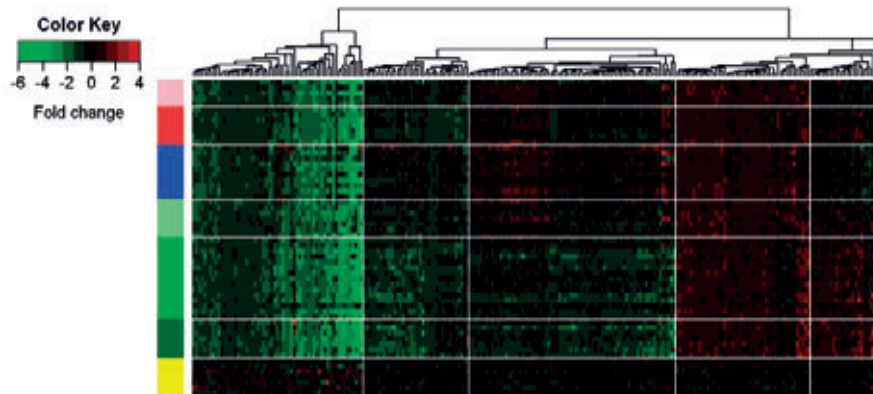


Exprese genu WT1 u pacientů s AML – dobrá odpověď na léčbu.

Laboratorní skupina Mgr. Moniky Belíčkové, zabývající se stanovením klonality (SOP o6 NRL pro DNA diagnostiku), zpracovala v roce 2009 83 primárních vzorků od 77 pacientů.

V rámci svých výzkumných aktivit pokračovala na řešení grantu IGA MZD „Význam studia expresního profilu u nemocných s myelodysplastickým syndromem“. Z kostní dřeně pacientů v různém stádiu MDS byly izolovány CD34+ progenitorové buňky, u nichž byl stanoven expresní profil pomocí mikročipů Human-Ref-8 v2 Expression BeadChips (Illumina). Porovnáním expresních profilů MDS pacientů a zdravých dárců bylo na základě statistických analýz detekováno 830 genů s rozdílnou expresí. Mezi geny s nejvíce utlumenou expresí patřily geny, zapojující se ve vývoji a aktivaci B lymfocytů (např. *VPREB1*, *VPREB3*, *LEF1*, *IRF8*), tumor-supresorový gen cytoglobin (*CYGB*), gen *BHLHB2*, který hraje roli při diferenciaci, proliferaci, apoptóze a odpovědi na hypoxii. Jako geny s nejvíce zvýšenou expresí byly detekovány geny *HBG2*, *HBG1*, které tvoří fetální hemoglobin, dále gen *CYBRD1* hraje roli při vstřebávání Fe, *HSPA1B* gen, který je součástí rodiny genů teplotního šoku, *ANGPT* zapojený v angiogenezi a gen *MYC*, který se zapojuje v buněčném cyklu a apoptóze. Dále jsme porovnávali expresní profily mezi jednotlivými MDS skupinami dle WHO klasifikace. Na základě statistického hodnocení jsme detekovali 246 genů s rozdílnou expresí, viz obr. 1. Výsledky výzkumné činnosti byly prezentované na mezinárodních konferencích 51st Annual Meeting of American Society of Hematology, New Orleans, USA, 14th Congress of the European Hematology Association, Berlin, Germany, 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndrome, Patras, Greece.

V rámci řešení výzkumného záměru ÚHKTY byly pomocí mikročipů Agilent Human 1A (V2) (Agilent) vyšetřeny a porovnány expresní



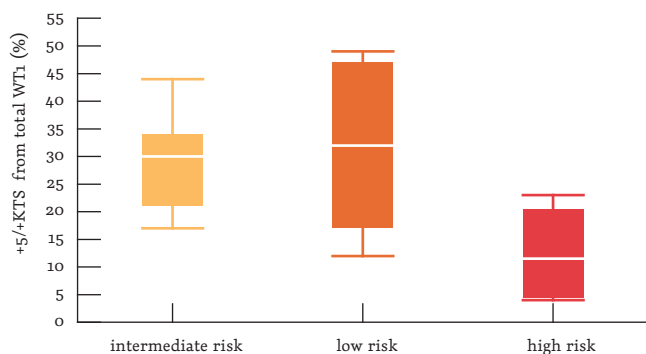
Heatmapa shlukování významných genů: řádky představují pacienty seřazené dle jednotlivého typu MDS a sloupce jednotlivé geny.

profily CD34+ buněk 4 pacientů s časnou, 4 pacientů s pozdní formou MDS a 2 zdravých dárců. Na základě statistických analýz bylo vybráno 286 genů jako signifikantně odlišně exprimovaných mezi výše uvednými dvěma skupinami pacientů. Shlukovací analýza na tomto souboru významných genů jednoznačně odlišila časně a pokročilé formy MDS. Veškeré závěry experimentu byly publikovány v časopise *Neoplasma*.

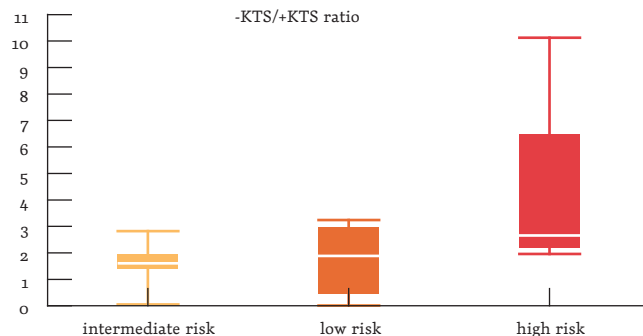
Dále se skupina podílí na řešení grantu IGA MZD „Stanovení SNP a DNA methylačního profilu u pacientů s myelodysplastickým syndromem pomocí mikročipové technologie“. Během prvního roku grantu byly zavedeny nové metodické postupy.

Výhradně výzkumnou činností se na oddělení molekulární genetiky zabývá **Laboratoř biočipových technologií** (vedoucí RNDr. Hana Bručková-Votavová, PhD.). Její činností je řešení grantových projektů studujících genovou expresi microRNA (miRNA) molekul, které se významně podílejí na regulaci hematopoézy (*Endogenní post-transkripční regulace genové funkce prostřednictvím miRNA a Význam deregulace miRNA u myelodysplastického syndromu a dalších hematologických malignit*).

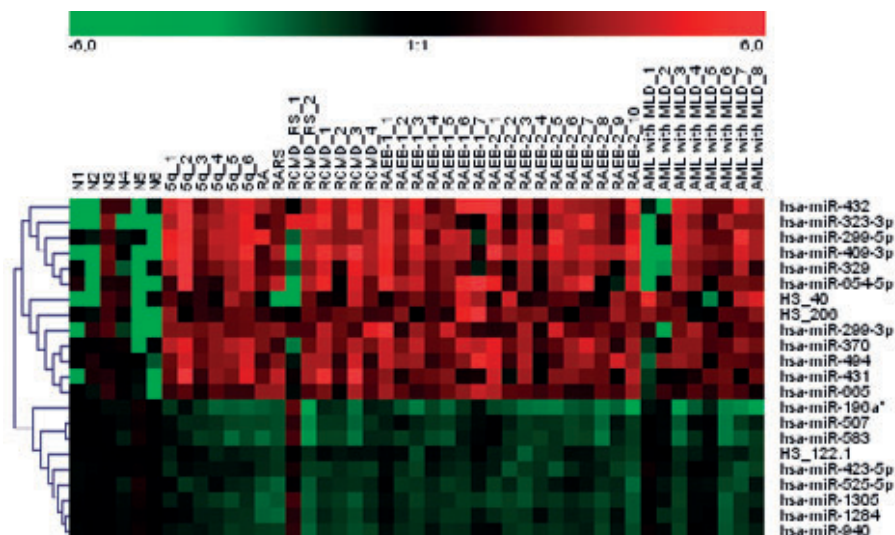
Pomocí microarrays byly v předešlých letech stanoveny expresní profily miRNA v jednotlivých vývojových řadách hematopoézy a určeny miRNAs specifické pro tyto řady jak u zdravých dárců, tak i pacientů s různými typy hematologických onemocnění. V současnosti je studována exprese těchto regulačních molekul u myelodysplastického syndromu (MDS). MDS představuje heterogenní skupinu klonálních onemocnění postihujících hematopoetické kmenové buňky v kostní dřeni. Jedním ze subtypů MDS je 5q – syndrom charakterizovaný delecí části dlouhého raménka chromozomu. Tento syndrom se výrazně liší od ostatních MDS subtypů nejen na klinické, ale i molekulární úrovni. Několik studií již ukázalo, že deregulace miRNA může přispívat ke klonální expanzi buněk, a proto byla sledována exprese miRNA v CD34+ buňkách izolovaných z kostní dřeně pacientů s 5q – syndromem. Expresní profily miRNA byly stanoveny pomocí TaqMan Human MicroRNA Arrays v. 1.0 (Applied Biosystems) s 365 sondami. Komparativní analýza (pacienti versus zdraví dárce) odhalila zvýšenou expresi miR-299-5p, miR-379, miR-411, miR-380-5p, které jsou klastrovány na chromozomu 14q32. Zvýšenou expresi dále vykazovaly miR-34a a miR-223. miR-34a je proapoptotický transkripční cíl →



Hladina +5/+KTS varianty WT1 ve vzorcích nově diagnostikovaných AML pacientů s různou prognózou.



Poměr -KTS/+KTS ve vzorcích nově diagnostikovaných AML pacientů s různou prognózou. Rizikové skupiny AML byly stanoveny na základě cytogenetických vyšetření (WHO klasifikace).



Odlišně exprimované miRNA u pacientů s MDS nebo AML s multilineární displázií versus u zdravých dárců ($P < 0,001$).

p53 a může tak hrát roli ve zvýšené apoptóze progenitorů popsané u MDS pacientů s nízkým rizikem dle IPSS. miR-223 se uplatňuje v regulaci proliferace progenitorů myeloidní řady, což může souviset s narušenou diferenciací hematopoetických buněk u MDS. V současnosti je rozšiřován soubor pacientů i o nemocné s dalšími subtypy MDS a využíváme pro tyto analýzy Illumina miRNA expression profiling arrays (Illumina), které dokáží detekovat expresi 1146 miRNA najednou

Ve spolupráci s Ústavem experimentální medicíny AV ČR se podílíme na řešení projektu *Využití toxikogenomiky při studiu mechanismů působení cizorodých látek v životním prostředí na lidské zdraví*, který se zabývá objasněním mechanismů negativních účinků expozice člověka cizorodým látkám v životním prostředí se zvláštním zřetelem na atmosférické polutanty a tabákový kouř. Změny v genové expresi studujeme v placentě a leukocytech matek exponovaných znečištěnému ovzduší a tabákovému kouři v průběhu těhotenství a v leukocytech pupečníkové krve. Jako vzorek populace žijící v životním prostředí se silnou expozicí škodlivým látkám v ovzduší nám slouží ženy rodící v Praze, jako kontroly s nízkou expozicí sbíráme vzorky od matek v Českých Budějovicích. Celkem byly odebrány

vzorky z 200 porodů (100 Praha/100 České Budějovice, 3 tkáně: celkem tedy 600 vzorků). V současné době probíhá jejich expresní analýza pomocí Illumina Human Ref8 Expression Beadchips s 20 589 genovými sondami. Komparativní analýza genové exprese vzorků placent získaných od kuřáček ($N=12$) versus nekuřáček ($N=64$) odhalila rozdílnou expresi 241 genů ($P < 0,05$). U kuřáček byla detekována zvýšená produkce genů spjatých s odbouřováním xenobiotik (*CYP1A1*, *CYP1B1*, *CYP2A5*, *COX412*), dále kolagenů (*COL6A3*, *COL1A1*, *COL1A2*), koagulačních (*F5*, *F13A1*) a trombotických faktorů (*CD36*, *ADAMTS9*, *GAS6*). Deregulace *CYP1A1*, *CYP1B1*, *GAS6* a *AKR1C3* byla popsána i v dalších toxikogenomických studiích u jiných typů tkání, a lze je tedy považovat za obecné markery expozice škodlivým látkám. Funkční anotace deregulovaných genů odhalila buněčné procesy a signální dráhy ovlivněné cigaretovým kouřem (kromě výše zmíněných skupin genů mělo kouření vliv např. také na extracelulární matrix, vaskularizaci), přičemž právě deregulace těchto drah může indukovat mechanismy způsobující placentární abnormality u kuřáček.

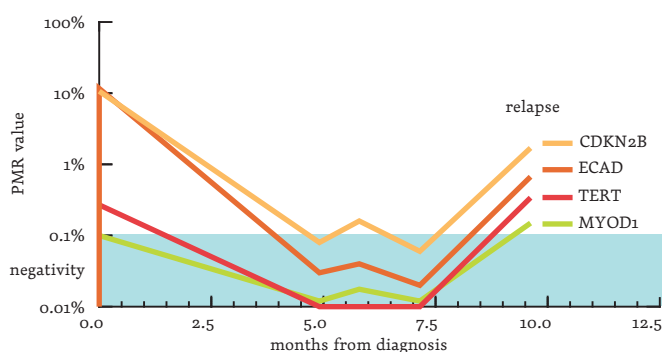
Další ryze výzkumnou skupinou na oddělení je **Laboratoř exprese genů** (vedoucí: RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.), která v roce

2009 v rámci řešení grantu IGA (Vyhledávání a testování nových molekulárních markerů reziduální nemoci u pacientů s akutní myeloidní leukémií) a ústavního výzkumného záměru získala tyto výsledky: Ve vzorcích periferní krve pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML) a myelodysplastickým syndromem (MDS) byla sledována hladina metylace 10 tumor supresorových genů (*CDKN2B*, *CALCA*, *ECAD*, *ESR1*, *DAPK1*, *MYOD1*, *SOCS1*, *ICAM1*, *TIMP3* a *TERT*) pomocí nově zavedené metody kvantitativní real-time PCR – tzv. MethyLight PCR. Výsledky ukázaly na korelaci průběhu onemocnění s hladinou metylace. Dochází ke znovuoobjevení aberantní metylace u pacientů s AML v relapsu onemocnění – viz obr.

Z dosavadních výsledků vyplývá následující frekvence výskytu metylací u pacientů AML při diagnóze *CDKN2B* 71 %; *CALCA* 63 %; *ECAD* 50 %; *MYOD1* 33 %; *SOCS1* 22 %; *ESR1* 15 %; *TERT* 11 %; *TIMP3*, *ICAM1* a *DAPK1* pod 10 %. Stupně metylace dosahovaly nejvyšších hladin u genů *CDKN2B*, *CALCA* a *ECAD*, u zbylých genů se, až na výjimky, pohybovaly v rozmezí slabé positivity. U pacientů MDS progredujících do AML byl pozorován nárůst hladin metylace, což je v souladu s nejnovějšími poznatky, že metylace DNA je jedním z hlavních mechanismů progresu MDS do AML. Výsledky skupiny poukazují na možnost využití sledování hladin metylace jako molekulárního markeru minimální reziduální nemoci u pacientů s MDS a AML. To by mohlo být obzvláště přínosné pro sledování pacientů AML a MDS v demetylační léčbě.

Pro monitorování reziduální nemoci (MRN) v buňkách pacientů s AML metodou kvantitativního stanovení exprese genu *Wt-1* byla stanovena horní hladina exprese tohoto genu u pacientů, kteří byli v permanentní kompletní remisi. Tato hladina nebyla u žádného z pacientů v remisi překročena. Na druhé straně, tato hladina byla překročena u pacientů, kteří později relabovali. Překročení této hladiny exprese genu *Wt-1* má tak jasný prognostický význam pro tyto pacienty a nárůst hladiny exprese genu *Wt-1* predikuje relaps v předstihu několika týdnů až měsíců (median 38 dnů). Sedm pacientů s nízkou hladinou exprese genu *Wt-1* bylo monitorováno pomocí vybraných genů pro antigeny spojených s leukémiemi (LAA). Byla nalezena korelace exprese těchto genů s klinickým průběhem nemoci.

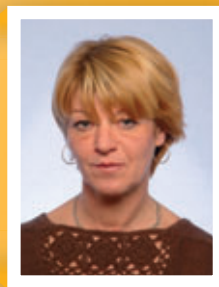
Výsledky monitorování 15 pacientů AML pomocí mutací typu A v genu *NPM1* ukázalo velmi dobrou korelaci mezi výskytem mutací a prognózou onemocnění. Výskyt mutace a její nárůst u pacientů předcházela relapsu nemoci. ■



Znovoobjevení hypermetylace u genů CDKN2B, ECAD, TERT and MYOD1 v relapsu onemocnění pacienta AML.

Oddělení buněčné fyziologie

Počet zaměstnanců:	19
Lékaři:	1
VŠ ostatní:	13
Laboranti:	4
Ostatní personál:	1



Vedoucí oddělení:
RNDr. Ludmila
Doležalová, CSc.



Zástupce vedoucího:
Doc. MUDr. Daniel Ujoral, CSc.

Výzkumná činnost oddělení je soustředěna na studium molekulárních mechanismů, které se uplatňují v regulaci krvetvorby a při vzniku a vývoji krevních chorob. Oddělení buněčné fyziologie participuje na činnosti Centra experimentální hematologie (CEH), které sdružuje pracoviště Ústavu hematologie a krevní transfuze s Ústavem patologické fyziologie 1. LF UK v Praze. CEH vzniklo za finanční podpory programu „Centra základního výzkumu“ MŠMT ČR.

Na oddělení jsou prováděna **speciální vyšetření pro klinické účely**, Za použití metodiky kultivace buněk *in vitro* zjišťujeme, zda krvetvorná tkáň obsahuje dostatečné množství progenitorových buněk, z nichž se tvoří zralé krvinky.

V roce 2010 byla výzkumná aktivita zaměřena na následující tématické okruhy

- Vrozené defekty erytropoezy.
- Regulace krvetvorby, analýza molekulárních mechanismů leukemogeneze.
- Studium imunologické reaktivity u pacientů s onemocněním MDS.
- Proteomické přístupy v hematologii.
- Studium protinádorového působení látek biologické povahy.

Objasnění molekulární podstaty vzácných fenotypů erytrocytů a některých vrozených poruch erytropoezy

Diamondova-Blackfanova anémie (DBA) je vrozené onemocnění, které se obvykle projevuje defektem erytropoezy během prvního roku života. U 40 % pacientů bývají přítomné také nejružnější fyzické anomálie. Příčinou této vrozené poruchy erytropoezy jsou mutace v genech pro ribozomální proteiny (RP). Doposud byly identifikovány mutace v genech pro RPS17, RPS19 a RPS24, které jsou součástí malé ribozomální podjednotky, a RPL5, RPL11 a RPL35a, které jsou součástí

velké ribozomální podjednotky. Souhrnně jsou mutace v těchto genech zodpovědné za 50 % případů DBA, u ostatních pacientů je příčina prozatím neznámá, ale předpokládá se, že se bude opět jednat o geny pro RP nebo proteiny spojené s translací.

Náš výzkum se zaměřuje na pochopení principů vzniku DBA a návrhu cílené léčby pro pacienty. Výsledky též přispějí k pochopení obecnějších aspektů erytropoezy, kde, jak se zdá, bude úroveň translace hrát významnou úlohu.

Pro dosažení výsledků byly definovány následující specifické cíle:

- význam proteinu PRMT3 při vzniku DBA,
- analýza známých genů u pacientů z českého i zahraničních registrů DBA.

Průběžné výsledky

Význam proteinu PRMT3 pro patofyziologii DBA

Předpokládá se, že vznik DBA souvisí s nedostatečnou úrovní translace, která může být způsobena jak mutacemi v RP, tak hypoteticky i v proteinech, které s translačním aparátem souvisejí. Na základě předchozích výsledků jsme se již zabývali proteinem arginin metyl transferasou 3 (PRMT3), u které bylo zjištěno, že prostřednictvím metylace RPS2 reguluje poměr malých a velkých ribozomálních podjednotek, a tím i možnou výkonnost celého translačního aparátu. U jednoho pacienta, u kterého prozatím nebyly zjištěny žádné mutace v RP, jsme našli mutaci vedoucí k záměně velmi konzervovaného tyrozinu 87 za cystein a tuto substituci jsme dále studovali. Naše současné výsledky naznačují, že je tato aminokyselina naprosto nezbytná pro správnou funkci PRMT3, neboť se podílí na vazbě ke svému fyziologickému substrátu, RPS2. Protože fosforylace na tyrozinech patří mezi nejdůležitější buněčné regulační mechanismy, zaměřili jsme se i na studium vlivu této mutace na fosforylaci. Pomocí analýzy na hmotnostním spektrometru jsme zjistili,

že proti očekávání není tento tyrozin fosforylován, ale za regulaci PRMT3 budou patrně odpovídat seriny v pozicích 25 a 27, které byly oba současně fosforylovány.

Rodinné vyšetření přítomnosti této mutace však nepotvrdilo její kauzálitu pro vznik DBA, nicméně je velmi pravděpodobné, že může ovlivňovat průběh onemocnění, jehož příčinou je právě deregulovaná translace.

Náš další výzkum v této oblasti cílen na studium možné úlohy serinů 25 a 27 při regulaci funkce PRMT3 a případné dopady identifikované mutace na průběh onemocnění..

Analýza známých genů u pacientů z českého i zahraničních registrů DBA

I v letošním roce jsme ve spolupráci s českými i zahraničními hematology prováděli genetickou analýzu u pacientů s DBA, a to jak u nově diagnostikovaných, tak u pacientů zařazených v registrech. Podařilo se nám identifikovat dvě nové unikátní mutace, a to heterozygotní mutaci c.58G>C v exonu 2 u genu pro RPS19, která vede k substituci velmi konzervovaného alaninu 20 za prolin; a heterozygotní delecii pěti nukleotidů v genu pro RPL5 (c.126_130delTAAAT), která vede ke ztrátě exprese proteinu z mutované alely z důvodu posunu čtecího rámce. Znalost této mutace nám rovněž umožnila provést rodinnou analýzu při hledání potenciálního dárce pro transplantaci kostní dřeně. V souhrnu lze tedy říci, že jsme doposud objasnili genetickou podstatu onemocnění již u 60 % českých pacientů (55 % rodin) a na objasnění příčiny u zbylých pacientů budeme i nadále pracovat.

Regulace krvetvorby, analýza molekulárních mechanismů leukemogeneze

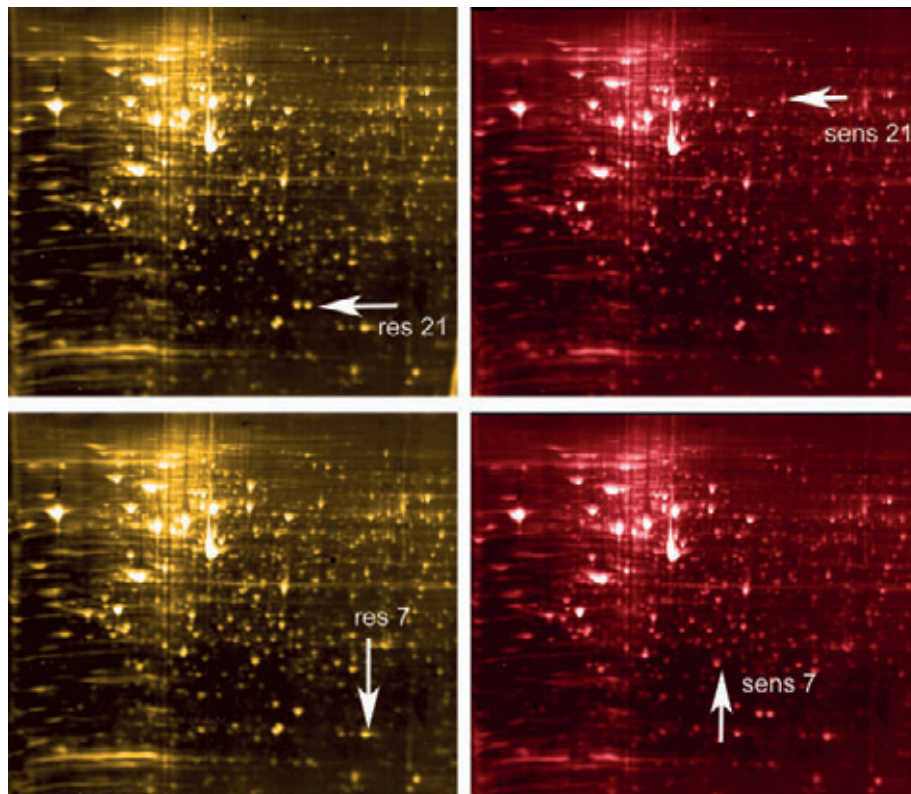
Mezi kandidátní geny, jejichž mutace by mohly mít spojitost s průběhem onemocnění AML, patří gen CEBPA, kódující transkripční faktor „CCAAT/enhancer-binding protein“ (C/EBP) alfa.

V rámci studia mutací transkripčního faktoru „CCAAT/enhancer-binding protein“ (C/EBP) alfa jsme objevili novou třídu delecí u genu CCAAT/enhancer binding protein alfa (CEBPA) s přímým opakováním nejméně dvou párů bazí, které se vyskytovaly u pacientů s akutní myeloidní leukémií, myelodysplastickým syndromem, neHodgkinským lymfomem i u zdravých jedinců. Tato třída delecí se vyznačuje ztrátou jednoho tohoto opakování bazí na jednom konci deletované sekvence. Mechanismem pro delecii mezi dvěma opakováními bazí mohou být rekombinační děje přilehlých DNA sekvencí v reparačním procesu.

Pro klinické účely jsme prováděli analýzu prognostických faktorů u pacientů s AML s normálním karyotypem. Mezi sledované faktory patří mutace v genu pro NPM1 (nukleofosmin), mutace v genu CEBPA a částečné tandemové duplikace genu MLL. Prováděli jsme rovněž vyšetření hladiny mRNA pro ERG (ETS-related gene), mRNA pro MN1 („Meningioma 1“) a mRNA pro Evi 1 [„ecotropic virus integration site 1“]. U pacientů s onemocněním MDS jsme sledovali výskyt mutací v genu CEBPA a analyzovali hladinu mRNA pro Evi1.

Novou léčebnou strategií v léčbě leukémií je využití látek, zasahujících do nitrobuňkového metabolismu (princip označovaný jako „cílená“ – „targeted“ terapie). Zástupcem této skupiny látek je bortezomib, inhibitor proteasomů. Studovali jsme vliv bortezomibu na apoptózu a buněčný cyklus u lidských buněčných linií akutní myeloidní leukémie KASUMI-1, ML-1, ML-2 a CTV-1. Bortezomib byl účinný inhibitor syntézy DNA u všech 4 linií leukemických buněk a indukoval apoptózu v KASUMI-1, ML-2 a CTV-1 buňkách, nikoli však v buňkách ML-1. Inhibice proteasomů jako monoterapie a v kombinaci s inhibitory histonacetyláz a konvenčními terapiemi je slibná, neboť maligní buňky jsou vůči této terapii citlivější než normální hematopoetické buňky.

Prvním hematologickým onemocněním spojeným se specifickou chromozomální delecí byl 5q – myelodysplastický syndrom. Specifická CDR („common deleted region“) na chromozomu 5q31 je typická pro tento 5q – MDS syndrom. Charakteristickým rysem pro pacienty s 5q – MDS syndromem je makrocytární anémie, v laboratorním obraze je normální nebo zvýšený počet destiček, chudá erytropoeza, typický obraz megakaryocytů, relativně benigní průběh a nižší výskyt pozdní transformace do akutní leukémie než u jiných typů MDS (5–16 % u 5q-syndromu proti 30–45 % u jiných typů



Obr. č. 1: Proteomická analýza rezistentních leukemických buněk.

MDS). Megakaryocyty a erytroidní buňky sdílejí společnou progenitorovou buňku MEP, pro jejíž diferenciaci jsou důležité i dva transkripční faktory Fli-1 („Friend leukemia virus integration 1“) a EKLf („Krüppel-like factor“). EKLf má úlohu v diferenciaci do erytroidní řady a Fli-1 v diferenciaci na megakaryocyty. Zabývali jsme se stanovením hladiny mRNA pro Fli-1 a mRNA pro EKLf v celkové RNA mononukleárních buněk z kostní dřeně a periferie u 5q – syndromu MDS ve srovnání s ostatními MDS. Potvrdili jsme antagonismus obou faktorů, zvýšenou hladinu Fli-1 mRNA, a naopak sníženou hladinu EKLf mRNA u 5q-MDS syndromu.

Studium imunologické reaktivity u pacientů s onemocněním MDS

Ve spolupráci s 1.LF UK jsme se věnovali studiu imunologické reaktivity u pacientů s onemocněním MDS. S cílem přispět k objasnění mechanismu účinku imunosupresivní terapie při léčbě MDS jsme se snažili o přímý průkaz výskytu autoreraktivních cytotoxických T lymfocytů u pacientů s MDS. Za použití cytotoxického testu jsme sledovali výskyt autoreaktivních cytotoxických T lymfocytů namířených proti autologním mononukleárním buňkám kostní dřeně, u pacientů s MDS jsme však cytotoxickým testem předpokládaný zvýšený výskyt autoagresivních T lymfocytů neprokázali.

Proto jsme se v další části studie zaměřili u pacientů s MDS na schopnost cytotoxické odpovědi v alogenním systému a sledovali

cytotoxickým testem tvorbu T lymfocytů namířených proti alogenním buňkám. Schopnost alogenní cytotoxické odpovědi byla snížena u 69 % pacientů, častěji u pacientů s refrakterní anémií (RA) v porovnání s pacienty s refrakterní anémií se zmnožením prstenčitých sideroblastů (RARS). U všech testovaných nemocných však byla v jednosměrné smíšené lymfocytární reakci (MLR) zjištěna normální proliferační odpověď na přítomnost alogenního stimulu.

Proteomické přístupy v hematologii

Proteomika je moderní nástroj biologického studia tkání, tělních tekutin či buněk. Proteomika usiluje o kompletní kvantitativní i kvalitativní charakterizaci všech bílkovin přítomných v daném čase ve zkoumané tkáni. Využívá k tomu citlivých separačních elektroforetických a chromatografických metod v kombinaci s hmotnostní spektrometrií. Naš laboratoř dlouhodobě využívá právě moderní citlivé proteomické metody k popisu a pochopení fyziologických i patologických procesů souvisejících s krvetvorbou.

Úloha hepcidinu ve zdraví a nemoci. Identifikace sérových přenašečů hepcidinu

Řada krevních chorob je spojena s poruchami příjmu, zpracování nebo ukládání železa v organismu. Železo, pro všechny formy života naprosto nezbytný prvek, je funkční součástí mnoha enzymů v širokém spektru metabolických drah. Jako součást

hemoglobinu zabezpečuje železo přenos kyslíku z vdechovaného vzduchu do tkání. Železo je známo svou schopností produkovat volné radikály – reaktivní látky schopné poškodit různé buněčné komponenty. Volné radikály jsou pak spouštěcím nebo rizikovým faktorem vzniku mnoha chorob. Pochopení mechanismů absorpce kovů je důležité pro vývoj nových léků a léčebných postupů pro ovlivnění řady chorob, například některých anémií či hemochromatózy – dědičného přetížení železem.

Přijem, ukládání a recyklace tohoto důležitého kovu je těle řízena nedávno objeveným peptidem hepcidinem. Pro pochopení molekulárních mechanismů fungování hepcidinu a také pro vývoj metod pro citlivé stanovení hladin tohoto peptidu v tělních tekutinách je nezbytné identifikovat jeho nosičové bílkoviny.

Za použití moderních proteomických a biochemických technik jsme v letech 2008–2009 identifikovali hlavní přenašeč hormonu hepcidinu v lidském séru – α -2-makroglobulin a charakterizovali jsme stabilitu a další vlastnosti komplexu tohoto proteinu s hepcidinem. Prokázali jsme allostेरickou regulaci vazby – jev, kdy navázání každé ze čtyř molekul hepcidinu na α -2-makroglobulin ovlivňuje charakter a sílu vazby dalších molekul hepcidinu. Jev allostेरické aktivace byl dosud v biochemii a enzymologii vždy popsán jen u klíčových regulačních mechanismů; předpokládáme proto, že komplex α -2-makroglobulin bude hrát důležitou roli v ovlivnění cílových buněk hepcidinem. Tyto nové informace jsou zcela zásadní nejen pro pochopení biologické role hepcidinu, ale také pro vývoj dosud neexistujících metod pro rutinní stanovení hepcidinu v tělních tekutinách.

Právě na vývoji takové metody založené na hmotnostní spektrometrii se naše laboratoř podílí v rámci výzkumných úkolů Centra experimentální hematologie.

Kromě biochemických či proteomických studií se snažíme ověřit možný terapeutický potenciál hepcidinu a jeho antagonistů pro léčbu onemocnění souvisejících s metabolismem železa.

Proteomické studium rezistence leukemických buněk k cytostatikům. Identifikace molekulárních cílů pro nové terapeutické přístupy

Citlivé proteomické metody úspěšně využíváme také ke studiu molekulárních charakteristik leukemických buněk. Jednou

z hlavních příčin neúspěchu protinádorové terapie je rezistence na jinak účinnou terapii. Naším hlavním cílem je nalézt klíčové bílkoviny, které by mohly sloužit jako cíle pro efektivní odstranění leukemických buněk rezistentních na běžnou chemoterapii. Změřili jsme se na nadějnou protinádorovou látku TRAIL, která je v současnosti ve stádiu klinických testů. Pomocí proteomických technik jsme identifikovali některé molekulární znaky, které odlišují leukemické buňky rezistentní na TRAIL od leukemických buněk na TRAIL citlivých. Identifikovali jsme několik bílkovin, které by v budoucnosti mohly sloužit jako cíle pro nové terapeutické přístupy. V *in vitro* studiích jsme potvrdili, že použití těchto látek zacílených na námi navržené bílkoviny vede k efektivnímu odstranění rezistentních leukemických buněk z buněčné kultury. V současnosti se laboratoř se zaměřuje na studium rezistence k cytostatikům používaných k léčbě chronické myeloidní leukémie.

Studium protinádorových účinků látek biologické povahy

Při hledání nových léků proti zhoubným nádorům je věnována pozornost látkám biologické povahy. Mezi látky s farmakologickým potenciálem patří i některé nukleázy a ribonukleázy – enzymy, které mají schopnost potlačovat imunologické děje a ničit nádorové buňky. V předchozích studiích jsme se věnovali studiu účinků monomerní a dimerické formy RNázy A a jejich konjugátů s molekulami sperminu a poly-sperminu. Prokázali jsme, že RNáza A i její dimer v kombinaci s preparáty sperminu a polysperminu působí synergicky a vykazují vysokou protinádorovou účinnost.

V tomto roce byla ve spolupráci s Ústavem rostlinné molekulární biologie ČSAV v Českých Budějovicích studována protinádorová a imunosupresivní aktivita nukleáz izolovaných z rostlinných zdrojů. Sledovali jsme protinádorovou a imunosupresivní aktivitu nukleázových preparátů z huseníku (ABN₁), chmele (HBN₁) a rajčat (TBN₁).

Žádná z uvedených nukleáz v dávce do 100 ug/ml v inkubační směsi nevykazovala patrný protinádorový účinek *in vitro* na linii lidské myeloidní leukémie K-562. Při intratumorální aplikaci pokusným myším však byl prokázán statisticky významný inhibiční účinek TNB₁ nukleázy na růst lidského melanomu (linie C-32).

Studie imunosupresivních účinků ve smíšené lymfocytární kultuře prokázala výrazné imunosupresivní účinky nukleázy ABN₁. Nukleáza ABN₁ vykazovala 80%

inhibici smíšené lymfocytární reakce, nukleázy HBN₁ a TBN₁ v dávce do 100 ug/ml však měly pouze zanedbatelný imunosupresivní efekt.

Nukleázy ABN₁ a HBN₁ vázané na polyethylglykol vykazovaly statisticky významné inhibiční účinky na růst lidského karcinomu prostaty (linie LNCaP) a lidského melanomu (linie C-32) na modelu nahých myší.

Tyto výsledky naznačují, že i rostlinné ribonukleázy a nukleázy by mohly sloužit za určitých podmínek jako perspektivní protinádorové preparáty.

Seznam a struktura vyšetření prováděných pro klinické účely

Oddělení buněčné fyziologie má dlouholeté zkušenosti s kultivací krevních buněk *in vitro*. Krvetvorné progenitorové buňky jsou schopné tvořit kolonie při růstu *in vitro* v polotuhých kultivačních půdách. V tkáňových kulturách je tedy možné zjistit, zda krvetvorná tkáň obsahuje dostatečné množství progenitorových buněk, z nichž se tvoří zralé krvinky. Testování růstu krevních buněk v tkáňové kultuře je využíváno pro speciální diagnostiku poruch krvetvorby i ke kontrole kvality buněk určených pro transplantaci. Progenitorových krevních buněk Kultivační vyšetření krvetvorných buněk provádíme pro pracoviště z celé republiky.

Vyšetření růstu progenitorů pro neutrofilní granulocyty a makrofágy (CFU-GM) zachycuje změny typické pro myelodysplasii a akutní myeloidní leukémii, je vhodné rovněž při diagnostice hypoplasie a aplasie kostní dřevě. Z poměrného zastoupení progenitorů (buněk tvořících kolonie) v kultivačním nálezu lze usuzovat, do jaké míry je kostní dřevě bohatá na normální krvetvorné buňky.

Vyšetření citlivosti erytroidních progenitorů (BFU-E) vůči erythropoetinu – diagnostika onemocnění polycytemia vera a primární erytrocytózy.

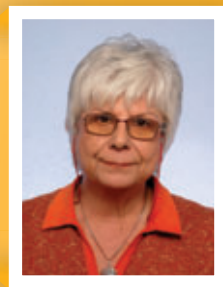
Testování růstu progenitorů CFU-GM + BFU-E: je využíváno především ke kontrole kvality buněk určených pro transplantaci krvetvorné tkáně.

V roce 2008 bylo provedeno celkem 983 kultivačních vyšetření.

Test blastické transformace: Vyšetření je prováděno jako kontrola imunologické reaktivity lymfocytů v průběhu extrakorporální fotoferézy. V roce 2008 bylo provedeno 127 vyšetření. ■

Oddělení cytogenetiky

Počet zaměstnanců: 10
VŠ ostatní: 5
Laboranti: 5

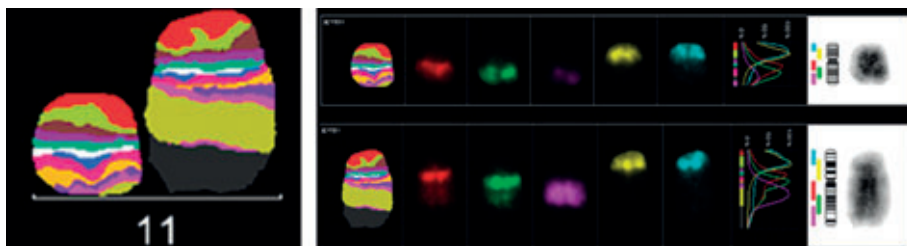


Vedoucí oddělení:
Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.



Zástupce vedoucího:
RNDr. Jana Březinová, PhD.

Oddělení cytogenetiky je součástí Centra nádorové cytogenetiky, které vzniklo 1. 1. 2003 na základě smlouvy mezi VFN a ÚHK. Sídli v areálu A, pavilonu A7, 1. patro U Nemocnice 2, Praha 2. Oddělení provádí analýzu buněk kostní dřeně nemocných s krevními chorobami, a to klasickými i molekulárně cytogenetickými metodami. Tato vyšetření jsou důležitá při stanovení diagnózy, určení prognózy i monitorování úspěšnosti terapie. Při klasické cytogenetické analýze jsou v růstovém médiu kultivovány buňky kostní dřeně, případně stimulované či nestimulované lymfocyty periferní krve. Chromosomové preparáty jsou obarveny příslušnou pruhovací metodou a následně vyhodnocovány pomocí mikroskopu a počítačové analýzy obrazu. V roce 2009 bylo klasickou cytogenetickou analýzou provedeno 651 vyšetření. Na základě výsledků klasické cytogenetické analýzy jsou všechny patologické nálezy ověřovány metodami fluorescenční in situ hybridizace (FISH). Ta umožňuje



Obr. 1: Průkaz derivovaného chromosomu 11, vzniklého amplifikací oblasti 11q23.3 až 11q24 a translokací t(11;17) se zlomovým místem v chromosomovém pruhu 11q24.

identifikaci početních i strukturních změn v dělicích se buňkách i v interfázních jádrech, je využívána k detekci reziduálních leukemických buněk po chemoterapii a k odhalení složitých chromosomových přestavb, které nelze určit klasickou cytogenetickou analýzou. Přehled FISH vyšetření v roce 2009 je uveden v tabulce č. 1. Algoritmus vyšetření je přesně stanoven a pokud to velikost dodaného vzorku dovoluje v případě komplexních změn, aplikujeme po dohodě s lékařem další

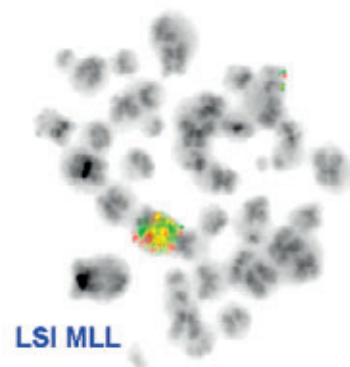
molekulární cytogenetické metody. Rovněž i v případech neúspěšné kultivace můžeme některé změny genomu určit v nedělicích se jádrech. Počet FISH vyšetření stále narůstá, protože některé přestavby chromozomů se staly významnými prognostickými faktory a můžeme je zjišťovat i v nátěrech periferní krve nebo nekultivované kostní dřeně.

Zaměstnanci oddělení se aktivně účastní celé řady odborných akcí:

- odborné semináře pořádané ÚKB LD VFN a 1. LF UK,
- odborné přednášky pořádané IPVZ,
- účast na vědeckých kongresech a konferencích tuzemských i zahraničních. ■

Sondy	Počet	Nejčastější sondy
Centromerické sondy	245	CEP 8 (83×) CEP 9 (78×) CEP 16 (27×) CEP 17 (17×)
Lokus specifické sondy	1033	LSI 5q31/5p15 (85×) LSI 7q31/CEP 7 (82×) LSI MLL (55×) LSI 20q12 (43×) LSI BCR/ABL (24×)
Subtelomerické sondy	3	ToTel 17q (2×) ToTel 4p/4q (1×)
Malovací sondy	10	WCP 5 (2×) WCP 12 (2×)
mFISH (24XCyte)	34	
mBAND	32	XCyte 5 (10×) XCyte 11 (6×) XCyte 3 (4×)
Celkem FISH vyšetření	1357	

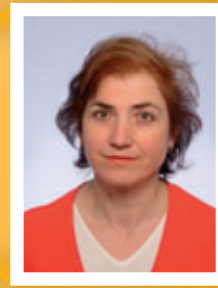
Tabulka č. 1: Počet FISH vyšetření v roce 2009.



Obr. 2: Buňky kostní dřeně nemocné s akutní myeloidní leukémií. Amplifikace MLL genu, potvrzená metodou FISH s lokus specifickou sondou pro tento gen v mitose.

Oddělení HLA analýzy

Počet zaměstnanců:	9
Lékaři:	1
VŠ ostatní:	5
Laboranti:	3



Vedoucí oddělení:
RNDr. Marie Dobrovolná



Zástupce vedoucího:
Ing. Milena Uvaná

Oddělení HLA analýzy je laboratorním úsekem Národní referenční laboratoře pro DNA diagnostiku (SOP 05 – HLA genotypizace). Jako výraz akceptace dlouhodobě fungujícího zavedeného systému kvality je k tomuto SOP po jeho pravidelném opakování posouzení Českým institutem pro akreditaci o.p.s. uznán flexibilní rozsah akreditace – typ II.

HLA systém (Human Leukocyte System) je hlavní histokompatibilitní systém člověka. Určení přesného genotypu HLA u pacienta a jeho dárce je jednou ze základních podmínek pro úspěšnost allogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk. Neshoda v HLA oblasti mezi dárce a příjemcem transplantátu může navodit odhojení tohoto štěpu, popřípadě způsobit nemoc štěpu proti hostiteli GvHD (Graft Versus Host Disease), která je vážnou, popřípadě fatální komplikací. V současné době laboratoř provádí rutinně genotypizaci nejdůležitějších transplantačních lokusů HLA I. a II. třídy: HLA – A, – B, – C, – DRB1, – DQB1 u pacientů indikovaných k allogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk a jako konfirmační vyšetření pro ně vybraných nepříbuzných dárců z českých i zahraničních registrů. Po dohodě provádí

také genotypizaci vybraných dalších lokusů HLA systému jako doplňující informaci pro stanovení diagnózy některých s HLA znaky asociovaných chorob.

Pro genotypizaci je používána polymerázová řetězová reakce se sekvenčně specifickými primery (PCR-SSP, obr. 1) a přímé sekvenování (SBT) – metoda akreditovaná ČIA v Praze (obr. 2).

I v roce 2009 obhájila laboratoř HLA analýzy statut akreditované laboratoře dle odborných mezinárodních standardů (Standards for Histocompatibility Testing – version 5.5.) evropské organizace European Federation for Immunogenetics, což je výrazem skutečnosti, že úroveň vyšetřovacích postupů genetických faktorů ovlivňujících úspěšnost transplantace krvetvorných buněk je na našem pracovišti na vysoké úrovni reflektující současný stav poznání této problematiky.

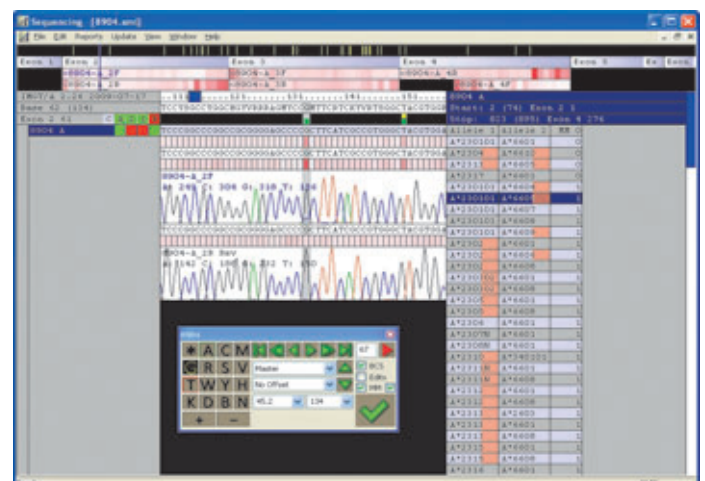
V rámci řešení úkolů výzkumného záměru ÚHKT byly hodnoceny možnosti testování dalších genetických systémů (HLA-DPB1 a KIR) před HSCT a výsledky těchto studií (ve spolupráci s vídeňskou HLA laboratoří prof. Fischera) byly publikovány v odborném tisku (Biol Blood Marrow Transplant).



Pokračovala spolupráce s Neurologickou klinikou VFN při sledování asociace HLA znaků u českých pacientů s narkolepsií, kdy soubor vybraných českých pacientů včetně výsledků jejich HLA genotypizace byl zahrnut do celosvětové studie, jejíž výsledky byly publikovány v prestižním časopise Nature Genetics. Zkušenosti z těchto testů by v budoucnu mohly rozšířit možnost →



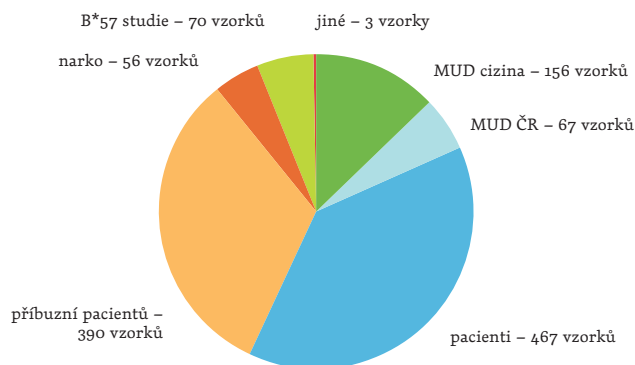
Obr. 1: Příklad typizace HLA-B lokusu na úrovni alelických skupin (low resolution) metodou PCR-SSP.



Obr. 2: Softwarová analýza sekvenčních dat pro HLA genotypizaci.

rutinního testování biočipovými technologiemi i v NRL pro DNA diagnostiku.

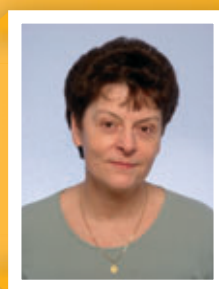
V roce 2009 bylo v laboratoři přijato 1 209 primárních vzorků (viz graf), z toho 467 pacientů, 390 jejich příbuzných, 156 nepříbuzných dárců (MUD) ze zahraničních registrů a 67 nepříbuzných dárců z českých registrů. Dále bylo vyšetřeno 56 pacientů s narkolepsií (narko) a 203 vzorků vyizolované DNA bylo testováno na HLA-B*5701 pozitivitu pro stanovení rizika rozvoje hypersenzitivity na léčbu abacavirem. ■



Graf: Počet zpracovaných primárních vzorků.

Oddělení experimentální virologie

Počet zaměstnanců:	37
Lékaři:	3
VŠ ostatní:	22
Laboranti:	6
SŠ ostatní:	2
Ostatní personál:	4



Vedoucí oddělení:
RNDr. Šárka Němečková, DrSc.



Zástupce vedoucího:
RNDr. Eva Hamšíková

Činnost oddělení je zaměřena na studium imunologických aspektů nádorových chorob a problematikou vztahu mezi virovými infekcemi a rozvojem nádorových onemocnění.

Hlavní témata výzkumu:

- Vývoj terapeutických vakcín proti CML a nádorům asociovaným s papilomaviry na myších modelech.
- Vývoj imunizačních terapeutických postupů založených na ovlivnění nespecifické imunity a mikroprostředí nádorů.
- Epidemiologické studie na bázi molekulárně-biologických a sérologických markerů infekce papilomaviry ve vztahu k nádorovým onemocněním člověka a studie prevalence těchto markerů ve vztahu k očkování preventivními vakcínami proti HPV. Součástí oddělení je Národní referenční laboratoř pro papilomaviry.

Řešená problematika v roce 2009

Laboratoř rekombinantních vakcín

Vedoucí laboratoře:

RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

V tomto roce jsme připravovali rekombinantní vakcíny proti autolognímu proteinu WT1, využitelné pro léčbu chronické

myeloidní leukémie a dalších nádorů. Rekombinantní vakcíny jsou odvozeny od živého viru vakcinie nebo je založen plasmidová DNA. Testovali jsme i peptidové vakcíny. Studovali jsme vlastnosti vyvolané imunitní odpovědi a zkoušeli jsme její protinádorový efekt.

Vakcíny proti proteinu WT1.

Zkonstruovali jsme DNA vakcínu pBSC/SS-GUS-WT1, kde fúzní gen GUS-WT1 kódující enzym glukuronidázu z *E.coli* a 155 aminokyselin z myšího proteinu WT1 obsahuje signální sekvenci odvozenou z adenovirového proteinu E3, která umožní zacílení výsledného proteinu do endoplazmatického retikula, což vede k jeho vyšší imunogenitě. Fúzní protein GUS-WT1 jsme expremovali i pomocí rekombinantního viru vakcinie P13.

Stanovení imunogenity DNA vakcín a rekombinantních virů.

Zjistili jsme, že imunizace DNA vakcínou pBSC/SS-GUS-WT1 nebo rVACV P13-E/LGUS-WT1 P13-H5GUS-WT1 a následující booster peptidovou vakcínou vyvolává slabou WT1 specifickou odpověď u cca 50 % zvířat proti peptidu RMFPNAPYL v testu ELISPOT a iIFNgama. Podobné výsledky jsme získali i po primární imunizaci DNA vakcínou pBSC/

SS-GUS-WT1 s následným boosterem rVACV a peptidovou vakcínou.

Testování protinádorového efektu imunizace in vivo

Pokračovali jsme v testování modelů pro stanovení protinádorové imunity vyvolané imunizací proti WT-1 na myších. Nalezli jsme vysokou produkci WT-1 u buněk TRAMP-C2 a ověřili jsme jejich onkogenitu u myší C57/BL6. První pokusy o preventivní imunizaci a vyvolání protekce před růstem nádorů TRAMP-C2 pomocí rVACV již probíhají.

Rekombinantní viry vakcinie

Snažíme se vylepšovat vlastnosti virových vakcín a proto studujeme vliv virových genů a různých buněčných transgenů na imunogenitu vakcín a jejich účinek na protinádorový efekt vakcín. Využíváme k tomu model protinádorové imunity založený na nádorech asociovaných s papilomavirem u myší. V tomto roce jsme studovali vliv virového inhibitoru CC chemokinů – 35k (vCCI). U viru P13 jsme zjistili, že produkce sekretovaného vCCI snižuje hladinu některých CC chemokinů během infekce a současně zvyšuje protinádorový efekt imunizace proti TAA. Také produkce solubilního Flt3 ligandu při imunizaci rekombinantním virem zvyšovala buněčnou imunitu i protinádorový efekt. Při nadprodukcí Flt3l

nad určitou mez všakdojde k atenuaci virového vektoru a ke změně složení virionů.

Monitorování buněčné imunity proti cytomegaloviru u lidí

Abychom mohli měřit průběh buněčné imunitní odpovědi u pacientů v průběhu léčby leukémie, zavedli jsme stanovení odpovědi lidských periferních lymfocytů proti pp65 cytomegaloviru (CMV). Otestovali jsme skupinu dobrovolných dárců na přítomnost ananestických CMV protilátek, určili jejich HLA specifitu a testem ELISPOT jsme stanovili jejich odpověď proti nonapeptidu NLVPMVATV (HLA-A2 restrikce). Výsledky ukázaly, že tímto postupem můžeme testovat archivované zmrazené vzorky PBMC. Stanovení je možné použít jako pozitivní kontrolu při testování odpovědi pacientů proti nádorovým antigenům a jako referenční metodu při vývoji rychlého testu imunity pacientů proti CMV.

Laboratoř molekulární onkologie

Vedoucí laboratoře:

RNDr. Michal Šmahel, PhD.

Hlavním cílem laboratoře je vývoj protinádorových vakcín zaměřených na léčbu chronické myeloidní leukémie (CML) a nádorů vyvolaných lidskými papillomaviry (HPV). Vedle imunizace proti nádorovým buňkám je pozornost věnována i imunizaci proti buňkám přítomným v nádorovém stromatu, které růst nádorů podporují. Pozornost je přitom věnována zejména DNA vakcínám podávaným genovou pistolí a také peptidovým vakcínám aplikovaným tetováním. Tetování vakcín probíhá na myších modelech příslušných maligních onemocnění. Laboratoř také spolupracuje se dvěma pracovišti Akademie věd (AV), jejichž cílem je využít rostliny k produkci antigenů pro přípravu protinádorových vakcín.

Vakcína proti CML

Protože naše předchozí pokusy ukázaly příznivý účinek imunostimulační látky levamisolu na posílení protinádorové imunity vyvolané DNA vakcínou proti fúznímu proteinu Bcr-Abl, pokračovali jsme ve zkoumání adjuvantního efektu této látky. Porovnání podávání

levamisolu ve dnech imunizace s opakovaným podáváním po třech dnech neprokázalo zvýšený účinek levamisolu po opakované aplikaci. Výsledky stanovení imunitních reakcí testy *in vitro* pak svědčí o tom, že vyšší dávka levamisolu (200 µg/myš) a opakované podávání mohou částečně inhibovat aktivaci CD8⁺ cytotoxických T lymfocytů, přestože je růst nádorů zpomalen.

Jednou z nových možností aplikace vakcín je využití tetovacího zařízení, které se již osvědčilo u DNA vakcín. My jsme testovali tento způsob imunizace pro vakcíny tvořené syntetickými peptidy. Využili jsme k tomu dobře definovaných epitopů onkoproteinů E7 a E6 lidského papillomaviru typu 16 (HPV-16). V porovnání s podkožní injekcí jsme prokázali silnější aktivaci buněčné i protilátkové imunity. Největší rozdíl byl u peptidu, který po přidání stimulačních CpG motivů, jež jsou nezbytné pro posílení imunitních reakcí, vytvářel výraznou sraženinu (viz graf č. 1). Ta byla příčinou zhoršení imunogennosti vakcíny obsahující tento peptid. Při tetování byla imunogennost naopak přidáním CpG motivů výrazně zvýšena.

Imunizaci tetováním jsme následně vyzkoušeli i s peptidy připravenými na základě počítačové predikce epitopů u proteinu Bcr-Abl. V tomto případě jsme však nezaznamenali významný protinádorový účinek vakcinace. Příčinou neúčinnosti imunizace je pravděpodobně nízká imunogennost vybraných peptidů.

Vakcína proti HPV

Terapeutická DNA vakcína proti HPV-16, který je nejčastějším typem papillomaviru přispívajícím ke vzniku lidských malignit, je založena na vyvolání buněčné imunitní odpovědi proti virovým onkoproteinům E6 a E7. Provádíme proto modifikace příslušných onkogenů, jejichž cílem je zvýšit bezpečnost a účinnost DNA vakcíny.

Imunogennost onkogenů E6 a E7 jsme již zesílili jejich fúzí s genem pro glukuronidázu *Escherichia coli* (GUS) a onkogenní potenciál E7 jsme snížili mutacemi ve vazebném místě pro protein pRb. V tomto roce jsme mutovali gen

E6 a prokázali jsme, že vnesené mutace zabráňují degradaci proteinu p53, která je nejdůležitějším onkogenním mechanismem vyvolaným proteinem E6. Tato modifikace přitom podstatně nezměnila imunogennost fúze s GUS.

U DNA vakcinace proti onkoproteinu E7 jsme zjišťovali účinky systémového (intraperitoneálního) podání látek (polyI:C, CpG motivů a levamisolu) aktivujících receptory TLR. Výsledná imunitní odpověď stanovená testy *in vitro* byla závislá na množství aplikovaných látek. Zatímco u nejvyšších použitých dávek působily všechny tři látky imunosupresivně, u nízkých dávek měly levamisol a CpG motivy slabě imunostimulační efekt (polyI:C byl stále imunosupresivní).

Na modelu nádorů vyvolaných HPV-16 jsme sledovali také protinádorové účinky levamisolu. Podobně jako u modelu CML jsme prokázali, že levamisol významně zpomaluje růst těchto nádorů (viz graf č. 2).

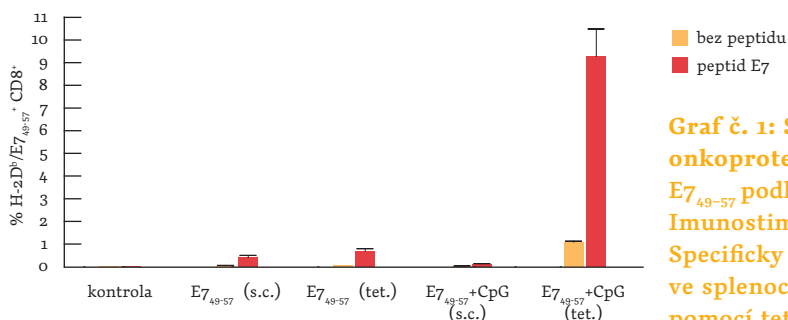
S Ústavem experimentální botaniky AV v Praze spolupracujeme na produkci antigenů lidských papillomavirů v rostlinách. V Laboratoři virologie tam byly připraveny částice rekombinantních potyvirů X, obsahující kapsidový protein CP tohoto rostlinného viru s připojeným epitopem z kapsidového proteinu L2 HPV-16. U těchto částic jsme stanovili jejich imunogenní vlastnosti. Porovnávali jsme přitom injekční podkožní podání s aplikací tetováním. Prokázali jsme indukci tvorby protilátek proti epitopu L2 a její zesílení CpG motivy po obou způsobech imunizace, avšak na rozdíl od peptidových vakcín byla silnější imunitní reakce vyvolána podkožním podáním. Důvodem by mohlo být mechanické narušení částic tetovacím postupem, a tím ztráta uspořádání antigenu výhodného pro aktivaci buněk imunitního systému.

Laboratoř imunoterapie a genové terapie nádorů

Vedoucí laboratoře:

prof. MUDr. Vladimír Vonka, DrSc.

Nejvíce pozornosti jsme věnovali genové modifikovaným buňkám 12B1 (bcr/abl⁺), které



Graf č. 1: Stanovení lymfocytů T aktivovaných proti onkoproteinu E7. Myši byly imunizovány peptidem E7₄₉₋₅₇ podkožní injekcí (s. c.) nebo tetováním (tet.) Imunostimulační CpG motivy byly použity jako adjuvans. Specificky aktivované lymfocyty byly detekovány ve splenocytech restimulovaných peptidem E7₄₉₋₅₇ barvením pomocí tetrameru.



slouží jako model CML u myši. Zjistili jsme, že tyto buňky exprimující IL2 či GM-CSF jsou onkogenní, na rozdíl od obdobně modifikovaných buněk B210 (bcr/abl⁺), které touto manipulací ztratily onkogennost. Podstatně vyšší byl onkogenní potenciál buněk s produkcí GM-CSF, které navíc byly geneticky stabilnější než buňky tvořící IL2. Získané výsledky naznačují, že mezi onkogenním potenciálem a výší produkce GM-CSF je přímý vztah. Vedlejším pozorováním bylo zjištění rozsáhlého poškození různých orgánů (jako plíce, slezina srdce a játra) u myši s nádory vyvolanými buňkami produkujícími GM-CSF. V současné době je dokončován rozsáhlý pokus, jehož cílem je určit kinetiku vývoje patologických změn a jednoznačně prokázat, že tyto změny jsou důsledkem nadprodukce GM-CSF *in vivo*.

Pokusili jsme se pomocí genově modifikovaných buněk B210 exprimujících IL2, IL-12 a GM-CSF vyvolat imunitu k čelení buněk 12B1. V opakovaných pokusech jsme zjistili, že protekci vyvolávají pouze buňky produkující GM-CSF.

Pokusili jsme se vyvolat imunitu pomocí genově modifikovaných buněk 12B1, které byly inaktivovány zářením, k čelení rodičovskými buňkami 12B1. Nejlépe imunizovaly buňky s iniciální vysokou produkcí GM-CSF.

V dalších pokusech jsme se pokusili použít inaktivované geneticky modifikované buňky jako terapeutické vakcíny. Nejúčinnější byla vakcinace klonem, který produkoval vysoké hladiny IL-2.

Další pokusy se týkaly adoptivní imunity. Slezinné buňky od myši úspěšně imunizovaných buňkami B210 částečně chránily před

čelení buněk 12B1. V kombinaci s cyklofosfamidem bylo výsledkem odložení vývoje nádorů a redukce jejich velikosti.

Pokračovali jsme ve vývoji genetických nádorově nespecifických vakcín, které by měly v budoucnosti doplnit imunizaci specifickými vakcínami. Připravili jsme plasmidy, které nesou geny pro HIF-1 alfa a SDF-1. Kromě toho byly připraveny plasmidy, které nesou rozdělený gen SDF-1, a 3'-polovinu HIF 1 alfa. Na přípravě dalších plasmidů se pracuje. K dispozici máme i peptidy nesoucí předpokládané epitopy (počítačová predikce) obou proteinů pro budoucí imunizace a sledování humorální odpovědi.

Laboratoř molekulární epidemiologie virů

Vedoucí laboratoře:
RNDr. Eva Hamšíková

Hlavním cílem laboratoře je zkoumání vztahu virových infekcí k nádorovým onemocněním člověka. Virové infekce detekujeme jednak jako virovou genetickou informaci metodami molekulární biologie, jednak testováním přítomnosti virově-specifické protilátkové odpovědi. Výzkum je zaměřen především na studium vztahu vysoce rizikových (high-risk, HR) typů lidských papillomavirů a nádorových onemocnění, v jejichž etiologii se působení těchto virů předpokládá. Vedle karcinomu děložního hrdla jsou to další malignity ženského a mužského anogenitálního traktu (karcinomy anální a perianální oblasti, vulvární a vaginální karcinomy) a v neposlední řadě část karcinomů orofaryngu a dutiny ústní.

Dalším směrem výzkumu této laboratoře je využití sledování přítomnosti HPV, případně jiných markerů diagnostikovaných

molekulárně-biologickými metodami, pro usnadnění rozhodování o managementu žen s abnormálními klinickými nálezy na hrdle děložním a pacientek po chirurgické léčbě prekanceróz ve stejné lokalitě. Dále se zabýváme porovnáváním citlivosti a specifity metod detekce a typizace papillomavirů pro klinickou praxi. Výběr vhodné metody je základní podmínkou případné implementace HPV testace do rutinního screeningu pro prevenci karcinomu děložního hrdla.

Nové metody typizace širokého spektra HPV typů ve stěru z děložního hrdla a detekce protilátek proti typům papillomavirů, které jsou součástí HPV vakcín, chceme využít pro sledování účinnosti očkování. Při odběru vzorků laboratoř spolupracuje s řadou klinických pracovišť a s řadou dalších výzkumných laboratoří.

Studie možností vakcinace proti HPV

Výsledky našich studií ukázaly, že stejně jako v ostatních zemích je HPV16 nejčastěji se vyskytujícím typem v prekancerózách a ve všech typech vyšetřovaných karcinomů. Přibližně 60 % skvamózních karcinomů děložního hrdla a téměř 90 % HPV pozitivních karcinomů v oblasti anální, vulvární, vaginální a hlavy a krku je v naší populaci spojeno právě s tímto typem HPV. Prevalence HPV DNA stoupá se závažností onemocnění děložního hrdla – v lehkých lézích je 62 %, v těžkých 87,2 % a ve skvamózních karcinomech děložního hrdla 95,3 %. Ve všech případech (zdravé ženy/lehké léze/těžké léze/karcinom děložního hrdla) je většina žen infikována HR typy HPV.

Z našich studií vyplývá, že očkování proti HPV, které u nás probíhá od r. 2006, by mohlo zamezit vzniku minimálně 34 % lehkých lézí, 63 % těžkých lézí, považovaných za pravé prekuzory karcinomu děložního hrdla a 80 % skvamózních karcinomů děložního hrdla. Vakcíny by dále mohly zabránit vzniku až 90 % karcinomů jiných anatomických lokalizací, které jsou kauzálně spojeny s infekcí HR HPV.

Protože rozsáhlé klinické studie prokázaly sníženou/žádoucí účinnost vakcín u žen infikovaných vakcínálními typy při aplikaci první dávky, zahájili jsme studii, kdy sledujeme přítomnost infekce a specifických protilátek u sexuálně aktivních žen, které se pro očkování rozhodnou. Výsledky pilotní studie potvrdily, že prevalence HPV DNA a specifických protilátek je závislá na věku, přičemž přítomnost DNA vrcholí ve věku 24–30 let a poté dramaticky klesá, naopak podíl séropozitivních žen s věkem roste. Ve věkové skupině do 20 let se alespoň polovina žen setkala s HPV infekcí, téměř pětina

s infekcí vakcinálními typy HPV16 nebo 18. Z celého souboru 222 žen bylo při podání první dávky aktuálně nebo persistentně infikováno těmito typy 12 % žen. Tyto ženy budou pravděpodobně ohroženy vznikem těžkých lézí děložního hrdla stejně, jako by žádné očkování nepodstoupily. Výsledky detekce přítomnosti HPV DNA předáváme ošetřujícímu lékaři, aby mohl modifikovat frekvenci sledování dané ženy. V dalším období chceme u vakcinovaných žen sledovat hladiny specifických protilátek, vyvolaných oběma vakcínami a prospektivně monitorovat případnou infekci/výskyt abnormálních nálezů spojených s vakcinálními typy HPV.

HPV a riziko vzniku karcinomu orální dutiny a orofaryngu

Ve spolupráci s Klinikou ORL a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol a s College of Public Health, Department of Epidemiology, University of Iowa, USA, provádíme dlouhodobou studii vztahu mezi papilomaviry a vznikem nádorů orální dutiny a orofaryngu. Výsledky naší studie ukazují, že pacienti s HPV DNA pozitivními nádory bývají spíše mladší, nekuřáci a abstinenti. Proti tomu pacienti s HPV DNA negativními nádory se chovají značně rizikověji ve smyslu kouření a spotřeby alkoholu. Obecně jsou nádory hlavy a krku zjevně vyvolány různými mechanismy, přičemž nádory vyvolané infekcí vysoce rizikovými typy HPV (přibližně 25 %) tvoří etiologicky samostatnou skupinu. Z výsledků studie je zřejmé, že pacienti s HPV pozitivními nádory mají výrazně vyšší pravděpodobnost přežití po léčbě. Další z faktorů, které jsme identifikovali jako rizikové z hlediska přežívání pacientů, je mužské pohlaví, klasifikace nádoru a přítomnost ruptury lymfatických uzlin. Dlouhodobé sledování pacientů ukázalo, že po léčbě dochází k vymizení HR HPV virů ve výplachu z dutiny ústní a také poklesu hladin protilátek proti onkoproteinům E6 a E7 typu HPV16. V poslední době se soustředujeme na karcinomy tonsil, jejichž incidence celosvětově stoupá. Vzhledem k minimálním změnám ve známých rizikových faktorech – spotřebě cigaret a alkoholu – je možné, že tento vzestup by mohl být zapříčiněn narůstající incidencí HPV

infekce. V 60 % tonsilárních karcinomů jsme prokázali přítomnost HPV DNA. S přibývajícím poznatkami se zdá, že u části HPV pozitivních nádorů, především u kuřáků, může být vznik nádoru iniciován jiným mechanismem než následkem HPV infekce. Ve vybrané skupině tonsilárních nádorů jsme sledovali přítomnost dalších markerů exprese HPV. V HPV16 pozitivní podskupině jsme zjistili přítomnost mRNA kódující virově-specifický onkoprotein HPV16 E6 (93 %), přítomnost buněčného proteinu p16 (93 %) a přítomnost protilátek proti HPV16 E6 nebo dalšímu virovému onkoproteinu E7 (93 %). V této skupině jsme naopak našli pouze v jednom případě mutaci v genu p53, zatímco mutovaný p53 jsme našli v polovině nádorů HPV negativních. V této skupině jsme nezjistili přítomnost ani HPV16 E6 mRNA, ani proteinu p16 a pouze v jednom případě přítomnost specifických protilátek proti HPV16 E7. Celkem v 97 % HPV pozitivních tonsilárních nádorů jsme našli alespoň jeden z markerů exprese viru.

Další sledování by mělo ukázat, zda by tyto markery mohly být markery rekurence onemocnění. Další výzkum zaměřujeme na rozšíření studovaného souboru, sledování prognózy pacientů s HPV DNA pozitivními a negativními nádory, eventuálně sledováním odpovědi těchto pacientů na léčbu. Prokazování těchto souvislostí je obsahem doktorandské práce našich stážistů.

Detekce specifické protilátkové odpovědi v lidských sérech

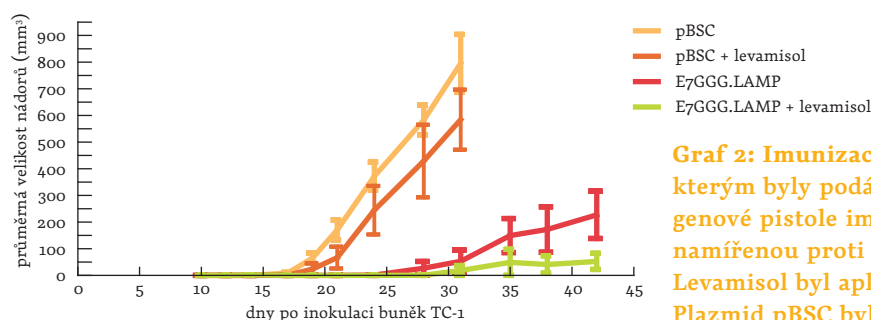
Provádíme detekci protilátek proti kapsidám (virus-like particles, VLP), odvozeným od HR typů (16, 18, 31, 33) a LR typů (6, 11) HPV. Takové protilátky vznikají po infekci HPV, jejich prevalence stoupá se závažností onemocnění pravděpodobně v důsledku přetrvávající produktivní infekce – neustále se uvolňujících infekčních virových partikulí z odlupujících se terminálně diferencovaných keratinocytů. Příslušné antigeny (VLP) připravujeme v rekombinantním bakulovirovém systému na hmyzích buňkách. Kromě toho detekujeme u osob se závažnými lézemi spojenými s infekcí HPV16 protilátky proti

onkoproteinům HPV16 E6 a E7, připraveným v bakteriálním expresním systému. Takové protilátky vznikají pravděpodobně až poté, kdy se virová DNA integruje do genomu infikované buňky, čímž se přeruší gen pro virově specifický protein regulující transkripci dalších genů viru a oba onkoproteiny se neomezeně syntetizují. K usnadnění kontaktu s imunitním systémem navíc dochází po prolomení bazální membrány v důsledku invaze změněných – nádorových buněk, což může podpořit produkci specifických protilátek. Ve studiích, kdy sledujeme pacienty po odstranění lézí, se zajímáme o případné změny v hladině těchto protilátek, a vztah takových změn ke klinickému stavu pacientů. Výskyt protilátek proti oběma časným onkoproteinům je u zdravých osob vzácný.

Zavedli jsme neutralizační test na modifikovaných permisivních buňkách, který využívá schopnosti specifických neutralizačních protilátek zabránit vstupu homologních pseudovirionů, tvořených oběma kapsidovými proteiny HPV. Kapsidy obsahují plasmid s genem pro sekretorickou alkalickou fosfatázu. V nepřítomnosti specifických protilátek pseudoviriony vstupují do buněk, které namnoží plasmidovou DNA a nasyntetizují reportérový gen – alkalickou fosfatázu. Tu je pak možné detekovat v médiu pomocí luminiscenčního nebo kolorimetrického stanovení.

Infekce a karcinom prostaty

S Urologickou klinikou 3. LF UK a FNKV spolupracujeme na studii, která má ukázat, jestli vznik karcinomu prostaty může být iniciován chronickou infekcí močového ústrojí. Vyšetřujeme séra pacientů a kontrol s benigní hyperplázií prostaty na přítomnost protilátek proti virovým a bakteriálním agens, která mohou urogenitální trakt infikovat (HSV, CMV, HPV, Chlamydia trachomatis, Treponema pallidum, Ureaplasma urealyticum, Mycoplasma, Neisseria). V doposud vyšetřeném souboru 259 pacientů a 117 kontrol jsme významné rozdíly mezi oběma skupinami v prevalenci protilátek proti virovým antigenům, Chlamydii a Treponemě nepozorovali. ■



Graf 2: Imunizace proti experimentálním nádorům. Myši, kterým byly podány nádorové buňky TC-1, byly pomocí genové pistole imunizovány DNA vakcínou E7GGG.LAMP namířenou proti papilomavirovému onkoproteinu E7. Levamisol byl aplikován jako adjuvans pro posílení imunity. Plazmid pBSC byl použit jako negativní kontrola.



Ošetrovateľský úsek

Celkem všeobecných sester: 101
Registrovaných dle zákona 96/2004 Sb.: 100

Se specializací ARIP/SIP: 17
Se specializací pro onkologii: 6
Se specializací pro TRF službu: 7
Se specializací pro oš. péči o dospělé: 3
Se specializací pro management: 3

Fyzioterapeut: 2
Nutriční terapeut: 1
Zdravotně-sociální pracovník: 1
Ošetrovateľ: 8
Sanitář: 21
Ostatní: 3



Přednosta:
Mgr. Lucie Vylitová



Zástupce přednosta:
Mgr. Simona Brixiová

Rok 2009 byl pro ošetrovateľství v ÚHKT významným rokem – v červenci vznikl samostatný Ošetrovateľský úsek, který se podílí na tvorbě strategických cílů a plánů ústavu, stanovuje základní koncepci ošetrovateľské péče v ÚHKT, metodicky přímo vede a řídí vedoucí sestry na jednotlivých úsecích a odděleních, podílí se na řešení systémových otázek poskytování ošetrovateľské péče a zajišťuje program celoživotního vzdělávání ošetrovateľského personálu.

Ošetrovateľský personál Klinického a Transfuziologického úseku se podílí na poskytování komplexní základní a specializované zdravotní péče o pacienty ÚHKT, dárčům krevních složek je věnována zvláštní péče. Naší prioritou je poskytování kvalitní a bezpečné ošetrovateľské péče, která je v souladu s právními předpisy ČR a v kontextu moderního pojetí péče nejen v EU. Snažíme se, aby pacient trávil v našem ústavu jen dobu nezbytně nutnou pro léčbu a v maximální možné míře se snažíme vycházet vstříc potřebám nemocných. Ošetrovateľský personál se podílí na neustálém procesu kontinuálního zvyšování kvality poskytované péče, průběžně se připravujeme na reakreditaci JCI, která by měla proběhnout v červnu roku 2010.

Odborná činnost nelékařských zdravotnických pracovníků (NLZP)

Sestry a ostatní NLZP

Profesní rozvoj ošetrovateľského 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 pracoviště. Účast na krátkodobých vzdělávacích a odborných akcích 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.

Vzdělávací aktivity

Klinický úsek

- Kurz: Vedení, motivace a hodnocení pracovníků (NCO NZO Brno, 1 sestra)
- Certifikovaný kurz: Ošetrovateľská péče v hematooonkologii (FN Plzeň, 2 sestry)
- Certifikovaný kurz pro sestry školitelky v klinické praxi (FTN, Praha, 3 sestry)
- Seminář: Nástroje zvyšování bezpečnosti pacientů ve zdravotnickém zařízení (MZČR, Praha, 1 sestra)
- Konference: Aktuality ve zdravotnickém vzdělávání (IPVZ, Praha, 1 sestra)
- Konference: EKG v praxi (NCO NZO Brno, 2 sestry)
- Konference: Pacient a bolest (NCO NZO Brno, 2 sestry)
- Kurz: Péče o periferní žilní vstupy (FN Motol, 6 sester)
- Kurz: Rehabilitační ošetrování (NCO NZO Brno, 1× ošetrovateľka, 3× sanitářka)
- Odborná konference: Sestra a pacient se selháváním životních funkcí (NCO NZO Brno, 4 sestry)

- Kurz: Mobilizace nervových struktur – neurodynamika (Liberec, 1 fyzioterapeutka)
- Kurz: Inovační vzdělání fyzioterapeutů (Praha, 1 fyzioterapeutka)

Transfuziologický úsek

- Kurz: Vedení, motivace a hodnocení pracovníků (NCO NZO Brno, 1 sestra)
- Konference vrchních sester transfuzních oddělení (NCO NZO Brno, 2 sestry)
- Terapeutická a transfuzní aplikace separační techniky Caridian BCT (10 sester)

Účast na odborných akcích

Klinický úsek

- VII. Celostátní kongres s mezinárodní účastí: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů (Pardubice, 1 sestra)
- XXI. Celostátní konference laborantů a sester (Špindlerův Mlýn, 2 sestry)
- XXIII. Olomoucké hematologické dny (Olomouc, 7 sester)
- XVI. Česko-slovenská konference o hemostáze a trombóze (Hradec Králové, 2 sestry)
- Odborná konference: Problematika ambulantní a jednodenní ošetrovateľské péče (Brno, 2 sestry)
- Konference ČAS: Multidisciplinární péče o onkologicky nemocné (Praha, 1× aktivní účast)
- EBMT, Götting, Švédsko, (5 sester)

- Konference ČAS: Ošetrovatelství v intenzivní medicíně (NNH, Praha, 3 sestry)
- Kongres: Cesta k modernímu ošetrovatelství (FN Motol, 7 sester)
- Pražský hematologický den 2009 (Praha, 18 sester)
- IV. Brněnské hematologické dny (Brno, 4 sestry)
- X. Sesterský seminář EDIPO (Červená nad Vltavou, 5 sester)
- Konference: Trombocytopénie, anémie a neutropénie – TITAN (NCO NZO Brno, 4 sestry)
- 3M European Symposium on Prevention of Catheter – Associated Infection (Neuss, Německo, 2 sestry)
- Konference: Prevence nozokomiálních nákaz (Praha, 2 sestry, 1× aktivní účast)

Transfuziologický úsek

- Celostátní telekonference zdravotnických pracovníků nelékařských profesí (ÚVN Praha, 2 sestry)
- XXI. Celostátní pracovní konference laborantů a sester (Špindlerův Mlýn, 7 sester)
- XXIII. Olomoucké hematologické dny (Olomouc, 4 sestry)
- XVI. Česko-slovenská konference o hemostáze a trombóze (Hradec Králové, 4 sestry)
- Odborná konference: Teoretická východiska pro práci sestry na hematologickém pracovišti (ÚHKT Praha, 6 sester, 1 laborantka)
- Pražský hematologický den 2009 (Praha, 16 sester)
- 12. pracovní dny v transfúzním lékařství (Olomouc, 4 sestry)

Dosažení vyšší kvalifikace

Klinický úsek

- Kurz: Všeobecný sanitář (VFN, 2 sanitáři)
- VŠ: bakalářské studium ošetrovatelství – studují 4 sestry, ukončily 4 sestry
- VŠ: magisterské studium ošetrovatelství – studuje 1 sestra
- VŠ: magisterské studium fyzioterapie – studuje 1 fyzioterapeutka
- PSS obor ARIP – studuje 6 sester, ukončily 2 sestry
- PSS obor onkologie – studují 2 sestry

Organizace odborných konferencí a seminářů

Odborné konference ÚHKT:

- Teoretická východiska pro práci sestry na hematologickém oddělení (registrace u POUZP pod číslem OZ 695/09/K, dle vyhl. MZČR č. 321/2008 Sb.), účast 27 sester, 3× aktivní účast
- Termín konání: 18. 6. 2009
- Místo konání: Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha
- Teoretická východiska pro práci sestry na hematologickém oddělení – II. (registrace u POUZP pod číslem OZ 1269/09 K, dle vyhl. MZČR č. 423/2004), účast 20 sester, 2× aktivní účast
- Termín konání: 9. 12. 2009
- Místo konání: Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Seminář: (pořadatel ÚHKT – klinický úsek)

- „Vidáa a správný postup při její aplikaci“ (ÚHKT Praha, 20 sester)

- Termín konání: 23. 9. 2009
- Místo konání: ÚHKT Praha

Výuka

Klinický úsek

Mgr. S. Brixiová

- VZŠ, P 2, Ječná – vedení odborné praxe studentek
- VZŠ, P 5, MEDEA – vedení odborné praxe studentek
- Vysoká škola zdravotnictví a sociální práce sv. Alžbety, n.o. Bratislava, detašované pracoviště Příbram – oponentura 2 absolventských prací
- II. LF UK – oponentura 1 absolventské práce
- sestry JIP, LO, A
- VZŠ, P 2, Ječná 33 – vedení odborné praxe studentek
- VZŠ, P 5, MEDEA – vedení odborné praxe studentek

Bc. M. Kuchta

- vedení odborné praxe studentů biomedicínské techniky

Transfuziologický úsek sestry transfúzního oddělení

- VZŠ, P 2, Ječná 33 – vedení odborné praxe studentek
- sestry aferetického oddělení
- VZŠ, Praha 2, Ječná 33 – vedení odborné praxe studentek ■

Laboranti

Celkový počet laborantů:

90

Registrovaných dle zákona 96/2004 Sb.:

65

Zdravotnických pracovníků:

70

Laborantů ve výzkumu:

20



Vedoucí laborantka ÚHKT:
Jitka Němcová

V roce 2009 jsme se opět plně věnovali prohlubování kvalifikace formou vzdělávacích programů. Navštívili jsme podle profesního zaměření jednotlivých laboratoří odborné konference s mezinárodní účastí, celostátní konference, semináře a kurzy. V roce 2009 byly některé klinické laboratoře vybaveny novými moderními

analyzátoři, které jsou schopné v krátké době zpracovat velké množství biologického materiálu od pacientů. Obsluha těchto zařízení vyžaduje od laborantů vysoce odbornou práci, aby byl přístroj plně a efektivně využit. Všechny tyto znalosti a dovednosti vedou ke zvyšování léčebné péče pacientů ÚHKT.

Věnovali jsme se přípravám k akreditaci Komplementu laboratoří ÚHKT; v současné době v ÚHKT probíhá audit inspektorů ČIA.

Vzdělávací aktivity

- Konference: Banka pupečnické krve
- Odborná konference ČAS – Region Praha – Kongresové centrum ÚVN Praha



- Odborný seminář – Novinky v laboratorní medicíně – Praha – Region Motol
- Odborná konference – Měření a rychlá diagnostika v místě péče o pacienta POCT – FN Motol
- Pracovní konference biochemických laborantů – Laboratorní diagnostika hepatitid – Praha Lékařský dům
- Odborná konference – Civilizační choroby a jejich laboratorní diagnostika – FN Motol
- Pracovní konference biochemických laborantů – Markery zánětů – Praha Lékařský dům

- Celostátní konference laboratorních oborů – VFN Praha
- Odborná konference s mezinárodní účastí – ČAS – Region Praha – FN Motol

Účast na odborných akcích

- XXI. Celostátní konference laborantů a sester v hematologii – Špindlhorky – Špindlerův Mlýn
- XVI. Česko-slovenská konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí – Hradec Králové
- XXIII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Konference

ošetřovatelských profesí v hematologii, XII. Konference zdravotních laborantů v hematologii

- Symposium: Pražský hematologický den
- Konference: 3. Hemofilický den s mezinárodní účastí. ■

Referenční laboratoře

Národní referenční laboratoř pro poruchy hemostázy a referenční pracoviště pro některé DNA metodiky



Vedoucí laboratoře:
RNDr. Ingrid Hrachovinová

NRL pro poruchy hemostázy prováděla supervize nad pořádáním externí kontroly kvality práce v koagulačních metodikách v České republice organizovanou SEKK (www.sekk.cz). Laboratoř připravovala vzorky pro dva cykly EQA-SEKK testování specializovaných metodik HS09/01 a HS09/02 v České a Slovenské republice. Každý cyklus se skládal ze 4 vzorků, v nichž měly být vyšetřeny tyto parametry: FVIII, FIX, FXI, FXII, VWF, PS, PC, APCR, FII, FV, FVII, FX. Testování HS se účastnilo 91 laboratoří.

Pro Národní referenční laboratoř DNA metodik jsme organizovali a připravovali vzorky pro každoroční kontrolu kvality práce v DNA metodikách pro stanovení FV Leiden, protrombinové mutace 20210A, MTHFR 677T. EQA se zúčastnilo 31 DNA laboratoří z České i Slovenské republiky.

Referenční laboratoř testovala kvalitu koagulačních reagensů, které se zavádějí na český trh. NRL patří mezi celosvětové laboratoře, které testují mezinárodní

standards, případně nové laboratorní metodiky; v letošním roce to byly standardy pro metodiku trombinový generační čas, TGA-NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control). ■

Referenční laboratoř pro imunohepatologii



Vedoucí laboratoře:
MUDr. Martin Písačka

Hlavní náplní laboratoře je řešení nesrovnalostí a obtížných případů při stanovení krevních skupin, předtransfuzních vyšetření a vyšetření protilátek ze všech laboratoří České i Slovenské republiky. Jsou řešeny obtížné případy imunohepatologických komplikací v těhotenství. Imunohepatologická diagnostika je rozšiřována o molekulárně-biologické metody.

V laboratoři je udržována banka zmražených vzácných erytrocytů a protilátek (jako člen mezinárodní výměnné skupiny SCARF) a též trombocytů se vzácným HPA genotypem. Laboratoř také koordinuje národní registr vzácných dárců krve. Spolupracuje s bankou vzácných zmražených krvinek v ÚVN. Přispívá do Mezinárodního registru vzácných dárců v Bristolu, UK, má přímý počítačový přístup do tohoto registru s možností koordinovat získání vhodného transfuzního přípravku.

Spolupracuje s International Blood Group Reference Laboratory v Bristolu a řadou dalších světových imunohepatologických pracovišť při ověřování neobvyklých nálezů.

V laboratoři jsou ověřovány nově zaváděné reagensie a systémy na stanovení krevních znaků a protilátek. Rovněž je ověřován systém na genotypování krevních skupin pomocí microarray (BloodChip) a laboratoř pracuje v rámci konsorcia BloodGen na rozšiřování jeho diagnostického záběru.

Provádí se příprava vzorků a dozor nad systémem externí kontroly kvality imunohepatologických vyšetření v České republice (se zahraniční účastí – SR, Rusko) – SEKK cykly Imunohepatologie (www.sekk.cz). Referenční laboratoř pro imunohepatologii prošla úspěšnou akreditací ČIA v rámci akreditace SEKK Prardubice (RL je dodavatelem

materiálu pro systém externí kontroly kvality SEKK).

Dále jsou v laboratoři vyšetřovány trombocytární, granulocytární a HLA protilátky a následně identifikovány specifické trombocytární protilátky a detekovány trombocytární antigeny.

Bližší informace o výsledcích práce laboratoře jsou uvedeny v textu o Oddělení imunohepatologie. ■

Akreditovaná Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku

Techničtí vedoucí:

SOP 01: Mgr. Hana Žižková, PhD.

SOP 02: Mgr. Jaroslav Polák

SOP 03: Ing. Eva Otáhalová

SOP 04: RNDr. Jana Moravcová, CSc.

SOP 05: RNDr. Marie Dobrovolná

SOP 06: Mgr. Monika Belíčková

Celkem pracovníků: 34



Vedoucí laboratoře:
RNDr. Marie Dobrovolná



Zástupce vedoucí laboratoře:
Prof. MUDr.
Radim Brdička, DrSc.



Manažerka jakosti:
Ing. Milena Urand



Metrolog:
Ing. Eva Otáhalová

V roce 2009 prošla Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku ÚHKŤ opět NRL úspěšně pravidelnou dozorovou návštěvou ČIA dle norem ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 a posouzení podle ČSN EN ISO 15189:2007 a v akreditovaném režimu provádí následující zkoušky:

- SOP 01: vyšetření buněčného chimerismu po HSCT
- SOP 02: vyšetření hladiny transkriptu genu WT-1 u pacientů s AML a MDS (nově posouzeno a zařazeno v roce 2009)
- SOP 03: stanovení přítomnosti genu BCR-ABL
- SOP 04: molekulární monitorování transkriptu BCR-ABL a detekce mutací v tyrozinkinázové doméně BCR-ABL
- SOP 05: určení genotypu HLA systému a souvisejících genů – viz odd. HLA analýzy
- SOP 06: stanovení klonality

Pro SOP03, 04 a 05 byl přiznán **flexibilní rozsah akreditace typu II**, který umožňuje reagovat na nové požadavky klinických zákazníků pružněji za splnění všech požadavků kladených na zkoušky prováděné v akreditovaném rozsahu.

Činnosti spojené se statutem akreditované laboratoře:

SOP 01 – Technická vedoucí, Mgr. Hana Žižková, PhD., organizovala činnost pilotního pracoviště pro Mezilaboratorní porovnání zkoušek (MPZ): Kvantitativní vyšetření buněčného chimerismu po alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk, kterého se zúčastnilo 5 laboratoří. Pracoviště se zúčastnilo Mezilaboratorní kontroly kvality práce v rámci DNA laboratoří v ČR 2009 – stanovení pohlaví.

SOP 02 – Vyšetření Stanovení množství transkriptů WT1 pomocí real – time RT-PCR u pacientů a AML a MDS bylo validováno

a připraveno k provádění v akreditovaném režimu, bylo úspěšně zařazeno a rozšířilo nabídku prováděných analýz.

SOP 03 – Technická vedoucí Ing. Eva Otáhalová organizovala mezilaboratorní porovnání vzorků Diagnostické vyšetření fúzního genu BCR-ABL – varianta major, kterého se zúčastnilo 9 laboratoří.

SOP 04 – V roce 2009 došlo k rozšíření SOP04 o vyšetření detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL sekvenováním (Příloha 09) (akreditace ČIA, o. p. s.). V roce 2009 provedla laboratoř vyšetření hladiny transkriptů BCR-ABL u 1 139 pacientů s CML, což představuje 5% navýšení proti roku 2008. Z toho bylo 53 pacientů dále vyšetřeno na přítomnost mutací.

Jako pilotní pracoviště pro mezilaboratorní porovnávání zkoušek (MPZ) v rámci Národního programu zkoušení způsobilosti →



Graf č. 1: Trend nárůstu akreditovaných vyšetření (v bodových hodnotách zdravotních pojišťoven).



pro oblast kvantitativního stanovení hladiny transkriptů BCR-ABL pomocí real-time RT-PCR (akreditace ČIA, o. p. s.) a zároveň jako koordinátor mezilaboratorního porovnávání a standardizace molekulárního monitorování pacientů s CML pro Českou republiku v rámci mezinárodní standardizace mezi zeměmi EU pod záštitou European LeukemiaNet (projekt EUTOS for CML-Molecular monitoring) provedla laboratoř externí kontrolu molekulárního monitorování transkriptů BCR-ABL laboratoří v České republice. V roce 2009 se laboratoř zapojila do 1. kola mezinárodní standardizace

detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL v rámci projektu EUTOS for CML – Molecular monitoring pod záštitou European LeukemiaNet.

SOP 05 – Skupina HLA genotypizace reportovala třetím rokem systém kvality dle standardů European Federation for Immunogenetics a byla jí prodloužena akreditace u EFI. Skupina byla oslovena několika externími laboratořemi k výměně vzorků na určení asociace HLA znaků s onemocněním celiakií a revmatoidní artritidou, a tato možnost mezilaboratorního porovnání

byla nabídnuta v rámci XIII. Celostátní konference DNA diagnostiky SLG ČLS JEP 26.–27. listopadu 2009 v Olomouci s kladným ohlasem.

SOP 06 – v roce 2009 bylo rozšířeno spektrum zadavatelů požadujících toto vyšetření a pracovnice této SOP se podílely na rozvoji aplikace biočipových technologií pro studium onkohematologických onemocnění v rámci činnosti Laboratoře genomiky společného pracoviště ÚHK a ÚEM AVČR.

Celou škálou své činnosti se pracovníci odd. molekulární genetiky a odd. HLA analýzy, kteří provádějí akreditované zkoušky v rámci Národní referenční laboratoře pro DNA diagnostiku ÚHK, snaží naplňovat požadavky norem a standardů, ke kterým se přihlásili během akreditačních řízení, uspokojovat požadavky klinických zadavatelů a přispívat k rozvoji vyšetřovacích metod a prováděných zkoušek za splnění všech kritérií vysoce odborné, specializované a bezpečné činnosti laboratoře.

Management akreditované laboratoře průběžně sleduje shodu zavedeného systému kvality s požadavky norem, příslušnými metodickými pokyny, standardy JCI, doporučeními odborných společností a národní legislativou.

Tato koordinační činnost je uskutečňována prostřednictvím Odboru kvality ÚHK. ■

Koordinační centrum genetických laboratoří



Vedoucí centra:
Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc. Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.

Náplň Koordinačního centra genetických laboratoří (www.uhkt.cz/nrl/kc-genlaboratori) je přispívat k řešení problematiky organizace laboratorního vyšetřování metodami molekulární genetiky a cytogenetiky v České republice.

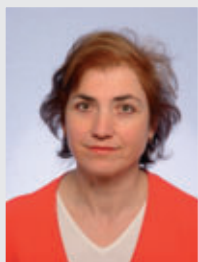
Bylo zřízeno rozhodnutím MZČR v dubnu 2004, je součástí ÚHK a svou činností

odpovědné Společnosti lékařské genetiky (SLG LS JEP). Centrum zajišťuje distribuci oborových informací, spravuje datáze molekulárně genetických a cytogenetických laboratoří a podílí se na organizaci externí kontroly kvality (EQA/PT) a zprostředkovává kontrolu kvality v mezinárodních systémech. Spolupracuje ze zahraničními organizacemi, především odbornými

společnostmi (ESHG, ECA atd.), a institucemi zabývajících se příslušnou problematikou (např. OECD, EMQN, Eurogentest, Orphanet, GeneTests).

V roce 2009 se opět rozšířila nabídka molekulárně-genetických a cytogenetických vyšetření v databázi evidovaných laboratoří, kterých bylo celkem 59. ■

Kalibrační centrum ÚHKT



*Vedoucí laboratoře:
RNDr. Marie Dobrovolná*



*Zástupce
a manažerka kvality:
Ing. Milena Uvaná*



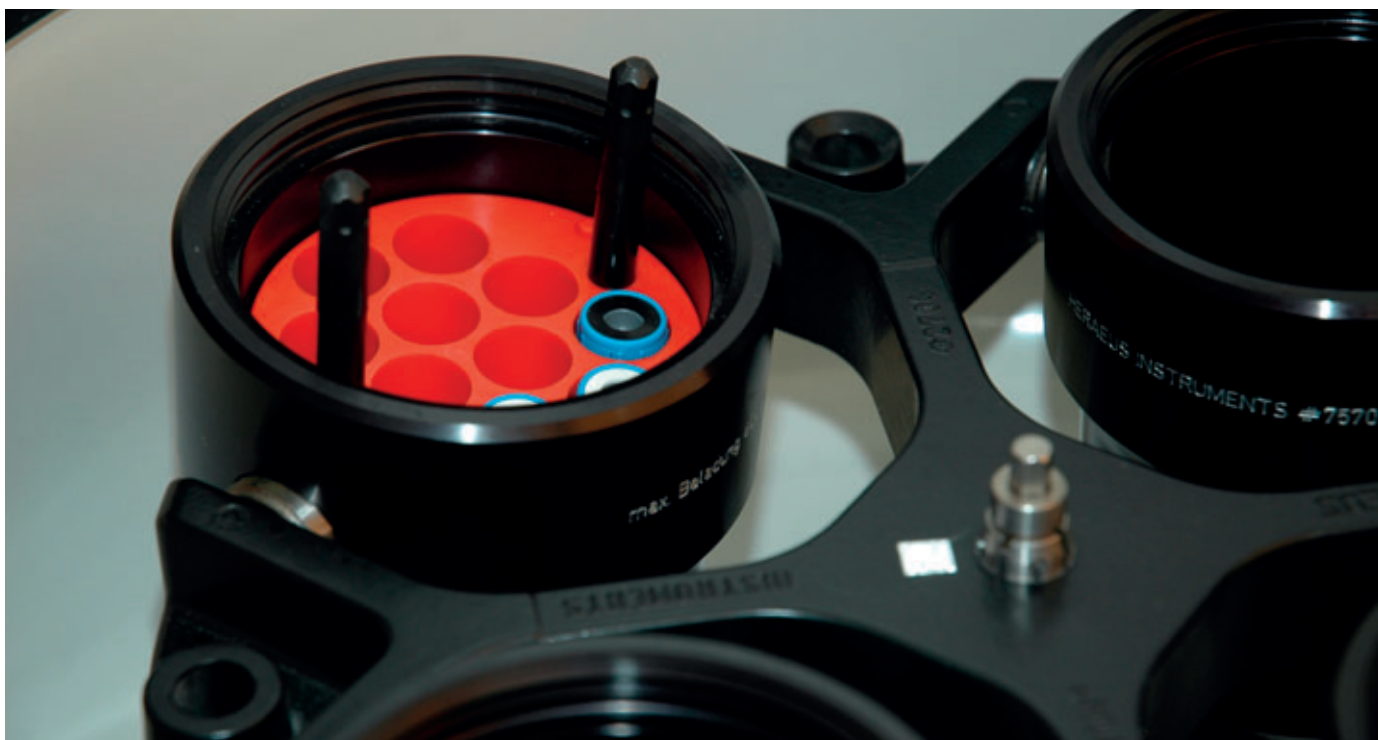
*Metrolog
a technická vedoucí:
Ing. Eva Otáhalová*

Kalibrační centrum ÚHKT při NRL pro DNA diagnostiku je součástí výzkumného úseku ÚHKT a bylo primárně zřízeno, aby uspokojovalo poptávku po kalibracích píšťových pipet v laboratořích Komplementu laboratoří ÚHKT a NRL pro DNA diagnostiku za provozně výhodnějších podmínek, než nabízejí komerční poskytovatelé těchto služeb. Pro svou činnost v plánovaném akreditovaném režimu bude Kalibrační centrum sdílet systém kvality dle normy ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 platný v Národní referenční laboratoři pro DNA diagnostiku ÚHKT včetně Příručky kvality a souvisejících dokumentů.



Kalibrační systém.

Kalibrační centrum bylo akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o. p. s., v Praze, jako kalibrační laboratoř pro kalibraci píšťových pipet v rozsahu 1-10000 µl, registrovaná pod číslem 2353 dle ČSN EN ISO/IEC 17025. ■



Národní referenční laboratoř pro papillomaviry



Vedoucí laboratoře:
RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

NRL pro papillomaviry provádí klinickou diagnostiku HPV infekcí anogenitálního traktu. V roce 2010 laboratoř v rámci Komplementu laboratoří ÚHKT prošla úspěšně akreditačním řízením. Pro akreditaci podstoupila dva standardní operační postupy (SOP). V současné době očekáváme udělení certifikátu akreditované laboratoře dle ISO 15 189. Vedle SOP laboratoř využívá pro diagnostiku a výzkum řadu dalších metod, jak komerčních, tak převzatých, případně modifikovaných. Kromě stanovení slizničních typů papillomavirů vyšetřujeme materiály také na přítomnost kožních typů a dále zvířecích papillomavirů metodou, která umožňuje detekovat i vzdáleně příbuzné izoláty těchto virů. Pro detekci zvířecích papillomavirů laboratoř dlouhodobě spolupracuje s virologickou laboratoří Rega Institutu, Univerzity v Leuven, v Belgii.

Kromě molekulárně–biologických metod detekce virové infekce stanovujeme přítomnost specifických protilátek proti nejrozšířenějším typům HPV a zavádíme a testujeme nové metody sérologické detekce. Tyto metody využíváme převážně pro výzkumné účely, ale nyní v souvislosti s očkováním proti HPV i pro účely diagnostické.

NRL testuje komerční soupravy pro stanovení HPV infekcí, připravuje vzorky pro externí hodnocení kvality terénních laboratoří a poskytuje konzultační a školicí služby.

Od roku 2004 je laboratoř úspěšně zapojena do mezinárodního Externího hodnocení kvality a v roce 2007 se zapojila do druhé mezinárodní EHK, zaměřené na velmi přesné typizační techniky určené pro specializované laboratoře. Laboratoř se dále aktivně zapojuje do sítě laboratoří organizované WHO. Výsledky srovnávací studie zaměřené na přesnost laboratorních metod pro HPV detekci a typizaci byly v letošním roce publikovány na adrese www.who.int/biologicals/vaccines/hpv/en/index.html. Velmi



intenzivně spolupracuje laboratoř s European Cervical Cancer Association (www.ecca.fr/cs), jejíž je ÚHKT reprezentované NRL od roku 2005 členem.

V roce 2009 laboratoř vypracovala na žádost Společnosti pro klinickou mikrobiologii ČSJEP návrh nových kódů pro úhradu HPV detekce od plátců zdravotní péče a připravila vzorky EHK pro 37 laboratoří.

Každoročně laboratoř pořádá Konzultační den pro pracovníky terénních laboratoří a lékaře, kteří se s problematikou infekce HPV ve své praxi setkávají. V roce 2009 bylo na konferenci předneseno 10 přednášek pro

více než 100 účastníků. V roce 2009 se pracovníci laboratoře účastnili aktivně vzdělávacích kampaní laické i odborné veřejnosti zaměřené na prevenci karcinomu hrdla děložního. Laboratoř má pět vysokoškolsky vzdělaných pracovníků se zdravotnickou registrací a jednoho středoškolsky vzdělaného pracovníka. ■

Komplement laboratoří ÚHKT

Komplement laboratoří ÚHKT je tvořen jednotlivými laboratořemi příslušnými do klinického, transfuziologického a výzkumného úseku. Ve vedení Komplementu laboratoří ÚHKT (KL) stojí vedoucí Komplementu laboratoří ÚHKT, který je přímo podřízený řediteli ÚHKT a je odpovědný za vedení komplementu laboratoří ÚHKT v souladu se systémem managementu kvality dle norem ISO 15189 a 17025 a jeho udržování a rozvoj. Vrcholové vedení tvoří také přednostové úseků ÚHKT, kteří řídí a odpovídají za procesy související s vykonáváním laboratorních vyšetření a jejich klinických interpretací.

Vrcholové vedení Komplementu laboratoří ÚHKT

- Vedoucí KL ÚHKT – Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- Zástupce vedoucího KL ÚHKT – RNDr. Marie Dobrovolná
- Manažer kvality KL – Hana Feixová
- Přednosta klinického úseku – Doc. MUDr. Petr Cetkovský, PhD.
- Přednosta transfuziologického úseku – Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
- Přednosta výzkumného úseku – Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.

V roce 2008 zahájil **Komplement laboratoří ÚHKT** přípravný proces k akreditaci dle normy ČSN EN ISO 15189 *Zdravotnické laboratoře – zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost*.

Systém managementu je posuzován Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. v následujících laboratořích:

■ Klinický úsek

- Morfologicko-cytochemická laboratoř
- Laboratoř PCR diagnostiky leukemií
- Laboratoř průtokové cytometrie
- Laboratoř hemokultivací
- Laboratoř pro poruchy hemostázy (NRL pro koagulace)

■ Transfuziologický úsek

- Laboratoř prevence virových nákaz
- Odběrová laboratoř
- Oddělení imunohepatologie (NRL pro imunohepatologii)
- HLA serologie

■ Výzkumný úsek

- Oddělení biochemie
- Oddělení buněčné fyziologie
- Národní referenční laboratoř pro papillomaviry

- Společné pracoviště ÚHKT a VFN Praha
- Oddělení cytogenetiky

V laboratořích Komplementu byl implementován a je používán systém managementu (SM) dle normy ČSN EN ISO 15189:2007; v oblasti odborné i v posouzených kritériích systémové části normy. Dodržování je prováděno systémem interních auditů; neshody jsou řešeny pomocí nápravných opatření; funkčnost a efektivnost je hodnocena při přezkoumání SM vedením. Program zlepšování je nastaven a realizován.

Ukazatele kvality – pro sledování příspěvku laboratoře k péči o pacienta

V návaznosti na proces „průchod vzorků laboratoří“ jsou definované následující ukazatele kvality:

- neshody v průběhu provádění laboratorního vyšetření
- oprávněné stížnosti na výsledky laboratorního vyšetření
- údaje z jednání mezi laboratoří a zákazníkem

V hodnoceném období za rok 2009 bylo uskutečněno 35 plánovaných interních auditů a 9 mimořádných interních auditů.

Jednotlivé laboratoře Komplementu laboratoří ÚHKT monitorovali spokojenost zákazníka (žadatele o vyšetření) v období leden – prosinec 2009. Dotazník obsahuje otázky týkající se nabídky služeb, reakcí laboratoře na požadavky zákazníka, dostupnost a chování osob pracujících v laboratoři, informovanost o službách a akcích laboratoře.

V průběhu roku 2009 nebyly řešeny žádné stížnosti ze strany žadatele o vyšetření ani ze strany pracovníků Komplementu laboratoří ÚHKT.

Zhodnocení neustálého zlepšování a ukazatele kvality

Základní postup pro zlepšování je stanoven v Cílech kvality na rok 2009, které budou průběžně naplňované a vyhodnocované.

Cíle budou navrženy a konkretizovány v rámci vlastního přezkoumání SM.

Jedním z podnětů pro zlepšování bude výsledek dozorového akreditačního auditu.

Akreditace Komplementu laboratoří ÚHKT

První zkušební systémový audit na cestě k získání akreditace proběhl v měsíci září. Úkolem auditu bylo odhalit chyby a nedostatky v nastavení systémové dokumentace.

Následně Komplement laboratoří ÚHKT předal dne 5. října 2009 přihlášku k posouzení plnění akreditačních kritérií na Český institut pro akreditaci, o.p.s.

V první vlně je k akreditaci přihlášeno **15 laboratoří (140 pracovníků) a 31 SOP**.

Laboratoře komplementu prokázaly dostatek potřebných prostorových, technických zdrojů k plnění kritérií normy.

Na základě zjištění vedoucího posuzovatele i jednotlivých odborných posuzovatelů lze předběžně konstatovat, že v průběhu posuzování prokázali pracovníci komplementu laboratoří hluboké znalosti a vysokou odbornou kompetenci k zastávaným činnostem, dobrou znalost používaného SM i velmi odpovědný přístup k jeho uplatňování v praxi. Akreditované metody vyšetření, kontrola, interpretace a uvolňování výsledků vyšetření jsou prováděny kvalifikovanými, způsobilými pracovníky.

Kvalita výsledků vyšetření je ošetřena validacemi/verifikacemi postupů, zabezpečením servisu zařízení, správnou metrologickou návazností; interním kontrolním systémem akreditovaných postupů vyšetření, monitoringem parametrů prostředí atd.; externí kontrola výsledků je zabezpečena účastí v EHK.

Komplement laboratoří ÚHKT se zavazuje k:

- plnění politiky kvality Komplementu laboratoří ÚHKT,
- neustálému zlepšování efektivnosti a rozvíjení systému řízení-systému managementu,
- politika kvality je závazná pro všechny zaměstnance Komplementu laboratoří ÚHKT a je zohledněna ve všech činnostech ÚHKT. Vedení ÚHKT v součinnosti s vrcholovým vedením Komplementu laboratoří ÚHKT poskytuje účinnou a odbornou pomoc, která je nutná k zajištění úspěšné aplikace této politiky.

Celý systém se podařilo nastavit v časovém horizontu 1,5 roku.



Provozně-ekonomický úsek

Počet zaměstnanců:	43
VŠ celkem:	9
SŠ celkem:	22
Ostatní personál:	12



Přednosta: Ing. Radek Lončák, MBA *Zástupce přednosty: Ing. Pavla Pintrová*

Provozně-ekonomický úsek

Radek Lončák
Pavla Pintrová

Správní oddělení

Radek Lončák
Hana Poláková

Technické oddělení

Miloš Hobza
Jiří Marek

Oddělení biomedicínské techniky

Radek Lončák

Ekonomické oddělení

Pavla Pintrová
Luba Brychová

Obchodní oddělení

Luba Brychová
Vlasta Bejčková

Personální oddělení

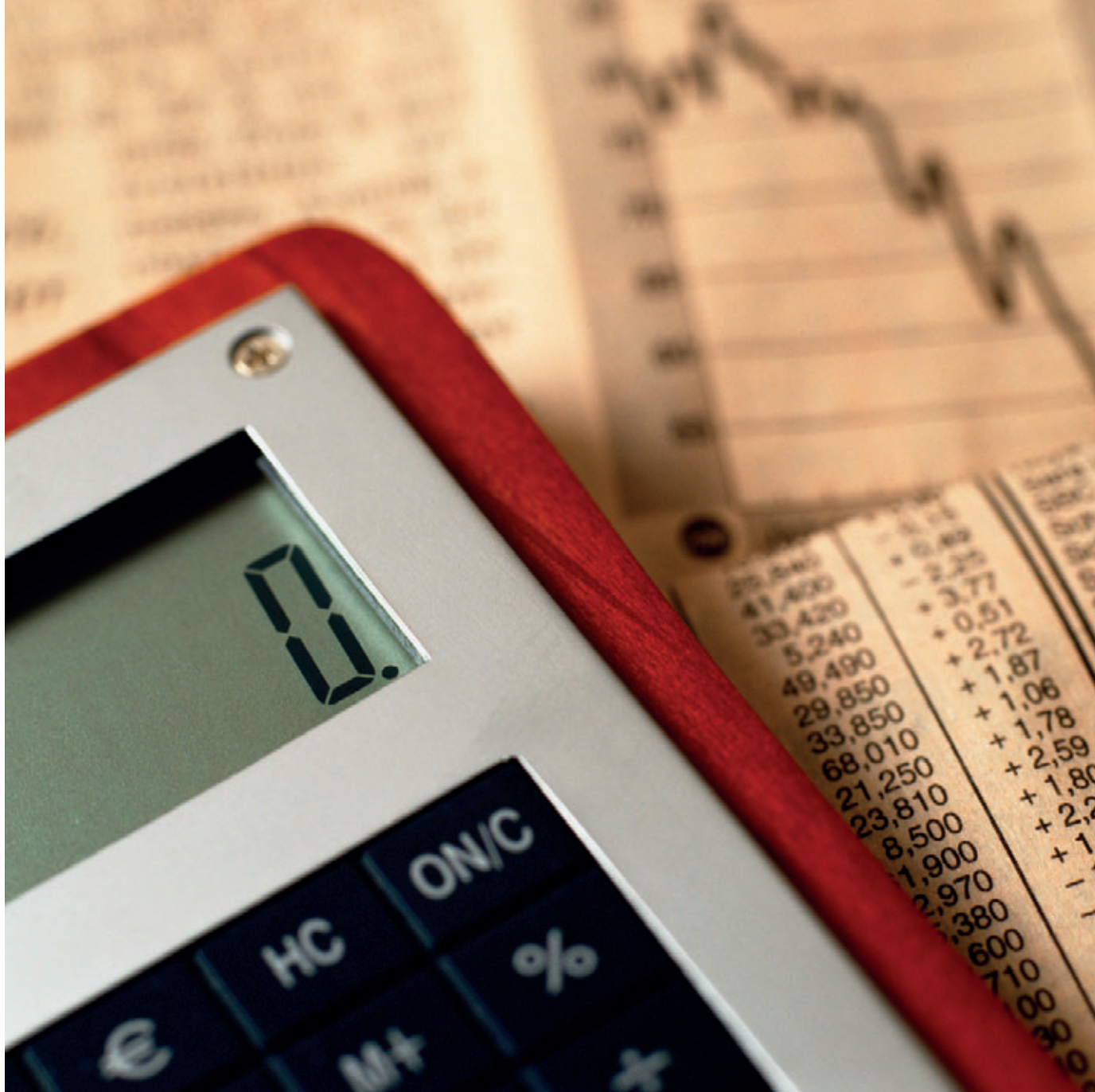
Pavčina Melicharová
Jaroslava Dvořáková

Oddělení informačních a komunikačních technologií

Vladimír Tymáň
Petr Ševčík

Administrativa výzkumu (granty)

Radek Lončák
Hana Kynclová



Provozně-ekonomický úsek vytváří komplexní provozní a ekonomickou podporu činností a služeb Ústavu hematologie a krevní transfuze. Svým výkonem zabezpečuje zázemí ústavu ve všech oblastech technických, ekonomických, obchodních, personálních a správních. Jeho hlavním úkolem je především služba ostatním úsekům ústavu k efektivnějšímu zajištění jejich výkonových činností s cílem dosažení nejlepších výsledků a ekonomizace jednotlivých procesů.

Provozně-ekonomický úsek vznikl v druhé polovině roku 2009, kdy došlo k opětovnému spojení dvou samostatných úseků, a to úseku Ekonomického a Technicko-správního. Tento krok byl učiněn na základě předcházejícího personálního auditu, který ve své závěrečné zprávě navrhoval takový postup v rámci zvýšení produktivity práce a organizačního řízení. Nedílnou činností

provozně-ekonomického úseku je realizace procesů směřujících k ekonomizaci a zefektivnění všech dosavadních činností ústavu tak, aby bylo zajištěno stabilní vnitřní prostředí pro realizaci všech rozvojových vizí a strategií ústavu v dlouhodobém horizontu. Tohoto záměru lze dosáhnout řízenou centralizací některých služeb a procesů s dosažením zvýšení produktivity a efektivnosti činností.

Provozně ekonomický úsek v novém organizačním členění v sobě zahrnuje níže uvedená oddělení:

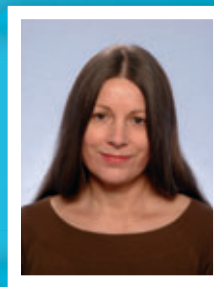
- ekonomické oddělení (finanční a mzdová účtárna, pracoviště zdravotních pojišťoven),
- technické oddělení (údržba, stavební investice, vrátnice, provozní zázemí),
- personální oddělení (evidence vzdělávání zaměstnanců, kontrola plnění

kvalifikačních předpokladů),

- obchodní oddělení (nákup, sklady a expedice),
- oddělení informačních a komunikačních technologií (podpora koncových uživatelů, správa operačních systémů a aplikací),
- administrativa výzkumu (administrace grantů a dotačních projektů),
- oddělení biomedicínské techniky (technická evidence, investice zdravotnických technologií),
- správní oddělení (spisová služba, archivace, skartace, evidence). ■

Ekonomické oddělení

Počet zaměstnanců:	10
VŠ celkem:	2
SŠ celkem:	8



Vedoucí oddělení:
Ing. Pavla Pintrová



Zástupce vedoucího:
Luba Brychová

Posláním ekonomického oddělení je odborná pomoc vedení a pracovníkům ústavu v ekonomických činnostech a vztazích. Přitom nejdůležitějším z úkolů oddělení je zajistit vyrovnaný rozpočet a dostatek finančních prostředků na úhradu splatných závazků ÚHKT.

Členění ekonomického oddělení:

■ Pracoviště účtáren – vedoucí

Ing. Gabriela Mengrová

Kolektiv pracovníků účtáren zajišťuje veškeré činnosti finančního účetnictví. K tomu využívá modul *Účetnictví* ekonomického informačního systému *Helios Green*. Z tohoto důvodu je pod pracovištěm účtáren organizačně začleněna i pokladna. Pracoviště účtáren využívá i moduly *Smlouvy* a *Zakázky* ekonomického informačního systému *Helios Green*, kde se sleduje čerpání rozpočtů grantů a klinických studií a hospodaření se sponzorskými dary. V 2. pololetí 2009 pracoviště účtáren mimořádně zajišťovalo i činnost ústavní podatelny.

■ Pracoviště vyúčtování zdravotní péče

příslušným zdravotním pojišťovnám, které využívá modul *Pojišťovna* klinického informačního systému *UNIS*. Od roku 2007 funguje elektronické předávání dat přes portál pojišťoven na základě dodatku k rámcovým smlouvám s pojišťovnami. Pracovnice

oddělení verifikuje data elektronickým podpisem. Přes portál také pravidelně aktualizuje registry pojištěnců a číselníky IČP žadatelů o výkony v klinickém informačním systému.

- **Pracoviště ekonomiky a vyúčtování mezd a platů**, které vede mzdovou a daňovou agendu zaměstnanců ÚHKT s využitím mzdového modulu *SW VEMA* a zajišťuje výpočet povinných odvodů zdravotního a sociálního pojištění.

Výsledky hospodaření ústavu

V roce 2009 hospodařil ústav bez příspěvku zřizovatele na provoz se ziskem 6 148 310 Kč.

Na společenské změny a obecnou finanční krizi reagovala úhradová vyhláška MZČR pro rok 2009 razantním snížením ceny bodu v odbornosti 816 – lékařská genetika o 22,2 % a v ostatních laboratorních odbornostech o 2,2 %. Celkové krácení výnosů ÚHKT z důvodu změny cenového předpisu je 45 549 533 Kč. Za těchto okolností je dosažení kladného výsledku hospodaření za rok 2009 zcela mimořádným úspěchem.

Bilanční suma ÚHKT meziročně vzrostla o 4 %, podíl vlastního jmění na celkové bilanční sumě vzrostl ze 78,9 % na 81,0 %. Objem závazků se meziročně o 4 % snížil. Nebyly evidovány žádné závazky po lhůtě

splatnosti s výjimkou dokladů, u kterých k datu účetní závěrky ještě probíhalo dodatečné ověřování oprávněnosti fakturace.

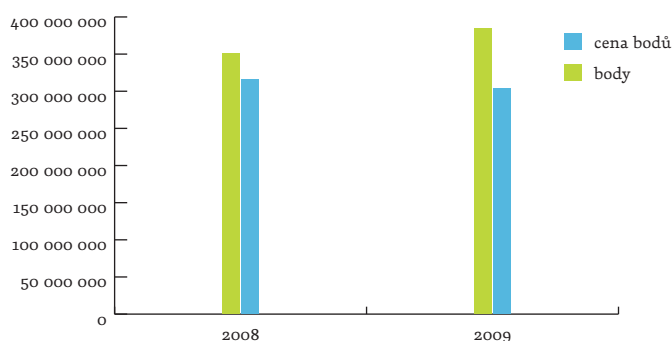
Zůstatek finančních prostředků na bankovních účtech o 8,5% klesl, příčinou je hlavně zvýšené čerpání fondu reprodukce investičního majetku na realizaci dlouho plánované akce „Rekonstrukce transplantační jednotky“.

Od roku 2008 je okamžitá likvidita ÚHKT více než stoprocentní. Po odečtení zůstatků finančních fondů je možné z volných finančních prostředků kdykoliv uhradit veškeré závazky ÚHKT. Bezvadné finanční zdraví ÚHKT je způsobeno jednak kladným kumulovaným hospodářským výsledkem uplynulých let, jednak skutečností, že v roce 2009 navzdory pesimistickým odhadům nedocházelo k prodloužení zdravotních pojišťoven se zálohovými platbami.

Výnosy od zdravotních pojišťoven v roce 2009

Přes výše popsané razantní snížení cen výkonů bylo v roce 2009 dosaženo dalšího zvýšení výnosů, především výnosů od zdravotních pojišťoven. Celkový roční obrát ÚHKT se rychle blíží k hranici 1 miliardy Kč.

Vedle meziročního navýšení objemu mimořádně nákladné péče souvisí zvýšení výnosů →



Graf č. 1: Výkon v bodech – porovnání s úhradou.



Graf č. 2: Vývoj výnosů ÚHKT od roku 2004.

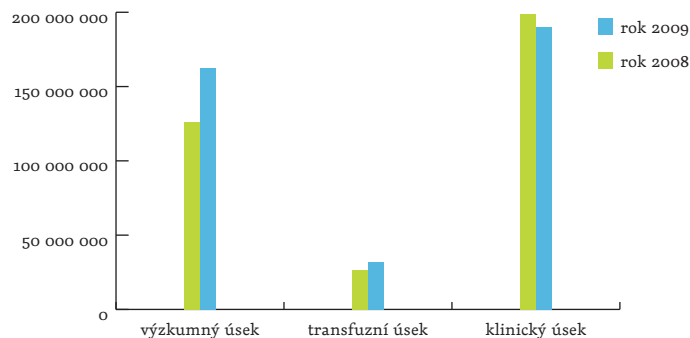
od zdravotních pojišťoven částečně ještě s vyúčtováním roku 2008, částečně je důsledkem vývoje na trhu zdravotního pojištění a změn smluvních ujednání se zdravotními pojišťovnami. V roce 2009 zanikly zdravotní pojišťovna Agel, Hutnická zdravotní pojišťovna a Česká národní zdravotní pojišťovna. Vznikly zdravotní pojišťovna MÉDIA a Česká průmyslová zdravotní pojišťovna. Ve srovnání s rokem 2008 se zvýšil podíl výkonového způsobu úhrady na celkovém počtu bodů o 3,4 % na výsledných 14,6 %, tj. téměř o jednu šestinu. Pro výkonový způsob úhrady se cena bodu meziročně zvýšila o 0,01 Kč a je v odbornosti 816 – lékařská genetika o 30 % vyšší než při paušálním způsobu úhrady. V souvislosti s pronikáním soukromých subjektů na trh se zdravotním pojištěním dochází k přísnějšímu revidování původních i opravných dávek dokladů. Následkem sníženého výběru zdravotního pojištění však totéž začíná platit i u ostatních zdravotních pojišťoven, kde je smluvně ujednán výkonový způsob úhrady (od roku 2009 jsou to v ambulantní složce úhrady de facto všechny zdravotní pojišťovny).

Na celkovém zvýšení výkonů pro zdravotní pojišťovny o 9,5 %, tj. 33 204 tis. uznaných bodů, se podílel výzkumný úsek 36 278 tis. bodů, transfuzní úsek 5 512 tis. bodů a na klinickém úseku se projevila rekonstrukce transplantační jednotky poklesem výkonů pro zdravotní pojišťovny o 8 586 tis. bodů v souladu s předběžným odhadem ztráty výkonu v ošetrovacích dnech.

Přímé náklady klinického úseku ÚHKT v roce 2009

V roce 2009 došlo na klinickém úseku ke zvýšení přímých materiálových nákladů na péči o pacienty ÚHKT o 13,3 %, tj. o 55 055 tis. Kč. Z toho v ambulanci o 44 960 tis. Kč. Převážná část těchto nákladů vznikla v souvislosti s ošetřováním mimořádně nákladných pacientů. Péče o ně byla vykázána formou zvlášť účtovaných léčivých prostředků a bude uhrazena v rámci vyúčtování záloh v roce 2010.

Graf č. 3:
Vývoj počtu
bodů za úseky.



Změny v odměňování zaměstnanců v roce 2009

Průměrný plat zaměstnanců ÚHKT se meziročně zvýšil o 11 %. Přepočtený evidenční počet zaměstnanců ÚHKT se zvýšil o 1 %.

V průběhu roku postupně vešlo v účinnost několik vládních nařízení o změně tarifních platů zaměstnanců. Celková suma zvýšení tarifních platů za rok 2009 je 6 089 tis. Kč. Vzhledem k tomu, že vládní nařízení budou v roce 2010 platit po celý rok, je očekáváno další zvýšení tarifních platů o 6 378 tis. Kč proti skutečnosti roku 2009. Z celkového očekávaného zvýšení tarifních platů v roce 2010 představuje jednu třetinu zvýšení platů všeobecných sester.

Průměrný plat vzrostl v ÚHKT za období uplynulých pěti let o 65 %. Růst průměrného platu korespondoval s vývojem měsíční produktivity v bodech (viz graf č. 4), která za stejné porovnávací období vzrostla o 52 % (viz graf č. 5). Jedním z cílů rozpočtu na rok 2010 je průměrné úrovně odměňování a produktivity udržet také v následujícím roce, i když se podle plánovacích předpokladů vnější ekonomické podmínky činnosti ústavu výrazně zhorší.

Náklady vynaložené na movitý a nemovitý majetek v roce 2009

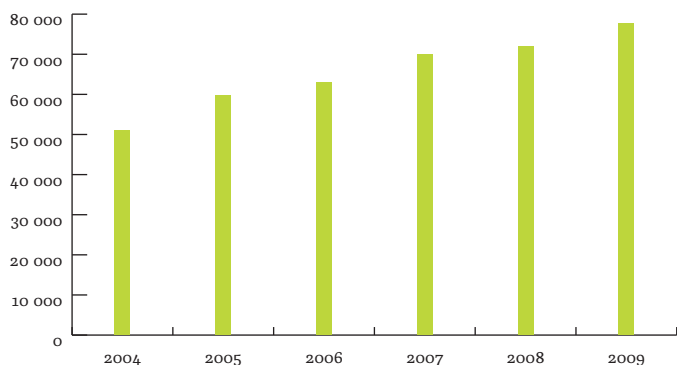
Objem investičního majetku s pořizovací cenou vyšší než 40 tis. Kč vzrostl v roce

2009 o 8,4 % (21 471 tis. Kč) díky investicím v celkové výši 47 482 tis. Kč. Zůstatková cena majetku zařazeného do užívání v minulých letech se přitom snížila o roční odpisy v celkové výši 26 010 tis. Kč. Znamená to, že objem investičního majetku v peněžním vyjádření téměř dvakrát rychleji rostl, než ubýval.

Větší část prostředků byla investována v rámci realizace dlouho plánované akce „Rekonstrukce transplantační jednotky“. Nebyla zahájena plánovaná akce „Rekonstrukce komplementu ÚHKT“, která měla navazovat na akci „Rekonstrukce ambulancí ÚHKT“, dokončenou v roce 2006. Účast státního rozpočtu na investicích (s výjimkou grantů) byla nulová.

Shrnutí a závěr

V roce 2009 dokázal ÚHKT udržet pozitivní trend finančního ozdravování organizace. Díky tomu bylo možné bez zhoršení likvidity a bez hrozby hospodářských ztrát dále rozvíjet motivaci zaměstnanců k jejich stabilizaci i rozšířenou reprodukci majetku, oboje s cílem dalšího zkvalitnění prostředí a péče poskytované v ÚHKT pacientům. ■



Graf č. 4: Vývoj produktivity práce v bodech.



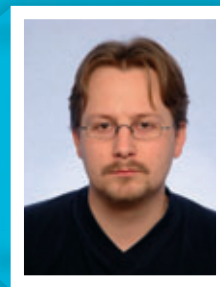
Graf č. 5: Přírůstek měsíční produktivity v % ve srovnání s rokem 2004.

Informační a komunikační technologie

Počet zaměstnanců:	6
VŠ celkem:	3
SŠ celkem:	3
Ostatní personál:	0



*Vedoucí oddělení:
Ing. Vladimír Tymář*



*Zástupce vedoucího:
Petr Ševčík*

Oddělení Informačních a Komunikačních Technologií (IKT) zajišťuje komplexní správu ústavní počítačové a komunikační infrastruktury. Pod tím rozumíme nejen správu síťové struktury a aktivních prvků sítě, ale i správu serverů a uživatelských stanic, tiskáren a kopírovacích strojů.

Oddělení dále provádí nákup, instalaci a údržbu hardware i software. Pracovníkům poskytuje kompletní uživatelskou podporu a školení.

Další náplní je zajištění provozu a interoperability informačních systémů v rámci ústavu (klinický a laboratorní nemocniční informační systém UNIS, transfuzní systém Amadeus, aplikace pro zpracování klinických dat pomocí metody DRG SWLab DRG, ekonomický systém Helios Green, telekomunikační systémy, systémy internetových služeb, systémy sdílení souborů) i mimoústavních (přenos laboratorních výsledků z VFN a FN Motol v elektronické formě, komunikace s Národním registrem vzácných a vyřazených dárců Transnet) a zajištění komunikace s dodavateli.

V neposlední řadě IKT zajišťuje provoz komunikační infrastruktury, jako je např. telefonní ústředna, mobilní a pevné telefony, faxy, technika pro telekonference apod.

Výsledky v roce 2009

V roce 2009 byl realizován přechod na novou verzi používaného ekonomického informačního systému Helios Green, který byl vynucen končící podporou databázového serveru, na kterém je Helios Green provozován. Současně s tím byla provedena i výměna hardwaru nákupem nového, výkonného serveru. Díky tomu došlo k výraznému zlepšení rychlosti a kapacity ekonomického informačního systému Helios Green.

Bylo vybudováno a zprovozněno redundantní páteřní optické datové propojení budov A-B areálu ÚHKT. Datová konektivita v rámci ÚHKT a navenek tak zůstane zachována i v případě poruchy jakéhokoliv aktivního prvku na optických datových spojích mezi budovami A–B či mechanickému přerušení datového spoje, např. při stavebních úpravách apod. Tím bylo dosaženo výrazně vyšší odolnosti interní datové sítě proti výpadkům způsobenými vnějšími vlivy.

V rámci zkvalitňování služeb našim pacientům, dárcům a obecně všem návštěvníkům ÚHKT bylo rozšířeno pokrytí bezdrátového (Wi-Fi) datového připojení a zlepšena kvalita signálu díky přidání několika přípojných míst, tzv. hotspotů.

V první polovině roku 2009 došlo k nákupu a zprovoznění aplikace ShiftMaster pro optimální plánování a evidenci směn pracovníků s nerovnoměrně rozvrženou pracovní dobou ve zdravotnických provozech. Pomocí systému ShiftMaster lze zavést do plánování a evidence směn legislativně správné postupy bez zvýšení zátěže pracovníka pověřeného touto prací a současně je i optimalizovat.

V souladu s požadavky uživatelů, pracovníků ústavu, byla provedena náhrada dvou kopírovacích strojů sloužících k centrálnímu kopírování a tisku dokumentů. Nyní je možné nejenom kopírování a tisk, ale navíc i snímání předloh do elektronické podoby (skenování) a to vše v barevném provedení, čímž bylo dosaženo zvýšení úrovně uživatelských služeb.

Plánované aktivity

Průběžným cílem oddělení IKT je trvale zvyšovat kvalitu služeb poskytovaných ústavní veřejnosti, další integrace

a rozvoj informačních systémů v rámci ústavu i ve spolupráci s dalšími zdravotnickými zařízeními.

Nejbližším cílem je implementace full-textového prohledávání informací v dokumentech dostupných jak na webových stránkách ústavu, tak na sdílených discích souborových serverů. Tím dojde k výrazné minimalizaci času potřebného k dohledání dokumentů obsahujících požadovaný text. Další úsilí bude věnováno doladění ekonomického systému, jeho vazba na nemocniční informační systém a zefektivnění vykazování léčebné péče pojišťovně. ■

Technické oddělení

Počet zaměstnanců:	14
VŠ celkem:	0
SŠ celkem:	4
Ostatní personál:	10



Vedoucí oddělení:
Miloš Hobza



Zástupce vedoucího:
Jiří Marek

Hlavním úkolem technického oddělení je zajištění technických činností ústavu, včetně údržby a správy budov a dalších nemovitostí, zajištění oprav a údržby dalšího majetku, včetně přístrojového vybavení, komplexní zajišťování velkých investičních akcí, operativní evidence majetku a zajištění běžných organizačních činností ústavu. Do činnosti údržby kromě denní běžné práce patří odstraňování drobných závad v elektroinstalačních rozvodech a zařízení, zdravotně technické instalace, zámečnických a topenářských prací, tak i prací na opravách chladících zařízení. Z legislativní části je to pak především příprava smluv uzavíraných s dodavateli. Důležitou činností je práce v oblasti revizí přístrojů a zařízení, BOZP a PO, řešení likvidace odpadů. Technické oddělení také řeší pojistné události.



V souladu s podmínkami mezinárodní akreditace JCI zajišťuje technické oddělení realizaci plánu preventivních prohlídek a kontrol ústavu.

V roce 2009 techničtí pracovníci zajišťovali, zejména organizačně spolu s technickým dozorem investora, realizaci akce „Rekonstrukce VZT pro transplantační jednotku“, která byla zahájena na konci srpna a dokončena na počátku listopadu. Rekonstrukce probíhala při zachování běžného provozu ústavu s vyloučením vybraných činností, zejména transplantací.

- Předmětem rekonstrukce byla výměna stávající VZT, její rozšíření a stavební úpravy, kterými došlo k novému uspořádání pokojů pacientů, včetně sociálních zařízení, sesterny i zázemí transplantační jednotky.
- Rekonstrukce umožnila výhodněji a efektivněji využít celkový prostor transplantační jednotky, čímž mohlo dojít k znatelné změně organizace provozu v souladu s moderními trendy poskytování zdravotní transplantační péče.
- V rámci přístrojového a technologického vybavení byla vybudována nová

datová síť pro centrální monitoraci fyziologických funkcí, která je přímo integrována do nových medicínálních ramp. Dále byla významnou měrou rozšířena infuzní technika a pokoje pacientů vybaveny novými lůžky s nově zavedenou audio technikou.

Mimo tuto rozsáhlou rekonstrukci zajišťovalo technické oddělení další „menší“ akce napříč celým areálem ústavu. Z toho například v budově A probíhala v úplném závěru roku 2009 lokální rekonstrukce pracovny přednasty a laboratoří výzkumného úseku. V 3. NP budovy B byla v rámci schodišťové haly vestavěna místnost Mikroskopické pracovny laboratoře PCR diagnostiky leukémií. V budově C probíhala rozsáhlá rekonstrukce elektroinstalace celé administrativní části. Dále v této budově proběhla výměna starých oken za nová moderní hliníková, za účelem zlepšení pracovních podmínek, bezpečnosti i úspory energií.

V průběhu roku, po jednotlivých etapách, probíhala aktualizace projektové dokumentace dlouhodobě plánované investiční akce se státní účastí – ÚHKT Praha – rekonstrukce komplementu. Rekonstrukce prostor

komplementu je pokračováním stavebních úprav prováděných v objektu B, kdy tento projekt navazuje na akce „Rekonstrukce ambulancí“ z června 2005 a právě dokončenou a výše zmiňovanou „Rekonstrukci VZT pro transplantační jednotku“ Klinického úseku. Rekonstrukce komplementu bude organizována po etapách za provozu stávajících profesních oddělení komplexu ÚHKT.

V rámci strategického záměru postupného zvyšování komfortu pacientů byla dokončena kompletace anténního rozvodu ÚHKT, spolu s rozšířením programové nabídky TV stanic.

Technické oddělení i pro rok 2010, v souladu se strategickým záměrem rozvoje Ústavu hematologie a krevní transfuze a legislativou České republiky, připravuje a rozvíjí další projekty a plány nových technologií, procesů, činností a služeb k zajištění efektivního provozu. ■

Středisko vědeckých lékařských informací (SVLI)

Počet zaměstnanců:	6
VŠ celkem:	3
SŠ celkem:	3



Vedoucí oddělení:
Mgr. Jana Havelková



Zástupce vedoucího:
Hana Petrášková

Odborná činnost

Od roku 2003 je knihovna SVLI zaregistrována na ministerstvu kultury ČR ve smyslu nového knihovního zákona jako specializovaná knihovna. V souladu se statutem ÚHKT, knihovním zákonem č. 257/2001 Sb. a platným knihovním řádem poskytovalo SVLI knihovnické, bibliograficko-informační, rešeršní, grafické a reprografické služby klinickým, vědeckým i ostatním odborným pracovníkům ústavu a dalším uživatelům odborné zdravotnické veřejnosti v rámci ČR. Pro tuto činnost je SVLI od roku 1994 akreditováno Ministerstvem zdravotnictví ČR.

Řešená problematika a výsledky v roce 2009

Stále větší důraz je kladen na zajištění kvalitní nabídky elektronických informačních zdrojů (EIZ). SVLI administruje a prostřednictvím ústavního intranetu na adrese (intra.uhkt.cz/izdroje) tyto zdroje zpřístupňuje. V roce 2006 oddělení SPIS vytvořilo mechanismus umožňující pracovníkům ÚHKT (autorizovaným uživatelům) vzdálený přístup k licencovaným EIZ odkudkoliv z internetu. V roce 2008 se SVLI zapojilo do příprav projektu INFOZ – Informační zdroje pro výzkum, jehož cílem je zpřístupnit klíčové vědecké zdroje pro oblast výzkumu a vývoje za výhodných licenčních podmínek v letech 2009–2011 formou „konsorcií“ na přístup k titulům vybraných světových nakladatelství. ÚHKT je od r. 2009 členem konsorcia WILEY/Blackwell, tento webový konsorciální přístup k téměř 1 400 titulům vydavatelství John Wiley & Sons a Blackwell Synergy podstatně rozšířil pracovníkům ÚHKT nabídku elektronických časopisů.

Prostřednictvím ústavního intranetu byly přístupné databáze:

- velkoplošná multilicence Web of Knowledge (Web of Science, JCR – Journal Citation Reports, Current Contents Connect),
- bibliografická databáze Bibliographia Medica Československa (BMČ),

- OVID (OVID Medline 1966+, EBM Reviews 1991+, Biomedical Core Collection),
- SCOPUS.

V září 2009 byla zakoupena síťová licence aplikace RefWorks (systém pro tvorbu a správu osobních bibliografií a sdílení bibliografických citací).

Celkové náklady na databáze činily 550 603 Kč.

V roce 2009 bylo pro zaměstnance ÚHKT zpracováno 90 retrospektivních i průběžných rešerší z výše uvedených i dalších zdrojů.

Bylo předplaceno celkem 109 titulů periodik – 52 českých a slovenských, 57 zahraničních. Knihovna odebírá 19 v ČR unikátních zahraničních titulů, náklady na tyto unikáty v roce 2009 činily 706 654 Kč. Celkové náklady na předplatné odborných časopisů pro rok 2009 byly 2 771 067 Kč.

V rámci meziknihovních služeb MVS bylo celkem vyřízeno 374 externích požadavků.

Pro zaměstnance ÚHKT SVLI zajistilo dodání 1 153 článků, z toho prostřednictvím mezinárodní služby DDS SUBITO celkem 101 článků a prostřednictvím Národní knihovny ČR 20 článků.

SVLI i v roce 2009 evidovalo publikační činnost vědeckých pracovníků ústavu za předchozí rok 2008 a pokračovalo ve vytváření a údržbě ústavní databáze publikací, včetně jejich výstupů – od roku 2005 se publikační činnost zpracovává do automatizovaného knihovnického systému Advanced Rapid Library (ARL).

Z intranetových i internetových stránek ÚHKT je přímý link na *on-line katalog ARL/EPCA* (arl4.library.sk/iz/iz.entry.cls?ictx=uhkt&logout=1&language=2&skin=).

SVLI zpracovalo a předalo údaje o publikační činnosti ústavu za rok 2008 do celostátního *Registru informací o výsledcích*

státem podporovaného výzkumu a vývoje (RIV) Radě vlády ČR pro výzkum, vývoj a inovace. Předání těchto dat v přesně definované podobě je jednou ze základních podmínek pro poskytnutí institucionálních i účelových prostředků na výzkum a vývoj. Publikační aktivita pracovníků ÚHKT za rok 2009 bude zpracována během února 2010.

Pracovnice SVLI spravovaly a jedenkrát týdně provozovaly zaměstnaneckou **knihovnu odborů ÚHKT** s beletrií. Roční přírůstek zde v roce 2009 činil, včetně darů, 64 knih v ceně 15 000 Kč, 96 uživatelů knihovny si vypůjčilo celkem 863 knih.

Oddělení grafických služeb SVLI v roce 2009 zhotovilo celkem 18 posterů, 8 prezentačních prací různého rozsahu a složitosti (s průměrným počtem stran 30), 12 příprav publikací do tisku a 49 drobných DTP, jmenovky pro zaměstnance ÚHKT a jiné grafické práce pro zaměstnance ÚHKT i externí zákazníky.

Národní a mezinárodní spolupráce

Na ukončený projekt MŠMT ČR 1No4144 – *Web of Knowledge – Velkoplošná multilicence bibliografické databáze navazuje v letech 2009–2011 projekt SMSM2009VZ001 – ISI Web of Knowledge*, který zaměstnancům ÚHKT umožňuje on-line přístup do databází *Web of Science*, *Journal Citation Report* a *ISI Proceedings*.

SVLI pokračuje ve spolupráci na projektu *MEDVIK (medicínská virtuální knihovna)*, který řídí Národní lékařská knihovna. Cílem je síťové sdílení informačních zdrojů pro vědu a výzkum. Do systému se integrují data zapojených institucí (Národní lékařská knihovna, Oddělení vědeckých informací MZ ČR, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, Státní ústav pro kontrolu léčiv, Institut klinické a experimentální medicíny, ÚHKT). On-line katalog OPAC MEDVIK umožňuje vyhledávání ve zdrojích SVLI a v katalozích institucí zapojených do projektu MEDVIK. ■

Výzkumný záměr

Reg. č. MZO 0002373601
Název Význam molekulárně biologických vyšetření pro objasnění patogeneze a pro diagnostiku poruch krvetvorby a využití krvetvorné buňky v léčbě onemocnění krvetvorby a jiných tkání.
Trvání 2005–2011
Řešitel Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
Anotace Využití molekulárně biologických vyšetření pro objasnění patogeneze a pro diagnostiku a léčbu poruch krvetvorby. Sledování významu změn struktury a funkce genomu pro diagnosu, prognosu a léčbu vrozených a získaných onemocnění krvetvorby. Sledování významu aktivace jednotlivých složek koagulačního systému u nádorových onemocnění krvetvorby. Objasnění molekulární podstaty vzácných fenotypů erytrocytů a některých vrozených poruch erytropoezy. Využití kmenové krvetvorné buňky v léčbě a onemocnění krvetvorby a jiných tkání, manipulace s kmenovými krvetvornými buňkami pro buněčnou terapii, sledování úlohy transplantace krvetvorných buněk v léčbě nádorových onemocnění krvetvorby, sledování bezpečnosti mobilizace a separace dárců krvetvorných buněk získaných z periferní krve, sledování genetických faktorů ovlivňujících úspěšnost transplantace krvetvorných buněk.

Grantové projekty

IGA MZ – Interní grantová agentura MZ ČR

Reg. č. IGA MZd NS10 634-3/2009
Název Imunologické studie s myšimi a lidskými buňkami transformovanými fúzním genem bcr-abl
Trvání 2009–2011
Řešitel Prof. MUDr. Vladimír Vonka DrSc.
Spoluřešitel RNDr. Šárka Němečková, DrSc.; RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.; MUDr. Hana Klamová, CSc.; MUDr. Petr Kobylka, CSc.; Doc. RNDr. Petr Stöckbauer, CSc.; Mgr. Martina Petráčková; Mgr. Vincent Lučanský; Monika Kremeníčková; Mgr. Ing. Libor Staněk
Anotace Jde o rozšíření současných vědomostí o imunologické reaktivitě proti myším buňkám transformovaným fúzním genem bcr-abl. Hlavním cílem je konstrukce terapeutických vakcín z genově modifikovaných buněk. Z pokusů by měly vzejít poznatky, které vytvoří předpoklady pro vznik nové strategie pro léčbu chronické myeloidní leukemie (CML). Jako příprava pro její realizaci budou zavedeny postupy umožňující izolaci buněčných linií z kultur pupeč- níkových kmenových buněk a posléze od pacientů s CML. Ty budou sloužit jako substrát pro měření specifických imunitních reakcí a po genetické manipulaci resultující v produkci různých imunos- timulačních a antiangiogenetických faktorů se v budoucnu stanou kandidáty na autologní terapeutické vakcíny.

Reg. č. IGA MZd NS10/656-3/2009
Název Typově specifická prevalence HPV ve screeningové populaci žen
Trvání 2009–2011
Řešitel RNDr. Ruth Tachezy, PhD.
Anotace Zjištění věkově závislé prevalence HPV ve stěru z dě- ložního hrdla v populaci žen v ČR, které se účastní preventivních gynekologických vyšetření (oportunního screeningu), zjištění

rozložení typů HPV v této skupině žen a porovnání HPV nálezů ve skupině žen bez klinického nálezu a žen se suspektním nebo patologickým nálezem na děložním hrdle, rekrutujících se z této screeningové populace. Porovnat běžně používanou metodu de- tekce vysoko-rizikových (HR) typů HPV a vysoce specifickou a citli- vou metodu detekce a typizace HPV z hlediska detekce spektra HR HPV vyskytujících se v české populaci.

Reg. č. IGA MZd NS10623-3/2009
Název Nové molekulární markery reziduální nemoci u nemocných s akutní myeloidní leukémií
Trvání 2009–2011
Řešitel RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.
Anotace Cílem projektu je nalezení nových molekulárních markerů monitorování minimální reziduální nemoci především pro ty pacienty s akutními myeloidními leukemiemi (AML), kteří nemají žádný vhodný specifický molekulární marker. Ve vzor- cích krve od pacientů AML bude stanovována exprese, mutace a metylace vybraných genů především pomocí kvantitativní PCR v reálném čase a výsledky budou porovnávány s průběhem léčby pacientů. Nalezení nových molekulárních markerů přispěje k indi- vidualizaci léčby a ke zvýšení přežití těchto nemocných.

Reg. č. IGA MZd NS10660-3/2009
Název Vývoj experimentální vakcíny proti WT 1 k imunoterapii nádorů
Trvání 2009–2011
Řešitel RNDr. Šárka Němečková, DrSc.
Spoluřešitel M. Indrová, ÚMG, AV ČR
Anotace Gen WT1 je exprimován v buňkách myeloidních leukemií a v některých pevných nádorech. WT1 je autologním proteinem, přesto je slabě imunogenní a je považován za slibný terčový antigen pro imunoterapii nádorů. Regulace exprese genu WT1 se účastní také epigenetické mechanismy a bylo po- zorováno, že inhibitory modifikace chromatinu 5-azaC, 5-azadC a trichostatin A zvyšují expresi genu WT1, což by mohlo zvýšit citlivost nádorových buněk k účinkům imunizace. Cílem projektu je vývoj rekombinantních vakcín proti antigenu WT1 založených na účinném štěpení a prezentaci vícečetných optimalizovaných epitopů pro imunoterapii nádorů exprimujících WT1 na myším modelu. Dalším cílem je vývoj kombinované chemo-imunoterapie nádorů založené na epigenetické senzitivizaci nádorových buněk vůči efektu WT1 specifické adaptivní buněčné imunity vyvolané imunizací rekombinantními vakcínami proti WT1.

Reg. č. IGA MZd NS9637-4
Název Interakce mezi nukleárními a nukleolárními regulátory buněčné proliferace a apoptotickými efekty při vzniku, rozvoji a léčbě leukémií
Trvání 2009–2011
Řešitel Mgr. Barbora Brodská, PhD.
Spoluřešitel Mgr. Petra Otevřelová, Ing. Michaela Pluskalová, PhD., Ing. Dana Grebeňová
Anotace Interakce mezi regulátory buněčné proliferace a apoptotickými efekty protinádorové obrany v normálních a leukemických buňkách. Změny tvorby a lokalizace interakčních

komplexů při vzniku krevních malignit, význam v časné diagnostice a léčbě leukémií. Studium interakčních komplexů v normálních krevních buňkách a v buňkách leukemických linií metodami: imunoblot, afinitní chromatografie, kvasinkový 2-hybridní systém, hmotová spektrometrie, průtoková cytometrie, fluorescenční mikroskopie.

Reg. č. IGA MZd NS9634-4/2008
Název Stanovení SNP a DNA methylačního profilu u pacientů s myelodysplastickým syndromem pomocí mikročipové technologie.

Trvání 2008–2011

Řešitel Mgr. Monika Belíčková

Anotace Předmětem projektu je vytvoření SNP a DNA methylačního profilu pacientů s myelodysplastickým syndromem. K vytvoření profilů bude použita mikročipová technologie firmy Illumina, konkrétně „Cancer SNP Panel“ pro detekci 1421 jednonukleotidových polymorfismů nacházejících se v 408 genech a „Methylation Cancer Panel“ pro detekci 1505 CpG lokusů vybraných z 807 genů. Získané profily pacientů se porovnají s profily zdravých jedinců a stanoví se vzájemné odchylky. Detekované odchylky mohou být využity ke zjištění genů podílejících se na vzniku dané choroby. Profily pacientů zařazených do skupiny s nízkým rizikem leukemické transformace se porovnají se skupinou pacientů s vysokým rizikem a s pacienty již transformovaných do akutní myeloidní leukemie. Ze získaných dat mohou být určeny geny zodpovědné za malignizaci buňky a transformaci do akutní myeloidní leukemie.

Reg. č. IGA MZd NS10633-3/2009
Název Posttranslační modifikace bílkovin v aktivovaných krevních destičkách

Trvání 2009–2010

Řešitel Ing. Jiří Suttner, CSc.

Spoluřešitel MUDr. Martin Malý, PhD.,
Fakultní nemocnice v Motole

Anotace Cílem projektu je pomocí proteomických technik identifikovat posttranslační modifikace (PTM) bílkovin v klidových destičkách a v destičkách aktivovaných různými agonisty, s důrazem na redox-dependentní PTM. Proteomickými nástroji budou elektroforetické a chromatografické separační postupy v kombinaci s hmotnostní spektrometrií. Získaná data by měla pomoci lépe pochopit biologické efekty RONS v hemostáze.

Reg. č. IGA MZd NR9235
Název Význam studia genového expresního profilu u nemocných s myelodysplastickým syndromem

Trvání 2007–2009

Řešitel Doc MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

Anotace 1. Analýza genového expresního profilu u nemocných s MDS pomocí biočipů, sledování mutačního stavu proliferačních genů a stupně metylace promotorů diferenciačních genů. 2. Porovnání nálezů získaných při vyšetření genového expresního profilu s vyšetřením stupně klonality, délky telomér, s analýzou karyotypu pomocí metod molekulární cytogenetiky a s klinickými daty. 3. Určení prognostických faktorů na molekulárně genetické úrovni, jež by pomohly identifikovat u časných fází MDS rizikové nemocné s potenciálně nepříznivou prognosou a indikovaných k transplantaci krvetvorných buněk. 4. Využití komplexu molekulárně genetických metodik k hodnocení klonální remise po chemoterapii či po podání látek cíleně ovlivňujících stupeň metylace diferenciačních genů a aktivitu proliferačních genů.

Reg. č. IGA MZd NR9236
Název Endogenní post-transkripční regulace genové funkce prostřednictvím miRNA

Trvání 2007–2009

Řešitel RNDr. Hana Bruchová, PhD.

Anotace Projekt vychází z naší dosavadní výzkumné práce, ve které jsme tlumením genové exprese pomocí siRNA analyzovali možnost ovlivnění funkce genů, jejichž změny aktivity byly spojeny s různými onko-hematologickými procesy. Na rozdíl od použití siRNA je tento projekt zaměřen na analýzu miRNA, která dovoluje i sledování dereprese genové funkce blokováním endogenních miRNA. Součástí projektu je 1) profilování miRNA čipovou technikou na buňkách buněčných linií a různých buněčných typech izolovaných z periferní krve zdravých osob a 2) sledování změn genové aktivity po blokaci vybraných miRNA s použitím anti-miRNA a to jak na úrovni transkripce tak translace. V práci budou použity buněčné linie K562, KU182, MOLM7, HL60 a HEL a celkové leukocyty získané z periferní krve zdravých dobrovolníků obojího pohlaví a různých věkových kategorií, případně monocyty a granulocyty a izolované buněčné typy CD34+, CD14+, CD3+. Sledovány budou v hemopoetických buňkách exprimované miRNA: miR15, miR16, miR142, miR155 a miR223.

Reg. č. IGA MZd NR9238
Název Vektory pro genovou terapii zacílenou na buňky stromatu pevných nádorů

Trvání 2007–2009

Řešitel RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

Anotace Výzkum terapeutické protinádorové DNA vakcíny a vektorů pro genovou terapii zaměřených na nádorové fibroblasty na myším modelu nádorů vyvolaných papilomavirem HPV16. DNA vakcína bude namířena proti fibroblastovému aktivnímu proteinu (FAP). Vakcína bude podávána v kombinaci s vakcínou specifickou pro onkoprotein HPV16-E7. Virové vektory z viru vakcinie budou v nádorech produkovat ektodoménu receptoru lidského TGF-beta typu II, geneticky fúzovanou k Fc fragmentu IgG1 nebo IGFBP-3 (IGF Binding Protein-3). Kombinovaná terapie zahrnující DNA imunizaci a lokální infekci virovými vektory, jež exprimují blokující faktory a cytokiny zvyšující imunitní odpověď, čímž budou posíleny protinádorové mechanismy, aniž by jednotlivé zásahy interferovaly.

Reg. č. IGA MZd NR9243
Název Studium poruch regulace buněčné adheze u hematologických malignit

Trvání 2007–2009

Řešitel RNDr. Zbyněk Hrkál, DrSc.

Anotace Budou studovány adhezí vlastnosti leukemických buněk a buněčných linií odvozených od chronické myeloidní leukemie (CML: K562, JURL-MK1) k modelové extracelulární matici kostní dřeně (fibronektin, kolagen, laminin, vitronektin). Diferenční proteomovou analýzou bude studován mechanismus účinků inhibitoru kinázové aktivity BCR-ABL, inhibitoru proteasomu, inhibitoru chaperonové aktivity HSP90, inhibitoru histondeacetyláz, na komponenty adhezí aparátu CML buněk. Metodami interakční proteomiky budou identifikovány signální dráhy zodpovědné za porušenou adhezi leukemických buněk CML a bude navržen molekulární mechanismus na úrovni proteinů účinku uvedených látek na adhezí vlastnosti.

Reg. č. IGA MZd NR9244
Název Kombinovaná molekulárně biologická a molekulárně cytogenetická analýza genomových změn u nemocných s chronickou lymfatickou leukémií
Trvání 2007–2009
Řešitel RNDr. Jana Březinová, PhD.
Anotace Anotace I: Detekce specifických chromosomových aberací u nemocných s chronickou lymfatickou leukémií B typu metodami molekulární cytogenetiky, stanovení délky telomér a expresního profilu genu hTERT. Anotace II: Vyhodnocení korelace výsledků molekulárně genetických a molekulárně cytogenetických metod s mutačním stavem IgVH genů, s klinickými a imunofenotypickými nálezy a určení jejich diagnostického a prognostického významu.

Reg. č. IGA MZd NR9246
Název Vývoj protinádorových DNA vakcín založených na fúzi imunogenu s beta-glukuronidázou E. coli a zvýšení jejich účinku stimulací nespecifické imunity
Trvání 2007–2009
Řešitel RNDr. Michal Šmahel, PhD.
Anotace Zvýšení účinnosti terapeutických protinádorových vakcín založených na fúzi nádorového antigenu s beta-glukuronidázou E. coli. Modifikace genů směřující ke zvýšení produkce imunogenů, kterými budou onkoproteiny E7 a E6 HPV16 a fúzní onkoprotein Bcr-Abl. Stanovení mechanismů uplatňujících se při indukcii imunitních reakcí po aplikaci fúzních genů intradermálně genovou pistolí nebo intramuskulárně injekcí. Testování účinků imunizací na myších nádorových modelech. Posílení protinádorového účinku DNA vakcín kombinací jednotlivých fúzních genů a dále kombinací s látkami stimulujícími vrozenou imunitu, a to zejména přes receptory TLR (Toll-like receptors). Sledování možnosti odstranění nádorových buněk vyznačujících se různými mechanismy úniku z hostitelské imunity, zejména poklesem tvorby molekul MHC-I a mutovaným imunodominantním epitopem nádorového antigenu.

Reg. č. IGA MZd NR9258
Název Konsumpční trombotické mikroangiopatie – etiologie, patofyziologie a diagnostika
Trvání 2007–2009
Řešitel RNDr. Ingrid Hrachovinová
Anotace V rámci molekulárně-genetické diagnostiky atypického HUS budeme zavádět metodiky na stanovení hladiny H-faktoru, metodiky na DNA analýzu genu pro H-faktor a další ukazatele průběhu remise i onemocnění. V rámci mikroangiopatických syndromů v souvislosti s TKD budeme sledovat hladinu ADAMTS13 a jeho funkci, aktivaci endotelu a jejich vztah k léčbě.

Reg. č. IGA MZd NS 9374-6
Název Interakce mezi nukleárními a nukleolárními regulátory buněčné proliferace a apoptotickými efektory při vzniku, rozvoji a léčbě leukémií
Trvání 2009–2011
Řešitel Mgr. Barbora Brodská, PhD.
Anotace Fyziologické a patologické procesy určující osud transformované buňky (reparace a obnova normálního stavu, zánik apoptózy, přežití transformovaného fenotypu s hrozbou nádorové proliferace) zahrnují řadu interakcí mezi regulátory buněčného růstu a programované smrti. Správná tvorba interakčních komplexů, přirozená či indukovaná terapeutika, odpovídá za udržení kontroly

nad buněčným dělením a tkáňovou homeostázou. Poruchy vzniklé změnou struktury či exprese či intracelulární translokace interakčních partnerů přinášejí riziko vzniku malignit. Zkoumání funkce, buněčné specifity a lokalizace komplexů v normálních, nádorových a terapeuticky ošetřených buňkách nabízí možnost: 1) Objasnění jejich fyziologické a patologické funkce. 2) Odhalení nových časných diagnostických indikátorů malignit. 3) Možnost objasnění nežádoucích účinků léčiv. Předkládaný projekt má za cíl identifikovat, lokalizovat a funkčně charakterizovat komplexy tvořené jadernými a jadérovými regulátory proliferace a apoptotickými faktory v normálních leukocytech a v blastech leukemických linií. V souboru jejich konstituentů vymezit diagnostické indikátory a monitory léčby a jejich vedlejších účinků, vhodné metodickou dostupností. Metody: qRT-PCR, bloty, afinitní chromatografie, elektroforéza, kvasniční 2-hybridní systém, hmotová spektrometrie, průtoková cytometrie, imunofluorescenční mikroskopie.

GA ČR – Grantová agentura ČR

Reg. č. GA ČR GA301/09/1026
Název Proteomová analýza účinků suberoylanilidu hydroxamové kyseliny (SAHA) na lidské leukemické buňky
Trvání 2009–2011
Řešitel RNDr. Kateřina Kuželová, PhD.
Anotace Suberoylanilid hydroxamové kyseliny (SAHA) byl nedávno v USA schválen pro použití v léčbě kožního T-buněčného lymfomu a řada jeho dalších aplikací v onkologii a hematologii je ve fázi klinických zkoušek. Mechanismus jeho působení je však složitý a zdaleka není vyjasněn. Je známo, že SAHA spouští ve většině nádorových buněk apoptózu, případně jinou formu buněčné smrti, zatímco normální buňky jsou vůči účinkům této látky relativně odolné. Důvody tohoto rozdílu však známy nejsou. Proteomová analýza změn nastávajících po ošetření leukemických i normálních buněk inhibitorem SAHA umožní odhalení signálních drah, které hrají hlavní roli v buněčné odpovědi na tuto terapii. Důraz bude kladen na subtoxické koncentrace efektoru, které podle našich nedávných zjištění vyvolávají výrazné zvýšení adhezivitu transformovaných, nikoli však normálních krevních buněk. Lze ovšem přepokládat, že analýza změn v chování proteinů přinese nové poznatky i pro vyšší koncentrace SAHA, jejichž účinky byly dosud studovány takřka výhradně na úrovni genové transkripce.

Reg. č. GA ČR GP301/09/P579
Název Význam deregulace microRNA u myelodysplastického syndromu a dalších hematologických klonálních onemocnění
Trvání 2009–2011
Řešitel Ing. Michaela Merkerová, PhD.
Anotace Myelodysplastický syndrom (MDS) je název pro heterogenní skupinu krevních chorob, které vznikají na úrovni pluripotentní kmenové buňky a jsou považovány za preleukemický stav. Přestože probíhá intenzivní výzkum molekulární patogeneze MDS a byly již identifikovány cytogenetické abnormality, které jsou spjaty s cca 50% případů MDS, důvody vzniku a progresu MDS zůstávají stále nepochopeny. Dosud nejsou objasněny mechanismy zodpovědné za vznik onemocnění a není známo, zda jsou chromozomální aberace primární příčinou či sekundárním jevem. microRNA (miRNA) jsou součástí RNA interferenčního procesu a hrají klíčové úlohy v mnoha buněčných procesech včetně hematopoézy. Deregulace miRNA je často zodpovědná za buněčnou transformaci u širokého spektra nádorů včetně leukémií, význam miRNA pro patogenezi MDS však zatím nebyl studován.

Analýzou exprese chceme identifikovat miRNA deregulované u MDS a sledovat změny expresního profilu miRNA v různých stádiích MDS. S hladinou deregulovaných miRNA chceme korelovat hladiny exprese jejich cílových genů a odhalit vliv deregulace daných miRNA na rozvoj MDS.

Reg. č. GA ČR GP301/08/P154
Název Studium diverzity exprese miRNA u chronické myeloidní leukémie
Trvání 2008–2010
Řešitel Mgr. Kateřina Machová Poláková, PhD.
Anotace Chronická myeloidní leukémie (CML) je maligní onemocnění krvetvorby, jež je důsledkem reciproční translokace t(9;22) (q34;q11) za vzniku fúzního proteinu BCR-ABL s abnormální funkcí. Velkého pokroku v léčbě CML bylo docíleno pomocí inhibitoru tyrozin kináz, imatinibu. Avšak u nemalé skupiny pacientů se objevuje problém spjatý s rezistencí nebo suboptimální odpovědí na léčbu. Klinický průběh onemocnění a citlivost vůči léčbě je velice heterogenní. Molekulární podstata této heterogenity není stále objasněna. MiRNA jsou malé nekódující RNA, jež posttranskripčně regulují genovou expresi. Během buněčného vývoje a diferenciace je exprese miRNA tkáňově specificky regulována. Aberantní exprese specifických miRNA byla zjištěna a zatím nejvíce probádána u chronické lymfocytární leukémie (CLL). Cílem předkládaného projektu je nalézt specifické miRNA, které mohou ovlivňovat průběh onemocnění CML a odpověď na léčbu a tak přispívat již k výše zmiňované heterogenitě.

Reg. č. GA ČR GA204/07/0830
Název Cytoskelet a metabolismus železa: objasnění úlohy kinázy MRCKα
Trvání 2007–2009
Řešitel MUDr. Daniel Vyoral, CSc.
Anotace Železo je nezastupitelný biogenní prvek, může však také iniciovat vznik patogenních volných radikálů. Tyto jsou spojovány s vznikem spektra chorob (ateroskleróza, záněty, nádory). Lidský organismus bývá často postižen poruchami transportu a skladování železa (hemochromatóza, některé anémie), tento proces je však na molekulární úrovni nedostatečně pochopen. V naší laboratoři byla nově popsána posttranskripční regulace železem u kinázy MRCKα. Předpokládáme, že se tato bílkovina podílí na regulaci endocytózy transferinu, klíčového zdroje buněčného železa. V tomto projektu objasníme působení bílkoviny MRCKα na endocytózu transferinu. Popíšeme vztah mezi expresí MRCKα a množstvím buněčného železa. Popíšeme bílkoviny funkčně asociované s MRCKα a identifikujeme spektrum cílových bílkovin MRCKα. Poznatky získané při řešení tohoto projektu rozšíří informace o regulaci endocytózy a o mechanismu buněčného transportu železa. Mohou také vést k účinnější léčbě řady chorob způsobených poruchou transportu a skladování železa.

Grantová agentura Univerzity Karlovy

Reg. č. GA UK 257 928 928 07
Název Studium molekulárních mechanismů Diamondovy-Blackfanovy anémie
Trvání 2007–2010
Řešitel Mgr. Helena Handrková
Anotace Diamondova-Blackfanova anémie je charakterizována selektivní deficiencí erythroidních prekurzorů a dalšími přidruženými defekty. Jediná kauzální mutace popsána u pacientů s DBA se nachází v genu pro ribosomální protein S19 (RPS19). Tento gen je poškozen jen u 25 % pacientů s DBA, u zbývajících 75 % případů nebyla nalezena žádná mutace. Domníváme se, že příčinou

onemocnění v těchto případech může být poškození dalších proteinů asociujících s RPS19. Tento projekt se proto zaměřuje na analýzu proteinů interagujících s RPS19. Jako model DBA byly v naší laboratoři již dříve vyvinuty lidské erythroidní buňky, které exprimují přirozený RPS19 nebo jeho dvě mutované varianty. Nativní komplexy RPS19 s asociovanými proteiny budeme izolovat pomocí protilátek imobilizovaných na magnetických nosičích. Proteiny, které interagují jen s přirozeným RPS19 nebo jeho mutovanými formami budeme identifikovat pomocí hmotnostní spektroskopie. Pomocí dalšího expresního systému následně ověříme interakci těchto kandidátních proteinů s RPS19. Nakonec provedeme screening pacientů s DBA, geny kódující tyto kandidátní budeme sekvenovat a pátrat po jejich mutacích. Porozumění podstatě DBA pak umožní vyvinutí lepších diagnostických a léčebných přístupů.

Ostatní

Reg. č. Ostatní 3502
Název Zavedení a optimalizace stanovení hladiny fosforylace Crkl a Src kinázy u CML pomocí metodiky „lab-on-a-chip“ na přístroji Agilent
Trvání 2009–2010
Řešitel RNDr. Markéta Žáčková, PhD.
Anotace Cílem práce je zoptimalizovat stanovení citlivosti kinázy BCR-ABL vůči inhibitorům tyrozinových kináz pomocí metody založené na principu průtokové cytometrie.

Spolupráce na mimoústavních projektech

IGA MZ – Interní grantová agentura MZ ČR

Reg. č. IGA MZd NS9907-4
Název Prevalence a biologické souvislosti chromozomální integrace šestého lidského herpesviru (HHV6) u dospělých a dětských pacientů léčených pro maligní onemocnění
Trvání 2009–2011
Řešitel MUDr. Petr Hubáček, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol
Spoluřešitel Doc. MUDr. Petr Cetkovský, PhD.
Anotace Prevalence chromosomální integrace HHV6 u těžce imunosuprimovaných pacientů, u kterých je největší nebezpečí misinterpretace HHV6 PCR pozitivního výsledku a nežádoucích účinků následné virostatické terapie. Objasnění dosud neznámé serologické odpovědi organismu proti HHV6 při nosičství chromosomální integrace HHV6 pomocí IgM a IgG detekce ve vzorcích získaných při diagnóze. Zjištění místa a rozsahu integrace virové DNA do lidského genomu pomocí metod FISH a PCR v buňkách nosičů a následná mRNA analýza s odhadem vlivu této integrace na inter – a intracelulární buněčné pochody. Potvrzení stejné frekvence chromosomální integrace HHV6 u dospělých i dětských pacientů s nádorovým onemocněním.

Reg. č. IGA MZd NS/9984-4
Název Význam infekce prostaty v etiopatogenezi karcinomu
Trvání 2008–2011
Řešitel MUDr. Jiří Heráček, PhD, 3. LF UK, Urologická klinika
Spoluřešitel RNDr. Eva Hamšíková
Anotace Soubor bude tvořen pacienty s bioticky ověřeným karcinomem prostaty z histopatologického preparátu získaného při retropubické radikální prostatektomii nebo benigní hyperplazie z preparátu získaného suprapubickou transvezikální

prostataktomií. Z odběru periferní krve vyšetříme přítomnost sérových protilátek proti sledovaným patogenům. U séropozitivních pacientů provedeme vyšetření tkáně prostaty na průkaz sledovaných patogenů pomocí molekulárně-genetických metod. Vyhodnotíme vztah sledovaných infekčních uropatogenů k biologickému chování nádoru a kontrolní skupině. Projekt je zaměřen na aktuální onkologickou problematiku, předpokládáme využití výsledků pro další aplikovaný výzkum při dlouhodobém sledování pacientů, screeningu karcinomu prostaty a racionalizaci diagnosticko-léčebných postupů.

Reg. č. IGA MZd NR9227
Název Molekulárně cytogenetická analýza komplexních chromosomových aberací v buňkách kostní dřeně nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) a akutní myeloidní leukemií (AML) a jejich prognostický význam.
Trvání 2007–2009
Řešitel RNDr. Zuzana Zemanová, CSc.,
 Všeobecná fakultní nemocnice v Praze
Spoluřešitel RNDr. Jana Březinová, PhD.
Anotace Molekulárně cytogenetická analýza komplexních chromosomových aberací u nemocných s MDS a AML. Identifikace chromosomů a chromosomových oblastí zahrnutých v komplexních karyotypech. Zhodnocení prognostického významu komplexních přestaveb.

Reg. č. IGA MZd NR9418
Název Využití metod genetické analýzy pro diagnostiku lidského cytomegaloviru (CMV) u imunodeficientních pacientů
Trvání 2007–2009
Řešitel RNDr. Kateřina Roubalová, CSc.,
 Státní zdravotní ústav
Spoluřešitel MUDr. Antonín Vítek
Anotace Genotypizace CMV u skupinových výskytů infekce u příjemců transplantátů krvetvorných kmenových buněk, léčených v UHKT v letech 2004–2005, a následná epidemiologická analýza těchto případů, b) vypracování metod pro detekci mutací, spojených s rezistencí CMV na antivirotika, a jejich využití pro charakterizaci kmenů, získaných od pacientů s nedostatečnou odpovědí na antivirovou terapii. Genotypizace bude prováděna na základě analýzy virových glykoproteinů gB a gN pomocí polymorfismu fragmentů restrikčního štěpení genu UL55 (gB) a sekvenace N – koncové části genu UL73 (gN). Pro účely detekce rezistentních mutantů bude využita sekvenace funkčně důležitých lokusů genů UL97 a UL54. Porovnání výsledků genetické analýzy s klinickými údaji o léčbě a průběhu infekce.

Reg. č. IGA MZd NR9466
Název Využití virologických markerů v léčbě a prevenci karcinomu orofaryngu a dutiny ústní
Trvání 2007–2009
Řešitel Doc. MUDr. Jan Křozar, CSc.,
 Fakultní nemocnice v Motole
Spoluřešitel RNDr. Ruth Tachezy, PhD.
Anotace Studie ověří, zda se z klinického hlediska skupina pacientů s HPV pozitivními nádory liší od nemocných s HPV negativními nádory. Výsledky studie přispějí k časnější diagnostice především recidiv a k přesnějšímu sledování po léčbě pomocí molekulárně biologických a sérologických metod a tím k prevenci recidiv.

Mohou mít vliv i na volbu optimální léčebné metody a radikality léčby. Zlepšení základních ukazatelů výsledků onkologické léčby je evidentním přínosem z pohledu pacienta, ale i z hlediska socioekonomického. Zavedení biomarkerů pro včasnou diagnostiku těchto nádorů by mělo vliv i na snížení nákladů na léčbu. Výsledky budou významným příspěvkem k řadě výzkumů zjišťujících možnou roli HPV jako etiologického faktoru orofaryngeálního a orálního karcinomu. Studie též zjistí typovou specifitu HPV v české populaci, což představuje cennou informaci pro přípravu vakcinace v ČR. Umožní rovněž vyčíslit počet pacientů s HPV asociovanými nádory ORL oblasti v ČR.

Reg. č. IGA MZd NR9481
Název Optimalizace nákladných vyšetřovacích a léčebných postupů s cílem zvýšení efektivity léčby a snížení mortality nemocných s AML vycházející z klinických a vysoce sofistikovaných prediktivních dat a jejich multifaktoriální analýzy v registru ALERT
Trvání 2007–2009
Řešitel Prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.,
 Univerzita Palackého v Olomouci
Spoluřešitel MUDr. Jacqueline Maaloufová
Anotace I. Pomocí hematologických, cytogenetických a molekulárně genetických metod vyšetřovat známé i nově odhalené prognostické faktory u AML, sledovat odpověď na různé typy indukční a konsolidační léčby se zvláštním zaměřením na transplantace krvetvorných buněk. II. Data nemocných s AML hlásit při diagnóze a v rámci sledování do databáze nemocných s AML v ČR (ALERT) a udržet kontinuitu projektu; dle dostupnosti molekulárně genetického markeru sledovat u nemocných v kompletní remisi minimální zbytkovou chorobu. III. Provést statistickou analýzu dostupných prognostických faktorů se speciálním zaměřením na genetiku a použitou konsolidační léčebnou strategii na sestavě cca 2000 nemocných hlášených do studie ALERT v letech 1996–2009. IV. Výsledky analýz využít pro hodnocení kvality léčby AML v ČR a pro vytvoření návrhu stratifikace léčby nemocných dle prognostických faktorů se zvláštním zaměřením na transplantace a paliativní péči.

Reg. č. IGA MZd NS10488
Název Expresní vzorec isoforem a mutační stav genu WT1 jako nový pathogenetický a diagnostický marker u dětských hematologických malignit
Trvání 2009–2011
Řešitel Prof. MUDr. Jan Trka, PhD.,
 2. lékařská fakulta UK a FN Motol
Spoluřešitel Mgr. Kateřina Machová Poláková, PhD.
Anotace Gen WT1 je potenciálně důležitým markerem hematologických malignit. Jeho roli v maligních i normálních buňkách pravděpodobně ovlivňuje expresní vzorec jeho isoforem a mutační stav. V navržené studii určíme pomocí originální metodiky kvantitativně expresní vzorce isoforem WT1 u dětských AML, ALL a MDS. Budeme výsledky korelovat s mutačním stavem genu a dalšími biologickými a klinickými vlastnostmi jednotlivých subtypů onemocnění. Porovnáme expresní vzorce maligních buněk i s podskupinami fyziologických progenitorů v kostní dřeni. Odpovíme tak některé kontroverzní otázky, zpochybňující roli exprese genu WT1 jako markeru maligní transformace, progresu nemoci a cíle pro sledování MRN a imunoterapii u dětských hematologických malignit. Dále stanovíme nový diferenciální diagnostický postup využívající kvantifikaci exprese WT1 v kombinaci s polychromatickou průtokovou cytometrií u dětských MDS.

GA ČR – Grantová agentura ČR

Reg. č. **GA AV ČR IAA500960903**
Název **Vývoj nové rekombinační technologie k transformaci chloroplastů a její využití pro produkci E7 proteinu lidského papilomaviru v rostlinách**

Trvání 2009–2012
Řešitel Doc. RNDr. Josef Vlasák, CSc.,
Biologické centrum AV ČR, v. v. i.

Spoluřešitel **RNDr. Viera Ludvíková**

Anotace Je navržen vývoj nové metody transformace chloroplastů využívající lineární DNA vektory aplikované biolisticky spolu s chloroplastovými kazetami exprimujícími rekombinační geny Red bakteriofága lambda. Idea vychází z pokusů o cílenou inserční mutagenézi v kvasinkách, sinicích a E. coli, kde konce DNA podporují výrazně homologní rekombinaci a lambdové proteiny Exo, Beta a Gam velmi účinně chrání a upravují konce DNA, které pak i při velmi krátké homologii výrazně podporují rekombinaci. Lineární vektory mohou být připraveny jako produkty PCR reakce se syntetickými primery na koncích, homologními s cílovou sekvencí v chloroplastovém genomu. Chloroplastové vektory ponese kromě markerových genů také onkogen E7 z lidského papilomaviru ve formě neokogenní, ale vysoce imunogenní fuze E7GGG/GUS. Cílem je získat transformanty produkující antigen využitelný jako součást terapeutické vakcíny. Virové antigeny produkované v rostlinách budou stanovovány protilátkami a testovány na myších.

Reg. č. **GA AV ČR KAN200670701**
Název **Biosenzory s povrchovými plasmony a proteinové čipy pro lékařskou diagnostiku**

Trvání 2007–2011
Řešitel Ing. Jiří Homola, CSc.,
Ústav radiotechniky a elektroniky AV ČR, v. v. i.

Spoluřešitel **Prof. Ing. Jan Evangelista Dyr, DrSc.**

Anotace Cílem navrhovaného projektu je dosáhnout zásadního pokroku ve výzkumu fotonických nanostruktur a biofunkcionalizací a tím umožnit vývoj nové generace optických biosenzorů s povrchovými plasmony pro detekci molekulárních látek pro nanomedicínu. Výzkum fotonických nanostruktur bude zaměřen především na kovově-dielektrické nanostruktury s vedenými či lokalizovanými povrchovými plasmony využitelné pro optické senzory. V oblasti biologických nanostruktur bude výzkum zaměřen na soubory biologických a syntetických makromolekul s řízeným složením a architekturou. Významnou součástí navrhovaného projektu je vývoj nových typů biosenzorů s potenciálními aplikacemi v lékařské diagnostice, konkrétně multikanálových biosenzorů a multifunkčních proteinových čipů pro nové metody diagnostiky myelodysplastického syndromu, biosenzorů pro diagnostiku herpetických infekcí a detekci biomarkerů poškození zdraví člověka polycyklickými aromatickými uhlovodíky a endokrinními disruptory.

Reg. č. **GA ČR GA521/09/1525**
Název **Biologicky bezpečný expresní systém založený na rostlinných vírech pro transienční expresi papillomavirových onkoproteinů a vývoj terapeutické vakcíny**

Trvání 2009–2011
Řešitel RNDr. Noemi Čeřovská, CSc.,
Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.

Spoluřešitel **RNDr. Michal Šmahel, PhD.**

Anotace Cílem projektu je optimalizace produkce imunogenních proteinů lidského papillomaviru HPV16 v rostlinách a jejich využití k vývoji experimentálních vakcín pro terapii nádorů

vyvolaných tímto virem. Rostlinný materiál obsahující imunodominantní epitopy z onkoproteinů E6 a E7 bude připraven pomocí dekonstruovaných rostlinných virových vektorů odvozených od viru tabákové mozaiky (TMV) a X viru bramboru (PVX), které zaručí vysokou bezpečnost použití expresních systémů a výsledný materiál bez kontaminace Agrobacterium tumefaciens. Jako hostitelské rostliny budou použity transgenní a netransgenní rostliny N. benthamiana. Imunogennost antigenů syntetizovaných v rostlinách bude studována na myším modelu metodami detekce specifické protilátkové, buněčné a protinádorové imunity in vitro a in vivo. V plánovaných pokusech budou využity myši buňky transformované HPV16.

Reg. č. **GA ČR GA206/08/1587**

Název **Migrace infiltracemi a jejich vliv na genetickou strukturu – modelová situace kočovných versus usedlých populací afrického sahelu**

Trvání 2008–2010
Řešitel Mgr. Viktor Černý, Dr.,
Archeologický ústav AV ČR, Praha, v. v. i.

Spoluřešitel **Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.**

Anotace Projekt se zaměřuje na dosud velmi málo prozkoumané molekulárně genetické důsledky vzájemného vztahu usedlých a kočovných populací. Stěžejní roli budou hrát regionálně diferencované skupiny kočovných Fulbů afrického sahelu, jejichž vzájemné kontakty se zemědělci jsou v úrovni etnografie, lingvistiky i archeologie již poměrně dobře doložené. Podobně jako poznatky o vztahu lovecko-sběračských a zemědělských komunit budou takové výsledky sloužit jako modelová situace infiltračního průniku okolních populačních celků, k němuž docházelo počínaje post-neolitickým (post-kolonizačním) obdobím. Je-li infiltrace usedlých zemědělců realizována pouze (nebo převážně) ženskou částí kočovné populace dlouhodobě, a nikoli jen v úrovni několika generací, lze očekávat statisticky průkaznou míru snížení mtDNA diverzity kočovných skupin a naopak zvýšenou mtDNA diverzitu u skupin usedlých. Nedílnou součástí projektu bude geografická lokalizace počátku fulbské expanze doplněná fylogeografickou analýzou

Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy

Reg. č. **MŠMT 2Bo6o88**

Název **Využití toxikogenomiky při studiu mechanismů působení cizorodých látek v životním prostředí na lidské zdraví.**

Trvání 2006–2011
Řešitel MUDr. Radim Šrám, Dr.Sc.,
Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i.

Spoluřešitel **Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.**

Anotace Projekt se zabývá objasněním mechanismů negativních účinků expozice člověka cizorodým látkám v životním prostředí se zvláštním zřetelem na atmosferické polutanty a tabákový kouř. Budou identifikovány hlavní změny v genové expresi v placentě a lymfocytech matek exponovaných znečištěnému ovzduší a tabákovému kouři v průběhu těhotenství. K identifikaci genů jejichž transkripce je ovlivněna těmito expozicemi bude použito biočipů a RNA z lymfocytů izolovaných z mateřské a pupečnickové krve a RNA z centrální oblasti placenty. Studie umožní identifikaci nových genů důležitých z hlediska studia vlivu znečištěného ovzduší na lidské zdraví a lepší porozumění jejich funkci. Důležitým aspektem navrhovaného projektu je objasnění transplacentárního přenosu pozorovaných změn z matky na plod a zcela prioritní využití nejnovějších technologií biočipů v oblasti studia vlivu životního prostředí na zdraví.

Reg. č. **MŠMT 1M0538**
Název **Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad**
Trvání 2005–2009
Řešitel Prof. MUDr. Eva Syková, DrSc., 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Spoluřešitel **MUDr. Petr Kobylka, CSc.**

Anotace Buněčná terapie je alternativou pro léčení degenerativních a civilizačních chorob, včetně nervových. Cílem buněčné terapie, zvl. pomocí kmenových buněk, je nahradit, opravit a zlepšit funkci poškozené tkáně. Toho chceme dosáhnout pomocí implantace izolovaných a dobře charakterizovaných buněk do cílového orgánu v dostatečném počtu a kvalitě tak, aby byly schopny navodit návrat funkce. Součástí projektu je výzkum biokompatibilních hydrogelů a jejich schopností podpořit obnovu a nahradit poškozenou tkáň a zvýšit možnost regenerace. Cílem projektu je provedení klinických zkoušek a uplatnit ověřené postupy pro užití v klinické praxi.

Reg. č. **LCo6044 MŠMT ČR**
Název **Centrum experimentální hematologie**
Trvání 2005–2010
Řešitel Prof. MUDr. Eduard Nečas, DrSc., 1. LF UK, Ústav patologické fyziologie

Spoluřešitel **RNDr. Ludmila Doležalová, CSc.**

Anotace Identifikovat a popsat molekulární mechanismy normální a patologické krvetvorby. Integrovat dvě vědecká hematologická pracoviště, kvalitativně zvýšit jejich metodickou úroveň a a možnosti zahraniční spolupráce. Zkvalitnit výchovu studentů. Zvýšit počet a kvalitu publikací.

Ministerstvo průmyslu a obchodu

Reg. č. **MPO 2A-1TP1/026**
Název **Výzkum nové lékové formy gelu s liposomy z fúzovanými hydrofobními mikročásticemi ftalocyaninu pro fotodynamickou léčbu zhoubných nádorů.**

Trvání 2006–2011
Řešitel Doc. RNDr. Pavla Poučková, CSc., RCD s.r.o.

Spoluřešitel **RNDr. Josef Souček, CSc.**

Anotace Testování protinádorové účinnosti preparátů pro fotodynamickou terapii in vitro, ve tkáňové kultuře, MTT testy, pěstování nádorových buněk různých linií pro účely fotodynamické terapie.

Klinické studie

1. EORTC 06011 – podávání decitabinu nemocným s pokročilými stadii MDS, kteří nejsou indikováni k intenzivní léčbě a transplantaci krvetvorných buněk.

2. Otevřená multicentrická studie zpřístupňující a hodnotící léčbu perorálním přípravkem AMN 107 u dospělých pacientů s chronickou myeloidní leukémií v chronické fázi, akcelerované fázi nebo blastické krizi, kteří jsou rezistentní na léčbu imatinibem (Glivec) či netolerují CAMN107A2109.

3. Randomizovaná, multicentrická, otevřená studie, 2. fáze BMS-354825, při perorálním podávání 70 mg 2× denně, nebo 140 mg 1× denně u pacientů s chronickou myeloidní leukémií v akcelerované fázi či lymfoidním nebo myeloidním blastickým zvratem, nebo u Ph+ akutních lymfoblastových leukémií rezistentních či netolerujících Imatinib mesylát (Glivec).

4. Randomizovaná, multicentrická, otevřená studie, 3. fáze BMS-354825, při perorálním podávání 50 mg nebo 70 mg 2× denně, nebo 100 mg a 140 mg 1× denně u pacientů s chronickou fází Ph+ či BCR/ABL + chronickou myeloidní leukémií, rezistentních k Imatinib mesylátu.

5. CAMN107A2303 Multicentrická randomizovaná klinická studie fáze 3, srovnávající imatinib v dávce 400 mg denně s nilotinibem 800mg denně u dospělých pacientů s Ph+ CML v chronické fázi.

6. CA180056 Otevřená, randomizovaná, multicentrická studie fáze 3 srovnávající dasatinib se standardní dávkou imatinibu (400 mg) u nemocných s nově diagnostikovanou Ph+ CML v chronické fázi onemocnění.

7. A global Gleevec, Glivec and Tasigna pregnancy exposure registry (protocol CST1571A2403), monitorující pacientky léčené tyrozinkinázovými inhibitory v průběhu těhotenství.

8. A prospective, randomized trial comparing the efficacy of anidulafungin and voriconazole in combination to that of voriconazole alone when used for primary therapy of proven or probable invasive aspergillosis. – protokol A8851009.

9. Randomizované, dvojité zaslepené klinické hodnocení (fáze III) indukční (daunorubicin/cytarabin) a konsolidační (vysoké dávky cytarabinu) chemoterapie kombinované s podáváním buď přípravku midostaurin (PKC412)(IND#101291) nebo placeba u pacientů do 60-ti let s nově diagnostikovanou AML s FLT3 mutací, CALGB 10603/CTSU C 10603/PKC412A2301.

10. Otevřená randomizovaná studie fáze 3 amonafidu L-malátu podávaného v kombinaci s cytarabinem v porovnání s daunorubicinem podávaným v kombinaci s cytarabinem u pacientů se sekundární AML. – protokol 0001A3-300-GL).

11. Randomizovaná dvojité zaslepená, placebem kontrolovaná studie hodnotící účinnost a bezpečnost Romiplostimu v léčbě trombocytopenie u pacientů s nízkým, či středním – 1 rizikem myelodysplastického syndromu (MDS) 20060198 – Studie AMGEN.

12. MDS 005 – Randomizovaná studie hodnotící účinnost a bezpečnost Lenalidomidu v léčbě nemocných s nízkým či středním – 1 rizikem MDS bez přítomnosti delece 5q – Studie CELLGENE.

13. PETHEMA LPA 2005/HOVON 79 APL. Indukce remise pomocí ATRA a idarubicinu a konsolidace startifikovaná podle rizika užitím ATRA a na antracyclinech založené chemoterapie (idarubicin/mitoxantron) s přidáním Ara-C pro vysokorizikové pacienty. Udržovací terapie ATRA + nízkodávková chemoterapie (metotrexát + merkaptopurin u pacientů s akutní promyelocytární leukémií).

14. Studie „Q-Lite“: Kvalita života a prediktivní význam stanovení funkční zdatnosti u starších/komorbidních nemocných s chronickou lymfocytární leukémií/lymfomem z malých lymfocytů léčených nízkodávkovaným fludarabinem s cyklofosfamidem ± rituximabem.

Spolupráce

Mezinárodní spolupráce

Klinický úsek

- EBMT – European Group for Blood and Marrow transplantation, principal investigator MUDr. Antonín Vítek
- CIBMTR – Centre for International Blood and Marrow Transplant Research-registering centre, principal investigator MUDr. Antonín Vítek
- Baxter BioScience, Biomedical Research Center, Orth/Donau, Austria
- European MDS Registry
- European Registry of Chronic Myelogenous Leukemia patients in failure after Imatinib therapy
- The European CML Registry
- EORTC – podílí se na molekulární studii pro léčbu MDS – protokol EORTC – léčba MDS přípravkem Decitabine – studie č. o6011
- European LeukemiaNet – EUTOS for CML
- MDS Foundation – uznáním kvality diagnostické a léčebné péče o nemocné s MDS je jmenován ÚHKT Evropským centrem excellence – Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc. je vedoucím tohoto centra
- The CBR Institute for Biomedical Research, Harvard Medical School, Boston
- Central European Myeloproliferative Study Organization (CEMPO). MUDr. Jiří Schwarz, CSc. je členem výboru
- European Cooperation in Science and Technology; COST projekt č. BM0902 – Network of experts in the diagnosis of myeloproliferative disorders (MPD). MUDr. Jiří Schwarz, CSc. je koordinátorem jedné ze 4 pracovních skupin projektu (WG 2: Molecular diagnosis of thrombocythemia and primary myelofibrosis with no mutation of JAK2)
- Pracovní skupiny klinického úseku jak samostatně, tak na platformě spolupráce v České leukemické skupině (CELL) spolupracují s mezinárodními skupinami, např. z Německa: SAL (Study Alliance for Leukemia), GMALL (German Multicenter Acute Lymphoblastic Leukemia group) či evropskými: EBMT (European Group for Blood nad Marrow Transplantation), atd.
- Španělská skupina pro studium a léčbu maligních hemopatií PETHEMA (Programa de Estudio y Tratamiento de las Hemopatías Malignas) – účast v její klinické studii akutních promyelocytárních leukemií, za ÚHKT koordinuje MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
- Laboratoř Prof. D. Wagner, The Cellular and Molecular Medicine/ Immune Disease Institute, Harvard Medical School, Boston

Transfuziologický úsek

- s mezinárodní skupinou SCARF pro výměnu vzácných erytrocytů a protilátek
- s International Blood Group Reference Laboratory v Bristolu a s mezinárodním konsorciem BloodGen
- s firmou Progenika S.A. (Španělsko), na vývoji microarray genotypovací platformy BloodChip
- s firmami Grifols, Immucor, Exbio a Dynex na rozšíření možností stanovování fenotypů erytrocytů sloupcovou aglutinací
- s University Lund (Švédsko) na studiu FUT1 genu ve vztahu k H-deficitním (para-Bombay) fenotypům

Výzkumný úsek

- Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) prostřednictvím Českého registru dárců kostní dřeně IKEM, Praha
- College of Public Health, Department of Epidemiology, University of Iowa, USA
- Dept. Leukemia, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center, Houston, USA
- Dept. Cell Physiol., Albert Einstein College of Medicine (AECOM), New York, USA
- Dept. Nutritional Sciences & Toxicology, University of California, Berkeley, CA, USA
- Dept. Neurological and Vision Sciences, Medical Faculty, University of Verona, Itálie
- Dept. Molecular Hematology, University Torino, Turín, Itálie
- European LeukemiaNet
- McGill University, Canada
- University of Sydney
- fa Panacea Pharmaceuticals, USA
- EMQN – European Molecular Genetics Quality Network
- Children's Cancer Institute Sydney, Australia
- Prof. Gottfried Fischer, Dept. for Blood Group Serology, University of Vienna
- Prof. MUDr. Josef T. Prchal, University of Utah v Salt Lake City, USA
- Rega Institute for Medical Research, University of Leuven, Laboratory of Clinical and Epidemiological Virology, Leuven, Belgium
- Research Program Infection and Cancer, Department of Genome Modifications and Carcinogenesis, German Cancer Research Center (DKFZ), Heidelberg, Germany
- Rudjer Boskovic Institute, Zagreb, Croatia
- University of Southampton, Cancer Sciences Division, United Kingdom
- Wisconsin Univ., Madison, USA
- University of Southampton, Cancer Sciences Division, United Kingdom
- College of Public Health, Department of Epidemiology, University of Iowa, USA
- Research Program Infection and Cancer, Department of Genome Modifications and Carcinogenesis, German Cancer Research Center (DKFZ), Heidelberg, Germany
- Rega Institute for Medical Research, University of Leuven, Laboratory of Clinical and Epidemiological Virology, Leuven, Belgium
- Rudjer Boskovic Institute, Zagreb, Croatia

Domácí spolupráce

Klinický úsek

- I. interní klinika VFN, která svým zaměřením (lymfoproliferativní onemocnění, autologní transplantace) představuje komplementární oblast hematologie. Výrazem spolupráce bylo i zřízení registru transplantací umístěném na I. interní klinice.
- Pediatrická AML skupina při Klinice dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty UK a FN Motol (vedoucí Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.)
- Ústav patologie a molekulární medicíny 2. lékařské fakulty UK, Praha
- Czech MDS Group – občanské sdružení lékařů zabývajících se MDS (předsedou výkonného výboru je doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.)
- Česká leukemická skupina – pro život (CELL) – na platformě této skupiny spolupráce ÚHKT s dalšími českými hematologickými centry na mnoha projektech, např. CML, ALL, AML, podpůrné terapie, atd.
- Czech Lymphoma Study Group (CLSG) – Kooperativní lymfomová skupina – sdružení lékařů a dalších pracovníků zabývajících se diagnostikou, léčbou a výzkumem v oblasti maligních lymfomů

Transfuziologický úsek

- I. interní klinika VFN, pro kterou připravuje štěpy PBPC pro autologní transplantace
- Klinika dětské hematologie 2. LF FN Motol při přípravě štěpů PBPC pro alogenní transplantace a při přípravě koncentrátů granulocytů a lymfocytů
- Neurologická klinika VFN, pro kterou provádí imunoabsorpce u nemocných s myasthenia gravis
- Dermatovenerologická klinika VFN při extrakorporální fotochemoterapii nemocných s lymfomem z T lymfocytů v kožní lokalizaci
- Hematologická klinika FNKV při extrakorporální fotochemoterapii nemocných s lymfomem z T lymfocytů v kožní lokalizaci
- Přírodovědecká fakulta UK
- Centrum buněčné terapie u tkáňových náhrad
- Český registr dárců krvetvorných buněk, Praha IKEM
- Ústav imunologie 2. LF UK FN Motol
- SEKK Pardubice při organizaci externí kontroly imunohepatologických laboratoří
- UK Praha, Projekt č. 1 M 0538
- ÚEM AV ČR v rámci Centra buněčné terapie
- VFN, pro kterou zajišťuje terapeutické aferetické výkony a provádí ozařování transfuzních přípravků
- transfuzní oddělení v ČR a mnohá ze Slovenska

Výzkumný úsek

- 1. LF UK, Ústav imunologie a mikrobiologie
- Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha
- Ústav molekulární biologie rostlin AV ČR, České Budějovice
- Ústav experimentální botaniky AV ČR, Praha
- Přírodovědecká fakulta UK, Praha
- I. interní klinika 1. LF UK, Praha
- Akademie věd ČR
- Archeologický ústav AV ČR
- Biofyzikální ústav 1. lékařské fakulty UK, Praha
- Centrum gynekologické a onkologické prevence, Praha 2
- Centrum nádorové cytogenetiky ÚKB LD, VFN a 1. LF UK

- CLIP, FN Motol Praha
- Český registr dárců kostní dřeně (CBMD), IKEM Praha
- Český národní registr dárců dřeně (ČNRDD), Plzeň
- Gynekologicko-porodnická klinika, 2. LF UK Motol
- HLA laboratoř FN Olomouc
- HLA pracoviště v ČR (IKEM Praha, Olomouc, Plzeň, Brno, Ostrava, Hradec Králové)
- IHOK FN Brno
- Katedra antropologie a genetiky člověka PřF UK
- Katedra parazitologie PřF UK, Praha
- Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty UK a FN Motol
- Klinika chirurgie, FNKV, Praha
- Klinika ORL, 2. lékařské fakulty UK, Motol
- 1. lékařská fakulta UK, Praha
- Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR
- Neurologická klinika 1. lékařské fakulty UK Praha – Prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc., spolupráce na problematice HLA asociace s diagnózou s narkolepsií u českých pacientů
- Oddělení leukocytárních antigenů, Ústav molekulární genetiky Akademie věd ČR, Praha
- Oddělení molekulární virologie, Ústav molekulární genetiky Akademie věd ČR, Praha
- Oddělení pediatrie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc
- Přírodovědecká fakulta UK
- Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. lékařské fakulty a FN Motol – RNDr. Daniel Chudoba, spolupráce při kultivaci fibroblastů pro HLA typizaci pacientů v aplázii či s diagnózou fetomaternálního engraftmentu
- Ústav experimentální botaniky AV ČR, Praha
- Ústav experimentální medicíny AV ČR, Praha
- Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Praha
- Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha
- Ústav molekulární biologie rostlin AV ČR, České Budějovice
- Ústav organické chemie a biochemie AV ČR
- Ústav patologie FNKV
- Ústav patologické fyziologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha
- Ústav patologie a molekulární medicíny 2. lékařské fakulty UK, Praha
- Ústav pro péči o matku a dítě, pracoviště Imunobiologie (MUDr. Jindřich Madar, CSc.)
- Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, Liběchov
- Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

Ocenění/vyznamenání

Hodnocení nemocnic dle finančního zdraví

ÚHKT Praha se v roce 2009 v žebříčku českých nemocnic dle finančního zdraví umístil jako druhý v kategorii příspěvkových organizací do 350 lůžek a jako třetí v absolutním pořadí (tj. všechny kategorie příspěvkových organizací podle počtu lůžek).

Hodnocení nemocnic na základě jejich finančního zdraví zrealizovala nezisková zdravotnická organizace *HealthCare Institute* (HCI) ve spolupráci s odborným partnerem společností *Czech Credit Bureau a.s.* (CCB).

Ceny za odborné články a nejlepší prezentace

Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

- Oceněná vyzvaná Heřmanského přednáška na Pražském hematologickém dni, Praha 22. 10. 2009

Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.

- Ocenění za nejlepší přednášku na konferenci XII. Pracovní dny v transfuzním lékařství, Olomouc 2009

Ing. Bc. Roman Kotlín, PhD.

- Cena České hematologické společnosti JEP za nejlepší původní práci v roce 2008

MUDr. Martin Písačka

- Slavnostní oceněná přednáška (Janského přednáška) na konferenci XII. pracovní dny v transfuzním lékařství, Olomouc 2009

Mgr. Kateřina Machová Poláková, PhD.

- Cena za nejlepší přednášku mladých hematologů v kategorii laboratorní výzkum v rámci XXIII. ročníku Olomouckých hematologických dní, Olomouc 2009

RNDr. Eva Sobotková, CSc.

- Cena „Prof. Milana Pospíšila“ České imunologické společnosti pro 1. autora původního článku z oblasti přirozené a protinádorové imunity, cena udělena 19. 11. 2009

Vědecko-pedagogické tituly, vědecké hodnosti, atestace

Habilitace

Získání akademického titulu

Bc. Katarína Bariová

- obhajoba diplomové práce na téma *Ošetrovatelská kasuistika pacientky po implantaci kardiostimulátoru*, Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, obor ošetrovatelství

Bc. Hana Kapitánová

- obhajoba diplomové práce na téma *Role sestry v procesu akreditace nemocnic*, Vysoká škola zdravotnictva a sociálnej práce, sv. Alžbety v Bratislavě, detašované pracoviště v Příbrami

Bc. Anna Vačková

- obhajoba diplomové práce na téma *Kvalita života pacienta s leukémií*, Trenčianska univerzita A. Dubčeka v Trenčíně, Fakulta zdravotnictva, SK

Bc. Zdeňka Zabloudilová

- obhajoba diplomové práce na téma *Ošetrovatelská problematika bolesti u onkologicky nemocných*, Vysoká škola zdravotnictva a sociálnej práce sv. Alžbety v Bratislavě, detašované pracoviště v Příbrami

Získání vědecké hodnosti PhD.

Mgr. Denisa Myslivcová

- obhajoba dizertační práce v oboru molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie. Téma: *Proteomická analýza jaterního přetížení železem*, školitel: RNDr. Jiří Petrák

MUDr. Mgr. Cyril Šálek

- obhajoba dizertační práce na téma *Detekce genových variací ve vybraných onkogenech a tumor supresorových genech jako markerů časných stadií karcinomu slinivky břišní*, 1. LF UK, oborová rada biologie a patologie buňky, školitel: plk. prof. MUDr. Miroslav Zavoral, PhD. (Interní klinika 1. LF UK a ÚVN Praha), školitel-specialista: RNDr. Marek Minárik, PhD. (Genomac International, s.r.o.)

Mgr. Alžběta Vašíková, PhD.

- obhajoba dizertační práce na téma *Expresní analýzy u pacientů s myelodysplastickým syndromem*; PŘF UK, Katedra antropologie a genetiky člověka, vypracováno na Oddělení molekulární genetiky ÚHKT, školitel: RNDr. Hana Bruchová, PhD.

Atestace

Ing. František Mareček, PhD.

- Atestační zkouška – *Vyšetřovací metody v klinické biochemii*

MUDr. Mgr. Cyril Šálek, PhD.

- Atestace v oboru *Hematologie a transfuzní služba*, IPVZ, Praha

Mgr. Markéta Šádková

- Atestační zkouška – *Vyšetřovací metody v klinické hematologii*

Kvalifikační kurzy

RNDr. Marie Dobrovolná

- Auditor/Lead Auditor Training Course Certified by IRCA, ISOQAR – Velká Británie QMS

Hana Feixová

- Auditor/Lead Auditor Training Course Certified by IRCA, ISOQAR – Velká Británie QMS

Ing. Martin Novotný

- Osvědčení o odborné způsobilosti ke kalibraci pístových pipet

Ing. Eva Otáhalová

- Výcvikový kurz – Metrolog ve zkušební a zdravotnické laboratoři-periodické školení, Systémy jakosti

RNDr. Zuzana Vilímová

- Osvědčení o odborné způsobilosti ke kalibraci pístových pipet

Ing. Milena Vraná

- Auditor/Lead Auditor Training Course Certified by IRCA, ISOQAR – Velká Británie QMS

Pedagogická činnost

Pregraduální výuka

V rámci 1. LF UK

V roce 2009 probíhala již sedmým rokem výuka mediků v rámci Ústavu klinické a experimentální hematologie 1. LF pod vedením ředitele ústavu. Toto společné pracoviště ÚHKT a 1. lékařské fakulty UK významně přispělo ke zkvalitnění pregraduální výuky hematologie a transfuziologie. V roce 2009 bylo jmenováno šest nových pracovníků z Klinického úseku, vyučujících studenty. Výuka je zajišťována i v anglickém jazyce a podílejí se na ní tito pracovníci s částečným pracovním úvazkem na 1. LF:

Pracovníci ÚKEH

- Doc. MUDr. Petr Cetkovský, PhD.
- Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
- Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
- MUDr. Hana Klamová, CSc.
- MUDr. Petr Kobylka, CSc.
- MUDr. Michal Kouba
- MUDr. Iuri Marinov, CSc.
- MUDr. Markéta Marková, CSc.
- MUDr. Ludmila Nováková
- MUDr. Martin Písačka
- MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
- MUDr. Mgr. Cyril Šálek, PhD.
- MUDr. Veronika Válková, CSc.
- MUDr. Antonín Vítek

Výuka v rámci 1. LF UK – povinně volitelný předmět Transfuzní lékařství

- MUDr. Martina Böhmová
- MUDr. Jana Žlabová

Na jiných fakultách

Pracovníci ÚHKT jsou zapojeni do výuky magisterského studia na několika dalších

fakultách jak v rámci UK, tak na jiných vysokých školách.

Pracovníci vyučující studenty

- Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- RNDr. Jana Březinová, PhD.
- Mgr. Silvia Izáková
- Ing. Leona Mášová, PhD.
- Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.
- RNDr. Šárka Němečková, DrSc.
- Mgr. Jiří Petrák, PhD.
- Doc. RNDr. Petr Stöckbauer, CSc.
- Ing. Jiří Suttner, CSc.
- RNDr. Ruth Tachezy, PhD.
- MUDr. Daniel Vyoral, CSc.

Postgraduální profesní vzdělávání

V rámci IPVZ

ÚHKT má v profesním postgraduálním vzdělávání vedoucí postavení, což vyplývá ze skutečnosti, že na ÚHKT je sídlo Subkatedry hematologie a transfuzního lékařství IPVZ.

Subkatedra organizuje postgraduální vzdělávání v nástavbovém oboru **hematologie a transfuzní služba** a v oboru **výšetřovací metody v klinické hematologii** určeném pro jiné odborné pracovníky ve zdravotnictví. Subkatedra se podílí na vzdělávání v hematologii a transfuzním lékařství v dalších lékařských i nelékařských oborech (zejm. vnitřní lékařství, chirurgie, klinická biochemie, molekulární genetika aj.). Na přednáškové činnosti v rámci IPVZ se podílí mnoho pracovníků ze všech úseků ÚHKT.

Vedoucím subkatedry je Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc. Dalším pracovníkem katedry je MUDr. Hana Klamová, CSc.

Pracovníci se zúčastňují i výukových aktivit Katedry klinické onkologie IPVZ, jejíž vedoucím je Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc. Součástí výuky je též prezentace problematiky jednotlivých laboratoří ústavu.

Na školicích akcích subkatedry se podílejí i další pracovníci prakticky ze všech úseků ÚHKT v rámci předatestačních kurzů a seminářů.

Pro IPVZ, Katedru gynekologie a porodnictví, Katedru dermatovenerologie a Katedru mikrobiologie se podílí na pravidelné výuce NRL pro papillomaviry, která připravuje stáže a v rámci kurzů přednáší RNDr. Ruth Tachezy, PhD a RNDr. Eva Hamšíková.

Jiné formy postgraduálního vzdělávání

ÚHKT je rozhodnutím MŠMT akreditované pracoviště pro uskutečňování doktorského studijního programu „Biochemie a patobiochemie“, „Biochemie a biotechnologie“, „Imunologie“, „Fyziologie a patologie buňky“, „Vývojová a buněčná biologie“ a „Farmakologie a toxikologie“ a „Genetika, molekulární biologie a mikrobiologie“.

Ústav hematologie a krevní transfuze a jeho jednotlivá oddělení pořádají semináře a kurzy, na kterých přednášejí pracovníci ústavu nebo zvaní hosté. Semináře probíhají v posluchárnách ústavu a jsou veřejně přístupné. Program seminářů je publikován na webových stránkách ústavu. Pravidelně se pořádají následující kurzy a semináře:

- *Společné semináře ÚHKT, I. interní kliniky 1. LF UK a VFN a Ústavu patologické fyziologie 1. LF UK* (organizují

Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc. a Prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc.)

- *Semináře klinického úseku* (organizuje MUDr. Jiří Schwarz, CSc.)
- *Semináře transfuziologického úseku* (připravují MUDr. Zdeňka Bhuiyan-Ludvíková, Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.)
- *Praktický kurz moderní metody v hematologii* (organizuje Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.) Evropský sociální fond, Senzory a biosenzory pro biotechnologie
- *Výšetřovací metody ve vnitřním lékařství*. Cyklus seminářů, organizuje Doc. MUDr. Daniel Vyoral, CSc. Fyziologie a patologie kostní tkáně, Ústav patologické fyziologie 1. LF UK.
- *Praktický kurz moderní metody v molekulární genetice* (organizuje Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.) Evropský sociální fond, Senzory a biosenzory pro biotechnologie
- *Trombóza a hemostáza*, Věda a výzkum (organizuje Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.) společné semináře ÚHKT a České společnosti pro trombózu a hemostázu České lékařské společnosti JEP
- *Metody molekulární genetiky – Kvantitativní RT-PCR* (organizuje RNDr. Cedrik Haškovec, CSc. a RNDr. Jana Moravcová, CSc.), ve spolupráci s PřFUK
- *Praktický kurz microarray techniky* (organizuje Prof. MUDr. Radim Brdička, CSc.) ve spolupráci s LF1 UK

Zaměstnanci ÚHKT se pravidelně podílejí též na zajištění kurzů mimo prostory ústavu. Jedná se o následující kurzy:

- *Oddělení molekulární genetiky* se účastní v rámci Institutu pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů výuky i v Brně a přednáškových kurzů pro postgraduální studenty AV ČR organizované Prof. J. Jonákem, DrSc.
- *Oddělení cytogenetiky* zajišťuje školení vysokoškolských pracovníků v nových metodách (fluorescenční in situ hybridizace FISH a její modifikace)

Na odděleních ÚHKT probíhají i školení a kurzy pro střední zdravotnický personál:

- sestry
- sestry – operátorky separátorů na aferetické jednotce
- laboranty
- pracovníky, kteří provádějí ozařování transfuzních přípravků
- pracovníky krevních skladů

Řada pracovníků ÚHKT se podílí na kapitolách v učebnicích pro hematologii a transfúzní lékařství.

Postgraduální vědecká příprava

ÚHKT se intenzivně věnuje přípravě postgraduálních studentů. Kromě toho prostřednictvím Institutu dalšího vzdělávání lékařů a farmaceutů využívají zázemí jednotlivých oddělení ÚHKT další zájemci ke krátkodobým pobytům. ÚHKT rovněž nabízí několik typů zdokonalovacích praktických týdenních kurzů, o které je značný zájem.

Na jednotlivých odděleních ÚHKT jsou školeni doktorandi a diplomanti a je zajišťováno vedení jejich disertačních a magisterských diplomových prací odborníky.

Školitelé:

- Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
- RNDr. Hana Bručková, PhD.
- RNDr. Jana Březinová, PhD.
- Doc. MUDr. Petr Cetkovský, PhD.
- Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- Ing. Ota Fuchs, CSc.
- Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
- RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.
- Mgr. Kateřina Machová Poláková PhD.
- Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.
- RNDr. Šárka Němečková, DrSc.
- Mgr. Jiří Petrák, PhD.
- MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
- Ing. Jiří Suttner, CSc.
- Doc. RNDr. Petr Stöckbauer, CSc.
- RNDr. Michal Šmahel, PhD.
- RNDr. Ruth Tachezy, PhD.
- Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.
- Prof. MUDr. Vladimír Vonka, DrSc.
- Doc. MUDr. Daniel Vyoral, CSc.

Doktorandi:

- RNDr. Katarína Babiarová
- RNDr. Marie Dobrovolná
- MUDr. Pavel Gabriel
- Mgr. Hana Hájková
- Mgr. Helena Handrková
- Ing. Alžběta Hlaváčková
- RNDr. Ingrid Hrachovinová
- MUDr. Eva Košlabová
- Mgr. Monika Lakatošová
- Mgr. Tereza Lopotová
- Mgr. Vincent Lučanský
- Ing. Pavel Májek
- Mgr. Denisa Myslivcová
- Mgr. Hančí Novotná
- Ing. Eva Otáhalová
- Mgr. Eva Ouředníková
- Mgr. Gabriela Pešlová
- Mgr. Martina Petráčková
- Mgr. Kristýna Pimková
- MUDr. Martin Písačka
- Mgr. Ingrid Poláková
- Mgr. Václava Polívková
- Mgr. Dana Provazníková
- Mgr. Pavlína Ptáčková

- Ing. Zuzana Reicheltová
- MUDr. Eliška Rotnáglová
- Mgr. Iveta Šárová
- Mgr. Tereza Šillerová
- Mgr. Hana Šourková
- Ing. Jana Štikarová
- Mgr. Alžběta Vašíková
- Ing. Milena Vraná
- Mgr. Ilona Vyhřídálová
- MUDr. Kateřina Želiszevská
- Mgr. Kamila Žůrková

Diplomanti:

- Renata Balounová
- Bc. Kamila Fejglová
- Petra Gajdošová
- Bc. Alena Hochmannová
- Jan Musil
- Klára Pečánková
- Zuzana Samková
- Kateřina Zichová

Stážisté na klinickém úseku:

- MUDr. Zdenka Bhuyanová
Transfuziologický úsek ÚHKT
- MUDr. Eva Drbohlavová
Oddělení klinické hematologie Krajské nemocnice Liberec, a.s.
- MUDr. Kateřina Egerová
Firma Amgen, s.r.o.
- MUDr. Petra Kubánková
Onkologické oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice s poliklinikou
- MUDr. Leona Mrázková
Interní klinika 1. LF UK a ÚVN
- MUDr. Eva Popovská
Oddělení klinické hematologie Krajské nemocnice Liberec, a.s.
- MUDr. Zdeněk Remler
Oddělení klinické hematologie, nemocnice Kolín
- MUDr. Martina Suková
Klinika dětské hematologie a onkologie FN Motol

Stážisté na transfuziologickém úseku:

- MUDr. Eva Popovská
Oddělení klinické hematologie Krajské nemocnice Liberec, a.s.
- MUDr. Zdeněk Remler
Oddělení klinické hematologie, nemocnice Kolín
- MUDr. Michaela Harudová
Oddělení klinické hematologie, nemocnice Pelhřimov
- MUDr. Markéta Hnátková
1. Interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha
- MUDr. Petra Obrtlíková
1. Interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

Členství v radách a komisích

Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

- Člen akademického senátu 1. LF UK
- Člen výboru České hematologické společnosti ČLS JEP
- Člen výboru České skupiny pro chronickou lymfocytární leukemii v rámci ČHS ČLS JEP
- Předseda Kooperativní lymfomové skupiny (Czech Lymphoma Study Group)
- Člen redakční rady Hematology Oncology (Wiley)
- Předseda komise pro státní rigorózní zkoušky z vnitřního lékařství
- Člen edukační komise pro hematologické malignity ESMO (European Society of Medical Oncology)
- Člen Lymphoma Working Party EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation)
- Člen hodnotících komisí pro výroční sjezdy EHA (European Hematology Association) a ASH (American Society of Hematology)
- Člen správní rady Heřmanského nadace hematologické onkologie

Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

- Člen oborových rad PDSB:
 - Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie
 - Biochemie a patobiochemie
 - Antropologie a lidská genetika
- Zástupce ČR v EMQN (European Molecular Genetic Quality Network)
- Člen redakční rady Časopisu lékařů českých
- Člen Odborné komise pro oblast akreditace zdravotnických laboratoří ČIA – člen a odborný auditor
- Člen výboru Společnosti lékařské genetiky při ČLS JEP
- Člen rady pro akreditaci klinických laboratoří ČLS JEP
- Člen pracovní skupiny MZČR pro vzácná onemocnění
- Člen Pracovní skupina pro přípravu zákona o DNA při ÚOOÚ (Úřad na ochranu osobních údajů)
- Čestný člen Hematologické společnosti ČLS JEP

Doc. MUDr. Petr Cetkovský, PhD.

- Člen Vědecké rady University Karlovy v Praze
- Člen Oborové rady a zkušební komise pro státní doktorské zkoušky v oboru onkologie Masarykovy University v Brně
- Člen redakčních rad časopisů:
 - Transfúze a hematologie Dnes
 - The Lancet Oncology (české vydání)
- Člen Transplantační sekce České hematologické společnosti a České onkologické společnosti
- Místopředseda České leukemické skupiny CELL

Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

- Předseda výboru České hematologické společnosti ČLS JEP
- Čestné členství v České hematologické společnosti ČLS JEP
- Člen MDS Foundation
- Člen redakční rady Transfúze a hematologie dnes
- Člen redakční rady Hematologica
- Člen řídicí komise pro vzdělávání v hematologii EHA

RNDr. Marie Dobrovolná

- Člen European Foundation for Immunogenetics
- Člen European Society for Blood and Marrow Transplantation
- Členka etické komise ÚHK

Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.

- Člen Rady programu Nanotechnologie pro společnost
- Člen Vědecké rady 1. lékařské fakulty UK Praha
- Člen Oborové rady doktorského studijního programu „Chemie“ pro obor „Biochemie“ na Fakultě potravinářské a biochemické technologie VŠCHT v Praze
- Člen Oborové rady studijního oboru „Biochemie“ na Přírodovědecké fakultě University Karlovy v Praze
- Člen stálé Komise pro obhajoby doktorských disertací v oboru „Biochemie, biofyzika a molekulární biologie“ AV ČR
- Člen Komise pro obhajoby na Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT Praha
- Člen výboru Společnosti pro trombozu a hemostázu ČLS JEP

Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.

- President Elect European Society for Haemapheresis and Haemotherapy
- Vědecký sekretář Společnosti pro transfúzní lékařství JEP
- Člen redakční rady časopisu Transfúze a hematologie dnes

RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.

- Člen oborové rady Molekulární a buněčné biologie, genetiky a virologie v rámci sekce Biomedicína při PŘF UK
- Člen zkušební komise oborové rady Biologie a patologie buňky, LF UK
- Člen zkušební komise oborové rady Biofyziky, MFF UK
- Člen komise Onkologie Interní grantové agentury (IGA) MZČR
- Člen komise Molekulární biologie a lékařství Grantové agentury akademie věd (GA AV)

RNDr. Ingrid Hrachovinová

- Člen výboru Společnosti pro trombozu a hemostázu ČLS JEP
- Člen Vědecké rady SEKK (Externí kontrola kvality)

RNDr. Zbyněk Hrkál, DrSc.

- Člen komise Ostatní lékařské obory I. Interní grantové agentury (IGA) MZČR

MUDr. Petr Kobylka, CSc.

- Člen Oborové komise OK 05 IGA MZ ČR

Mgr. Kateřina Machová Poláková, PhD.

- Člen výboru České leukemické skupiny CELL
- Člen poradní rady Diagnóza CML

MUDr. Jacqueline Maaloufová

- Člen výboru České leukemické skupiny CELL

Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.

- Člen katedry lékařské genetiky
- Člen oborové rady pro molekulární genetiku a biologii UK
- Člen oborové rady Genetika a plemenitba zvířat Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
- Místopředseda Akreditační komise lékařská genetika, MZ ČR

RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

- Člen vědecké rady 1. LF UK
- Člen vědecké rady ÚHKT
- Člen oborové rady pro doktorské studium v oborech genetika a mol. biol. a mikrobiologie UK Praha
- Člen rady „Centra experimentální hematologie“
- Člen komise pro udělování titulu DrSc. v oboru imunologie a mikrobiologie
- Člen redakční rady Acta Virologica
- Členka Poradního orgánu pro moderní terapie SÚKL

MUDr. Martin Písačka

- Člen výboru Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS
- Člen Vědecké rady SEKK
- Zástupce STL v Radě pro akreditaci klinických laboratoří
- Člen užší redakce Transfuze a hematologie dnes
- Člen akreditační komise Ministerstva zdravotnictví

MUDr. Peter Salaj

- Člen výboru Společnosti pro trombozu a hemostázu ČLS JEP
- ABC board pro život ohrožující krvácení

MUDr. Jiří Schwarz, CSc.

- Člen výboru European Myeloproliferative Study Organization (CEMPO)
- European Cooperation in Science and Technology; COST projekt č. BM002 – Network of experts in the diagnosis of myeloproliferative disorders (MPD). Člen výboru projektu a vedoucí jedné ze 4 pracovních skupin projektu (WG 2: Molecular diagnosis of thrombocythemia and primary myelofibrosis with no mutation of JAK2)
- Předseda České pracovní skupiny pro Ph – myeloproliferativní onemocnění (CZEMP) v rámci České hematologické společnosti ČLS JEP
- Člen výboru České skupiny pro chronickou lymfocytární leukemii v rámci ČHS ČLS JEP

Prof. MUDr. Karel Smetana, DrSc.

- Předseda Oborové rady pro biologii a patologii buňky při UK (do října 2008)
- Místopředseda Oborové rady pro biologii a patologii buňky při UK (od října 2008)
- Předseda komise pro obhajoby doktorských dizertací z oboru biologie a patologie buňky při UK
- Předseda komise pro atestace z oboru vyšetřovací metody v klinické hematologii (IPVZ)
- Místopředseda České histochemické společnosti
- Ko-editor časopisu J. Appl. Biomed.
- Člen redakční rady časopisu Hematology
- Externí učitel Jihočeské Univerzity (Zdrav. soc. fakulta)
- Člen rady Centra pro funkční organizaci buňky při Ústavu molekulární genetiky AV ČR
- Člen rady Mack Planck Inst. for Mol. Cell Biol. Genet. and Inst. Molec. Genet. Ac. Sci
- Czech Rep. Partner Group
- Člen mezinárodního výboru Int. Cell Nucleus Workshop

RNDr. Michal Šmahel, PhD.

- Člen komise pro státní doktorské zkoušky a obhajoby disertačních prací studijního programu molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie, UK Praha
- Vědecký sekretář výboru Společnosti pro genovou a buněčnou terapii ČLS JEP
- Člen rady Centra funkční genetiky

RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

- Člen Komise pro prevenci karcinomu hrdla děložního, GSK
- Zástupce ÚHKT, NRL pro papillomaviry v European Cervical Cancer Association

MUDr. Antonín Vítek

- Člen Transplantační sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

Prof. MUDr. Vladimír Vonka, DrSc.

- Člen vědecké rady 3. lékařské fakulty UK
- Člen bioetické komise při Radě vlády pro vědu a výzkum
- Člen České lékařské akademie a Učené společnosti České republiky
- Člen American Academy of Microbiology
- Člen Academia Scientiarum et Artium Europea
- Člen redakční rady Central Europ. J. Publ. Health
- Člen redakční rady „Revue České lékařské akademie“
- Člen výboru Společnosti pro genovou a buněčnou terapii a protinádorové vakcíny ČLS JEP
- Člen rady „Centra buněčné terapie a tkáňových náhrad“
- Člen habilitační komise na 3. LF
- Iniciátor zřízení Pracovní skupiny pro personalizovanou medicínu složené ze zástupců US ČR, ČLA a ČLS JEP a její člen

Většina zaměstnanců ÚHKT je členy některé nebo několika následujících odborných společností:

- Česká lékařská společnost J. E. Purkyně (ČLS JEP)
- Česká hematologická společnost ČLS JEP
- Česká asociace sester (ČAS)
- Společnost transfuzního lékařství ČLS JEP
- Česká onkologická společnost ČLS JEP
- European Haematology Association
- European Society for Blood and Marrow Transplantation

Vědecká rada ÚHKT – složení do 31. 12. 2009

Ústavní členové

- Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
- Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
- RNDr. Ingrid Hrachovinová
- MUDr. Hana Klamová, CSc.
- MUDr. Petr Kobylka, CSc.
- RNDr. Šárka Němečková, DrSc.
- MUDr. Martin Písačka
- MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
- MUDr. Daniel Vyoral, CSc.

Externí členové

- Prof. MUDr. Jan Bubeník, DrSc.,
Ústav molekulární genetiky AV ČR
- Prof. RNDr. Milan Kodíček, DrSc.,
Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT
- Prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc.,
Ústav patologické fyziologie 1. LF UK
- RNDr. Kateřina Roubalová, CSc.,
SZÚ, laboratoř pro herpetické viry
- Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.,
2. dětská klinika FN Motol

Vědecká rada ÚHKT, která se bude scházet od 1. 1. 2010

Předseda Vědecké rady:

- Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

Zástupce předsedy Vědecké rady:

- RNDr. Kateřina Kuželová, PhD.

Ústavní členové

- Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
- Mgr. Kateřina Machová Poláková, PhD.
- MUDr. Markéta Marková, CSc.
- Ing. Michaela Merkerová, PhD.
- MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
- MUDr. Mgr. Cyril Šálek, PhD.
- RNDr. Michal Šmahel, PhD.
- Doc. MUDr. Daniel Vyoral, CSc.

Externí členové

- Prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc., Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT
- Prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc., Ústav patologické fyziologie
- Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc., 2. dětská klinika FN Motol
- MUDr. Tomáš Stopka, PhD., VFN 1. Interní klinika

Zahraniční členové

- Prof. Jiri Bartek, MD, PhD., dr. h. c., Institute of Cancer Biology, Danish Cancer Society, Denmark
- Jaroslav Jelínek, MD, PhD., MD Anderson Cancer Center U.S.A.
- Jan Storek, MD, PhD., University of Calgary
- Prof. MUDr. Radek Škoda, PhD., University Hospital Basel

Etická komise

Předseda:

- MUDr. Markéta Marková, CSc.

Členové

- Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
- Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
- JUDr. Josef Holoubek
- Mgr. Lenka Havlová
- MUDr. Hana Klamová, CSc.
- Libuše Nedomová
- RNDr. Šárka Němečková, DrSc.
- MUDr. Peter Salaj
- RNDr. Marie Dobrovolná
- MUDr. Antonín Vítek

Organizace konferencí a školicích akcí

Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

- XIII. Celostátní konference DNA diagnostiky SLG ČLS JEP 26.–27. listopad 2009
- Olomouc – sekce pro externí kontrolu kvality genetických laboratoří (koordinátor)

MUDr. Zdeňka Bhuiyan-Ludvíková

- Příprava seminářů Transfuziologického úseku

Mgr. Simona Brixiová

- Organizace odborných konferencí, seminářů a inovačních kurzů s tematikou ošetrovatelské péče v hematologii

Doc. MUDr. Petr Cetkovský, PhD.

- Pražský hematologický den, 22. 10. 2009, Praha

MUDr. Ivan Fales, MUDr. Šárka Rahmatová, MUDr. Petr Kobylka, CSc.

- Celostátní konference projektu BPK ČR, 23. 1. 2009, Praha: Fales, I., Rahmatová, Š., Kobylka, P., pořadatel.

Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc., MUDr. Martin Písačka

- Členka vědeckého výboru konference 12. pracovní dny v transfuzním lékařství, Olomouc, 23. 9.–25. 9. 2009
- Školení pro zajištění bezpečnosti práce s ozařovačem transfuzních přípravků
- Příprava seminářů Transfuziologického úseku

RNDr. Cedrik Haškovec, CSc., RNDr. Jana Moravcová, CSc.

- Organizace seminářů Oddělení molekulární genetiky

Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc., RNDr. Jana Březinová, PhD.

- Stáže pro zaměstnance a školení ÚHKT, kteří se připravují na atestaci v IPVZ
- Organizace stáží pro NCO NZO Brno

MUDr. Martin Písačka

- Člen vědeckého výboru konference 12. pracovní dny v transfuzním lékařství, Olomouc, 23. 9.–25. 9. 2009

MUDr. Jiří Schwarz, CSc.

- Organizace seminářů Klinického úseku

RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

- Prevence karcinomu děložního hrdla: „Jak se můžete vy a vaši blízcí chránit před rakovinou děložního čípku“. Seminář pro zaměstnance ÚHKT, 22. 4. 2009, Praha
- Odborná konference Diagnostika a prevence STD, 10. 11. 2009, Praha

Péče o zaměstnance

Péče o zaměstnance je zajišťována Kolektivní smlouvou uzavřenou na základě dohody Základní organizace Odborového svazu zdravotnictví a sociální péče ČR s vedením ÚHKT.

Odborová organizace zajišťuje nebo se podílí na následujících aktivitách. Na některé z těchto aktivit nebudou uvolňovány prostředky z rozpočtu FKSP pro rok 2010.

Rekreace

- příspěvek z FKSP na prázdninovou rekreaci dětí zaměstnanců (3 000 Kč na jedno dítě)
- pořádání zimního lyžařského tábora pro děti zaměstnanců
- zajišťování finančně dotované zimní i letní rekreace v horské chalupě v Bedřichově v Jizerských horách
- pořádání jednodenních sportovních a poznávacích zájezdů finančně dotovaných z FKSP

Kulturně společenské akce

- zajišťování vstupenek do divadel s příspěvkem z FKSP
- každoroční pořádání srazu bývalých zaměstnanců ÚHKT – důchodců
- poskytování darů u příležitosti pracovních a životních výročí

Ostatní

- finančně dotovaný nákup stravenek GASTROTUR, pomocí nichž je možné stravování v závodní jídelně
- příspěvek na penzijní připojištění se státním příspěvkem (200 Kč měsíčně)
- příspěvek na životní pojištění (100 Kč měsíčně)
- půjčování knih z beletristické knihovny odborové organizace, která je odborně vedena pracovníky SVLI (roční nákupy v ceně více než 12 000 Kč)
- finanční podpora zájmové činnosti zaměstnanců ve sportovním a fotografickém klubu
- finanční příspěvek na poukázky FOKUSPASS, které bylo v roce 2009 možné uplatnit na relaxaci, sport, kulturu, rekreaci a cestování
- péče o odborný rozvoj zaměstnanců (prohlubování a zvyšování kvalifikace, pořádání jazykových a jiných kursů v prostorách ústavu)
- půjčování sportovního inventáře
- zajišťování provozu a údržby horské chalupy v Bedřichově v Jizerských horách

Fotoklub

Na půdě ÚHKT se pravidelně již devátým rokem schází členové a příznivci focení fotoklubu Třináctá komora. Členové fotoklubu se pod hlavičkou ÚHKT věnují fotografii ať už digitální či klasické. Zároveň pomáhají v rozvoji fotografie i třeba podporou akcí jako je „Mapový okruh Nekázanka“, jehož celorepublikový 49. ročník (2009/2010) organizují. Též pořádají workshopy, kde své znalosti

fotografických technik i technik zpracování fotografií na počítači předávají dále.

V květnu 2009 proběhla v Akademickém klubu U Fausta již tradiční společná výstava Fotoklubu, tentokrát na téma „Ecce homo“. Velká část z třiceti vystavených fotografií byla po skončení výstavy použita na výzdobu ústavu.

Fotoklub pro potřeby ústavu fotí významné akce, pravidelné požární poplachy, celoustavní schůze a další ústavní aktivity. Snad nejdůležitější dokumentovanou aktivitou v roce 2009 bylo slavnostní otevření transplantační jednotky; charitativní akce Darujte krev s Hanou Zagorovou; a návštěva paní ministryně zdravotnictví dr. Juráskové.

Fotoklub pořádá i několik společných akcí spojených s fotografováním – Na podzim se většina fotoklubu doplněná o další zájemce sešla na víkendovém semináři na téma dírková komora, kde vznikla řada nevšedních snímků. V průběhu roku se konaly i menší fotografické akce jako např. noční focení Prahy, výlet na Berounsko či na Baťův kanál.

Rok 2009 byl v mnohém významný i pro členy fotoklubu jednotlivě. Viktor Sýkora, jež svými fotografiemi přispívá i do časopisů jako Natioanl Geographic, vydal knihu makrofotografií „Tajemství rostlin“. A v Leica Gallery Praha. vedl workshop „Mikro a makrofotografie“. Cedrik a Štěpánka Haškovcovi vystavovali kolekci svých fotografií v Akademickém klubu U Fausta na téma „Květiny a hory“ a uspořádali několik veřejných promítání svých fotografií. Petr J. Juračka měl samostatnou výstavu „České Švýcarsko“ v Galerii „Schody do nebe“ v Krásné Lípě, a svou první výstavu aktů „Liturgia 2009“ ve Smart Gallery v Praze, a pořádá několik fotografických workshopů.

Do svých řad zve fotoklub stále nové členy. Stejně tak umožňuje zájemcům o konkrétní akci fotoklubu se jí zúčastnit. S aktuální činností fotoklubu a jeho členů je možné se seznámit na webových stránkách www.13komora.cz. ■

Publikační činnost 2009 (vybrané publikace)

Původní práce v recenzovaných časopisech

1. Hallmayer, J.; Faraco, J.; Lin, L.; Hesselson, S.; Winkelmann, J.; Kawashima, M.; Mayer, G.; Plazzi, G.; Nevšimalová, S.; Bourgin, P.; Hong, S. -C.; Honda, Y.; Honda, M.; Högl, B.; Longstreth, W. T. jr.; Montplaisir, J.; Kemlink, D.; Einen, M.; Chen, J.; Musone, S. L.; Akana, M.; Miyagawa, T.; Duan, J.; Desautels, A.; Erhardt, C.; Hesla, P. E.; Poli, F.; Frauscher, B.; Jeong, J. -H.; Lee, S. -P.; Ton, T. G. N.; Kvale, M.; Kolesár, L.; **Dobrovolná, M.**; Nepom, G. T.; Salomon, D.; Wichmann, H. -E.; Rouleau, G. A.; Gieger, C.; Levinson, D. F.; Gejman, P. V.; Meitinger, T.; Young, T.; Peppard, P.; Tokunaga, K.; Kwok, P. -Y.; Risch, N.; Mignot, E.
 - Narcolepsy is strongly associated with the T-cell receptor alpha locus.
 - Nat. Genet. Vol. 41, no. 6 (2009), s. 708–711.
 - Impact Factor: 30.259
2. Klug, S. J.; Rensing, M.; Koenig, M.; Abba, M. C.; Agorastos, T.; Brenna, S. M.; Ciotti, M.; Das, B. R.; Del Mistro, A.; Dybikowska, A.; Giuliano, A. R.; Gudleviciene, Z.; Gyllesten, U.; Haws, A. L.; Helland, A.; Herrington, C. S.; Hildesheim, A.; Humbey, O.; Jee, S. H.; Kim, J. W.; Madeleine, M. M.; Menczer, J.; Ngan, H. Y.; Nishikawa, A.; Niwa, Y.; Pegoraro, R.; Pillai, M. R.; Ranzani, G.; Rezza, G.; Rosenthal, A. N.; Roychoudhury, S.; Saranath, D.; Schmitt, M. V.; Sengupta, S.; Settheetham-Ishida, W.; Shirasawa, H.; Snijders, P. J.; Stoler, M. H.; Suárez-Rincón, A. E.; Szarka, K.; **Tachezy, R.**; Ueda, M.; van der Zee, A. G.; von Knebel-Doeberitz, M.; Wu, M. -T.; Yamashita, T.; Zehbe, I.; Blettner, M.
 - TP53 codon 72 polymorphism and cervical cancer: a pooled analysis of individual data from 49 studies.
 - Lancet Oncol. Vol. 10, no. 8 (2009), s. 772–784.
 - Impact Factor: 13.283
3. Kuzmina, Z.; Greinix, H. T.; Knobler, R.; Worel, N.; **Kouba, M.**; Weigl, R.; Körmöcz, U.; Rottal, A.; Pohlreich, D.; Zielinski, C.; Pickl, W. F.
 - Proportions of immature CD19+CD21- B lymphocytes predict the response to extracorporeal photopheresis in patients with chronic graft-versus-host disease.
 - Blood. Vol. 114, no. 3 (2009), s. 744–746.
 - Impact Factor: 10.432
4. **Pešlová, G.; Petrák, J.; Kuželová, K.**; Hrdý, I.; Halada, P.; Kuchel, P. W.; Soe-Lin, S.; Poňka, P.; Šuťák, R.; Becker, E.; Huang, M. L. H.; Rahmato, Y. S.; Richardson, D.; **Vyoral, D.**
 - Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to alpha-2-macroglobulin in blood.
 - Blood. Vol. 113, no. 24 (2009), s. 6225–6236.
 - Impact Factor: 10.432
5. **Ullmannová-Benson, V.**; Guan, M.; Zhou, X.; Tripathi, V.; Yang, X. Y.; Zimonjic, D. B.; Popescu, N. C.
 - DLC1 tumor suppressor gene inhibits migration and invasion of multiple myeloma cells through RhoA GTPase pathway.
 - Leukemia. Vol. 23, no. 2 (2009), s. 383–390.
 - Impact Factor: 8.634
6. **Čmejla, R.; Čmejlová, J.; Handrková, H.; Petrák, J.**; Petrtýlová, K.; Mihál, V.; Starý, J.; Černá, Z.; Jabali, Y.; Pospíšilová, D.
 - Identification of mutations in the ribosomal protein L5 (RPL5) and ribosomal protein L11 (RPL11) genes in Czech patients with Diamond-Blackfan anemia.
 - Hum. Mutat. Vol. 30, no. 3 (2009), s. 321–327.
 - Impact Factor: 7.033
7. Pytlík, R.; Stehlík, D.; Soukup, T.; Kalbáčová, M.; Rypáček, F.; Trč, T.; Mulínková, K.; Michnová, P.; Kideryová, L.; Živný, J.; Klener, P. jr.; Veselá, R.; **Trněný, M.; Klener, P.**
 - The cultivation of human multipotent mesenchymal stromal cells in clinical grade medium for bone tissue engineering.
 - Biomaterials. Vol. 30, no. 20 (2009), s. 3415–3427.
 - Impact Factor: 6.646
8. **Sobotková, A.; Mášová-Chrastinová, L.; Suttner, J.; Štikarová, J.; Májek, P.; Reicheltová, Z.; Kotlín, R.; Weisel, J. W.; Malý, M.; Dyr, J. E.**
 - Antioxidants change platelet responses to various stimulating events.
 - Free Radical Bio. Med. Vol. 47, no. 12 (2009), s. 1707–1714.
 - Impact Factor: 5.399
9. Dennis, L. K.; Coughlin, J. A.; McKinnon, B. C.; Wells, T. S.; Gaydos, C. A.; **Hamšíková, E.**; Gray, G. C.
 - Sexually transmitted infections and prostate cancer among men in the U. S. military.
 - Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. Vol. 18, no. 10 (2009), s. 2665–2671.
 - Impact Factor: 4.770
10. **Petrák, J.; Toman, O.**; Šimonová, T.; Halada, P.; **Čmejla, R.; Klener, P.**; Živný, J.
 - Identification of molecular targets for selective elimination of TRAIL-resistant leukemia cells: from spots to in vitro assays using TOP15 charts.
 - Proteomics. Vol. 9, no. 22 (2009), s. 5006–5015.
 - Impact Factor: 4.586
11. Brodská, H.; Drábek, T.; Malíčková, K.; Kazda, A.; **Vítek, A.**; Zima, T.; **Marková, M.**
 - Marked increase of procalcitonin after the administration of anti-thymocyte globulin in patients before hematopoietic stem cell transplantation does not indicate sepsis: a prospective study.
 - Crit. care. Vol. 13, no. 2 (2009), article no. R37.
 - Impact Factor: 4.553
12. Burda, P.; Čuřík, N.; Kokavec, J.; Bašová, P.; **Mikulenková, D.**; Skoultchi, A.; Zavadil, J.; Stopka, T.
 - PU. 1 activation relieves GATA-1-mediated repression of Cebpa and Cbfb during leukemia differentiation.
 - Mol. Cancer Res. Vol. 7, no. 10 (2009), s. 1693–1703.
 - Impact Factor: 4.533
13. De Witte, T. M.; Brand, R.; Van Biezen, A.; Mufti, G. J.; Ruufu, T.; Finke, J.; von dem Borne, P.; **Vítek, A.**; Delforge, M.; Alessandrino, P. E.; Harlahakis, N.; Russell, N. H.; Martino, R.; Verdonck, L. F.; Kröger, N.; Niederwieser, D.
 - Allogeneic stem cell transplantation for patients with refractory anaemia with matched related and unrelated donors: delay of the transplant is associated with inferior survival.
 - Brit. J. Haematol. Vol. 146, no. 6 (2009), s. 627–636.
 - Impact Factor: 4.478

14. Hubáček, P.; Virgili, A.; Ward, K. N.; Pohlreich, D.; Keslová, P.; Goldová, B.; **Marková, M.**; Zajac, M.; Cinek, O.; Nacheva, E.; Sedláček, P.; **Cetkovský, P.**
 - HHV-6 DNA throughout the tissues of two stem cell transplant patients with chromosomally integrated HHV-6 and fatal CMV pneumonitis.
 - Brit. J. Haematol. Vol. 145, no. 3 (2009), s. 394–398.
 - Impact Factor: 4.478
15. Anttila, A.; Ronco, G.; **Tachezy, R.**; **Hamšíková, E.**; **Šmahelová, J.**; et al.
 - Description of the national situation of cervical cancer screening in the member states of the European Union.
 - Eur. J. Cancer. Vol. 45, no. 15 (2009), s. 2685–2708.
 - Impact Factor: 4.475
16. Nicula, F. A.; Anttila, A.; Neamtiu, L.; Žakelj, M. P.; **Tachezy, R.**; Chil, A.; Grce, M.; Kesić, M.
 - Challenges in starting organised screening programmes for cervical cancer in the new member states of the European Union.
 - Eur. J. Cancer. Vol. 45, no. 15 (2009), s. 2679–2684.
 - Impact Factor: 4.475
17. Morfin, F.; Dupuis-Girod, S.; Frobert, E.; Mundweiler, S.; Carrington, D.; Sedláček, P.; Bierings, M.; **Cetkovský, P.**; Kroes, A. C.; van Tol, M. J.; Thouvenot, D.
 - Differential susceptibility of adenovirus clinical isolates to cidofovir and ribavirin is not related to species alone.
 - Antivir. Ther. Vol. 14, no. 1 (2009), s. 55–61.
 - Impact Factor: 4.105
18. Rodriguez Emmenegger, C.; Brynda, E.; **Riedel, T.**; Sedláková, Z.; Houska, M.; Alles, A. B.
 - Interaction of blood plasma with antifouling surfaces.
 - Langmuir. Vol. 25, no. 11 (2009), s. 6328–6333.
 - Impact Factor: 4.097
19. **Kotlín, R.**; **Reicheltová, Z.**; Malý, M.; **Suttner, J.**; **Sobotková, A.**; **Salaj, P.**; Hirmerová, J.; **Riedel, T.**; **Dyr, J. E.**
 - Two cases of congenital dysfibrinogenemia associated with thrombosis: Fibrinogen Praha III and Fibrinogen Plzen.
 - Thromb. Haemostasis. Vol. 102, no. 3 (2009), s. 479–486.
 - Impact Factor: 3.803
20. **Kuželová, K.**; **Grebeňová, D.**; **Pluskařová, M.**; Kavan, D.; Halada, P.; **Hrkál, Z.**
 - Isoform-specific cleavage of 14–3–3 proteins in apoptotic JURL-MK1 cells.
- J. Cell. Biochem. Vol. 106, no. 4 (2009), s. 673–681.
- Impact Factor: 3.540
21. McNees, A. L.; Vilchez, R. A.; Heard, T. C.; **Šroller, V.**; Wong, C.; Herron, A. J.; Hamilton, M. J.; Davis, W. C.; Butel, J. S.
 - SV40 lymphomagenesis in Syrian golden hamsters.
 - Virology. Vol. 384, no. 1 (2009), s. 114–124.
 - Impact Factor: 3.539
22. Patel, N. C.; Halvorson, S. J.; **Šroller, V.**; Arrington, A. S.; Wong, C.; Smith, E. O.; Vilchez, R. A.; Butel, J. S.
 - Viral regulatory region effects on vertical transmission of polyomavirus SV40 in hamsters.
 - Virology. Vol. 386, no. 1 (2009), s. 94–101.
 - Impact Factor: 3.539
23. Flegel, W. A.; von Zabern, I.; Doescher, A.; Wagner, F. F.; Strathmann, K. P.; Geisen, C.; Palfi, M.; **Písačka, M.**; Poole, J.; Polin, H.; Gabriel, C.; Avent, N. D.
 - D variants at the RhD vestibule in the weak D type 4 and Eurasian D clusters.
 - Transfusion. Vol. 49, no. 6 (2009), s. 1059–1069.
 - Impact Factor: 3.475
24. Ludajic, K.; Balavarca, Y.; Bickeböller, H.; Rosenmayr, A.; Faé, I.; Fischer, G.; **Kouba, M.**; Pohlreich, D.; Kalhs, P.; Greinix, H. T.
 - KIR genes and KIR ligands affect occurrence of acute GVHD after unrelated, 12/12 HLA matched, hematopoietic stem cell transplantation.
 - Bone Marrow Transpl. Vol. 44, no. 2 (2009), s. 97–103.
 - Impact Factor: 3.400
25. Ludajic, K.; Balavarca, Y.; Bickeböller, H.; Rosenmayr, A.; Fischer, G.; Faé, I.; Kalhs, P.; Pohlreich, D.; **Kouba, M.**; **Dobrovolná, M.**; Greinix, H. T.
 - Minor ABO-mismatches are risk factors for acute graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplant patients.
 - Biol. Blood Marrow Transplant. Vol. 15, no. 11 (2009), s. 1400–1406.
 - Impact Factor: 3.372
26. Toracchio, S.; Kozinetz, C. A.; Killen, D. E.; Sheehan, A. M.; Banez, E. I.; Ittmann, M. M.; **Šroller, V.**; Butel, J. S.
 - Variable frequency of polyomavirus SV40 and herpesvirus EBV in lymphomas from two different urban population groups in Houston, TX.
 - J. Clin. Virol. Vol. 46, no. 2 (2009), s. 154–160.
 - Impact Factor: 3.323
27. **Pokorná, D.**; **Poláková, I.**; Kindlová, M.; **Dužková, M.**; **Ludvíková, V.**; **Gabriel, P.**; **Kutinová, L.**; Müller, M.; **Šmahel, M.**
 - Vaccination with human papillomavirus type 16-derived peptides using a tattoo device.
 - Vaccine. Vol. 27, no. 27 (2009), s. 3519–3529.
 - Impact Factor: 3.298
28. Cukrová, V.; Neuwirtová, R.; **Doležalová, L.**; **Beličková, M.**; Bartůňková, J.; Jonášová, A.; **Čermák, J.**; Homolková, H.; Malíková, I.
 - Defective cytotoxicity of T lymphocytes in myelodysplastic syndrome.
 - Exp. Hematol. Vol. 37, no. 3 (2009), s. 386–394.
 - Impact Factor: 3.203
29. Schmuczerová, J.; **Brdička, R.**; Dostál, M.; Šrám, R.; Topinka, J.
 - Genetic variability of HVRII mtDNA in cord blood and respiratory morbidity in children.
 - Mutat. Res. Vol. 666, no. 1–2 (2009), s. 1–7.
 - Impact Factor: 3.198
30. Dossi, K.; Tsircone, V. G.; Hayes, J. M.; Matoušek, J.; Poučková, P.; Zadinová, M.; **Souček, J.**; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.
 - Mapping the ribonucleolytic active site of bovine seminal ribonuclease: the binding of pyrimidinyl phosphonucleotide inhibitors.
 - Eur. J. Med. Chem. Vol. 44, no. 11 (2009), s. 4496–4508.
 - Impact Factor: 2.882
31. **Bruchová, H.**; Yoon, D.; Agarwal, A. M.; Swierczek, S.; Prchal, J. T.
 - Erythropoiesis in polycythemia vera is hyper-proliferative and has accelerated maturation.
 - Blood Cell. Mol. Dis. Vol. 43, no. 1 (2009), s. 81–87.
 - Impact Factor: 2.749
32. **Fuchs, O.**; **Kostečka, A.**; **Provazníková, D.**; **Krásná, B.**; **Březinová, J.**; **Filkuková, J.**; **Kotlín, R.**; **Kouba, M.**; **Kobylka, P.**; Neuwirtová, R.; Jonášová, A.; **Čaniga, M.**; **Schwarz, J.**; **Marková, J.**; **Maaloufová, J.**; **Šponerová, D.**; **Nováková, L.**; **Čermák, J.**
 - Nature of frequent deletions in CEBPA.
 - Blood Cell. Mol. Dis. Vol. 43, no. 3 (2009), s. 260–263.
 - Impact Factor: 2.749

33. Klener, P. jr.; Leahomschi, S.; Molinský, J.; Šimonová, T.; Nečas, E.; **Gašová, Z.; Čermák, J.; Doležalová, L.**; Anděra, L.; Živný, J.
 - TRAIL-induced apoptosis of HL60 leukemia cells: two distinct phenotypes of acquired TRAIL resistance that are accompanied with resistance to TNFalpha but not to idarubicin and cytarabine.
 - Blood Cell. Mol. Dis. Vol. 42, no. 1 (2009), s. 77–84.
 - Impact Factor: 2.749
34. Filová, E.; Brynda, E.; **Riedel, T.**; Bačáková, L.; Chlupáč, J.; Lisá, V.; Houska, M.; **Dyr, J. E.**
 - Vascular endothelial cells on two-and three-dimensional fibrin assemblies for biomaterial coatings.
 - J. Biomed. Mater. Res. Part A. Vol. 90A, no. 1 (2009), s. 55–69.
 - Impact Factor: 2.706
35. **Riedel, T.**; Brynda, E.; **Dyr, J. E.**; Houska, M.
 - Controlled preparation of thin fibrin films immobilized at solid surfaces.
 - J. Biomed. Mater. Res. Part A. Vol. 88A, no. 2 (2009), s. 437–447.
 - Impact Factor: 2.706
36. **Tachezy, R.**; Kłozar, J.; Rubenstein, L. M.; Smith, E. M.; **Saláková, M.**; **Šmahelová, J.**; **Ludvíková, V.**; **Rotnáglová, E.**; Kodet, R.; **Hamšíková, E.**
 - Demographic and risk factors in patients with head and neck tumors.
 - J. Med. Virol. Vol. 81, no. 5 (2009), s. 878–887.
 - Impact Factor: 2.576
37. **Saláková, M.**; Němeček, V.; **Tachezy, R.**
 - TTV and HPV co-infection in cervical smears of patients with cervical lesions.
 - BMC Infect. Dis. [online]. Vol. 9, no. July (2009), art. no. 118 [cit. 2009–11–12].
 - Dostupný z WWW: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/9/118>
 - Impact Factor: 2.536
38. Giebel, S.; Labopin, M.; Holowiecky, J.; Labar, B.; Komarnicki, M.; Koza, V.; Masszi, T.; Mistrík, M.; Lange, A.; Hellmann, A.; **Vítek, A.**; Pretnar, J.; Mayer, J.; Rzepecki, P.; Indrák, K.; Wiktor-Jedrzejczak, W.; Wojnar, J.; Krawczyk-Kulis, M.; Kyrz-Krzemien, S.; Rocha, V.
 - Outcome of HLA-matched related allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients with acute leukemia in first complete remission treated in Eastern European centers: better results in recent years.
 - Ann. Hematol. Vol. 88, no. 10 (2009), s. 1005–1013.
 - Impact Factor: 2.454
39. Pan-Petes, B.; Laguna, P.; Mital, A.; Stanley, J.; Torchet, M. F.; Šalek, S. Z.; **Salaj, P.**
 - Single-dose (270 µg kg⁻¹) recombinant activated factor VII for the treatment and prevention of bleeds in haemophilia A patients with inhibitors: experience from seven European haemophilia centres.
 - Haemophilia. Vol. 15, no. 3 (2009), s. 760–765.
 - Impact Factor: 2.394
40. **Salaj, P.**; Brabec, P.; Penka, M.; **Pohlreichová, V.**; Smejkal, P.; **Cetkovský, P.**; Dušek, L.; Hedner, D.
 - Effect of rFVIIa dose and time to treatment on patients with haemophilia and inhibitors: analysis of HemoRec registry data from the Czech Republic.
 - Haemophilia. Vol. 15, no. 3 (2009), s. 752–759.
 - Impact Factor: 2.394
41. **Salaj, P.**; Gürlich, R.; **Švorcová, V.**; **Marková, M.**; **Cetkovský, P.**
 - Prophylactic preparation and surgical extirpation of a very large abdominal blood cyst in a severe haemophilia A patient with inhibitors managed by rFVIIa.
 - Haemophilia. Vol. 15, no. 1 (2009), s. 380–382.
 - Impact Factor: 2.394
42. Santagostino, E.; Morfini, M.; Auerswald, G. K. -H.; Benson, G. M.; Šalek, S. Z.; Lambert, T.; **Salaj, P.**; Jimenez-Yuste, V.; Ljung, R. C. R.
 - Paediatric haemophilia with inhibitors: existing management options, treatment gaps and unmet needs.
 - Haemophilia. Vol. 15, no. 5 (2009), s. 983–989.
 - Impact Factor: 2.394
43. **Čermák, J.**; **Kačířková, P.**; **Mikulenková, D.**; **Michalová, K.**
 - Impact of transfusion dependency on survival in patients with early myelodysplastic syndrome without excess of blasts.
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. 11 (2009), s. 1469–1474.
 - Impact Factor: 2.390
44. **Klamová, H.**; **Marková, M.**; **Moravcová, J.**; Šišková, M.; **Cetkovský, P.**; **Machová Poláková, K.**
 - Response to treatment in women with chronic myeloid leukemia during pregnancy and after delivery.
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. 11 (2009), s. 1567–1569.
 - Impact Factor: 2.390
45. **Moravcová, J.**; **Rulcová, J.**; **Machová Poláková, K.**; **Klamová, H.**
 - Control genes in international standardization of real-time RT-PCR for BCR-ABL.
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. 4 (2009), s. 582–584.
 - Impact Factor: 2.390
46. Peková, S.; Ivánek, R.; Dvořák, M.; Rüggerberg, S.; Leicht, S.; Li, X.; Franz, T.; Kozák, T.; Vrba, J.; Koza, V.; Karas, M.; **Schwarz, J.**; **Cetkovský, P.**; Průcha, M.
 - Molecular variability of FLT3/ITD mutants and their impact on the differentiation program of 32D cells: implications for the biological properties of AML blasts.
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. 10 (2009), s. 1409–1416.
 - Impact Factor: 2.390
47. Zuna, J.; Prouzová, Z.; Kalina, T.; Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Mužíková, K.; **Rahmatová, Š.**; Meijerink, J. P. P.; Trka, J.
 - Backtracking of ALL to cord blood.
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. 8 (2009), s. e107–e108.
 - Impact Factor: 2.390
48. Černý, V.; Pereira, L.; Kujanová, M.; **Vašířková, A.**; Hájek, M.; Morris, M.; Mulligan, C. J.
 - Out of Arabia: the settlement of island Soqatra as revealed by mitochondrial and Y chromosome genetic diversity.
 - Am. J. Phys. Anthropol. Vol. 138, no. 4 (2009), s. 439–447.
 - Impact Factor: 2.353
49. Mořovská, Z.; Widimský, P.; Petr, R.; Bílková, D.; **Marinov, I.**; Šimek, S.; Kala, P.
 - Factors influencing clopidogrel efficacy in patients with stable coronary artery disease undergoing elective percutaneous coronary intervention: statin's advantage and the smoking „paradox“.
 - J. Cardiovasc. Pharmacol. Vol. 53, no. 5 (2009), s. 368–372.
 - Impact Factor: 2.290
50. **Provazníková, D.**; **Geierová, V.**; Kumštýřová, T.; **Kotlín, R.**; **Mikulenková, D.**; **Žůrková, K.**; Mařoška, V.; **Hrachovinová, I.**; **Rittich, Š.**
 - Clinical manifestation and molecular genetic characterization of MYH9 disorders.
 - Platelets. Vol. 20, no. 5 (2009), s. 289–296.
 - Impact Factor: 2.271
51. Malý, M.; **Hrachovinová, I.**; Tomašov, P.; **Salaj, P.**; Hájek, P.; Veselka, J.
 - Patients with acute coronary syndromes have low tissue factor activity and

- microparticle count, but normal concentration of tissue factor antigen in platelet free plasma: a pilot study.
- Eur. J. Haematol. Vol. 82, no. 2 (2009), s. 148–153.
 - Impact Factor: 2.237
52. **Merkerová, M.; Vašíková, A.; Bruchová, H.;** Líbalová, H.; Topinka, J.; Balaščík, I.; Šrám, R.; **Brdička, R.**
- Differential gene expression in umbilical cord blood and maternal peripheral blood.
 - Eur. J. Haematol. Vol. 83, no. 3 (2009), s. 183–190.
 - Impact Factor: 2.237
53. **Hrušková, V.; Morávková, A.; Babiarová, K.; Ludvíková, V.; Fric, J.; Vonka, V.;** Forstová, J.
- Bcr-Abl fusion sequences do not induce immune responses in mice when administered in mouse polyomavirus based virus-like particles.
 - Int. J. Oncol. Vol. 35, no. 6 (2009), s. 1247–1256.
 - Impact Factor: 2.234
54. **Lakatošová-Andělová, M.; Dušková, M.; Lučanský, V.; Páral, P.; Vonka, V.**
- Effects of endostatin production on oncogenicity and metastatic activity of HPV16-transformed mouse cells: role of interleukin 1α.
 - Int. J. Oncol. Vol. 35, no. 1 (2009), s. 213–222.
 - Impact Factor: 2.234
55. **Lučanský, V.; Sobotková, E.; Tachezy, R.; Dušková, M.; Vonka, V.**
- DNA vaccination against bcr-abl-positive cells in mice.
 - Int. J. Oncol. Vol. 35, no. 4 (2009), s. 941–951.
 - Impact Factor: 2.234
56. **Rubeš, J.; Pinton, A.; Bonnet-Garnier, A.; Fillon, V.; Musilová, P.; Michalová, K.; Kubíčková, S.; Ducos, A.; Yerle, M.**
- Fluorescence in situ hybridization applied to domestic animal cytogenetics.
 - Cytogenet. Genome Res. Vol. 126, no. 1–2 (2009), s. 34–48.
 - Impact Factor: 1.965
57. **Marková, J.; Trnková, Z.; Michková, P.; Maaloufová, J.; Starý, J.; Cetkovský, P.; Schwarz, J.**
- Monitoring of minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia and the impact of C-KIT, FLT3, and JAK2 mutations on clinical outcome.
- Leuk. Lymphoma. Vol. 50, no. 9 (2009), s. 1448–1460.
- Impact Factor: 1.939
58. **Sobotková, E.; Dušková, M.; Tachezy, R.; Petrářková, M.; Vonka, V.**
- Combined chemo- and immunotherapy of tumors induced in mice by bcr-abl-transformed cells.
 - Oncol. Rep. Vol. 21, no. 3 (2009), s. 793–799.
 - Impact Factor: 1.524
59. **Žůrková, K.; Babiarová, K.; Hainz, P.; Kryštofová, J.; Kutinová, L.; Otáhal, P.; Němečková, Š.**
- The expression of the soluble isoform of hFlt3 ligand by recombinant vaccinia virus enhances immunogenicity of the vector.
 - Oncol. Rep. Vol. 21, no. 5 (2009), s. 1335–1343.
 - Impact Factor: 1.524
60. **Šárová, I.; Březinová, J.; Zemanová, Z.; Lizcová, L.; Berková, A.; Izáková, S.; Malinová, E.; Fuchs, O.; Kostečka, A.; Provazníková, D.; Filuková, J.; Maaloufová, J.; Starý, J.; Michalová, K.**
- A partial nontandem duplication of the MLL gene in four patients with acute myeloid leukemia.
 - Cancer Genet. Cytogen. Vol. 195, no. 2 (2009), s. 150–156.
 - Impact Factor: 1.482
61. **Zimonjic, D. B.; Ullmannová-Benson, V.; Factor, V. M.; Thorgerirsson, S. S.; Popescu, N. C.**
- Recurrent and nonrandom DNA copy number and chromosome alterations in Myc transgenic mouse model for hepatocellular carcinogenesis: implications for human disease.
 - Cancer Genet. Cytogen. Vol. 191, no. 1 (2009), s. 17–26.
 - Impact Factor: 1.482
62. **Černý, J.; Trněný, M.; Slavíčková, A.; Pytlík, R.; Šálková, J.; Váľková, V.; Liu, Q.; Houghton, J. M.; Klener, P.**
- Rituximab based therapy followed by autologous stem cell transplantation leads to superior outcome and high rates of PCR negativity in patients with indolent B-cell lymphoproliferative disorders.
 - Hematology. Vol. 14, no. 4 (2009), s. 187–197.
 - Impact Factor: 1.425
63. **Mořovská, Z.; Widimský, P.; Kvasnička, J.; Petr, R.; Bílková, D.; Hájková, J.; Marinov, I.; Šimek, S.; Kala, P.**
- High loading dose of clopidogrel is unable to satisfactorily inhibit platelet reactivity in patients with glycoprotein IIIa gene polymorphism: a genetic substudy of PRAGUE-8 trial.
- Blood Coagul. Fibrin. Vol. 20, no. 4 (2009), s. 257–262.
- Impact Factor: 1.398
64. **Brodská, B.; Otevřelová, P.; Kalousek, I.**
- Variations in c-Myc and p21WAF1 expression protect normal peripheral blood lymphocytes against BimEL-mediated cell death.
 - Cell Biochem. Funct. Vol. 27, no. 3 (2009), s. 167–175.
 - Impact Factor: 1.333
65. **Berková, A.; Zemanová, Z.; Trněný, M.; Schwarz, J.; Karban, J.; Cmunt, E.; Pavlišťová, L.; Březinová, J.; Michalová, K.**
- Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia studied by interphase fluorescence in-situ hybridization.
 - Neoplasma. Vol. 56, no. 5 (2009), s. 455–458.
 - Impact Factor: 1.179
66. **Liponová, P.; Podzimek, T.; Orctová, L.; Matoušek, J.; Poučková, P.; Souček, J.; Matoušek, J.**
- Antitumor and biological effects of black pine (*Pinus nigra*) pollen nuclease.
 - Neoplasma. Vol. 55, no. 2 (2009), s. 158–164.
 - Impact Factor: 1.179
67. **Otáhalová, E.; Ullmannová-Benson, V.; Klamová, H.; Haškovec, C.**
- WT1 expression in peripheral leukocytes of patients with chronic myeloid leukemia serves for the prediction of Imatinib resistance.
 - Neoplasma. Vol. 56, no. 5 (2009), s. 393–397.
 - Impact Factor: 1.179
68. **Petrářková, M.; Sobotková, E.; Dušková, M.; Jinoch, P.; Vonka, V.**
- Isolation and properties of gene-modified mouse bcr-abl-transformed cells expressing various immunostimulatory factors.
 - Neoplasma. Vol. 56, no. 3 (2009), s. 194–201.
 - Impact Factor: 1.179
69. **Váľková, V.; Benešová, K.; Vítek, A.; Faber, E.; Mayer, J.; Žák, P.; Trněný, M.**
- The results of allogeneic transplants in patients with malignant lymphoma-a retrospective analysis of data from the Czech National Registry.
 - Neoplasma. Vol. 56, no. 1 (2009), s. 76–83.
 - Impact Factor: 1.179

70. **Vašíková, A.**; Budinská, E.; **Beličková, M.**; **Čermák, J.**; **Bruchová, H.**
 □ Differential gene expression of bone marrow CD34+ cells in early and advanced myelodysplastic syndrome.
 □ Neoplasma. Vol. 56, no. 4 (2009), s. 335–342.
 ■ Impact Factor: 1.179
71. Stopková, R.; Hladovcová, D.; Kokavec, J.; **Vyoral, D.**; Stopka, P.
 □ Multiple roles of secretory lipocalins (Mup, Obp) in mice.
 □ Folia Zool. Roč. 58, č. S1 (2009), s. 29–40.
 ■ Impact Factor: 0.522
72. Avent, N. D.; Martínez, A. A.; Flegel, W. A.; Olsson, M.; Scott, M. L.; Nogués, N.; **Písačka, M.**; Daniels, G.; Muñiz-Díaz, E.; Madgett, T. E.; Storry, J. R.; Beiboer, S. H.; Maaskant-van Wijk, P. M.; von Zabern, I.; Jiménez, E.; Tejedor, D.; López, M.; Camacho, E.; Cheroutre, G.; Hacker, A.; **Jinoch, P.**; **Svobodová, I.**; van der Schoot, E.; De Haas, M.
 □ The Bloodgen project of the European Union, 2003–2009.
 □ Transfus. Med. Hemother. Vol. 36, no. 3 (2009), s. 162–167.
 ■ Impact Factor: 0.491
73. Bělohávková, P.; Neuwirtová, R.; **Čermák, J.**; Vondráková, J.; Vozubulová, V.; Krejčí, M.; Seifertová, N.; Maturová, M.; Kadlčková, E.; Smolíková, A.; Šumná, E.; Kessler, P.; Mandáková, E.; Polonyová, E.; Libiger, J.; Krejčová, H.; Mužík, J.; Voglová, J.; Malý, J.
 □ Sekundární myelodysplastický syndrom: retrospektivní analýza dat z registru České pracovní MDS skupiny.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 4 (2009), s. 237–243.
 ■ Impact Factor: 0.000
74. Binder, T.; Cvachovec, K.; Černý, V.; Dulíček, P.; Feyereisl, J.; Kvasnička, J.; Měchurová, A.; Penka, M.; Roztočil, A.; **Salaj, P.**; Seidlová, D.; Ševčík, P.; Valenta, J.
 □ Diagnostika a léčba akutního peripartálního život ohrožujícího krvácení: doporučený postup.
 □ Vnitř. Lék. Roč. 55, č. 1 (2009), s. 63–65.
 ■ Impact Factor: 0.000
75. **Brdička, R.**; Macek, M. jr.
 □ Genetické testování způsobem DTC i v našich krajích.
 □ Čas. Lék. čes. Roč. 148, č. 2 (2009), s. 56–58.
 ■ Impact Factor: 0.000
76. **Brdička, R.**
 □ Klinická validita a užitečnost molekulárně genetických laboratorních zkoušek.
 □ Čas. Lék. čes. Roč. 148, č. 1 (2009), s. 10–15.
 ■ Impact Factor: 0.000
77. **Brdička, R.**
 □ O lidské dlouhověkosti: 1. vnější vlivy.
 □ Čas. Lék. čes. Roč. 148, č. 6 (2009), s. 264–268.
 ■ Impact Factor: 0.000
78. **Brdička, R.**
 □ O lidském stárnutí a dlouhověkosti: 2. vnitřní podmínky.
 □ Čas. Lék. čes. Roč. 148, č. 7 (2009), s. 330–334.
 ■ Impact Factor: 0.000
79. **Brdička, R.**
 □ Personalizovaná medicína: genomická fáze.
 □ Čas. Lék. čes. Roč. 148, č. 11 (2009), s. 477–480.
 ■ Impact Factor: 0.000
80. **Čermák, J.**
 □ Přetížení železem: novinky v patogenezi a léčbě.
 □ Vnitř. Lék. Roč. 55, č. S1 (2009), s. S59–S63.
 ■ Impact Factor: 0.000
81. Čermáková, Z.; Hrdličková, R.; Šuláková, T.; Kořístka, M.; Kovářová, P.; **Hrachovinová, I.**
 □ Thrombotic thrombocytopenic purpura: incidence of congenital form of disease in North Moravia (region Moravia-Silesia).
 □ Prague Med. Rep. Roč. 110, č. 3 (2009), s. 239–244.
 ■ Impact Factor: 0.000
82. Driák, D.; Dyrhonová, M.; **Tachezy, R.**
 □ Vakcinace proti lidským papilomavirům a její kontroverze: III. část.
 □ Gynekolog. Roč. 18, č. 6 (2009), s. 214–220.
 ■ Impact Factor: 0.000
83. Driák, D.; Dyrhonová, M.; **Tachezy, R.**
 □ Vakcinace proti lidským papilomavirům a její kontroverze: II.
 □ Gynekolog. Roč. 18, č. 5 (2009), s. 180–185.
 ■ Impact Factor: 0.000
84. Driák, D.; Dyrhonová, M.; **Tachezy, R.**
 □ Vakcinace proti lidským papilomavirům a její kontroverze: I.
 □ Gynekolog. Roč. 18, č. 3 (2009), s. 128–133.
 □ Impact Factor: 0.000
85. **Fuchs, O.**; **Provazníková, D.**; **Marinov, I.**; **Kuželová, K.**; Špička, I.
 □ Antiproliferative and proapoptotic effects of proteasome inhibitors and their combination with histone deacetylase inhibitors on leukemia cells.
 □ Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets. Vol. 9, no. 1 (2009), s. 62–77.
 ■ Impact Factor: 0.000
86. Haber, J.; Ráčil, Z.; Mayer, J.; Mallátová, N.; **Kouba, M.**; Sedláček, P.; Faber, E.; Herold, I.; Múdrý, P.; Drgoňa, L.; Kocmanová, I.; Karas, M.; Buchta, V.; Vydra, J.; Kolář, M.; Trupl, J.; Marešová, V.; Rozsypal, H.; Nyč, O.; Cwiartka, K.
 □ Léčba invazivních mykotických infekcí u imunoalterovaných nemocných: doporučení odborných společností.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 1 (2009), s. III–V.
 ■ Impact Factor: 0.000
87. Haber, J.; Ráčil, Z.; Mayer, J.; Mallátová, N.; **Kouba, M.**; Sedláček, P.; Faber, E.; Herold, I.; Múdrý, P.; Drgoňa, L.; Kocmanová, I.; Karas, M.; Buchta, V.; Vydra, J.; Kolář, M.; Trupl, J.; Marešová, V.; Rozsypal, H.; Nyč, O.; Cwiartka, K.
 □ Léčba invazivní kandidózy: doporučení odborných společností.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 1 (2009), s. VII–XVI.
 ■ Impact Factor: 0.000
88. Klempíř, J.; **Mikulenková, D.**; **Písačka, M.**; Klempířová, O.
 □ Diferenciální diagnostika neuroakantocytózy.
 □ Čes. a slov. Neurol. Neurochir. Roč. 72, č. 1 (2009), s. 24–29.
 ■ Impact Factor: 0.000
89. **Klener, P.**
 □ Maligní lymfomy trávicího traktu.
 □ Vnitř. Lék. Roč. 15, č. S1 (2009), s. S74–S76.
 ■ Impact Factor: 0.000
90. **Kouba, M.**; **Cetkovský, P.**
 □ Antimykotická profylaxe u nemocných po alogenní transplantaci krvetvorné tkáně.
 □ Postgrad. Med. Roč. 11, č. mim. příl. (2009), s. 5–9.
 ■ Impact Factor: 0.000
91. Lindner, J.; Jansa, P.; **Salaj, P.**; Kunstýř, J.; Grus, T.; Maruna, P.; Bláha, J.; Rubeš, D.; Mlejnský, F.; Linhart, A.
 □ Thrombophilia and pulmonary endarterectomy.
 □ Prague Med. Rep. Roč. 110, č. 1 (2009), s. 51–59.
 ■ Impact Factor: 0.000
92. Malý, M.; **Marinov, I.**; Hájek, P.; Tesař, D.; Hadačová, I.; Vejvoda, J.; Alan, D.; Veselka, J.
 □ Subakutní trombóza stentu spojená s vysokou reziduální aktivitou krevních destiček.
 □ Cor et Vasa. Roč. 51, č. 11–12 (2009), s. 817–820.
 ■ Impact Factor: 0.000

93. Mořovská, Z.; Widimský, P.; **Marinov, I.**; Petr, R.; Hájková, J.; Kvasnička, J.

- Clopidogrel resistance „Live”: the risk of stent thrombosis should be evaluated before procedures.
- Thromb. J. [online]. Vol. 7, no. 6 (2009), s. 1–6 [cit. 2010–02–01].
- Dostupný z WWW: <http://www.thrombosisjournal.com>
- Impact Factor: 0.000

94. Neuwirtová, R.; Jonášová, A.;

Čermák, J.; Vondráková, J.; Šišková, M.; Hochová, I.; Vozobulová, V.; Jungová, A.; Bělohávková, P.; Kadlčková, E.; Černá, O.; Libiger, J.; Smolíková, A.; Polonyová, E.; Seifertová, N.; **Michalová, K.**; **Březinová, J.**; **Mikulenková, D.**

- Analýza nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) s delecí dlouhého ramene 5. chromozomu (del(5q), sledovaných Českou MDS pracovní skupinou: význam pro diagnostické zařazení a určení prognózy.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 4 (2009), s. 204–209.
- Impact Factor: 0.000

95. **Nováková, L.**; Kučera, P.

- Systémová mastocytóza.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 1 (2009), s. 31–38.
- Impact Factor: 0.000

96. Penka, M.; **Schwarz, J.**; Pavlík, T.;

- Indrák, K.; Doubek, M.; Dulíček, P.; Pospíšilová, D.; Kissová, J.; Jonášová, A.; Jelínková, P.; Hluší, A.; Schutzová, M.; Černá, O.; Brychtová, Y.; **Nováková, L.**; Kořístek, Z.; Segethová, J.; Vozobulová, V.; Hadačová, I.; Hochová, I.; Voglová, J.; Walterová, L.; Bodzáslová, C.; Dušek, L.
- Výsledky léčby nemocných s esenciální trombocytemií a dalšími myeloproliferacemi provázenými trombocytemií: zpráva z registru pacientů léčených Thromboreductinem®.
 - Vnitř. Lék. Roč. 55, č. 11 (2009), s. I–XII.
 - Impact Factor: 0.000

97. Ráčil, Z.; Mayer, J.; Kocmanová, I.; Haber, J.; Mallátová, N.; **Kouba, M.**; Sedláček, P.; Faber, E.; Herold, I.; Múdry, P.; Drgoňa, L.; Karas, M.; Buchta, V.; Vydra, J.; Kolář, M.; Trupl, J.; Marešová, V.; Rozsypal, H.; Nyč, O.; Cwiertka, K.

- Léčba invazivní aspergilózy: doporučení odborných společností.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 1 (2009), s. XVII–XXIV.
- Impact Factor: 0.000

98. Ráčil, Z.; Haber, J.; Drgoňa, L.; **Kouba, M.**; Žák, P.; Kocmanová, I.; Mallátová, N.; Weinbergerová, B.; **Cetkovský, P.**; Mayer, J.

- Primární profylaxe invazivních mykotických onemocnění u hematologických nemocných: doporučení odborníků s podporou CELL, ČHS JEP, COS JEP, SOS.
- Postgrad. Med. Roč. 11, č. mim. příl. (2009), s. 39–42.
- Impact Factor: 0.000

99. Singh, A.; Mohan, M. L.; Isaac, A. O.; Luo, X.; **Petrák, J.**; **Vyoral, D.**; Singh, N.

- Prion protein modulates cellular iron uptake: a novel function with implications for prion disease pathogenesis.
 - Plos One. Vol. 4, no. 2 (2009), art. no. e4468.
 - Impact Factor: 0.000
100. Skalická, H. jr.; Horák, J.; Aschermann, M.; Paleček, T.; **Kobylka, P.**
- Infarkt myokardu, remodelace levé komory a buněčná terapie.
 - Vnitř. Lék. Roč. 55, č. 1 (2009), s. 37–44.
 - Impact Factor: 0.000

101. Skalická, H. jr.; Horák, J.; Aschermann, M.; Linhart, A.; **Kobylka, P.**

- Intrakoronární aplikace kmenových buněk u nemocných s akutním infarktem myokardu, dosavadní klinické zkušenosti a perspektiva.
- Cor et Vasa. Roč. 51, č. 7–8 (2009), s. 513–519.
- Impact Factor: 0.000

102. **Smetana, K.**; **Jirásková, I.**; **Mikulenková, D.**; **Klamová, H.**

- The translocation of AgNORs in large nucleoli of early.
- J. Appl. Biomed. Roč. 7, č. 2 (2009), s. 111–114.
- Impact Factor: 0.000

Monografie a sborníky

Cetkovský, P.; Kouba, M.

- Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
- Praha: Triton, 2009. 264 s. ISBN 978–80–7387–343–1.

Cetkovský, P.

- Sborník abstrakt: Pražský hematologický den.
- Praha: ÚHKT, 2009. 28 s. ISBN 978–80–254–5690–3.

Kapitoly z monografií

1. **Cetkovský, P.**

- Aspergily. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
- Praha: Triton, 2009, s. 218–221. ISBN: 978–80–7387–343–1.

2. **Cetkovský, P.**

- Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů u imunokompromitovaných pacientů: úvod. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
- Praha: Triton, 2009, s. 16–20. ISBN: 978–80–7387–343–1.

3. **Cetkovský, P.**

- Fusarium. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
- Praha: Triton, 2009, s. 230–233. ISBN: 978–80–7387–343–1.

4. **Cetkovský, P.**

- Jak antimykotika kombinovat, výhledy antimykotické terapie do budoucnosti. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
- Praha: Triton, 2009, s. 198–201. ISBN: 978–80–7387–343–1.

5. **Cetkovský, P.**

- Kandidy. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
- Praha: Triton, 2009, s. 222–226. ISBN: 978–80–7387–343–1.

6. **Cetkovský, P.**

- Plicní komplikace u pacientů po transplantaci kmenových buněk krvetvorby: klinický obraz, diferenciální diagnostika a terapie. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
- Praha: Triton, 2009, s. 46–63. ISBN: 978–80–7387–343–1.

7. **Cetkovský, P.**

- Terapie invazivních houbových onemocnění centrálního nervového systému: principy, zvláštnosti. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů →

- a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
- Praha: Triton, 2009, s. 130–135. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 8. Cetkovský, P.**
- Základní údaje o čtyřech nejčastějších houbových patogenech, popis a vyobrazení. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 217–234. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 9. Cetkovský, P.**
- Zvláštnosti diagnostiky a terapie infekčních komplikací u granulocytopenických pacientů. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 164–166. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 10. Cetkovský, P.**
- Zygomycety. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 227–229. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 11. Fuchs, O.**
- Effect of hypoxic conditions on translational control of gene expression. In Esterhouse, T. E.; Petrinis, L.B. (ed.). Protein biosynthesis.
 - New York: Nova Biomedical Books, 2009, s. 285–306. ISBN: 978–1-60692–156–2.
- 12. Fuchs, O.**
- Proteasome inhibition as a therapeutic strategy in patients with multiple myeloma. In Georgiev, M.; Bachev, E. (ed.). Multiple myeloma: symptoms, diagnosis and treatment.
 - New York: Nova Science Publishers, 2009, s. 101–125. ISBN: 978–1-60876–108–1.
- 13. Fuchs, O.**
- The activation of transcription factor NF-kappaB in multiple myeloma. In Georgiev, M.; Bachev, E. (ed.). Multiple myeloma: symptoms, diagnosis and treatment.
 - New York: Nova Science Publishers, 2009, s. 77–99. ISBN: 978–1-60876–108–1.
- 14. Fuchs, O.**
- The role of eukaryotic translation initiation factor 4E and its binding factors 4E-BP1 and 4E-BP2 in body weight regulation, ageing, and tumorigenesis. In Esterhouse, T. E.; Petrinis, L.B. (ed.). Protein biosynthesis.
 - New York: Nova Biomedical Books, 2009, s. 307–330. ISBN: 978–1-60692–156–2.
- 15. Fuchs, O.**
- Zinc finger protein EVI1 and its role in normal development and in oncogenesis. In Yoshida, K. (ed.). Focus on Zinc Finger Protein Research.
 - Trivandrum: Research Signpost, 2009, s. 303–319. ISBN: 978–81–308–0320–3.
- 16. Klener, P.**
- Léčiva používaná k terapii nádorových onemocnění. In Suchopár, J.; Valentová, Š.; Šimek, R. (ed.). Remedia compendium 2009.
 - Praha: Panax, 2009, s. 573–628. ISBN: 978–80–902806–4–9.
- 17. Kouba, M.**
- Invazivní diagnostika plicních infiltrátů: pohled. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 113–117. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 18. Kouba, M.**
- Kombinovaná antimykotická terapie: proč ji používáme?: klinická data. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 202–208. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 19. Kouba, M.**
- Praktické postupy při podávání antimykotik hematologickým pacientům: přehled a zkušenosti z jednoho centra. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 184–186. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 20. Marková, M.**
- Mykotické infekce centrálního nervového systému. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 136–142. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 21. Marková, M.; Kouba, M.**
- Postižení paranasálního sinu u granulocytopenických nemocných: kazuistika. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 176–178. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 22. Marková, M.**
- Současná klasifikace a výskyt mykotických rinosinusitid. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 179–180. ISBN: 978–80–7387–343–1.
- 23. Vinař, O.; Marková, M.**
- Hematoencefalická bariéra. In Cetkovský, P.; Kouba, M. Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných nemocných.
 - Praha: Triton, 2009, s. 126–129. ISBN: 978–80–7387–343–1.

Abstrakta z časopisů, sborníků, posterů

- 1. Beličková, M.; Čermák, J.; Vašíková, A.; Budinská, E.**
- A distinct expression of various gene subsets in CD34+ cells obtained from patients with early and advanced myelodysplastic syndrome.
 - Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 1459–1460.
- 2. Beličková, M.; Vašíková, A.; Budinská, E.; Mikulenkova, D.; Michalová, K.; Čermák, J.**
- Differentially expressed genes of CD34+ between patients with early and advanced myelodysplastic syndrome.
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. S1 (2009), s. S36–S37.
- 3. Benešová, K.; Trnková, M.; Doskočilová, K.; Vacková, B.; Mikulášková, P.; Steinerová, K.; Waldmannová, K.; Marešová, I.; Lukš, A.; Hrabětová, Š.; Nepomucká, J.**
- Secondary malignancies after autologous haematopoietic stem cell transplantation: data from the Czech transplant centres: experiences with EBMT database.
 - Bone Marrow Transpl. Vol. 43, no. S1 (2009), s. S307.
- 4. Bhuiyanová, Z.; Böhmová, M.; Černobilová, K.; Gašová, Z.**

- Dlouhodobé sledování dárců PBPC po mobilizaci a separaci.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S3 (2009), s. 52.
- 5. Bhuiyanová, Z.; Gašová, Z.; Böhmová, M.**
- Dlouhodobé sledování dárců po mobilizaci periferních kmenových buněk: zkušenosti Aferetického oddělení ÚHKT.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 71–72.
- 6. Bolcková, H.; Matějková, E.; Gašová, Z.; Žlabová, J.; Vlachová, A.**
- HLA antibodies in post pregnancies female blood donors. In East-West immunogenetics conference: final programme and book of abstracts.
 - Praha: IKEM, 2009, s. 8.
- 7. Bolcková, H.; Matějková, E.; Gašová, Z.; Žlabová, J.; Vlachová, A.**
- HLA antibodies in post pregnancies female blood donors.
 - Tissue Antigens. Vol. 73, no. 5 (2009), s. 522–523.
- 8. Bolcková, H.; Matějková, E.; Gašová, Z.; Žlabová, J.; Vlachová, A.**
- Prevalence HLA protilátek u dárkyň krve s graviditou v anamnéze.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 72.
- 9. Bolcková, H.; Matějková, E.; Gašová, Z.; Žlabová, J.; Vlachová, A.**
- Prevalence HLA protilátek u dárkyň krve s graviditou v anamnéze.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S3 (2009), s. 26.
- 10. Brdička, R.**
- Genetická determinace lidské biologie.
 - Čas.Lék.čes. Roč. 148, č. 5 (2009), s. 211.
- 11. Brodská, B.; Otevřelová, P.; Pluskalová, M.**
- Actinomycin D disrupts histone deacetylase inhibitor-induced variations in p21 protein expression.
 - Poster: Annual meeting of the Swiss Proteomics Society. Zurich, 2. 12.–4. 12. 2009.
- 12. Brodská, B.; Otevřelová, P.; Kalousek, I.**
- Histone deacetylase inhibitors augment actinomycin D-induced ROS generation in normal peripheral blood lymphocytes.
 - FEBS J. Vol. 276, no. S1 (2009), s. 189.
- 13. Bruchová, H.; Merkerová, M.; Vašíková, A.; Belíčková, M.; Neuwirtová, R.; Čermák, J.**
- Deregulation microRNAs v progenitorových buňkách pacientů s 5q- syndromem.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 59.
- 14. Bruchová, H.; Merkerová, M.; Vašíková, A.; Belíčková, M.; Čermák, J.**
- MicroRNA signature of CD34+ cells in myelodysplastic syndrome patients with del(5q).
 - Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 101.
- 15. Brynda, E.; Rodriguez Emmenegger, C.; Riedel, T.; Sedláčková, Z.; Houska, M.**
- The problem of nonspecific adsorption at measurements in blood plasma with surface plasmon resonance biosensors.
 - Poster: Nanotech: conference and expo 2009. Houston, USA, 3. 5.–7. 5. 2009.
- 16. Březinová, J.; Včelíková, S.; Berková, A.; Zemanová, Z.; Izáková, S.; Šárová, I.; Lizcová, L.; Cmunt, E.; Schwarz, J.; Michalová, K.**
- Molecular cytogenetics, telomere length and other molecular and immunophenotypic features in patients with B-chronic lymphocytic leukemia.
 - Chromosome Res. Vol. 17, no. S1 (2009), s. S127.
- 17. Březinová, J.; Včelíková, S.; Berková, A.; Zemanová, Z.; Izáková, S.; Šárová, I.; Čechová, H.; Tajtlová, J.; Grosová, L.; Lizcová, L.; Malinová, E.; Zemanová, M.; Cmunt, E.; Karban, J.; Schwarz, J.; Michalová, K.**
- Prognostic significance of telomere length, molecular cytogenetic findings and immunophenotypic features in patients with B-chronic lymphocytic leukemia.
 - Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 22.
- 18. Burda, P.; Čuřík, N.; Kokavec, J.; Mikulenková, D.; Skoultchi, A.; Zavadil, J.; Stopka, T.**
- Relieves its GATA-1-mediated repression near Cebpa and Cbfb during transdifferentiation of murine erythroleukemia: tool of inducing leukemic blasts to differentiate.
 - Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 229.
- 19. Bystřická, E.; Vokurka, S.; Brandejsová, R.; Škardová, J.; Pavlicová, V.; Doskočilová, K.; Hnídková, I.; Brojáčková, D.; Ščudlová, J.; Moravcová, K.; Murdychová, E.; Sedláčková, B.; Nagyová, B.; Wintnerová, J.; Vylitová, L.; Visokaiová, M.; Mazur, E.; Szwed-Kolinska, M.; Styczynski, J.; Legiec, M.; Zygodlo, D.; Skoda Gorican, I.; Ghelase, R.; Moicean, A.; Viirsalu, V.; Telling, S.; Idzan, S.; Pfluger, C.; Stefanska, M.; Keinrath, B.; Edl, S.; Charley, C.; Pino Molina, C.**
- Current protective isolation policy within East, Middle and West European centres: a pilot survey.
 - Bone Marrow Transpl. Vol. 43, no. S1 (2009), s. S329–S330.
- 20. Cilloni, D.; Renneville, A.; Hermitte, F.; Hills, R. K.; Daly, S.; Jovanović, J.; Gottardi, E.; Fava, M.; Schnittger, S.; Weiss, T.; Izzo, B.; Nomdedeu, J.; van der Heijden, A.; van der Reijden, B.; van der Velden, V. H.; Rohon, P.; Ommen, H.; Polák, J.; Jansen, J.; Preudhomme, C.; Grimwade, D.; Saglio, G.**
- Early assessment of minimal residual disease (MRD) by optimized real-time quantitative PCR (RQ PCR) assay for detection of WT1 transcripts provides an independent predictor of disease relapse in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet (ELN) study. In The 4th international conference on WT1 in human neoplasia.
 - Osaka, Japan: Senri life science center, 2009, s. 59–60.
- 21. Čechová, H.; Štemberková, R.; Čermák, J.; Včelíková, S.; Staňková, M.; Zemanová, Z.; Michalová, K.**
- Determining of intensity methylation in the area of promotor gene p15 INK4B as prognostic marker in patients with myelodysplastic syndromes (MDS).
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. S1 (2009), s. S85.
- 22. Čechová, H.; Štemberková, R.; Včelíková, S.; Čermák, J.; Staňková, M.; Zemanová, Z.; Michalová, K.**
- Gene methylation, telomere length and activity of telomerase reflect the disease activity in MDS patients and may help to assess an individual risk of patients.
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. S1 (2009), s. S37.
- 23. Čechová, H.; Žižková, H.; Štemberková, R.; Čermák, J.**
- Intenzita metylace genu p15INK4b, délka telomér a telomerázová aktivita jako prognostické markery u pacientů s myelodysplastickým syndromem (MDS). In Cetkovský, P. (ed.). Sborník abstrakt: Pražský hematologický den.
 - Praha: ÚHKT, 2009, s. 14. ISBN: 978–80–254–5690–3.
- 24. Čermák, J.; Mikulenková, D.; Březinová, J.; Michalová, K.**
- A limited benefit of isolated 5q deletion on prognosis: results of a long term retrospective analysis.
 - Leukemia Res. Vol. 33, no. S1 (2009), s. S72–S73.

25. Čermák, J.

- Anémie při chronickém onemocnění.
- Vnitř.Lék. Roč. 55, č. 9 (2009), s. 854–855.

26. Čermák, J.

- Hypometylační látky v léčbě nemocných s pokročilým MDS.
- Intern.Med. Vol. 9, no. 5 (2009), s. 20.

27. Čermák, J.; Nováková, L.; Šponerová, D.; Maaloufová-Soukupová, J.; Čaniga, M.; Marková, M.; Válková, V.; Ryšavá, J.

- Naše zkušenosti s léčbou nemocných s MDS hypometylačními látkami.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 51 (2009), s. 28–29.

28. Čermák, J.

- Novinky v patofyziologii a léčbě paroxysmální noční hemoglobinurie. In Cetkovský, P. (ed.). Sborník abstrakt: Pražský hematologický den.
- Praha: ÚHKT, 2009, s. 10. ISBN: 978–80–254–5690–3.

29. Čermák, J.

- Patofyziologie imunní trombocytopenické purpury.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 51 (2009), s. 30.

30. Čermák, J.; Nováková, L.; Jonášová, A.

- Studie PALETTE: incidence přetížení železem u polytransfundovaných nemocných v ČR.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 51 (2009), s. 28.

- 31. Čerňanská, N.; Plchová, H.; Moravec, T.; Hoffmeisterová, J.; Folwarczna, J.; Salanská, M.; Šmahel, M.; Ludvíková, V.
- Transient expression of E7 and L2 derived peptides from human papillomavirus type 16 using Potato virus X-based vector.
- FEBS J. Vol. 276, no. 51 (2009), s. 275.

- 32. De Witte, T. M.; Smith, A.; Droste, J.; Fenaux, P.; Symeonidis, A.; Hellström-Lindberg, E.; Sanz, G.; Čermák, J.; Georgescu, O.; Germing, U.; MacKenzie, M.; Stauder, R.; Beyne-Rauzy, O.; Bowen, D.T.
- European registry for low risk and intermediate-1 risk MDS: base line report on first 400 registered patients.
- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 1466–1467.

- 33. Doubek, M.; Cmunt, E.; Schwarz, J.; Brejcha, M.; Pospíšil, Z.; Kozmon, P.; Brychtová, Y.; Pospíšilová, Š.; Cetkovský, P.; Trněný, M.; Mayer, J.
- New prognostic markers of chronic lymphocytic leukemia in the everyday

hematological practice: a multicenter analysis.

- Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. 52 (2009), s. 144.

34. Doubek, M.; Cmunt, E.; Schwarz, J.; Brejcha, M.; Pospíšil, Z.; Kozmon, P.; Brychtová, Y.; Pospíšilová, Š.; Cetkovský, P.; Trněný, M.; Mayer, J.

- Nové prognostické faktory chronické lymfocytární leukemie (CLL) v každodenní hematologické praxi: multicentrická analýza.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 51 (2009), s. 45.

35. Fenclová, E.; Novotná, H.; Janoušková, A.; Radovská, A.; Hrachovinová, I.

- Kvantitativní stanovení APCR u skupiny FV Leiden pozitivních pacientů bez/ s trombózou.
- Poster: XVI. česko-slovenská konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí.
- Hradec Králové, 21.5.–23.5.2009.

36. Filuková, J.; Vraná, M.; Váňová, P.; Nazarová, S.; Klimentová, H.; Vondráčková, H.; Dobrovolná, M.

- HLA sequencing-based typing for HSCT: experience of HLA analysis Dpt. of IHB. In East-West immunogenetics conference: final programme and book of abstracts.
- Praha: IKEM, 2009, s. 14.

37. Flídrová, H.; Písačka, M.

- SEKK od „A do Z“.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 53 (2009), s. 30.

38. Folber, F.; Šálek, C.; Doubek, M.; Soukupová Maaloufová, J.; Valová, T.; Trka, J.; Cetkovský, P.; Mayer, J.

- Léčba dospělých pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií dle protokolu GMALL 07/2003 v České republice a její výsledky: zkušenosti dvou center.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 51 (2009), s. 17–18.

39. Formánková, K.; Sedláček, P.; Keslová, P.; Mejstříková, E.; Písačka, M.; Linhartová, E.; Žižková, H.; Starý, J.

- Rituximab is effective in refractory autoimmune hemolytic anaemia following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation.
- Bone Marrow Transpl. Vol. 43, no. 51 (2009), s. S220.

40. Fuchs, O.; Kostečka, A.; Provazníková, D.; Filuková, J.

- Deletions with the presence of two

repetitive DNA sequences in CEBPA gene.

- FEBS J. Vol. 276, no. 51 (2009), s. 103–104.

41. Fuchs, O.; Provazníková, D.; Kostečka, A.; Březinová, J.; Polák, J.; Nováková, L.; Kouba, M.

- Zvýšená exprese genu ERG (homologu onkogenu v-ets viru E26 způsobujícího erytroblastózu u ptáků) a genu MN1 (meningioma 1) vedle dalších prognostických faktorů u pacientů s akutní myeloidní leukémií.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 51 (2009), s. 88–89.

42. Gašová, Z.; Bhuiyanová, Z.; Böhmová, M.; Žlabová, J.; Kynclová, E.; Franzová, K.

- Autologní separace PBPC: výkony, účinnost a rizika.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 53 (2009), s. 16–17.

43. Gašová, Z.; Böhmová, M.; Bhuiyanová, Z.; Špičková, J.; Tomečková, V.; Kouklíková, E.; Jarošová, I.; Hercíková, I.

- Terapeutické hemaferézy v méně obvyklých situacích.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 53 (2009), s. 15–16.

44. Geierová, V.; Pohlreichová, V.; Rittich, Š.; Benešová, K.; Hrachovinová, I.; Cetkovský, P.; Salaj, P.

- HIV positive patient with severe hemophilia A and malignant lymphoma: prophylaxis with recombinant FVIII.
- J. Thromb. Haemostasis. Vol. 7, no. 52 (2009), s. 516.

45. Germing, U.; Lausaker, M.; Hildebrandt, B.; Symeonidis, A.; Čermák, J.; Pfeilstöcker, M.; Nösslinger, T.; Sekeres, M. A.; Maciejewski, J. P.; Haase, D.; Schanz, J.; Seymour, J.; Weide, R.; Lübbert, M.; Platzbecker, U.; Valent, P.; Götze, K.; Stauder, R.; Blum, S.; Kreuzer, K. A.; Schlenk, R. F.; Aul, C.; Kündgen, A.; Hasford, J.; Giagounidis, A.

- Survival, prognostic factors and rates of leukemic transformation in a multicenter study of 303 untreated patients with MDS and Del(5q).
- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 390–391.

46. Hájková, H.; Benson, V.; Schwarz, J.; Maaloufová, J.; Haškovec, C.

- Význam metody MethyLight ke sledování aberantní metylace genů u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML).
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. 51 (2009), s. 86–87.

47. Halada, P.; **Kuželová, K.; Grebeňová, D.; Pluskalová, M.**; Pavlásková, K.; **Suttner, J.; Hrkál, Z.**
- Impact of Bcr-Abl inhibition on the expression of proteins involved in cytoskeleton structure and cellular adhesion to extracellular matrix. In Vékey, K.; Drahoš, L. (ed.). 3rd Central and Eastern European proteomics conference: book of abstracts and program.
 - Budapest: b.n., 2009, s. 120. ISBN: 978-963-9319-99-8.
48. Hallek, M.; Fingerle-Rowson, G.; Fink, A.-M.; Busch, R.; Mayer, J.; Hensel, M.; Hopfinger, G.; Hess, G.; von Gruenhagen, U.; Bergmann, M. A.; Catalano, J.; Zinzano, P. L.; Cappio, F. C.; Seymour, J.; Berrebi, A.; Jaeger, U.; Cazin, B.; **Trněný, M.**; Westermann, A.; Wendtner, C.-M.; Eichhorst, B. F.; Staib, P.; Boettcher, S.; Ritgen, M.; Mendila, M.; Kneba, M.; Doehner, H.; Stilgenbauer, S.; Fischer, K.
- First-line treatment with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) improves overall survival (OS) in previously untreated patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL): results of a randomized phase III trial on behalf of an International Group of Investigators and the German CLL Study Group.
 - Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 223-224.
49. **Handrková, H.; Čmejla, R.**; Halada, P.; **Petrák, J.**
- Tyrosine 87 of human protein arginine methyltransferase 3 is vital for its enzymatic activity.
 - Poster: 8th international conference on ribosome synthesis.
 - Regensburg, Germany, 26. 8.–30. 8. 2009.
50. **Haškovec, C.; Polák, J.; Marková, J.; Schwarz, J.**
- Can estimation of WT-1 in peripheral blood help us in monitoring residual disease of PML/RARA-positive AML patients?
 - Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 553.
51. Havránek, O.; Kleibl, Z.; Souček, P.; **Trněný, M.**
- Polymorfizmy a mutace DNA reparačních genů u non-Hodgkinských lymfomů.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 20-21.
52. Hoster, E.; Hasford, J.; Hermine, O.; Kluin-Nelemans, H. C.; Walewski, J.; **Trněný, M.**; Geisler, C. H.; Ribrag, V.; Van Hoof, A.; Klapper, W.; Hiddemann, W.; Dreyling, M. H.; Unterhalt, M.
- Confirmation of the Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index (MIPI) in an independent prospective patient cohort.
 - Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 64.
53. **Hrachovinová, I.**; Šulc, P.; **Zemanová, M.**; Melenovský, V.; Wichterle, D.; Lip, G.Y. H.; Kautzner, J.
- Local procoagulant state in the left atrium of patients with non-valvular atrial fibrillation.
 - J. Thromb. Haemostasis. Vol. 7, no. S2 (2009), s. 742.
54. **Hrachovinová, I.; Mareček, F.; Kudláčková, P.**; Železná, I.
- Typizace von Willebrandovy choroby detekcí distribuce multimerů von Willebrandova faktoru.
 - Klin.Biochem.Metabol. Roč. 17, č. 3 (2009), s. 190.
55. **Hrkál, Z.; Grebeňová, D.**; Halada, P.; **Pluskalová, M.; Pešlová, G.; Kuželová, K.**
- Proteomic analysis of the cytoskeleton assembly in chronic myelogenous leukemia cells. In Marko-Varga, G.; Laurell, T. (ed.). 3rd EuPA congress: clinical proteomics.
 - Vezsprem: OOK-Press, 2009, s. 343-345. ISBN: 978-963-86156-4-0.
56. **Hrubá, A.; Rahmatová, Š.; Fales, I.**; Dvořáková, J.
- Kultivace MSC z buněk zachycených v odběrových sítích po odběru kostní dřeně zdravých dárců. In I. celostátní konference
 - BIOIMPLANTOLOGIE 2009: sborník abstrakt.
 - Brno: MSD, 2009, s. 37. ISBN: 978-80-7392-090-6.
57. Hubáček, P.; Hrdličková, A.; Mejstříková, E.; **Válková, V.**; Kabíčková, Š.; Čapková, L.; Keslová, P.; Formánková, R.; **Marková, M.; Cetkovský, P.**; Sedláček, P.
- Normalised EBV quantity in patients after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: benign reactivation, localised and generalised EBV lymphoproliferative disease.
 - Bone Marrow Transpl. Vol. 43, no. S1 (2009), s. S45.
58. **Izáková, S.; Šárová, I.; Březinová, J.**; Zemanová, Z.; Berková, A.; Lizcová, L.; **Maaloufová, J.; Michalová, K.**
- MLL amplification in patients with acute myeloid leukemia (AML).
 - Eur.J.Hum.Genet. Vol. 17, no. S2 (2009), s. 209-210.
59. **Izáková, S.; Březinová, J.**
- Význam délky telomér a porovnanie s molekulárne cytogenetickými metódami u pacientov s B-CLL.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 47.
60. Janda, A.; Mejstříková, E.; **Čermák, J.; Marková, M.**; Petrtýlová, K.; Černá, Z.; Zemanová, Z.; **Vítek, A.**; Smešek, P.; Starý, J.
- Cytopenie progredující mnoho let k plně vyjádřenému MDS-RC, 3 kazuistiky. In Cetkovský, P. (ed.). Sborník abstrakt: Pražský hematologický den.
 - Praha: ÚHK, 2009, s. 21. ISBN: 978-80-254-5690-3.
61. Jindra, P.; Mužík, J.; Indrák, K.; Koza, V.; Karas, M.; Chroust, K.; Al Sabty, F.; Demečková, E.; **Cetkovský, P.**; Jungová, A.; Žák, P.
- Unrelated and related HSCT in elderly AML patients: is young matched unrelated donor comparable or superior to older sibling donor?: an analysis of 76 allografted patients aged above 50 years from the Czech Acute Leukaemia Clinical Register (ALERT).
 - Bone Marrow Transpl. Vol. 43, no. S1 (2009), s. S96.
62. Jonášová, A.; **Čermák, J.**; Bělohávková, P.; Vondráková, J.; **Nováková, L.**; Walterová, L.; Vozobulová, V.
- Zkušenosti České MDS skupiny s novým perorálním chelátorem Exjadem u polytransfundovaných nemocných.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 28.
63. **Kalašová, J.; Papáčeková, A.; Bergerová, L.; Černíková, H.; Kocingerová, R.; Jirásková, I.; Letenská, M.; Šimečková, R.; Mikulenkova, D.**
- Anémie v morfologicko-cytochemické laboratoři.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 55.
64. Karban, J.; Móciková, H.; Pytlík, R.; **Klener, P.**; Siebertová, K.; **Trněný, M.**
- Expres znaku CD66abce u lymfoproliferativních chorob a mnohočetného myelomu.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 63.
65. Kideryová, L.; Pytlík, R.; **Benešová, K.**; Rychtmocová, H.; Veselá, R.; Karban, J.; **Trněný, M.**
- Endothelial cells (EC) and endothelial precursor cells (EPC) kinetics in haematological patients undergoing chemotherapy or autologous stem cell transplantation (ASCT).
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 23-24.

66. Klimentová, H.; Vondráčková, H.; Melková, M.; Vraná, M.; Dobrovolná, M.

- Izolace DNA pro účely HLA genotypizace: hodnocení některých izolačních automatů.
- Poster: 2nd symposium on advances in molecular hematology. Olomouc, 24.6.–26.6.2009.

67. Klimentová, H.; Vondráčková, H.; Melková, M.; Vraná, M.; Dobrovolná, M.

- Izolace DNA pro účely HLA genotypizace: hodnocení některých izolačních automatů.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 89.

68. Kotlín, R.; Reicheltová, Z.; Malý, M.; Suttner, J.; Riedel, T.; Salaj, P.; Pohleřichová, V.; Geierová, V.; Dyr, J. E.

- A new case of dysfibrinogenemia Aalfa 13 Gly/Glu.
- Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 676.

69. Kotlín, R.; Reicheltová, Z.; Suttner, J.; Riedel, T.; Zenáhlíková, Z.; Kvasnička, J.; Malý, M.; Dyr, J. E.

- Fibrinogen Rokycany: molecular defect in fibrinogen Bbeta chain 351 Asn/Lys.
- FEBS J. Vol. 276, no. S1 (2009), s. 320.

70. Kotlín, R.; Reicheltová, Z.; Suttner, J.; Riedel, T.; Zenáhlíková, Z.; Kvasnička, J.; Malý, M.; Dyr, J. E.

- Fibrinogen Rokycany: molecular defect in fibrinogen Bbeta chain 351 Asn/Lys.
- Poster: 34th FEBS Congress. Praha, 4. 7.–9. 7. 2009.

71. Kotlín, R.; Reicheltová, Z.; Suttner, J.; Riedel, T.; Salaj, P.; Pohleřichová, V.; Geierová, V.; Dyr, J. E.

- Fibrinogen Uherské Hradiště.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 93–94.

72. Kotlín, R.; Reicheltová, Z.; Sobotková, A.; Riedel, T.; Salaj, P.; Suttner, J.; Dyr, J. E.

- Genetic variations in fibrinogen in Czech population. In The EMBO meeting: advancing the life sciences: abstracts.
- Amsterdam, s. 34.

73. Kotlín, R.; Reicheltová, Z.; Sobotková, A.; Riedel, T.; Salaj, P.; Suttner, J.; Dyr, J. E.

- Genetic variations in fibrinogen in Czech population.
- Poster: The EMBO meeting: advancing the life sciences. Amsterdam, 29. 8.–1. 9. 2009.

74. Kotlín, R.; Chytilová, M.; Suttner, J.; Riedel, T.; Salaj, P.; Dyr, J. E.

- New hereditary dysfibrinogenemia Aalpha Asn160Asp associated with thrombosis.
- J. Thromb. Haemostasis. Vol. 5, no. S2 (2009), s. P-S-214.

75. Kotlín, R.; Reicheltová, Z.; Suttner, J.; Riedel, T.; Sobotková, A.; Salaj, P.; Blatný, J.; Pospíšilová, D.; Blažek, B.; Malý, M.; Oravec, M.; Dyr, J. E.

- Vrozené dysfibrinogenemie a hypofibrinogenemie v dětském věku.
- Poster: XIX. konferencia detských hematológov a onkológov ČR a SR. Košice, 20. 11.–22. 11. 2009.

76. Kouba, M.; Marková, M.; Váľková, V.; Hričinová, M.; Soukup, P.; Šálek, C.; Mertová, J.; Maaloufová, J.; Hubáček, P.; Čermák, J.; Vítek, A.; Cetkovský, P.

- Serious EBV encephalitis in patients after allogeneic stem cell transplantation (ALLO-SCT): series of 3 cases.
- Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S1 (2009), s. 413.

77. Koubek, K.; Hůlková, H.; Ledvinová, J.; Elleder, M.

- Preparation and properties of monoclonal antibody anti lactosylceramide: lacer (CDw17) - as diagnostic marker - in lysosomal storage disorders.
- Poster: BIT's 1st annual international congress of antibody (ICA-2009). Beijing, China, 23.5.2009.

78. Kučerová, J.; Horváthová, M.; Bělohávková, P.; Čermák, J.; Divoký, V.

- New mutation in ALAS2 as the cause of X-linked sideroblastic anemia responsive to pyridoxine: comparison of ALAS2-defective and DMT1-defective BFU-E growth.
- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 1553–1554.

79. Kučerová, J.; Horváthová, M.; Bělohávková, P.; Čermák, J.; Divoký, V.

- Nová mutace genu ALAS2 jako příčina X-vázané sideroblastické anémie rezpozivní na léčbu pyridoxinem. In Cetkovský, P. (ed.). Sborník abstrakt: Pražský hematologický den. Praha: ÚHKT, 2009, s. 19. ISBN: 978–80–254–5690–3.

80. Kudláčková, P.; Zemanová, M.; Radovská, A.; Rittich, Š.; Salaj, P.; Hrachovinová, I.

- Laboratorní diagnostika TTP: shrnutí pětiletých zkušeností.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 56.

81. Kuželová, K.; Pluskalová, M.; Grebeňová, D.; Hrkál, Z.

- A novel field of action for suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) in leukemic

cells: regulation of cellular adhesivity to extracellular matrix.

- FEBS J. Vol. 276, no. S1 (2009), s. 322.

82. Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Kramář, F.; Ransdorfová, Š.; Hrabal, P.; Michalová, K.

- Molecular cytogenetics study of oligodendroglial tumors.
- Eur.J.Hum.Genet. Vol. 17, no S2 (2009), s. P07.08.

83. Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Malinová, E.; Březinová, J.; Izáková, S.; Zuna, J.; Mejstříková, E.; Smíšek, P.; Michalová, K.

- Molecular genetic characterization of translocation t(9;12)(q34;p13) and ETV6/ABL1 fusion in patients with acute lymphoblastic leukemia.
- Chromosome Res. Vol. 17, no. S1 (2009), s. S126–S127.

84. López Martínez, M.; Chinnapapagari, S.K. R.; Olsson, M.; Scott, M. L.; Nogués, N.; Písačka, M.; Daniels, G.; van der Schoot, E.; Muñiz-Díaz, E.; Madgett, T. E.; Storry, J. R.; Beiboer, S. H.; Maaskant-van Wijk, P. M.; von Zabern, I.; Jiménez, E.; Tejedor, D.; Azkarate, M.; Vesga, M. A.; Camacho, E.; Cheroute, G.; Link, A.; Jínoch, P.; Svobodová, I.; Martínez, A. A.; De Haas, M.; Flegel, W. A.; Avent, N.D.

- Mass-scale comprehensive RhD genotyping of 3000 samples using Bloodchip v1.0.
- Vox Sang. Vol. 96, no. S1 (2009), s. 256.

85. López Martínez, M.; Chinnapapagari, S.K. R.; Olsson, M.; Scott, M. L.; Nogués, N.; Písačka, M.; Daniels, G.; van der Schoot, E.; Muñiz-Díaz, E.; Madgett, T. E.; Storry, J. R.; Beiboer, S. H.; Maaskant-van Wijk, P. M.; von Zabern, I.; Jiménez, E.; Tejedor, D.; Azkarate, M.; Vesga, M. A.; Camacho, E.; Cheroute, G.; Link, A.; Jínoch, P.; Svobodová, I.; Martínez, A. A.; De Haas, M.; Flegel, W. A.; Avent, N.D.

- Mass-scale extensive genotyping of 3000 RBC samples using Bloodchip v1.0.
- Vox Sang. Vol. 96, no. S1 (2009), s. 256–257.

86. Lopotová, T.; Vlčanová, K.; Stopka, T.; Moravcová, J.; Klamová, H.; Machová Poláková, K.

- Expression levels of miR-150 and transcription factors PU.1, Egr2 inversely correlate with Myb and MycN in chronic myeloid leukemia.
- Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 128.

87. Lopotová, T.; Moravcová, J.; Polívková, V.; Polák, J.; Schwarz, J.; Klamová, H.; Machová Poláková, K.

- Expression of four major WT1 splicing variants in AML and CML: development

of quantitative real-time PCRs and preliminary results in patient samples.

- Blood. Vol. 112, no. 22 (2009), s. 652.

88. Lopotová, T.; Moravcová, J.; Polívková, V.; Polák, J.; Schwarz, J.; Klamová, H.; Machová Poláková, K.

- Expression of four major WT1 splicing variants in AML and CML: development of real-time PCRs and preliminary results in patient samples. In The 4th international conference on WT1 in human neoplasia.
- s. 79–80.

89. Lopotová, T.; Vlčanová, K.; Moravcová, J.; Stopka, T.; Klamová, H.; Machová Poláková, K.

- MiR-150 expression in diagnosis and progressed phases of CML is downregulated.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 39–40.

90. Lučanský, V.; Sobotková, E.; Tachezy, R.; Dušková, M.; Babiarová, K.; Mocová, K.; Macková, J.; Gabriel, P.; Suttner, J.; Kutinová, L.; Šmahel, M.; Němečková, Š.; Vonka, V.

- DNA vaccines against bcr-abl-transformed cells. In 15th world congress on advances in oncology and 13th international symposium on molecular medicine.
- Loutraki, Greece: Medical School University of Crete, 2009, nestr.

91. Ludvíková, V.; Šmahelová, J.; Saláková, M.; Tachezy, R.

- Markers of HPV infection in Czech women before HPV vaccination. In Abstract book: 25th international papillomavirus conference: clinical and educational workshop.
- Malmö: International Papillomavirus Society/Swedish Papillomavirus Society, 2009, s. P-01.20.

92. Machová Poláková, K.; Polívková, V.; Rulcová, J.; Žáčková, M.; Klamová, H.; Žáčková, D.; Jurček, T.; Dvořáková, D.; Nádvorníková, S.; Mayer, J.; Moravcová, J.

- Neměnná hladina BCR-ABL v hodnotách méně nebo rovno 0,1 % (IS) u pacientů s CML odpovídajících optimálně na imatinib kompletní cytogenetickou remisí indikuje detekci mutací.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 15.

93. Machová Poláková, K.; Polívková, V.; Rulcová, J.; Klamová, H.; Jurček, T.; Dvořáková, D.; Žáčková, D.; Pospíšil, Z.; Mayer, J.; Moravcová, J.

- The plateau of BCR-ABL transcript level less than or equal 0.1 pct may select CML

patients in complete cytogenetic remission for mutation analysis.

- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 873.

94. Májek, P.; Reicheltová, Z.; Štikarová, J.; Sobotková, A.; Kotlín, R.; Chrastinová, L.; Suttner, J.; Dyr, J. E.

- Diferenciální proteomická analýza aktivovaných a neaktivovaných krevních destiček.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 96.

95. Mareček, F.; Kudláčková, P.; Hrachovinová, I.

- Stanovení analytických parametrů diagnostické soupravy na stanovení hladiny Proteinu C DG CHROM PC.
- Poster: XVI. česko-slovenská konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí. Hradec Králové, 21. 5.–23. 5. 2009.

96. Marinov, I.; Moťovská, Z.; Luxová, A.; Petr, R.

- Flow cytometry analysis of platelet inhibition in patients with stable coronary artery disease undergoing planned percutaneous coronary intervention.
- Cytom. Part B-Clin. Cytom. Vol. 76B, no. 6 (2009), s. 402.

97. Marková, J.; Michková, P.; Maaloufová, J.; Cetkovský, P.; Schwarz, J.

- FLT3 tyrosine kinase domain (TKD) mutations in patients with acute myeloid leukemia.
- Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 550.

98. Marková, M.; Váľková, V.; Vítek, A.; Klamová, H.; Pohlreich, D.; Cetkovský, P.

- Gemtuzumab ozogamicin prior to conditioning regimen before allogeneic haematopoietic stem cell transplantation may lead to acceptable outcome in high-risk acute myeloid leukaemia patients.
- Bone Marrow Transpl. Vol. 43, no. S1 (2009), s. S98-S99.

99. Marková, M.

- Současný názor na intenzivní léčbu a transplantace kmenových buněk krvetvorby u nemocných s MDS. In Cetkovský, P. (ed.). Sborník abstrakt: Pražský hematologický den.
- Praha: ÚHKT, 2009, s. 8. ISBN: 978-80-254-5690-3.

100. Matějková, E.; Neuwirtová, R.; Čermák, J.; Vraná, M.; Žučková, M.; Dobrovolná, M.

- HLA-DR15 and response to immunosuppressive therapy in MDS

patients. In East-West immunogenetics conference: final programme and book of abstracts.

- Praha: IKEM, 2009, s. 26.

101. Matějková, E.; Neuwirtová, R.; Čermák, J.; Vraná, M.; Žučková, M.; Dobrovolná, M.

- MDS and HLA-DR15. In Immunogenetics of allorecognition and tolerance.
- Ulm, SRN: DGI, 2009, nestr.

102. Matějková, E.; Neuwirtová, R.; Čermák, J.; Vraná, M.; Žučková, M.; Dobrovolná, M.

- Myelodysplastic syndrome and HLA-DR 15.
- Tissue Antigens. Vol. 73, no. 5 (2009), s. 447.

103. Mejstříková, E.; Volejníková, J.; Froňková, E.; Zdráhalová, K.; Kalina, T.; Štěrba, J.; Jabalí, Y.; Mihál, V.; Blažek, B.; Černá, Z.; Procházková, D.; Hak, J.; Sedláček, P.; Zemanová, Z.; Jarošová, M.; Oltová, A.; Zuna, J.; Schwarz, J.; Trka, J.; Starý, J.; Hrušák, O.

- Acute hybrid leukemia and the new WHO classification.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 34.

104. Mejstříková, E.; Pelková, V.; Reiterová, M.; Suková, M.; Zemanová, Z.; Vodičková, E.; Campr, V.; Michalová, K.; Jarošová, M.; Formánková, R.; Smíšek, P.; Sedláček, P.; Pospíšilová, D.; Mihál, V.; Hak, J.; Jabalí, Y.; Štěrba, J.; Blatný, J.; Zapletal, O.; Černá, Z.; Votava, T.; Procházková, D.; Trka, J.; Starý, J.; Hrušák, O.

- Composition of cellular subsets by flow cytometry identifies differences between MDS subtypes and aplastic anemia but no differences are identified between cases with and without monosomy.
- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 1462.

105. Merkerová, M.; Vašíková, A.; Beličková, M.; Bruchová, H.

- Expresní profily miRNA v buněčných liniích pupečníkové krve.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 24.

106. Merkerová, M.; Vašíková, A.; Beličková, M.; Čermák, J.; Votavová, H.

- MicroRNA expression profiles in myelodysplastic syndromes. In International conference on myelodysplastic syndrome.
- Mandelieu, France: ESH, 2009,

107. Merkerová, M.; Vašíková, A.; Beličková, M.; Bruchová, H.

- MicroRNA expression profiles in umbilical cord blood cell lineages.
- Haematologica/Hematol. J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 7.

108. Michalová, K.; Zemanová, Z.; Bystrická, D.

- Instability of chromosome 5 in preleukemic and leukemic cells. In Abstracts: Symposium - The Functional Organization of the Cell Nucleus.
- Prague: Purkyňův ústav 1. LF UK, 2009, s. 8.

109. Móciková, H.; Vacková, B.; Pytlík, R.; Obrtlíková, P.; Kobylka, P.; Trněný, M.

- Correlation of lymphocyte recovery and progression-free survival after autologous stem cell transplantation in patients with Hodgkin's lymphoma.
- Bone Marrow Transpl. Vol. 43, no. S1 (2009), s. S216.

110. Móciková, H.; Vacková, B.; Pytlík, R.; Obrtlíková, P.; Trněný, M.

- Korelace úpravy počtu lymfocytů a přežívání bez relapsu po autologní transplantaci periferních kmenových buněk u pacientů s Hodgkinovým lymfomem.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 12.

111. Móciková, H.; Pytlík, R.; Raida, L.; Žák, P.; Marková, J.; Král, Z.; Steinerová, K.; Váľková, V.; Trnková, M.; Vacková, B.; Pohlreich, D.; Faber, E.; Indrák, K.; Belada, D.; Kozák, T.; Mayer, J.; Vítek, A.; Koza, V.; Trněný, M.

- Management of relapsed/refractory Hodgkin lymphomas after ASCT in Czech Republic.
- Poster: 51st ASH annual meeting and exposition. New Orleans, 5. 12.–8. 12. 2009.

112. Moťovská, Z.; Widimský, P.; Petr, R.; Bílková, D.; Marín, I.; Šimek, S.; Kala, P.

- Factors influencing clopidogrel efficacy in patients with stable coronary artery disease undergoing elective percutaneous coronary intervention.
- Poster: Scientific Sessions 2009: AHA. Orlando, USA, 14. 11.–18. 11. 2009.

113. Moťovská, Z.; Widimský, P.; Kvasnička, J.; Petr, R.; Bílková, D.; Hájková, J.; Marín, I.; Šimek, S.; Kala, P.

- High loading dose of clopidogrel is unable to satisfactorily inhibit platelet reactivity in patients with glycoprotein IIIa gene polymorphism: a genetic substudy of PRAGUE-8 trial.
- J.Am.Coll.Cardiol. Vol. 53, no. 10S1 (2009), s. A342.

114. Nádvořníková, S.; Polívková, V.; Shaik, G. M.; Draber, P.; Moravcová, J.; Machová Poláková, K.

- Detection of BCR-ABL mutation by High Resolution Melting Analysis is affected by the sequence content, position and type of nucleotide change and DNA dye together with salt composition of PCR mixes.
- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 626.

115. Nazarová, S.; Filuková, J.; Vraná, M.; Dobrovolná, M.

- Průběžná validace klíčových reagensů pro HLA genotypizaci v souladu se standardy EFI a ČSN EN ISO 15189.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 77.

116. Neuwirtová, R.; Fuchs, O.; Provazníková, D.; Čermák, J.; Šišková, M.; Jonášová, A.; Michalová, K.

- Fli-1 and EKLf gene expression in patients with MDS 5q- syndrome.
- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 1090–1091.

117. Neuwirtová, R.; Bruchová, H.; Jonášová, A.; Čermák, J.; Vondráková, J.; Šišková, M.; Hochová, I.; Jungová, A.; Bělohávková, P.; Kadlčková, E.; Černá, O.; Libiger, P.; Polonyová, E.; Seifertová, N.; Michalová, K.; Mikulenková, D.

- Příspěvek k diagnostickému významu a patogeneze dysplastické megakaryopoieze a zvýšené tvorby destiček u MDS s delecí dlouhého ramene 5. chromosomu (del5q).
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 27.

118. Neuwirtová, R.; Jonášová, A.; Čermák, J.; Vondráková, J.; Hochová, I.; Jungová, A.; Bělohávková, P.; Šišková, M.; Kadlčková, E.; Černá, O.; Smolíková, A.; Polonyová, E.; Bruchová, H.; Zemanová, Z.; Mikulenková, D.

- The questions on megakaryopoiesis in MDS patients with del(5q).
- Leukemia Res. Vol. 33, no. S1 (2009), s. S105.

119. Novotná, H.; Pohlreichová, V.; Salaj, P.; Hrachovinová, I.

- Modifikace metody na stanovení inhibitoru FVIII se zbytkovou hladinou FVIII.
- Poster: XVI. česko-slovenská konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí. Hradec Králové, 21. 5.–23. 5. 2009.

120. Österborg, A.; Biilmann Ronn, B.; Jewell, R. C.; Kipps, T. J.; Mayer, J.; Stilgenbauer, S.; Williams, C. D.; Hellmann, A.; Robak, T.; Furman, R. R.; Hillmen, P.; Trněný, M.; Dyer, M. J.; Padmanabhan, S.; Piotrowska, M.; Kozák, T.; Chan, G.

Arning, M.; Losic, N.; Davis, R.; Wilms, J.; Russell, C. A.; Wierda, W.G.

- Correlation between serum ofatumumab concentrations, baseline patient characteristic and clinical outcomes in patients with fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL) treated with single-agent ofatumumab.
- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 1334.

121. Otáhalová, E.; Bruchová, H.; Nečas, E.; Prchal, J.T.

- Expresní profil v patologickém klonu buněk polycythemia vera. In Sborník abstrakt: Vědecká konference UK 2. LF.
- Praha: UK 2. LF, 2009, s. 78.

122. Otáhalová, E.; Prchal, J.T.

- Studium expresního profilu v patologickém klonu buněk polycythemia vera pomocí technologie Illumina. In Cetkovský, P. (ed.). Sborník abstrakt: Pražský hematologický den.
- Praha: ÚHKT, 2009, s. 17. ISBN: 978–80–254–5690–3.

123. Papajík, T.; Mysliveček, M.; Šedová, Z.; Móciková, H.; Skopalová, M.; Koza, V.; Malán, A.; Procházka, V.; Buriánková, E.; Chroust, K.; Trněný, M.; Indrák, K.

- Význam 18F-FDG PET/CT pro stážování ne-hodgkinových lymfomů: významné zlepšení v detekci postižení lymfatických uzlin a mimouzlinových orgánů.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 19.

124. Peková, S.; Mazal, O.; Čmejla, R.; Kozák, T.; Smolej, L.; Špaček, M.

- Delta EX6, the novel transactivation-defective splicing variant of TP53, is differentially expressed in patients with chronic lymphocytic leukemia and confers accentuated proliferative phenotype in vitro.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 32–33.

125. Pešlová, G.; Petrák, J.; Kuželová, K.; Hrdý, I.; Halada, P.; Kuchel, P. W.; Soe-Lin, S.; Poňka, P.; Šuťák, R.; Becker, E.; Huang, M.L. H.; Rahmato, Y. S.; Richardson, D.; Vyoral, D.

- Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to Alpha-2-macroglobulin in blood.
- Poster: 2009 IBIS meeting. Porto, Portugal, 7. 6.–11. 6. 2009.

126. Petrák, J.; Pospíšilová, J.; Lorková, L.; Jedelský, P.; Šedinová, M.; Živný, J.; Strnad, H.; Kolář, M.; Beneš, J.; Melenovský, V.

- IEF-LC-MALDI analysis of rat model of chronic heart failure using iTRAQ labels.
- Poster: HUPO 8th annual world congress. Toronto, 26. 9.–30. 9. 2009.

- 127. Petrák, J.; Toman, O.; Šimonová, T.; Halada, P.; Živný, J.**
 □ Looking for the Achilles' heel: identification of molecular targets for elimination of TRAIL-resistant leukemia cells.
 □ Poster: Cancer proteomics. Dublin, 8. 6.–11. 6. 2009.
- 128. Pimková, K.; Balounová, R.; Sobotková, A.; Suttner, J.; Dyr, J. E.**
 □ Detekce S-nitrosothiolů v lidských krevních destičkách pomocí HPLC.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 92.
- 129. Písačka, M.; Králová, M.; Kučeraková, M.**
 □ Anti-Vel protilátka nezachycená v testu na pevné fázi.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S3 (2009), s. 27.
- 130. Písačka, M.; Králová, M.; Flídrová, H.; Budina, M.**
 □ Imunohematologická externí kontrola (SEKK 2008–9): výsledky, novinky, komentáře.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S3 (2009), s. 27–28.
- 131. Písačka, M.**
 □ Krevní skupiny: historické aspekty, současné poznatky a „česká stopa“ v imunohematologii.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S3 (2009), s. 20–25.
- 132. Polák, J.; Hájková, H.; Schwarz, J.; Marková, J.; Maaloufová, J.; Volková, Z.; Haškovec, C.; Dvořáková, D.**
 □ Expres genů WT1, PRAME, RHAMM, BAALC a vybraných „Leukemia Associated Antigens“ v periferní krvi AML pacientů při diagnóze a v průběhu léčby.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 87.
- 133. Polák, J.; Hájková, H.; Schwarz, J.; Marková, J.; Soukupová Maaloufová, J.; Dvořáková, D.; Haškovec, C.**
 □ Expression of WT1 and leukemia associated antigens in peripheral blood of AML patients at diagnosis and during follow up. In The 4th international conference on WT1 in human neoplasia.
 □ Osaka, Japan: Senri life science center, 2009, s. 65–66.
134. Pospíšilová, D.; Marková, J.; Schwarz, J.; Komrská, V.; Novák, Z.; Holger, C.
 □ Buddův-Chiariho syndrom u dětských pacientů s polycythemia vera.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 14.
135. Procházka, V.; Papajík, T.; Trněný, M.; Pytlík, R.; Vášová, I.; Šálek, D.; Belada, D.; Hrudková, M.; Kozák, T.; Kubáčková, E. K.; Šiffnerová, H.; Matuška, M.; Lysý, M.; Bolomská, I.; Petráková, K.; Otavová, B.; Příbylová, J.; Švecová, J.; Brejcha, M.; Starostka, D.; Petrová, M.
 □ Analýza přežití nemocných s difúzním velkobuněčným B-lymfomem starších 60 let z registru Kooperativní lymfomové skupiny.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 10.
- 136. Provazníková, D.; Rittich, Š.; Malina, M.; Štěpánovská, P.; Seeman, T.; Bláhová, K.; Hrachovinová, I.**
 □ Genetic screening of mutations in complement regulatory factor genes of patients with familial atypical HUS.
 □ Poster: 4th international workshop on thrombotic microangiopathies. Weimar, 1. 10.–3. 10. 2009.
137. Ráčil, Z.; Mayer, J.; Brejcha, M.; Cetkovský, P.; Procházková, J.; Zounar, R.
 □ Clinical manifestation of 1000 leukemias.
 □ Poster: 51st ASH annual meeting and exposition. New Orleans, 5. 12.–8. 12. 2009.
- 138. Reicheltová, Z.; Májek, P.; Štikarová, J.; Kotlín, R.; Sobotková, A.; Chrastinová, L.; Suttner, J.; Dyr, J. E.**
 □ Analýza expresních profilů proteinů aktivovaných a klidových krevních destiček.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 94.
- 139. Riedel, T.; Brynda, E.; Chlupáč, J.; Filová, E.; Bačáková, L.; Dyr, J. E.**
 □ Artificial fibrin gels for blood vessel engineering.
 □ Poster: 73rd Prague meeting on macromolecules (PMM 2009). Prague, 5.7.–9. 7.2009.
- 140. Riedel, T.; Brynda, E.; Chlupáč, J.; Filová, E.; Bačáková, L.; Dyr, J. E.**
 □ Biomimetic thin fibrin network as a scaffold for endothelial cells.
 □ Poster: Nanotech: conference and expo 2009. Houston, USA, 3. 5.–7. 5. 2009.
- 141. Riedel, T.; Brynda, E.; Houska, M.; Suttner, J.; Dyr, J. E.**
 □ Kinetics of fibrinopeptides release from fibrinogen adsorbed on a surface.
 □ Poster: XXII congress ISTH. Boston, USA, 11. 6.–16. 6. 2009.
- 142. Riedel, T.; Brynda, E.; Houska, M.; Suttner, J.; Dyr, J. E.**
 □ Kinetika odštěpování fibrinopeptidů z fibrinogenu adsorbovaného na povrchu.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 92.
- 143. Rittich, Š.; Provazníková, D.; Geierová, V.; Mikulenková, D.; Hrachovinová, I.; Salaj, P.**
 □ Clinical manifestations of disorders associated with MYH9 mutations.
 □ J. Thromb. Haemostasis. Vol. 7, no. S2 (2009), s. 961.
- 144. Rotnáglová, E.; Klozar, J.; Saláková, M.; Košlabová, E.; Tachezy, R.**
 □ Human papillomavirus infection in tonsillar cancer in the Czech Republic. In Abstract book: 25th international papillomavirus conference: clinical and educational workshop.
 □ Malmö: International Papillomavirus Society/Swedish Papillomavirus Society, 2009, s. P-17.11.
- 145. Rulcová, J.; Machová Poláková, K.; Vlčanová, K.; Zemanová, K.; Moravcová, J.**
 □ Kvantitativní stanovení hladiny transkriptů BCR-ABL v ČR v roce 2008.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 14–15.
- 146. Schwarz, J.; Penka, M.; Indrák, K.; Pospíšilová, D.**
 □ Kritéria WHO 2008 pro diagnostiku Ph-myeloproliferativních onemocnění: kritika a doporučení České skupiny pro Ph- MPO.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 13.
- 147. Schwarz, J.; Berková, A.; Cmunt, E.; Polanská, V.; Čermáková, K.; Březinová, J.; Benešová, K.; Michalová, K.; Trněný, M.**
 □ VH3–21 subgene usage does not infer worse prognosis of CLL in the Czech population.
 □ Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S3 (2009), s. S63.
- 148. Smetana, K.; Klamová, H.; Jirásková, I.; Mikulenková, D.; Zápotocký, M.; Trka, J.**
 □ Computer assisted image nucleolar and cytoplasmic RNA density measurements of differentiating cells represented by human erythroid and granulocytic precursors. In The Wilhelm Bernhard workshop: 21th international workshop on the cell nucleus: program and abstracts.
 □ Ustroń, Poland: b.n., 2009, s. 41.
- 149. Smetana, K.; Jirásková, I.; Mikulenková, D.; Klamová, H.**
 □ Computer assisted image nucleolar and cytoplasmic RNA densitometry.
 □ Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 44.

150. Smolej, L.; Lysák, D.; Šálková, J.; Papajík, T.; Břejcha, M.; Vozobulová, V.; Karban, J.; Hrudková, M.; Cmunt, E.; Turcsanyi, P.; Jungová, A.; Krejčová, H.; **Trněný, M.**
- Fludarabin, cyklofosamid a rituximab (FCR) v 1. linii léčby chronické lymfocytární leukémie (CLL): retrospektivní analýza České CLL skupiny.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 46.
- 151. Sobotková, A.; Pimková, K.; Májek, P.; Malý, M.; Suttner, J.; Dyr, J. E.**
- Analysis of carbonylated proteins in human blood platelets.
 - Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 317.
- 152. Sobotková, A.; Pimková, K.; Májek, P.; Malý, M.; Suttner, J.; Dyr, J. E.**
- Analýza karbonylovaných proteinů lidských krevních destiček.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 98.
- 153. Stöckbauer, P.**
- Immunological and proteomic analysis of fresh and cultured acute myeloid leukemia cells.
 - Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 543–544.
154. Stopka, T.; Vargová, K.; Burda, P.; Kokavec, J.; Čuřík, N.; Berková, A.; **Trněný, M.**; Skoultchi, A.; Zavadil, J.
- MicroRNA Mir-155 and MYB proto-oncogene family members cooperate in pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia.
 - Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 29–30.
- 155. Šárová, I.; Březinová, J.; Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Fuchs, O.; Kostečka, A.; Provazníková, D.; Filuková, J.; Maaloufová, J.; Michalová, K.**
- The unusual MLL rearrangement in acute myeloid leukemia.
 - Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 13.
- 156. Šárová, I.; Březinová, J.; Zemanová, Z.; Izáková, S.; Maaloufová, J.; Čermák, J.; Michalová, K.**
- Význam aberací MLL genu u nemocných s akutní myeloidní leukémií. In 10. studentská vědecká konference.
 - Praha: Galén, 2009, s. 54. ISBN: 978–80–7262–636–6.
- 157. Šmahel, M.; Vajdová, E.; Poláková, I.**
- DNA vaccination against HPV16 E7 oncoprotein combined with TLR agonists. In Abstract book: 25th international papillomavirus conference: clinical and educational workshop.
 - Malmö: International Papillomavirus Society/Swedish Papillomavirus Society, 2009, s. P-10.18.
158. Špička, I.; Vacková, B.; Ryšavá, R.; Straub, J.; Kořen, J.; **Trněný, M.**
- Výsledky léčby AL amyloidózy pomocí vysokodávkované chemoterapie: zkušenosti pracoviště.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 78–79.
- 159. Štikarová, J.; Suttner, J.; Reicheltová, Z.; Riedel, T.; Májek, P.; Malý, M.; Dyr, J. E.**
- The effect of oxidative stress on fibrinogen and its physiological functions.
 - FEBS J. Vol. 276, no. S1 (2009), s. 166.
- 160. Štikarová, J.; Reicheltová, Z.; Májek, P.; Chrastinová, L.; Suttner, J.; Dyr, J. E.**
- Vliv oxidačního stresu na strukturu a funkci fibrinogenu.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 91–92.
- 161. Trněný, M.**; Bosly, A.; Bouabdallah, K.; Ma, D.; Shpilberg, O.; Montoto, S.; Sebban, C.; Hagberg, H.; Moskowitz, C. H.; Schmitz, N.; Gisselbrecht, C.
- Independent predictive value of PET-CT pre transplant in relapsed and refractory patients with CD20 diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) included in the CORAL study.
 - Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 363.
162. Valášková, I.; **Brdička, R.**
- 12. celostátní konference DNA diagnostiky.
 - Čas.Lék.čes. Roč. 148, č. 5 (2009), s. 211.
- 163. Válková, V.; Schwarz, J.; Vítek, A.; Marková, M.; Cetkovský, P.**
- Allogeneic stem cell transplantation may overcome the poor prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia: a single center experience.
 - Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S3 (2009), s. S73–S74.
- 164. Váňová, P.; Loudová, M.; Sedláček, P.; Vraná, M.; Dobrovolná, M.**
- KIR genotyping at laboratory of HLA analysis, IHB. In East-West immunogenetics conference: final programme and book of abstracts.
 - Praha: IKEM, 2009, s. 32.
- 165. Váňová, P.; Filuková, J.; Vraná, M.; Nazarová, S.; Vondráčková, H.**
- Klimentová, H.; Melková, M.; Dobrovolná, M.**
- Rare HLA alleles in Czech hematological patients. In Donor recipient matching and cellular therapy in transplantation: technological and clinical aspects.
 - Wrocław: b.n., 2009, s. 38.
- 166. Vašíková, A.; Beličková, M.; Budinská, E.; Čermák, J.**
- Expression patterns of cell cycle and DNA replication genes discriminate early and advanced MDS.
 - Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 325.
- 167. Vašíková, A.; Beličková, M.; Budinská, E.; Čermák, J.**
- Stanovení expresních profilů u pacientů s myelodysplastickým syndromem pomocí celogenomových štěpů.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 27.
168. Veselá, R.; **Doležalová, L.**; Pytlík, R.
- Srovnání dvou metod pro hodnocení přežití a proliferace lymfocytů v autologní smíšené lymfocytární reakci s dendritickými buňkami pacientů s CLL: inkorporace 3H-thymidinu a diferenciálního gatingu.
 - Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 101.
- 169. Vraná, M.; Dobrovolná, M.**; Jilich, D.; Kolářková, J.; Machala, L.; Rozsypal, H.; Sedláček, D.; Snopková, S.; Staňková, M.; Olbrechtová, L.; Zjevíková, A.
- Introduction of HLA-B*5701 screening in HIV-infected patients in the Czech Republic.
 - Tissue Antigens. Vol. 73, no. 5 (2009), s. 501–502.
- 170. Vraná, M.**; Cuchalová, L.; Králíčková, M.; Řezáčová, J.; Madar, J.
- KIR genes of IVF patients.
 - Poster: XV. symposium of the Czech reproductive immunologists with international participation. Žďár nad Sázavou, 29. 5.–31. 5. 2009.
171. Wagner, L.; Luddington, R.; Grigorov, A.; Wiens, L.; **Hrachovinová, I.**; Binder, B.R.
- First experiences with the measurement of thrombin generation (TGA) on the Ceveron®alpha in the routine lab.
 - J. Thromb. Haemostasis. Vol. 7, no. S2 (2009), s. 506.
172. Zemanová, Z.; **Michalová, K.**; Březinová, J.; Lizcová, L.; Izáková, S.; Bystřická, D.; Šárová, I.; Šišková, M.; Neuwirtová, R.; Černá, O.; **Čermák, J.**

- Complex chromosomal aberrations in bone marrow cells of 86 patients with myelodysplastic syndromes (MDS).
- Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 13–14.

173. Zemanová, Z.; **Michalová, K.**; **Březinová, J.**; Lizcová, L.; **Izáková, S.**; Bystřická, D.; **Šárová, I.**; Berková, A.; Šišková, M.; Neuwirtová, R.; Černá, O.; **Čermák, J.**

- Frequency and prognostic impact of complex chromosomal aberrations in patients with primary myelodysplastic syndromes and Del(5q).
- Blood. Vol. 114, no. 22 (2009), s. 649.

174. Zemanová, Z.; **Michalová, K.**; **Březinová, J.**; Lizcová, L.; **Izáková, S.**; Bystřická, D.; **Šárová, I.**; Šišková, M.; Černá, O.; **Čermák, J.**

- Molecular cytogenetic studies of complex chromosomal aberrations in myelodysplastic syndromes (MDS).
- Chromosome Res. Vol. 17, no. S1 (2009), s. S131.

175. Žáčková, D.; **Klamová, H.**; Doubek, M.; Pospíšil, Z.; Dvořáková, D.; Jurček, T.; **Moravcová, J.**; **Machová, K.**; **Rulcová, J.**; Dobešová, B.; **Ryšavá, J.**; **Cetkovský, P.**; Razga, F.; Mayer, J.

- Efficacy and safety of imatinib in the first line chronic myeloid leukemia (CML) treatment: an analysis of a comprehensive population-based database.
- Haematologica/Hematol.J. Vol. 94, no. S2 (2009), s. 346.

176. Žáčková, D.; **Klamová, H.**; Doubek, M.; Pospíšil, Z.; Dvořáková, D.; Jurček, T.; **Moravcová, J.**; **Machová, K.**; Dobešová, B.; **Ryšavá, J.**; **Cetkovský, P.**; Mayer, J.

- Účinnost a bezpečnost imatinibu v první linii léčby chronické myeloidní leukemie (CML): analýza databáze INFINITY.
- Trans.Hemat.dnes. Roč. 15, č. S1 (2009), s. 15–16.

177. **Žůrková, K.**; Chlanda, P.; Samková, Z.; **Babiarová, K.**; **Hainz, P.**; **Kryštofová, J.**; **Kutinová, L.**; **Němečková, Š.**

- Immunotherapy of HPV induced tumors with recombinant vaccinia viruses expressing soluble TGFbeta receptor II and HPV16-E7 protein in mice.
- Poster: 7th annual meeting: CIMT: cancer immunotherapy. Mainz, 3. 6.–5. 6. 2009.

Původní práce ve sbornících

1. Havránek, O.; Kleibl, Z.; Souček, P.; **Trněný, M.**

- Mutační analýza kódující sekvence genu checkpoint kinase 2 (CHEK2) u pacientů s non-Hodgkinskými lymfomy. In 10. studentská vědecká konference.
- Praha: Galén, 2009, s. 83–85. ISBN: 978–80–7262–636–6.

2. **Pimková, K.**; **Balounová, R.**; **Sobotková, A.**; **Štikarová, J.**; **Suttmar, J.**; **Dyr, J. E.**

- Vliv S-nitrosoderivátů nízkomolekulárních látek a bílkovin na aktivaci lidských krevních destiček. In 10. studentská vědecká konference.
- Praha: Galén, 2009, s. 107–111. ISBN: 978–80–7262–636–6.

Zkratky

AA	aplastická anémie
ALL	akutní lymfoblastická leukemie
AML	akutní myeloidní leukemie
BPK	banka pupečnickové krve
CLL	chronická lymfatická leukemie
CML	chronická myeloidní leukemie
CMPPD	chronické myeloproliferativní onemocnění
CVVHD	kontinuální venovenózní hemodialýza
CMMoL	chronická melomonocytární leukémie
EBR	erytrocytový koncentrát resuspendovaný
ERD	erytrocytový koncentrát de leukocytovaný
FA	Fanconiho anémie
GVHD	reakce štěpu proti hostiteli
HES	hypereosinofilní syndrom
HIT	Heparinem indukovaná trombocytopenie
CHT	chemoterapie
ITP	idiopatická trombocytopenická purpura
JCI	Joint Commission International (mezinárodní akreditační komise se sídlem v USA)
JHeP	jednotka intenzivní hematologické péče
LMWH, LMW heparin	nízkomolekulární heparin
LPD	lymfoproliferativní onemocnění
LPVZ	laboratoř prevence virových nákaz
MRO	minimální reziduální onemocnění
MPO	myeloproliferativní onemocnění
MDS	myelodysplastický syndrom
MM	mnohočetný myelom
MMM	myelofibróza s myeloidní metaplazií
MNC	mononukleární buňky
PBPC	kmenové buňky periferní krve
SAA	těžká aplastická anémie
TAD	trombocyty z aferézy de leukocytované
TB	trombocyty z buffycoatu
TAO	trombocyty z aferézy ochuzené o leukocyty
TEP	totální endoprotéza
TU	transfúzní jednotka
TTP	trombotická trombocytopenická purpura