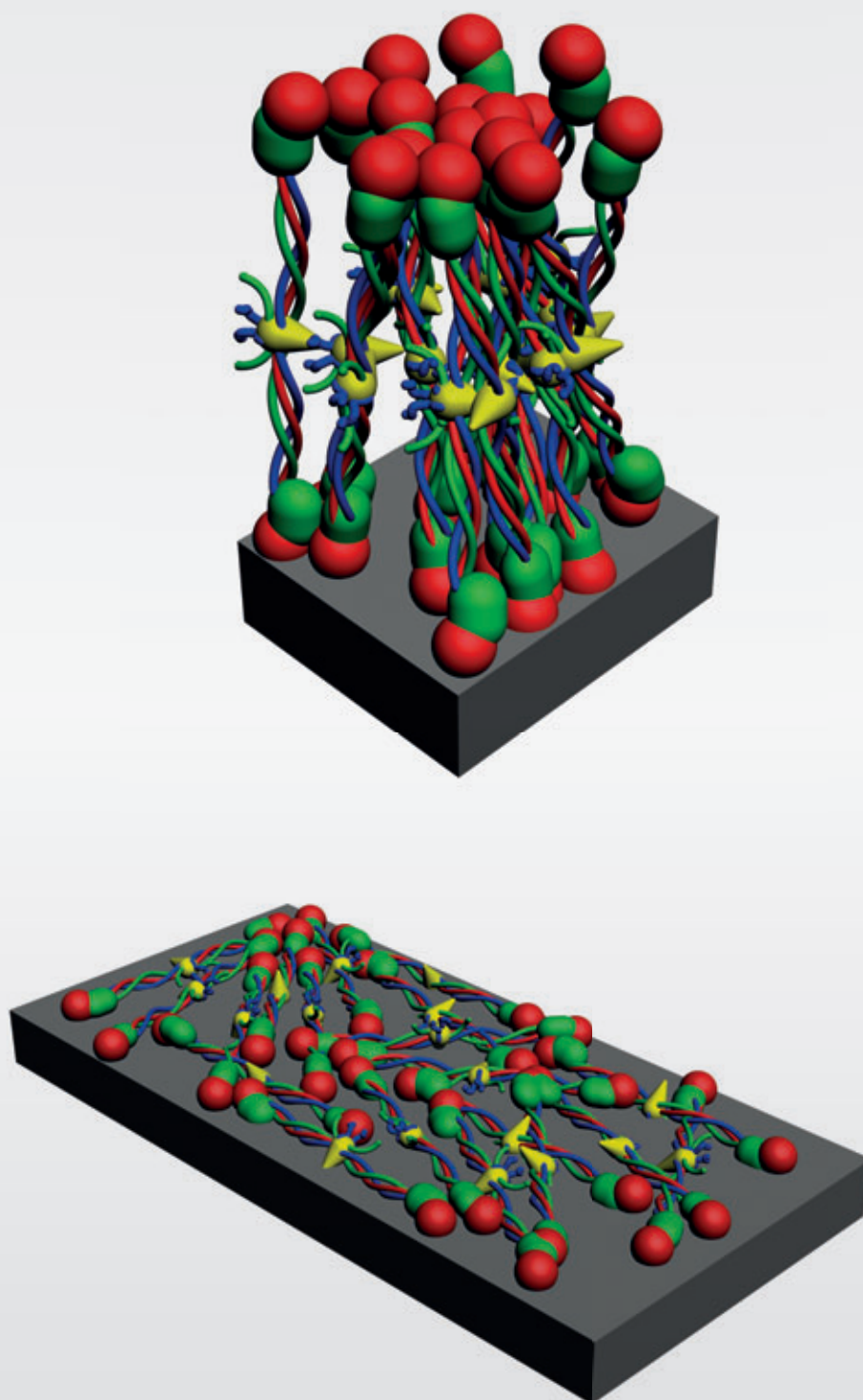






ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVNÍ TRANSFUZE

U Nemocnice 1 • 128 20 Praha 2

Telefon: 221 977 111

Fax: 224 913 728

web: www.uhkt.cz

e-mail: info@uhkt.cz

OBSAH

Slovo úvodem	2	Komplement laboratoří	70
Organizační schéma	4	Provozně-ekonomický úsek	73
Klinický úsek	7	Ekonomické oddělení	75
Lůžkové oddělení	9	Informační a komunikační technologie	78
Jednotka intenzivní hematologické péče (JIHeP) a Transplantační jednotka (TJ)	10	Technické oddělení	79
Ambulance	12	Středisko vědeckých lékařských informací	80
Centrum pro trombózu a hemostázu	14	Věda a výzkum	81
Laboratoře		Spolupráce	87
– Laboratoř pro poruchy hemostázy	14	Ocenění/vyznamenání	89
– Morfologicko-cytochemická laboratoř	16	Vědecko-pedagogické tituly, vědecké hodnosti, atestace	90
– Laboratoř PCR diagnostiky leukémií	18	Pedagogická činnost	91
– Laboratoř průtokové cytometrie	20	Členství v radách a komisích	93
– Laboratoř diagnostiky anémií	21	Organizace konferencí a školicích akcí	96
– Laboratoř hemokultivací	22	Péče o zaměstnance	97
Dokumentační centrum	23	Publikační činnost 2010 (vybrané publikace)	98
Transfuziologický úsek	25	Zkratky	114
Transfuzní oddělení	27		
Aferetické oddělení	29		
Oddělení imunohematologie	31		
Oddělení buněčné terapie	33		
Výzkumný úsek	35		
Oddělení biochemie	37		
Oddělení buněčné biochemie	40		
Oddělení molekulární genetiky	44		
Oddělení buněčné fyziologie	50		
Oddělení cytogenetiky	53		
Oddělení HLA analýzy	54		
Oddělení experimentální virologie	56		
Ošetrovatelský úsek	63		
Laboranti	64		
Laboratoře	65		
Národní referenční laboratoř pro poruchy hemostázy a referenční pracoviště pro některé DNA metodiky	65		
Referenční laboratoř pro imunohematologii	65		
Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku	66		
Kalibrační centrum ÚHKT	68		
Koordinační centrum genetických laboratoří	69		
Národní referenční laboratoř pro papillomaviry	69		

SLOVO ÚVODEM

Rok 2010 lze beze sporu charakterizovat celospolečensky jako rok, kdy naplno dolehla i do zdravotnictví ekonomická krize. Ústav hematologie a krevní transfuze jako zařízení poskytující superspecializovanou a zároveň vysoce nákladnou péči, jako vědecké zařízení provádějící výzkum v oblasti nádorových i nenádorových krevních chorob, se s touto situací musel vyrovnávat. Tlak na přijímání nemocných, pro které často reprezentuje Ústav poslední šanci, se stále zvyšuje. Je zřejmé, že problematiku péče o nemocné s akutními leukémiemi, alogenními transplantacemi a dalšími krevními chorobami je nutné řešit systémově tak, aby tato péče mohla být poskytnuta skutečně všem, kdo k ní jsou jednoznačně indikováni.

Přes tyto zevní nepříznivé problémy se podařilo díky úsilí všech pracovníků v ÚHKT udržet a v řadě případů zkvalitnit vysoký standard práce jak léčebné tak vědecké. Ústav hematologie a krevní transfuze získal pro rozsáhlý Komplement laboratoří, který zahrnuje všechny laboratoře poskytující

vyšetření pro potřeby nemocných akreditaci ČIA (Český institut pro akreditaci). V červnu 2010 obhájil ÚHKT akreditaci JCI (Joint Commission International), která je svědectvím o vysoké úrovni zajištění standardních postupů a bezpečnosti jak nemocných tak personálu. V roce 2010 byla zahájena rekonstrukce části komplementu, která navazuje na rekonstrukci ambulantních provozů provedených před několika lety. Předpoklad ukončení všech tří etap rekonstrukce je v polovině roku 2011, neboť musí být prováděna postupně, tak aby mohl být zachován provoz.

Z mé strany patří hluboké poděkování všem, kdo svou prací, obětavým nasazením i v nelehkých podmínkách přispěli k vysoce nadstandardní léčebné péči, výborným vědeckým výsledkům, ale také těm, kdo pro tuto práci pomáhají vytvářet podmínky jak technické i organizační. Všechny tyto výsledky shrnují následující stránky výroční zprávy, přestože mohou být jen nedokonalým odrazem aktivního života a činnosti Ústavu. ■



prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.
ředitel ÚHKT





ORGANIZAČNÍ SCHÉMA







LINET
ERGOMATT

www.linnet.com
Zemstede 9, 974 01, 3800, Cape Town
Tel: +300 542 070 111, e-mail: info@linnet.co.za

KLINICKÝ ÚSEK

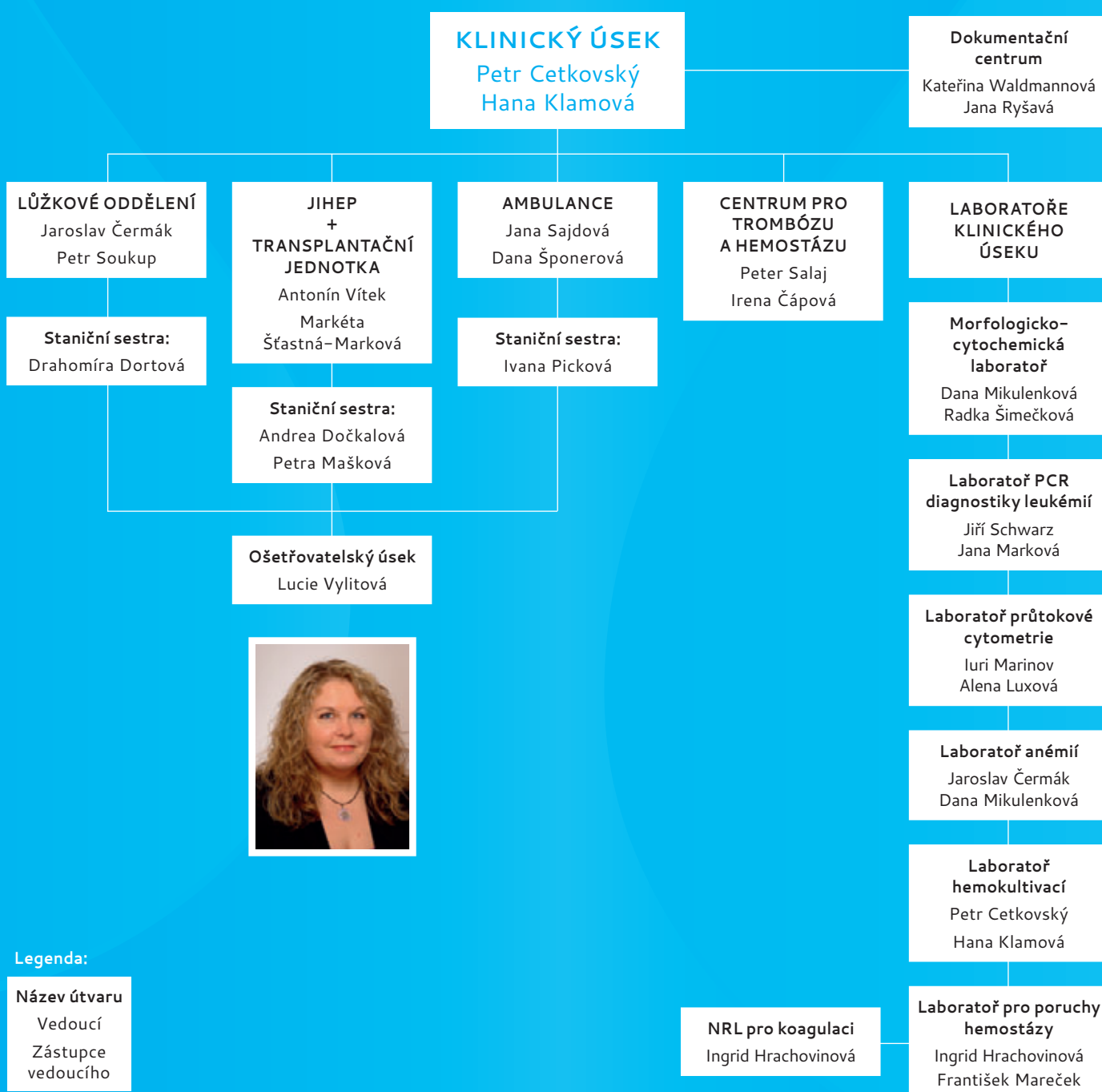
POČET ZAMĚSTNANCŮ:	183
LÉKAŘI:	26
VŠ OSTATNÍ:	11
VŠEOBECNÉ SESTRY:	82
LABORANTI:	26
SŠ OSTATNÍ:	9
OSTATNÍ PERSONÁL:	29



Přednosta:
doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D., MBA



Zástupce přednosta:
MUDr. Hana Klamová, CSc.



Legenda:

Název útvaru
Vedoucí
Zástupce vedoucího



Klinický úsek tvoří následující spolupracující součásti:

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

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 na Transplantační jednotce zůstává nadále velkým problémem 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 stihá jen s maximálním úsilím.

V současné době probíhá rekonstrukce komplementu laboratoří.

Pracovníci klinického úseku poskytují péči, zajišťují bezpečí nemocných i personálu prací dle nastavených standardů. Tato každodenní praxe byla oceněna udělením mezinárodní re-akreditace *Joint Commission International* v červnu 2010.

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. fyzioterapeuty, nutriční terapeutkou, sociální

sestrou, klinickými farmakology, klinickým psychologem, atd.

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 koagulace či krevních destiček, některých typů anémie a dalších chorob.

Základní programy klinického úseku

- 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;
- léčba pacientů s akutní myeloidní leukémií a akutní lymfoblastickou leukémií dle mezinárodních i národních protokolů;
- 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 excelence*;
- hematologická intenzivní péče (včetně umělé plicní ventilace a mimotělních eliminačních metod; specializovanou péči kromě vlastních specialistů zajišťují též konsiliáři z ostatních medicínských oborů);
- léčba nemocných s chronickou myeloidní leukémií a chronickou lymfatickou leukémií;
- 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 prenatalní diagnostikou hemofilii. Součástí úseku, která těsně kooperuje s Centrem trombózy a hemostázy, je i *Národní referenční laboratoř pro koagulaci a referenční pracoviště pro některé DNA metodiky*;

- vědecké projekty a výzkum, včetně účasti na grantových projektech a studiích, jsou významnou součástí činnosti všech oddělení klinického úseku.

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 na platformě *České leukemické skupiny pro život* (CELL) probíhá 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. Petr Soukup



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 2010 bylo na lůžkovém oddělení ÚHKT léčeno celkem 228 nemocných, z toho bylo 120 mužů a 108 žen (v roce 2009 171 nemocných). Počet hospitalizací činil 329 (v roce 2009 to bylo 357).

Přehled jednotlivých dg. – počet hospitalizovaných nemocných:

AML – 145, ALL – 47, MDS – 37, maligní lymfomy – 13, Ph neg. myeloproliferace – 13, hemolytické anémie – 12, myelom – 10, ITP a TTP – 9, CML – 8, CLL – 6, aplastická anémie – 6, jiné anémie – 6, ostatní – 9.

I v roce 2010 jsme zaznamenali stejné trendy jako v roce 2009, tj. 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 pokročilými formami choroby, kteří byli dříve hospitalizováni k podávání chemoterapie.

Nemocní jsou nadále léčeni v rámci různých klinických studií, u nemocných s MDS probíhá udržovací léčba hypometylační látkou deitabine v rámci studie DACO 016, u časných forem MDS probíhá studie s přípravkem Revlimid jak u nemocných s delecí 5q, tak u nemocných bez této chromosomální přestavby. U nemocných s časnou formou MDS

s trombocytopenií probíhá studie s podáváním romiplostimu (AMG 537). U starších nemocných s AML probíhají studie s podáváním amonafidu, midostaurinu a azacytidinu. Nemocní s ALL jsou léčeni v rámci studie LeukemiaNet protokolem GMALL.

Léčba nově diagnostikovaných onemocnění

- AML léčené intensivně – 41 nemocných (24 mužů a 17 žen),

Rozdělení podle podtypů:

- AML s rekurentní cytogenetickou abnormalitou – 7,
- AML související s předchozí léčbou – 3,
- AML s multilineární dysplasií – 9,
- AML – M4 (myelomonocytární) – 2,
- AML – M1 (bez vyzrávání) – 3,
- AML – M2 (s vyzráváním) – 4,
- AML – monocytární/monoblastová (M5) – 2,
- AML s translokací 15;17 – M3 – 9,
- AML s minimální diferenciací – M0 – 2.

Kompletní remise dosažena u 35 nemocných (85 %), při vyloučení nemocných s APL-M3, bylo kompletní remise dosaženo u 26 z 32 nemocných (81 %), z toho po indukční léčbě u 23 nemocných a po záchranné léčbě další 3 nemocní. Tři nemocní byli resistantní na léčbu a tři nemocní během léčby zemřeli (9 %). 15 nemocných bylo indikováno k provedení alogenní transplantace krvetvorných buněk.

ALL

- léčeno 8 nemocných, z toho 7 ve studii GMALL, ostatní protokolem HyperCVAD, všichni nemocní dosáhli CR (100 %), u 3 nemocných byla provedena alogenní SCT, 2 nemocní zemřeli v relapsu choroby.

Myelodysplastický syndrom (MDS)

Nově diagnostikováno 29 nemocných dle FAB, 24 nemocných dle WHO klasifikace:

- RA: 1x, RCMD: 10x, RARS: 1x, 5q-syndrom: 1x,

- RAEB – 1: 4x, RAEB – 2: 7x,
- RAEB-T (dle FAB): 4x, CMML 2: 1x

Léčba:

- nemocní s časnými stádii – podpůrná léčba, EPO, G-CSF u těžké granulocytopenie, Revlimid u 1 nemocné 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, 2 mladší nemocní s RAEB-1 indikováni k alogenní SCT.
- kombinovaná chemoterapie: léčeno 6 nemocných s RAEB-2 a RAEB-T, CR dosažena u 3 nemocných, PR dosažena u 1 nemocného – všichni indikováni k alogenní SCT.
- Léčba azacytidinem – 5 nemocných s RAEB-2 a RAEB-T, u 4 dosaženo PR či hematologické zlepšení.

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 2010 bylo na našem pracovišti (v ÚHKT) diagnostikováno a tedy do péče převzato dalších 29 nemocných, u kterých byla následně diagnostikována CML.

Soubor všech nemocných léčených v ÚHKT pro CML tedy čítá více než 240 nemocných. ■

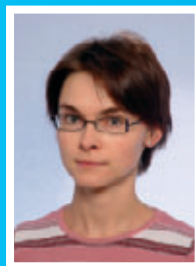
JEDNOTKA INTENZIVNÍ HEMATOLOGICKÉ PÉČE (JIHeP) A TRANSPLANTAČNÍ JEDNOTKA (TJ)



Primář:
MUDr. Antonín Vitek



Zástupce primáře:
**MUDr. Markéta
Šťastná-Marková, CSc.**



Staniční sestra:
Mgr. Andrea Dočkalová



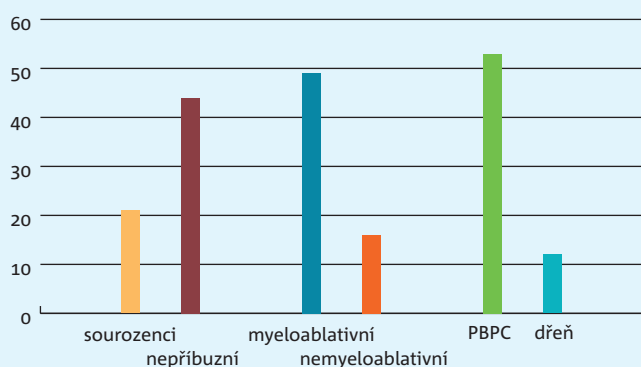
Vedoucí sestra TJ:
Petra Mašková, DiS.

POČET ZAMĚSTNANCŮ:	53
LÉKAŘI:	5
VŠEOBECNÉ SESTRY:	35
OSTATNÍ PERSONÁL:	13

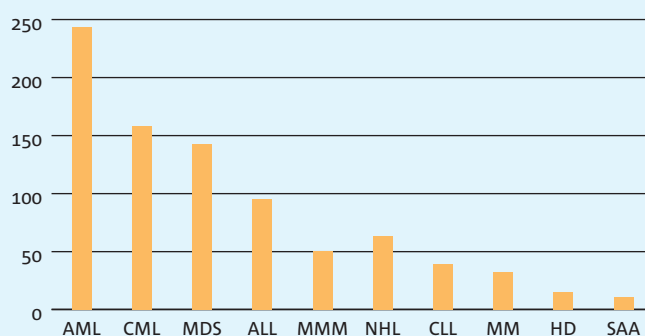
V průběhu roku 2010 bylo na **JIHeP** a **TJ** léčeno 213 pacientů a bylo zde uděláno 65 transplantací kmenových buněk krvetvorby (HSCT). Všechny provedené HSCT byly alogenní. 44 HSCT bylo od nepříbuzných dárců, 21 od sourozenců či jiných pokrevních

příbuzných. HSCT u 49 nemocných bylo provedeno po myeloablativním přípravném režimu, ostatní po nemyeloablativní přípravě. U 53 pacientů byly k HSCT použity progenitory získané z periferní krve, u ostatních byla k transplantaci použita kostní dřeň. U 5 pacientů byla

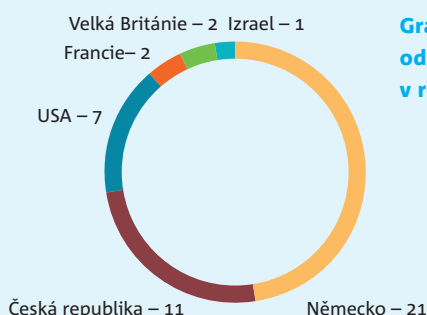
HSCT provedena podruhé. U 21 HSCT byl použit štěp od dárců z německých registrů, u 11 od dárců českých, u 7 výkonů od dárců z USA a 2 HSCT od dárců z Francie a Velké Británie, jedna HSCT od dárce z Izraele. Pro 25 pacientů se podařilo vyhledat dárce se shodou 10/10,



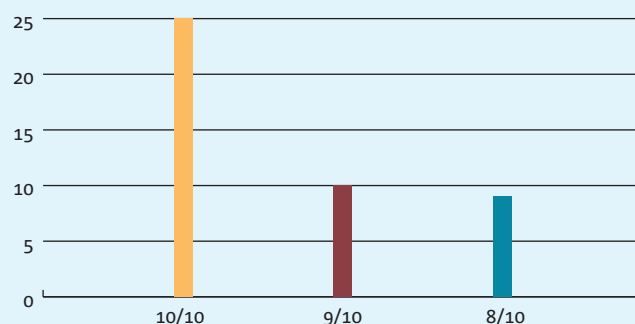
Graf č. 1: Charakteristika HCT v roce 2010.



Graf č. 2: Zastoupení jednotlivých diagnóz, pro které byla provedena transplantace v letech 1986–2010.



Graf č. 3: Původ štěpů od nepříbuzných dárců v roce 2010.



Graf č. 4: Počty nepříbuzných dárců dle HLA shody.



AML	24
ALL	8
MDS	8
MMM	16
NHL	5
HD	1
CML	2
Histiocytóza X	1

Diagnózy nemocných, kteří byli transplantováni v roce 2010.

pro 10 pacientů se shodou 9/10 a pro 9 pacientů se shodou 8/10 HR-HLA.

Na JIHeP byla, kromě standardní péče, poskytována i péče intenzivní včetně umělé plicní ventilace (UPV + CPAP), která byla prováděna u 29 pacientů a kontinuálních eliminačních metod u 16 pacientů (CVVH).

Výsledky:

Celkem bylo v ÚHKT do konce roku 2010 uděláno 851 HSCT: 751 alogenních (421 od nepříbuzných dárců, 330 od pokrevních příbuzných) a 100 autologních. Diagnózy byly následující: akutní myeloidní leukemie (AML) 243, chronická myeloidní leukemie (CML) 158, myelodysplastický syndrom (MDS) 143, akutní lymfatická leukemie (ALL) 95, non-Hodgkinský lymfom (NHL) 63, chronická lymfatická leukemie (CLL) 39, myelofibroza (MMM) 50, myelom (MM) 32, maligní lymfogranulom (HD) – 15, těžká aplastická anemie (SAA) 11. ■

AMBULANCE

POČET ZAMĚSTNANCŮ:	29
LÉKAŘI:	5
VŠEOBECNÉ SESTRY:	18
OSTATNÍ PERSONÁL:	6



Primář:
MUDr. Jana Sajdová



Zástupce primáře:
MUDr. Dana Šponerová



Staniční sestra:
Ivana Picková

V **ambulantní části** je poskytována komplexní léčebná péče pacientům, kteří nevyžadují hospitalizaci na lůžkové části a jsou zde prováděna superkonziliární vyšetření pacientů vyžádaná z jiných pracovišť. Jedná se především o nemocné před a po transplantaci hemopoetických buněk, pacienty s hematologickými nádorovými chorobami, vrozenými i získanými krvácivými stavy, závažnými poruchami červené krevní řady a nemocné, jejichž vyšetření není dostupné v jiném zdravotnickém zařízení. Spádová oblast zahrnuje celou Českou republiku. Ambulance též zajišťuje kontinuitu péče pacientů, kteří prošli lůžkovými částmi ÚHKT.

V levém křídle ambulantní části je umístěno šest vyšetřoven a místnosti pro rehabilitaci, odběry a sál pro provádění výkonů včetně přílehlé místnosti sloužící k dospívání 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 odděleními boxy sloužícími pro ošetření pacientů ve zhoršeném zdravotním stavu. V samotném stacionáři jsou jednotlivá lůžka oddělena zástěnami, zajišťujícími větší soukromí pacientů.

Jsou zde umístěna tři moderní polohovatelná lůžka, určená zejména pro pacienty, u nichž aplikace léčebných režimů trvá více hodin. Další lůžka jsou za komfortnější průběžně měněna. Denní stacionář se 14 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 připojit 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.

Od roku 2000 se počet pacientů ošetřených na ambulanci 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. Na navýšení počtu nemocných se podílí i zintenzívnění mezioborové spolupráce i spolupráce s ostatními hematologickými pracovišti a praktickými lékaři.

Kapacita ošetřených pacientů na naší ambulanci představuje přibližně 20000 pacientů za rok. Tento stav kulminoval v roce 2009,

kdy bylo ošetřeno 20304 pacientů, v roce 2010 jsme na ambulanci ošetřili o dva tisíce nemocných méně – 18308. Trend ošetřených pacientů na ambulanci a Denním stacionáři je znázorněn v grafu č. 1.

Veškerá data, zobrazená v grafech, souvisí se spektrem diagnóz, které se v daném roce kumulují na ambulanci nejvíce.

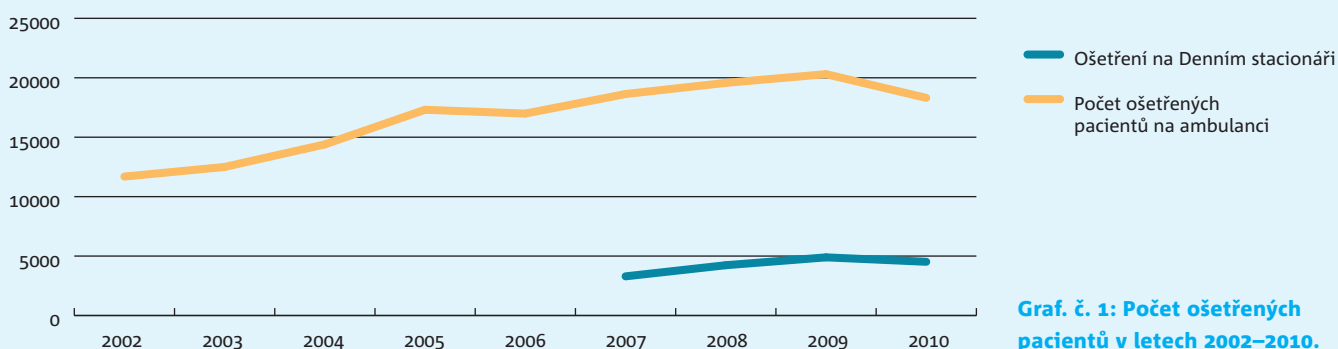
Moderní prostory spolu s profesionálním přístupem všech zaměstnanců ambulance zajišťují pacientům nejvyšší kvalitu péče a bezpečnosti na špičkové, mezinárodně srovnatelné úrovni.

Chronická myeloidní leukémie (CML)

V roce 2010 bylo na našem pracovišti (v ÚHKT) diagnostikováno a tedy do péče převzato dalších 29 nemocných, u kterých byla následně diagnostikována CML.

Soubor všech nemocných léčených v ÚHKT pro CML tedy čítá více než 240 nemocných.

- celkem nově diagnostikovaných 29 pacientů (18 mužů, 11 žen)
- medián věku 56 let (34–81 let)
- ve stadiu chronické fáze bylo 28 nemocných
- v pokročilejších stadiích onemocnění 1 pacient



Graf. č. 1: Počet ošetřených pacientů v letech 2002–2010.



U všech nemocných s nově diagnostikovanou CML v chronické fázi (CP) byla po úvodní cyto-redukci hydroxyureou a event. leukodepleci (u 10 pacientů s klinickými příznaky z leukostázy) zahájena terapie tyrosinkinasevým inhibíto-rem (TKI) I. generace imatinibem (IM).

Již v průběhu 2–12 měsíců od zahájení léčby u všech nemocných docíleno hematologické remise a u pacientů léčených déle než 6 měsíců také také cytogenetické odpovědi. Významný byl též pokles hladiny transkriptu BCR-ABL, tedy molekulární odpověď. Všichni nemocní léčbu IM dobře tolerovali.

Poměrně časté dosažení hematologických a cytogenetických odpovědí s dobrou tolerancí léčby bylo pozorováno také u nemocných, kteří byli léčeni imatinibem ve druhé linii, tedy po předchozí terapii INF.

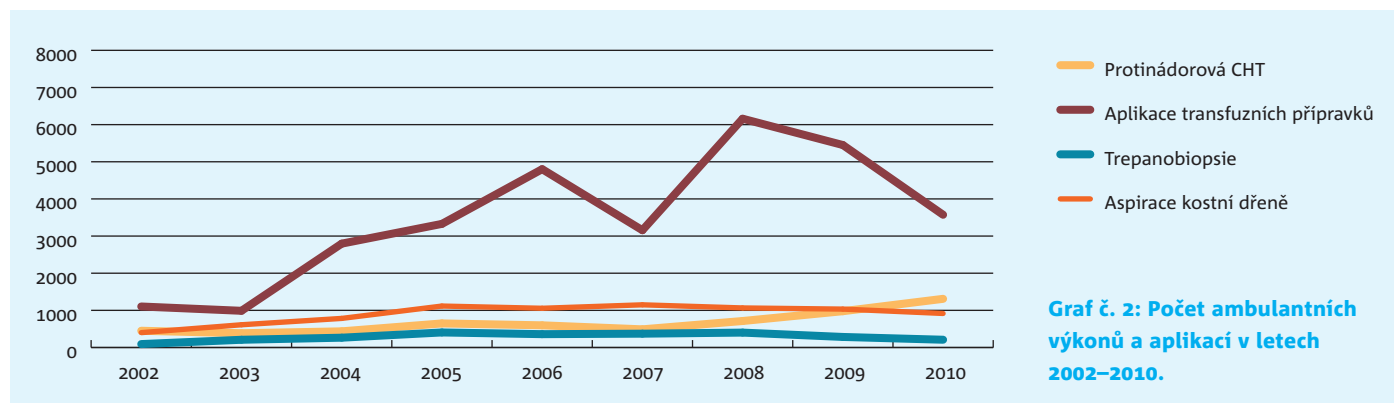
Kromě hodnocení hematologické a cytogenetické odpovědi je u všech pacientů monitorována molekulární odpověď, v intervalech

2–3 měsíců vyšetřována hladina transkriptu BCR-ABL. V případě zjištěné rezistence na léčbu IM, definované doporučeními European LeukemiaNet, je provedena mutační analýza na přítomnost mutací v kinasové doméně BCR-ABL. Při ne zcela optimální odpovědi na léčbu nebo její netoleranci provádíme vyšetření hladiny imatinibu v plasmě, celkem již provedeno více než 300 vyšetření. Klinický význam těchto vyšetření pak spočívá zvláště v pomoci při procesu v rozhodování o další léčebné strategii při ne zcela optimální odpovědi na léčbu stávající.

V souboru pacientů léčených IM v I. linii po 4 letech kumulativní incidence hematologických odpovědí 94 %, kompletních cytogenetických remisí 75 % a celkových molekulárních odpovědí 68 %. Velmi nadějně je také celkové přežití (OS) 95 % a přežití bez progresu 80 % v pětiletém hodnocení. Douhodobě přežívají dobrou kvalitou života nemocní, léčení IM ve druhé linii, tedy po předchozí jiné léčbě.

U pacientů s CML, u kterých nebylo dosaženo optimální odpovědi na léčbu imatinibem, kde se rozvinula rezistence nebo lék nebyl dostatečně tolerován, byly podávány tyrosinkinasevým inhibitory 2. generace – dasatinib a nilotinib. Soubor takto léčených čítá 49 pacientů. Také u těchto pacientů bylo dosahováno významných odpovědí na léčbu, srovnatelných s výsledky léčby ostatních světových pracovišť. U pacientů, léčených dasatinibem v chronické fázi, bylo navozeno 92 % hematologických remisí a 85 % velkých cytogenetických odpovědí. I tato léčba je dobře tolerována, o čemž svědčí dobrá kvalita jejich života.

Pacienti, kteří splní vstupní kritéria a podepíší informovaný souhlas, jsou také zařazováni do uvedených klinických studií fáze 2 a 3, které v současné době na našem pracovišti probíhají. ■



CENTRUM PRO TROMBÓZU A HEMOSTÁZU

LÉKAŘI: 2
LABORANTI: 1



Vedoucí lékař:
MUDr. Peter Salaj



Zástupce vedoucího:
MUDr. Irena Čápková

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 sledována a léčena více než polovina pacientů v ČR s hemofií A/B a inhibitory FVIII/FIX.

Spolu s ortopedickou klinikou FN Bulovka zajišťujeme převážnou většinu endoprotetických výkonů u pacientů s hemofií z celé ČR. Ve spolupráci s ortopedickou klinikou 2.LF FN Motol 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 trombocytopatie, aj.

Naše pracoviště je jedním z nejdůležitějších center pro diagnostiku a léčbu závažných získaných poruch hemostázy, zejména inhibitoru FVIII a trombotickou trombocytopenickou purpurou (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 CELKEM: 3
LABORANTI: 7



Vedoucí laboratoře:
RNDr. Ingrid Hrachovinová



Zástupce vedoucího:
Ing. František Mareček, Dr.

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 2010 došlo v koagulační laboratoři k několika personálním změnám. Dr. Šimon Rittich odjel pracovat do laboratoře prof. Long Zhanga, The University of Pennsylvania, který se zabývá biologií ADAMTS13

a patogenezí TMA. Na jeho místo nastoupila Mgr. Dana Provazníková a zástupcem vedoucí laboratoře se stal Dr. Mareček. Nastoupila laborantka Katka Housková. Jedna laborantka je v přípravě na kvalifikační zkoušku z laboratorní hematologie. Laboratoř akreditovala 7 vyšetřovacích metod podle požadavků mezinárodní normy ČSN EN ISO 15189.

Rutinní koagulační vyšetření

Vyšetření pro pacienty lůžkové části klinického oddělení ÚHKT představovala kolem 25 % z celkového počtu vyšetření. 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 skríningu 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-dimerů 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 ustálil, stoupá pouze počet specializovaných vyšetření. Meziroční přehled vybraných parametrů je v Grafu 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 skrínem, osobní nebo rodinnou anamnézou poruchy hemostázy. Množství speciálních vyšetření mírně narůstá (5 %). Významně se zvyšoval 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. V konečné fázi je testování nové metodiky na stanovení vazby FVIII na vWF (vWF, typ Normandy), toto vyšetření není celosvětově komerčně dostupné.

Pokračovala diagnostika nemocných s rozvojem trombozy nebo plicní embolie v relativně mladém věku, kde se předpokládá vrozená dispozice. V rámci skríningu trombofilních markerů byla prováděna detekce relativně častých genetických poruch, jako jsou Leidenská 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 2010 jsme pokračovali vyšetřování vrozeného deficitu antitrombinu (AT), protože představuje velmi závažné riziko

Typ		Mezinárodní databáze	Česká republika *
Celkový počet případů (jednotlivé mutace)			
I.	Bodové mutace, malé delece a inserce	101 (80)	45 (15)
	Velké delece	12 (12)	Nestanoveno
II.	RS-mutace v reaktivním místě	55 (12)	6 (5)
	HBS-mutace v místě vazby heparinu	70 (12)	24 (4)
	PE-pleiotropní mutace	18 (11)	3 (1)
Celkem		256 (127)	78 (25)

Tabulka 1. Mutace v genu pro AT.

pro vznik trombo-embolické příhody (TEN) a při kombinaci s dalším rizikovým faktorem jako je HAK, těhotenství a větší invazivní výkon se riziko vzniku TEN zvyšuje na 95–100 %. Při vyšetřování spolupracujeme s velkými hematologickými centry (např. FN Brno, FN Plzeň, nem. Liberec aj.). Předpokládáme skrytou přítomnost vrozeného deficitu AT, protože některé typy mutací (Leu99Phe, AlaSer384) jsou funkčními metodikami stanovení AT obtížně detekovatelné. V tabulce 1. je doplněn současný stav mutací AT v České republice ve srovnání s mezinárodní databází.

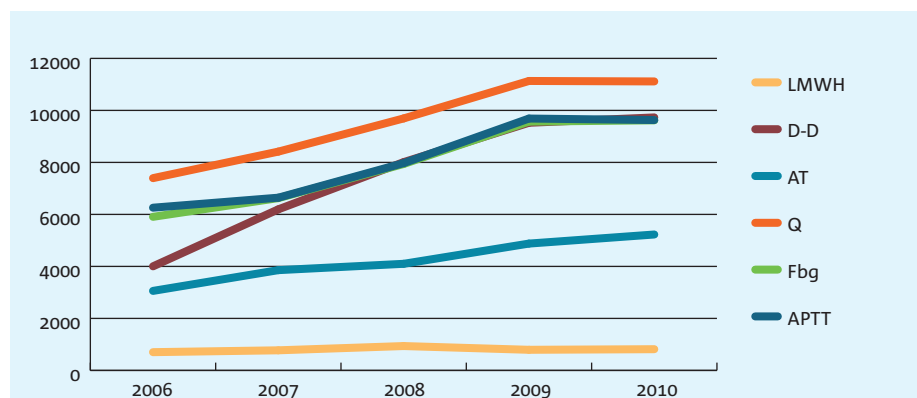
Metodika skríningu hypo/hyperkoagulace byla doplněna testem na stanovení generace trombinu ve vzorku (TGA). Vyšetření provádíme na automatickém koagulometru *Ceveron* (Technoclone), který má možnost fluorescenční detekce nezbytné pro toto vyšetření. V rámci stanovení TGA byla laboratoř vyzvána k účasti na *ISTH/SSC Working Party on TGA, 2nd Collaborative Study on TGA* pro standardizaci metody. Laboratoř se též účastnila mezinárodní srovnávací studie stanovení FVIII v koncentrátech FVIII s/bez B-domény FVIII, jejímž výstupem byl poster na *XXIX. International Congress of the World Federation of Hemophilia* a doporučení *ISTH/SSC Working party* (56th Annual Scientific and Standardization Committee Meeting, Cairo).

Laboratoř se zabývala vyšetřováním a vývojem dalších metodik pro stanovení TMA (trombotické mikroangiopatie), zejména se zaměřením

na laboratorní diferenciální diagnostikou HUS/TTP. 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). Byla zavedena metodika na stanovení protilátek proti CFH. Zjistili jsme, že jsou příčinou onemocnění aHUS (atypický hemolyticko-uremický syndrom) u 20 % pacientů. Spolu s laboratoří průtokové cytometrie (Dr. Marinov) jsme zavedli funkční vyšetření exprese MCP (membrane complement protein) na granulocytech. Deficit MCP je příčinou aHUS u 10 % české populace (výsledky naší laboratoře). V roce 2010 bylo vyšetřeno více než 150 pacientů s podezřením na TTP/HUS nebo s již známou diagnózou TTP. Bylo diagnostikováno 10 nových případů získané formy TTP a charakterizováno 20 případů s diagnózou aHUS. Seznam všech vyšetření prováděných v LPH je na webových stránkách UHKT (www.uhkt.cz/ustav/doc#lab_prirucky).

Český národní hemofilický program (ČNHP). V roce 2010 byl ustaven ČNHP, který je celostátní aktivitou, jejímž cílem je neustálé zvyšování dobré úrovně péče o nemocné s hemofilií a dalšími vrozenými krvácivými stavy. ÚHKT byl ustanoven jako jeden ze dvou CCC (Comprehensive Care Centres) v České republice. Ze statutu vyplývá, že naše laboratoř odpovídá za vysoce specializovaná vyšetření krvácivých stavů, včetně molekulárně genetických vyšetření.

Národním registr nemocných s vrozenými poruchami koagulace, který je spravován naším pracovištěm, registruje více než 1400 nemocných s deficitem FVIII, FIX, vWF, FXI, FXII, FVII a fibrinogenu. V roce 2010 po několika letech opět začala fungovat spolupráce s hematologickými centry celé České republiky a obsah registru byl intenzivně aktualizován. Probíhá doplňování informací o genetické příčině poruchy hemostázy a se souhlasem pacientů vyšetřování v rodinách, kde dosud nebylo vyšetření provedeno. Během letošního roku bylo doplněno vyšetření a záznamy u více než 100 pacientů. Znalost kausální mutace v hemofilických rodinách byla v letošním roce využita ke stanovení přenašečství u 15 pacientek a umožnila provedení 14 prenatalních vyšetření hemofilie A i B.



Graf 1: Počet vyšetření uvedených metodik v letech 2006–2010. Protrombinový čas (Q), APTT, fibrinogen (Fbg), antitrombin (AT), D-dimery (DD), nízkomolekulární heparin (LMWH).

Výzkumná a vědecká práce

V roce 2010 naše laboratoř pokračovala ve výzkumu příčin trombotických mikroangiopatií (TTP/HUS). V rámci grantu IGA, ve spolupráci s firmou Vidia, s.r.o., a pracovištěm dětské pediatrie v Rakousku (Universitätsklinik für Pädiatrie, Innsbruck, Dr. Magdalena Riedl) jsme vyvinuli ELISA test pro stanovení protilátek proti CFH (komplement faktor H). Toto vyšetření výrazně přispělo ke zlepšení diagnostiky atypického HUS.

Laboratoř spolupracovala a spolupracuje na grantu IGA s gynekologicko-porodnickým pracovištěm Motol. Název grantu: *Změny*

koagulačních parametrů sledovaných v průběhu fyziologické gravidity, gravidity nosiček trombofilních mutací a gravidity komplikované pozdními těhotenskými komplikacemi. Vzorky pro projekt jsou sbírány v průběhu těhotenství. Výsledky budou zhodnoceny komplexně po skončení odběrů.

V rámci studie hledání kauzálních mutací u vrozených poruch hemostázy jsme našli velmi zajímavou intronickou záměnu nukleotidů v genu pro FVIII. Prokázali jsme, že se nejedná o polymorfismus, ale o mutaci, která dosud nebyla publikována. Mechanismus působení mutace ukazuje na nový, dosud nepopsaný způsob transkripce. Přítomnost mutace

pravděpodobně podmiňuje vznik nového štěpného místa uvnitř exonu. Tato mutace je poměrně častá v České republice. Vyskytuje se u 18 % lehkých hemofiliků A.

Externí kontrola kvality

Laboratoř se úspěšně zúčastnila mezinárodní kontroly kvality ECAT (stanovení lupus antikoagulans, D-diméry, inhibitor FVIII, trombinový generační čas TGA, HIT) 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). ■

MORFOLOGICKO-CYTOCHEMICKÁ LABORATOŘ

LÉKAŘI: 3,25
LABORANTI: 7,2



Vedoucí lékař:
MUDr. Dana Mikulenkova



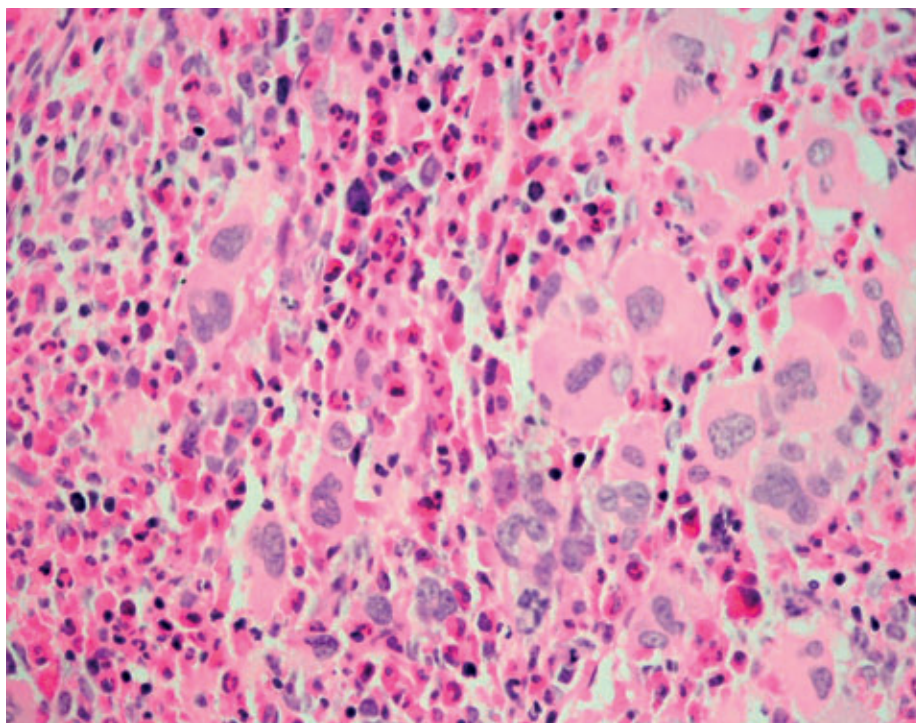
Zástupce vedoucího:
MUDr. Radka Šimečková

Morfologicko-cytochemická laboratoř je vybavena 2 analyzátory krevních obrazů, náterovým a barvicím automatem a přístrojem na digitální morfologii. 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, nezralé retikulované destičky). Záložním analyzátozem je *XS-800i*, který je od stejné firmy a to *SYSMEX CZ s.r.o.* Nátěry a barvení jsou prováděny na novém automatu *SP-1000i*. Na morfologickém hodnocení nátěrů periferní krve se významně podílí nový přístroj *DM 96 CellaVision*, který je schopen pomocí digitálního přenosu dat spočítat jednotlivé jaderné populace v náteru, pomocí digitálních obrázků též zhodnotit erytrocyty a krevní destičky.

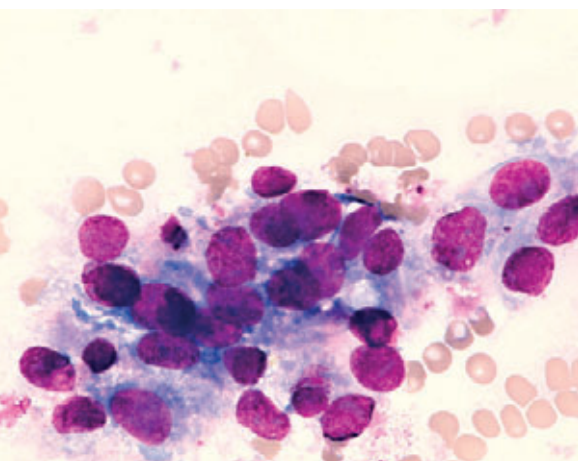
Laboratoř rutinně v denním provozu vyšetřuje krevní obraz včetně přístrojového rozpočtu leukocytů, sedimentaci erytrocytů, provádí cytologickou analýzu nátěru periferní krve, aspirátu kostní dřeně, mozkomíšního moku, pleurální tekutiny, ascitické tekutiny, tekutiny z bronchoalveolární laváže. Celkem 13 cytochemických vyšetření

umožňuje přesnou morfologickou diagnostiku i monitoraci hematologických onemocnění. Laboratoř v rámci svých kompetencí

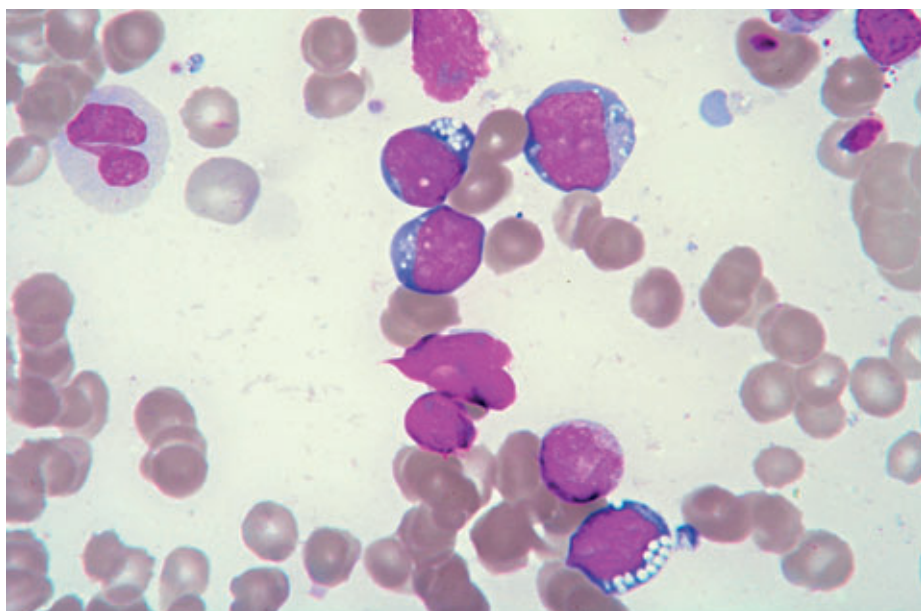
provádí též konziliární vyšetření aspirátu kostních dřeně (2. čtení) i ve statimovém provozu.



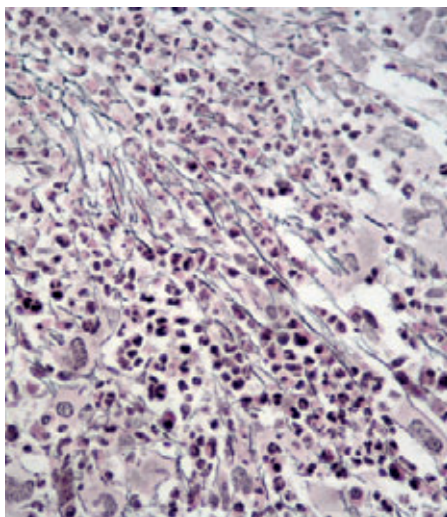
Histopatologické vyšetření kostní dřeně: CML – megakaryocytární subtyp.



**Aspirát kostní dřeně – 1000x zvětšení:
Metastáza karcinomu tlustého střeva.**



Aspirát kostní dřeně – 1000x zvětšení: Akutní lymfoblastová leukemie – L3 subtyp.



Histopatologické vyšetření kostní dřeně – barvení na retikulín: CML – megakaryocytární subtyp

Atestovaní pracovníci laboratoře zajišťují postgraduální výuku morfologie v rámci předatestační přípravy lékařů v oboru *Hematologie*

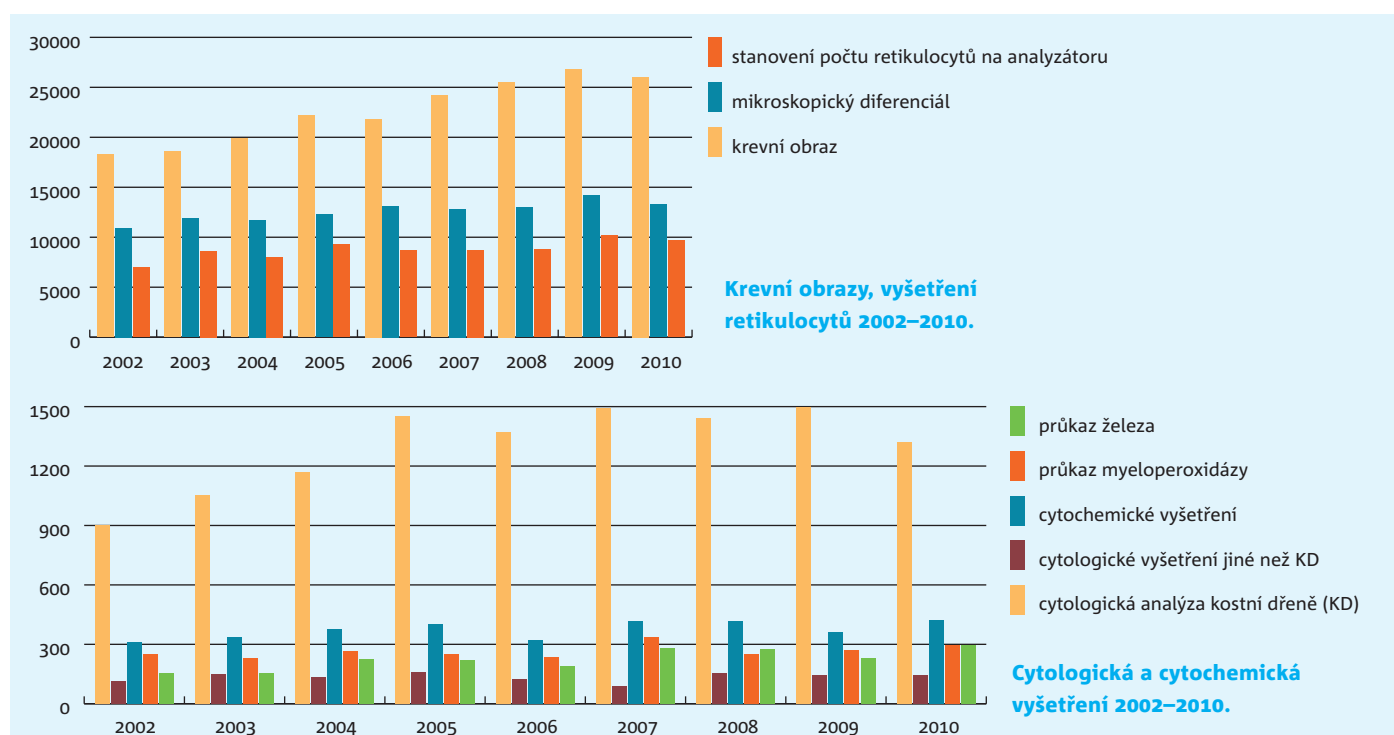
a *transfúzní služba* (v loňském roce na našem pracovišti v rámci přípravy na specializovanou atestaci absolvovalo výuku 25 lékařů), i výuku morfologie pro laboranty. Všichni pracovníci se aktivně účastní hematologických konferencí pořádaných Českou hematologickou společností. Dvě laborantky v tomto roce získaly ocenění za nejlepší přednášku v rámci *XXII. Celostátní konference laborantů a sester* (25.–27. 4. 2010, Harrachov). Pro klinické lékaře pravidelně prezentujeme v rámci ranních kolektivů zajímavé morfologické případy.

Laboratoř v letošním roce jako vždy 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 a v hodnocení sedimentace erytrocytů. Je

jednou z referenčních laboratoří SEP (skupina expertních pracovišť) pro mikroskopickou analýzu nátěru periferní krve v rámci SEKK s. r. o. MUDr. Dana Mikulencová je supervizorem cyklu *Nátěr periferní krve ve fotografii, Nátěr aspirátu kostní dřeně ve fotografii a Hodnocení nátěru periferní krve* v rámci SEKK s. r. o. Laboratoř se též zúčastnila zahraniční externí kontroly kvality (Referenzinstitut für Bioanalytik).

Na konci roku se laboratoř přestěhovala do nově zrekonstruovaných prostor v přízemí budovy B a získala mikroskop s diskuzním zařízením s možností výuky morfologie pro 9 spolupozorovatelů.

Byla zavedena nová metoda k měření krevních destiček v rámci dif. dg. pseudotrombocytopenie (Tromboexact). ➔

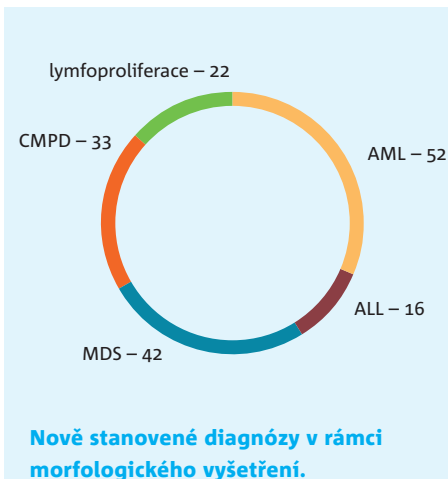


Dále laboratoř zpracovává histologický materiál (trepanobiopsie) pro histologické vyšetření. As. MUDr. Vít Campr z Ústavu patologie a molekulární medicíny při 2. LF UK ve FN Motol provádí kompletní histologickou diagnostiku z trepanobiopsie kostní dřeně, lymfatické uzliny, sleziny či jiných tkání. Za rok 2010 bylo provedeno 250 histologických vyšetření kostní dřeně a 17 histologických vyšetření jiných tkání (kůže, lymfatické uzliny aj.).

Seznam a struktura prováděných vyšetření:

- Kompletní krevní obraz vč. stanovení počtu retikulocytů na analyzátoru

- Stanovení počtu krevních destiček v prokainu, v citrátu a v Tromboexactu
- Mikroskopická analýza nátěru periferní krve
- Sedimentace erytrocytů
- Cytologická analýza aspirátu kostní dřeně, mozkomíšního moku, pleurální tekutiny apod.
- Cytochemické vyšetření (průkaz myeloperoxidasy vč. eozinofilní formy, α -naftyl butyrát esterasy vč. inhibice NaF, α -naftyl acetát esterasy vč. inhibice NaF, kyselé fosfatasy, tartarát rezistentní kyselé fosfatasy, alkalické fosfatasy, naftol-ASD chloracetát esterasy, vyšetření PAS reakce, barvení sudanovou černí B, průkaz železa, barvení toluidinovou modří, vyš. ORO – olejová červen O). ■



LABORATOŘ PCR DIAGNOSTIKY LEUKÉMIÍ

LÉKAŘI:	1
VŠ OSTATNÍ:	3
LABORANTI:	1,6



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 tyrosinové kinasy *JAK2^{V617F}*. Dále provádí molekulární sledování minimálního reziduálního onemocnění u AML i CLL, a u vybraných případů Ph-MPO. Převaha činnosti laboratoře spočívá v rutinní diagnostice uvedených stavů, většina výkonů je hrazena z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Výzkumná činnost je spojena 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*. Kromě těchto fúzí, prospektivně vyšetřovaných u 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 „navešt“ na stopu, kde hledat případnou fúzi na úrovni RNA. Týká se to především nejčastějších fúzí genu *MLL* s různými zlomovými místy. Laboratoř již diagnostikovala pacienty s fúzními geny *AF6/MLL*, *AF9/MLL*, *AF10/MLL* a *MLL/ENL*. Molekulární charakterizace konkrétního fúzního genu je následně využívána pro sledování minimálního reziduálního onemocnění (MRO) daného pacienta pomocí kvantitativního RT-PCR v reálném čase (RQ-PCR). Jako pozitivní kontrolu při každém vyšetření užíváme plasmid se zaklonovaným fúzním genem, který je předmětem vyšetření.

Akutní promyelocytární leukémie (APL) jsou významnou podskupinou AML především tím, že představují naprosto urgentní stav, který je nutné co nejrychleji přesně diagnostikovat a zahájit specifickou léčbu. Nejčastější fúzní gen u APL, *PML/RAR α* , je pro nás samozřejmě 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 kodonu D835. U indikovaných pacientů vyšetřujeme pomocí sekvenace také mutace v genu *C-KIT*, z nichž prognosticky je nejzávažnější mutace *C-KIT^{D816}* – konečně všechna v tomto odstavci uvedená vyšetření mají, jak již bylo naznačeno, 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 s AML, včetně APL.

Pokud 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 přestavbu T-buněčného receptoru (*TcR*).

V programu Ph-MPO laboratoř běžně stanovuje mutaci *JAK2*^{V617F} pomocí námi již dříve publikované metodiky (J. Marková *et al.*, Leuk. Lymphoma 2007), spočívající v RQ-PCR s LNA modifikovanými sondami. U vybraných pacientů lze vyšetřit i alternativní mutaci *JAK2* genu v exonu 12 (pomocí sekvenace). Dále byla zavedena i podobná metoda RQ-PCR s LNA modifikovanými sondami pro detekci u MPO vzácnějších mutací genu trombopoetického receptoru *MPL*^{W515K/L}. U mastocytózy stanovujeme mutace genu *CKIT*^{D816} (viz výše), u pacientů s chronickou eosinofilní leukémií (CEL) či hypereosinofilním syndromem (HES) též fúzní gen *FIP1L1/PDGFRα*. Jsme schopni pátrat po jakékoli fúzi genů *PDGFRα*, *PDGFRβ*, event. *FGFR*, je-li na ně suspekce na základě předchozího FISH vyšetření.

Rutinní činnost

V roce 2010 bylo dodáno na naši laboratoř rekordních 1600 vzorků k molekulárnímu vyšetření z periferní krve nebo z kostní dřeně (v roce 2009 to bylo 1589 vzorků, jedná se tedy o nárůst 0,7 % – viz Obr. č. 1). Tempo nárůstu se však v roce 2010 výrazně zpomalilo, což patrně souvisí s ekonomickou krizí a šetřením ve zdravotnických zařízeních. K vyšetření dostáváme vzorky pacientů

léčených v ÚHKT (39,3 % v r. 2010) i na jiných pracovištích (61,7 %). Kontinuálně se mění struktura námi prováděných vyšetření – viz Obr. č. 2. Trvale roste především počet vyšetření u pacientů se suspektním MPO. Laboratoř získala v r. 2009 akreditaci ČIA (akreditovanou metodou je vyšetření mutace V617F genu *JAK2*).

Vědecko-výzkumná činnost a publikace

Pracovníci laboratoře jsou spoluautory 4 článků v impactovaných časopisech a 2 článků v českém písemnictví, prvními autory 3 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. Podílí se i na pre- a postgraduální výuce.

Seznam a struktura prováděných vyšetření

AML, APL – vyšetření fúzních genů – záchyt i reziduálního onemocnění† z kostní dřeně*

Vyšetřované geny: *PML/RARα*, *AML1/ETO*, *CBFβ/MYH11*, event. jakýkoli jiný fúzní gen u AML a APL; *FLT3/ITD*, *FLT3*^{D835}, *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, a dále v dalších 2 letech za předpokladu molekulární remise á 3 měs., později á 1 rok. (V kratších intervalech nutno vyšetřovat pacienty, kteří nedosáhli molekulární remise – lze navíc vyšetřovat také expresi genu *WT1* z periferní krve na Odd. molekulární genetiky ÚHKT – RNDr. Haškovec, Mgr. Polák). Nutno

upozornit, že mutace genu *FLT3* nejsou spolehlivým cílem pro sledování MRO.

CLL a jiné lymfoproliferace – záchyt i reziduálního 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 – toto vyšetření má smysl pouze u CLL a lymfomu z plášťových buněk.

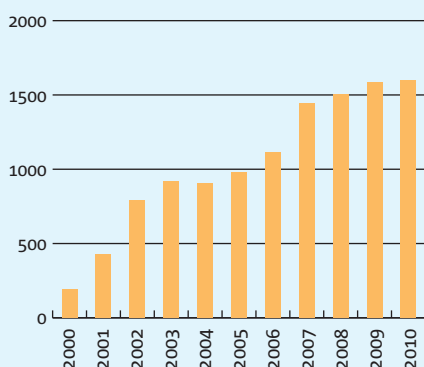
Je možno provést funkční analýzu genu *TP53* (kódujícího protein p53) pomocí FASAY eseje.

*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.

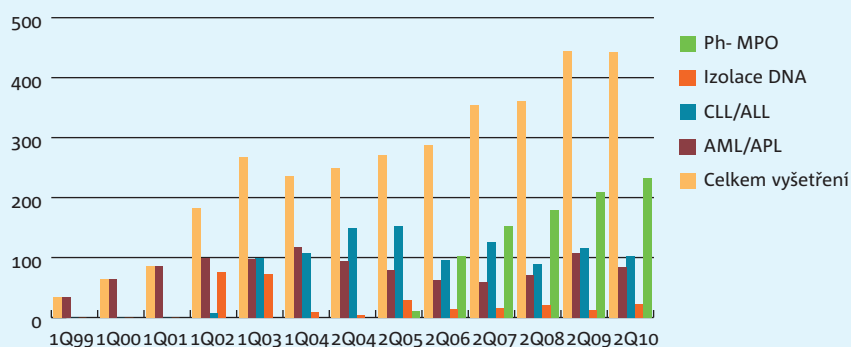
Ph-myeloproliferace – záchyt i reziduálního onemocnění z periferní krve

Běžně vyšetřované geny: *JAK2*^{V617F}, alternativní mutace genu *JAK2* v exonu 12, mutace *MPL*^{W515K/L}, vyšetření mutace *C-KIT* a fúze *FIP1L1/PDGFRα*

Po domluvě s vedoucím laboratoře provést i vyšetření mutací genu Epo-receptoru a také mutace genů, uplatňujících se v tzv. „oxygen-sensing pathway“, tj. *HIF-2α*, *PHD2* a von Hippelova-Lindauova (*VHL*) genu. Lze domluvit i vyšetření na jakoukoli fúzi genů *PDGFRα*, *PDGFRβ* a *FGFR*, a to vždy na podkladě předchozího cytogenetického (FISH) nálezu. Pouze u transplantovaných pacientů má smysl vyšetřovat MRO pomocí RQ-PCR, cílovým genem je obvykle mutovaný *JAK2*, případně *MPL* gen. ■



Obr. 1: Celkový počet vzorků za rok (2000–2010).



Obr. 2: Struktura jednotlivých typů vyšetření (dle diagnózy) za jeden kvartál roku (1999–2010).

LABORATOŘ PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE

LÉKAŘI: 1
VŠ OSTATNÍ: 2
LABORANTI: 4



Vedoucí lékař:
MUDr. Iuri Marinov, CSc.



Zástupce vedoucího:
Mgr. Alena Luxová

Laboratoř průtokové cytometrie je specializovaná laboratoř s rutinní/diagnostickou, výzkumnou a výukovou činností zaměřenou na hematologická onemocnění (akutní a chronické leukemie, lymfoproliferace, myelodysplastické a myeloproliferativní syndromy), nenádorová hematologická onemocnění (vrozené a získané poruchy krevních destiček a erytrocytů), transfuzní a transplantační hematologii.

Pracovní náplň:

Přístrojové vybavení:

- průtokový cytometr FACSCalibur, BD Biosciences (2 lasery/4 fluorescence)
- průtokový cytometr FACSCanto, BD Biosciences (2 lasery/6 fluorescence)
- průtokový cytometr/sorter FACSARIA III, BD Biosciences (3 lasery/10 fluorescence)

Metodické, metodologické podklady a připravenost:

Laboratorní postupy jsou zavedené v souladu s konsenzuálním doporučením European LeukemiaNet (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 ve vybraných případech detekce minimálního reziduálního onemocnění (MRO) po chemoterapii/ transplantaci
- Imunofenotypizace, imunologická diagnostika, klasifikace, staging, follow-up lymfoproliferací a detekce minimálního reziduálního onemocnění (MRO) po chemoterapii/ transplantaci
- Imunofenotypizace, imunologická diagnostika a klasifikace myelodysplastických a myeloproliferativních syndromů

Nenádorová hematologie:

- Stanovení PNH klonů a diagnostika paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH)
- Diagnostika vrozených (Glanzmannova trombastenie, Bernardův-Soulierův syndrom, syndrom šedých destiček) a získaných (megakaryocytární, amegakaryocytární, imunní, neimunní) poruch krevních destiček
- Imunologické stanovení absolutního počtu krevních destiček průtokovou cytometrií

- Stanovení VASP fosforylace krevních destiček a monitorování terapie inhibitory P2Y₁₂ receptoru (clopidogrel, prasugrel)
- Diagnostika heparinem indukované trombocytopenie (HIT)
- Diagnostika atypického hemolyticko-uremického syndromu (aHUS)

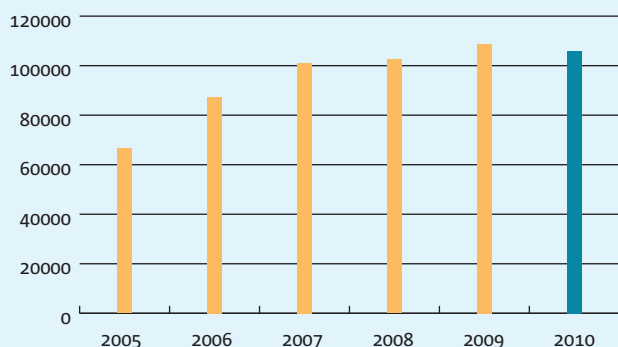
Transplantační hematologie:

- Stanovení retikulovaných krevních destiček
- Stanovení lymfoidních subpopulací při monitorování obnovy imunitního systému po transplantaci
- Stanovení absolutního počtu CD3+(CD5+) T lymfocytů při monitorování imunosupresivní terapie
- Stanovení CD34+ kmenových buněk
- Diagnostika potransplantačních lymfoproliferativních onemocnění
- Kvantitativní stanovení CMV specifických, CD3+CD8+ paměťových T lymfocytů

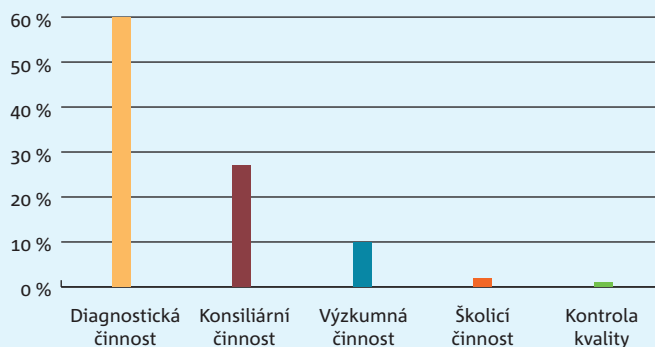
Přehled výkonů za roční období:

Výzkumná činnost:

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



Přehled výkonů v letech 2005–2010.



Struktura pracovní náplně laboratoře.

Školící činnost:

Laboratoř průtokové cytometrie zajišťuje postgraduální a předatestační přednášky a odborné kurzy pro hematologu a širokou lékařskou veřejnost.

Kontrola kvality:

Laboratoř průtokové cytometrie organizuje a provádí roční mezilaboratorní porovnání a zúčastňuje se národních (SEKK) a mezinárodních (BD QAS, UK NEQAS) cyklů externí kontroly kvality. ■



LABORATOŘ DIAGNOSTIKY ANÉMÍÍ

LÉKAŘI:	1
VŠ OSTATNÍ:	1
LABORANTI:	3



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



Zástupce vedoucího:
MUDr. Dana Mikulenkova

Laboratoř diagnostiky anemií se věnuje diagnostice korpulkulárních hemolytických anemií a některých získaných poruch červené krevní řady.

Seznam a struktura prováděných vyšetření

V roce 2010 bylo pokračováno v rutinních diagnostických vyšetřeních u nemocných s vrozenými poruchami červené krevní řady (dědičná sférocytóza, deficit pyruvátkinasy, deficit G-6-PD, alfa a beta thalasemie a další vzácnější hemolytické anémie). Byla zavedena metoda kapilární elektroforesy, jež výrazně zcitlivuje a zpřesňuje diagnostiku abnormálních hemoglobinů a vypracována metoda elektroforesy membránových bílkovin, která je připravována do rutinní diagnostiky vrozených poruch erytrocytární membrány. Laboratoř dále spolupracuje s laboratoří molekulární genetiky University Palackého v Olomouci při zachytu některých vzácných hemoglobinopatií a s klinikou dětské hematologie a dětské onkologie

FN v Praze-Motole. V roce 2010 byly popsány další nemocní s některými vzácnějšími formami hemoglobinu (Hb Lepore, Hb Koln aj.) a dále 2 případy Fanconioho anemie diagnostikované až v dospělém věku. Dále se laboratoř podílí na řešení Výzkumného

záměru MZO 00023736 a provádí zpracování a skladování vzorků pro klinické studie nemocných s MDS. ■

PINK test	219
Osmotická resistance	208
Autohemolýza	130
PNH testy	198
Elfo Hb	464
Stanovení HbA2	470
Stanovení HbF	469
Stanovení abnormálního Hb	38
Stanovení pyruvátkinasy	36
Stanovení G6PD	62
Vyšetření kinetiky krevních destiček	4
Vyšetření krevního volumu	10
Celkem	2307

Seznam a struktura prováděných vyšetření a počet v roce 2010.



LABORATOŘ HEMOKULTIVACÍ

LÉKAŘI: 1
LABORANTI: 1,1



Vedoucí lékař:
doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D., MBA



Zástupce vedoucího:
MUDr. Hana Klamová, CSc.

Laboratoř hemokultivací je specializovaná laboratoř, která provádí vyšetření jak pro všechna oddělení klinického úseku ÚHKT, tak i pro *Banku pupečníkové krve (BPK)*.

V laboratoři hemokultivací se provádí *hemokultivační analýza*; v roce 2010 bylo analyzováno 250–300 vzorků měsíčně.

Kromě hemokultivací laboratoř sleduje *kvalitu ovzduší* aeroskopem *MAS 100*. V roce

2010 byla prováděna kontrola v lůžkových částech klinického úseku, celkem bylo provedeno 124 vyšetření. Tímto vyšetřením lze také zachytit vstup kontaminant z nedostatečně udržované vzduchotechniky do prostředí. Další činností laboratoře je sledování *kvality prostředí, hodnocení povrchů stěn, podlah, nástrojů, nábytku*, atd. Tato vyšetření byla prováděna v lůžkových částech, na ambulanci a v BPK, celkem bylo provedeno 1034 vyšetření. ■

DOKUMENTAČNÍ CENTRUM

POČET ZAMĚSTNANCŮ: 4

SŠ: 4



Vedoucí centra:
Kateřina Waldmannová



Zástupce vedoucího:
Jana Ryšavá



Organizační složení tohoto oddělení tvoří čtyři pracovníci: transplantační koordinátor a datamanažeři.

Dokumentační centrum spolupracuje s českými a zahraničními registry při vyhledávání vhodných dárců kmenových buněk krve tvorby. Zajišťuje a shromažďuje veškeré podklady pro správný výběr vhodného dárce. Pracoviště dále sleduje a zpracovává údaje o pacientech, kteří podstoupili transplantaci kmenových buněk krve tvorby, včetně sledování kvality života pacienta před a po transplantaci.

Dokumentační centrum vypracovává hlášení pro registry CIBMTR, ABMT, EBMT a Český registr dárců krevních buněk, spolupracuje s Českou leukemickou skupinou pro život (CELL). Zpracovává též data pro 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 ÚHK, včetně vedení dokumentace, a při přípravě nových klinických studií. ■



ERYTRORESUSPENSUM DELEUKOTIZ
ERD
C2088 11
TO UHKT Praha
K.M.M.-N+K(A-B+)-Egla6
Objem 250 ml
Vyroba z 60 ml plazmy
Odobrena 30.03.2008
Resuspensum v 100 ml SAG
Vyroba v podniku kral
Kraly vsk. 10.11.2007, 440 VSP-079
Lichovazni pH +2,25 - 6,5

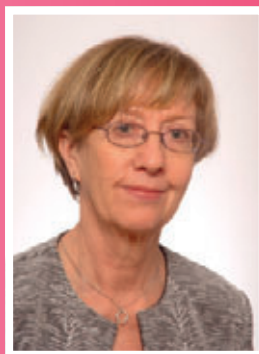
ERYTRORESUSPENSUM DELEUKOTIZ
ERD
C2088 11
TO UHKT Praha
K.-C.M.
Objem 250 ml
Vyroba z 60 ml plazmy
Odobrena 30.03.2008
Resuspensum v 100 ml SAG
Vyroba v podniku kral
Kraly vsk. 10.11.2007, 440 VSP-079
Lichovazni pH +2,25 - 6,5

ERYTRORESUSPENSUM DELEUKOTIZ
ERD
C2088 11
TO UHKT Praha
K.M.M.-N+K(A-B+)-Egla6
Objem 250 ml
Vyroba z 60 ml plazmy
Odobrena 30.03.2008
Resuspensum v 100 ml SAG
Vyroba v podniku kral
Kraly vsk. 10.11.2007, 440 VSP-079
Lichovazni pH +2,25 - 6,5

ERYTRORESUSPENSUM DELEUKOTIZ
ERD
C2088 11
TO UHKT Praha
K.M.M.-N+K(A-B+)-Egla6
Objem 250 ml
Vyroba z 60 ml plazmy
Odobrena 30.03.2008
Resuspensum v 100 ml SAG
Vyroba v podniku kral
Kraly vsk. 10.11.2007, 440 VSP-079
Lichovazni pH +2,25 - 6,5

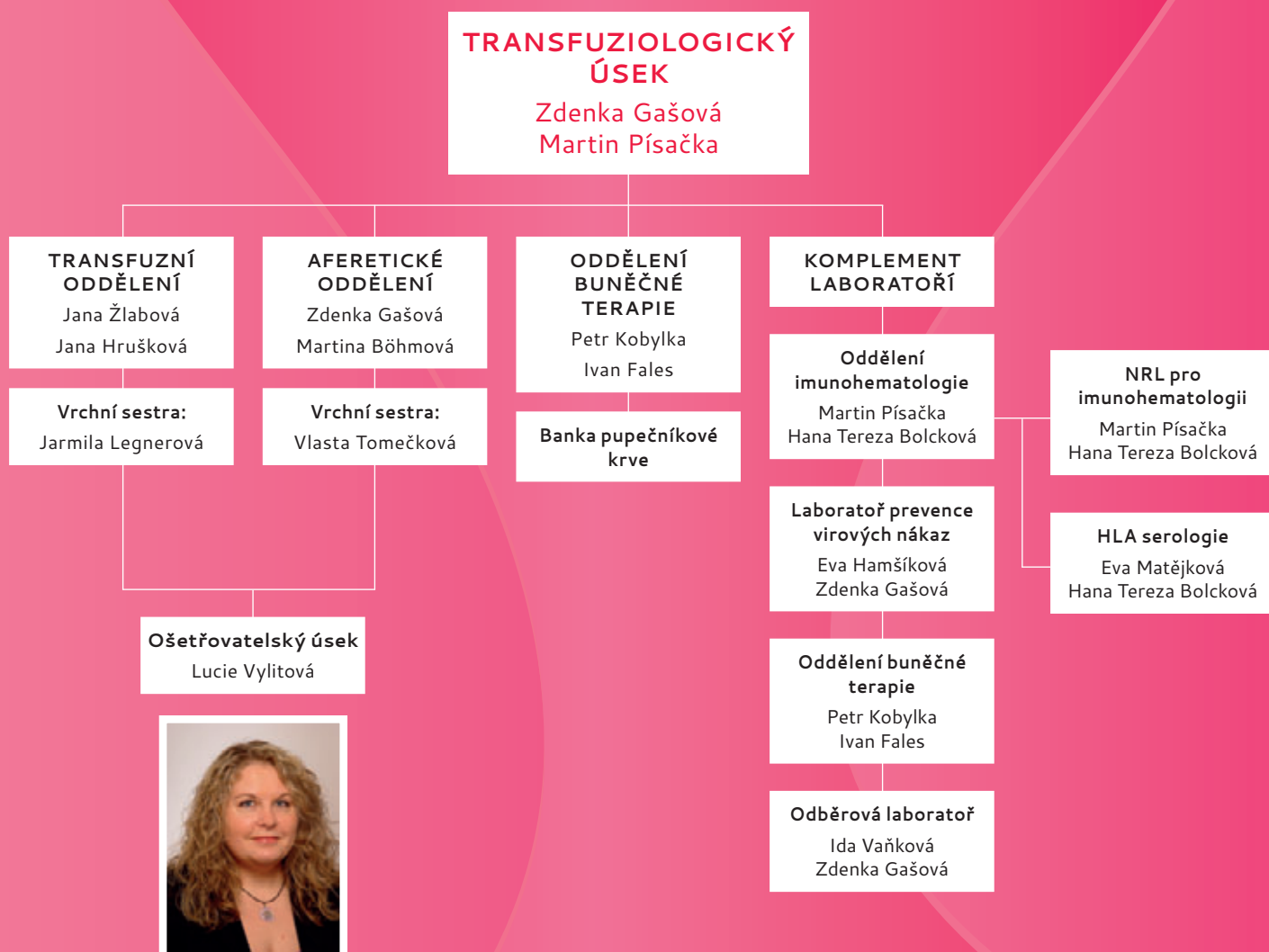
TRANSFUZIOLOGICKÝ ÚSEK

POČET ZAMĚSTNANCŮ:	83
LÉKAŘI:	16
VŠ OSTATNÍ:	9
ZDRAVOTNÍ SESTRY:	20
LABORANTI:	26
FARMACEUTICKÝ ASISTENT:	2
SŠ OSTATNÍ:	2
OSTATNÍ ZAMĚSTNANCI:	8



Přednosta:
doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.

Zástupce přednosta:
MUDr. Martin Písačka



Legenda:

Název útvaru
Vedoucí
Zástupce vedoucího



Na Transfuziologickém úseku působí čtyři spolupracující oddělení:

- Transfuzní oddělení
- Aferetické oddělení
- Oddělení imuno hematologie
- Oddělení buněčné terapie

Na pracovištích Úseku se provádějí jak standardní odběry krve, tak odběry krevních složek technikou hemaferézy. V roce 2010 bylo provedeno celkem 7932 odběrů a bylo vyrobeno celkem 18558 všech typů transfuzních přípravků. Na pracovišti se v roce 2010 zavedla technika patogen-inaktivace trombocytových koncentrátů. K odběrům krve a krevních složek přišlo 743 prvdárců. Mezi dárce je mnoho nositelů bronzových, stříbrných a zlatých Janského plakety a několik dárců bylo v roce 2010 oceněno zlatými kříži 2. a 3. stupně za 80–120 odběrů. Dále bylo připraveno 173 štěpů autologních a alogenních kmenových krvetvorných buněk z periferní krve a 33 autologních koncentrátů mononukleárních buněk k dalšímu zpracování.

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

- Připravují se vysoce kvalitní deleukotizované koncentráty erytrocytů, trombocytů, granulocytů 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, probíhá příprava DLI a provádějí se sběry mononukleárních buněk pro přípravu vakcín na bázi dendritických buněk.
- U nemocných se provádějí aferetické terapeutické výkony jako je výměnná plazmaferéza, deplece leukocytů, erytrocytů a trombocytů, extrakorporální fotochemoterapie a imunoabsorpce IgG. V roce 2009 jsme jako první pracoviště v ČR zavedli provádění výměnné erythrocytaferézy u nemocných se srpkovitou anémií.

Transfuziologický úsek je správcem *Národních registrů transfuzní služby*: registru osob vyřazených z dárcovství a registru dárců vzácných krevních skupin. Dále jsou na úseku vedené Registry HLA a HPA otypovaných dárců.

Na Transfuziologickém úseku působí *Národní referenční laboratoř pro imuno hematologii* a *Banka pupečnickové 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 WAA – mezinárodním registrem pro terapeutické hemaferézy (World Apheresis Association)
- s International Blood Group Reference Laboratory v Bristolu
- 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 imuno hematologie a transfuzního lékařství, včetně dárcovských a terapeutických postupů prováděných technikou hemaferézy. Výuka se dále zaměřuje na přípravu štěpů kmenových krvetvorných buněk pro transplantaci a buněčnou terapii.

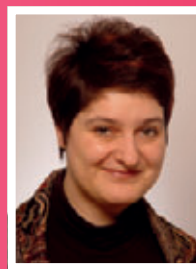
Výuka probíhá v rámci ÚHEK 1. LF UK a ÚHK a IPVZ. Pregraduální činnost je zaměřena na výuku studentů IV. až VI. ročníku 1. LF UK v Praze. Pracovníci transfuzních laboratoří Úseku absolvovali úspěšně akreditaci ČIA. ■

TRANSFUZNÍ ODDĚLENÍ

POČET ZAMĚSTNANCŮ:	27
LÉKAŘI:	5
VŠ OSTATNÍ:	1
ZDRAVOTNÍ SESTRY:	14
LABORANTI:	1
SŠ OSTATNÍ:	1
OSTATNÍ ZAMĚSTNANCI:	5



Vedoucí oddělení:
MUDr. Jana Žlabová



Zástupce vedoucího:
MUDr. Jana Hrušková



Vrchní sestra:
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 prvdárců.

V roce 2010 bylo na Transfuzním oddělení provedeno celkem 5579 odběrů plné krve a 606 odběrů trombocytů technikou aferézy. Transfuzní oddělení připravilo 5271 transfuzních jednotek (dále TU) deleukotizovaných erytrocytů, 1513 TU trombocytů připravených z buffy coatu deleukotizovaných, 1184 litrů plazmy k zpracování na krevní deriváty, 84 litrů plazmy pro klinické aplikace, 786 TU deleukotizovaných trombocytů připravených technikou aferézy a 33 TU granulocytů z plné krve.

Bylo provedeno 30 patogen-inaktivací trombocytů z aferézy. Pracoviště zahájilo spolupráci s mezinárodním hemovigilančním systémem Marvin pro hodnocení bezpečnosti patogen-inaktivovaných přípravků.

K odběrům přišlo 743 prvdárců.

Od roku 2009 se připravují směsné deleukotizované koncentráty trombocytů z buffy coatu.

	2007	2008	2009	2010
Počet odběrů plné krve	4279	4834	5502	5579
Počet všech přípravků vyrobených z plné krve (TU)	8072	9251	10205	10753
Počet dárcovských trombocytaferéz		366	604	606
Počet vyrobených trombocytových koncentrátů TAD (TU)		557	754	786

Tab. 1: Odběry a přípravky na Transfuzním oddělení.

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:

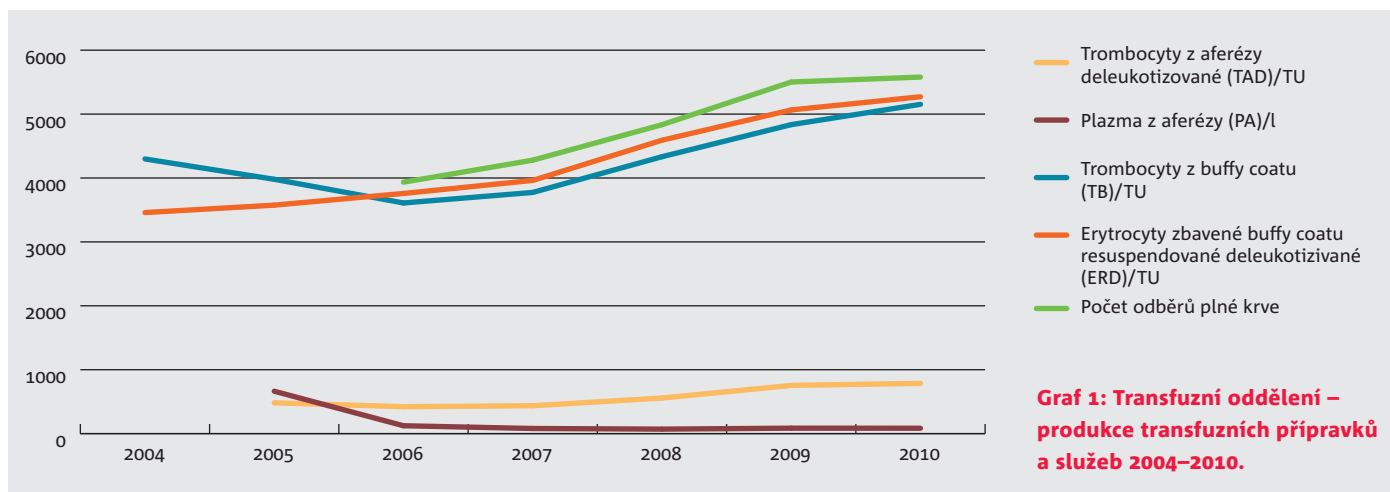
- deleukotizované erytrocytové koncentráty – deleukotizuje se 100 % přípravků,
- trombocyty z buffy coatu – deleukotizuje se 100 % přípravků,
- trombocyty z aferézy deleukotizované –

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.





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
- patogen inaktivované koncentráty trombocytů.

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 transfuzí přenosné choroby – hepatitida B, hepatitida C, HIV a syphilis
- Odběrová laboratoř

Obě laboratoře úspěšně absolvovaly akreditaci 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 transfuzní 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	2010
Dárci krve (HIV Ag/Ab, HBsAg, HCV Ag/Ab, anti Treponema)	6140	6345	5565*	6211	7049	7770	7938
Pacienti							
HIV Ag/Ab	1538	1744	1502	1480	1605	2289	2441
HBsAg	1606	1832	1554	1535	1599	2264	2520
HCV Ag/Ab	2052	2367	2016	1835	1963	2527	2504
anti Treponema	1451	1668	1450	1493	1592	2160	2109
HBV panel							
HBsAb	751	882	752	756	734	750	553
HBeAg	472	614	449	478	484	388	108
HBeAb	462	611	435	448	494	389	92
HBcAb	466	613	448	476	515	1250	1577

Tab. 2: Počty vyšetření prováděných v Laboratoři prevence virových nákaz v letech 2004–2010.

* ukončena činnost Odběrového střediska nemocnice Říčany

AFERETICKÉ ODDĚLENÍ

POČET ZAMĚSTNANCŮ:	14
LÉKAŘI:	3
VŠ OSTATNÍ:	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

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 roce 2010 celkem 2579 transfuzních jednotek (dále TU) de leukotizovaných trombocytů. Pracoviště provedlo celkem 618 terapeutických výkonů u 222 pacientů. K aferetickým odběrům přišlo 115 prvdárců.

Dárci mají v prostorách pracoviště bezplatný přístup na internet.

Pracoviště spolupracuje s mezinárodním registrem pro aferézy WAA (World Apheresis Association) k registraci a vyhodnocení nežádoucích účinků komplikací u terapeutických hemaferéz.

Nejčastěji prováděné dárcovské výkony

Separace krevních destiček – trombocytů. Separace probíhají v tzv. „pohotovostním režimu“. Dárci jsou zváni v krátkém obvykle jednodenním předstihu pro již předem

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Výměnná plazmaferéza	347	128	176	72	73	212	236
Výměnná erythrocytaferéza						6	19
Depleční aferéza	98	107	173	143	157	179	70
– erythrocytaferéza	30	34	51	66	61	77*	32
– leukocytaferéza	59	68	99	67	84	87*	34
– trombocytaferéza	9	5	23	10	12	15*	4
Fotoferéza	66	37	12	64	75	138	77
Separace PBPC autologní	155	150	148	138	147	213	136
Separace PBPC alogenní	60	40	35	23	36	16	37
Imunoadsorpce IgG		10	22	11	21	31	43
Celkem všech výkonů	726	462	544	451	509	795	618

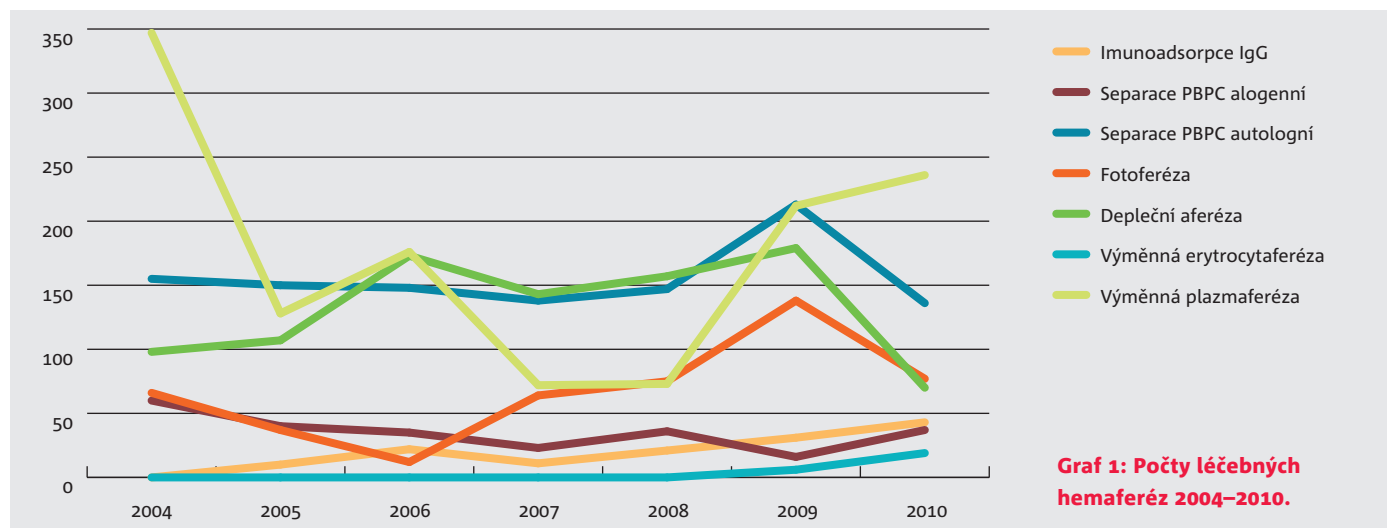
Tab. 1: Léčebné výkony na Aferetickém oddělení v letech 2004–2010.

vybraného pacienta. Ve speciálních situacích lze výběr dárců trombocytů provádět také dle HLA a HPA znaků.

Trombocyty obsahují velkou dávku účinných krevních destiček. De leukotizuje se 100 % všech přípravků. Trombocyty se mohou resuspendovat jak v plazmě, tak i v roztoku Intersol, 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.



Další činnosti jsou 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.

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

U nemocných se provádějí *aferetické terapeutické výkony* jako je *výměnná plazmaferéza, deplece leukocytů, erytrocytů a trombocytů a extrakorporální fotochemoterapie* (ECP, fotoferéza).

Aferetické oddělení provádí techniku mimotělní *imunoadsorpce*, pomocí které lze velmi účinně odstranit protilátky, inhibitory a imunokomplexy z cirkulace nemocných. Metoda umožňuje eliminaci IgG pomocí stafylokového proteinu A a je účinná v terapii nemocných s myasthenia gravis, s dilatační kardiomyopatií, s hemofilí A s inhibitory proti faktoru VIII a u nemocných s refrakterní TTP. V roce 2010 se zavedlo provádění imunoadsorpce další technikou za pomoci kolon na bázi ovčích protilátek proti lidským IgG.

Od roku 2009 se provádí velmi účinná technika výměnné erythrocytaferézy u nemocných se srpkovitou anémií.

Výzkumné projekty

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

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

Vzdělávání a výuka

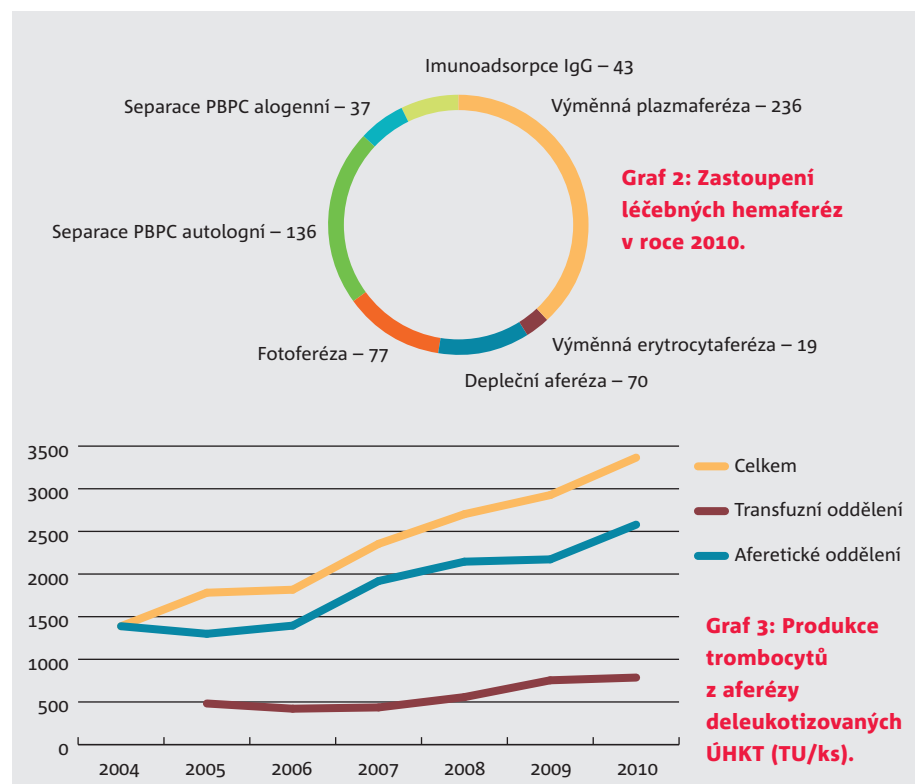
Pracovníci oddělení mají zájem o zvyšování kvalifikace.



V roce 2010 úspěšně absolvovala jedna lékařka specializační zkoušku v oboru hematologie a transfúzní lékařství.

Pracovníci úseku se podílejí na zajištění pregraduální a postgraduální výuky transfúzního lékařství, včetně dárcovských a terapeutických hemaferetických postupů,

imunoematologie 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. ■



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

Na oddělení imunohematologie se provádí základní imunohematologické vyšetření dárců krve místního transfuzního oddělení. Je zajišťováno běžné předtransfuzní vyšetření pro pacienty našeho klinického oddělení, event. 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 přepisování těchto údajů. V roce 2010 oddělení imunohematologie úspěšně prošlo akreditačním auditem ČIA a získalo 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 potransfuzních 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)

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Vyšetření krevní skupiny									
– pacienti	502	645	811	1072	1902	1774	2052	1994	1982
– dárce	6547	6398	6558	6877	6653	7116	8424	9102	9147
– pupečník	384	416	470	1110	750	582	618	976	882
celkem	7433	7459	7839	9059	9305	9472	11094	12072	11966
Vyšetření zkoušky kompatibility									
	5699	6588	7875	8228	8783	9037	10207	10 245	10102

Vyšetření související se zajištěním transfuzní terapie.

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Vyšetření protilátek – erytrocyt.									
	1492	1628	1817	2045	2560	2661	2625	2699	2513
Vyšetření erytrocytárního chimerismu									
před a po TKD	451	588	514	744	833	834	561	505	472

Erytrocytární imunologie.

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Vyšetření protilátek									
– trombo	1841	1884	2133	2019	1854	2015	1848	2134	2284
– leuko	1073	990	1167	1350	1299	1377	1527	1530	1575
Vyšetření HIT			48	65	61	88	160	169	186

Imunologie trombocytů a leukocytů.

z místního registru dárců HPA otypovaných (vzácných) trombocytů. Dále se vyšetřují potransfuzní reakce způsobené trombocytárními, granulocytárními a/nebo HLA protilátkami.

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

Referenční laboratoř pro imunohematologii poskytuje superkonziliární vyšetření komplikovaných případů alo- a autoprotilátek a obtížných, atypických případů stanovování 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 ÚHKH, konsorcium BloodGen).

Zaměstnanci oddělení se podílejí na pregraduální (v rámci ÚKEH, i postgraduální ILF, NCONZO) výuce v oboru imunohematologie. Zároveň pracují na zvyšování vlastní kvalifikace (účast na školicích akcích, PhD studium).

V rámci prevence výskytu TRALI se pokračovalo ve vyšetřování HLA protilátek u dárců, které prodělaly imunizační podnět (těhotenství, ➔

případně transfuze). V roce 2010 bylo vyšetřeno dalších 48 dárek, celkem bylo od roku 2008 vyšetřeno 300 vzorků od 260 dárek. 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 dárek 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 těchto dárek byla:

- celkem 15 %
- s použitím pouze LCT testu 5 %
- s použitím pouze ELISA testu 13,8 %.

U ELISA pozitivních vzorků byly detekovány protilátky:

- pouze HLA I. třídy v 67 % případů,
- pouze HLA II. třídy ve 14 % případů,
- HLA I. třídy spolu s HLA II. třídy v 19 % případů.

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

Pokračovali jsme ve sledování HLA imunizace pacientů. V roce 2010 jsme vyšetřili 101 polytransfundovaných pacientů ÚHKT. U těchto pacientů byly pro screening HLA protilátek použity testy LCT a ELISA (QuikScreen [GTI] pro detekci HLA protilátek I. třídy (IgG a IgM), B-Screen [GTI] pro detekci HLA protilátek II. třídy). Detekované protilátky byly identifikovány pomocí ELISA testů Quik-ID Class I a II. [GTI].

Prevalence HLA protilátek u polytransfundovaných pacientů ÚHKT byla:

- celkem 19,8 %
- s použitím pouze LCT testu 10,9 %
- s použitím pouze ELISA testu 16,8 %.

U ELISA pozitivních vzorků byly detekovány protilátky: pouze HLA I. třídy v 71 % případů, HLA I. třídy spolu s HLA II. třídy v 29 % případů, nebyly detekovány případy se samostatnou protilátkou anti HLA II. třídy. U HLA I. třídy jsme sledovali třídy IgG/IgM: ve 35 % případů byly u pacientů detekovány protilátky pouze IgM, směs tříd IgG+IgM byla detekována v 47 % případů, pouze IgG třída byla detekována v 18 % případů.

Probíhá nastavení a optimalizace postupu výběru transfuzních přípravků u HLA imunizovaných pacientů s refrakterností nebo potransfuzními reakcemi. Prvním krokem je identifikace HLA protilátky a poté výběr transfuzního přípravku dle specifity protilátky, je-li



to možné nebo dle HLA antigenů pacienta a/ nebo výsledku crossmatch testu.

Výsledky sledování HLA imunizace u dárek krve a polytransfundovaných pacientů ÚHKT byly prezentovány na Evropském sympoziu imunobiologie trombocytů a granulocytů, na Evropské konferenci imunogenetiky a histokompatibilitě a na mezinárodním kongresu ISBT. Dále jsme i v roce 2010 doplňovali rozsáhlý soubor RhD slabých a variantních antigenů, aby byly získány informace o výskytu jednotlivých typů těchto antigenů v naší populaci.

Pokračovali jsme v prioritním vyšetřování genotypu dárců krve pomocí microarraye BloodChip. V roce 2010 se podařilo modifikovat postup vyšetření tak, aby bylo možné použít hybridizační stanici HS400 a tak provádět všechny kroky testu v ÚHKT. Celkem je touto unikátní technikou vyšetřeno již více než 600 dárců. Touto technikou bylo zachyceno několik vzácných HPA 1a – dárců a dále bylo pozorováno několik dosud neznámých RhD

genotypů – tyto byly prezentovány na kongresu ISBT v Berlíně. Dále byl pozorován atypický případ D varianty DFR, který byl prezentován na AABB v Baltimore.

V roce 2010 byla provedena porovnávací studie nového způsobu určování antigenů ABO-Rh-K pomocí laterální difuze (karty Medion) a výsledky byly prezentovány na satelitním sympoziu Grifols v rámci kongresu ISBT v Berlíně.

Ve spolupráci s Univerzitou Lund jsme studovali raritní případy para-Bombay fenotypů. V rámci této studie byly zachyceny nové mutace *FUT1* genu, navíc tyto dva naše případy poprvé ukazují, že i heterozygotní stav těchto mutací ovlivňuje fenotypovou expresi. Na tuto studii jsme navázali i v roce 2010 podrobným vyšetřováním rodiny s klasickým Bombay fenotypem.

V roce 2011 budeme dále pokračovat v genotypování pomocí microarraye BloodChip a statisticky zpracovávat získaná data a analyzovat případné nové či atypické genotypy. ■

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Izolace DNA – vzorků: 196	279	309	321	130	143	166	1982
PCR-SSP-typizace Rh (DCE/Dw) 32	83	123	77	89	113	128	9147
typizace ABO/KKD 14	9	19	7	17	5	7	882
typizace HPA 14	33	20	17	19	27	33	11966

Molekulárně genetická vyšetření na dořešení imunohepatologických případů (vyšetření prováděno ve spolupráci s odd. biochemie).

	2007	2008	2009	2010
Celkem I. Tř.	279	290	249	200
HLA B27	57	90	93	64
LCT cross-match	1674	1757	1978	2105
HLA protilátky		2672	2990	2957

HLA I. třídy (serologicky).

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, zmrazení a rozmrazení, 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 mimo-pražských odběrových center.

Vyhodnocení a expedici transplantačním centrem zabezpečuje odd. zpracování štěpů. Připravené autogenní 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, rozmrazení a podání buněk transplantátu u lůžka pacienta.

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

BPK ČR
www.bpk.cz

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

zařazovány (s půlroční karanténou) do mezinárodního registru dárců BMDW. Manipulace se štěpykrvetvorné tkáně se provádí i mimo pracovní dobu, pro případ odběru i podání o víkendu je udržována telefonická příslužba. Za uplynulý rok oddělení zpracovalo štěpy od 696 dárců autogenního a alogenního typu.

V roce 2010 bylo v rámci projektu ve spádové oblasti laboratoří našeho oddělení odebráno 1261 pupečnickových krví a z toho bylo 422 štěpů zpracováno od nepříbuzenských dárců (celkem je v BPK ČR ke konci roku 4220 štěpů) a 10 štěpů příbuzenských. 249 štěpů bylo zařazeno do Českého registru dárců kostní dřeně (celkový počet štěpů PK v registru je 3338). K transplantacím bylo v roce 2010 předáno 13 štěpů do zahraničí. ■



VÝZKUMNÝ ÚSEK

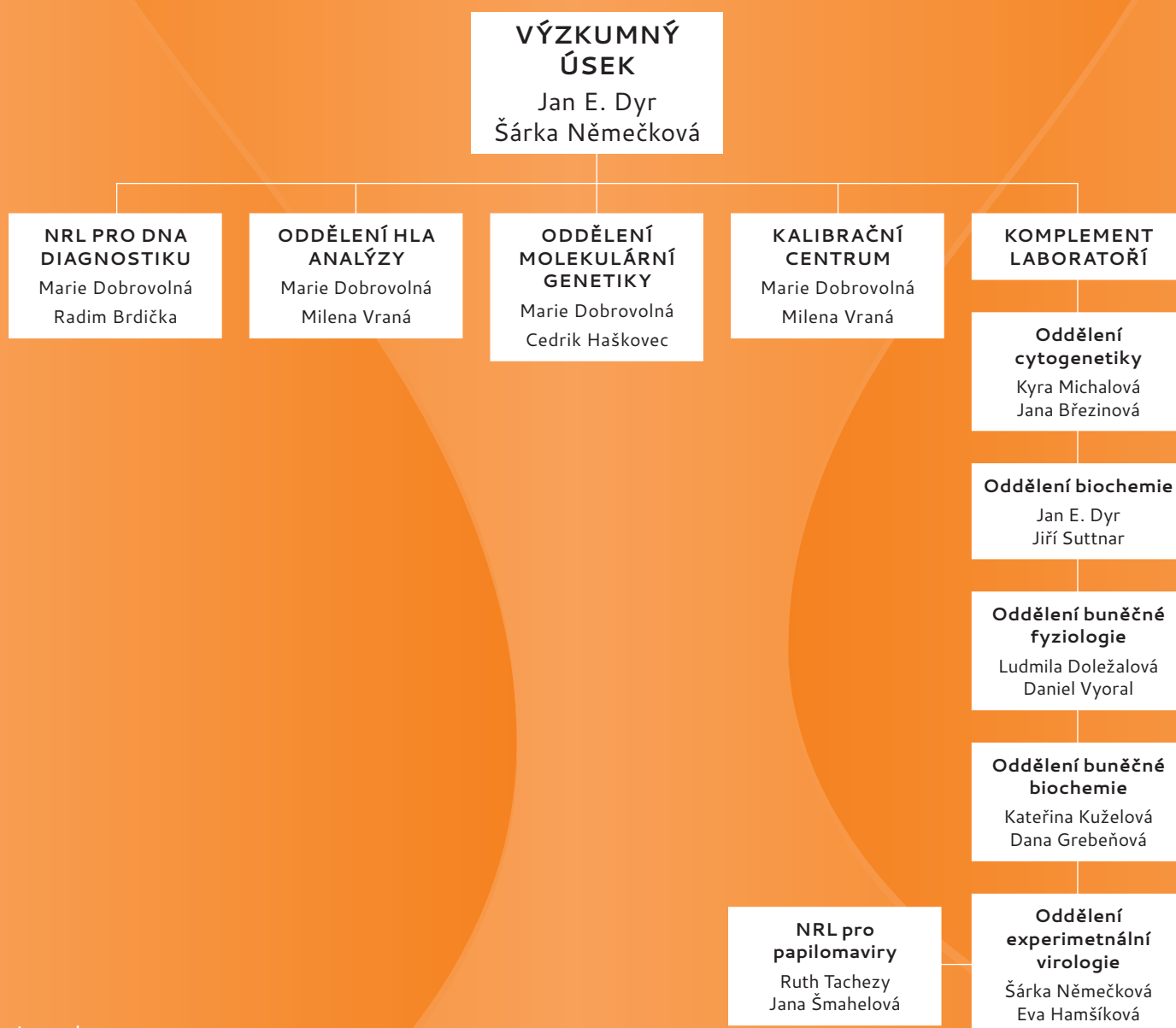
POČET ZAMĚSTNANCŮ:	139
LÉKAŘI:	6
VŠ OSTATNÍ:	90
LABORANTI:	34
SŠ OSTATNÍ:	1
OSTATNÍ ZAMĚSTNANCI:	8



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

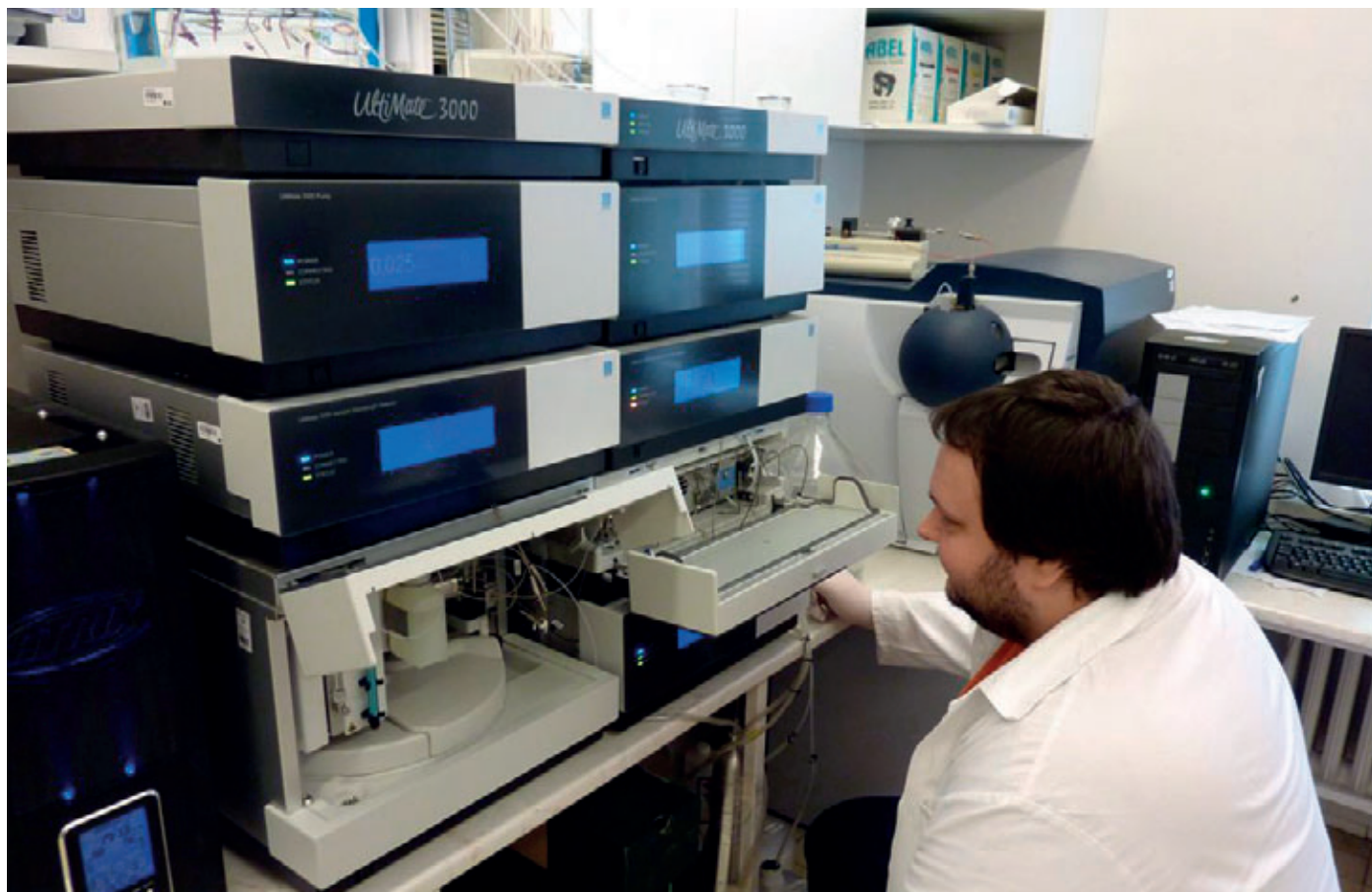


Zástupce přednosty:
RNDr. Šárka Němečková, DrSc.



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
- 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 jejich 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

Mezi nejvíce ceněné výsledky v poslední době patří zejména:

- zjištění, že fibrinogen se na povrchu skládá, v závislosti na své koncentraci, preferenčně ve dvou, ale výrazně odlišných uspořádáních. Z navázaných molekul fibrinogenu odštěpuje trombin bez zpoždění fibrinopeptidy (Fp) A i B, při procesu, který nastartovává přeměnu fibrinogenu na fibrinovou síť. Na vznikající fibrin na povrchu se váží, opět v závislosti na svých koncentracích, trombin i fibrinogen. Zjistili jsme, že z vázaného fibrinogenu jsou preferenčně uvolňovány FpB, naopak vázaný trombin pomalu, ale preferenčně odštěpuje fibrinopeptidy A. Uvolňování FpB má dva zásadní dopady – za prvé, po jejich odštěpení se odhalí nejen polymerační místo, ale i další část molekuly fibrinogenu, která má afinitu pro řadu důležitých typů buněk a za druhé, samotný FpB působí jako cytokin pro řadu buněk.
- objevení dvaceti nových vrozených dysfibrinogenemií. Kromě nejčastějších poruch v N-koncové části alfa a gama řetězců jsme odhalily i dva případy s mutacemi v coiled-coil regionu molekuly,

v části, která rozhoduje o viskoelastických vlastnostech trombu.

- popis principů molekulární podstaty Diamondovy-Blackfanovy anémie (DBA) a návržení cílené léčby pro pacienty.
- identifikace dvou hlavních nosičů hepcidinu v lidském séru, popis mechanismu účinku hepcidinu a vývoj spolehlivé a citlivé metody pro stanovení hepcidinu v séru, v moči a jiných tělních tekutinách.
- ve spolupráci s AV ČR vývoj a příprava proteomických biočipů na optické bázi povrchových plasmonů pracujících v reálném čase.
- vypracování nových původních diagnostických metod, které přispívají k určení prognózy pacientů s AML, CML a MDS a dalších metod, které stanovují reálné hladiny nových úspěšných protinádorových léčiv (cytostatika Glivec a jeho desmethylovaný aktivní derivát, psoralen – kontrola fotoferézy, antimitotika Itrakonazol a jeho aktivní metabolit – hydroxyitakonazol) u jednotlivých pacientů.

V nadcházející éře personální medicíny a nanotechnologií se zatím daří udržovat kontakt se světem v rozvoji genomiky, proteomiky i metabolomiky. ■

ODDĚLENÍ BIOCHEMIE

POČET ZAMĚSTNANCŮ:	14
LÉKAŘI:	1
VŠ OSTATNÍ:	11
LABORANTI:	2
STUDENTI	4



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



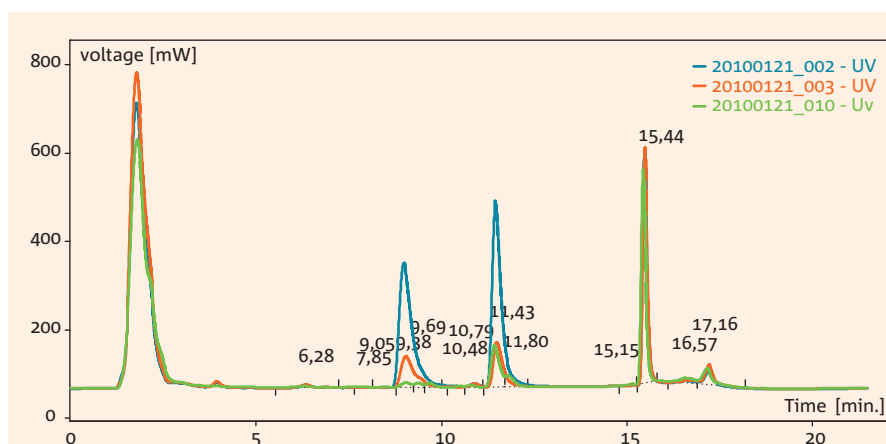
Zástupce vedoucího:
Ing. Jiří Suttar, CSc.

Klíčové metodiky a oblasti výzkumu **oddělení biochemie** jsou proteomika a metabolomika v hemostáze a onkohematologii, charakterizace hemokompatibility 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 navrhovat 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 skrínigová metoda pro vyhledávání mutací v DNA.

Jsou rozvíjeny proteomické metodiky, zvláště dvourozměrné chromatografické (PF2D) a konstrukce proteinových biočipů s optickou detekcí (založené na rezonanci povrchových plasmonů). Ty se využívají 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 pathogenese 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: Chromatografie Imatinibu a jeho aktivního metabolitu.

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 itrakonazol, 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. Byla vypracována a je akreditována (ČIA) spektrofotometrická metoda stanovení volného hemoglobinu v plasmě.

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.

Poruchy hemostázy jsou přímou příčinou úmrtí nadpoloviční většiny obyvatel v tzv. rozvinutých zemích. Přitom nemusí být primární příčinou onemocnění, tak jak je tomu

např. u řady onkologických a kardiovaskulárních chorob. Před několika lety bylo zjištěno, že hladina fibrinogenu je nezávislým kardiovaskulárním rizikovým faktorem. Zjistili jsme, že molekuly fibrinogenu, v závislosti na hladině fibrinogenu, se na povrchu uspořádávají preferenčně dvěma zásadně odlišnými způsoby. Z povrchově vázaných molekul fibrinogenu se na rozdíl od fibrinogenu v roztoku uvolňují mnohem rychleji fibrinopeptidy B než fibrinopeptidy A.

Přitom důležitá část tvorby hemostatické zátky, přeměny fibrinogenu na fibrin probíhá na povrchu, ať již cévy či implantovaném umělém povrchu. Na rostoucí fibrin se silně váže fibrinogen. Z takto navázaného fibrinogenu se jak v počáteční tak i v závěrečné fázi růstu fibrinu také uvolňují rychleji fibrinopeptidy B. Fibrinopeptid B vykazuje řadu cytokinových aktivit, po jeho uvolnění se na povrchu fibrinu postupně odhalují struktury vhodné pro adhezi a růst některých hematopoetických a vaskulárních buněčných populací. Tyto poznatky otevírají cestu pro efektivnější používání stávajících léků, pro vývoj nových antitrombotických látek a pro cílenější a efektivnější terapeutické postupy, např. při restenózách.

V roce 2010 jsme pokračovali ve studiu vrozených dysfibrinogenemií a hypofibrinogenemií. Za tento rok jsme vyšetřili vzorky 26 pacientů se suspektní dysfibrinogenemií či hypofibrinogenemií. U dvanácti pacientů byla nalezena mutace způsobující dysfibrinogenemii. U čtyř nepříbuzných pacientů byla odhalena záměna v Aalfa řetězci fibrinogenu Arg16His. Jedná se o jednu z nejčastějších mutací ve fibrinogenu. Celosvětově bylo popsáno 42 případů včetně námi již dříve publikovaného – Praha II. Tato záměna ovlivňuje kinetiku trombinem katalyzovaného hydrolytického odštěpování fibrinopeptidu A (N-koncová část Aalfa řetězce), které hraje důležitou úlohu v prvotních fázích polymerace fibrinu. Pacienti s touto mutací mívají nejčastěji krvácivé klinické projevy choroby, neboť změna kinetiky odštěpování fibrinopeptidů má negativní vliv na proces tvorby fibrinové sítě. Dva případy mutace Aalfa Arg16His a Aalfa Arg16Cys, které byly diagnostikovány u dětí, byly letos popsány v Blood Coagul. Fibrinol.

U jedné pacientky byla nalezena mutace Aalfa Gly13Glu. Pacientka s touto mutací prodělala dva spontánní aborty komplikované rozsáhlým hematomelem ve stěně dělohy. Jde o druhý popsaný výskyt této mutace v ČR a třetí na světě. Tento případ – fibrinogen Olovnice – byl popsán v časopise Tromb. Res. U jedné pacientky byla odhalena záměna Aalfa Gly17Val. Tato mutace je v místě odštěpování fibrinopeptidu A a podobně jako u záměny Aalfa Arg16His ovlivňuje kinetiku odštěpování fibrinopeptidů. U dvou nepříbuzných pacientek byla nalezena mutace Aalfa Phe98Tyr. Záměna je situovaná v alfa-helikální coiled-coil oblasti fibrinogenu spojujícího centrální E-region fibrinogenu s distálními D-regiony molekuly. Coiled-coil oblast hraje důležitou roli v morfologii fibrinové sítě a také výrazně ovlivňuje její viskoelastické vlastnosti a odolnost k fibrinolýze. Jedna z pacientek s touto mutací prodělala několik trombóz a zdá se, že mutace v této části molekuly fibrinogenu mohou stát za některými idiopatickými trombózami. U druhé pacientky nejsou zatím klinické projevy choroby známy. U jedné pacientky byla nalezena mutace Aalfa Phe98Ile. Mutace je ve stejném místě jako předchozí, avšak hematologická epikríza není zatím známa. U dvou členů jedné rodiny byla odhalena mutace Aa Ser314Cys. Tato mutace se nachází opět v coiled-coil oblasti fibrinogenu a u obou nositelů mutace byl zjištěn výrazně prodloužený trombinový čas a nízká hladina funkčního fibrinogenu.

V J. Thromb. Thrombolysis byly v Bbeta řetězci fibrinogenu letos popsány dvě nové mutace – Asn351Lys (fibrinogen Rokycany) a Arg237Ser (fibrinogen Znojmo). První se projevuje jako hypofibrinogenemie, druhá jako dysfibrinogenemie. Pacient s fibrinogenem Znojmo

prodělal hlubokou žilní trombózu a plicní embolií.

V gama řetězci fibrinogenu byla u jedné rodiny nalezena mutace Thr21Ile způsobující hypofibrinogenemii.

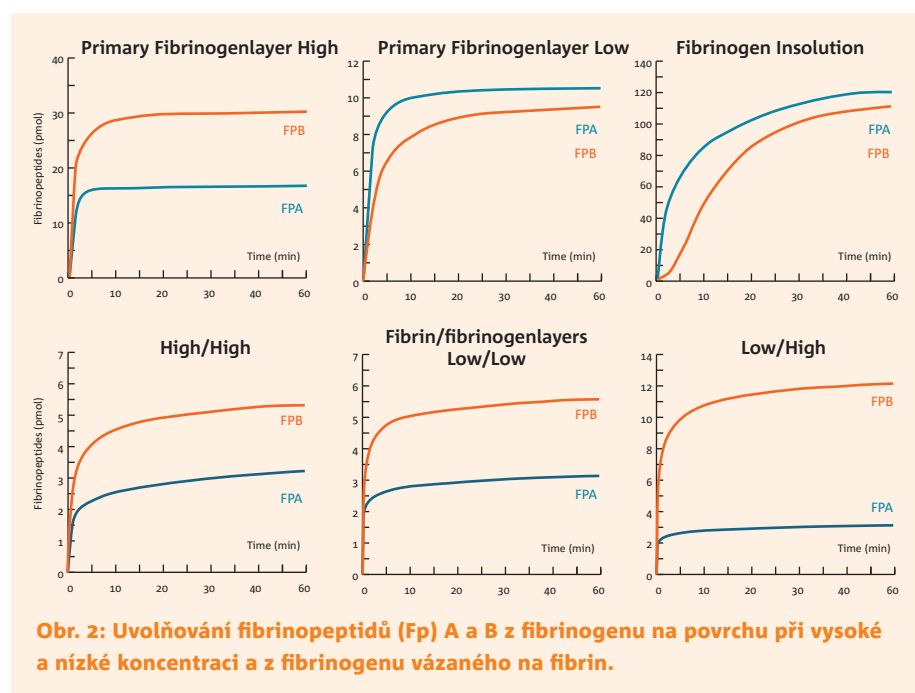
Jsou také sledovány dva případy získané dysfibrinogenemie – jeden u pacienta s akutní lymfoblastickou leukémií užívajícího asparaginasu, která ovlivňuje syntézu fibrinogenu v játrech; druhý u čtyřleté pacientky s ezozinofilní kolitidou.

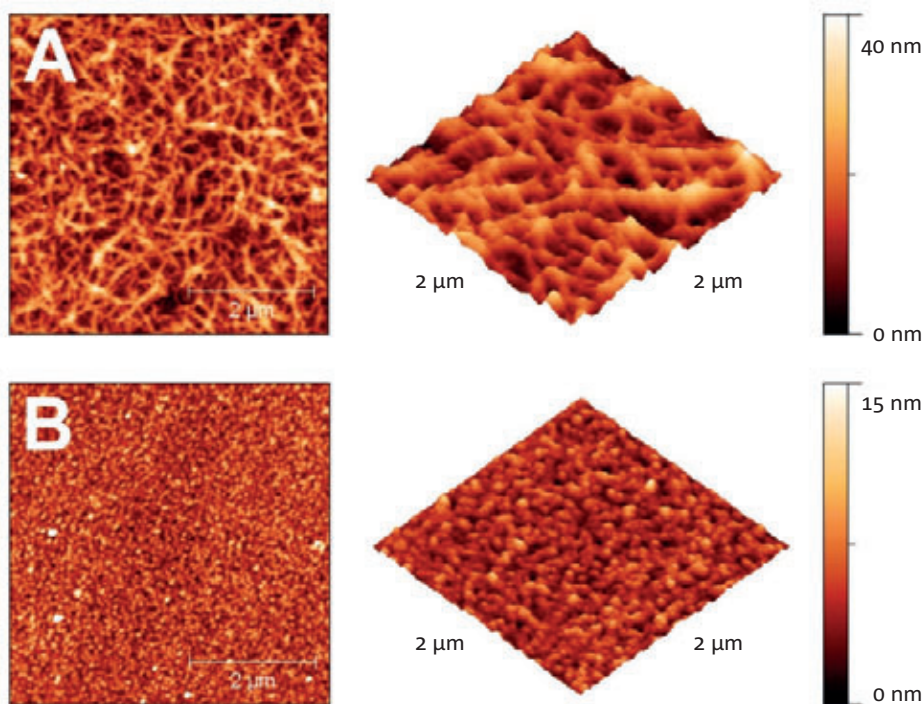
Byly hodnoceny funkční vlastnosti fibrinogenu a vliv na jeho chování působením modifikačních činidel simulujících různý stupeň posttranslační modifikace působením oxidačního stresu. Modifikačními činidly byly: malondialdehyd (MDA), chlornan sodný (NaOCl) a 3-morpholinosydnonimin (SIN-1). K pozorování vzniklých změn ve struktuře molekuly byla použita elektroforéza v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsulfátu sodného (SDS PAGE) s následnou imunodetekcí karbonylových skupin a nitrotyrosylových skupin a spektrofotometrická evaluace vzniklých karbonylů po derivatizaci dinitrofenylhydrazinem (DNPH). Vznik tyrosylových radikálů byl pozorován jak SDS-PAGE s imunochemickou detekcí, tak fluorescenčně. Dále byl zjišťován vliv těchto změn na funkční vlastnosti. Ke sledování změn v interakci modifikovaného fibrinogenu s krevními destičkami byla použita statická adheze krevních destiček na povrchově sorbovaný fibrinogen a dynamická adheze krevních destiček v přítomnosti modifikovaného nebo kontrolního fibrinogenu. Ve spolupráci s ÚMCH AV ČR byl sledován vzhled sítě vzniklé z modifikovaného fibrinogenu pomocí skenovací elektronové mikroskopie.

V modifikovaném fibrinogenu byl zjištěn nárůst karbonylových skupin s dobou působení modifikačních činidel. Nejvyšší zastoupení karbonylových skupin bylo detekováno ve fibrinogenu ošetřeném MDA. Tyrosylové radikály byly detekovány ve fibrinogenu modifikovaném SIN-1 a NaOCl (jak imunochemicky, tak i fluorescenčně). Strukturální změny vyvolané působením modifikačních činidel ovlivnily i funkční vlastnosti fibrinogenu. Během statické i dynamické adheze vykazoval modifikovaný fibrinogen odlišnou schopnost interagovat s krevními destičkami než kontrolní fibrinogen. Zatímco na fibrinogen modifikovaný MDA se vázalo signifikantně méně destiček než na kontrolní fibrinogen, na fibrinogen modifikovaný NaOCl se vázalo signifikantně více krevních destiček. Vliv modifikace SIN-1 na interakci s krevními destičkami byl neprůkazný. Všechny sítě z modifikovaných fibrinogenů měly signifikantně tenčí vlákna při porovnání s kontrolními sítěmi. Sítě vzniklé z fibrinogenů modifikovaných SIN-1 a MDA byly signifikantně hustší než kontrolní, na rozdíl od sítě z fibrinogenu modifikovaného NaOCl.

Získaná data ukazují, že působením oxidačního stresu – podle stupně jeho intenzity se mění chování fibrinogenu – od antitrombotického po výrazně protrombotický. Výsledky byly shrnuty do publikace a zaslány do tisku.

V letošním roce byla dokončena základní proteomická studie aktivace krevních destiček která započala v loňském roce a vedla k nalezení 5 doposud neidentifikovaných proteinů. Získané poznatky tvoří základ pro další práci zaměřenou především na posttranslační modifikace proteinů a probíhající procesy při aktivaci destiček. Základní studie





Obr. 3: Tvorba komplexů fibrin-fibrinogen na povrchu. Mikroskopie atomárních sil.

byla publikována v zahraničním impaktovaném časopisu *Proteome Science*. Pomocí biotin-switch techniky byly izolovány S-nitroso bílkoviny krevních destiček klidových a aktivovaných různými agonisty. Avidin-biotinový systém byl rovněž využit k záchytu karbonylovaných bílkovin krevních destiček. Byla vypracována nová metoda pro stanovení dusitanů a dusičnanů v krevní plasmě pomocí kapilární elektroforézy. Rovněž byla navržena metoda pro stanovení malondialdehydu pomocí kapilární elektroforézy.

Během roku 2010 byla dokončena proteomická analýza souboru kardiovaskulárních onemocnění, a to předběžná studie (v současnosti se dokončuje manuskript) a hlavní studie (manuskript také těsně před dokončením). V souvislosti s tímto souborem jsme také v průběhu roku začali připravovat soubor vzorků krevních destiček pacientů s kardiovaskulárními onemocněními (izolace destiček přímo ve FN Motol) – rozšiřování souboru bude pokračovat i po novém roce.

V roce 2010 pokračovalo vyhledávání bílkovin, jejichž koncentrace vzrůstá v plasmě pacientů v průběhu onemocnění myelodysplastickým syndromem (MDS) a dále bílkovin, které s uvedenými markery interagují. V roce 2009 byly nalezeny 4 páry (Vascular cell adhesion protein 1_VCAM1, Vascular endothelial growth receptor 1_VEGF-R1, Nucleoside diphosphate kinase A_NM23-H1, Tumour necrosis factor ligand superfamily member 9_CD137L, Integrin alpha-4_VLA-4, Vascular endothelial growth factor A_VEGF, ADP-rybosylation factor 6_ARF6, Tumour necrosis factor receptor superfamily member 9_CD137), které byly nyní v úzké spolupráci s Ústavem fotoniky

a elektroniky Akademie věd podrobeny testování na *Surface plasmon resonance* (SPR) čípech. Byly hledány optimální podmínky pro imobilizaci vybraného protějšku a následnou interakci markeru. Doposud se podařilo nalézt vhodné podmínky pro detekci VEGF-R1 pomocí svého protějšku VEGF imobilizovaného na povrch čipu. Užitím SPR spektrometrie jsme detekovali VEGF-R1 pomocí svého protějšku VEGF imobilizovaného na povrch sensoru. Odezvy sensoru v PBS pufru odpovídaly jednotlivým koncentracím markeru, a to umožnilo vytvoření kalibrační křivky s minimálním limitem detekce 10ng/ml. Zatímco pro SPR spektrometrii byl VEGF imobilizován za průtoku na aktivované – COOH skupiny thiolů (HSC11(EG)OH/HSC11(EG)3OCH2COOH), pro SPR zobrazování je požadována bílkovina imobilizována pomocí *Microspotteru Omni-Grid*. Systém tudíž umožňuje detekci několika interakcí na jednom čipu. Interakce VEGF/VEGF-R1 byla testována pomocí SPR zobrazování. VEGF-R1 jsme detekovali v rozsahu 5–100ng/ml. Po optimalizaci podmínek byl VEGF-R1 detekován v ředěné plasmě na SPR zobrazování v rozsahu 10–100ng/ml. Získali jsme kalibrační závislost s limitem detekce 10ng/ml v 50× ředěné lidské krevní plasmě.

Ve snaze zvýšit koncentraci krevní plasmy a snížit nespecifickou odpověď sensoru, bylo prováděno několik metod přípravy vzorku. Bylo zjištěno, že deplece krevní plasmy na depleční koloně Mars Hu14 výrazně snižuje nespecifickou odpověď sensoru a umožňuje tak detekci v 10× ředěné krevní plasmě a to v koncentračním rozmezí proteinu VEGF-R1 5–100ng/ml. Během roku 2010 byly nalezeny 4 nové markery MDS (IGFBP-2 – Insulin Like Growth Factor Binding Protein-2

(325 AA), HBA1 – Hemoglobin subunit alpha (142 AA), NM23-H1 – nucleoside diphosphate kinase A (152 AA), CD26 – Dipeptidyl peptidase 4 (766 AA) a 4 proteiny (IGF2 – Insulin-like growth factor II (180 AA), HBB1 – Hemoglobin subunit beta (147 AA), SET – Phosphatase 2A inhibitor (290 AA), ADA – Adenosine deaminase (363 AA), které s jmenovanými markery interagují *in vivo*. Proteinové páry jsou již zakoupeny a v roce 2011 budou testovány na SPR čípech.

Významnou komplikací MDS pacientů, kteří podstupují v rámci léčby časté transfuze, je vznikající vysoká koncentrace nevázaného železa v krvi. Byly sledovány produkty oxidační nerovnováhy, ke které v tomto důsledku dochází. Pomocí HPLC s UV detekcí byly stanoveny hladiny malondialdehydu u 86 vzorků MDS pacientů, dále pak hladiny dusitanů a thiolů (homocystein, glutathion, L-glycin, cysteinoglycin) na HPLC fluorescenční detekci a hladiny dusičnanů užitím kapilární elektroforézy. Vliv oxidačního stresu na bílkoviny krevních destiček u pacientů s MDS byl analyzován metodou *Biotin switch technique*, která umožňuje izolaci S-nitrosylovaných bílkovin s jejich následnou MS identifikací. Zjistili jsme, že u destiček MDS pacientů je značná S-nitrosylace cytoplasmatického aktinu na rozdíl od destiček zdravých dárců, kde jsme tuto modifikaci neidentifikovali.

Byl dokončen soubor pacientů MDS pro proteomickou analýzu s dostatečným množstvím vzorků – sběr vzorků MDS pacientů v počtu 86 a 40 normálů, zároveň byl vytvořen soubor vzorků zdravých dárců jako kontrolní skupiny. Veškeré vzorky byly zpracovány pomocí 2D SDS-PAGE, do konce roku bude provedena předběžná kontrola a případná opakování. MDS vzorky byly rozděleny do 3 charakteristických skupin na základě diagnóz a v současné době probíhá jejich zpracování a vyhodnocování. V průběhu ledna 2011 očekáváme dokončení statistického vyhodnocení a identifikace proteinů. ■

ODDĚLENÍ BUNĚČNÉ BIOCHEMIE

POČET ZAMĚSTNANCŮ: 17

VŠ: 10

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 2010

- Proteomová analýza vlivu léčiva SAHA (suberoylanilid hydroxamové kyseliny) na lidské hematopoietické buňky (projekt s podporou GA ČR)
- Analýza interakcí mezi apoptotickými a jadérovými proteiny (projekt s podporou IGA MZ)
- Zavedení metody kvasinkového dvouhybridního systému pro sledování protein-proteinových interakcí
- Ustavení a charakterizace buněčných linií od nemocných s akutní myeloidní leukémií a mnohočetným myelomem
- Studium buněčné senescence
- Analýza proteinů erytrocytárních membrán (ve spolupráci s laboratoří diagnostiky anémii)

Získané výsledky v roce 2010

Proteomová analýza vlivu SAHA na leukemickou linii JURL-MK1

Suberoylanilid hydroxamové kyseliny (SAHA) patří do skupiny inhibitorů histonových

deacetylás (HDAC). Mezi proteiny, které jsou těmito enzymy regulovány, jsou v první řadě histony, ale i řada nehistonových proteinů, jako je např. p53, p21 nebo HSP90. Histony se vyskytují v buněčném jádře, kde přímo interagují s DNA a zajišťují organizaci chromatinu do pravidelných jednotek (nukleosomů). Acetylace N-konců histonů H2, H3 a H4 je součástí tzv. epigenetického kódu, který rozhoduje o frekvenci přepisu genů umístěných v dané oblasti. Naše předchozí analýzy ukázaly, že vliv SAHA na řadu leukemických buněčných linií je silně závislý na použité koncentraci. Zatímco v přítomnosti 0,5 μ M SAHA buňky normálně proliferují, čtyřnásobná koncentrace je již pro naprostou většinu buněk toxická. Při použití subtoxické koncentrace jsme ovšem zaznamenali zvýšení adhezivitu buněk k fibronektinu, jednoho z proteinů extracelulární matrice kostní dřeni. S cílem najít proteiny zodpovědné za tuto změnu jsme v tomto roce analyzovali proteom kontrolních a ošetřených buněk pomocí dvourozměrné gelové elektroforózy a dvourozměrné kapalinové chromatografie (PF2D). Mezi proteiny, jejichž vlastnosti se vlivem subtoxické koncentrace SAHA měnily, byly histony H2A, H2B a H4 a některé proteiny účastníci se regulace cytoskeletu. Změny v acetylaci histonů jsme podrobně zkoumali pomocí specifických protilátek. Byl zoptimalizován postup izolace histonů a pomocí western-

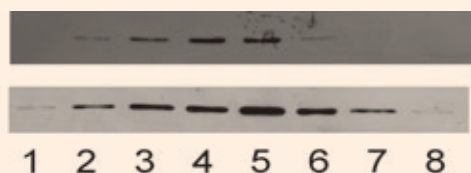
blotingu jsme sledovali acetylační místo K5 na histonu H2A, acetylační místa K12 a K15 na histonu H2B a acetylační místa K5, K8, K12 a K14 na histonu H4. Na všech sledovaných místech se podle očekávání acetylace zvýšila již během prvních hodin po ošetření, nárůst byl ovšem většinou pouze přechodný (maximum kolem 5h po ošetření) a poté hladina acetylace postupně klesala (obr. 1).

Poměrně překvapivě jsme však nenalezli žádné konzistentní rozdíly mezi účinkem subtoxické a toxické koncentrace SAHA na acetylaci histonů.

Jedním z nejdůležitějších regulátorů struktury aktinového cytoskeletu je kofilin, který narušuje a rozkládá aktinová vlákna a hraje důležitou úlohu např. v buněčné migraci, kde se aktinové struktury velmi dynamicky mění. Naopak během pevné adheze k extracelulární matici je potřeba aktinové struktury stabilizovat a kofilin je inaktivován fosforylací na Ser3. Ošetření buněk JURL-MK1 subtoxickou dávkou SAHA nemění celkovou hladinu kofilinu, ale zvyšuje úroveň jeho fosforylace na Ser3. U toxické dávky SAHA jsme očekávali, že vzhledem k probíhajícímu rozpadu aktinových vláken (výrazné snížení obsahu F-aktinu v ošetřených buňkách jsme detekovali pomocí fluorescenčně značeného falloidinu) bude kofilin aktivní. Ošetření JURL-MK1

SAHA 0,5 μ M

SAHA 2 μ M

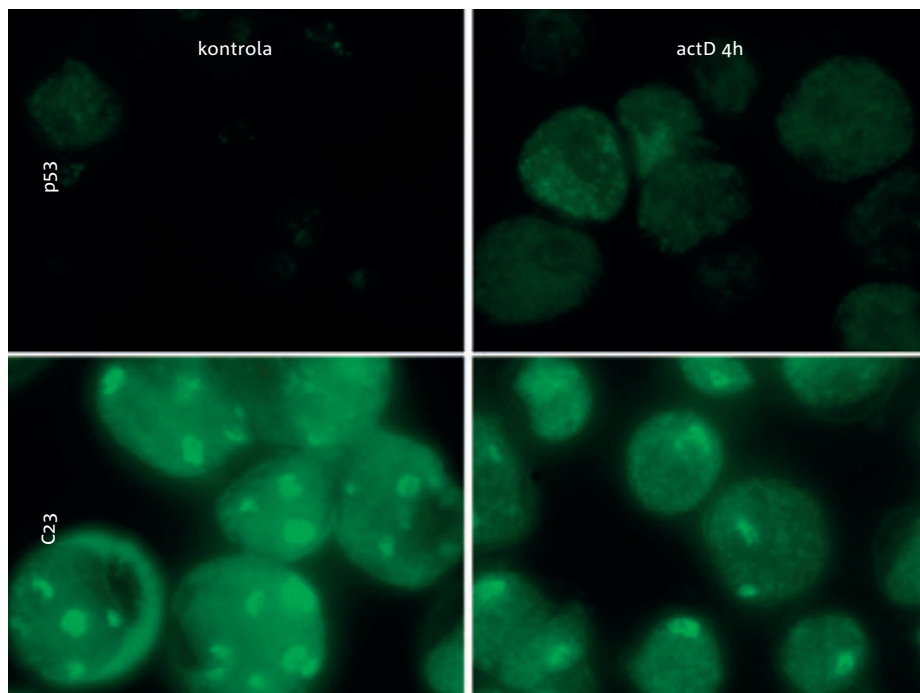


Obr. 1: Časový průběh acetylace histonu H2B na lysinu 15 po ošetření JURL-MK1 buněk subtoxickou (0,5 μ M, horní řada) a toxickou (2 μ M, spodní řada) koncentrací SAHA. Jamka 1 obsahuje kontrolní vzorek, jamky 2–8 vzorky odebrané po 30 min, 90 min, 4 h, 8 h, 26 h, 32 h a 50 h inkubace se SAHA.

buněk toxickou dávkou SAHA však překvapivě vedlo naopak k ještě výraznějšímu nárůstu fosforylace kofilinu na Ser3 a tento nárůst bylo možno inhibovat současným přidáním inhibitoru kaspázy Q-VD-OPh. Naše výsledky naznačují, že fosforylace kofilinu je součástí apoptotických procesů.

Vimentin je součástí intermediálních vláken, která spolu s aktinovými a tubulinovými strukturami tvoří buněčný cytoskelet. Tento protein hraje důležitou úlohu v rozmístění buněčných organel v cytoplasmě. Analýza provedená pomocí PF2D naznačila, že jeho expresní hladina po ošetření buněk SAHA se výrazně zvyšuje a tento poznatek jsme potvrdili pomocí specifické protilátky a western-blottingu. Hladina vimentinu se zvyšuje již při použití SAHA v subtoxické koncentraci.

Hlavním mechanismem toxických účinků SAHA v JURL-MK1 i HL-60 buňkách je programovaná buněčná smrt závislá na kaspázách – apoptóza. V těchto buňkách jsme různými metodami sledovali aktivaci kaspázy-3, štěpení proteinu PARP, fragmentaci DNA, expresi apoptotického mitochondriálního antigenu 7A6 a rozpad aktinových vláken. Zjistili jsme, že většinu těchto procesů je možno inhibovat látkou Q-VD-OPh. Analýza koncentrační závislosti inhibice těchto procesů ovšem ukázala, že aktivita kaspázy-3 překvapivě nehraje zásadní roli v průběhu ostatních uvedených procesů. Pomocí inhibitoru Q-VD-OPh se nám rovněž podařilo potvrdit hypotézu, že koncentrační závislost účinku SAHA na adhezivitu buněk JURL-MK1 k fibronektinu je výsledkem protichůdného působení dvou procesů: zvýšení exprese některých proteinů činných v regulaci adhezních drah a spuštění apoptózy, jejíž součástí je naopak oslabení kontaktů buňky s vnějším prostředím. Subtoxická koncentrace SAHA tak vyvolává zvýšení adhezivity, zatímco toxická spíše snížení. Pokud jsou ovšem apoptotické projevy zablokovány, je pozorována zvýšená adhezivita i v přítomnosti toxické koncentrace SAHA (viz graf).



Obr. 3: Imunofluorescence buněk CML-T1 (AlexaFluor488) – kontrolní buňky (vlevo) a buňky ošetřené 10nM aktinomycinem D (vpravo). Horní řada: anti-p53, dolní řada: anti-C23.

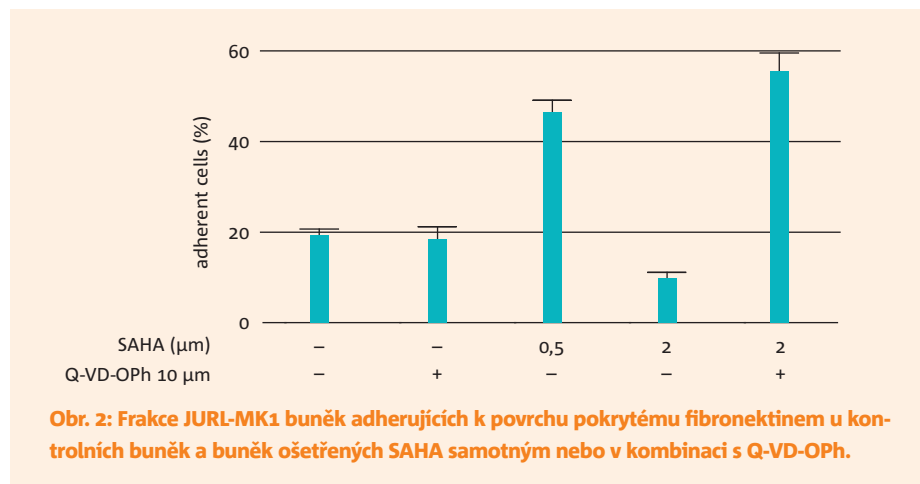
Analýza interakcí mezi apoptotickými a jadérovými proteiny

Zhoubné bujení nádorových buněk je umožněno poškozením přirozeného procesu programované buněčné smrti – apoptózy. Tohoto procesu se účastní celá řada konkrétních proteinů a nalezení mechanismu, jakým apoptózu ovlivňují protinádorová činidla, přispívá ke zlepšení léčby nádorových onemocnění. Bylo zjištěno, že účinkem aktinomycinu D dochází rovněž k významným změnám v expresi a distribuci jadérových proteinů. Analýza vzájemných proteinových interakcí je proto nyní soustředěna na vyhledávání interakcí mezi jadérovými proteiny a proteiny účastnými v apoptóze. Metodou koimunoprecipitace byla zjištěna přítomnost interakce mezi nukleolárním proteinem B23, jehož podstatnou funkcí je regulace syntézy ribosomů, a tumor supresorem p53, jedním z hlavních efektorů apoptotického zániku hematopoetických buněk. Indukce apoptózy

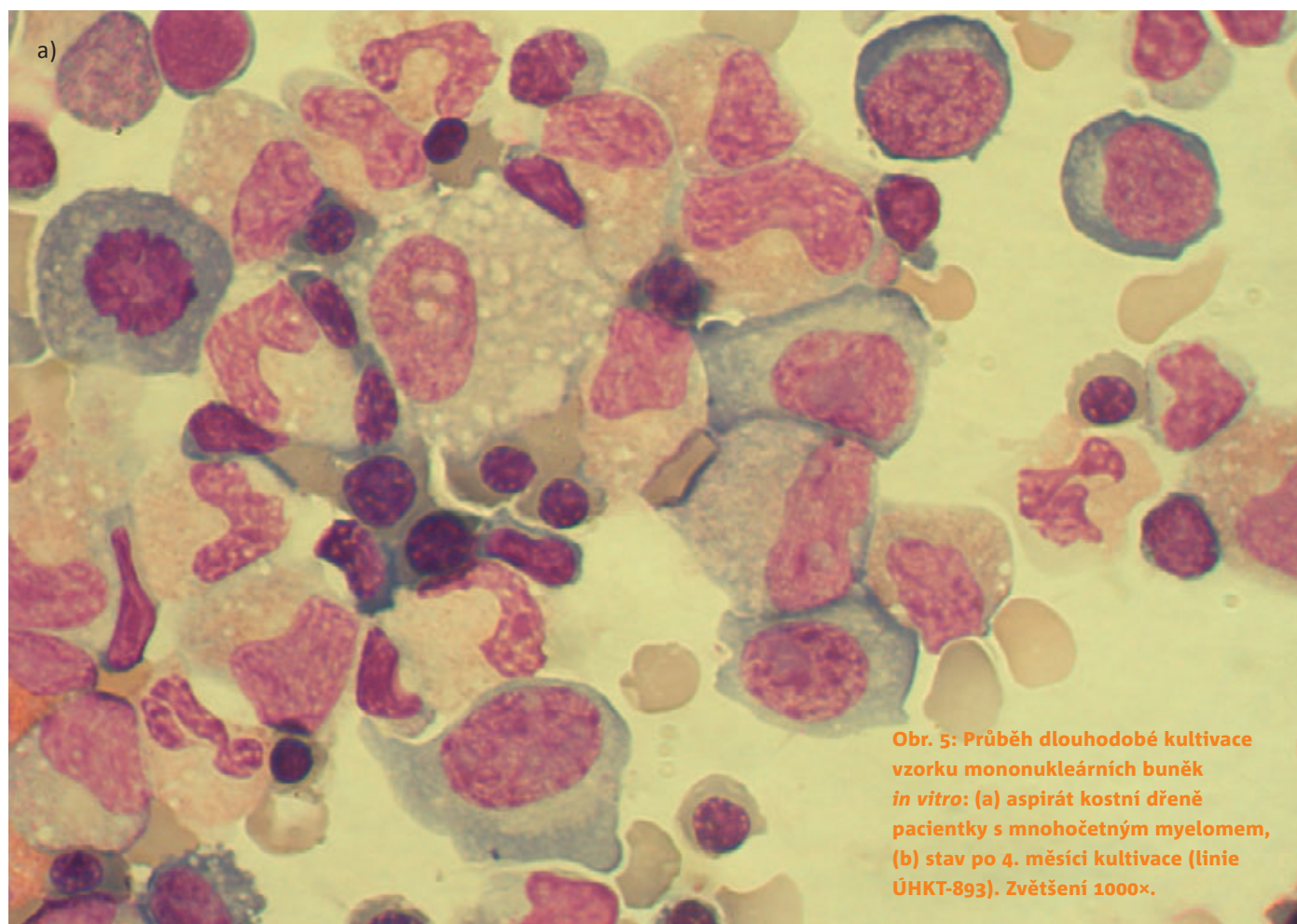
aktinomycinem D, cytostatikem způsobujícím inhibici syntézy DNA, má za následek zvýšení hladiny proteinu p53. Po aplikaci aktinomycinu D na buňky leukemické linie CML-T1 byl nalezen komplex C23-p53 a zároveň byla imunofluorescencí pozorována redistribuce proteinu C23 z nukleolu do nukleoplazmy (obr. 3). Funkce tohoto komplexu bude dále zkoumána.

Zavedení metody kvasinkového dvouhybridního systému

Kvasinkový dvouhybridní systém je moderním nástrojem pro detekci protein-proteinových interakcí, jeho zavedení je ovšem experimentálně velmi náročné. Kombinací laboratorních postupů pro izolaci genu z buněčné kultury, amplifikaci genu Pfu polymerázou, vnesení genu do plasmidu, jeho transformace do bakteriálních buněk a selekce kolonií obsahujících vnesený plasmid byl získán soubor bakteriálních kolonií nesoucích plasmid s fragmenty genu o různých délkách (obr. 4a).



Sérií miniprepů byl selektován plasmid nesoucí kompletní gen. Jeho amplifikací, přečištěním plasmidové DNA z bakteriální kultury a rekombinací s vektorem pro kvasinkovou kulturu byl sledovaný gen přenesen do kvasinek transformován plasmid s genem potenciálního interakčního partnera a pomocí selekčních pūd byly vybrány kolonie obsahující oba proteiny kódované vnesenými plasmidy (obr. 4b). Interakce těchto proteinů je v současné době prověřována ve specializovaném kvasinkovém systému na selekčních půdách umožňující růst pouze těm koloniím, v nichž dochází k interakci ➔



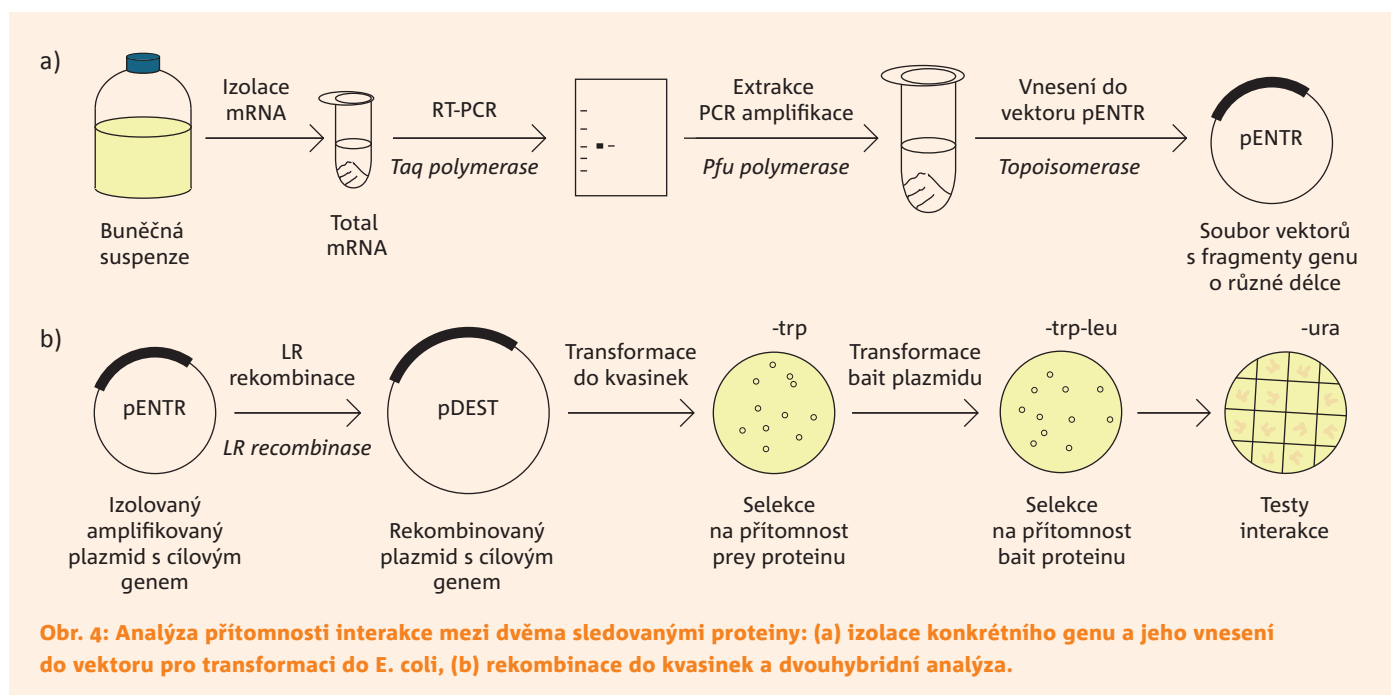
mezi sledovanými proteiny. Přítomnost kompletní sekvence genu je v průběhu přenosu několikrát kontrolována pomocí analýzy restrikčními enzymy a sekvenací kratších úseků kódující DNA. Optimalizací těchto postupů bylo dosaženo vysoké spolehlivosti při přenosu genu z původního buněčného lysátu až do cílové kvasinkové kultury. Nyní je možné tuto metodu aplikovat na buněčné

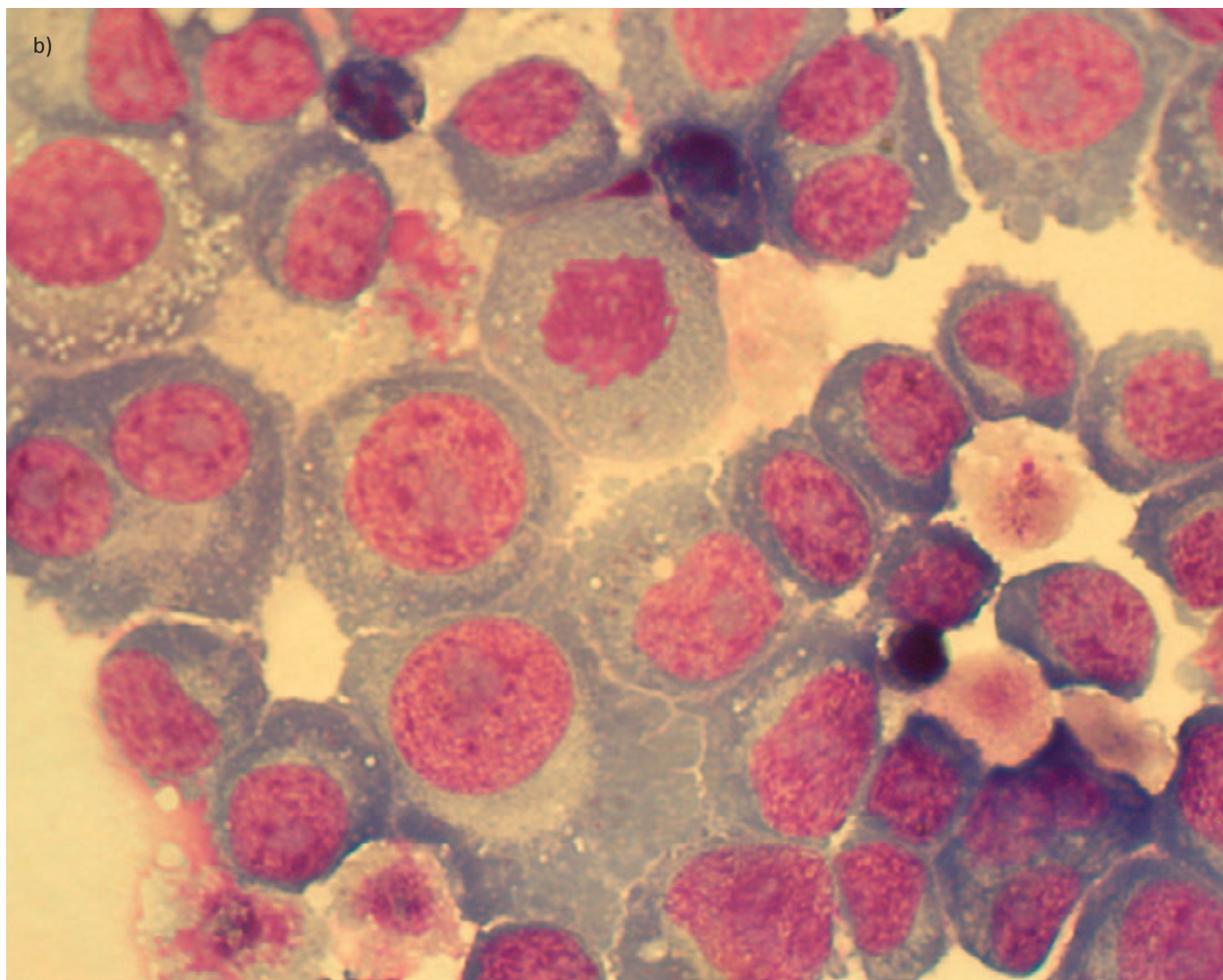
kultury kultivované v přítomnosti cytotoxických nebo cytostatických látek nebo na lymfocyty zdravých dárců.

Ustavení a charakterizace buněčných linií od nemocných s AML a MM

V imunologické laboratoři bylo za účelem ustavení lidských modelových buněčných linií

vhodných ke studiu hematopoietických malignit kultivováno v roce 2010 celkem 131 vzorků kostní dřeně (KD) pacientů s mnohočetným myelomem nebo plasmocelulární leukémií a 11 vzorků nemocných s akutní myeloidní leukémií (AML). Do současné doby (2000–2010) bylo založeno celkem 1004 kultur pacientů s hematologickými malignitami léčenými v ÚHKT nebo na 1. interní klinice Všeobecné





fakultní nemocnice UK (případy MM). Po separaci mononukleárních buněk byly dlouhodobě kultivovány převážně leukemické kmenové a progenitorové buňky nemocných.

Z celkového počtu 131 kultivovaných vzorků kostní dřeně 17 kultur (13 %) přerostlo lymfoblastoidními liniemi, ve kterých byla polymerázovou řetězovou reakcí (PCR), provedenou ve Státním zdravotním ústavu v Praze, prokázána přítomnost DNA viru Epstein-Barrové (EBV).

V roce 2010 se podařilo ustavit 2 permanentní buněčné linie s charakterem plasmatických buněk od pacientky s myelomem (UHKT-893, obr. 5) a z buněk pacienta s plasmocelulární leukemií (UHKT-944). Tyto linie jsou závislé na přítomnosti interleukinu-6 (IL-6) v kultivačním médiu a probíhá jejich detailní charakterizace. Během kultivace těchto linií jsou monitorovány růstové charakteristiky a stupeň jejich závislosti na IL-6. Zároveň se provádí jejich imunofenotypová charakterizace na základě exprese povrchových CD znaků a přítomnosti jednotlivých imunoglobulinů pomocí imunofluorescence a průtokové cytometrie. U obou ustavených linií byla

prokázána absence EBV v NRL pro virové hepatitidy (SZÚ Praha) a absence mykoplasmy pomocí DNA fluorescence. Byly také vytvořeny proteomové mapy obou linií pomocí 2D-elektroforézy a provádí se jejich komparativní charakterizace. U jedné z ustavených linií se následnou analýzou vybraných spotů MALDI-TOF technikou podařilo prokázat obsah monoklonálního IgG kapa v buněčném proteomu. Zároveň probíhají pokusy o navození apoptózy a senescence těchto buněk pomocí vybraných epigenetických induktorů a modulátorů genové exprese.

Studium buněčné senescence

Indukce buněčné senescence by mohlo být potenciálně využito jako tumor supresorového mechanismu i u hematopoetických buněk v případech, kdy dojde k poškození DNA a signálních drah vedoucích k apoptóze např. u myelomu, u myeloidní leukemie a u myelodysplastického syndromu. K navození apoptózy a senescence myeloidních a myelomových buněčných linií bylo použito látek, které modulují expresi proliferačních a diferenciacních genů leukemických buněk – kyseliny valproové a SAHA. Buněčnou

senescenci se podařilo navodit pouze u linií HL-60 a MOLM-7. Senescentní buňky se objevují u těchto linií až po 5 dnech inkubace a při použití subtoxických koncentrací těchto látek. Počet takto navozených senescentních buněk však nepřesahuje 3 %.

Naproti tomu průkazem senescentní β -galaktosidasy u nově založených linií se zjistilo, že buněčná populace plasmocelulární linie UHKT-944 opakovaně obsahuje až 11 % buněk v senescentním stavu a to bez použití jakýchkoliv induktorů a modulátorů. Naopak působením induktorů buněčné senescence se procento senescentních buněk výrazně nezvyšovalo. Zároveň byl studován vliv interleukinu-6 jako hlavního růstového faktoru myelomu na indukcii senescence. ■

ODDĚLENÍ MOLEKULÁRNÍ GENETIKY

POČET PRACOVNÍKŮ:	40
LÉKAŘI:	2
VŠ ODBORNÍ PRACOVNÍCI:	25
LABORANTI:	13



Vedoucí oddělení:
RNDr. Marie Dobrovolná



Zástupce vedoucího:
RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.

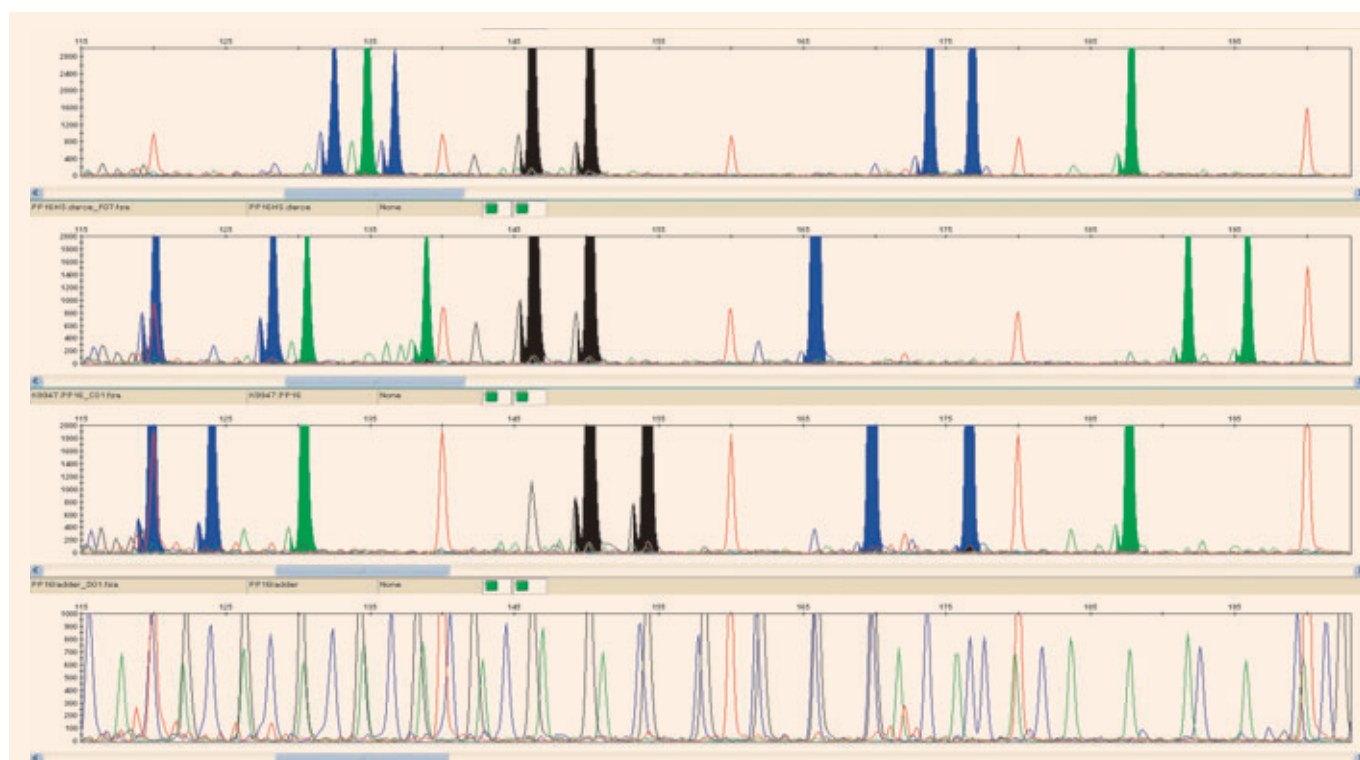
Skupina Mgr. Hany Žižkové, Ph.D. zabývající se vyšetřením buněčného chimerizmu po alogenní HSCT (SOP01, NRL pro DNA diagnostiku) zpracovala v roce 2010 celkem 2894 primárních vzorků. Po stanovení informativních polymorfizmů, rozlišujících pacienta a jeho dárce, sleduje jejich analýzou v potransplantačním období dynamiku štěpu dárce s cílem co nejdříve detekovat případný návrat pacientovy krvetvorby. Probíhala validace nové metody pro zavedení do rutinní praxe, týkající se vyšetření buněčného chimerizmu po alogenní HSCT analýzou jednonukleotidových polymorfizmů a krátkých inzercí a delecí metodou kvantitativní PCR v reálném čase.

V rámci grantových projektů a výzkumného zá-
měru pokračovala skupina ve studiu komponent

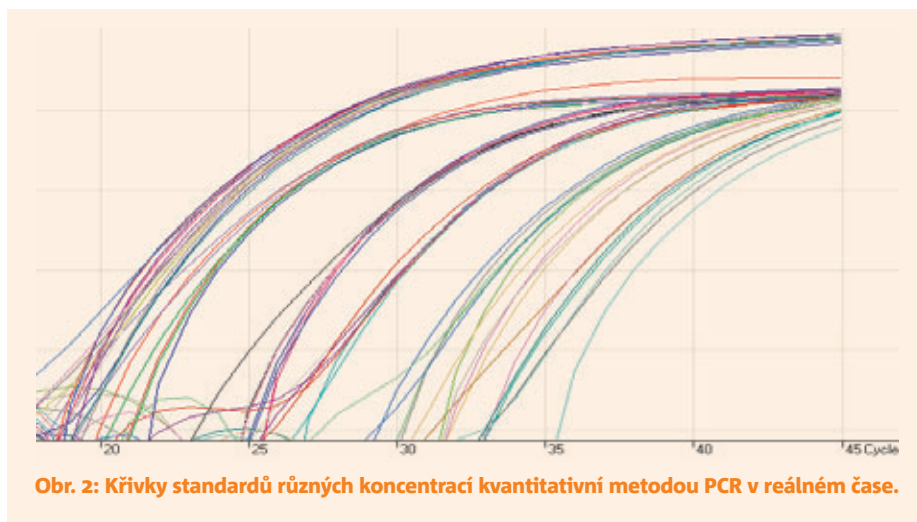
teloméro-telomerázového komplexu pomocí metod TRF (Metoda Terminálního Repetitivního Fragmentu pro délku telomer) a TRAP (pro stanovení aktivity telomerázy), věnovala se i sledování hladiny metylace promotorové oblasti genu *CDKN2B* ($p15^{ink4B}$) pomocí modifikace bisulfidem sodným a sledování výskytu bodových mutací N-ras protoonkogenu. Pro sledování hladiny metylace začala optimalizace nové metody MS-MLPA (*Methylation specific – Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Tato metoda umožňuje pomocí 43 rozdílných sond identifikovat intenzitu metylace v různých oblastech genů *p15*, *p16* a *p14*.

Při porovnání metody s modifikací bisulfidem sodným a MS-MLPA z prvních výsledků vyplývá, že MS-MLPA dává oproti modifikaci

bisulfidem sodným nižší hodnoty metylace, ale pokud máme od pacienta více monitorovacích vzorků, trend je zachován. Celkové výsledky ukazují, že zkrácené teloméry a aberantní metylace genu $p15^{ink4B}$ 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 sekvenční 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 prezentované i na 15. kongresu evropské hematologické asociace (EHA) a XXIV. Olomouckých hematologických dnech.



Obr. 1: Stanovení informativity pacienta před alogenní HSCT a jeho dárce pro vyšetření bb. chimerizmu.



Obr. 2: Křivky standardů různých koncentrací kvantitativní metodou PCR v reálném čase.

Pokračovala činnost pilotního pracoviště pro MPZ: Kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu po alogenní transplantaci krvetvorných buněk, zúčastnilo se 5 laboratoří a účast v MPZ: Stanovení pohlaví.

Laboratorní skupina Mgr. Jaroslava Poláka (NRL pro DNA diagnostiku) se zabývá akreditovaným vyšetřením exprese genu *WT1* – standardní operační protokol SOP02: *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 2010 bylo vyšetřeno 1163 vzorků, došlo tak 19% nárůstu počtu vyšetření oproti roku 2009.

Naše metodika měření exprese genu *WT1* umožnila předpověď relapsu s předstihem – medián 40 dní. Průběh exprese genu *WT1* u pacientů s dobrou a špatnou odpovědí na léčbu dokumentují.

Vedle toho je také důležitým parametrem pokles exprese genu *WT1* po ukončení indukční a konsolidační léčby. Nedostatečný pokles exprese genu *WT1* po ukončení léčby (tj. méně než 2 řády) je spojen s vysokou pravděpodobností relapsu onemocnění.

Nově monitorujeme expresi genu *WT1* rovněž u 22 pacientů s ALL při diagnóze a u 10 z nich v průběhu léčby. Ve spolupráci s MUDr. Veronikou Válkovou byl analyzován prognostický význam míry exprese genu *WT1* před alogenní transplantací kmenových buněk a byla prováděna analýza exprese genu *WT1* po transplantaci. Zvýšená exprese genu *WT1* před alogenní transplantací kmenových buněk je spojena s vysokým rizikem relapsu. Problematika sledování exprese genu *WT1* u transplantovaných pacientů před a po provedení transplantace byla prezentována formou plakátové prezentace na kongresu: *15th Congress of EHA 2010 Barcelona*.

Jelikož u zhruba 10 % pacientů s AML při diagnóze není exprese genu *WT1* dostatečně vysoká a tudíž gen *WT1* není vhodným markerem minimální reziduální nemoci, tak jsme dále pokračovali v analýze exprese vybraných potencionálních markerů MRN. Jedním z nich je i exprese genu *BAALC* jakožto WHO prognostického markeru u pacientů s AML a normální cytogenetickým nálezem. Zjistili jsme vysoce signifikantně zvýšenou expresi tohoto markeru u *core binding factor* (CBF) leukémií a velmi nízkou expresi u pacientů s akutní promyelocytární leukémií a u vybraných leukemických linií. Rovněž dle našich předběžných výsledků je *BAALC* použitelný

jako alternativní marker minimální zbytkové nemoci, jelikož byla nalezena vysoce signifikantní korelace s expresí genu *WT1* u 7 sledovaných pacientů v průběhu léčby ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,59$), viz obr. 4.

Dalším sledovaným prognostickým markerem a markerem minimální reziduální nemoci je exprese genu *PRAME*. AML pacienti při diagnóze a s přítomností fúzního genu *AML1/ETO* vykazují vysoce signifikantní overexpresi tohoto genu ve srovnání s zbývajících AML pacienty ($P < 0,0001$). Gen *PRAME* byl potvrzen jako marker minimální zbytkové nemoci a u 4 pacientů byla nalezena vysoce signifikantní korelace s expresí genu *WT1* ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,55$) v průběhu léčby. Dále chceme analyzovat prognostický význam míry exprese genu *PRAME* při diagnóze u pacientů s AML.

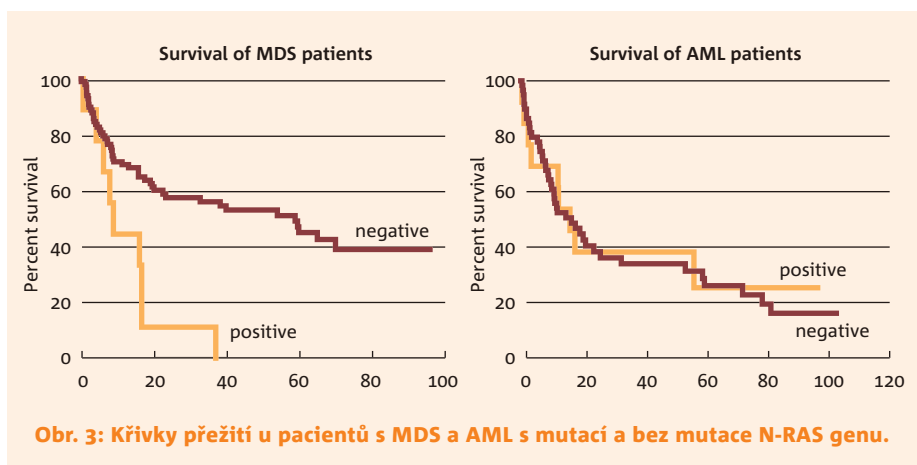
Výhledově bychom rádi doplnili ještě v ÚHKT dosud neanalyzované WHO prognostické markéry: mutovaný *WT1*, SNP genu *WT1* v exonu 7 a expresi genu *AF1Q*.

Naše skupina rovněž spolupracuje na řešení problematiky analýzy exprese jednotlivých sestřihových variant genu *WT1* s skupinou RNDr. Moravcové. Dále naše skupina spolupracuje s pracovní skupinou RNDr. Cedrika Haškovce sdílení vzorků, databáze a porovnání-interpretace výsledků exprese jednotlivých studovaných markerů.

Expres WHO prognostických markerů a vyhodnocení je prováděno ve spolupráci se skupinou ing. Fuchse.

Skupina Ing. Evy Otáhalové se zabývá diagnostickým vyšetřením fúzního genu BCR-ABL metodou multiplex RT-PCR jako diagnostického markeru chronické myeloidní leukémie. V roce 2010 vyšetřila 203 diagnostických vzorků. Pomocí nově akreditovaného zrychleného postupu pro statimová vyšetření bylo vyšetřeno 20 statimových vzorků. Skupina organizovala mezilaboratorní porovnání vzorků Diagnostické vyšetření fúzního genu BCR-ABL – varianta major, kterého se zúčastnilo 10 laboratoří. V roce 2010 začala skupina participovat v mezinárodním projektu ENEST1st (2010–2013), v rámci kterého určuje typ přestavby BCR-ABL.

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



Obr. 3: Křivky přežití u pacientů s MDS a AML s mutací a bez mutace N-RAS genu.

pacientů s diagnózou polycythemia vera (PV), esenciální trombocytemie (ET), primární myelofibróza (PMF) a zdravých dárců byly pomocí 21 denní *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 napříč 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.

Studiem jednonukleotidových polymorfizmů (SNP) napříč genomem granulocytů 20 PV pacientů metodou SNP čipů jsme, kromě předpokládané a dříve popsané 9pLOH, u 2 pacientů navíc identifikovali malou 9pLOH v oblasti CDKN2A (9p21LOH). Pomocí TaqMan® Copy Number Assay jsme detegovali 2 kopie CDKN2A a potvrdili tak zachování diploidního počtu alel. V exonu 2 a 3 jsme nenašli žádné mutace (sekvence exonu 1 je momentálně zpracovávána). Metodou RT-PCR v reálném čase jsme našli zvýšenou expresi CDKN2A v erytroidních progenitorech, granulocytech a destičkách pacientů s touto 9p21LOH v porovnání s PV pacienty bez 9pLOH a zdravými dárči. Výsledky byly prezentovány formou přednášky s názvem *CDKN2A – One of the predisposing factors of polycythemia vera?* na MPN&MPNr – Euronet Second Workshop, Albufeira, Portugalsko, 2010 a dále formou přednášky na Pražském hematologickém dni 2010, kde byla práce s názvem *CDKN2A – Jeden z predispozičních faktorů polycythemia vera?* oceněna Cenou vědeckého výboru.

Skupina RNDr. Jany Moravcové, CSc. v roce 2010 provedla celkem 1273 vyšetření molekulárního monitorování *BCR-ABL*, což představuje 11% navýšení proti roku 2009. Z těchto vyšetření bylo 114 vzorků podrobeno analýze mutací v kinasové doméně genu *BCR-ABL*, což je proti roku 2009 nárůst o 120 %.

Laboratoř je pilotním pracovištěm pro mezilaboratorní porovnávání zkoušek (MPZ) v rámci Národního programu zkoušení způsobilosti pro oblast kvantitativního stanovení hladiny transkriptů *BCR-ABL* (akreditace ČIA, Praha) a zároveň koordinátorem standardizace molekulárního monitorování pacientů s CML pro ČR v rámci mezinárodní standardizace mezi zeměmi EU pod záštitou European LeukemiaNet (projekt *EUTOS for CML – Molecular Monitoring*). Na základě této kvalifikace provedla laboratoř externí kontrolu a porovnání výsledků molekulárního monitorování transkriptů *BCR-ABL* laboratoří v České republice.

V roce 2010 začala skupina participovat v mezinárodním projektu ENEST1st (2010–2013), v rámci kterého kvantifikuje hladinu *BCR-ABL* transkriptu a detekuje mutace v kinasové doméně *BCR-ABL* u 64 pacientů rekrutovaných do klinické studie v rámci ČR, SR a HU. Dále zahájila spolupráci v mezinárodním projektu EUTOS for CML, v rámci kterého se aktivně podílí na standardizaci monitorování kompletní molekulární remise.

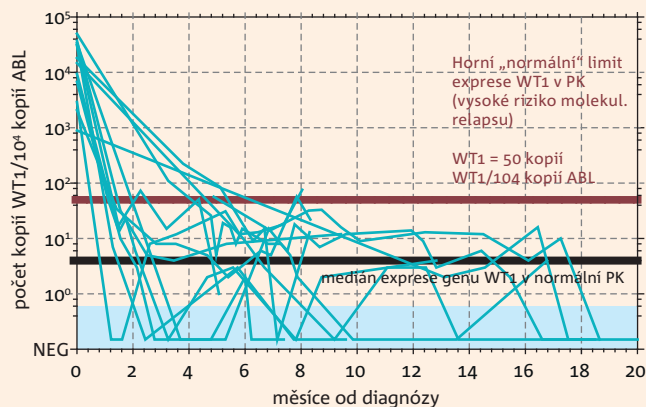
V rámci zkvalitňování vyšetření hladiny transkriptů *BCR-ABL* u pacientů s CML bylo provedeno testování vlivu délky a kvality skladování vzorku periferní krve (PK) na následnou kvalitativní a kvantitativní analýzu. Tato studie simulovala podmínky transportu vzorku periferní krve od pacienta do laboratoře. Bylo vyšetřeno celkem 25 vzorků PK pacientů s CML při skladování po dobu 1–3 dnů při teplotě $22 \pm 2^\circ\text{C}$ a $6 \pm 2^\circ\text{C}$. Bylo zjištěno, že výsledky kvalitativní i kvantitativní analýzy jsou v důsledku skladování ovlivněny. V průběhu skladování dochází až u 30% vzorků skladovaných po více než 1 den ke štěpení transkriptu e14a2 na transkript e13a2 a k jejich současné detekci při kvalitativní dvoustupňové RT-PCR i multiplex RT-PCR analýze. Patrně se jedná o arteficiální alternativní splicing transkriptu e14a2 v *ex vivo* vzorcích. Při kvantitativních analýzách pomocí real-time RT-PCR bylo zjištěno, že po 3 dnech skladování dochází

k poklesu až o 70% původní hodnoty. Ze studie vyplývá doporučení: 1) Zpracovávat vzorky PK co možná nejdříve po odběru nebo je alespoň uchovávat při teplotě pod 10°C a 2) používat při vyšetření standardní protokoly se standardními časy pro jednotlivé kroky.

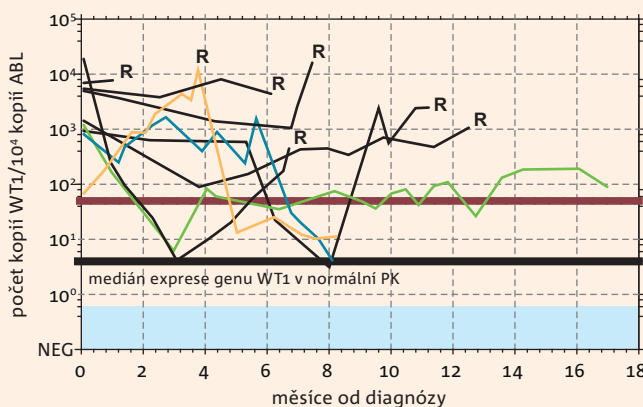
Ve výzkumné oblasti se tato skupina věnovala v rámci projektu GAČR GP301/08/P154 tématu *Studium diverzity exprese miRNA u chronické myeloidní leukémie*, kde byly provedeny rozsáhlé *in silico* analýzy pro predikci a funkční anotaci cílových genů 17 vybraných microRNA s nejvýraznější změnou v expresi v souvislosti s CML onemocněním a jeho průběhem. Genová exprese 2 kandidátních microRNA miR-150 a miR-451 jako potenciálních markerů CML a molekul, jejichž aberantní exprese může přispívat k leukemogenezi CML, byla sledována v mononukleární a polymorfonukleární frakci periferní krve 8 pacientů v době diagnózy onemocnění a ve dvou časových bodech po залечení imatinibem (1–3 měsíce; 5–8 měsíců). Současně byla v obou buněčných frakcích měřena také genová exprese funkčně ověřeného cílového genu microRNA-150 *MYB* a predikovaného cíle microRNA-451 *ABC11*. Výsledky *in silico* analýz spolu s daty, které byly získány v rámci řešení tohoto projektu v letech 2008–2009 byly vyhodnoceny, graficky a statisticky zpracovány a sepsány do původní práce s názvem *Expression patterns of microRNAs associated with CML phases and their disease related targets*, která byla odeslána k posouzení do časopisu *Molecular Cancer*.

V roce 2010 pokračovala v rámci výzkumného záměru studie věnovaná expresním analýzám *sestřihových variant genu WT1*. Byla dokončena optimalizace metody a byla analyzována vybraná skupina CML a AML pacientů pro expresi krátké *AWT1* vs. *WT1* plné délky. Zatím se ukazuje, že *AWT1* je u AML i CML pacientů exprimována jako minoritní varianta vedle *WT1* plné délky, a to v souvislosti s přítomností blastů ve vzorcích (CML blastická krize). Výsledky byly prezentovány formou posteru

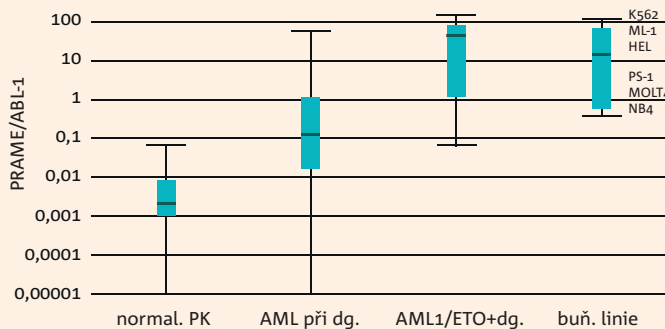
Pacienti AML dobrá odpověď na léčbu.



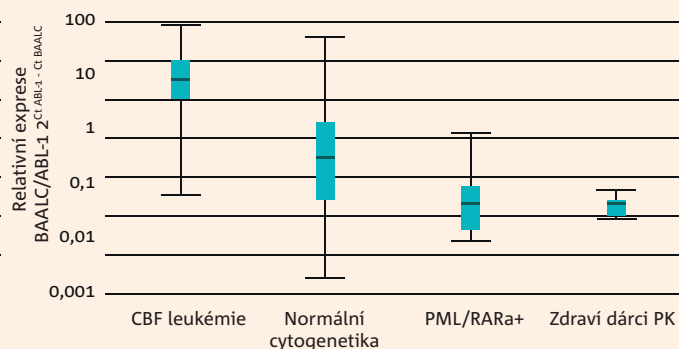
Pacienti s AML pokles exprese WT1 po IND terapii o méně než 2 řády.



Expresse genu PRAME v PK pacientů AML při diagnóze.



Relativní expresse genu BAALC v PK u pacientů s AML při diagnóze.



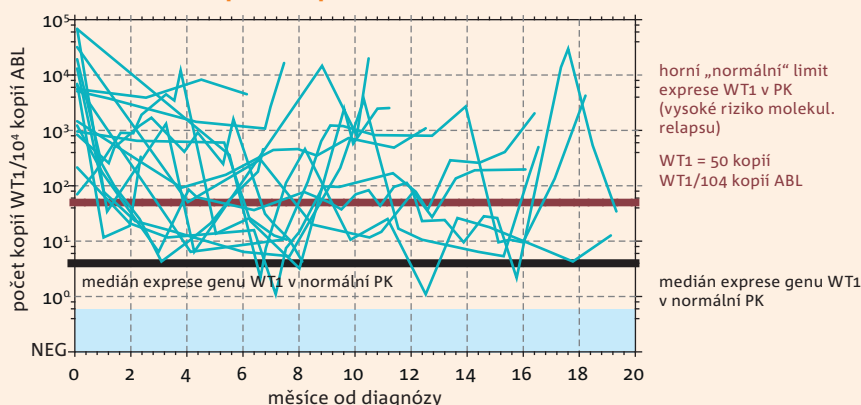
s názvem: *Short WT1 variant of Wilms tumor gene is expressed in leukemic cell lines, patients with AML, MDS and in CML blast crisis*, 15th EHA, Barcelona, 2010.

Dále pokračovaly analýzy 4 hlavních sestřihových variant *WT1* u AML a CML pacientů. Původní diagnostické vzorky byly rozšířeny o vzorky hematologických relapsů, byly zahájeny retrospektivní analýzy exprese variant v průběhu CML a AML. Zatímco v okamžiku AML i CML diagnózy je majoritní variantou +5/-KTS, při přechodu do hematologického relapsu se poměr +5 a -5 i +KTS a -KTS mění a nejvíce zastoupenou variantou se stává varianta -5/+KTS. Jde o variantu, která jako první vykazuje nárůst před blížícím se relapsem. Bližší analýzou výsledků diagnostických vzorků jsme zjistili, že -5/+KTS varianta je zvýšena u podskupiny pacientů s AML s intermediární prognózou, kteří v průběhu léčby zrelabovali v porovnání s pacienty, u nichž k relapsu nedošlo. Varianta -5/+KTS se tak jeví zajímavým kandidátem na nový marker AML i CML pacientů. Vyšetření AML probíhají ve spolupráci s Mgr. Polákem a Dr. Schwarzem. Výsledky byly prezentovány formou posterů na 2 konferencích: *Expresse sestřihových variant WT1: vývoj metodiky a první výsledky u pacientů s AML a CML*, XXIII. OHD, Olomouc, 2010; a *Expression analysis of WT1 splicing variants in CML and AML: -5/+KTS as a novel candidate for early marker of relapse*, the 52nd ASH, Orlando, 2010.

V roce 2010 skupina získala finanční podporu pro řešení projektu IGA NT11555 s názvem *DNA fingerprinting u chronické myeloidní leukémie*. V rámci řešení tohoto projektu byla provedena optimalizace metody AFLP pro genomické profilování; 15 primerových kombinací Eco/Mse-AFLP bylo testováno s použitím vzorků celkových leukocytů CML pacientů, separované mononukleární (MNC) a polymorfonukleární (PMNC) frakce z odběru periferní krve pro zjištění, zda se AFLP profily mohou mezi buněčnými subpopulacemi lišit. V souvislosti s řešením tohoto projektu a v rámci výzkumného záměru byla dále studována expresse genů kódujících influxové a efluxové transportery imatinibu (*hOCT1* a *ABCB1*) u nově diagnostikovaných pacientů a po jejich залечení imatinibem v definovaných časových bodech a to v celkových leukocytech periferní krve, MNC a PMNC buněčných frakcích. Studie probíhala ve spolupráci s pracovištěm IHOK FN Brno. Část výsledků byla zpracována do společné původní práce s názvem *Assessment of adenosine triphosphate-binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1) mRNA expression in patients with de novo chronic myelogenous leukemia: the role of different cell types* a publikována v časopise *Leukemia and Lymphoma* (DOI: 10.3109/10428194.2010.533220). Dále byla optimalizována a testována detekce exprese obou transportérů na úrovni proteinů metodou westernblotu.

V roce 2010 probíhala *validace analýzy HRM* (High Resolution Melting), kterou jsme již dříve vyvinuli pro iniciační skrining mutací v kinasové doméně (KD) *BCR-ABL* u pacientů s CML a která má sloužit jako vyšetřovací metoda v klinické praxi. Testovali jsme schopnost detekovat mutace v *BCR-ABL* pomocí 4 nově navržených primerů v kombinaci s již dříve testovanými tak, abychom alespoň částečně eliminovali nedostatečnou diskriminační schopnost těchto primerů pro některé typy mutací. Díky nově navrženým primerům jsme schopni pomocí HRM lépe rozlišit klinicky významné a dříve problematicky detekovatelné mutace M351T a F359V. Zjistili jsme, že jsme schopni pomocí HRM nejen detekovat mutace časněji než pomocí přímého sekvenování, ale že můžeme detekovat mutace i na hladinách *BCR-ABL* nižších než 0,1 % IS, která je pro přímé sekvenování limitní. V návaznosti na práci, kterou jsme publikovali ve spolupráci s pracovištěm IHOK FN Brno – Machova Polakova et al. *Exp Hematol.* 2010 Jan;38(1):20-2, jsme se v roce 2010 zaměřili na úzkou skupinu pacientů, kteří vykazují neměnnou hladinu *BCR-ABL* transkriptu v rozmezí 0,01–0,1 % po dobu minimálně 9 měsíců a položili si otázku, zda tento stav může mít souvislost s rozvojem rezistence. Celkem 10 takových pacientů bylo vyšetřeno na přítomnost mutace pomocí citlivé detekce HRM. Výsledky z HRM byly potvrzeny přímým sekvenováním a to u vzorků, u kterých bylo možné toto vyšetření provést s ohledem na množství *BCR-ABL* transkriptu. Mutace byly detekovány u 3 pacientů. Výsledky práce byly prezentovány formou posteru s názvem: *Minimal residual resistance in CML: stable BCR-ABL gene expression at levels 0,01–0,1 % (IS) in the consecutive samples may be associated with BCR-ABL mutation development and MMR lost in a small number of tyrosine kinase inhibitor responders* na 52. ročníku ASH konference v Orlando, USA. Naše výsledky potvrzují, že HRM je pomocný a ekonomický nástroj pro preskrining mutací nebo pro potvrzení dat sekvenční analýzy.

Pacienti AML špatná odpověď na léčbu.



V rámci výzkumného záměru bylo prováděno *testování citlivosti patientských leukocytů vůči používaným tyrosinkinázovým inhibitorům* →

(imatinibu, nilotinibu a dasatinibu). Byly optimalizovány metodiky potřebné pro tato sledování. Ideální podmínky pro kultivaci leukocytů byly hodnoceny z několika hledisek: a) míra apoptózy, b) možnost sledovat více parametrů – tj. úroveň proteinovou i mRNA. Byla nově zavedena metoda sledování stupně apoptózy na bázi průtokové cytometrie (Lab-on-a-chip na přístroji Agilent), citlivost vůči TKI byla zatím sledována přes změny v aktivitě BCR-ABL kinasy dvěma způsoby – a) mírou fosforylace Crkl proteinu – výhradního substrátu této kinasy (pomocí western blotu) a dále b) změnou v expresi WT1 proteinu. Optimalizace metody kultivací byla prezentována na OHD 2010, vybrané podmínky byly ověřeny při sledování případných prognostických možností – prezentováno na ASH2010, článek v přípravě; dále při sledování vybraných miRNA (návaznost na výše zmíněný projekt) a jejich souvislostí s funkcí BCR-ABL kinasy – prezentováno na EHA2010, OHD2010.

Dále pokračujeme ve sledování parametru a markerů, které by mohly napomoci v lepším posouzení stavu onemocnění případně změny léčby, jako jsou například HSP proteiny, změny v profilu tyrosinkináz, zastoupení kináz sarkové rodiny apod. Byla zjištěna možná souvislost HSP90 se zhoršením onemocnění – prezentace na 5th International conference on the HSP90 chaperone machine, 2010, Les Diablerets, Switzerland, publikace v přípravě.

Skupina Mgr. Moniky Belíčkové zabývající se *stanovením klonality* zpracovala v roce 2010 61 primárních vzorků od 58 pacientů, u kterých byla stanovena klonalita. V rámci výzkumných aktivit zpracovala 166 primárních vzorků kostní dřeně či periferní krve, z kterých byly izolovány CD34+ pluripotentní hematopoietické buňky či CD3+ T lymfocyty, CD14+ monocyty nebo granulocyty.

Výzkumným tématem této skupiny je patogeneze myelodysplastického syndromu, u kterého sleduje pomocí čipové technologie změny na úrovni RNA i DNA. Byly sestaveny expresní profily 51 pacientů s MDS, porovnány se zdravými kontrolami a jednotlivými subtypy navzájem. Na základě statistických analýz bylo detekováno 830 genů s rozdílnou expresí mezi MDS pacienty a zdravými dárči.

Souhrnné výsledky byly publikovány v časopise Leuk Res. 2010 Dec;34(12). Dále byly stanoveny expresní profily pacientů s 5q– syndromem (skupina MDS pacientů) před léčbou a v průběhu léčby lenalidomidem. Cílem práce je pochopení působení imunomodulačního léku lenalidomidu na pacienty, jehož efekt není dostatečně popsán. Porovnáním expresních profilů pacientů před léčbou a po léčbě byla zjištěna u 267 genů signifikantně změněná exprese.

U genů zapojujících se v TNF dráze byl pozorován výrazný pokles exprese způsobený léčbou až na hodnoty naměřené u kontrolních vzorků.

V rámci grantu IGA *Stanovení SNP a DNA methylačního profilu u pacientů s MDS pomocí mikročipové technologie* bylo vyšetřeno 201 pacientů s primárním MDS a 282 zdravých kontrol. Vzniklé výsledky se zpracovávají do publikace. Výzkumná činnost byla také prezentována na XXXIII. World Congress of the International Society of Hematology, Jerusalem, Israel, October 10–13, 2010: a na 52nd ASH Annual Meeting and Exposition, December 4–7, 2010, Orlando, FL.

Pracovnice **SOP06** se spolu s **Laboratoří biočipových technologií** v rámci řešení grantového projektu *Význam deregulace microRNA (miRNA) u myelodysplastického syndromu (MDS) a dalších hematologických malignit* zabývají studiem deregulace exprese miRNA a jejich funkce při vzniku a progresi tohoto onemocnění. MiRNA jsou malé nekódující molekuly RNA, které působí jako důležité regulátory mnoha buněčných procesů jako je diferenciace, proliferace nebo apoptóza. Z kostní dřeně 39 pacientů s MDS a 6 zdravých dárců jsme izolovali CD34+ buňky (HSC), ve kterých jsme pomocí Illumina miRNA expression profiling arrays měřili expresi 1146 miRNA. Jako nejzajímavější se ukázala zvýšená hladina exprese klastru miRNA na 14q32 čítajícího 46 miRNA. Silná up-regulace tohoto klastru byla pozorována také u AML s translokací t(15;17) [Dixon-Mclver A, 2005]. O funkcích miRNA nacházejících se na 14q32 toho zatím není příliš známo. Několik publikací naznačuje jejich vliv v buněčném vývoji a v onkogenezi. Například miR-127, jedna ze skupiny těchto miRNA, se zúčastní diferenciace B-lymfocytů [Leucci E, 2010]. Její zvýšená exprese může být spojena se sníženou hladinou genů zapojených do diferenciace B-buněk [Vasikova A, 2010]. Dále, u pacientů s 5q– syndromem (jedním ze subtypů MDS) jsme detekovali cca 50% snížení exprese miR-378 ležící v 5q– oblasti, což odpovídá stavu haploinsuficience. Je známo, že miR-378 podporuje buněčné přežití, tumorigenezi a angiogenezi tím, že inhibuje expresi genu *SUFU* [Lee DY, 2007]. Dalším možným cílovým genem miR-378 je transkripční faktor ETV6 (častý účastník chromozomálních aberací asociovaných s leukémií). Protože je ETV6 nezbytný pro hematopoézu, může být dalším kandidátním genem přispívajícím k MDS. Lze tedy očekávat, že snížení hladiny miR-378 se může podílet na rozvoji 5q– syndromu. Tato studie dále ukazuje rozdílné expresní profily u jednotlivých subtypů MDS. Nejvýraznější rozdíl byl patrný mezi RAEB-1 a RAEB-2 (refractory anemia with excess blasts). Zatímco miRNA patern RAEB-1 byl více podobný kontrolnímu souboru a pacientům s časnými formami MDS, profil RAEB-2 vykazoval podobnost se vzorky sekundární AML, což naznačuje, že transformace onemocnění

ve skutečnosti může probíhat již ve stádiu přechodu mezi RAEB-1 a RAEB-2. Tato studie byla v roce 2010 přijata k tisku do časopisu European Journal of Human Genetics [Dostalova Merkerova M et al., 2011].

Laboratoř biočipových technologií ÚHKT dále ve spolupráci s **Centrem nádorové cytogenetiky** (doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc.) hledá, u low-risk MDS pacientů s cytogeneticky normálním karyotypem, kryptické nebalancované chromozomální aberace. K tomuto účelu byla v roce 2010 zavedena nová metoda karyotypizace pomocí celogenomových SNP-microarrays (Illumina HumanCytoSNP-12), díky níž lze detekovat nejen změny v počtu kopií (CNV) ale také uniparentální dizomie (UPD) s rozlišením až 6,2kb. Touto metodou bylo dosud vyšetřeno 14 pacientů, přičemž u 10 z nich byl potvrzen normální karyotyp, dále byly identifikovány 2 dříve nedetekované delece: del(5)(q32q33.3) a del(12)(p13.1p13.2) a dvě UPD: UPD17q a UPD20p. V dalším roce je plánováno rozšíření souboru pacientů a zhodnocení aplikovatelnosti této metodiky pro cytogenetické účely.

Ve spolupráci s *Ústavem experimentální medicíny AV ČR* pokračujeme v 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. V roce 2010 jsme pomocí HumanRef-8 v3 Expression BeadChips stanovili genové expresní profily (24 000 genů) u vzorků placenty a leukocytů periferní a pupečnickové krve získaných od 100 porodů odebraných v porodnici v Českých Budějovicích a 100 v porodnici FN Motol Praha. Analýza expresních dat vzorků z FN Motol Praha se v současné době dokončuje. Data pro lokalitu Českých Budějovic jsou již kompletně zpracována a stala se také podkladem pro diplomovou práci Bc. Fejglové. Do souboru tzv. kuřáček byly zařazeny ženy, které v dotazníku deklarovaly aktivní kouření po celou dobu těhotenství a v periferní krvi měly nadlimitní hodnoty kotininu. Kontrolní skupinu tvořily ženy bez signifikantní expozice tabákovému kouři a s podlimitními hodnotami kotininu v krvi. Pasivní kuřáčky byly z analýz vyřazeny. Vlivem kouření byly nejvíce ovlivněny transkripční hladiny genů v buňkách placenty. Na základě toho můžeme předpokládat významnou roli placenty v detoxikaci, metabolismu a pravděpodobně i zachycení některých složek cigaretového kouře. V placentách kuřáček jsme detekovali např. up-regulaci genů kódujících enzymy s xenobiotickou funkcí (cytochrom CYP1B1), antioxidanty a oxidoreduktázy respiračního řetězce. Na základě našich i dalších výsledků můžeme indukci cytochromových genů považovat za obecné biomarkery kouření, protože vykazují tkáňově nespecifickou expresi

po vystavení tabákovému kouři. Nicméně i přes prokázanou schopnost placenty modulovat negativní vlivy cigaretového kouře, dochází k jeho působení na molekulární úrovni i na plod. O tomto vlivu nás přesvědčila zvýšená exprese nejen genů pro CYP enzymy, ale také zvýšené hladiny genů pro chemokiny v leukocytech pupečnickové krve. Tato studie zcela jednoznačně prokazuje negativní dopad kouření v těhotenství na vývoj placenty a plodu na úrovni změn v transkripční aktivitě genů, které vedou k deregulaci významných biologických procesů. Získané výsledky dokresluje komplexitu molekulárního pozadí patologických pochodů probíhajících ve feto-maternálních tkáních vlivem cigaretového kouře.

V roce 2010 byla započata spolupráce **Laboratoře biocipových technologií ÚHK** s **laboratoří prof. MUDr. Ondřeje Viklického, CSc. z Institutu klinické a experimentální medicíny**. Tématem spolupráce je řešení grantového projektu Molekulární fenotypizace minimálního poškození transplantované ledviny a její prognostický význam, v rámci kterého bude Laboratoř biocipových technologií stanovovat celogenomové expresní profily (Illumina microarrays) biopsických vzorků ledvin. V současné době probíhá příprava vzorků a optimalizace metodiky.

Další výzkumnou skupinou na oddělení je **Laboratoř exprese genů** (ved. RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.), která v rámci řešení grantu IGA MZ ČR (Vyhledávání a testování nových molekulárních markerů reziduální nemoci u pacientů s akutní myeloidní leukémií), grantu *EuGESMA – COST* (Studium aberantně metylovaných genů u pacientů s MDS a AML pomocí metylačních arrayů) a ústavního výzkumného záměru byly v roce 2010 získány tyto výsledky:

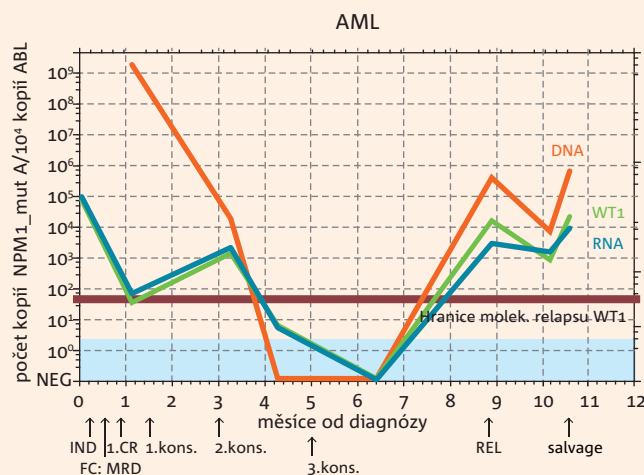
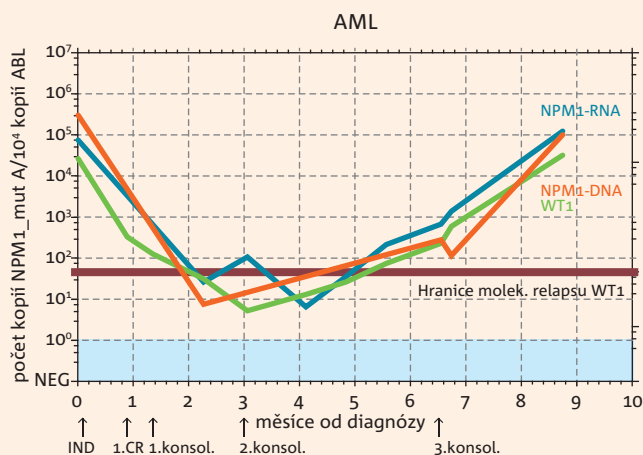
■ **Monitorování minimální reziduální nemoci kvantitativním sledováním mutací genu NPM1 a exprese genů LAA.**

Pro monitorování minimální reziduální nemoci (MRN) u pacientů AML byly užity dvě metody kvantitativní PCR vycházející z mRNA a genomové DNA. U 21 pacientů AML byla monitorována reziduální nemoc pomocí mutací genu NPM1 v periferní krvi pacientů na základě mRNA. Výsledky monitorování MRN mutacemi genu NPM1 velmi dobře korelují s klinickým průběhem nemoci. Hematologický relaps lze podle monitorování genu NPM1 předpovědět v předstihu 39 dnů. U 6 pacientů s mutovaným genem NPM1 bylo uděláno porovnání monitorování MRN pomocí exprese (mRNA) mutovaného genu a jeho zastoupení v genomové DNA. Výsledky, získané na základě mRNA a genomové DNA spolu velmi dobře korelují. Metoda monitorování MRN z genomové DNA nám umožňuje srovnání našich výsledků s pracovištěm v Brně, které používá stejnou metodu. Srovnání výsledků monitorování mRNA pacientů AML ukázalo velmi dobrou shodu výsledků získaných pomocí mutací genu NPM1 a exprese genu Wt-1. Nespornou výhodou monitorování mutacemi genu NPM1 je, na rozdíl od exprese genu Wt-1, negativita zdravých dárců a pacientů v dlouhodobé kompletní remisi. U těch pacientů AML, kteří neměli mutovaný gen NPM1, nebo kteří mají nízkou expresi genu *WT1*, byla pro monitorování MRN použita hladina exprese genů pro antigeny spojené s leukémiemi – LAA. Výsledky rovněž ukazují na dobrou korelaci mezi monitorováním MRN a klinickým průběhem nemoci.

■ **Sledování metylačního stavu genů u leukemických a preleukemických pacientů**
Analyzovali jsme panel 24 genů zahrnutých v regulaci T-buněčné odpovědi. Vyšetřili jsme 10 pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML) při diagnóze a 8 pacientů s myelodysplastickým syndromem (MDS) v různém stádiu progresu onemocnění metodou metylačně-podmíněného

restrikčního štěpení spojeného s následnou real-time PCR amplifikací pomocí DNA metylačních arrayů (Sabiosciences). Jako výchozí materiál sloužily v obou případech separované mononukleární buňky z periferní krve či kostní dřeně. Aberantní DNA metylaci jsme detekovali u 7/24 studovaných genů u AML a u 6/24 u MDS. Frekvence metylací u AML: *CD8a* (9/10), *SOCs1* (7/10), *FOXP3* (6/10), *LAG3* (5/10), *PAX1* (4/10), *RIPK2* (2/10), *MICB* (1/10). Frekvence metylací u MDS: *MICB* (4/8), *PAX1* (3/8), *LAG3* (3/8), *SOCs1* (3/8), *CD8a* (3/8), *FOXP3* (1/8). Následně jsme tyto výsledky u vybraných genů začali ověřovat metodou bisulfitového sekvenování a porovnávali získané výsledky metylace promotorových oblastí genů s hladinou jejich exprese. U genů *LAG3* a *PAX1* jsme s pomocí TaqMan gene expression assays měřili míru exprese u 19 pacientů s AML při diagnóze a u 11 zdravých dárců. Gen *LAG3* nám u pacientů s AML vyšel významně downregulován ($p=0,003$). Pro gen *PAX1* jsme na expresi analyzovali stejný počet vzorků, ale ani v patientských ani ve vzorcích zdravých dárců jsme nedetekovali žádnou měřitelnou míru exprese. Potvrdili jsme, že DNA metylace hraje významnou roli v deregulaci imunitních procesů a tím přispívá ke vzniku a progresi leukemického onemocnění. Tyto výsledky chceme rozšířit a určit vliv na prognózu onemocnění.

Ve spolupráci s doc. MUDr. Tomášem Stopkou Ph.D. z Ústavu patologické fyziologie 1. LF UK jsme se zaměřili na metylační status distálního regulačního elementu (URE) lidského genu *PU.1* u buněčných linií MOLM13, SKM1 a OCI M2 po kultivaci s 5-azacytidinem a/nebo G-CSF. Ukázalo se, že upregulace tohoto genu závisí na tom v jakém stavu se nachází chromatin v jeho regulační oblasti. Potencionální význam spočívá v možné predikci odpovědnosti u pacientů s AML a MDS na demetylační léčbu. ■



Porovnání monitorování reziduální nemoci pacientky s AML pomocí mutace typu A genu NPM1 na úrovni mRNA a genomové DNA a exprese genu *WT1*.

ODDĚLENÍ BUNĚČNÉ FYZIOLOGIE

LÉKAŘI:	1
VŠ OSTATNÍ:	13
LABORANTI:	3
OSTATNÍ PERSONÁL (SANITÁRKA):	1



Vedoucí oddělení:
RNDr. Ludmila Doležalová, CSc.



Zástupce vedoucího:
doc. MUDr. Daniel Vyoral, 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 rovněž 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.
- Pro zpřesnění prognózy a výběr optimálního léčebného postupu provádíme rovněž molekulárně-genetická vyšetření mutací a změn v expresi specifických genů u některých hematologických onemocnění.

Výzkumná činnost v roce 2010 byla zaměřena na následující tématické okruhy:

- Objasnění molekulární podstaty vzácných fenotypů erytrocytů a některých vrozených poruch erythropoézy.
- Regulace krvetvorby, analýza molekulárních mechanismů leukemogeneze
- Regulace metabolismu železa, terapeutický potenciál peptidového hormonu hepcidinu.
- Proteomické přístupy v hematologii – Studium rezistence buněk chronické myeloidní leukémie k běžné terapii.

Objasnění molekulární podstaty vzácných fenotypů erytrocytů a některých vrozených poruch erythropoézy.

Diamondova-Blackfanova anémie (DBA) je vrozené onemocnění, které se obvykle projevuje defektem erythropoézy během prvního

roku života. U 40% pacientů bývají přítomné také nejrůznější fyzické anomálie. Příčinou této vrozené poruchy erythropoézy jsou mutace v genech pro ribozomální proteiny (RP). Doposud byly identifikovány mutace v devíti genech jak z malé, tak velké ribozomální podjednotky: RPS7, RPS10, RPS17, RPS19, RPS24, RPS26, RPL5, RPL11 a RPL35a. Souhrnně jsou mutace v těchto genech zodpovědné za 50–66 % 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 je zaměřen na pochopení principů vzniku DBA a návrhu cílené léčby pro pacienty. Výsledky tohoto studia přispějí též k pochopení obecnějších aspektů erythropoézy, kde, jak se zdá, bude úroveň translace hrát významnou úlohu.

Pro dosažení výsledků jsme definovali 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

Jelikož se 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, rozhodli jsme se studovat arginin methyltransferasu 3 (PRMT3). PRMT3 je cytosolický enzym, který prostřednictvím metylace RPS2 reguluje poměr malých a velkých ribozomálních podjednotek a tím i možnou výkonnost celého translačního aparátu. V tomto roce pokračovala práce na charakterizaci nalezené mutace p.Tyr87Cys v genu pro PRMT3 u jednoho pacienta s DBA. Biochemické analýzy neprokázaly vliv mutace

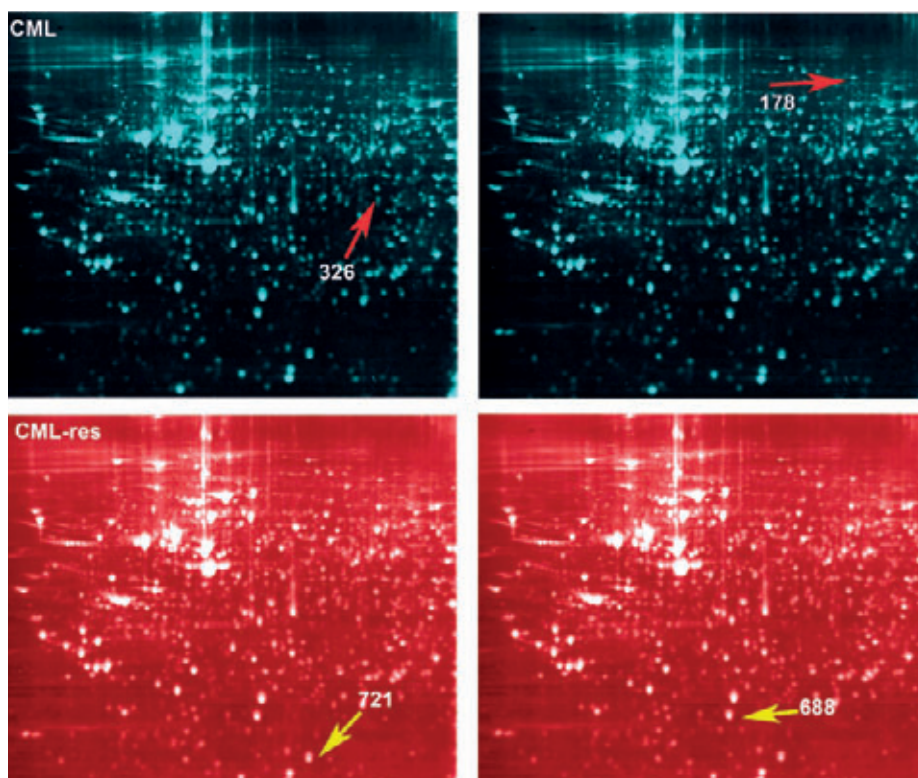
p.Tyr87Cys na lokalizaci mutovaného proteinu, Tyr87 je však nezbytný pro vazbu PRMT3 ke svému substrátu – RPS2 a záměna p.Tyr87Cys tak způsobuje nedostatečnou vazbu a signifikantní snížení aktivity PRMT3 vzhledem ke svému substrátu RPS2. Zároveň jsme zjistili, že Tyr87 není za fyziologických podmínek fosforylován a za regulaci PRMT3 budou patrně odpovídat seriny v pozicích 25 a 27, které byly oba nalezeny současně fosforylovány. Rodinné vyšetření přítomnosti této mutace však nepotvrdilo kauzalitu této mutace pro vznik DBA, nicméně je velmi pravděpodobné, že může ovlivňovat průběh onemocnění, jehož příčinou je právě deregulovaná translace. Tyto výsledky byly publikovány v časopise *Biochim Biophys Acta*.

Analýza známých genů u pacientů z českého i zahraničních registrů DBA

I v letošním roce jsme ve spolupráci s českými i zahraničními hematologiy 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 delecí jednoho nukleotidu v genu pro RPS19 a heterozygotní delecí čtyř nukleotidů v genu pro RPL5. Všechny nové mutace byly začleněny do databáze mutací pacientů s DBA, která byla vytvořena v rámci veliké mezinárodní spolupráce šesti center a opublikována v časopise *Hum Mutat*. Dále jsme v letošním roce identifikovali čtyři zcela nové mutace v RPS26, jejichž charakterizace je připravována pro tisk. V souhrnu lze tedy říci, že jsme doposud objasnili genetickou podstatu onemocnění už u 71,5 % českých pacientů (67,7 % rodin) a na objasnění příčiny u zbylých pacientů budeme i nadále pracovat.

Výhled na rok 2011

- Zavedení detekce mutací v genech asociovaných s DBA do rutiny pro diferenciální diagnostiku.



Obr. 1: Proteomická analýza rezistentních leukemických buněk.

- Objasnění genetické podstaty u zbývajících pacientů s DBA z Českého registru.
- Vyhodnocení experimentálního podávání leucinu pacientům s DBA (spolupráce doc. Pospíšilová, UP Olomouc).
- Celková charakterizace Českého registru pacientů s DBA.

Regulace krvetvorby, analýza molekulárních mechanismů leukemogeneze

MEP je společným progenitorem pro destičkovou a erytroidní řadu v procesu hematopoiezy. O diferenciaci MEP do destičkové řady rozhoduje, kromě jiných faktorů, transkripční faktor Fli-1 (Friend leukemia integration 1), o diferenciaci do erytroidní řady faktor EKLF (Erythroid Krüppel-Like Factor). Mezi těmito faktory existuje zkřížený antagonismus. Typickým znakem myelodysplastického syndromu (MDS) se specifickou delecí na dlouhém raménku chromozomu 5q [del(5q), 5q- syndrom] je makrocytární anémie a zvýšený počet destiček. Položili jsme si otázku, zda by změny obou zmíněných faktorů mohly vysvětlit příznaky 5q-MDS syndromu.

Ve spolupráci s 1. LF UK jsme studovali úlohu transkripčních faktorů Fli-1 a EKLF u souboru pacientů s 5q-myelodysplastickým syndromem a výsledky porovnávali se skupinou pacientů s MDS o nízkém riziku a bez delecí na chromozomu 5q a kontrolní skupinou zdravých jedinců. U 9 pacientů s 5q – MDS syndromem jsme sledovali rovněž účinek

léku lenalidomidu (CC-5013, Revlimid, Celgene Corp., Summit, NJ) na hladinu mRNA pro uvedené transkripční faktory v průběhu terapie. Lenalidomid je 4-amino-glutariamidový analog thalidomidu se silným imunomodulačním účinkem a antiangiogenní aktivitou, který stimuluje erytropoezu u 5q – syndromu. Kromě exprese genů *Fli-1* a *EKLF* jsme analyzovali i expresi genů *PU.1*, *HDM2*, *TP53* (*p53*) a *myb* v mononukleárních buňkách izolovaných z periferní krve pacientů s 5q – MDS syndromem v průběhu terapie lenalidomidem. Nové poznatky ukazují, že anémie u 5q – syndromu je způsobena ribozomálním stresem způsobeným haploinsuficiencí genu pro ribozomální protein RPS14 a tím poruchou biogeneze ribozomů. Řada nahromaděných ribozomálních proteinů se potom váže na HDM2, E3 ubikvitin ligázu, která normálně ubikvitinyluje p53 a předurčí ho k rozkladu v proteazomech. Vazba ribozomálních proteinů na HDM2 inhibuje ubikvitinylaci p53 a tím jeho hladina stoupá a dochází k apoptóze červené řady. Exprese MDM2, a lze předpokládat, že i HDM2, je stimulována transkripčním faktorem Fli-1 a chrání destičkovou řadu před předčasnou apoptózou. Transkripční faktor PU.1 (označovaný též Spi-1) je pozitivním regulátorem exprese genu *Fli-1*. Hladina transkripčního faktoru myb klesá v průběhu erytroidní diferenciaci. Příznivý vliv lenalidomidu byl pozorován u pěti pacientů po prvním cyklu léčby (21 dní, 10 mg/ den), u dalších dvou pacientů po druhém cyklu léčby a dva pacienti na podání lenalidomidu nereagovali. Jeden z těchto pacientů však měl další abnormalitu chromozomů

a to translokaci t(2;11). Lenalidomid podpořil erytroidní diferenciaci včetně indukce syntézy hemoglobinu, zvýšení hladin EKLF mRNA a HDM2mRNA a snížení hladin Fli1 mRNA, PU.1 mRNA a p53 mRNA.

Analýzovali jsme rovněž mutace a expresi faktorů, které mají prognostický význam pro pacienty s AML a normálním karyotypem. Sledovali jsme výskyt mutací v nukleofosminu, *CCAAT/enhancer binding protein alpha* (CEBPA) a částečné tandemové duplikace genu *MLL* a expresi genů pro Evi-1, MN1 a ERG. Studovali jsme ve spolupráci s 1. LF UK i zvýšený výskyt specifické třídy delecí v CEBPA u pacientů s ischemickou chorobou dolních končetin, srdce a hyperlipidemií.

Regulace metabolismu železa, terapeutický potenciál peptidového hormonu hepcidinu

Řada krevních chorob je spojena s poruchami příjmu, zpracování nebo ukládání železa v organismu. Železo je nezbytnou součástí mnoha bílkovin podílejících se prakticky na všech aspektech lidského metabolismu. Jako součást hemoglobinu železo například zabezpečuje přenos kyslíku z vdechovaného vzduchu do tkání. Železo, je-li v nadbytku, je však také schopno produkovat volné radikály – reaktivní látky poškozující různé buněčné komponenty. Volné radikály jsou pak spouštěcím nebo rizikovým faktorem vzniku mnoha chorob. Pochopení mechanismů vstřebávání a využití železa v těle je tedy zcela zásadní pro vývoj nových léků a postupů například pro léčbu některých anemií či hemochromatózy – dědičného přetížení železem.

Příjem, ukládání a recyklace tohoto důležitého kovu jsou v lidském těle řízeny nedávno objeveným peptidem hepcidinem. Ten je již několik let centrem našeho zájmu. Nedávno jsme identifikovali jeho hlavní sérové přenašeče a v současné době se snažíme na experimentálním zvířecím modelu ověřit, zda je možné podáváním syntetického hepcidinu zamezit přetížení organismu železem (například u již zmíněné hemochromatózy) nebo zda je naopak možné produkci či aktivitu hepcidinu v organismu tlumit, což by mělo zásadní význam pro léčbu anemií.

Regulaci metabolismu železa je nutné studovat na více jejích úrovních. V roce 2010 jsme objevili a popsali nového hráče v tomto komplexním mechanismu – kinasu MRCK alfa, která přímo ovlivňuje vstup železa do savčích buněk a je železem sama regulována. V současné době identifikujeme další spoluhráče a cíle kinasové aktivity proteinu MRCK alfa.



Proteomické přístupy v hematologii – Hledání zásahových míst v buňkách chronické myeloidní leukemie (CML) rezistentních k běžné terapii

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. Naše laboratoř dlouhodobě využívá právě moderní citlivé proteomické metody k popisu a pochopení fyziologických i patologických procesů souvisejících s krvetvorbou. Příkladem je detailní studium bílkovinných změn v rezistentních leukemických buňkách. Jednou z hlavních příčin neúspěchu protinádorové terapie obecně je rezistence na běžnou chemoterapii. Naším hlavním cílem je nalézt bílkoviny, které by v budoucnu mohly sloužit jako specifické „terče“ pro účinnou likvidaci buněk chronické myeloidní leukemie rezistentních na běžnou chemoterapii (inhibitory tyrozinkinázy). Mechanismem analogickým s tím, co se děje v pacientově těle, jsme odvodili několik typů buněk CML rezistentních na léky používané k léčbě CML. Tyto buňky porovnáváme pomocí proteomických technik z hlediska jejich proteinové skladby s buňkami původními ve snaze odhalit to, co je odlišuje, tedy jejich specifické vlastnosti.

Podobným způsobem jsme v předchozích 2 letech odhalili v rezistentních buňkách akutní myeloidní leukémie několik bílkovin, které lze považovat za jakési „buněčné slabiny“ těchto buněk. Na tyto „slabiny“ lze cílit účinná léčiva, která, alespoň v experimentálním uspořádání *in vitro*, účinně tyto rezistentní buňky likvidují.

Seznam a struktura vyšetření prováděných pro klinické účely

Kultivační vyšetření růstu krvetvorných buněk *in vitro*

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 dřeně. Z poměrného zastoupení progenitorů (buněk tvořících kolonie) v kultivačním nálezu lze usuzovat, do jaké míry je kostní dřeň 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 kromě diagnostických účelů využíváno rovněž ke kontrole kvality buněk určených pro transplantaci krvetvorné tkáně.

V roce 2010 bylo provedeno celkem 909 kultivačních vyšetření.

Test blastické transformace:

Vyšetření je prováděno jako kontrola imunologické reaktivity lymfocytů v průběhu extrakorporální fotoferézy. V roce 2010 bylo provedeno 49 vyšetření.

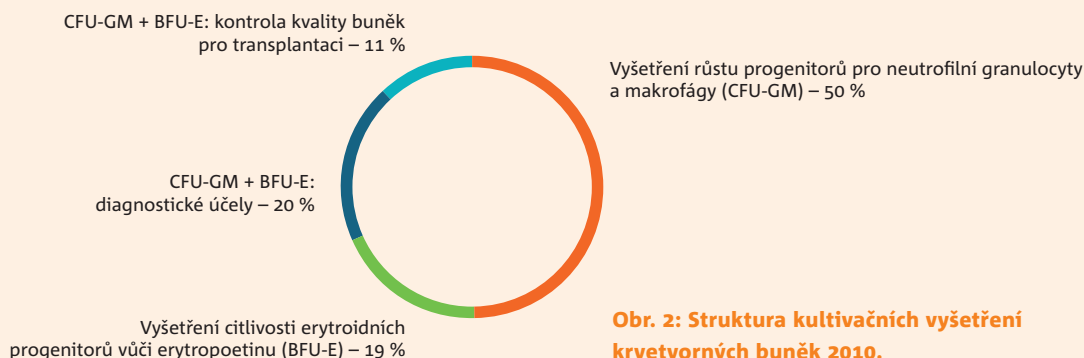
Molekulárně – genetické vyšetření prognostických faktorů u hematologických onemocnění.

Pro zpřesnění prognózy a výběr optimálního léčebného postupu u nemocných s akutní myeloidní leukémií (AML) a myelodysplastickým syndromem (MDS) provádíme vyšetření mutací a změn v expresi specifických genů :

Analýza mutace transkripčního faktoru CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) alfa (CEBPA) a mutace nukleofosminu (NPM1) je významná především u pacientů s AML s normálním karyotypem (40–45 % případů AML). Výskyt těchto mutací je spojen s lepší než průměrnou prognózou.

Parciální vnitřní tandemové duplikace genu MLL (Mixed lineage leukemia) či zvýšená exprese genů ERG (ETS-related gene), MN1 (Meningioma 1) a EVI1 (Ecotropic Virus Integration Site 1), jsou naopak spojené se špatnou předpovědí pro léčbu pacientů s AML. Výskyt zvýšené hladiny EVI1 mRNA je spojen i se špatnou předpovědí pro léčbu u pacientů s MDS.

V roce 2010 bylo provedeno celkem 703 vyšetření prognostických faktorů u nemocných s AML a MDS. ■



Obr. 2: Struktura kultivačních vyšetření krvetvorných buněk 2010.

ODDĚLENÍ CYTOGENETIKY

POČET ZAMĚSTNANCŮ:	8
OSTATNÍ VŠ:	4
LABORANTI:	4



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



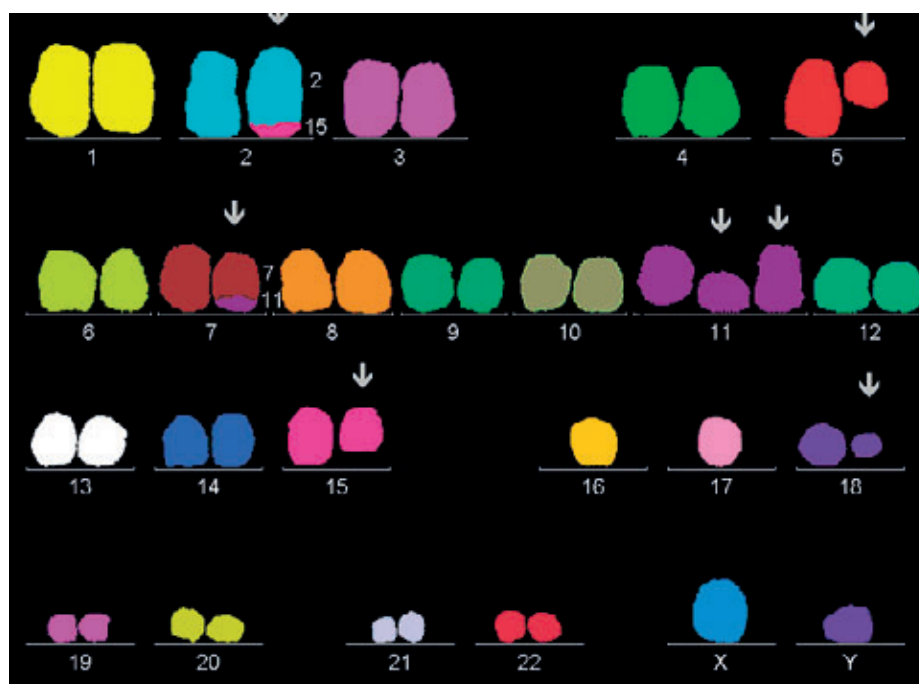
Zástupce vedoucího:
RNDr. Jana Březinová, Ph.D.

Oddělení cytogenetiky je umístěno v areálu A, pavilonu A7, 1. patro U Nemocnice 2, Praha 2. Na základě smlouvy mezi VFN a ÚHKT je součástí Centra nádorové cytogenetiky ÚKBLD a 1. LF UK, které vzniklo dne 1. 1. 2003. Na oddělení jsou prováděna vyšetření chromosomů z buněk kostní dřeně a periferní krve u nemocných s krevními chorobami. Tato vyšetření jsou nezbytná pro přesné určení diagnózy, stanovení prognózy i ke sledování průběhu terapie a monitorování úspěšnosti léčby.

Při analýzách jsou využívány jak metody klasické cytogenetiky, tak i nové moderní techniky, především molekulárně cytogenetické

Typ sondy	Nejčastěji používané sondy
Centromerické sondy	CEP 8
	CEP 9
	CEP 11
	CEP 17
Lokus specifické sondy	LSI ATM/p53
	LSI 13q14/13q34/CEP12
	LSI 5q31/5p15
	LSI MLL
	LSI 7q31/CEP 7
	LSI IgH
	LSI BCR/ABL
Subtelomerické sondy	Pro různé chromosomy
BAC sondy (výzkum)	Pro chromosom 11
Malovací sondy	WCP 4
	WCP 5
	WCP 12
mFISH (24Xyte)	
mBAND	XYte 11
	XYte 5
	XYte 7

Tabulka č. 1: Sondy DNA nejčastěji používané pro rutinní a výzkumná vyšetření v r. 2010.



Obr. č. 1: Rozsáhlé změny karyotypu u nemocného muže s diagnózou akutní myeloidní leukémie, prokázané metodou mnohobarevné FISH (mFISH). Nález je spojen s nepříznivou prognózou pacienta.

Karyotyp: 45,XY,der(2)t(2;15)(q34;q24),del(5)(q13q31),der(7)t(7;11)(q22;p13),del(11)(p13),+i(11)(q10),del(15)(q24),-16,-17,der(18)del(18)(p11.2)del(18)(q21)[6].

metody, založené na hybridizaci DNA (všechny dostupné modifikace fluorescenční in situ hybridizace FISH a čipové technologie).

Při klasické cytogenetické analýze jsou chromosomové preparáty obarveny příslušnou pruhovací technikou a dále vyhodnocovány pomocí mikroskopu a počítačové analýzy obrazu. Na našem pracovišti je tato technologie využívána již od roku 1994, kdy byla zakoupena jako první v České republice.

Všechny patologické nálezy jsou ověřovány metodou FISH, která na základě použité sondy umožňuje identifikaci početních i strukturních odchylek nejen v dělících se buňkách, ale i v interfázních jádrech. Slouží též k detekci reziduálních leukemických buněk po chemoterapii

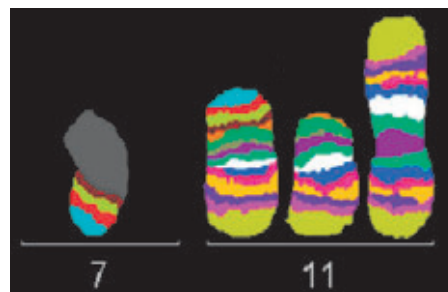
či transplantaci kostní dřeně i k odhalení složitých chromosomových přestaveb, které není možné prokázat klasickou cytogenetickou analýzou. Pro tento účel je pracoviště vybaveno dvěma moderními fluorescenčními mikroskopy s počítačovou analýzou obrazu.

Počet FISH vyšetření stále stoupá neboť některé přestavby chromosomů se staly významnými prognostickými faktory a je možné je detekovat i v nátěrech periferní krve či nekultivované kostní dřeně. Nejčastěji používané DNA sondy pro FISH vyšetření jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Výzkumná činnost je nedílnou součástí práce všech členů cytogenetického oddělení. V roce 2010 jsme využili dostupné modifikace metody FISH: FISH s centromerickými, ➔

lokus specifickými, subtelomerickými a celochromosomovými sondami i metodu mnohobarevné FISH (mFISH) a mnohobarevného pruhování (mBAND) k objasnění početních i strukturních odchylek chromosomů a ke sledování nestability genomu nádorových buněk u nemocných s myeloidními malignitami. Napojili jsme se na pilotní studii CNC ÚKB LD VFN „array CGH a SNP array“ u pacientů, kteří měli v leukemických buňkách komplexní karyotyp a zaměřili se na detekci a přesné mapování deletovaných a amplifikovaných úseků na aberovaných chromosomech. Hodnotili jsme nestabilitu genomu nádorových buněk především ve vztahu k postupu zhoubného onemocnění a sledovali proliferační výhody

patologických klonů. V roce 2010 byla v kategorii A vyhodnocena závěrečná zpráva grantu NR9244-3 s názvem Kombinovaná molekulárně biologická a molekulárně cytogenetická analýza genomových změn u nemocných s chronickou lymfatickou leukémií, který jsme řešili v roce 2007–2009. Ve stejné kategorii byla vyhodnocena i závěrečná zpráva grantu NR9227-3 Molekulárně cytogenetická analýza komplexních chromosomových aberací v buňkách kostní dřeně nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) a akutní myeloidní leukémií (AML) a jejich prognostický význam, na které jsme se v letech 2007–2009 zúčastnili jako spoluřešitelé. ■



Obr. č. 2: Průkaz derivovaných chromosomů 11 metodou mnohobarevného pruhování u téhož nemocného. Vyšetření prokázalo zlomové místo na chromosomu 11 v oblasti 11p13 a přítomnost isochromosomu dlouhých ramen chromosomu 11.

ODDĚLENÍ HLA ANALÝZY

POČET PRACOVNÍKŮ: 9

VŠ: 6

LABORANTI: 3



Vedoucí oddělení:
RNDr. Marie Dobrovolná

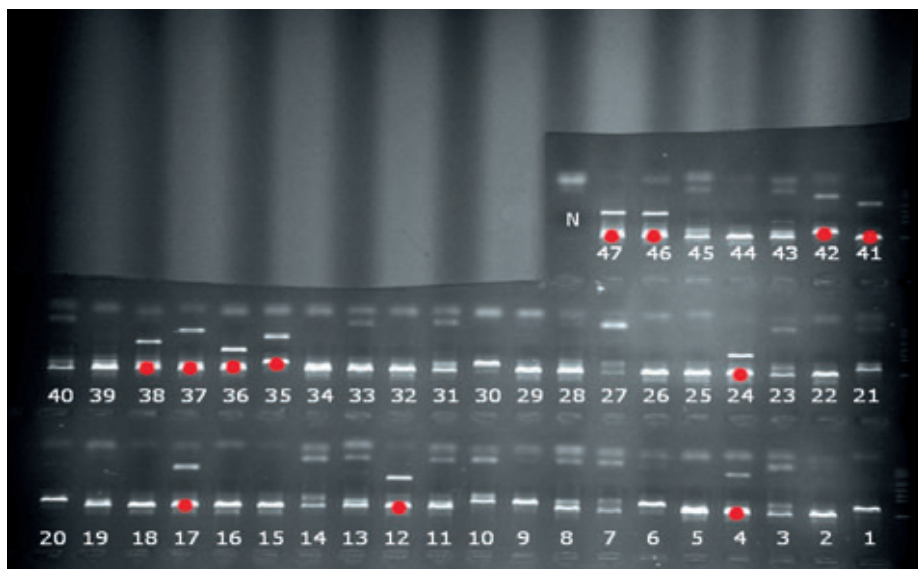


Zástupce vedoucího:
Ing. Milena Vraná

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 opakovaném posouzení Českým institutem pro akreditaci o.p.s. uznán flexibilní rozsah akreditace – typ II.

HLA systém (Human Leukocyte System) je hlavní histokompatibilní 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

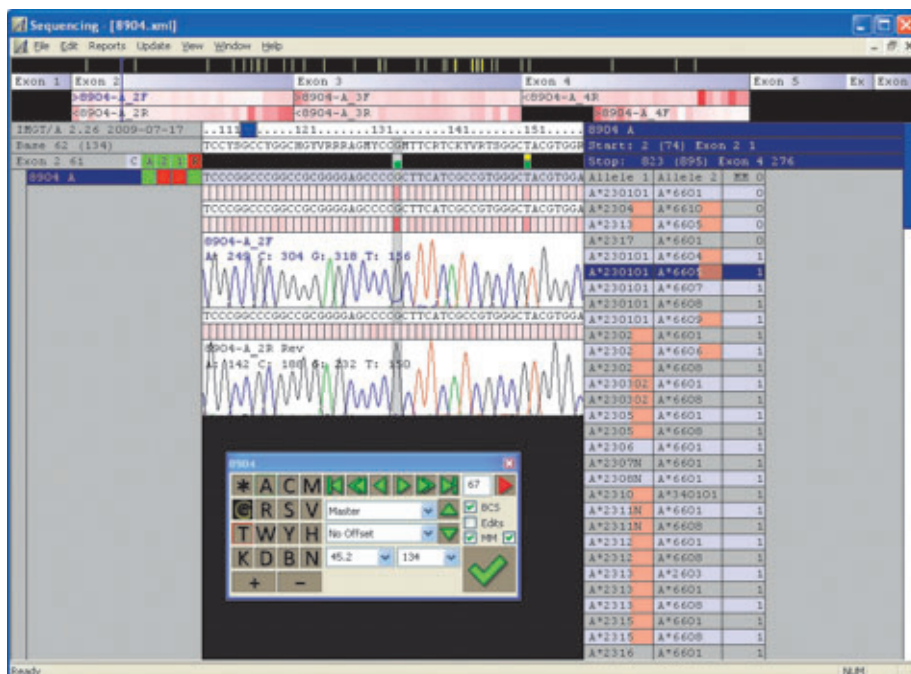


Příklad typizace HLA-B lokusu na úrovni alelických skupin (low resolution) metodou PCR-SSP a přímé sekvenování (SBT) – metoda akreditovaná ČIA o.p.s. v Praze.

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 specifickým primérem (PCR-SSP):

I v roce 2010 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



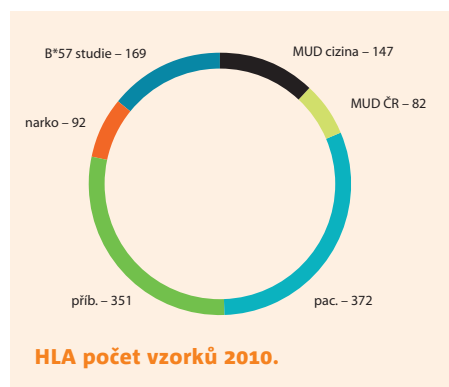
Softwarová analýza sekvenčních dat pro HLA genotypizaci.

krvetočných buněk je na našem pracovišti na vysoké úrovni reflektující současný stav poznání této problematiky.

V rámci řešení úkolů výzkumného záměru ÚHKT bylo prováděno *testování dalších genetických systémů – KIR genů* s cílem určit jejich význam pro úspěšnost HSCT.

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 rutinního testování biočipovými technologiemi i v NRL pro DNA diagnostiku.

V roce 2010 bylo v laboratoři přijato 1213 primárních vzorků, z toho 372 pacientů, 351 jejich příbuzných, 147 nepřibuzných dárců (MUD) ze zahraničních registrů a 82 nepřibuzných dárců z českých registrů. Dále bylo vyšetřeno 92 pacientů s narkolepsií a 169 vzorků vyizolované



DNA bylo testováno na HLA-B*5701 pozitivitu pro stanovení rizika rozvoje hypersenzitivity na léčbu abacavirem.

Laboratoř organizovala MPZ pro testování HLA znaků v asociaci s onemocněními (revmatoidní artritida, celiakie, narkolepsie), kterého se zúčastnilo 8 laboratoří z ČR. Výsledky byly referovány Ing. Vranou na 14. *Celostátní konferenci DNA diagnostiky*. ■



EUROPEAN FEDERATION FOR IMMUNOGENETICS

CERTIFIES THAT

HLA Genotyping lab / HLA analysis dept
Institute of Hematology & Blood Transfusion
PRAQUE - CZECH REPUBLIC (05-CZ-006.994)

UNDER THE DIRECTION OF
Dr. Marie DOBROVOLNA
Ing. Milena VRANA

HAVING MET THE REQUIREMENTS OF THE FEDERATION,
 ACCORDING TO THE EFI STANDARDS 5.6,
 IS GRANTED ACCREDITATION FOR HISTOCOMPATIBILITY TESTING

From **22 May 2010** To **22 May 2011**

ACCREDITATION CATEGORIES:

	Renal	Non-Renal
I Organ Transplantation:		
Recipient Typing	--	--
Antibody Screening	--	--
Antibody Identification	--	--
Donor Typing	--	--
Cross-matching	--	--
II Haematopoietic Stem Cell Transplantation:		
Donor Registry Typing	--	--
Related Donor Typing	--	Yes
Unrelated Donor Typing	--	Yes
Cord Blood Typing	--	Yes
Cross-matching	--	--
III Disease Association Studies	--	--
IV Transfusion	--	--

TECHNIQUES

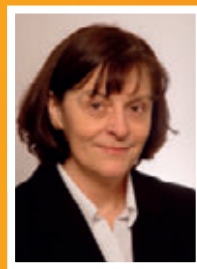
	CDC	Flow cytometry	DNA 2-digits	DNA 4-digits
I HLA-Typing:				
Class I	--	--	Yes	Yes
Class II	--	--	Yes	Yes
II Antibody testing:			ELISA	Bead array
Screening	--	--	--	--
Identification	--	--	--	--
Cross-matching	--	--	--	--


 Prof. Steven G.E. Marsh
PRESIDENT


 Prof. Gottfried F. Fischer
CHAIR, ACCREDITATION COMMITTEE

ODDĚLENÍ EXPERIMENTÁLNÍ VIROLOGIE

POČET ZAMĚSTNANCŮ:	34
LÉKAŘI:	2
VŠ OSTATNÍ:	22
LABORANTI:	5
SŠ OSTATNÍ:	1
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 papillomaviry 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 papillomaviry a polyomaviry 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 papillomaviry.

Řešená problematika v roce 2010

Laboratoř rekombinantních vakcín

Vedoucí laboratoře:
RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

Vakcíny proti proteinu WT1

V tomto roce jsme studovali vlastnosti a imunogennost rekombinantních vakcín proti autolognímu proteinu WT1 využitelných pro léčbu chronické myeloidní leukémie a dalších nádorů. Vakcíny jsou odvozeny od živého viru vakcinie, plasmidové DNA, nebo obsahují peptidy s imunogenními epitopy proteinu WT1. Testovali jsme vyvolanou imunitní odpověď a zkoušeli protinádorový efekt imunizace.

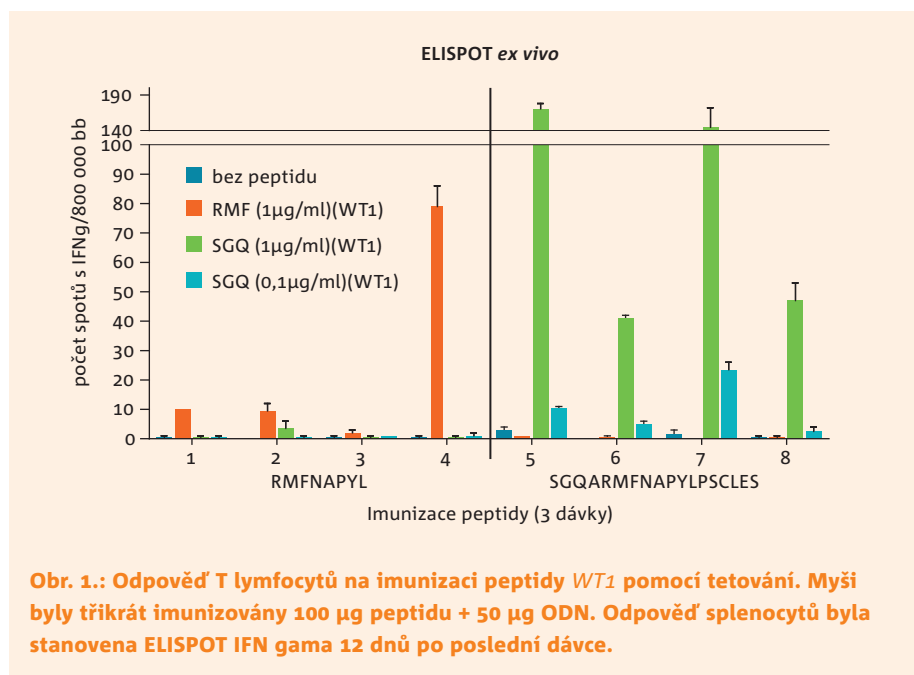
Vyzkoušeli jsme nový způsob imunizace syntetickými oligopeptidy pomocí tetování, jehož

účinnost byla dříve v naší laboratoři prověřena na modelu E7 onkoproteinu HPV16. Srovnali jsme odpověď splenocytů v testu ELISPOT na peptidy RMFPNAPYL (nonapeptid WT1), RMFPNAPYLKKGFYKKRCRPSKGRKQ (nonapeptid WT1 fúzovaný s pomocným peptidem z IGFBP3) a SGQARMFPNAPYLPSYLES (19ti peptid WT1). Nejvyšší odpověď jsme našli po imunizaci peptidem SGQARMFPNAPYLPSYLES (viz obr. 1).

V několika pokusech na myších jsme testovali protinádorový efekt rekombinantního viru vakcinie P13 WT1-GUS, který jsme připravili v loňském roce. Při preventivní imunizaci jsme našli slabý protinádorový efekt u viru P13 E/L WT1-GUS. Tento efekt se neprokázal v dalším pokusu při terapeutické imunizaci. Efekt imunizace se nepodařilo posílit ani pomocí protilátky proti PDL-1, která by měla chránit aktivované T-lymfocyty před inhibicí supresivní molekulou PD-1 přítomnou na membránách nádorových buněk. Zvýšení

účinnosti preventivní imunizace jsme nedosáhli ani podáním oligodeoxynukleotidů obsahujících CpG motivy (ODN), ani boosterem dávkou peptidu RMFPNAPYL.

Terapeutická imunizace peptidem SGQARMFPNAPYLPSYLES částečně inhibovala růst nádorů. Pozorovali jsme, že podání ODN vedlo k urychlení růstu nádorů. Při analýze tohoto jevu jsme zjistili, že ODN při imunizaci zvyšuje množství Treg (CD4+, CD25+, Foxp3+) v uzlinách. Nicméně, nízkou citlivost buněk TRAMP-C2 vůči efektu vakcín není možné přičíst pouze působení Treg neboť jejich odstranění vedlo ještě k většímu urychlení růstu nádorů. Nízká protinádorová účinnost všech doposud testovaných vakcín proti nádorům z buněk TRAMP-C2 pravděpodobně souvisí s imunosupresivními mechanismy těchto nádorů a proto plánujeme částečné terapeutické efekty imunizace posilovat současnou inhibicí mechanismů podílejících se na úniku imunitě. Budeme zkoušet možnosti jak snížit



efekty TGF beta, zvýšit expresi MHC I molekul pomocí interferonu gama a inhibitoru DNA metylace 5-azacytidinu.

Úpravy rekombinantního viru vakcinie pro zvýšení jejich imunogennosti při imunoterapii nádorů

Studovali jsme různé typy modifikace vakciniových vektorů pro léčbu nádorů, jejichž cílem bylo zvýšení aktivity buněk prezentujících antigen (APC). Sledovali jsme, jak exprese genu *Flt3l*, který je růstovým faktorem plasmacytoidních dendritických buněk, ovlivňuje množení a imunogennost viru. Dokončili jsme vývoj vakciniového vektoru, který nese gen pro rozpustný receptor TGF beta. Tento virus plánujeme použít při konstrukci vakcíny proti *WT1*, kde neutralizace TGF beta pomocí rozpustného receptoru by mohla zvyšovat terapeutický efekt imunizace proti *WT1*. Dokončili jsme studium vakciniového genu, který kóduje rozpustný inhibitor CC chemokinů (vCCI). Zjistili jsme, že produkce vCCI atenuuje virový vektor a potlačuje odpověď cytotoxických lymfocytů na imunizaci nádorovým antigenem. Dále jsme studovali efekt koexprese molekuly IGFBP3 na terapeutickou protinádorovou účinnost virového vektoru.

Studium lidského polyomaviru z karcinomu Merkelových buněk

Nový lidský polyomavirus MCPyV, nedávno objevený v karcinomu z Merkelových buněk může hrát zásadní roli při jeho vzniku. Naším cílem je získání znalostí o biologických vlastnostech MCPyV a jeho prevalenci v České republice. Zkonstruovali jsme vektory pro produkci hlavního strukturního kapsidového proteinu VP1, které jsme využili při produkci protilátky proti VP1 a přípravě purifikovaných VLP.

Připravili jsme DNA vakcínu proti proteinu VP1a imunizovali jsme s ní laboratorní myši. Získali jsme specifická antiséra proti VP1 proteinu, jejichž pozitivitu jsme ověřili pomocí Western blotu. Připravili jsme rekombinantní bakulovirus nesoucí gen *MCPyV VP1* a pomocí Western blotu jsme prokázali produkci tohoto proteinu v infikovaných hmyzích buňkách Sf9. Z hmyzích buněk produkujících protein VP1 jsme připravili viru podobné partikule (VLP), purifikovali je a vizualizovali pomocí elektronové mikroskopie. Tyto reagenci budou dále použity k testování protilátek proti polyomaviru MCPyV u imunokompetentních a imunosuprimovaných jedinců z České republiky.

Získali jsme 23 vzorků karcinomu z Merkelových buněk od 19 pacientů. Přítomnost MCPyV jsme prokázali pomocí protilátky specifické pro virový T-antigen. Virový protein

jsme našli u 13 (72,2%) z celkového počtu 18 zkoumaných pacientů. Z těchto parafinem fixovaných vzorků jsme izolovali veškerou DNA a nyní testujeme její integritu. U vybraných vzorků budeme metodou PCR detekovat přítomnost DNA viru MCPyV. Jako kontrolní vzorky použijeme vzorky DNA z melanomu.

Další data o výskytu viru MCPyV v České populaci jsme získali ze vzorků výplachů ústní dutiny od pacientů s nádory hlavy a krku a od kontrolních zdravých jedinců. Metodou nested PCR amplifikující gen malého t-antigenu MCPyV, jsme našli pozitivních 6 z 50 (12 %) pacientů s nádory hlavy a krku a 5 z 50 (10 %) zdravých jedinců. Dále jsme našli virovou DNA ve 3 (20 %) ze 20 cervikálních stěrů, z kolekce NRL pro papilomaviry. Provedli jsme sekvenční analýzu virové DNA z klinických vzorků.

Laboratoř molekulární onkologie

Vedoucí laboratoře:
RNDr. Michal Šmahel, Ph.D.

Pokračovali jsme zejména ve vývoji protinádorových DNA vakcín podávaných genovou pistolí. Tyto vakcíny jsou namířeny jednak proti vlastním nádorovým buňkám, jednak proti buňkám přítomným v nádorovém stromatu, které sice nejsou onkogenní, ale podporují růst nádoru svými produkty. Začali jsme také pracovat na projektu, ve kterém je imunizace namířena proti znakům nádorových kmenových buněk, které pravděpodobně významným způsobem přispívají k tvorbě metastáz, rezistenci k různým způsobům léčby a také relapsu onemocnění.

Využití levamisolu a imunostimulačních CpG motivů jako adjuvans při DNA vakcinaci genovou pistolí

V předchozích pokusech jsme prokázali posílení protinádorového účinku DNA vakcíny proti fúznímu proteinu BCR-ABL1 uplatňujícího se u vzniku chronické myeloidní leukemie

(CML) intraperitoneálním (i.p.) podáním levamisolu. Obdobný výsledek jsme nyní získali i po i.p. podání syntetického oligonukleotidu ODN1826 nesoucího imunostimulační CpG motivy. V dalším pokusu jsme proto testovali kombinaci obou látek ve třech množstvích. Růst nádorů byl však nejvíce potlačen při podání nejvyšší dávky samotných CpG motivů (50 µg). Neprokázali jsme tedy výhodnost kombinace levamisolu a CpG motivů. Zároveň se ukázalo, že CpG motivy jsou účinnějším adjuvans než levamisol.

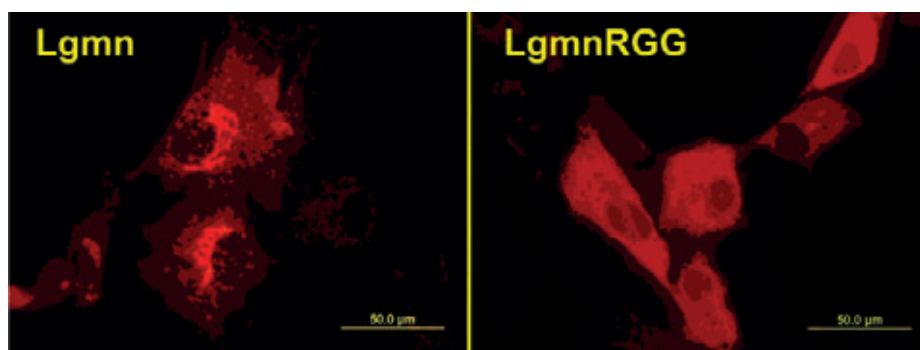
Analýza zastoupení antigenů u CML

Vakcinace proti nádorovým buňkám je jeden z přístupů, který by mohl vést k vyléčení pacientů s CML. Na základě publikovaných dat jsme proto sestavili seznam 162 antigenů, které byly prokázány u CML (CML-Ag162), a analýzou výsledků studií stanovujících transkripční profil jsme sledovali expresi těchto antigenů v buněčných liniích odvozených od CML, v různých fázích CML a v různých subpopulacích leukemických buněk se zaměřením na buňky kmenové. Z této analýzy jsme odvodili závěry, že vhodnými antigeny pro vývoj vakcíny by mohly být centrozomální proteiny RHAMM (HMMR) a aurora kinasa A (AURKA). Při progresi onemocnění by se pak mohla uplatnit zejména imunizace proti antigenům WT1 a PRAME.

Příprava DNA vakcíny proti antigenu PRAME

PRAME patří mezi tzv. CT (cancer/testis) antigeny, které se nevyskytují ve většině normálních buněk, ale k produkci dochází u některých typů nádorů. CT antigeny jsou tak vhodným vakcinačním cílem. Exprese PRAME byla zjištěna i u části pacientů s lymfomy nebo leukemiemi.

Pomocí RT-PCR jsme prokázali expresi genu PRAME v myších buňkách embryonálního karcinomu F9. Následně jsme cDNA odvozenou z tohoto genu naklonovali do imunizačního plasmidu pBSC. Pro zvýšení imunogenosti jsme na začátek genu připojili signální ➔



Obr. 2: Imunofluorescenční barvení legumainu (Lgmn) a jeho mutované formy (LgmnRGG) v transfekovaných NIH 3T3 buňkách.

sekvenci zajišťující lokalizaci proteinu do endoplasmatického retikula. Dále jsme připravili variantu opatřenou navíc lokalizačním signálem lysozomálního proteinu LAMP-1. Pro sledování indukce buněčné imunity připravenými konstrukty jsme u proteinu PRAME provedli počítačovou predikci výskytu epitopů vázajících se na molekuly MHC 1. třídy a aktivujících CD8⁺ lymfocyty T. Podle tří těchto epitopů jsme nechali nasyntetizovat peptidy, které využijeme ke zjišťování imunogenity připravených fúzních genů testy *in vitro*.

Vakcinace proti nádorovým makrofágům

Legumain je protein, který je ve zvýšeném množství produkován v nádorových makrofázích, které přispívají k růstu nádorů. Imunizace proti tomuto proteinu proto na myších modelech vznik a růst nádorů snižuje.

Imunohistochemickým barvením protilátkou proti legumainu jsme ověřili, že myší nádory vyvolané buňkami TC-1 obsahují makrofágy produkující legumain a že jsou tedy vhodným modelem pro studium imunizace proti legumainu. Z jednoho nádoru indukovaného buňkami TC-1 jsme získali RNA, ze které jsme připravili gen legumainu, který jsme naklonovali do plasmidu pBSC. Takto připravená DNA vakcína měla však jen slabý protinádorový účinek. Legumain (Lgmn) je totiž v buňkách lokalizován zejména v endozomech a lysozomech a jeho degradace v těchto kompartmentech a následná prezentace antigenních peptidů může být tedy nízká. Provedli jsme proto mutagenézu motivu RGD v legumainu. Důvodem této modifikace byl publikovaný poznatek, že změna motivu RGD v příbuzném proteinu, v proproteinové konvertase 1 (PC1), zvýšila degradaci proteinu a ovlivnila jeho buněčný přenos. Naše mutace v RGD legumainu zabránila u výsledného konstruktu LgmnRGG maturaci proteinu endopeptidasovým štěpením a vedla i ke změně charakteru imunofluorescenčního barvení transfekovaných buněk (Obr. 2). Tyto výsledky svědčí o tom, že mutace vyvolala změnu konformace legumainu a tím i změnu buněčné lokalizace. Stanovení imunogenity u genu *LgmnRGG* prokázalo její zvýšení v porovnání s nemodifikovaným genem.

Posílení účinnosti DNA vakcín přidáním pomocných epitopů z tetanového toxinu

V tetanovém toxinu (TT) byla identifikována řada „univerzálních“ pomocných epitopů stimulačních CD4⁺ T lymfocyty, které by mohly posílit účinnost DNA vakcín. Pro úvodní testování těchto epitopů jsme použili epitop

TT₉₄₇₋₉₆₇ (tj. 21 aminokyselin). Z plasmidu nosícího Fc fragment TT jsme získali jednak část (označovanou TT1s) kódující samotný epitop a dále úsek (označovaný TT1l) obsahující kromě sekvence kódující epitop i sekvence okolní (celkem kódující 40 aminokyselin). Sekvence TT1s a TT1l jsme připojili k různým formám papillomavirového onkogenu E7 a prokázali jsme produkci příslušných fúzních proteinů. Imunizační pokusy prokázaly aktivaci CD4⁺ T buněk sekvencemi TT1s a TT1l po připojení na oba konce genu E7GGG, přičemž účinek byl silnější u fúze s 5' koncem. Zároveň došlo k zesílení odpovědi E7-specifických CD8⁺ T lymfocytů. U konstruktů odvozených od genů Sig.E7GGG a Sig/E7GGG/LAMP-1, jejichž produkty jsou lokalizovány do endoplasmatického retikula a endozomů/lysozomů, byl vliv sekvencí TT1s a TT1l na aktivaci CD4⁺ T buněk slabý.

Vakcinace proti nádorovým kmenovým buňkám

Znaky nádorových kmenových buněk (NKB) nejsou dosud dostatečně charakterizovány. My jsme jako cíl pro imunizaci zvolili transkripční faktory NANOG a SOX2, které jsou normálně produkovány zejména v embryonálních buňkách, ve kterých přispívají k udržení jejich sebeobnovy, podobně jako v NKB některých typů lidských nádorů.

Pomocí linií myších embryonálních karcinomů F9 a P19 jsme zavedli metodiku stanovení exprese NANOG a SOX2 na úrovni mRNA a proteinů. V dalších myších nádorových liniích různého původu, které máme dostupné v laboratoři (MK16/ABC, TC-1, B16, B210, 12B1, EL-4, RMA), jsme pak testovali expresi NANOG. V žádné linii jsme však tuto expresi neprokázali.

Pro přípravu DNA vakcín proti NANOG a SOX2 jsme si nechali nasyntetizovat geny, u kterých byla provedena optimalizace kodónů. Ta má zvýšit produkci proteinů a tím i zesílit indukci imunitní odpovědi.

Laboratoř imunoterapie a genové terapie nádorů

Vedoucí laboratoře:
prof. MUDr. Vladimír Vonka, DrSc.

Pokračující charakteristika myších linií transformovaných fúzním genem *bcr-abl*

Zjistili jsme, že obě vyšetřované myší linie (B210 a 12B1), jež jsou modelem chronické myeloidní leukémie, jsou pozitivní na znak CD45. Buňky 12B1 jsou pozitivní na znak CD10, který neexprimují buňky B210. Naopak

buňky 12B1 jsou pozitivní na znak AA4, který chybí na buňkách B210. Tyto rozdíly svědčí o tom, že buňky zkoumaných linií se nacházejí na různém stupni diferenciace. Krom toho buňky B210 tvoří koinhibiční molekulu B7.H1, kterou jsme neprokázali na buňkách 12B1. S protilátkou ke koinhibiční molekule B7.H4 nereagují buňky ani jedné z obou linií. Vzhledem k tomu, že fúzní místo proteinu BCR-ABL nese imunodominantní epitopy a, jak jsme zjistili dříve, není s to vyvolat imunitu k čelení buňkami transformovanými fúzním genem *bcr-abl*, začali jsme pátrat v obou liniích po proteinech, které jsou produkovány v buňkách lidské chronické myeloidní leukémie (CML), a které jsou imunogenní. Pomocí metody Western blot jsme prozatím prokázali v obou liniích kinasu Aurora 1 (ARK-1), CML 66 a HSP-70. Proteiny Pr-3 a WT-1 tvoří v dokazatelném množství buňky ani jedné linie. Ve spolupráci s firmou Kinexus bylo provedeno vyšetření lyzátů obou linií pomocí protilátkových arrayů. Významné rozdíly byly zjištěny v expresi 31 proteinů. V současné době analyzujeme tyto nálezy. Předběžné výsledky naznačují, že většina ze zmíněných rozdílů je v souladu s biologickým chováním buněčných linií.

Studie s genově modifikovanými buňkami 12B1

Nejvíce pozornosti jsme věnovali zkoumání buněk tvořících cytokin GM-CSF. Jak už jsme zjistili dříve, tyto buňky neztrácejí patogenitu a zabíjejí očkováná zvířata rychleji než nemodifikované buňky, zřejmě v důsledku otravy velkým množstvím cytokinu. Vzhledem k tomu, že velká část protinádorových terapeutických vakcín vyvíjených ve světě je založena na nádorových buňkách produkujících GM-CSF, rozhodli jsme se zmíněné, původně náhodné pozorování podrobně prozkoumat. V pokusu, ve kterém byla sledována kinetika patologických změn jsme postupně zjišťovali vysoké hladiny cytokinu v krvi, které dosahovaly maxima (250 μg/ml) 16. den po inokulaci. Zvyšování hladiny cytokinu v krvi bylo provázeno prudkým nárůstem MDSC (myeloid derived suppressor cells, GR1⁺ CD11b⁺) v populaci splenocytů. Podobný jev jsme nepozorovali u zvířat paralelně očkových rodičovskými buňkami 12B1. Pátrali jsme rovněž po T reg buňkách. V obou skupinách zvířat byly v populaci splenocytů významně zvýšeny až 18. den po inokulaci a mezi skupinami nebyly významné rozdíly. Histopatologické vyšetření prokázalo poškození plic, jater, ledvin a srdce a zvětšení slezin zvířat.

Zvířata naočkováná buňkami 12B1 jsme se snažili léčit inaktivovanými, genově modifikovanými buňkami, které tvoří IL2 a GM-



CSF. Účinná byla pouze vakcína z buněk produkujících IL2, ale nikoli ve všech provedených pokusech. Prozatím se nám nepodařilo objasnit příčiny variability. Kombinace chemoterapie s imunoterapií byla jen částečně úspěšná.

Studie s genově modifikovanými, endostatin produkujícími buňkami B210

Do buněk jsme vnesli plasmid nesoucí geny pro myši endostatin (ES) a pro resistenci k blasticidinu. Transdukované buňky produkující ES jsme získali po kultivaci v přítomnosti blasticidinu. Z buněčné populace jsme isolovali klon, který tvořily ES. Pro zkoumání vlivu produkce ES na onkogenní vlastnosti buněk jsme vybrali klon s nejnižší a nejvyšší produkcí. Klon E3 s nízkou produkcí byl méně onkogenní než rodičovské buňky B210. Také vysokoprodukční klon E2 měl nižší schopnost vyvolat leukémii, ale po 30. dnu se u inokulovaných zvířat překvapivě začaly tvořit solidní nádory. Histologické vyšetření nádorů ukázalo silnou vaskularizaci. V dalších pokusech jsme testovali schopnost buněk produkujících ES navodit protekci vůči intravenózní čelení rodičovskými buňkami B210. Při imunizaci jsme využili našeho předchozího pozorování, že subkutánní podání buněk B210 vyvolává imunitu vůči intravenózně podané smrtelné dávce těchto buněk. V provedených pokusech byla schopnost vyvolat protekci stejná u buněk E2 a E3 jako u rodičovských buněk. Přeživší myši, které byly čelenžovány intravenózně buňkami E3, zůstaly zdravé.

Vyšetřování zkřížené imunity mezi buňkami B210 a 12B1

V rámci pokračující antigenní analýzy buněk B210 a 12B1 jsme provedli pokus o adoptivní přenos imunity. Splenocyty myši imunizovaných buňkami B210 jsme přenesli zvířatům, která byla očkována buňkami 12B1. Protekci se nepodařilo vyvolat. V jiném pokusu byla zkřížená imunita zkoumána pomocí cytotoxického testu. Splenocyty od zvířat imunizovaných inaktivovanými buňkami B210 lyzovaly homologní buňky, ale nikoli heterologní buňky 12B1. Tyto výsledky rozšiřují naše předchozí nálezy o významných rozdílech v antigenní struktuře zkoumaných buněčných linií.

Pokusy o inaktivaci faktorů, které tlumí uplatnění protinádorové imunity

Pokusili jsme se o vyřazení některých faktorů, které podporují růst nádorů, imunologickými prostředky. Konstruovali jsme plasmidy (na basi pBSC), které obsahují celý gen pro SDF-1 (stroma derived factor 1) a dva plasmidy, které nesou přibližně polovinu tohoto genu. Dále jsme konstruovali plasmidy nesoucí celý gen *HIF 1α* (hypoxia inducible factor 1α) a druhou polovinu tohoto genu. Plasmidy byly použity jako DNA vakcíny k imunizaci zvířat, která byla současně imunizována dvěma dávkami plasmidu nesoucí celý gen bcr-abl. (Tento způsob imunizace navozuje částečnou protekci vůči čelení buňkami 12B1.) Výsledky prvního pokusu ukazují, že imunizace první polovinou genu *SDF-1* zvýšila účinnost imunizace celým genem bcr-abl.

Rozdíly mezi nádory rostoucími na různých místech těla

K pokusů byly použity buňky 12B1, které tvoří rychle rostoucí nádory po subkutánním podání. Byla zvolena dvě místa: pravá laterální strana hrudníku a stehenní oblast. Cílem bylo prozkoumat vliv tlaku okolních tkání na růst, morfolonii, velikost a vaskularizaci nádorů. Nádory rostoucí na laterální straně hrudníku dosahovaly větších rozměrů (průměr 1,3 cm³) a jejich povrch byl bez nekrotických změn. Nádory v stehenní oblasti byly menší (průměr 0,7 cm³) a na jejich povrchu byly patrné nekrotické změny. Histologické a imunohistologické vyšetření prokázalo zvýšenou vaskularizaci a zvýšenou expresi *HIF 1α* v nádorech na laterální straně hrudníku. V expresi *HIF 1β* nebyly patrné rozdíly. Biochemické vyšetření prokázalo zvýšenou hladinu malondialdehydu (MDA) v hrudní oblasti.

Imunologické profily pacientů s CML

Dokončili jsme studii, v jejímž průběhu jsme dlouhodobě sledovali 15 parametrů nespecifické imunity u skupiny pacientů s CML. U těchto pacientů byly v době před zahájením terapie zjištěny různé typy alterací. Tendence k normalizaci při dosažení remise byla všeobecná. Z pozorování pokládáme za nejzajímavější posuny v hladinách imunoglobulinů (téměř u všech pacientů pokles hladin IgM), objevení se – často přechodné – autoprotilátek, pokles hladin CRP a zejména IL6, a podstatné zvýšení tvorby intracelulárních cytokinů v aktivovaných lymfocytech CD3+. Zjistili jsme i určité rozdíly v závislosti na použité terapii. Autoprotilátky byly častěji zjistitelné u pacientů léčených hydroxyureou a INFα, než u těch, kteří byli léčeni výhradně inhibitory tyrosinkinas (TKI). Též vzestup NK buněk byl častěji zjišťován u pacientů léčených výhradně TKI.

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 sčítu 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 roku 2006, by mohlo zamezit vzniku minimálně 34 % lehkých lézí, 63 % těžkých lézí, považovaných za pravé prekursor 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/žádnou účinnost vakcín u žen infikovaných vakcinálními 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 typy 16/18 dvanáct procent 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 papillomaviry a vznikem nádorů orální dutiny a orofaryngu. Obecně jsou nádory hlavy a krku zjevně vyvolány různými mechanismy a nádory vyvolané infekcí HR HPV (přibližně 25 %) tvoří etiologicky samostatnou skupinu. Výsledky naší studie ukazují, že pacienti s HPV DNA pozitivními nádory bývají spíše mladší, nekuřáci a abstinenti. Oproti tomu pacienti s HPV DNA negativními nádory se chovají v tomto směru značně rizikověji. Z klinického pohledu je důležité, 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 % tonzilárních 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

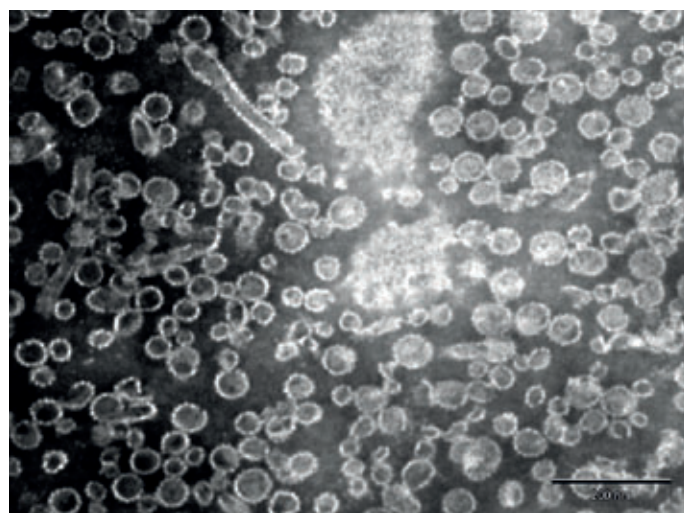
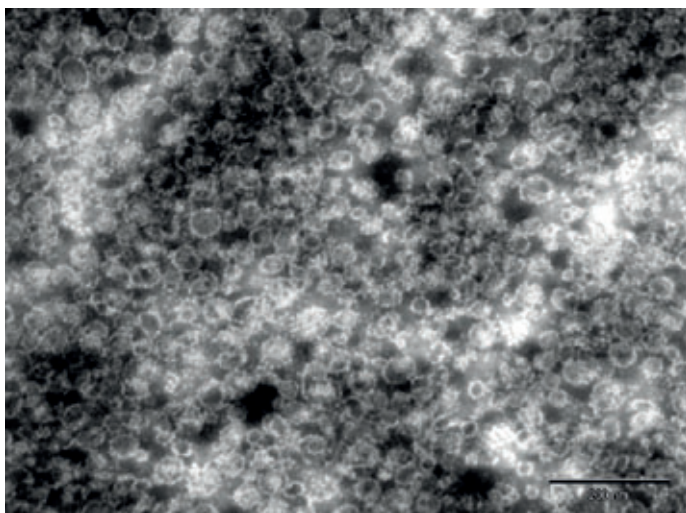
skupině tonzilárních nádorů jsme sledovali přítomnost dalších markerů exprese HPV. V HPV16 pozitivní podskupině jsme zjistili přítomnost mRNA kódující virově-specifický onkoprotein HPV16 E6 (93 %), přítomnost buněčného proteinu p16 (93 %) a přítomnost protilátek proti HPV16 E6 nebo dalšímu virovému onkoproteinu 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, kde jsme našli ani HPV16 E6 mRNA, ani protein p16 a pouze v jednom případě specifické protilátky proti HPV16 E7. Celkem v 97 % HPV pozitivních tonzilárních nádorů jsme našli alespoň jeden z markerů exprese viru. Mimo to jsme zjistili, že podobně jako u nádorů děložního čípku, i zde je ve většině případů virus přítomný v integrované formě. Nádory hrdla děložního s integrovanou formou HPV jsou obvykle agresivnější a manifestují se u mladších žen.

Další sledování by mělo ukázat, zda by tyto markery mohly být markery rekurence onemocnění. Výzkum nyní zaměřujeme na rozšíření studovaného souboru, sledování prognózy pacientů s HPV DNA pozitivními a negativními nádory, eventuálně sledováním odpovědi těchto pacientů na léčbu. Zaměřujeme se též na studium vlivu způsobu léčby v souvislosti s etiologií nádorů na přežívání pacientů. Prokazování těchto souvislostí je obsahem doktorské práce našich stážistů.

Efekt vakcinace proti HPV u pacientů s rekurentní laryngeální papillomatózou – je možné zlepšit kvalitu života těchto pacientů?

Ve spolupráci s Hlasovým centrem Praha provádíme studii efektu vakcinace proti HPV u pacientů s benigním onemocněním laryngu – rekurentní laryngeální papillomatózou (RLP), které je vyvoláno nízkorizikovými typy HPV, především typem 6. Přestože se jedná o benigní onemocnění, vyznačuje se značnou morbiditou a potenciální možností maligní konverze.

V našich předešlých studiích jsme ukázali, že pacienti s RLP často nemají protilátky proti typům HPV, které ji vyvolávají. Tyto protilátky se objevují až po několika chirurgických odstraněních papillomů (Tachezy et al., 1994). Předpokládáme, že aplikace vakcíny bude stimulovat robustní protilátkovou odpověď a navodit přítomnost neutralizačních protilátek na povrchu sliznice horních cest dýchacích. To by mělo vést k neutralizaci virových partikulí, produkováných v nově vznikajících papillomech, bránit tak jejich rozsevu a zároveň vyvolat snížení dávky infekčního viru, což by zpomalilo/inhibovalo růst asociovaných lézí.



Obr. 3: Elektronoptický snímek nově připravených kapsid (A VLP11; B VLP33).

U osob ve studii testujeme přítomnost a typovou specifitu viru v lézi a přítomnost HPV-specifických protilátek. Pacient vyplňuje dotazník týkající se rizikových faktorů vzniku onemocnění a je dokumentována jeho anamnéza. Pacienti jsou poté vakcinováni tetra-valentní vakcínou a hladina HPV-specifických protilátek je sledována v odstupu 1 měsíce po ukončení vakcinace a dále po roce. Zároveň sledujeme jejich klinický stav. Celé sledování by mělo být ukončeno po 5ti letech.

Efekt použití HPV vakcíny u pacienta s RLP jsme pozorovali již dvakrát. V obou případech se jednalo o dětskou formu RLP a vakcinace vyvolala podstatné prodloužení intervalu rekurencí.

Detekce specifické protilátkové odpovědi v lidských sérech

Provádíme detekci protilátek proti kapsidám (virus-like particles, VLP), tvořeným kapsidovými L1 proteiny HR typů (16, 18, 31, 33) a LR typů (6, 11) lidských papillomavirů (HPV). Protilátky proti kapsidovým antigenům vznikají po infekci HPV u části infikovaných a jejich prevalence stoupá se závažností onemocnění spojeného s infekcí těmito viry.

Vzrůstající prevalence je pravděpodobně důsledkem přetrvávající produktivní infekce – neustále se uvolňujících infekčních virionů z odlupujících se terminálně diferencovaných keratinocytů.

Příslušné antigeny (VLP) připravujeme v rekombinantním baculovirovém systému na hmyzích buňkách. V roce 2010 jsme započali s přípravou vlastních rekombinantních baculovirů s přesně definovaným insertem genu pro L1 protein (viz obr. 3).

Kromě protilátek proti kapsidám detekujeme u osob se závažnými lézemi, spojenými s infekcí HPV16, protilátky proti onkoproteinům

HPV16 E6 a E7, připraveným v bakteriálním expresním systému. Exprese časných proteinů při produktivní infekci HPV je velice omezená a nevede k indukci imunitní odpovědi. 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 hladinách 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 permissivních buňkách, který využívá schopnosti specifických neutralizačních protilátek zabránit vstupu homologních pseudovirionů, tvořených oběma kapsidovými proteiny L1 a L2 papillomavirů. 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 (PC) může být iniciován chronickou infekcí močového ústrojí. Vyšetřili jsme séra pacientů s PC a kontrolních mužů s benigní hyperplasií prostaty (BPH) na přítomnost protilátek proti virovým a bakteriálním agens, která mohou

urogenitální trakt infikovat (*HSV*, *CMV*, *HPV*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*). Kromě detekce protilátek proti HPV jsme přítomnost protilátek proti ostatním infekčním agens stanovovali pomocí komerčně dostupných *in vitro* diagnostik. Ve všech případech jsme použili metodu ELISA, kromě *Neisseria gonorrhoeae* (komplement-fixační test) a *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum* (nepřímá imunofluorescence).

Vyšetřovaný soubor obsahoval vzorky séra od 329 pacientů s PC a 105 kontrol s BPH. Statisticky významný rozdíl v prevalenci protilátek mezi skupinou mužů s PC a BPH jsme našli pro *Ureaplasma urealyticum* (19,5 vs 10,5 %, OR 2.06, 95 % CI 1.08-4.28, P 0.038), nevýznamně vyšší byla séroprevalence proti *Mycoplasma hominis* (18,2 vs 14,3%) a HPV6 (24,1 vs. 20,8 %). Vyšší prevalenci protilátek jsme našli ve skupině BPH pro CMV (86,7 vs. 80,2 % u PC), zároveň měli muži s BPH významně vyšší hladiny těchto protilátek. Prevalence protilátek proti vysokorizikovým typům HPV byla rovněž nevýznamně vyšší ve skupině mužů s BPH. Z dosažených výsledků vyplývá, že jedním z rizikových faktorů vzniku karcinomu prostaty by mohla být infekce Ureaplasma. Další patogeny, jejichž případnou úlohu ve vzniku tohoto nádorového onemocnění jsme sledovali, se pravděpodobně na vzniku PC nepodílejí. ■



OŠETŘOVATELSKÝ ÚSEK

PŘEDNOSTA:

MGR. LUCIE VYLITOVÁ

ZÁSTUPCE:

MGR. SIMONA BRIXÍOVÁ

CELKEM VŠEOBECNÝCH SESTER: 102

REGISTROVANÝCH DLE ZÁKONA 96/2004 SB.: 101

SE SPECIALIZACÍ ARIP/SIP: 20

SE SPECIALIZACÍ PRO ONKOLOGII: 8

SE SPECIALIZACÍ PRO TRF SLUŽBU: 7

SE SPECIALIZACÍ PRO OŠE. PÉČI O DOSPĚLÉ: 3

SE SPECIALIZACÍ PRO MANAGEMENT: 1

FYZIOTERAPEUT: 2

NUTRIČNÍ TERAPEUT: 1

ZDRAVOTNĚ-SOCIÁLNÍ PRACOVNÍK: 1

NEMOCNÍČNÍ KAPLAN: 1

OŠETŘOVATEL: 8

SANITÁŘ: 22

OSTATNÍ: 3



Přednosta:

Mgr. Lucie Vylitová



Zástupce přednosty:

Mgr. Simona Brixíová

Ošetrovateľský úsek se spolupodílí na tvorbě strategických cílů a plánů ústavu, stanovuje základní koncepci ošetrovateľské péče, metodicky přímo vede a řídí vedoucí sestry na jednotlivých úsecích a odděleních, řeší systémové otázky poskytování ošetrovateľské péče a zajišťuje program celoživotního vzdělávání ošetrovateľského personálu v ÚHKT.

Ošetrovateľský personál poskytuje komplexní základní a specializovanou ošetrovateľskou péči o pacienty ÚHKT, dárčům krevních složek je věnována zvláštní péče. Naším cílem je poskytování kvalitní a bezpečné péče, která je jasně definovaná standardy a je v souladu s moderním pojetím této 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 individuálním potřebám nemocných. V letošním roce jsme v rámci zkvalitňování celkové úrovně péče navázali úzkou spolupráci s nemocniční kaplankou, která pomáhá zajišťovat spirituální potřeby pacientů a jejich blízkých.

Ošetrovateľský personál významně participuje na procesu systematického a kontinuálního zvyšování kvality poskytované péče. Podstatně tak přispěl k získání mezinárodního

certifikátu JCI při červnovém reakreditačním šetření.

Odborná činnost NLZP (ošetrovateľský úsek)

Profesní rozvoj ošetrovateľského personálu probíhá v návaznosti na potřeby pacientů léčebných v ambulantní i lůžkové části ÚHKT. Sestry jsou do specializačního vzdělávání zařazovány průběžně s ohledem na provozní možnosti pracovišť. 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. V průběhu roku pořádáme vlastní odborné semináře a další vzdělávací akce.

Vzdělávací aktivity:

- Kurz: *Nozokomiální nákazy a moderní technologické postupy využívané při diagnostice a terapii* (IPVZ Praha, 3 sestry)
- Certifikovaný kurz: *Zvládání stresu a pracovní zátěže jako prevence syndromu vyhoření* (NCO NZO Brno, 2 sestry)
- Kurz: *Sestra a pacient se selháváním životních funkcí* (NCO NZO Brno, 8 sester)

- Certifikovaný kurz: *Komplexní péče o cévní vstupy* (FN Motol, 2 sestry)
- Certifikovaný kurz: *Nutriční péče a poradenství u pacientů s onkologickým onemocněním* (Brno, 1× nutriční terapeutka)
- Certifikovaný kurz: *Zajištění parenterální a enterální výživy* (FN Motol, Praha, 1 sestra)
- Certifikovaný kurz: *Ošetrovateľská péče v hematonekologii* (FN Plzeň, 2 sestry)
- Školící akce: *Evidence zdravotnických pracovníků* (IPVZ Praha, 1 sestra)
- Konference: *EKG v praxi* (NCO NZO Brno, 3 sestry)
- Konference: *Pacient a bolest* (NCO NZO Brno, 2 sestry)
- Kurz: *Péče o periferní žilní vstupy* (FN Motol, 6 sester)
- Konference: *Novinky v transfuzní službě* (NCONZO Brno, 2 sestry)

Účast na odborných akcích:

- XXII. Celostátní konference laborantů a sester (Harrachov, 10 sester)
- V. Českobudějovická odborná konference *Problematika hojení ran* (České Budějovice, 1 sestra)
- XXIV. Olomoucké hematologické dny (Olomouc, 9 sester)



- XVII. Slovensko-Česká konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí (Martin, Slovensko, 3 sestry – 1× aktivní účast, 2× spoluautor)
- Kongres ČAS: Možnosti individualizace nutriční péče o nemocné (Praha, 1 nutriční terapeutka)
- Konference: Bezpečná příprava a podání cytostatik (Praha, 5 sester)
- Kongres: Hygiena rukou – mezinárodní bezpečnostní cíl (Brno, 4 sestry)
- Konference: Sestra v ambulantní praxi I. (Praha, 3 sestry)
- Konference: Vliv ekonomické krize na zavádění kvality ve zdravotnickém zařízení (Praha, 1 sestra)
- Konference: Vzdělávání ve zdravotnictví (IPVZ Praha, 1 sestra)
- EBMT (Viedeň, Rakousko, 2 sestry)
- Konference: Cesta k modernímu ošetřovatelství (FN Motol, 8 sester)
- V. Brněnské hematologické dny (Brno, 13 sester)
- XI. Sesterský seminář EDIPO (Martinice u Březnice, 5 sester)

- Pražský hematologický den 2010 (Praha, 31 sester)
- Swisstransfusion 2010 Joint Congress (Interlaken, Switzerland, 2 sestry)

Dosažení vyšší kvalifikace:

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

Výuka:

Mgr. L. Vylitová

- 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze – vedení bakalářské práce

Mgr. S. Brixiová

- VZŠ, P 2, Ječná – vedení odborné praxe studentek
- Vysoká škola zdravotnictví a sociální práce sv. Alžbety, n.o. Bratislava, detašované pracoviště Příbram – vedení 2 bakalářských prací
- Vysoká škola zdravotnictví a sociální práce sv. Alžbety, n.o. Bratislava, detašované pracoviště Příbram – oponentura 6 bakalářských prací

Sestry transfuzního a aferetického oddělení

- VZŠ, Praha 2, Ječná 33 – vedení odborné praxe studentek

Sestry JIP a TJ, lůžkového oddělení a ambulance

- VZŠ, Praha 2, Ječná 33 – vedení odborné praxe studentek

LABORANTI

CELKOVÝ POČET LABORANTŮ:	91
REGISTROVANÝCH PODLE ZÁKONA 96/2004 SB:	72
ZDRAVOTNICKÝCH PRACOVNÍKŮ:	72
LABORANTŮ PRACUJÍCÍCH VE VÝZKUMU:	19



Vedoucí laborantka ÚHKT:
Jitka Němcová

V roce 2010 jsme úspěšně zakončili přípravu na akreditaci laboratorního komplementu ČIA a dne 11. 3. 2010 obdrželi *Osvědčení o akreditaci č. 109/2010*. Toto osvědčení je platné do 7. 1. 2013. Současně se v tomto roce podařilo ÚHKT obhájit *mezinárodní akreditaci JCI* a získat tak statut bezpečného zdravotnického zařízení.

V roce 2010 skončila některým kolegyním laborantkám *Registrace* – opravňující zdravotnické pracovníky pracovat bez odborného dohledu, bylo proto zapotřebí požádat o její prodloužení. Vzhledem k pilným návštěvám nabízených vzdělávacích aktivit v tomto roce i v letech předešlých, nebyl problém získat prodloužení Registrace na příštích 6 let a pracovat nadále bez odborného dohledu.

Vzdělávací aktivity:

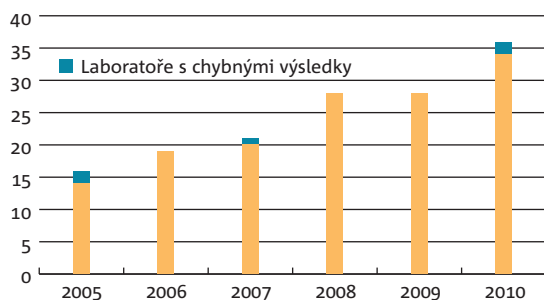
- Konference: Banka pupečnickové krve ČR 2010

- Odborná konference ÚVN, Praha
- Odborný seminář – Hemaferéza – vysoce účinná separační technika v terapii nemocných
- Celostátní pracovní konference FN Motol
- Pracovní konference biochemických laborantů – Kardiovaskulární diagnostika – Praha Lékařský dům
- Odborná konference – FN Motol
- Pracovní konference biochemických laborantů – Dědičné metabolické poruchy – Praha Lékařský dům
- Odborná konference zdravotních laborantů – Kvalitní práce komplementu – součást kvalitní diagnostiky – ÚVN Praha
- Odborná konference ČAS sekce ZL ve spolupráci s Úsekem ošetřovatelské péče – VFN Praha
- 43. výroční cytogenetická konference – Ostravice
- Odborný seminář – Brněnský genetický den – Brno Bohunice

Účast na odborných akcích:

- XXII. Celostátní pracovní konference laborantů a sester v hematologii – Harrachovky 2010 – Špindlerův Mlýn
- X. a XI. Česko-slovenská konference laboratorní hematologie s mezinárodní účastí – Hradec Králové
- XXIV. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí.
- XIV. Konference ošetřovatelských profesí v hematologii
- XIII. Konference zdravotních laborantů v hematologii
- Sympozium: Pražský hematologický den
- 3. národní kongres ČSTH ČSL JEP 2010 – Praha
- 14. celostátní konference DNA diagnostiky – Brno

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



Počet laboratoří zúčastněných v EQA – trombofilní markery v letech (2005–2010).



Vedoucí laboratoře:
RNDr. Ingrid Hrachovinová

Vedoucí NRL pro poruchy hemostázy prováděla supervizi nad pořádáním externí kontroly kvality práce v koagulačních metodikách v České republice organizovanou SEKK, s. r. o. (www.sekk.cz). Laboratoř připravovala vzorky pro dva cykly EQA-SEKK testování specializovaných metodik HS10/01 a HS10/02 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 95 laboratoří.

Pro Národní referenční laboratoř DNA metodik pracovníci laboratoře organizovali a připravovali vzorky pro každoroční kontrolu kvality práce v DNA metodikách pro stanovení FV Leiden, protrombinové mutace 20210A, MTHFR 677T. Dvacátého cyklu EQA – trombofilní genetické markery se zúčastnilo

34 DNA laboratoří z České i Slovenské republiky. Na grafu je znázorněn výrazný nárůst laboratoří účastnících se této EQA. Referenční laboratoř testovala kvalitu koagulačních reagentů, které se zavádějí na český trh. NRL patří mezi celosvětové laboratoře, které testují mezinárodní standardy, případně nové laboratorní metodiky; v letošním roce to byly standardy FVIII pro NIBSC (*National Institute for Biological Standards and Control*). ■

Referenční laboratoř pro imunohematologii

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 imunohematologických komplikací v těhotenství. Imunohematologická diagnostika je rozšiřována o molekulárně-biologické metody, včetně genotypování krevních skupin pomocí *microarray* (BloodChip).

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 krví v ÚVN. Přispívá do Mezinárodního registru vzácných dárců v Bristolu, UK. Má také 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 imunohematologických pracovišť při ověřování neobvyklých nálezů.

V laboratoři jsou ověřovány nově zaváděné reagenty a systémy na stanovení krevních znaků a protilátek. Provádí se příprava vzorků a dozor nad systémem externí kontroly kvality imunohematologických vyšetření v České republice (se zahraniční účastí – SR, Rusko) – SEKK cykly *Imunohematologie* (www.sekk.cz).



Vedoucí laboratoře:
MUDr. Martin Písačka

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 imunohematologie. ■

Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku



Vedoucí laboratoře:
RNDr. Marie Dobrovolná



Zástupce vedoucího:
prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.



Manažer jakosti:
Ing. Milena Vraná



Metrolog:
Ing. Eva Otáhalová

TECHNIČTÍ VEDOUČÍ:

SOP 01: Mgr. Hana Žižková, Ph.D.

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

V roce 2010 prošla **Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku** ÚHKÚ úspěšně reakreditací 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
- **SOP 03:** stanovení přítomnosti genu *BCR-ABL*
- **SOP 04:** molekulární monitorování transkriptu *BCR-ABL* a detekce mutací v tyrozinkináze 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 kladebných na zkoušky prováděné v akreditovaném rozsahu.

Činnosti spojené se statutem akreditované laboratoře:

SOP 01 se zabývá vyšetřením buněčného chimerismu po alogenní HSCT a v roce 2010 zpracovala celkem **2894 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.

Pokračovala činnost pilotního pracoviště pro MPZ: Kvantitativní vyšetření buněčného chimerismu po alogenní transplantaci krvetvorných buněk, zúčastnilo se 5 laboratoří a účast v MPZ: Stanovení pohlaví.

SOP 02 provádí kvantifikaci exprese genu *WT1* u pacientů s AML a MDS. V průběhu roku bylo vyšetřeno **1163 primárních vzorků**. V souboru vyšetřovaných pacientů je zahrnuto i vyšetřování exprese genu *WT1* u 21 pacientů s ALL. Ve spolupráci s klinickým oddělením bylo zavedeno stanovení exprese genu *WT1* před transplantací a exprese genu *WT1* je standardně sledována po provedení transplantace jakožto vysoce citlivý marker MRN.

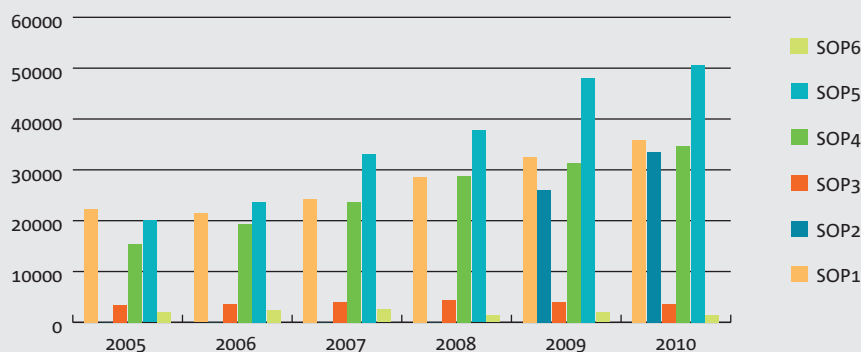
SOP 03 se zabývá diagnostickým vyšetřením fúzního genu *BCR-ABL* metodou multiplex RT-PCR jako diagnostického markeru chronické myeloidní leukémie. V roce 2010 vyšetřila **203 diagnostických vzorků**. Pomocí

nově akreditovaného zrychleného postupu pro statimová vyšetření bylo vyšetřeno 20 statimových vzorků. Skupina organizovala mezilaboratorní porovnání vzorků Diagnostické vyšetření fúzního genu *BCR-ABL* – varianta major, kterého se zúčastnilo 10 laboratoří. V roce 2010 začala skupina participovat v mezinárodním projektu *ENEST1st* (2010–2013), v rámci kterého určuje typ přestavby *BCR-ABL*.

SOP 04 v roce 2010 provedla celkem **1273** vyšetření molekulárního monitorování *BCR-ABL*, což představuje 11% navýšení oproti roku 2009. Z těchto vyšetření bylo **114** vzorků podrobeno analýze mutací v kinasové doméně genu *BCR-ABL*, což je oproti roku 2009 nárůst o 120 %.

Laboratoř je pilotním pracovištěm pro mezilaboratorní porovnávání zkoušek (MPZ) v rámci Národního programu zkoušení způsobilosti pro oblast kvantitativního stanovení hladiny transkriptů *BCR-ABL* (akreditace ČIA, Praha) a zároveň koordinátorem standardizace molekulárního monitorování pacientů s CML pro ČR v rámci mezinárodní standardizace mezi zeměmi EU pod záštitou *European Leukemia-Net* (projekt *EUTOS for CML – Molecular Monitoring*). Na základě této kvalifikace provedla laboratoř externí kontrolu a porovnání výsledků molekulárního monitorování transkriptů *BCR-ABL* laboratoří v České republice.

V roce 2010 začala skupina participovat v mezinárodním projektu *ENEST1st* (2010–2013),



Graf trendu nárůstu akreditovaných vyšetření (v bodových hodnotách zdravotních pojišťoven).



v rámci kterého kvantifikuje hladinu *BCR-ABL* transkriptu a detekuje mutace v kinasové doméně *BCR-ABL* u 64 pacientů rekrutovaných do klinické studie v rámci ČR, SR a HU. Dále zahájila spolupráci v mezinárodním projektu *EUTOS for CML*, v rámci kterého se aktivně podílí na standardizaci monitorování kompletní molekulární remise.

SOP 05 – V roce 2010 bylo v laboratoři přijato **1213** primárních vzorků, z toho 372 pacientů, 351 jejich příbuzných, 147 nepřibuzných dárců (MUD) ze zahraničních registrů a 82 nepřibuzných dárců z českých registrů. Dále bylo vyšetřeno 92 pacientů s narkolepsií a 169 vzorků vyizolované DNA bylo testováno na HLA-B*5701 pozitivitu.

Skupina HLA genotypizace úspěšně prošla reakreditačním šetřením *European Federation for Immunogenetics* a byla jí prodloužena akreditace u této mezinárodní organizace.

Laboratoř organizovala MPZ pro testování HLA znaků v asociaci s onemocněními (revmatoidní artritida, celiakie, narkolepsie), kterého se zúčastnilo 8 laboratoří z ČR. Výsledky byly referovány Ing. Vranou na *14. Celostátní konferenci DNA diagnostiky*.

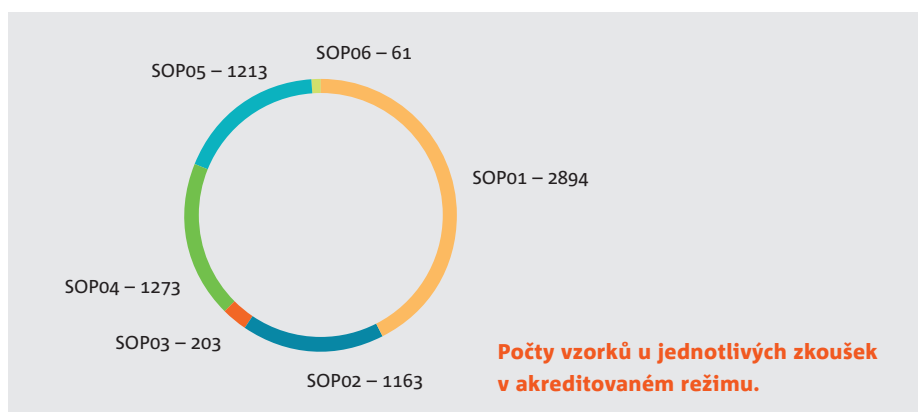
SOP 06 zabývající se *stanovením klonality* zpracovala v roce 2010 **61** primárních vzorků od 58 pacientů, u kterých byla stanovena klonalita. Pracovnice této SOP se podílely na rozvoji aplikace biočipových technologií pro

studium onkohematologických onemocnění v rámci činnosti Laboratoře genomiky společného pracoviště ÚHKT 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 ÚHKT, 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 ÚHKT. ■



Kalibrační centrum ÚHKT



Vedoucí centra:
RNDr. Marie Dobrovolná



Zástupce a manažerka kvality:
Ing. Milena Vraná



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 pístových pipet v laboratořích Komplementu laboratoří ÚHKT a NRL pro DNA diagnostiku za provozně výhodnějších podmínek, než nabízí komerční poskytovatelé těchto služeb. Pro svou činnost v plánovaném akreditovaném

režimu Kalibrační centrum sdílí 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 centrum bylo v roce 2009 akreditováno *Českým institutem pro akreditaci o. p. s.* v Praze, jako kalibrační laboratoř pro kalibraci

pístových pipet v rozsahu 1–10000 µl, registrovaná pod číslem 2353 dle ČSN EN ISO/IEC 17025 a tento statut v roce 2010 úspěšně obhájilo během pravidelné dozorové návštěvy ČIA o. p. s. ■



Kalibrační přístroj Mettler Toledo XP26PC.



Koordinační centrum genetických laboratoří

V roce 2010 pokračovalo **Centrum** v do-
savadní činnosti t.j. v udržování databáze
genetických laboratoří tak, aby vystavené
údaje nebyly starší než jeden rok, což vy-
žadovalo značné úsilí a často opakované
upomínky. Současně se snažilo v souladu
s názorem výboru *Společnosti lékařské gene-
tiky při České lék. spol. JEP* údaje o činnosti
jednotlivých laboratoří rozšířit tak, aby byla
zvýšena jejich užitná hodnota např. vlože-
ním údajů o množství provedených vyšetření
a jejich personálním zajištění. Samozřejmou
hodnotou vypovídající o kvalitě evidovaných
laboratoří jsou údaje o akreditaci a účasti
v externí kontrole kvality.

Během roku 2010 stoupl počet evidovaných
laboratoří nabízejících molekulárně gene-
tická vyšetření na 62 a nabízená vyšetření pře-
kročila počet 450. I tak nejsou v evidenci Ko-
ordinačního centra všechny laboratoře ope-
rující na území republiky, kromě domácích



Vedoucí:
prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

(přihlášení je dobrovolné) i laboratoře zahra-
niční, které mají v současnosti možnost nabí-
zet své služby i na území cizích států, přede-
vším v rámci EU.

Kromě Směrnic pro správnou laboratorní
praxi, jejichž rozšiřování bylo ukončeno již
v minulých letech pro zastavení podpory
ze strany MZČR (grant Kvalita), které se dařilo
udržovat částečně a jen díky ochotě některých
laboratoří, i v roce 2010 byla organizována
řada schemat externí kontroly kvality, jejichž



Zástupce vedoucího:
prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.

závěrečné hodnocení bylo součástí XIV. *Ce-
lostátní konference DNA diagnostiky*, která
se uskutečnila koncem listopadu v Brně.

Centrum pokračovalo ve spolupráci se zahra-
ničnímu subjektu zabývajícím se obdobnou
problematikou: *GeneTests*, *EMQN*, *Eurogen-
test* a *Orphanet* a na domácím poli s *Radou
pro akreditaci klinických laboratoří při České
lékařské společnosti JEP*. ■

Národní referenční laboratoř pro papillomaviry

NRL pro papillomaviry provádí klinickou di-
agnostiku HPV infekcí anogenitálního traktu.
Laboratoř získala certifikát akreditované labo-
ratoře dle ISO 15 189 pro dvě SOP. Vedle SOP
laboratoř využívá pro diagnostiku a výzkum
řadu dalších metod, jak komerčních, tak pře-
vzatých, případně modifikovaných. Kromě
stanovení slizničních typů papillomavirů vy-
šetřujeme materiály také na přítomnost kož-
ních typů a dále zvířecích papillomavirů me-
tadou, která umožňuje detekovat i vzdáleně
příbuzné izoláty těchto virů. Pro detekci zví-
řecích papillomavirů laboratoř dlouhodobě
spolupracuje s *virologickou laboratoří Rega
Institutu, Univerzity v Leuven, v Belgii*.

Kromě molekulárně-biologických metod de-
tekce virové infekce laboratoř stanovuje pří-
tomnost specifických protilátek proti nejroz-
šířenějším typům HPV a zavádí a testuje nové
metody sérologické detekce. Tyto metody
využívá převážně pro výzkumné účely, ale
nyní v souvislosti s očkováním proti HPV i pro
účely diagnostické. NRL testuje komerční
soupravy pro stanovení HPV infekcí, přípra-
vuje vzorky pro externí hodnocení kvality
terénních laboratoří a poskytuje konzultační
a školicí služby.



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

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 tech-
niky určené pro specializované laboratoře. La-
boratoř se dále aktivně zapojuje do sítě labo-
ratoří organizované WHO. Výsledky první srovná-
vací studie z roku 2008 zaměřené na přesnost
laboratorních metod pro HPV detekci a typizaci
byly publikovány na adrese [http://www.who.
int/biologicals/vaccines/hpv/en/index.html](http://www.who.int/biologicals/vaccines/hpv/en/index.html).
V roce 2010 se NRL účastnila druhé srovnávací
studie a výsledky jsou nyní připravované pro
publikaci. Laboratoř velmi intenzivně spolu-
pracuje s *European Cervical Cancer Association*
(www.ecca.fr/cs), již je ÚHKT reprezentovaný
NRL od roku 2005 členem.

V roce 2010 laboratoř připravila vzorky
EHK pro téměř 40 laboratoří. Každoročně



Zástupce vedoucího:
RNDr. Jana Šmahelová

laboratoř pořádá *Konzultační den pro pra-
covníky terénních laboratoří a lékaře*, kteří
se s problematikou infekce HPV ve své praxi
setkávají. V roce 2010 byla konference věno-
vaná historii Oddělení experimentální viro-
logie u příležitosti životního jubilea jeho za-
kladatele, profesora MUDr. Vladimíra Vonky,
DrSc. Na konferenci bylo předneseno 9 před-
nášek pro více než 120 účastníků. V roce 2010
se pracovníci laboratoře účastnili aktivně
vzdělávacích kampaní laické i odborné veřej-
nosti zaměřené na prevenci karcinomu hrdla
děložního. Laboratoř má pět vysokoškolsky
vzdělaných pracovníků se zdravotnickou re-
gistrací a dva středoškolsky vzdělané pracov-
níky bez registrace. ■

KOMPLEMENT LABORATOŘÍ

VRCHOLOVÉ VEDENÍ KOMPLEMENTU LABORATOŘÍ ÚHKT



prof. Ing.
Jan E. Dyr, DrSc.



RNDr.
Marie Dobrovolná



Hana Feixová



doc. MUDr.
Petr Cetkovský,
Ph.D., MBA



doc. MUDr.
Zdenka Gašová,
CSc.

1. března 2010 bylo Komplementu laboratoří ÚHKT uděleno osvědčení o akreditaci.

Komplement laboratoří ÚHKT je tvořen laboratořemi z klinického, transfuziologického i výzkumného úseku. Na vrcholovém vedení se podílejí přednostové těchto tří úseků ÚHKT, kteří řídí a odpovídají za procesy související s vykonáváním laboratorních vyšetření a jejich klinických interpretací.

Vrcholové vedení Komplementu laboratoří ÚHKT

- Vedoucí Komplementu laboratoří:
prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- Zástupce vedoucího Komplementu laboratoří: **RNDr. Marie Dobrovolná**
- Manažer kvality Komplementu laboratoří:
Hana Feixová
- Přednosta klinického úseku:
doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D., MBA
- Přednosta transfuziologického úseku:
doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
- Přednosta výzkumného úseku:
prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.

V roce 2010 prošel Komplement laboratoří ÚHKT úspěšně akreditačním šetřením ČIA a posouzením podle normy **ČSN EN ISO 15189:2007 pod č. 8081, osvědčení o akreditaci č. 109/2010.**

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

Klinický úsek

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

Transfuziologický úsek

- Laboratoř prevence virových nákaz
- Odběrová laboratoř
- Oddělení imunohematologie (NRL pro imunohematologii)
- HLA serologie

Výzkumný úsek

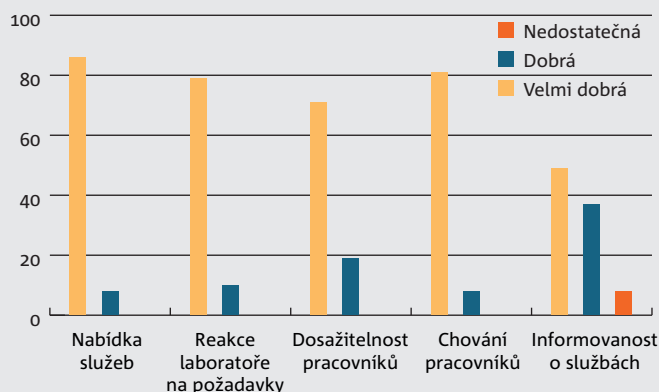
- Oddělení buněčné fyziologie
- Oddělení biochemie
- Národní referenční laboratoř pro papillomaviry

Společné pracoviště ÚHKT a VFN Praha

- Oddělení cytogenetiky

Během akreditačního řízení bylo posouzeno celkem 31 standardních operačních postupů (SOP) jednotlivých vyšetření a bylo shledáno, že laboratoře pracují na vysoké odborné úrovni a splňují požadavky normy pro činnost zdravotnických laboratoří.

Dodržování nastavených procesů bylo následně prověřováno v rámci interních auditů a případné neshody byly řešeny pomocí nápravných opatření, jejichž funkčnost a efektivnost byla hodnocena při přezkoumání SM vrcholovým vedením. V hodnoceném období za rok 2010 bylo uskutečněno 35 plánovaných interních auditů.



Hodnocení zpětné vazby od zákazníků včetně stížností

a informací od klinických pracovníků: Jednotlivé laboratoře Komplementu laboratoří ÚHKT monitorovaly spokojenost zákazníka (žadatele o vyšetření) v období leden–prosinec 2010 prostřednictvím dotazníku F_SMJ_15 Hodnocení laboratoře. Dotazník obsahoval otázky týkající se nabídky služeb, reakcí laboratoře na požadavky zákazníka, dostupnosti a chování osob pracujících v laboratoři, informovanosti o službách a akcích laboratoří.



Byl nastaven program dalšího zlepšování který je průběžně realizován.

Soulad mezi požadavky normy ČSN EN ISO 15189:2007 a požadavky dalších systémů kvality (JCI, SÚKL, EFI) či požadavky odborných společností je sledován Odborem kvality ÚHKT.

Ukazatele kvality – pro sledování příspěvku laboratoře k péči o pacienta

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

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

Náročným úkolem části akreditovaných klinických laboratoří bylo zajištění provozu v průběhu rekonstrukce stávajících prostor. Nové prostory přinášejí výrazné zlepšení provozních podmínek a dávají předpoklad dalšího rozvoje těchto laboratoří.

Z celkového hodnocení monitorování zpětné vazby od zákazníka (žadatele o vyšetření) je patrné, že za období roku 2010 byli žadatelé o vyšetření spokojeni s nabídkou poskytovaných služeb. Mírná nespokojenost byla pouze v oblasti informovanosti o poskytování služeb.

- V průběhu roku 2010 nebyly řešeny žádné stížnosti ze strany zákazníka ani ze strany pracovníků Komplementu laboratoří ÚHKT.
- Vedoucí laboratoří a lékaři se účastnili setkání s žadateli o vyšetření, na kterých se vzá-

jemně informovali o výsledcích laboratorních vyšetření v diagnostické péči o pacienta.

Zhodnocení výsledků externího hodnocení kvality a jiných forem mezilaboratorního porovnávání

Všechny laboratoře Komplementu laboratoří ÚHKT úspěšně splnily plán EHK za rok 2010.

Požadavky na objem vzorku

Požadavky na objem potřebného vzorku byly hodnoceny vedoucími laboratoří 1x ročně, kdy byl hodnocen počet zadaných vyšetření, která nebylo možno provést z důvodu nedostatečného objemu vzorku. Snahou laboratoří akreditovaného Komplementu laboratoří je co nejšetrnější přístup k pacientovi, který vytváří tlak na inovaci přístrojových platform a zvyšování výpovědní hodnoty používaných technik bez nutnosti zvyšovat požadavky na množství primárních biologických vzorků. Proto se tento parametr stal i jedním z hledisek pro nákup nových zařízení.

O aktuálních požadavcích na odběr primárních vzorků je žadatel vždy informován prostřednictvím „Laboratorní příručky“ vystavené na webových stránkách.

- Odborné vedení laboratoře v souvislosti s přezkoumáním metod laboratorního vyšetření (1x ročně) přezkoumává biologické referenční rozmezí dle stanovisek odborných společností nebo při změně postupu laboratorního vyšetření.

Zhodnocení neustálého zlepšování a ukazatele kvality

Komplement laboratoří ÚHKT má plán zlepšování zaváděn formou cílů kvality,

konkrétních úkolů pro pracovníky a stanovením Plánu vzdělávání. Základní postup pro zlepšování je stanoven v Cílech kvality na rok 2010–2012, které jsou průběžně naplňované a vyhodnocované.

Jedním z významných podnětů pro zlepšování je i výsledek dozorového akreditačního auditu včetně formulovaných doporučení.

Cíle systému managementu kvality Komplementu laboratoří

Přezkoumání je provedeno v souladu se systémem managementu dle normy ČSN EN ISO 15189 a platných standardů Joint Commission International relevantních s činností Komplementu laboratoří ÚHKT.

Přezkoumání systému managementu pomáhá KL ÚHKT rozvíjet a zlepšovat jeho systém kvality a je dalším pracovním nástrojem pro dosažení souladu managementu a organizace.

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. ■



PROVOZNĚ-EKONOMICKÝ ÚSEK

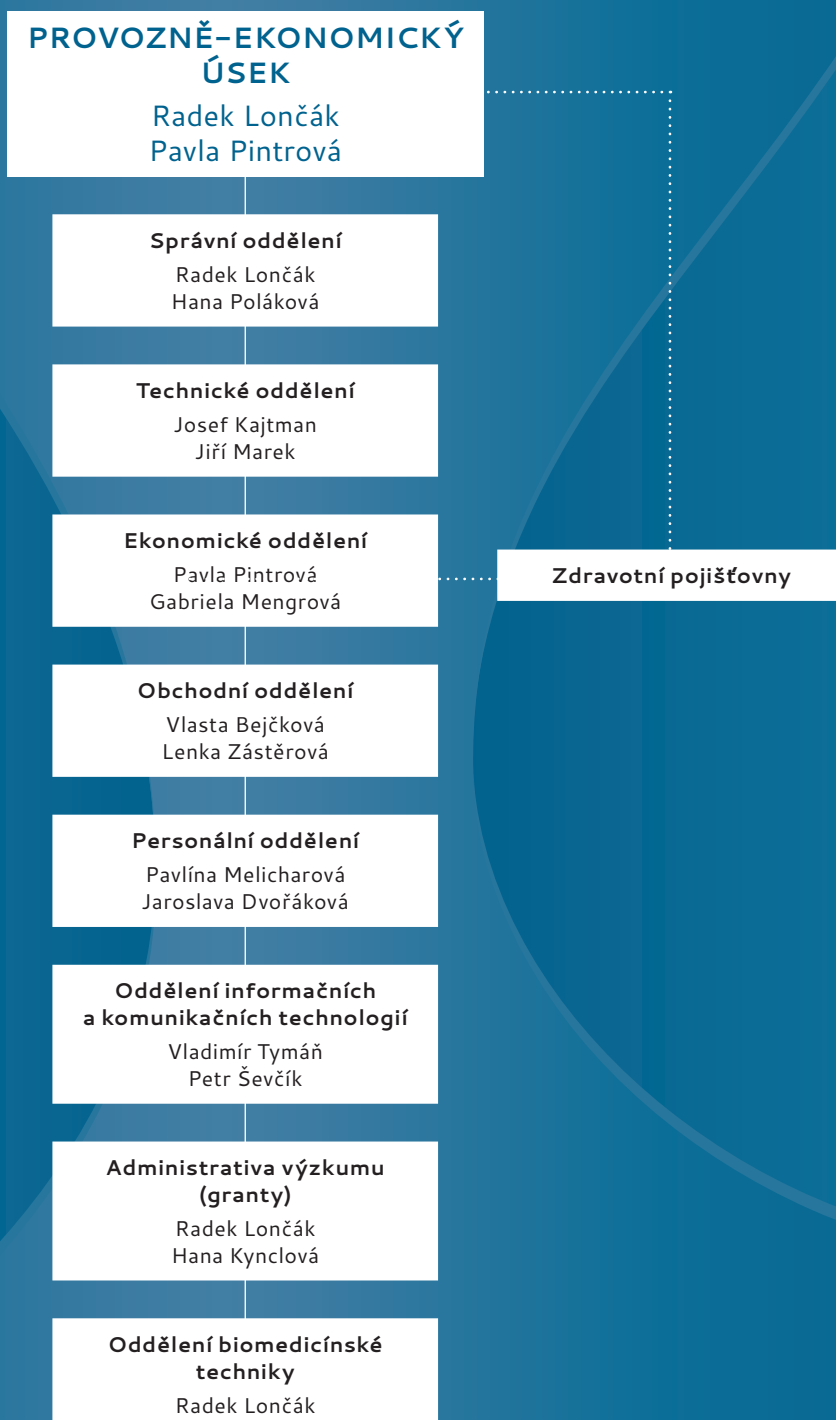
POČET ZAMĚSTNANCŮ:	43
VŠ CELKEM:	9
SŠ CELKEM:	22
OSTATNÍ PERSONÁL:	12



Přednosta:
Ing. Radek Lončák, MBA



Zástupce přednosty:
Ing. Pavla Pintrová





Základním úkolem **provozně-ekonomického úseku** je zajištění komplexní provozní a ekonomické podpory činností a služeb Ústavu hematologie a krevní transfúze. Vytváří a zabezpečuje činnosti ústavu v oblastech technických, ekonomických, obchodních, personálních a správních. Poskytuje komplexní službu ostatním výkonovým úsekům ústavu s cílem dosáhnout efektivnějšího zajištění jejich produkce zdravotní péče a výzkumu k dosažení nejlepších výsledků a ekonomizace jednotlivých procesů.

Provozně-ekonomický úsek v 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, podatelna)

Provozně-ekonomický úsek provedl v roce 2010 mnoho ekonomických a provozních opatření reagujících na složitou finanční situaci ve zdravotnictví. V rámci předchozích analýz byla zahájena příprava a realizace několika výběrových řízení na dodávky produktů a služeb. Na jejich základě došlo k finančním úsporám již v průběhu roku. Byl tak nastaven trend k řízení centralizaci některých služeb a procesů s dosažením zvýšení produktivity a efektivnosti činností a nákupů.

Zcela specifickou činností provozně-ekonomického úseku byla příprava a následná realizace velké investiční akce, REKONSTRUKCE KOMPLEMENTU, která svým rozsahem zasahuje i do následujícího roku 2011. Tato akce byla financována za účasti státního rozpočtu. V první polovině roku proběhla cílená příprava a vlastní výběrové řízení na zhotovitele.

Poté byla v průběhu července zahájena vlastní rekonstrukce, která byla rozdělena do tří etap. Vyvrcholením celé rekonstrukce bude dokončení stavby „čistých prostor“ s kvalitou třídy B.

Rekonstrukcí prostor komplementu pokračují stavební úpravy prováděné v objektu budovy B (ÚHKT) v rámci rekonstrukce ambulancí hematologie, která byla dokončena v roce 2006. Stávající prostory komplementu a jejich dispoziční řešení jsou z důvodů současných technologických procesů a nároků na tato oddělení zcela nevyhovující. Změnou dispozičního řešení bude dosaženo souladu s požadavky SÚKL. Dalším cílem rekonstrukce je změna dispozic provozů a laboratoří. Jejich přemístěním se zlepší provozní propojení a vazby jednotlivých pracovišť a zároveň budou uspokojeny zvyšující se prostorové nároky některých oddělení, které jsou v současné době ve svém rozvoji, z důvodu neuspokojivého prostorového uspořádání, omezeny. ■

EKONOMICKÉ ODDĚLENÍ

POČET ZAMĚSTNANCŮ: 9

VŠ CELKEM: 2

SŠ CELKEM: 7



Vedoucí oddělení:
Ing. Pavla Pintrová



Zástupce vedoucího:
Ing. Gabriela Mengrová

Posláním ekonomického oddělení je poskytovat odbornou podporu vedení a pracovníkům ústavu v ekonomických činnostech a vztazích. Nejdůležitějším úkolem 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 toho důvodu je do pracoviště účtáren organizačně začleněna i pokladna. Toto pracoviště dále využívá i moduly SMLOUVY a ZAKÁZKY ekonomického informačního systému HELIOS GREEN, které sledují čerpání rozpočtů grantů a klinických studií a hospodaření se sponzorskými dary.

Pracoviště vyúčtování zdravotní péče příslušným zdravotním pojišťovnám

Zde je využíván 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 pravidelně aktualizuje registry pojištěnců a číselníky IČP žadatelů o výkony v klinickém informačním systému.

Pracoviště ekonomiky a vyúčtování mezd a platů

Na tomto pracovišti je vedena mzdová a daňová agenda zaměstnanců ÚHKT s využitím mzdového modulu SW VEMA a je zajišťován výpočet povinných odvodů zdravotního a sociálního pojištění.

Výsledky hospodaření ústavu

V roce 2010 hospodařil ústav bez příspěvku zřizovatele na provoz se ziskem 67,8 tis. Kč.

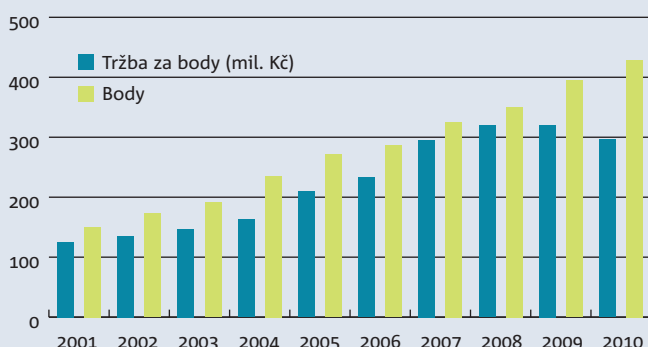
Rok 2010 je z hlediska výsledných ekonomických ukazatelů možné hodnotit jako úspěšný. Přes mimořádně náročné vnější podmínky bylo dosaženo vyrovnaného hospodaření díky důsledným opatřením v oblasti nákladů i výnosů. ÚHKT se v uplynulých dvou letech stále více specializoval na nákladnou a mimořádně nákladnou péči, kterou poskytoval v nejvyšší kvalitě akreditovaných pracovišť. Pro tento trend bude nutné vytvořit vhodné úhradové systémy, aby zůstaly zachovány možnosti organizace financovat vědeckou činnost, projekt banky pupečnickové krve a další, z hlediska odborného rozvoje ÚHKT, důležité aktivity.

Výnosy od zdravotních pojišťoven v roce 2010

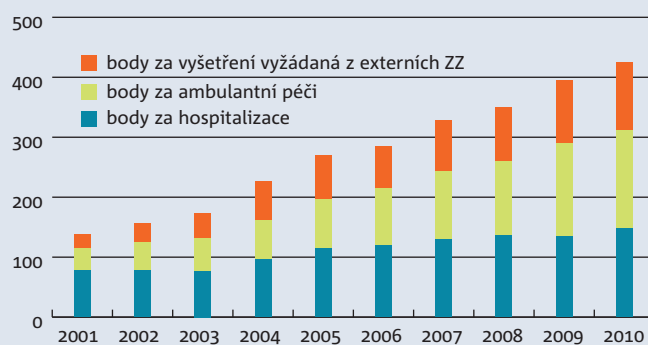
Poskytnutá péče v bodech meziročně stoupla o 8,6% (33 818 tis. bodů), z toho péče poskytnutá mimořádně nákladným pacientům se meziročně zvýšila o 23,1 % (34 711 tis. bodů). Na všeobecnou finanční krizi reagovala úhradová vyhláška MZČR pro rok 2010 dalším snížením ceny bodu v laboratorních odbornostech (mimo odbornosti 816 – lékařská genetika, kde ke snížení došlo již v roce 2009) o 20,5 %. Nárůst výkonů v ambulantní péči byl navíc ohodnocen poloviční cenou bodu. Z tohoto důvodu se celkové tržby za výkony, i přes velký rozdíl v počtu bodů, snížily o 23 578 tis. Kč (7,4 %). **Výsledná tržba je na úrovni roku 2007. Oproti tomuto období vzrostl objem zdravotnických výkonů v roce 2010 o 31,8 %. Průměrná cena bodu je 0,69 Kč.**

Konec první dekády nového tisíciletí je příležitostí k ohlédnutí a hlubšímu prozkoumání vývoje tržeb ÚHKT a jeho příčin. Dynamika vývoje tržeb je výrazem změn uvnitř organizace, určujícím způsobem do ní však zasahují i změny ve vnějším prostředí. Vývoj zdravotnických výkonů podle typu péče zobrazuje graf č. 2.

Zatímco hospitalizační péče je omezena prostorově v rámci 36 lůžek a její vývoj se vyznačuje relativně malou dynamikou růstu, ➔



Graf č. 1 – Výkon v bodech-porovnání s úhradou (mil. Kč).



Graf č. 2 – Vývoj tržeb ÚHKT za výkony podle typu péče (mil. Kč).

ambulantní a především pak extramurální péče mají dynamiku podstatně vyšší. To můžeme přičítat jak vyšší incidenci chorob krve v populaci ČR, tak rostoucímu renomé ÚHKT jako poskytovatele péče pojištěncům, kteří těmito chorobami trpí.

Výsledný objem bodů za hospitalizace přímo závisí na počtu ošetrovacích dnů. Vývoj tohoto ukazatele znázorňuje graf č. 3. Z grafu je patrné, že v roce 2010 bylo dosaženo nejvyššího počtu ošetrovacích dnů za celou uplynulou dekádu.

Počet vyšetřených unicitních pojištěnců v extramurální péči od roku 2001 do roku 2009 rychle rostl. V roce 2010 poprvé jejich počet meziročně poklesl z důvodu regulace vyžádané péče podle úhradové vyhlášky MZČR na rok 2010.

Objem zvlášť účtovaných léčivých prostředků celkem meziročně vzrostl o 0,8 % tj. 3 066

tis. Kč, ovšem spotřeba léků vrostla o 4,1% tj. 6 941 tis. Kč. Spotřeba krevních derivátů byla o 1,5 %, tj. 1 069 tis. Kč vyšší. Ve srovnání s rokem 2009 se tedy jedná o negativní dopad do hospodářského výsledku v částce 4 944 tis. Kč. Důvodem jsou převážně cenové vlivy, přesněji rozdíly mezi úhradou a skutečnou cenou léčivých prostředků indikovaných u pacientů ÚHKT. Co se množství týče, vyúčtování léčivých přípravků zdravotním pojišťovnám se v roce 2010 zlepšilo, a to na základě zavedení pravidelných měsíčních kontrol.

Na objem vykázaných ZÚLP má kromě cenových vlivů nejvýznamnější vliv soubor ošetřovaných pacientů a jejich diagnóz. Objem vykázaných ZÚLP v členění dle diagnóz za rok 2010 znázorňuje graf č. 6.

Úplně jiné rozložení vykazuje struktura počtu ambulantních pacientů v členění dle diagnóz za rok 2010 v grafu č. 7.

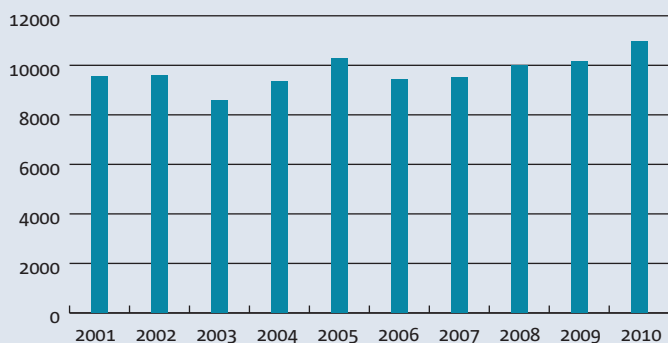
Z porovnání obou grafů je patrné, že více než tři čtvrtiny celkového ročního objemu vykázaných ZÚLP spotřebuje necelá třetina pacientů.

Ostatní výnosy ÚHKT

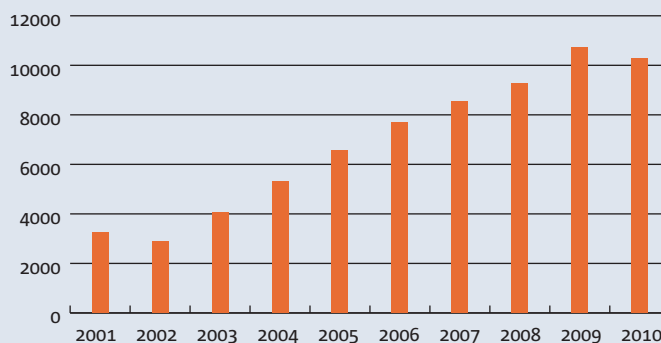
Aktivace transfúzních přípravků meziročně vrostla o 19,4 %, tj. 12 067 tis. Kč. V roce 2010 byla nejvyšší za celou uplynulou dekádu i přesto, že od 4. čtvrtletí 2010 byla cena transfúzních přípravků snížena. Změny objemu výnosů z transfúzní výroby v tis. Kč znázorňuje graf č. 8.

Objem finančních prostředků poskytnutých grantovými agenturami byl v roce 2010 o 29,1 %, tj. 20 006 tis. Kč nižší než v roce 2009, jak ukazuje graf č. 9. Objem prostředků na granty z jiných než agenturních zdrojů se zvýšil o 2 059 tis. Kč.

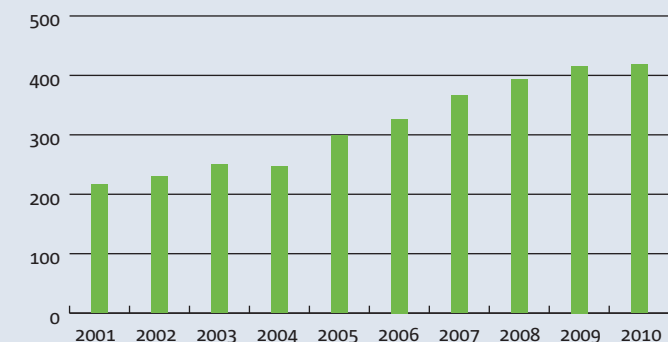
Poprvé v historii byl ÚHKT úspěšný v získání dotací z Evropské unie, a to u všech tří



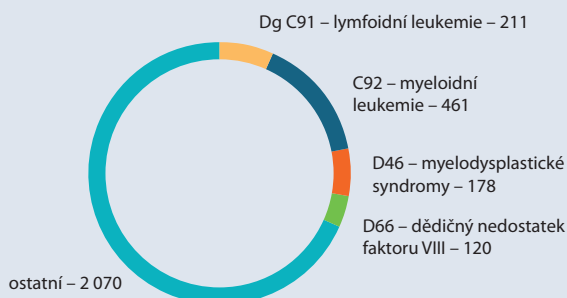
Graf č. 3 – Vývoj počtu ošetrovacích dnů za rok.



Graf č. 4 – Nárůst počtu extramurálních pacientů vyšetřených v ÚHKT.



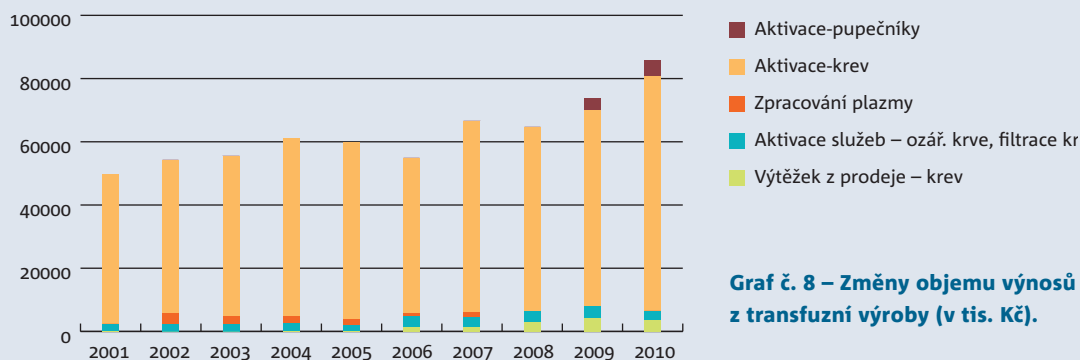
Graf č. 5 – Vývoj tržeb ÚHKT za zvlášť účtované léčivé prostředky a materiál (v mil. Kč).



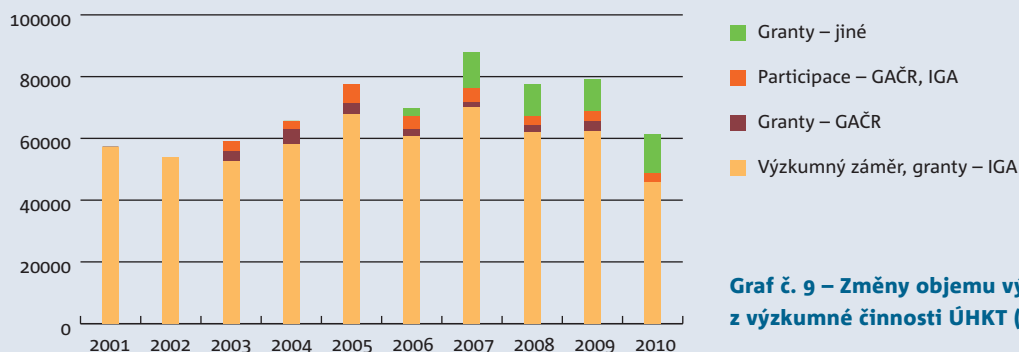
Graf č. 6 – Objem vykázaných ZÚLP v členění dle diagnóz za rok 2010.



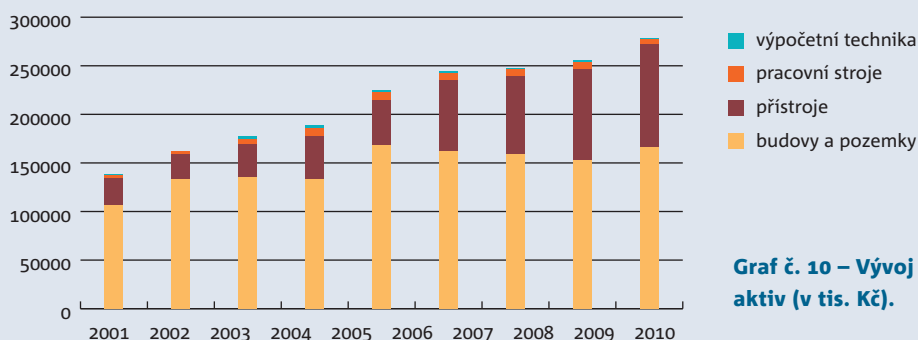
Graf č. 7 – Struktura počtu ambulantních pacientů v členění dle diagnóz za rok 2010.



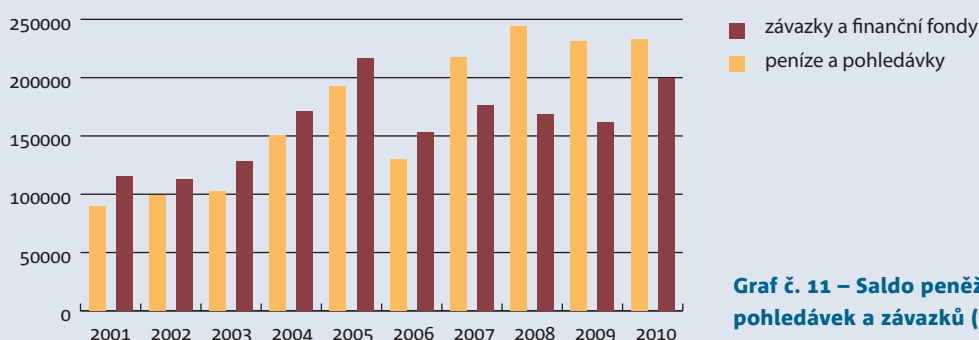
Graf č. 8 – Změny objemu výnosů z transfuzní výroby (v tis. Kč).



Graf č. 9 – Změny objemu výnosů z výzkumné činnosti ÚHK (v tis. Kč).



Graf č. 10 – Vývoj struktury stálých aktiv (v tis. Kč).



Graf č. 11 – Saldo peněžních prostředků, pohledávek a závazků (v tis. Kč).

podaných projektů do *Operačních Programů Praha Adaptability* a *Operačního Programu Praha Konkurenceschopnost*.

Změny v odměňování zaměstnanců v roce 2010

Meziroční přírůstek osobních nákladů činí 3,0 %, tj. 6 647 tis. Kč. Příčinou je zvýšení přepočtených úvazků.

Dynamika osobních nákladů byla v roce 2010 shodná s vývojem počtu úvazků. Průměrný plat se zvýšil o 0,05 %. To znamená, že vedení ÚHK dosáhlo cíle zachovat v roce 2010,

i přes pokles cen výkonů, průměrnou úroveň platů z roku 2009. Vlivem legislativních změn došlo k přesunu z nenárokových do nárokových platových složek.

Změny ve struktuře majetku a závazků

Graf č. 10 ukazuje změny struktury stálých aktiv, tzn. nemovitého a movitého majetku ÚHK v uplynulých deseti letech. Výsledkem postupných změn je skutečnost, že v roce 2010 disponuje ÚHK téměř dvojnásobným objemem stálých aktiv ve finančním vyjádření. Účetní hodnota zdravotnické techniky se ztrojnásobila.

Jak znázorňuje graf č. 11, bylo saldo peněžních prostředků, pohledávek a závazků, po odečtení prostředků finančních fondů organizace v roce 2010, kladné. To znamená, že ÚHK k 31. 12. 2010 disponoval oběžnými prostředky, které převyšovaly jeho závazky. Stále větší část oběžného majetku je vázána ve finančních fondech a v zásobách. ■

INFORMAČNÍ A KOMUNIKAČNÍ TECHNOLOGIE

POČET ZAMĚSTNANCŮ: 6
VŠ CELKEM: 3
SŠ CELKEM: 3



Vedoucí oddělení:
Ing. Vladimír Tymář



Zástupce vedoucího:
Petr Ševčík

Oddělení Informační a komunikační technologie (IKT) zajišťuje komplexní správu ústavní počítačové a komunikační infrastruktury. Tím je rozuměna nejen správa síťové struktury a aktivních prvků sítě, ale i správa serverů a uživatelských stanic, tiskáren a kopírovacích strojů.

IKT 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 SWLab DRG pro zpracování klinických dat pomocí metody DRG, ekonomický systém Helios Green, systém pro personalistiku VEMA, aplikace pro optimální plánování a evidenci směn pracovníků s nerovnoměrně rozvrženou pracovní dobou ve zdravotnických provozech ShiftMaster, telekomunikační systémy, systémy Internetových služeb, systémy sdílení souborů) i mimoústavních (přenos laboratorních výsledků z/do VFN a FN Motol v elektronické formě, komunikace s Národním registrem vzácných a vyřazených dárců Transnet) a zajištění komunikace s dodavateli.

IKT zajišťuje potřebné podmínky pro elektronickou komunikaci pověřených pracovníků se zdravotními pojišťovnami a státními institucemi.

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

Činnost oddělení v roce 2010

V roce 2010 byl proveden přechod softwaru používaného email serveru pro příjem elektronické pošty na novou verzi, který dále rozšiřuje možnosti elektronické pošty (sdílené



složky, filtrace mailových zpráv podle uživatelských pravidel přímo na serveru a další).

Nemocniční informační systém UNIS byl převeden na nově zakoupený výkonný server. Díky tomu došlo k výraznému zvýšení rychlosti, zlepšení kapacity a k eliminaci výpadků nemocničního informačního systému.

U bezdrátového (WiFi) datového připojení do Internetu pro pacienty, dárce a obecně všechny návštěvníky ÚHK, byla výrazně navýšena kapacita připojení do Internetu díky přesunu tohoto připojení na dedikovaný spoj.

Oddělení IKT zajistilo nákup a zprovoznění aplikace elektronického docházkového systému. Systém slouží k evidenci pracovní doby, elektronizaci docházkové knihy, používá terminály na stávající přístupové identifikační karty zaměstnanců a je možno jej napojit na další užívané informační systémy.

Došlo k implementaci fulltextového prohledávání informací v dokumentech dostupných na webových stránkách ústavu v síti Intranet.

Byla zprovozněna interně vyvinutá aplikace pro centrální evidenci zaměstnanců

a organizační strukturu, která sjednocuje údaje o jednotlivých zaměstnancích a jejich zařazení, které nejsou součástí účetního systému a personalistiky, do jednoho místa, ze kterého jsou potom tyto údaje používány např. pro veřejný web, telefonní seznam, generování vizitek (ID karet) apod.

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 fulltextového prohledávání informací v dokumentech dostupných jak na veřejných webových stránkách ústavu, tak na sdílených discích datových serverů.

Další úsilí bude věnováno úpravě-vylepšení ekonomického systému, jeho vazba na nemocniční informační systém a zefektivnění vykazování léčebné péče pojišťovnám. ■

TECHNICKÉ ODDĚLENÍ

POČET ZAMĚSTNANCŮ: 14

SŠ CELKEM: 6

OSTATNÍ PERSONÁL: 8



Vedoucí oddělení:
Josef Kajtman

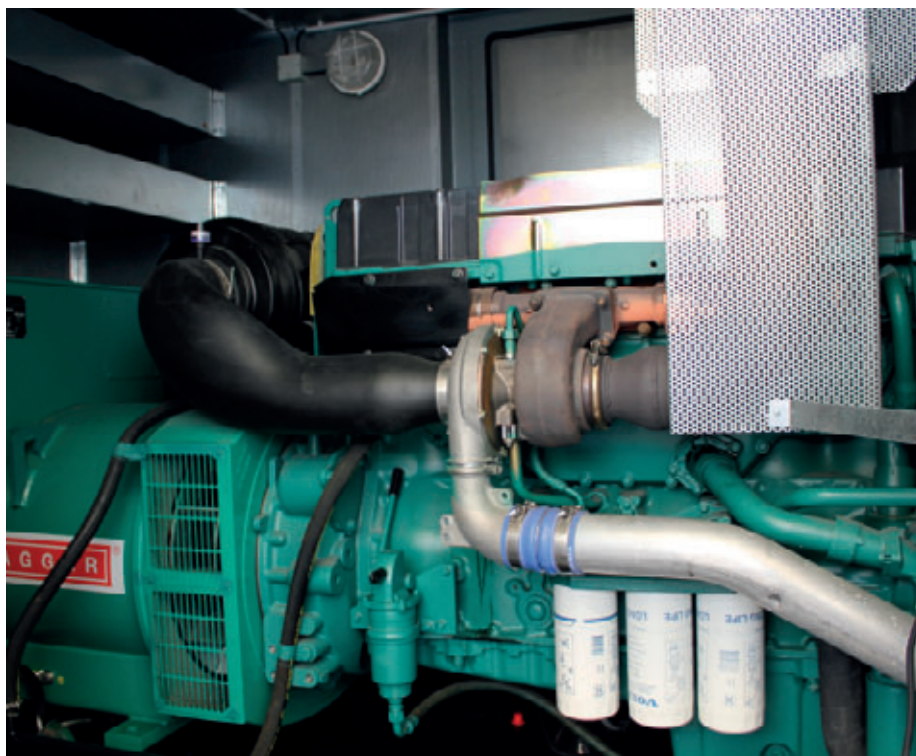


Zástupce vedoucího:
Jiří Marek

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. Dále jsou to také práce na opravách chladicích zařízení. V administrativní části je to především příprava podkladů pro smlouvy uzavíraných s dodavateli a zpracování přehledů a hlášení pro státní správu a další kontrolní orgány. 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 technologií ústavu. Technické oddělení také významným způsobem přispělo k podpoře průběhu reakreditačního řízení mezinárodní akreditace JCI, která probíhala na konci prvního pololetí 2010.

V roce 2010 techničtí pracovníci zajišťovali, spolu s technickým dozorem investora, rozběh a realizaci akce „Rekonstrukce komplementu“, která dále pokračuje i v roce 2011. Vzhledem k omezeným prostorovým kapacitám a z důvodu nemožnosti přerušení provozu nemocnice v poskytování zdravotní péče, muselo dojít k rozdělení průběhu stavby na tři samostatné etapy. První etapa byla zahájena v červenci 2010 a ukončena v říjnu 2010 kolaudací části rekonstruovaných prostor, a to v přízemí budovy B ÚHKT. Zahájení druhé etapy (2. poschodí) předcházelo týdenní komplikované stěhování některých zdravotnických provozů, laboratoří a výzkumných částí. Druhá etapa



tak zahajovala ještě v říjnu 2010 a má být dokončena v lednu 2011. Třetí etapa, spojená též se stěhováním, bude bezprostředně navazovat na etapu druhou s předpokládaným dokončením ke konci 1. pololetí 2011. Všechny rekonstrukční práce jsou velmi náročné na připravenost zhotovitele a stav předběžných průzkumných prací v rámci projektu. S ohledem na tehdejší možnosti rekonstrukce dostupných prostor jsou v průběhu roku, v rámci jednotlivých etap, připravovány aktualizace projektové dokumentace, které reagují na momentální vývoj rekonstrukce.

Mimo tuto rozsáhlou rekonstrukci zajišťovalo technické oddělení další, rozsahem menší, akce v rámci celého areálu ústavu. Příkladem je možné uvést rekonstrukci ležatých rozvodů studené vody v administrativní budově C, kde také dále probíhala rekonstrukce rozvodů silnoproudé elektřiny.

Od října 2010 je průběžně realizována odborná úprava a ošetření stromů, keřů a květinové výsadby udržovaného lesoparku, který mohou, především v létě, užívat pacienti. V následujícím roce je připravována další revitalizace tohoto lesoparku, a to i s přispěním studentů (a jejich studentských prací) Střední odborné školy stavební a zahradnické.

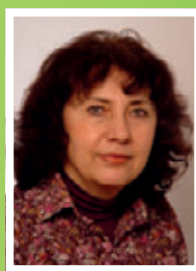
Technické oddělení pro rok 2011, v souladu se strategickým záměrem rozvoje ÚHKT a legislativou České republiky, připravuje a rozvíjí další projekty a plány nových technologií procesů, činností a služeb k zajištění efektivního provozu. ■

STŘEDISKO VĚDECKÝCH LÉKAŘSKÝCH INFORMACÍ

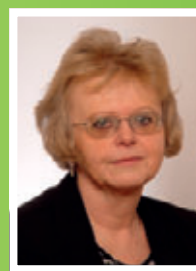
POČET ZAMĚSTNANCŮ: 6,2

VŠ CELKEM: 3,2

SŠ CELKEM: 3



Vedoucí:
Mgr. Jana Havelková



Zástupce vedoucího:
Hana Petrášková

Odborná činnost

Středisko vědeckých lékařských informací (SVLI) je specializovaným knihovnicko-informačním pracovištěm registrovaným podle zákona č. 257/2001 Sb. (knihovního zákona).

V rámci své gesce SVLI poskytuje 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.

SVLI administruje a prostřednictvím ústavního intranetu na adrese (<http://intra.uhkt.cz/izdroje>) tyto zdroje zpřístupňuje. V roce 2006 oddělení SPIS vytvořilo mechanismus umožňující pracovníkům ÚHKT (autorizovaným uživatelům) vzdálený přístup k licencovaným elektronickým informačním zdrojům 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 1400 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)*
- *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), předplatné bylo obnoveno na dalších 12 měsíců, tj. do srpna r. 2011.

Na r. 2010 bylo celkem předplaceno celkem 100 titulů periodik – 46 českých a slovenských, 54 zahraničních. V průběhu září r. 2010 proběhla prověrka využívání odebíraných periodických titulů a předplatné na r. 2011 bylo sníženo o málo využívané tituly a dále v případech, kdy to bylo ekonomicky výhodnější, byl upřednostněn nákup pouze elektronické verze odebíraného titulu. Došlo k poměrně výrazné úspoře nákladů za periodické tituly. Zatímco náklady na předplatné periodik v roce 2010 činily 2 556 586 Kč, na rok 2011 jsou celkem 1 811 805 Kč.

V rámci meziknihovnických služeb *MVS* bylo celkem vyřízeno 498 externích požadavků a 1085 interních objednávek na dodání odborné literatury, zejména odborných článků.

SVLI průběžně eviduje veškerou publikační činnost vědeckých pracovníků ústavu.

Z intranetových i internetových stránek ÚHKT je přímý link na *on-line katalog ARL/EPCA* (<http://arl4.library.sk/i2/i2.entry.cls?ictx=uht&logout=1&language=2&skin=>).

SVLI zpracovalo a předalo údaje o publikační činnosti ústavu za rok 2009 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.

Oddělení grafických služeb SVLI v roce 2010 zhotovilo celkem 22 posterů, 12 prezentačních prací různého rozsahu a složitosti (s průměrným počtem stran 30), 18 příprav publikací do tisku a 63 drobných DTP, jmenovky

pro zaměstnance ÚHKT a jiné grafické práce pro zaměstnance ÚHKT i externí zákazníky. K 31. 12. 2010 rozhodlo vedení ÚHKT o organizační změně ve smyslu zrušení poskytování grafických služeb v rámci SVLI.

V lednu 2010 byl do struktury SVLI organizace začleněn *ústavní statistik*, který zajišťuje podporu vědecké činnosti v oblasti statistických analýz dat jednotlivých pracovišť, provádí konzultace týkající se aplikace matematicko-statistických metod a jejich interpretace. Dále navrhuje postupy pro statistickou analýzu dat pracovišť a následně tuto analýzu provádí. Pomáhá s interpretací získaných matematických výsledků. V červnu ústavní statistik pro pracovníky ÚHKT přednesl seminář *Hodnocení přežití*.

Národní a mezinárodní spolupráce

Na ukončený projekt MŠMT ČR *1N04144 – 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. 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*. V současné době se připravuje nové rozhraní portálu *MEDVIK*, které by mělo být spuštěno během 1. pololetí roku 2011. ■

Výzkumný záměr

Reg. č.: MZ0UHK2005
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 aktivity jednotlivých složek koagulačního systému u nádorových onemocnění krvetvorby. Objasnění molekulární podstaty vzácných fenotypů erytrocytů a některých vrozených poruch erythropoezy. 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 NT 11555
Název: DNA fingerprinting u chronické myeloidní leukémie
Trvání: 2010–2014
Řešitel: Mgr. Kateřina Machová Poláková, PhD.
Anotace: Pomocí AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) vytvoříme unikátní DNA a DNA methylační fingerprinty pacientů s CML v různých fázích onemocnění s různou odpovědí na léčbu a pomocí shlukové analýzy a analýzy hlavních komponent rozdělíme pacienty se společnými znaky do skupin na genetickém a epigenetickém základě a zhodnotíme míru korelace takového rozdělení se známými sledovanými znaky pacientů, na základě kterých jsou pacienti v současné době hodnoceni pro prognózu a odpověď na léčbu. AFLP profilování umožní vytýpat nové cílové oblasti v DNA pro vývoj nových diagnostických markerů CML. V rámci projektu budeme klinicky validovat analýzy (detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL pomocí preskriningové metody HRM, genová exprese WT1 a jeho isoform, stupeň fosforylace významných proteinů), které byly úspěšně vyvinuty v rámci našeho projektu IGA MZ ČR NR/8758-3 (2006–2008) „Časné markery rezistence k imatinibu při léčbě chronické myeloidní leukémie“.

Reg. č.: IGA MZd NT 11541
Název: Vývoj vakcín namířených proti znakům nádorových kmenových buněk
Trvání: 2010–2013
Řešitel: RNDr. Michal Šmahel, PhD
Anotace: Vývoj DNA vakcín proti transkripčním faktorům SOX2 a NA-NOG, které jsou nezbytné pro sebeobnovu nádorových kmenových buněk u různých typů lidských nádorů. Zvýšení imunogenity těchto vakcín přidáním buněčných lokalizačních signálů a sekvencí z genu tetanového toxinu kódujících silné pomocné epitopy. Analýza vlivu xenogenních genů na imunogenitu vakcín. Snížení potenciální onkogenity SOX2 a NA-NOG mutagenézí jaderných lokalizačních signálů a odstraněním jejich iniciačních kodonů u fúzních genů. Protinádorový účinek připravených DNA vakcín bude testován na myších nádorových modelech s použitím buněčných linií embryonálních karcinomů.

Reg. č.: IGA MZd NS10/634-3/2009
Název: Imunologické studie s myšími 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 reaktivitu 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 pupečnickových 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 imunostimulačních a antiangiogenetických faktorů se v budoucnu stanou kandidáty na autologní terapeutické vakcíny.

Reg. č.: IGA MZd NS10656-3/2009
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 děložního 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 detekce vysoko-rizikových (HR) typů HPV a vysoce specifickou a citlivou 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 vzorcích 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 individualizaci 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 pozorováno, 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 časně 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
Spoluřešitel: RNDr. Hana Bruchová, Ph.D., prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc., doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
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, Ph.D., 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 NS 9636
Název: Vrozené a získané dysfibrinogenemie hypofibrinobenemie
Trvání: 2008–2010
Řešitel: Ing. Bc. Roman Kotlín, Ph.D.
Anotace: Předmětem studia je fibrinogen, který hraje klíčovou úlohu v procesu hemostázy. U vrozených dysfibrinogenemií nalézáme mutace ve struktuře fibrinogenu. Bude použito metod molekulární genetiky, proteomiky a vyšetření funkčních vlastností fibrinogenu.

GA ČR – Grantová agentura České republiky

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, Ph.D.
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 GA301/09/P579
Název: Význam deregulace microRNA u myelodysplastického syndromu a dalších hematologických klonálních onemocnění
Trvání: 2009–2011
Řešitel: Ing. Michaela Merkerová, Ph.D.
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 leukemií, 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, Ph.D.
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, jenž 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.

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 prekursorů 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.

Reg. č.: **GA UK 15761**
 Název: **Proteomická identifikace vazebných partnerů kinázy MRCK α**
 Trvání: 2010–2011
 Řešitel: **Mgr. Pavlína Ptáčková**
 Anotace: MRCK α je serin/threoninová protein kináza, která reguluje proteiny cytoskeletu. Molekulární mechanismy regulace touto kinázou nejsou zcela objasněny. Rovněž nejsou známy všechny její substráty a proteiny, s nimiž interaguje. Tento projekt je zaměřen na jejich identifikaci. Budou připraveny fúzní proteiny domén MRCK α s glutathion-S-transferázou. Pomocí GST-vazebných testů v kombinaci s hmotnostní spektrometrií budou identifikovány nové vazebné proteiny MRCK α v buňkách K562. Nově nalezené interakce budou ověřeny imunofluorescenční mikroskopií a koimunoprecipitačními technikami. Výsledky výrazně rozšíří model regulace kinázy MRCK α v krevních buňkách.

Reg. č.: **GA UK 200 095**
 Název: **Rozdílný expresní profil JAK2 V617F pozitivních klonálních hematologických onemocnění s odlišným fenotypem**
 Trvání: 2008–2010
 Řešitel: **Ing. Eva Otáhalová**
 Anotace: BCR-ABL negativní chronická myeloproliferativní onemocnění (MPD) jsou poruchy způsobené klonální proliferací pluripotentní kmenové hematopoetické buňky s neznámou etiologií. Dle WHO klasifikace sem patří polycythemia vera (PV), esenciální trombocytémie (ET) a primární myelofibróza (PMF). Společným rysem je bodová mutace JAK2 V617F detekovaná u většiny pacientů s PV a více než poloviny pacientů s ET a PMF. Cílem našeho projektu je studium dalších somatických mutací a deregulací, které odlišují tato fenotypově velmi rozdílná klonální hematologická onemocnění. Pomocí BeadChip technologie Illumina budeme

studovat expresní profily progenitorů erythroidní řady během erythroidní diferenciace u jednotlivých MPD diagnóz a zdravých buněk. Výsledky komparativních analýz použijeme k vytipování kandidátních genů asociovaných s jednotlivými poruchami. Identifikace a studium deregulace vybraných genů na proteinové úrovni a následně gain/lost – of – function analýzy poslouží k ověření funkce vybraných genů v patogenezi MPD. Využití inovační mikročipové technologie Illumina a dlouholeté zkušenosti s diagnostikou a výzkumem MPD nabízí nadějnou možnost přispěvků k lepšímu poznání molekulární podstaty a patogeneze jednotlivých MPD a vývoji nových postupů cílené léčby.

Ministerstvo školství mládeže a tělovýchovy

Reg. č.: **MŠMT OC 10042**
 Název: **Studium aberantně metylovaných genů u pacientů s MDS a AML pomocí DNA metylačních arrayů**
 Trvání: 2010–2012
 Řešitel: **RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.**
 Anotace: Studium metylace promotorových oblastí genů u pacientů s MDS a AML pro sledování progresu AML a transformace MDS do AML. Využití DNA metylačních arrayů k ověření metylačního statusu genů vytipovaných na základě našich předchozích výsledků a výsledků publikovaných v recentní literatuře z celogenomových tzv. highthroughput DNA metylačních arrayů. Na základě našich výsledků z DNA metylačních arrayů vybereme geny vhodné pro další sledování, otestujeme je pomocí bisulfitového sekvenování a následně zavedeme metody vhodné pro rutinní sledování metylace DNA, jako je metoda metylačně specifické real-time PCR (MethylLight) a metylačně specifická high resolution melting analýza (MS-HRM). Chceme nalézt nejvhodnější biomarkery pro určení prognózy pacientů s MDS a AML.

Ostatní

Reg. č.: **Bristol-Myers Squibb Company, číslo 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, Ph.D.**
 Anotace: Cílem práce je zoptimalizovat stanovení citlivosti kinázy BCR-ABL vůči inhibitorům tyrozinových kináz pomocí metody založené na principu průtokové cytometrie.

Reg. č.: **Novartis, číslo 3503**
 Název: **Standardizace metod pro monitorování hladiny BCR-ABL transkriptu a detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL**
 Trvání: 2009–2010
 Řešitel: **Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.**
 Anotace: Důležitým mechanismem rezistence k imatinibu jsou mutace v kinázové doméně BCR-ABL. V současné době je doporučováno testovat mutace u pacientů s chronickou myeloidní leukémií po selhání léčby imatinibem, u pacientů odpovídajících na léčbu suboptimálně a u pacientů, u kterých došlo k významnému nárůstu hladiny BCR-ABL transkriptu. Detekce mutací, jejich charakterizace a kvantifikace pomáhají optimalizovat léčbu výběrem vhodných tyrosinkinázových inhibitorů 2. generace. V naší předchozí studii jsme zjistili, že zastavení klesajícího trendu hladiny BCR-ABL transkriptu na neměnných hladinách $\geq 0.1\%$ u pacientů v kompletní cytogenetické remisi je u některých z nich (34 %; 11/32) spojeno s detekcí mutace a následující progresí onemocnění [Machová Poláková et al., Exp Hematol. 2010 Jan;38(1):20–26]. Domníváme se, že neměnná hladina BCR-ABL transkriptu v hodnotách $\geq 0.1\%$ zjištěná v minimálně ve 3 po sobě jdoucích odběrech může indikovat časnou detekci mutací. Cílem této studie je zjistit, zda zastavení poklesu BCR-ABL transkriptu na hladinách nižších než 0.1% a vyšších než 0.01% může být u některých pacientů rovněž spojeno s detekcí mutací a rozvojem rezistence. Studie probíhá pod záštitou CELL a ve spolupráci s IHOK FN Brno.

Operační program Praha – Adaptabilita

Reg. č.: CZ.2.17/1.1.00/32286
Název: Zvyšování adaptability pracovníků Oddělení buněčné terapie ve znalostní ekonomice – vzdělávání v transferu technologií, zakládání spin-off firem, řízení vědy a výzkumu a další profesní vzdělávání.

Trvání: 2010–2012

Vedoucí realizačního týmu: MUDr. Ivan Fales

Anotace: Cílem projektu je odborné lékařské vzdělávání, vzdělávání v transferu technologií a řízení ve vědě a výzkumu u pracovníků Oddělení buněčné terapie. Naplnění cílů projektu mimo jiné zajistí přenesení nejnovějších trendů ve výzkumu kmenových buněk a jejich využití v terapii u závažných onemocnění do České republiky.



EVROPSKÝ SOCIÁLNÍ FOND
PRAHA & EU: INVESTUJEME DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI

Reg. č.: CZ.2.17/1.1.00/32179

Název: Komplexní systém zvyšování konkurenceschopnosti výzkumných pracovníků Ústavu hematologie a krevní transfuze.

Trvání: 2010–2012

Vedoucí realizačního týmu: Ing. Bc. Roman Kotlín, Ph.D.

Anotace: Cílem projektu je zvýšení konkurenceschopnosti zaměstnanců ÚHKT poskytnutím různých forem vzdělávání. Během dvou a půl let realizace projektu budou probíhat různé druhy školení a kurzů, jichž se budou účastnit zaměstnanci ústavu. Budou probíhat kurzy anglického jazyka, právní kurzy, kurzy prezentačních dovedností, kurzy publikačních dovedností, kurzy etiky a IT kurzy se zaměřením na biostatistiku a grafické softwaru. Díky tomuto projektu budou také zaměstnanci ÚHKT vysíláni na zahraniční stáže, kurzy a konference, což přinese znalost nejnovějších vyšetřovacích metod, trendů a zkušeností v oblasti hematologie a krevní transfuze ze zahraničí do České republiky. Součástí projektu je i financování přednášek, seminářů a výměny znalostí a zkušeností špičkových zahraničních odborníků se zaměstnanci ústavu na ÚHKT.



EVROPSKÝ SOCIÁLNÍ FOND
PRAHA & EU: INVESTUJEME DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI

Operační Program Praha – Konkurenceschopnost

Reg. č.: CZ.2.16/3.1.00/24001

Název: Modernizace vybavení pro proteomiku, metabolomiku a imunomonitoring výzkumných laboratoří ÚHKT

Trvání: 2010–2011

Vedoucí realizačního týmu: RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

Anotace: Cílem projektu je obnovit a zmodernizovat technickou základnu laboratoří základního výzkumu tak, aby výsledky této činnosti přispěly k vývoji metod časné diagnostiky onkologických a hemato-onkologických pacientů, k vývoji poznatků o patogenezi nádorových onemocnění, k vývoji molekulárně-cílené léčby nádorových onemocnění a k rozvoji imunoterapie nádorů. Splnění cíle projektu povede k rozvoji nových disciplín jako je proteomika, metabolomika a imunologická léčba. Modernizace bude zahrnovat vybavení laboratoří novou technikou – nákupem těchto přístrojů: Systém pro MALDI spotting nano-LC s robotem, hmotnostní spektrometr typu trojitý kvadrupól (MS/MS), průtokový cytometr, konfokální mikroskop, zobrazovací a dokumentační systém pro chemiluminiscenci, real-time PCR systém a ELIS-POT reader. Důvodem realizace projektu je zvýšení konkurenceschopnosti žadatele v oblasti léčebné preventivní činnosti, zvýšení kvality vědecko-

výzkumné činnosti, zvýšení konkurenceschopnosti jiných subjektů (využívající výstupy výzkumu), zvýší se kvalita léčby obyvatelstva a atraktivita a prestiž Ústavu hematologie a krevní transfuze pro mladé vědecké pracovníky.



EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
PRAHA & EU: INVESTUJEME DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI

Spolupráce na mimoústavních projektech

IGA MZ – Interní grantová agentura MZ ČR

Reg. č.: IGA MZd NT 11299

Název: Kvalita života a její vliv na celkové přežití nemocných po transplantaci krvetvorných buněk v ČR

Trvání: 2010–2015

Řešitel: prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.,
Všeobecná fakultní nemocnice Praha

Spoluřešitel: MUDr. Veronika Válková, CSc.

Anotace: Cílem našeho projektu je: popsat kvalitu života transplantovaných nemocných pomocí standardizovaných dotazníků QOL a navrhnout opatření. Bude provedena: 1. retrospektivní analýza se zaměřením na korelaci kvality života a celkového přežití dle jednotlivých diagnóz u pacientů s delším časovým odstupem po transplantaci (déle než tři roky) při srovnání rozdílů v jednotlivých letech. 2. prospektivní analýza, která bude mapovat podrobně především časné období po transplantaci do jednoho roku. Výsledky budou hodnoceny v závislosti na typu onemocnění, stavu choroby při transplantaci, věku a pohlaví nemocného, na typu transplantačního režimu a na typu dárce. 3. Na podkladě těchto sledování bude vytvořen návrh na podpůrný psychosociální program pro jednotlivá pracoviště, tak aby se sledování QOL stalo součástí běžné zdravotnické praxe, a na druhou stranu, aby jeho zhodnocení přinášelo efekt pro nemocného a zpětnou vazbu pro zdravotnický personál.

Reg. č.: IGA MZd NT 11227

Název: Molekulární fenotypizace minimálního poškození transplantované ledviny a její prognostický význam

Trvání: 2010–2014

Řešitel: prof. MUDr. Viklický Ondřej, CSc., Institut klinické a experimentální medicíny

Spoluřešitel: prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

Anotace: V tomto projektu bude ve 40 vzorcích biopsií štěpů od pacientů po Tx ledviny stanoven celogenomový expresní profil pomocí microarray techniky. Biopsie budou vybrány na základě histopatologického nálezu a stavu funkce štěpu v 1. a 2. roce a po transplantaci (9 s normálním nálezem a zhoršenou fcí + 9 s normálním nálezem a stabilní fcí, 6 s nálezem hraničních změn a zhoršenou fcí + 6 s nálezem hraničních změn a stabilní fcí v protokolární biopsii a 5 s nálezem hraničních změn a zhoršenou fcí + 5 s nálezem hraničních změn a stabilní fcí v časné biopsii do třetího měsíce po Tx). Na základě vyhodnocení dat z microarray bude vybrán set genů pro jednotlivé skupiny determinující. Schopnost predikce osudu transplantované ledviny pomocí námi vybraného setu genů bude ověřena pomocí metody RT-qPCR na „validační skupině“ 80 biopsií štěpů rozděleném ve stejném poměru jako skupiny pro analýzu pomocí microarray techniky.

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, Ph.D., MBA

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, Ph.D., 3. LF UK, Urologická klinika

Spoluřešitel: MUDr. Jiří Heráček, Ph.D., FNKV, Urologická klinika,
RNDr. Eva Hamšíková

Anotace: Soubor bude tvořen pacienty s biopsicky ověřeným karcinomem prostaty z histopatologického preparátu získaného při retropubické radikální prostatektomií nebo benigní hyperplasie z preparátu získaného suprapubickou transvezikální prostatektomií. 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 NS 9970

Název: Úloha prolaktinu v imunitní reakci při bakteriální infekci

Trvání: 2008–2011

Řešitel: doc. MUDr. Marie Černá, CSc.,
3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy Praha

Spoluřešitel: MUDr. Markéta Marková, CSc.

Anotace: Aktivace imunitního systému infekcí/sepsí vede ke zvýšení genové exprese TLR2 a periferního prolaktinu v CD14+monocytech periferní krve, klíčových buňkách zapojených do přirozené imunity. Zvýšení hladiny těchto cytokinů není paralelní, ale následné. Aktivace TLR2 zprostředkovává stimulaci produkce prolaktinu v CD14+ monocyttech periferní krve během infekce/sepsy.

Reg. č.: IGA NS10488-3/2009

Název: Expresní vzorec isoform a mutační stav genu WT1 jako nový pathogenetický a diagnostický marker u dětských hematologických malignit.

Trvání: 2009/2011

Řešitel: prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.,
Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta

Spoluřešitel: Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Anotace: Gen WT1 je potenciálně důležitým markerem hematologických malignit. Jeho roli v maligních i normálních buňkách pravděpodobně ovlivňuje expresní vzorec jeho isoform a mutační stav. V navržené studii určíme pomocí originální metodiky kvantitativně expresní vzorec isoform 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 vzorec 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 imunoterpii u dětských hematologických malignit. Dále stanovíme nový diferenciálně diagnostický postup využívající kvantifikaci exprese WT1 v kombinaci s polychromatickou průtokovou cytometrií u dětských MDS.

GA ČR – Grantová agentura České republiky

Reg. č.: GA ČR P304/10/1511

Název: Studium nového lidského polyomaviru objeveného v carcino-
nomech Merkelových buněk

Trvání: 2010–2012

Řešitel: doc. RNDr. Jitka Forstová, CSc., Přírodovědecká fakulta UK

Spoluřešitel: Mgr. Vojtěch Šroller, Ph.D.

Anotace: Nový lidský polyomavirus, označený jako MCPyV, byl nedávno objeven v karcinomu z Merkelových buněk. Vysoká četnost výskytu a způsob integrace virové DNA v karcinomu z Merkelových buněk ukazuje že MCPyV může hrát zásadní roli při jeho vzniku. Předkládaný projekt je zacílen na získání znalostí o biologických vlastnostech MCPyV a jeho prevalenci v České republice. Studie zahrnuje konstrukce vektorů pro produkci jednotlivých virových proteinů v hmyzích a savčích buňkách a přípravu specifických protilátek. Budou studovány vlastnosti virových proteinů, interakce s buněčnými strukturami a funkce. Z hmyzích buněk produkujících proteiny kapsidy budou připraveny pseudokapsidy (VLPs) a použity jako antigen k testování protilátek proti polyomaviru MCPyV u imunokompetentních a imunosuprimovaných jedinců z České republiky. V DNA izolované ze vzorků karcinomu z Merkelových buněk bude zjišťována přítomnost DNA viru MCPyV.

Reg. č.: GA ČR GA521/09/1525

Název: Biologicky bezpečný expresní systém založený na rostlinných virech pro transien-
tní 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, Ph.D.

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 myší 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 diversity kočovných skupin a naopak zvýšenou mtDNA diverzitu u skupin usedlých. Nedílnou ➔

součástí projektu bude geografická lokalizace počátku fulbské expanze doplněná fylogeografickou analýzou.

GA AV ČR – Grantová agentura Akademie věd 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 ponesou kromě markerových genů také onkogen E7 z lidského papilomaviru ve formě neonkogenní, ale vysoce imunogenní fuze E7GGG/GUS. Cílem je získat transformanty produkující antigen využitelný jako součást terapeutické vakciny. 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 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 vedlejšími 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.

MŠMT – Ministerstvo školství mládeže a tělovýchovy

Reg. č.: **MŠMT 2B06088**

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

Trvání: 2006–2011

Řešitel: MUDr. Radim Šrám, DrSc.,
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 lymfocytechmatek 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 LC06044**

Název: **Centrum experimentální hematologie**

Trvání: 2006–2010

Řešitel: prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc., Univerzita Karlova,
1. lékařská fakulta, Ústav patologické fyziologie

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

Anotace: Identifikovat a popsat molekulární mechanismy normální a patologické krvetvorby. Integrovat dvě vědecká hematologická pracoviště a zlepšit jejich vybavení a možnosti zahraniční spolupráce. Zkvalitnit výchovu studentů. Zvýšit počet a kvalitu publikací.

Reg. č.: **MŠMT 1M0538**

Název: **Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad**

Trvání: 2005–2011

Řešitel: prof. MUDr. Eva Syková, DrSc., Univerzita Karlova,
2. lékařská fakulta

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 overené postupy pro užití v klinické praxi.

MPO – Ministerstvo průmyslu a obchodu

Reg. č.: **MPO 2A-1TP1/026**

Název: **Výzkum nové léčivé formy gelu s liposomy zfúzovanými 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 na Klinickém úseku ÚHKT

- 1. MGI Pharma study – podávání **decitabinu-cytarabinu** starším nemocným s pokročilými stádii MDS, kteří nejsou indikováni k SCT – (doc. Čermák) – (DACO 016)
- 2. 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 leukemií, resistentních k Imatinib mesylátu. (dr. Klamová – LO)
- 3. An Open-Label, Randomized, Multicenter Phase III Trial of **Dasatinib** (SPRYCEL) vs. Standard Dose **Imatinib** (400 mg) in the Treatment of Subjects with Newly Diagnosed Chronic Phase Philadelphia Chromosome Positive **Chronic Myeloid Leukemia**. Protocol CA180056 – (dr. Klamová, dr. Marková)
- 4. Randomizované, otevřené, multicentrické klinické hodnocení fáze III porovnávající přípravek **nilotinib** proti přípravku imatinib u dospělých pacientů, u kterých byla nově diagnostikována chronická myeloidní leukémie v chronické fázi (CML-CP) s pozitivním Filadelfským chromozomem (ph+). Protocol CAMN107A2303 – (dr. Klamová, dr. Marková)
- 5. 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**. – (doc. Cetkovský) – protokol A8851009 (podepsáno 02/2009).
- 6. 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 placebo u pacientů do 60-ti let s nově diagnostikovanou AML s FLT3 mutací, CALGB 10603/CTSU C 10603/PKC412A2301 – (doc. Cetkovský)
- 7. 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. – (doc. Cetkovský) – protokol (0001A3-300-GL).
- 8. 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 – (doc. Čermák)
- 9. MDS 005 – Randomizovaná studie hodnotící účinnost a bezpečnost **Lenalidomidu** v léčbě nemocných s nízkým, či středním rizikem – **myelodysplastického syndromu (MDS) bez přítomnosti delece 5q** – Studie CELGENE Protocol CC-5013-MDS-005 – (doc. Čermák)
- 10. A Phase 3, Multicenter, Randomized, Open-Label, Study of **Azacitidine** (Vidaza) Versus Conventional Care Regimens for the Treatment of Older Subjects with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia. Protocol number: AZA-AML-001 – Studie PRA International – (doc. Čermák)
- 11. An Open Label Extension Study Evaluating the Safety of Long Term Dosing of **Romiplostim** in **Thrombocytopenic Subjects with Myelodysplastic Syndromes (MDS)**. Protocol Number: 20060197 – Studie Amgen – (doc. Čermák)
- 12. Multicentrické otevřené klinické hodnocení **nilotinibu** fáze IIIb u dospělých pacientů s nově diagnostikovanou CML v chronické fázi pozitivní na Filadelfský chromozóm a/nebo BCR – ABL. Protocol number: CAMN107EIC01 – Studie Novartis – (dr. Klamová)

SPOLUPRÁCE

Mezinárodní spolupráce

Klinický úsek

- 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 and 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
- 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. 06011

- European LeukemiaNet – EUTOS for CML
- MDS Foundation – uznáním kvality diagnostické a léčebné péče o nemocné s MDS je jmenování ÚHKT *Evropským centrem excellence*
- 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)
- Laboratoř Prof. D. Wagner, The Cellular and Molecular Medicine/Immune Disease Institute, Harvard Medical School, Boston

Transfuziologický úsek

- Spolupráce s mezinárodní skupinou SCARF pro výměnu vzácných erytrocytů

- Spolupráce s Evropskou společností pro hemaferézu a hemoterapii
- Spolupráce s World Apheresis Registry v souvislosti s prováděním terapeutických hemaferéz
- International Blood Group Reference Laboratory v Bristolu a s mezinárodním konsorciem BloodGen

Výzkumný úsek

- Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) prostřednictvím Českého registru dárců kostní dřeně IKEM, Praha
- Children's Cancer Institute Sydney, Australia
- College of Public Health, Department of Epidemiology, University of Iowa, USA
- Dept. Biochemistry and Molecular Biology, University of Maryland, School of Medicine, USA
- Dept. Cell and Developmental Biology, University of Pennsylvania, School of Medicine, USA
- Dept. Cell Physiol., Albert Einstein College of Medicine (AECOM), New York, USA
- Dept. Leukemia, University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, Houston, USA →

- Dept. Molecular Hematology, University Torino, Italy
- Dept. Neurological and Vision Sciences, Medical Faculty, University of Verona, Italy
- Dept. Nutritional Sciences & Toxicology, University of California, Berkeley, CA, USA
- EMQN – European Molecular Genetics Quality Network
- European LeukemiaNet
- McGill University, Canada
- Panacea Pharmaceuticals, USA
- 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
- University of Sydney
- WHO global HPV laboratory network (LabNet)
- Wisconsin Univ., Madison, USA

Domáci spolupráce

Klinický úsek

- 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.
- hematologická centra v České republice, včetně:
 - I. interní klinika VFN, která svým zaměřením (lymfoproliferativní onemocnění, autologní transplantace) představuje komplementární oblast hematologie.
 - 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 UK 2. lékařské fakulty UK, Praha

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

- Dermatovenereologická klinika VFN při extrakorporální fotochemoterapii nemocných s lymfomy z T lymfocytů v kožní lokalizaci
- Hematologická klinika FNKV při extrakorporální fotochemoterapii nemocných s lymfomy 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 Slovenské republiky

Výzkumný úsek

- 1. Lékařská fakulta UK, Praha
- LF UK, Ústav imunologie a mikrobiologie
- I. interní klinika 1. LF UK, Praha
- 2. interní klinika, FN Plzeň
- Akademie věd ČR
- Ambulance dětské hematologie a hematonekronologie Fakultní nemocnice Ostrava
- 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 národní registr dárců dřeně (ČNRDD), Plzeň
- Český registr dárců kostní dřeně (CBMD), IKEM Praha
- Dětská nemocnice, FN Brno
- Gynekologicko-porodnická klinika, 2. LF UK Motol
- HLA pracoviště v ČR (IKEM Praha, Olomouc, Plzeň, Brno, Ostrava, Hradec Králové)
- Hlasové centrum, Praha
- HIV centra v ČR (Ostrava, Plzeň, České Budějovice, Brno, Praha, Hradec Králové)
- IHOK FN Brno
- Institut klinické a experimentální medicíny, Praha
- Kardiologická klinika, FN Motol, Praha
- 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, 1. lékařská fakulta UK
- Klinika ORL, 2. lékařská fakulta UK, Motol
- Krajská nemocnice Liberec
- MBÚ AV ČR
- Mikrobiologický ústav AV ČR (Laboratoř charakterizace molekulární struktury)
- Neurologická klinika 1. lékařské fakulty UK Praha – prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc.
- Oddělení klinické hematologie, FN Brno
- 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, Praha
- Trombotické centrum, VFN Praha
- Urologická klinika FNKV a 3. LF UK
- Ústav experimentální botaniky AV ČR, Praha
- Ústav experimentální medicíny AV ČR, Praha
- Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR, Praha
- Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Praha
- Ústav molekulární biologie rostlin AV ČR, České Budějovice
- Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha
- Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha (Oddělení molekulární imunologie)
- Ústav organické chemie a biochemie AV ČR
- Ústav patologie FNKV
- Ústav patologické fyziologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha
- Ústav patologie 2. lékařské fakulty UK, Motol
- Ústav rostlinné molekulární biologie AV ČR v Českých Budějovicích
- Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, Liběchov
- Všeobecní fakultní nemocnice
- Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

Akreditace na ÚHKT

■ Dne 13. června roku 2010 proběhla úspěšně reakreditace ÚHKT u *Joint Commission International*, která má platnost do 12. června 2013.

■ V roce 2010 prošel Komplement laboratoří ÚHKT úspěšně akreditačním šetřením Českého Institutu pro Akreditaci, o. p. s. a posouzením podle normy ČSN EN ISO 15189:2007 pod č. 8081, osvědčení o akreditaci č. 109/2010.

■ Dne 22. května 2010 proběhla úspěšně reakredice Oddělení HLA analýzy u *European Federation for Immunogenetics*, která má platnost do 22. května 2011.

Hodnocení nemocnic dle finančního zdraví

■ ÚHKT Praha se v roce 2010 v žebříčku českých nemocnic dle finančního zdraví umístil na 3. místě v kategorii příspěvkových organizací do 350 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

Michaela Letenská a Jitka Kalašová

■ ocenění za nejlepší práci na XXII. *Celostátní konferenci laborantů a sester*, Harrachov 2010.

Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

■ Cena za nejlepší přednášku mladých hematologů v kategorii laboratorní výzkum v rámci XXIII. *Olomouckých hematologických dní* Machová Poláková K., Polívková V., Rulcová J., Klamová H., Jurček T., Dvořáková D., Žáčková D., Pospíšil Z., Mayer J., Moravcová J. *Neměnná hladina BCR-ABL v hodnotách $\geq 0,1$ % (IS) u pacientů s chronickou myeloidní leukémií odpovídajících optimálně na imatinib kompletní cytogenetickou remisi indukující detekci mutací.*



Předávání certifikátu JCI o reakreditaci, které proběhlo 13. 9. 2010 za účasti prvního náměstka ministra zdravotnictví MUDr. Vladimíra Pavelky, chargé d'affaires USA v Praze Mr. Johna Ordwaye a dalších čestných hostů.

Ing. Pavel Májek

■ ocenění za nejlepší poster na XVII. *Slovensko-České konferenci o trombóze a hemostáze* s mezinárodní účastí Martin 20.–22. 5. 2010 Májek P., Reicheltová Z., Štikarová J., Sobotková A., Sutttnar J., Dyr J. E.: *Změny proteomu aktivovaných krevních destiček.*

Ing. Eva Otáhalová

■ Cena vědeckého výboru Pražského hematologického dne 2010 v sekci Mladí hematologové za práci s názvem *CDKN2A – Jeden z predispozičních faktorů polycythemia vera?*

Mgr. Kristýna Pimková

■ ocenění za nejlepší poster na X. a XI. *Česko-Slovenské konferenci laboratorní hematologie* s mezinárodní účastí, Hradec Králové 2.–3. 12. 2010 Pimková K., Bocková M., Hegnerová K., Sutttnar J., Homola J., Dyr J. E.: *Detection of VEGF-R1 – protein marker of MDS in blood plasma using SPR.*

Vítězná práce v sekci postgraduálních prací – část klinická II, XI. *Studentská vědecká konference 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy* Pimková K., Hegnerová K., Sutttnar J., Homola J., Dyr J. E.: *Proteinové markery myelodysplastického syndromu pro analýzu na SPR čipu.*

Ing. Tomáš Riedel

■ Diplom za nejlepší prezentaci doktorandské práce za rok 2009: *Biometrické tenké fibrinové sítě jako skelet pro endoteliální buňky*, udělené ředitelem ÚHKT a Vědeckou radou ÚHKT.

MUDr. Eliška Rotnágllová

■ 2.–3. místo v soutěži o nejlepší doktorandskou prezentaci ÚHKT.

Ing. Alžběta Sobotková – Hlaváčková

■ Diplom za 1. místo v soutěži o nejlepší práci mladých badatelů realizované převážně v roce 2009 na ÚHKT v Praze za práci Sobotková A., Mašová-Chrastinová L., Sutttnar 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 Radic Biol Med. 2009;47(12):1707-14.*

Bc. Kateřina Zichová

■ 1. místo na *studentské vědecké konferenci na VŠCHT v Praze* v roce 2010 v sekci Molekulární biologie v medicíně za práci: Zichová K., Kotlín R., Sutttnar J., Malý M., Dyr J. E.: *Sledování polymorfismů v genu fibrinogenu a jejich asociace s koronárními syndromy.*

VĚDECKO-PEDAGOGICKÉ TITULY, VĚDECKÉ HODNOSTI, ATESTACE

Získání vědecké hodnosti Ph.D.

Mgr. Ingrid Poláková, Ph.D.

■ Obhajoba doktorské práce na téma: Gene Immunotherapy of Cancer: DNA Vaccines against HPV16, obor molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, vypracováno na Oddělení experimentální virologie ÚHKT, školitel RNDr. Michal Šmahel Ph.D.

Mgr. Vincent Lučanský, Ph.D.

■ Obhajoba doktorské práce na téma: Génová terapie CML: Experimentálně vakcíny proti bcr-abl-transformovaným bunkám, obor molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, vypracováno na Oddělení experimentální virologie ÚHKT, školitel prof. MUDr. Vladimír Vonka DrSc.

MBA

Doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D., MBA

■ Absolvoval program *Master of Business Administration (MBA)* ve zdravotnictví na CMC Graduate School of Business, garantem: Auburn University, College of Business, Alabama, USA.

Získání akademického titulu

Ing. Renata Balounová

■ Obhajoba diplomové práce: *Cesty působení oxidu dusnatého v lidských krevních destičkách*, obor laboratorní metody a příprava léčivých přípravků, VŠCHT Praha, vypracováno na Oddělení biochemie ÚHKT, školitel Ing. Jiří Suttner, CSc.

Mgr. Kamila Fejglová

■ Obhajoba diplomové práce: *Studium genové exprese ve tkáních matky a plodu exponovaných cigaretového kouři*. Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha 2010.

Ing. Alena Hochmannová

■ Obhajoba diplomové práce: *Hledání nových mutací v molekule lidského fibrinogenu*, obor laboratorní metody a příprava léčivých přípravků, VŠCHT Praha, vypracováno na Oddělení biochemie ÚHKT, školitel prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.

Mgr. Jan Musil

■ Obhajoba diplomové práce: *Využití rekombinantních virů vakcinie produkujících IGFBP-3 pro*

terapii nádorů, obor molekulární biologie a genetika, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, vypracováno na Oddělení experimentální virologie ÚHKT, školitelka RNDr. Šárka Němečková DrSc.

Mgr. Zuzana Samková

■ Obhajoba diplomové práce: *Exprese sTGFβRII-Fc-Jun z rekombinantního viru vakcinie* obor molekulární biologie a genetika, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, vypracováno na Oddělení experimentální virologie ÚHKT, školitelka RNDr. Šárka Němečková DrSc.

Mgr. Šárka Tůmová

■ Obhajoba diplomové práce: *Role sestry před, v průběhu a po transplantaci krevetvorných buněk*, obor Ošetřovatelství, Vysoká škola zdravotnictva a sociální práce sv. Alžbety, n.o. Bratislava, detašované pracoviště Příbram, vypracováno na Transplantační jednotce Klinického úseku.

Bc. Lenka Bergerová, DiS

■ Ukončila úspěšně bakalářský studijní program *zdravotnická bioanalýtika* na Univerzitě Karlově v Praze.

Bc. Jan Dvořák

■ Obhajoba bakalářské práce: *Problematika cytomegalovirové infekce u transplantovaných pacientů*, obor molekulární biologie a genetika, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, vypracováno na Oddělení experimentální virologie ÚHKT, školitelka RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

Bc. Klára Pečánková

■ Obhajoba bakalářské práce: *Role oxidu dusnatého při aktivaci krevních destiček*, obor chemie, VŠCHT Praha, vypracováno na Oddělení biochemie ÚHKT, školitel Ing. Jiří Suttner, CSc.

Bc. Lucie Peřinová

■ Obhajoba bakalářské práce: *Posílení účinku DNA vakcíny proti karcinomu děložního hrdla pomocnými epitopy*, obor imunologie, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, vypracováno na Oddělení experimentální virologie ÚHKT, školitel RNDr. Michal Šmahel, Ph.D.

Bc. Gabriela Studničková

■ Obhajoba bakalářské práce: *Význam edukace pacientů při podávání léků*, Vysoká škola zdravotnictva a sociální práce sv. Alžběty, n.o. Bratislava, detašované pracoviště Příbram,

vypracováno na Lůžkovém oddělení Klinického úseku, školitelka Mgr. Simona Brixiová

Bc. Alena Trešlová

■ Obhajoba bakalářské práce: *Komplikace u pacientů se zavedením centrálním žilním katetrem na hematologii*, Vysoká škola zdravotnictva a sociální práce sv. Alžběty, n.o. Bratislava, detašované pracoviště Příbram, vypracováno na Lůžkovém oddělení Klinického úseku, školitelka Mgr. Simona Brixiová

Bc. Petra Vochozková

■ Obhajoba bakalářské práce: *Lidský polyomavirus izolovaný z karcinomu Merkelových buněk*, obor imunologie, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, vypracováno na Oddělení experimentální virologie ÚHKT, školitel Mgr. Vojtěch Šroller, Ph.D.

Bc. Kateřina Zichová

■ Obhajoba bakalářské práce: *Genová analýza genů fibrinogenu při kardiovaskulárních onemocněních*, obor biochemie a biotechnologie, VŠCHT Praha, vypracováno na Oddělení biochemie ÚHKT, školitel Ing. Jiří Suttner, CSc.

Atestace

MUDr. Zdeňka Bhuiyan-Ludvíková

■ Atestace z *Hematologie a transfúzního lékařství*

MUDr. Elena Novotová

■ Atestace z *Hematologie a transfúzního lékařství*

Mgr. Silvia Izáková

■ Atestace v oboru *Vyšetřovací metody v klinické genetice* složena 1. 12. 2010

Mgr. Hana Čechová

■ Atestace v oboru *Klinická genetika*, IPVZ, Praha

Kvalifikační kurzy

Lenka Huptichová

■ Získání odborné způsobilosti k výkonu povolání *Všeobecný sanitář*

Miroslav Kohout

■ Získání odborné způsobilosti k výkonu povolání *Všeobecný sanitář*

Pregraduální výuka

V rámci 1. LF UK

V roce 2010 probíhala již osmým 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, Ph.D., MBA
- doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
- prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- 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 Pisačka
- MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
- MUDr. Mgr. Cyril Šálek, Ph.D.
- prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.
- 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

- Mgr. Simona Brixiová
- prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- RNDr. Jana Březinová, Ph.D.
- Mgr. Silvia Izáková
- Ing. Bc. Roman Kotlín, Ph.D.
- prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.
- RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

- RNDr. Jiří Petrák, Ph.D.
- doc. RNDr. Petr Stöckbauer, CSc.
- Ing. Jiří Suttner, CSc.
- Mgr. Iveta Šárová
- RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.
- Mgr. Lucie Vylitová
- doc. 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 **vyšetřovací 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, Ph.D. 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:

- *Semináře klinického úseku* (organizuje MUDr. Jiří Schwarz, CSc.)
- *Semináře transfuziologického úseku* (připravují MUDr. Zdeňka Bhuiyan-Ludvíková, doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.)
- *Výšetřovací metody ve vnitřním lékařství*. Cyklus seminářů, organizuje doc. MUDr. Daniel Vyoral, CSc. Fyziologie a patologie kostní tkáně, Ústav patologické fyziologie 1. LF UK.
- *Základy DNA diagnostiky v molekulární genetice* (organizuje prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.), ve spolupráci s 1. LF UK
- *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 technik* (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 nelékařský 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 transfuzní 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 školení doktorandi a diplomanti a je zajišťováno vedení jejich disertačních, magisterských diplomových a bakalářských prací odborníky.

Školitelé:

- prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
- RNDr. Hana Bručková, Ph.D.
- RNDr. Jana Březinová, Ph.D.
- Doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D.
- prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- Ing. Ota Fuchs, CSc.
- doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
- RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.
- Mgr. Kateřina Machová Poláková Ph.D.
- RNDr. Jana Moravcová, CSc.
- prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.
- RNDr. Šárka Němečková, DrSc.
- RNDr. Jiří Petrák, Ph.D.
- MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
- Ing. Jiří Suttner, CSc.
- doc. RNDr. Petr Stöckbauer, CSc.
- RNDr. Michal Šmahel, Ph.D.
- RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.
- prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.
- prof. MUDr. Vladimír Vonka, DrSc.
- doc. MUDr. Daniel Vyoral, CSc.
- Mgr. Hana Žižková, Ph.D.

Doktorandi:

- RNDr. Katarína Babiarová
- Mgr. Monika Belíčková
- RNDr. Marie Dobrovolná
- MUDr. Eva Foltýnová
- Mgr. Klára Elkhnerová
- MUDr. Pavel Gabriel
- Mgr. Hana Hájková

- Mgr. Helena Handrková
- Ing. Alžběta Hlaváčková
- Mgr. Monika Holická
- RNDr. Ingrid Hrachovinová
- Mgr. Tarek Khaznadar
- MUDr. Eva Košnářblová
- Mgr. Monika Krmenčíková
- Mgr. Monika Lakatošová
- Mgr. Tereza Lopotová
- Mgr. Vincent Lučanský
- Ing. Pavel Májek
- Mgr. Jan Musil
- Ing. Eva Otáhalová
- Mgr. Gabriela Pešlová
- Mgr. Martina Petráčková
- Ing. Radka Petrbočková
- Mgr. Kristýna Pimková
- MUDr. Martin Písačka
- Mgr. Markéta Pleschnerová
- Mgr. Ingrid Poláková
- Mgr. Václava Polívková
- Mgr. Dana Provazníková
- Mgr. Pavlína Ptáčková
- Ing. Zuzana Reicheltová
- Ing. Tomáš Riedel
- MUDr. Eliška Rotnáglová
- Mgr. Iveta Šárová
- Mgr. Tereza Šillerová
- Mgr. Hana Šourková
- Ing. Jana Štikarová
- Mgr. Soňa Včelíková
- Ing. Milena Vraná
- Mgr. Ilona Vyhliďalová
- Mgr. Kamila Žůrková

Diplomanti:

- Bc. Renata Balounová
- Kristýna Damaškovířová
- Jan Dvořák
- Bc. Alena Hochmannová
- Barbora Jelínková
- Jan Musil
- Bc. Klára Pečánková
- Lucie Peřinová
- Zuzana Samková
- Bc. Nora Staňková
- Petra Vochozřková
- Bc. Kateřina Zichová

Stážisté na klinickém úseku:

- MUDr. Andrea Burřová
Oddělení klinické hematologie
Masarykova nemocnice Úřtí nad Labem
- MUDr. Jana Faltová
Interní klinika 1. LF UK a ÚVN , Praha
- MUDr. Eva Flekačová
Interní klinika 1.LF UK a ÚVN , Praha
- MUDr. Mchaela Harudová
Oddělení klinické hematologie,
Nemocnice Pelhřimov
- MUDr. Simona Horáková
Interní klinika 1. LF UK a ÚVN, Praha

- MUDr. Adam Houska
Interní klinika 1. LF UK a ÚVN , Praha
- MUDr. Pavel Klener
1. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha
- MUDr. Zdeňka Královřká
Hematologicko-transfuzní oddělení
Městské nemocnice Čáslav
- MUDr. Jan Loužil
Oddělení klinické hematologie Krajské
nemocnice Liberec, a.s
- MUDr. Bohumil Majtan
3. interní klinika 1.LF UK a VFN, Praha
- MUDr. Zdeněk Remler
Oddělení klinické hematologie Krajské
nemocnice Liberec, a.s.
- MUDr. Eva Sklenářová
HematologieNemocnice s poliklinikou
Mělník
- MUDr. Radek Tetour
Interní klinika 1.LF UK a ÚVN, Praha
- MUDr. Jana Vlčková
Laboratoře a transfuzní služba,
Nemocnice Děčín
- MUDr. Zuzana Volemanová
Hematologické oddělení, Nemocnice Kladno
- MUDr. Eva Zřková
JIP, Krajské nemocnice Liberec, a.s.

Stážisté na transfuziologickém úseku:

- MUDr. Andrea Burřová
Masarykova nemocnice Úřtí nad Labem
- MUDr. Simona Horáková
ÚVN Střeřovice
- MUDr. Adam Houska
ÚVN Střeřovice
- MUDr. Sawkat Chodhury
IPVZ, Bratislava
- MUDr. Zdeňka Královřká
Nemocnice Čáslav
- MUDr. Bohumil Majtan
VFN, III. interna
- MUDr. Daniel Pospíšil
Nemocnice Turnov
- MUDr. Zdeněk Remler
Nemocnice Kolín
- MUDr. Eva Sklenářová
Nemocnice Mělník
- MUDr. Radek Tetour
ÚVN Střeřovice
- MUDr. Jana Vlčková
Nemocnice Děčín
- MUDr. Zuzana Volemanová
Nemocnice Kladno
- Abduov Marat
Republika Kazachřtán
- Aknur Abdugarimova
Republika Kazachřtán
- Bassueva Yelena Galiya
Republika Kazachřtán
- Beisengirova Aizhan
Republika Kazachřtán
- Bibekov Ztaras
Republika Kazachřtán

- Iskakov Raimkul
Republika Kazachstán
- Iskakova Dana
Republika Kazachstán
- Issayeva Aliya
Republika Kazachstán
- Kartabyaeva Galiya
Republika Kazachstán
- Kusmaganbetov Marat
Republika Kazachstán
- Matyyeva Aigerim
Republika Kazachstán

- Mussakhanov Kairat
Republika Kazachstán
- Sachko Alexandr
Republika Kazachstán
- Sheremetyeva Yelena
Republika Kazachstán
- Stanov Rzagali
Republika Kazachstán
- Tastanbekova Bakhytgul
Republika Kazachstán
- Ussenov Ayan
Republika Kazachstán

- Zhaltayrov Ruslan
Republika Kazachstán
- Zhexenbay Yerbolat
Republika Kazachstán

ČLENSTVÍ V RADÁCH A KOMISÍCH

prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

- Člen akademického senátu 1. LF UK Praha (do 13. 12. 2010)
- Člen vědecké rady 1. LF UK Praha (od 14. 12. 2010)
- 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 Hematological Malignancies Education Committee ESMO (European Society of Medical Oncology)
- Člen Lymphoma Working Party EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation), předseda Hodgkin Lymphoma subcommittee
- Člen hodnotících komisí pro výroční sjezdy EHA (European Hematology Association) a ASH (American Society of Hematology)
- Předseda dozorčí rady Heřmanského nadace hematologické onkologie
- Čestný člen České hematologické společnosti ČLS JEP

prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

- Člen oborových rad PDSB:
 - Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie
 - Biochemie a patobiochemie
 - Antropologie a lidská genetika
 - Lékařská biologie a 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 Společnost lékařské genetiky při ČLS JEP
- Člen rady pro klinické laboratoře 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, Ph.D., MBA

- Člen Vědecké rady University Karlovy v Praze
- Člen Vědecké rady Lékařské fakulty Masarykovy University v Brně
- Člen Oborové rady a zkušební komise pro státní doktorské zkoušky v oboru onkologie Masarykovy University v Brně

- Vedoucí redaktor českého vydání American Journal of Hematology
- Člen redakčních rad časopisů:
 - Transfuze a hematologie Dnes
 - The Lancet Oncology (české vydání)
- Člen revizní komise výboru České hematologické společnosti ČLS JEP
- Člen Transplantační sekce České hematologické společnosti a České onkologické společnosti
- Člen American Society for Blood and Marrow Transplantation
- Člen European Group for Blood and Marrow Transplantation
- 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 Transfuze a hematologie dnes
- Člen redakční rady Hematologica
- Člen řídicí komise pro vzdělávání v hematologii EHA
- Člen řídicího výboru European Leukemia Net pro problematiku MDS
- Člen řídicího výboru Evropského registru MDS
- Člen Mezinárodní pracovní skupiny pro revizi klasifikace MDS
- Předseda Občanského sdružení lékařů pro léčbu MDS – Czech MDS Group

RNDr. Marie Dobrovolná

- Člen European Foundation for Immunogenetics
- Člen European Society for Blood and Marrow Transplantation
- Členka etické komise ÚHK
- Členka SLG ČLS JEP

Mgr. Andrea Dočkalová

- Člen European Society for Blood and Marrow Transplantation

RNDr. Ludmila Doležalová, CSc.

- člen Rady Centra experimentální hematologie

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 trombózu a hemostázu ČLS JEP
- Člen Koordinační rady Doktorských studijních programů v biomedicině při UK v Praze a AV ČR

doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.

- President Elect European Society for Haemapheresis and Haemotherapy
- Vědecký sekretář Společnosti pro transfuzní lékařství JEP
- Člen redakční rady časopisu Transfuze a hematologie dnes

RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.

- Člen oborové rady Molekulární a buněčné biologie, genetiky a virologie v rámci sekce Biomedicina 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 (GAAV)

RNDr. Ingrid Hrachovinová

- Člen výboru Společnosti pro trombozu a hemostázu ČLS JEP
- Člen Vědecké rady SEKK (Externí kontrola kvality)

RNDr. Zbyněk Hrkál, DrSc.

- Člen Swiss Proteomic Society
- Člen European Society for Photobiology
- Člen komise Ostatní lékařské obory I. Interní grantové agentury (IGA) MZ ČR

prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.

- Člen Vědecké rady AV ČR
- Člen Vědecké rady MZ ČR
- Člen správní rady Národního vzdělávacího fondu
- Člen Učené společnosti ČR
- Člen Academia Medica Preagensis
- Člen redakčních rad časopisů:
 - Hematological Oncology (Wiley Chichester)
 - Hematology (Harwood Academic Press)
 - Časopis lékařů českých
 - Klinická onkologie
- Člen American Association of Medical Oncology (ASCO) a dalších zahraničních odborných společností
- Čestný předseda České leukemické skupiny CELL

MUDr. Petr Kobylka, CSc.

- Člen Oborové komise OK 05 IGA MZ ČR

Ing. Bc. Roman Kotlín, Ph.D.

- Hostující člen laboratorní sekce České hematologické společnosti JEP
- Člen European Hematology Association
- Člen Human Proteome Organisation
- Člen České společnosti chemické

- Člen České společnosti pro biochemii a molekulární biologii
- Člen Spolku pro Trombózu a Hemostázu

MUDr. Jacqueline Soukupová-Maaloufová

- Člen výboru České leukemické skupiny CELL

Mgr. Kateřina Machová-Poláková, Ph.D.

- Člen European Hematology Association
- Člen European Leukemia Net (WP4 project, EUTOS for CML)
- Člen Česká hematologická společnost
- Diagnóza CML (člen poradní rady)

MUDr. Iuri Marinov, CSc.

- Člen International Society for Laboratory Hematology
- Člen Clinical Cytometry Society

MUDr. Markéta Marková, CSc.

- Člen European Society for Blood and Marrow Transplantation

prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.

- Oborová rada pro molekulární genetiku a biologii UK
- Oborová rada Genetika a plemenitba zvířat Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
- Ministerstvo zdravotnictví Akreditační komise lékařská genetika

RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

- Členka vědecké rady 1. lékařské fakulty UK
- Členka oborové rady pro doktorské studium v oborech genetika a mol. biol. a mikrobiologie UK Praha
- Členka rady Centra experimentální hematologie
- Členka komisí pro udělování titulu DrSc. v oboru imunologie a mikrobiologie
- Členka 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 trombózu 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. BM0902 – 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*)
- Člen European Hematology Association
- 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 (Zdravotně sociální 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, genetiky a virologie, UK Praha
- Vědecký sekretář výboru Společnosti pro genovou a buněčnou terapii ČLS JEP
- Člen rady Centra funkční genetiky
- Člen vědecké rady ÚHKT

RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

- Členka Komise pro prevenci karcinomu hrdla děložního, GSK
- Zástupkyně ÚHKT, NRL pro papillomaviry v European Cervical Cancer Association

MUDr. Veronika Válková, CSc.

- Člen European Society for Blood and Marrow Transplantation

MUDr. Antonín Vítek

- Člen Transplantační sekce České hematologické společnosti ČLS JEP
- Člen European Society for Blood and Marrow Transplantation

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 České společnosti pro genovou a buněčnou terapii ČLS JEP
- Člen rady Centra buněčné terapie a tkáňových náhrad
- Člen habilitační komise na 3. lékařské fakultě UF Praha
- Iniciátor zřízení Pracovní skupiny pro personalizovanou medicínu složené ze zástupců US ČR, ČLA a ČLS JEP a její člen

Ing. Milena Vraná

- Člen European Foundation for Immunogenetics
- Člen European Society for Blood and Marrow Transplantation

Zaměstnanci ÚHKT jsou členy některé nebo několika následujících odborných společností:

- Česká lékařská společnost J. E. Purkyně (ČLS JEP)
- Česká hematologická společnost ČLS JEP
- Společnost pro trombózu a hemostázu ČLS JEP

- Společnost transfuzního lékařství ČLS JEP
- Česká onkologická společnost ČLS JEP
- Česká asociace sester (ČAS)
- Česká společnost chemická (ČSCH)
- Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii (ČSBMB)
- Česká leukemická skupina CELL
- American Society of Hematology (ASH)
- European Hematology Association (EHA)
- European Society for Blood and Marrow Transplantation (ESBMT)
- Human Proteome Organisation (HUPO)

Vědecká rada ÚHKT

Předseda Vědecké rady:

- doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

Zástupce předsedy Vědecké rady:

- RNDr. Kateřina Kuželová, Ph.D.

Ústavní členové

- prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.
- doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
- Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.
- MUDr. Markéta Marková, CSc.
- Ing. Michaela Merkerová, Ph.D.
- MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
- MUDr. Mgr. Cyril Šálek, Ph.D.
- RNDr. Michal Šmahel, Ph.D.
- 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, Ph.D., *VFN 1. Interní klinika*

Zahraniční členové

- prof. Jiri Bartek, MD, Ph.D., dr. h. c.,
Institute of Cancer Biology, Danish Cancer Society, Denmark
- Jaroslav Jelínek, MD, Ph.D., *MD Anderson Cancer Center USA*
- Jan Storek, MD, Ph.D., *University of Calgary*
- prof. MUDr. Radek Škoda, Ph.D., *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 ŠKOLÍCÍCH AKCÍ

MUDr. Zdeňka Bhuiyan-Ludvíková

- Příprava seminářů Transfuziologického úseku

Mgr. Simona Brixiová

- Organizace odborných konferencí a seminářů
Ošetrovateľského úseku

doc. MUDr. Cetkovský Petr, Ph.D., MBA

- *Pražský hematologický den*, 14. 10. 2010

MUDr. Ivan Fales, MUDr. Šárka Rahmatová,
MUDr. Petr Kobylka, CSc.

- *Celostátní konference projektu BPK ČR* 22. 1. 2010.
Praha, 22. 1. 2010: Fales, I., Rahmatová, Š., Kobylka, P., spolupořadatel.

doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.

- Členka vědeckého výboru *Joint congress ESFH a WAA*,
Interlaken září 2010, Švýcarsko.
- *Hemaferéza – vysoce účinná separační technika v terapii nemocných*:
seminář ÚHKT. Lékařský dům, Praha, 18. 2. 2010: Gašová, Z., pořadatel.

RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.

- Organizace seminářů *Oddělení molekulární genetiky*

prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.,
RNDr. Jana Březinová, Ph.D.

- Organizace stáží pro *NCO NZO Brno*

MUDr. Jiří Schwarz, CSc.

- Organizace seminářů *Klinického úseku*

RNDr. Michal Šmahel, Ph.D.,
prof. MUDr. Vladimír Vonka, DrSc.

- Členové vědeckého výboru konference *1st international conference on advances in cell and gene therapy and immunotherapy: from basic research to clinical applications and 3rd workshop on immunotherapy*.
Mikulov, 23.–25. 9. 2010.

RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

- *Odborná konference o historii Oddělení experimentální virologie u příležitosti životního jubilea jeho zakladatele, profesora MUDr. Vladimíra Vonky, DrSc., a diagnostice a prevenci HPV infekcí*.
Praha, 9. 11. 2010: Tachezy, R., pořadatel.

RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.,
RNDr. Eva Hamšíková

- *Týden prevence karcinomu hrdla děložního*.
Praha, ÚHKT, 24.–30. 1. 2010: Tachezy, R., Hamšíková, E., pořadatel.
- *Jak se můžete vy a vaši blízcí chránit před rakovinou děložního čípku: prevence karcinomu děložního hrdla* – seminář pro zaměstnance
ÚHKT. Praha, ÚHKT, 23. 2. 2010: Tachezy, R., Hamšíková, E., pořadatel.

prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.,
doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.,
prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc.

- organizace společných seminářů 1. interní kliniky 1. LF UK, ÚHKT
a Ústavu patologické fyziologie 1. LF UK

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:

Rekreace

- příspěvek z FKSP na prázdninovou rekreaci dětí zaměstnanců (3000 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

Kulturně společenské akce

- každoroční pořádání srazu bývalých zaměstnanců ÚHKT – důchodců
- poskytování darů u příležitosti pracovních a životních výročí

Ostatní

- finančně dotované stravování v závodní jídelně nebo nákup stravenek GASTROTUR
- 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)
- půjčování sportovního inventáře
- zajišťování provozu a údržby horské chalupy v Bedřichově v Jizerských horách

Třináctá komora – fotoklub při ÚHKT

Fotoklub Třináctá komora vznikl na půdě ÚHKT již téměř před deseti lety. Většina členů fotoklubu již dnes na ÚHKT nepracuje, ale ti co zůstávají, se starají o vzájemnou symbiózu. Ta spočívá v tom, že nám ÚHKT zajišťuje zázemí pro naše schůzky a na oplátku fotoklub dodává pro ÚHKT snímky pro jeho potřebu. Jedná se zejména o snímky z jednotlivých pracovišť pro výroční zprávu, návštěvy akreditační komise, dokumentace evakuace a požárních poplachů, fotografování budovy a dárcovství krve pro jeho propagaci aj.

V roce 2010 jsme v rámci fotoklubu uspořádali jarní výstavu s názvem *Arboretum Třinácté komory* ve Faustově domě. Fotografie z těchto výstav často slouží jako výzdoba ÚHKT.

V roce 2010 byl fotoklub pořadatelem 49. ročníku *Mapového okruhu Nekázanka*. Vyhlášení proběhlo na začátku října, přičemž náš fotoklub obsadili 6. místo a členka našeho fotoklubu, Ivana Železná, získala titul nejlepší fotografky tohoto ročníku. Na podzim 2010 pak členové fotoklubu a jejich přátelé měli víkendový seminář v Adršpachu se zaměřením na tvorbu 3D fotografií. Veškerá dokumentace ze seminářů, akcí a výstav je zaznamenávána na webové adrese www.13komora.cz. Pravidelné schůzky fotoklubu probíhají ve čtrnáctidenních intervalech, přičemž v roce 2011 se scházíme každou středu od 17 hodin. Na programu je většinou hodnocení fotografií fotoklubů, zapojených do celorepublikové soutěže *Mapový okruh Nekázanka*. Dále se promítají fotografie z různých cest nebo pro účely diskuse nad nimi. Tímto také zveme zájemce z okruhu zaměstnanců ÚHKT, kteří mají zájem o fotografování, ať přijdou na schůzku fotoklubu, neboť rádi uvítáme nové zájemce o rozšíření našich kruhů. Potřebné informace získáte u Hany Novotné nebo na emailu fotoklub@uhkt.cz. ■

PUBLIKAČNÍ ČINNOST 2010 (VYBRANÉ PUBLIKACE)

Původní práce v recenzovaných časopisech

1. Riedel, T.; Suttner, J.; Brynda, E.; Houska, M.; Medvěd, L.; Dyr, J. E.
□ Fibrinopeptides A and B release in the process of surface fibrin formation.
□ Blood. (2010), DOI 10.1182/blood-2010-08-300301.
■ Impact Factor: 10.555
2. Göhring, G.; Michalová, K.; Beverloo, H.B.; Betts, D.R.; Harbott, J.; Kerndrup, G.; Sainati, L.; Bergstraesser, E.; Hasle, H.; Starý, J.; Trebo, M.; van den Heuvel-Eibrink, M.M.; Zecca, M.; van Wering, E.; Fischer, A.; Noellke, P.; Strahm, B.; Locatelli, F.; Niemeyer, C.M.; Schlegelberger, B.
□ Complex karyotype newly defined: the strongest prognostic factor in advanced childhood myelodysplastic syndrome.
□ Blood. Vol. 116, no. 19 (2010), s. 3766–769.
■ Impact Factor: 10.555
3. Michallet, M.; Sobh, M.; Milligan, D.; Morisset, S.; Niederwieser, D.; Koza, V.; Ruutu, T.; Russell, N.H.; Verdonck, L.F.; Dhedin, N.; Vitek, A.; Boogaerts, M.; Vindelov, L.; Finke, J.; Dubois, V.; Van Biezen, A.; Brand, R.; De Witte, T.M.; Dreger, P.
□ The impact of HLA matching on long-term transplant outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for CLL: a retrospective study from the EBMT registry.
□ Leukemia. Vol. 24, no. 10 (2010), s. 1725–1731.
■ Impact Factor: 8.296
4. Boria, I.; Garelli, E.; Gazda, H.T.; Aspesi, A.; Quarello, P.; Pavesi, E.; Ferrante, D.; Meerpohl, J.J.; Kartal, M.; Da Costa, L.; Proust, A.; Leblanc, T.; Simansour, M.; Dahl, N.; Fröjmark, A.-S.; Pospíšilová, D.; Čmejla, R.; Beggs, A.H.; Sheen, M.R.; Landowski, M.; Buros, C.M.; Clinton, C.M.; Dobson, L.J.; Vlachos, A.; Atsidaftos, E.; Lipton, J.M.; Ellis, S.R.; Ramenghi, U.; Dianzani, I.
□ The ribosomal basis of Diamond-Blackfan anemia: mutation and database update.
□ Hum. Mutat. Vol. 31, no. 12 (2010), s. 1269–1279.
■ Impact Factor: 6.887
5. Toracchio, S.; Foyle, A.; Šroller, V.; Reed, J.A.; Wu, J.; Kozinetz, C.A.; Butel, J.S.
□ Lymphotropism of Merkel cell polyomavirus infection, Nova Scotia, Canada.
□ Emerg. Infect. Dis. Vol. 16, no. 11 (2010), s. 1702–1709.
■ Impact Factor: 6.794
6. Mejstříková, E.; Volejníková, J.; Froňková, E.; Zdráhalová, K.; Kalina, T.; Štěrbá, J.; Jabali, Y.; Mihál, V.; Blažek, B.; Černá, Z.; Procházková, D.; Hak, J.; Zemanová, Z.; Jarošová, M.; Oltová, A.; Sedláček, P.; Schwarz, J.; Zuna, J.; Trka, J.; Starý, J.; Hrušák, O.
□ Prognosis of children with mixed phenotype acute leukemia treated on the basis of consistent immunophenotypic criteria.
□ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. 6 (2010), s. 928–935.
■ Impact Factor: 5.978
7. Smith, E.M.; Pawlita, M.; Rubenstein, L.M.; Haugen, T.H.; Hamšíková, E.; Turek, L.P.
□ Risk factors and survival by HPV-16 E6 and E7 antibody status in human papillomavirus positive head and neck cancer.
□ Int. J. Cancer. Vol. 127, no. 1 (2010), s. 111–117.
■ Impact Factor: 4.722
8. Merkerová, M.; Vašíková, A.; Belíčková, M.; Bruchová, H.
□ MicroRNA expression profiles in umbilical cord blood cell lineages.
□ Stem Cells Dev. Vol. 19, no. 1 (2010), s. 17–25.
■ Impact Factor: 4.146
9. Zuna, J.; Žaliová, M.; Mužíková, K.; Meyer, C.; Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Březinová, J.; Votava, F.; Marschalek, R.; Starý, J.; Trka, J.
□ Acute leukemias with ETV6/ABL1 (TEL/ABL) fusion: poor prognosis and prenatal origin.
□ Gene Chromosome Canc. Vol. 49, no. 10 (2010), s. 873–874.
■ Impact Factor: 3.858
10. Poláková, I.; Pokorná, D.; Dušková, M.; Šmahel, M.
□ DNA vaccine against human papillomavirus type 16: modifications of the E6 oncogene.
□ Vaccine. Vol. 28, no. 6 (2010), s. 1506–1513.
■ Impact Factor: 3.616
11. Pereira, L.; Černý, V.; Cerezo, M.; Silva, N.M.; Hájek, M.; Vašíková, A.; Kujanová, M.; Brdička, R.; Salas, A.
□ Linking the sub-Saharan and West Eurasian gene pools: maternal and paternal heritage of the Tuareg nomads from the African Sahel.
□ Eur. J. Hum. Genet. Vol. 18, no. 8 (2010), s. 915–923.
■ Impact Factor: 3.564
12. Moťovská, Z.; Widimský, P.; Petr, R.; Bílková, D.; Marinov, I.; Šimek, S.; Kala, P.
□ Optimal pretreatment timing for high load dosing (600 mg) of clopidogrel before planned percutaneous coronary intervention for maximal antiplatelet effectiveness.
□ Int. J. Cardiol. Vol. 144, no. 2 (2010), s. 255–257.
■ Impact Factor: 3.469
13. Krasulová, E.; Trněný, M.; Kozák, T.; Vacková, B.; Pohlreich, D.; Kemlink, D.; Kobylka, P.; Kovářová, I.; Lhotáková, P.; Havrdová, E.
□ High-dose immunoablation with autologous haematopoietic stem cell transplantation in aggressive multiple sclerosis: a single centre 10-year experience.
□ Mult. Scler. Vol. 16, no. 6 (2010), s. 685–693.
■ Impact Factor: 3.279
14. Smith, E.M.; Rubenstein, L.M.; Haugen, T.H.; Hamšíková, E.; Turek, L.P.
□ Tobacco and alcohol use increases the risk of both HPV-associated and HPV-independent head and neck cancers.
□ Cancer Causes Control. Vol. 21, no. 9 (2010), s. 1369–1378.
■ Impact Factor: 3.199
15. Němec, P.; Zemanová, Z.; Michalová, K.; Tajtlová, J.; Greslíková, H.; Filková, H.; Králová, D.; Kupská, R.; Smetana, J.; Krejčí, M.; Pour, L.; Zahradová, L.; Sandecká, V.; Adam, Z.; Buchler, T.; Špička, I.; Gregora, E.; Kuglík, J.; Hájek, R.
□ Gain of 1q21 is an unfavourable genetic prognostic factor for multiple myeloma patients treated with high-dose chemotherapy.
□ Biol. Blood Marrow Transplant. Vol. 16, no. 4 (2010), s. 548–554.
■ Impact Factor: 3.149

16. Machová Poláková, K.; Polívková, V.; Rulcová, J.; Klamová, H.; Jurček, T.; Dvořáková, D.; Žáčková, D.; Pospíšil, Z.; Mayer, J.; Moravcová, J.
 □ Constant BCR-ABL transcript level less than or equal 0,1 % (IS) in patients with CML responding to imatinib with complete cytogenetic remission may indicate mutation analysis.
 □ Exp. Hematol. Vol. 38, no. 1 (2010), s. 20–26.
 ■ Impact Factor: 3.106
17. Kuželová, K.; Pluskalová, M.; Grebeňová, D.; Pavlásková, K.; Halada, P.; Hrkál, Z.
 □ Changes in cell adhesivity and cytoskeleton-related proteins during imatinib-induced apoptosis of leukemic JURL-MK1 cells.
 □ J. Cell. Biochem. Vol. 111, no. 6 (2010), s. 1413–1425.
 ■ Impact Factor: 2.935
18. Kuželová, K.; Pluskalová, M.; Brodská, B.; Otevřelová, P.; Elknerová, K.; Grebeňová, D.; Hrkál, Z.
 □ Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) at subtoxic concentrations increases the adhesivity of human leukemic cells to fibronectin.
 □ J. Cell. Biochem. Vol. 109, no. 1 (2010), s. 184–195.
 ■ Impact Factor: 2.935
19. Bruchová, H.; Vašíková, A.; Merkerová, M.; Milcová, A.; Topinka, J.; Balaščík, I.; Pastorková, A.; Šrám, R.; Brdička, R.
 □ Effect of maternal tobacco smoke exposure on the placental transcriptome.
 □ Placenta. Vol. 31, no. 3 (2010), s. 186–191.
 ■ Impact Factor: 2.767
20. Ráčil, Z.; Klamová, H.; Voglová, J.; Faber, E.; Razga, F.; Žáčková, D.; Burešová, L.; Cetkovský, P.; Mayer, J.
 □ Persistent splenomegaly during imatinib therapy and the definition of complete hematological response in chronic myelogenous leukemia.
 □ Am. J. Hematol. Vol. 85, no. 5 (2010), s. 386–387.
 ■ Impact Factor: 2.610
21. Ráčil, Z.; Razga, F.; Burešová, L.; Jurček, T.; Dvořáková, D.; Žáčková, D.; Timilsina, S.; Cetkovský, P.; Mayer, J.
 □ The assessment of human organic cation transporter 1 (hOCT1) mRNA expression in patients with chronic myelogenous leukemia is affected by the proportion of different cells types in the analyzed cell population.
 □ Am. J. Hematol. Vol. 85, no. 7 (2010), s. 525–528.
 ■ Impact Factor: 2.610
22. Májek, P.; Reicheltová, Z.; Štikarová, J.; Sutttnar, J.; Sobotková, A.; Dyr, J. E.
 □ Proteome changes in platelets activated by arachidonic acid, collagen, and thrombin.
 □ Proteome Sci. [on line]. Vol. 8, no. 1 (2010), art. no. 56.
 ■ Impact Factor: 2.564
23. Čmejla, R.; Ptáčková, P.; Petrák, J.; Savvulidi, F.; Černý, J.; Šebesta, O.; Vyoral, D.
 □ Human MRCKalpha is regulated by cellular iron levels and interferes with transferrin iron uptake.
 □ Biochem. Bioph. Res. Co. Vol. 395, no. 2 (2010), s. 163–167.
 ■ Impact Factor: 2.548
24. Žůrková, K.; Hainz, P.; Kryštofová, J.; Kutinová, L.; Šanda, M.; Němečková, Š.
 □ Attenuation of vaccinia virus by the expression of human Flt3 ligand.
 □ Virol. J. [online]. Vol. 7, no. 1 (2010), art. no. 109 [cit. 2010-08-31].
 □ Dostupný z WWW: <<http://www.virologyj.com/content/pdf/1743-422X-7-109.pdf>>
 ■ Impact Factor: 2.435
25. Kotlín, R.; Zichová, K.; Sutttnar, J.; Reicheltová, Z.; Salaj, P.; Hrachovinová, I.; Dyr, J. E.
 □ Congenital dysfibrinogenemia Aalpha Gly13Glu associated with bleeding during pregnancy.
 □ Thromb. Res. (2010), doi:10.1016/j.thromres.2010.11.003.
 ■ Impact Factor: 2.406
26. Bruchová-Votavová, H.; Yoon, D.; Prchal, J.T.
 □ MiR-451 enhances erythroid differentiation in K562 cells.
 □ Leuk. Lymphoma. Vol. 51, no. 4 (2010), s. 686–693.
 ■ Impact Factor: 2.397
27. Formánková, R.; Sedláček, P.; Keslová, P.; Šrámková, I.; Žižková, H.; Starý, J.
 □ Adoptive immunotherapy, chemotherapy, and second allogeneic transplant in the treatment of post-transplant relapse of acute leukemia in children: a single center experience.
 □ Leuk. Lymphoma. Vol. 51, no. 10 (2010), s. 1936–1940.
 ■ Impact Factor: 2.397
28. Ráčil, Z.; Razga, F.; Machová Poláková, K.; Burešová, L.; Polívková, V.; Dvořáková, D.; Žáčková, D.; Klamová, H.; Cetkovský, P.; Mayer, J.
 □ Assessment of adenosine triphosphate-binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1) mRNA expression in patients with de novo chronic myelogenous leukemia: the role of different cell types.
 □ Leuk. Lymphoma. (2010) Early online, s. 1–4.
 ■ Impact Factor: 2.397
29. Jamison, J.M.; Gilloteaux, J.; Perlaky, L.; Thiry, M.; Smetana, K.; Neal, D.; McGuire, K.; Summers, J.L.
 □ Nucleolar changes and fibrillar redistribution following Apatone treatment of human bladder carcinoma cells.
 □ J. Histochem. Cytochem. Vol. 58, no. 7 (2010), s. 635–651.
 ■ Impact Factor: 2.372
30. Vašíková, A.; Beličková, M.; Budinská, E.; Čermák, J.
 □ A distinct expression of various gene subsets in CD34+ cells from patients with early and advanced myelodysplastic syndrome.
 □ Leukemia Res. Vol. 34, no. 12 (2010), s. 1566–1572.
 ■ Impact Factor: 2.358
31. Kideryová, L.; Pytlík, R.; Benešová, K.; Veselá, R.; Karban, J.; Rychtrmocová, H.; Goettsch, W.; Morawietz, H.; Trněný, M.
 □ Endothelial cells (EC) and endothelial precursor cells (EPC) kinetics in hematological patients undergoing chemotherapy or autologous stem cell transplantation (ASCT).
 □ Hematol. Oncol. Vol. 28, no. 4 (2010), s. 192–201.
 ■ Impact Factor: 1.869
32. Váľková, V.; Schwarz, J.; Vítek, A.; Marková, M.; Pohlreich, D.; Benešová, K.; Michalová, K.; Cetkovský, P.; Trněný, M.
 □ The effect of allogeneic stem cell transplantation on high risk chronic lymphocytic leukaemia: a single centre retrospective analysis.
 □ Hematol. Oncol. (2010), DOI: 10.1002/hon.949.
 ■ Impact Factor: 1.869
33. Kotlín, R.; Reicheltová, Z.; Sutttnar, J.; Salaj, P.; Hrachovinová, I.; Riedel, T.; Malý, M.; Oravec, M.; Kvasnička, J.; Dyr, J. E.;
 □ Two novel fibrinogen variants in the C-terminus of the Bbeta-chain: fibrinogen Rokycany and fibrinogen Znojmo.
 □ J. Thromb. Thrombolysis. Vol. 30, no. 3 (2010), s. 311–318.
 ■ Impact Factor: 1.846
34. Lysák, D.; Kořístek, Z.; Gašová, Z.; Skoumalová, I.; Jindra, P.
 □ Efficacy and safety of peripheral blood stem cell collection in elderly donors; does age interfere?
 □ J. Clin. Apheresis. (2010), Early View.
 ■ Impact Factor: 1.682

35. Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Malinová, E.; Jarošová, M.; Mejstříková, E.; Smišek, P.; Pospíšilová, D.; Starý, J.; **Michalová, K.**
 - A novel recurrent chromosomal aberration involving chromosome 7 in childhood myelodysplastic syndrome.
 - Cancer Genet. Cytogen. Vol. 201, no.1 (2010), s. 52–56.
 - Impact Factor: 1.537
36. Šárová, I.; Březinová, J.; Zemanová, Z.; Izáková, S.; Lizcová, L.; Malinová, E.; Berková, A.; Čermák, J.; Maaloufová, J.; Nováková, L.; **Michalová, K.**
 - Cytogenetic manifestation of the chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia.
 - Cancer Genet. Cytogen. Vol. 199, no. 2 (2010), s. 121–127.
 - Impact Factor: 1.537
37. Lysák, D.; Kalina, T.; Martínek, J.; Pikalová, Z.; Vokurková, D.; Jarošová, M.; **Marinov, I.**; Ondřejková, A.; Špaček, M.; Stehlíková, M.
 - Interlaboratory variability of CD34+ stem cell enumeration: a pilot study to national external quality assessment within the Czech Republic.
 - Int. J. Lab. Hematol. Vol. 32, no. 6 Pt.1 (2010), s. e229–e236.
 - Impact Factor: 1.304
38. Flegr, J.; Novotná, M.; Fialová, A.; Kolbeková, P.; **Gašová, Z.**
 - The influence of RhD phenotype on toxoplasmosis – and age-associated changes in personality profile of blood donors.
 - Folia Parasitol. Roč. 57, č. 2 (2010), s. 143–150.
 - Impact Factor: 1.266
39. **Kotlín, R.**; Blažek, B.; **Suttnar, J.**; Malý, M.; Kvasnička, J.; **Dyr, J. E.**
 - Dysfibrinogenemia in childhood: two cases of congenital dysfibrinogens.
 - Blood Coagul. Fibrin. Vol. 21, no. 7 (2010), s. 640–648.
 - Impact Factor: 1.246
40. **Smetana, K.**; **Klamová, H.**; **Jirásková, I.**; **Mikulenková, D.**
 - A short cytochemical note on the nucleolar and cytoplasmic RNA concentration in differentiating cells represented by human erythroblasts.
 - Acta Histochem. Vol. 112, no. 4 (2010), s. 407–411.
 - Impact Factor: 1.234
41. **Březinová, J.**; Berková, A.; **Včelíková, S.**; Zemanová, Z.; **Izáková, S.**; **Šárová, I.**; **Čechová, H.**; Tajtlová, J.; Grosová, L.; Lizcová, L.; Malinová, E.; Zemanová, M.; Cmunt, E.; Karban, J.; **Trněný, M.**; **Schwarz, J.**; **Michalová, K.**
 - Telomere length, molecular cytogenetic findings, and immunophenotypic features in previously untreated patients with B-chronic lymphocytic leukemia.
 - Neoplasma. Vol. 57, no. 3 (2010), s. 215–221.
 - Impact Factor: 1.192
42. **Figová, K.**; **Sobotková, E.**; **Duškova, M.**; **Ludvíková, V.**; **Vonka, V.**; Eckschlager, T.
 - In vitro and in vivo effects of reovirus on HPV16-transformed mice cells.
 - Neoplasma. Vol. 57, no. 3 (2010), s. 207–214.
 - Impact Factor: 1.192
43. **Klamová, H.**; Faber, E.; Žáčková, D.; **Marková, M.**; Voglová, J.; Cmunt, E.; **Nováková, L.**; **Machová Poláková, K.**; **Moravcová, J.**; Dvořáková, D.; **Michalová, K.**; **Březinová, J.**; Oltová, A.; Jarošová, M.; **Cetkovský, P.**; Indrák, K.; Mayer, J.
 - Dasatinib in imatinib-resistant or – intolerant CML patients: data from the clinical practice of 6 hematological centers in the Czech Republic.
 - Neoplasma. Vol. 57, no. 4 (2010), s. 355–359.
 - Impact Factor: 1.192
44. **Smetana, K.**; Karban, J.; **Trněný, M.**
 - To the nucleolar bodies (nucleoli) in cells of the lymphocytic lineage in patients suffering from B – chronic lymphocytic leukemia.
 - Neoplasma. Vol. 57, no. 6 (2010), s. 495–500.
 - Impact Factor: 1.192
45. Szotkowski, T.; Mužík, J.; Voglová, J.; Koza, V.; **Maaloufová, J.**; Kozák, T.; Jarošová, M.; **Michalová, K.**; Žák, P.; Steinerová, K.; Vydra, J.; Lánská, M.; Katrincáková, B.; Sičová, K.; Pavlík, T.; Dušek, L.; Indrák, K.
 - Prognostic factors and treatment outcome in 1,516 adult patients with de novo and secondary acute myeloid leukemia in 1999–2009 in 5 hematology intensive care centers in the Czech Republic.
 - Neoplasma. Vol. 57, no. 6 (2010), s. 578–589.
 - Impact Factor: 1.192
46. **Votavová, H.**; Forsterová, K.; **Campr, V.**; Stříteský, J.; Velenská, Z.; Pytlík, R.; Kubáčková, K.; **Procházka, B.**; Kodet, R.; Špička, I.; Krejčová, H.; **Trněný, M.**; **Klener, P.**
 - Distinguishing of primary mediastinal B-cell lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma using real-time quantitative polymerase chain reaction.
 - Neoplasma. Vol. 57, no. 5 (2010), s. 449–454.
 - Impact Factor: 1.192
47. **Gašová, Z.**; **Bhuiyan-Ludvíková, Z.**; **Böhmová, M.**; **Marinov, I.**; Vacková, B.; **Pohlreich, D.**; **Trněný, M.**
 - PBPC collections: management, techniques and risks.
 - Transfus. Apher. Sci. Vol. 43, no. 2 (2010), s. 237–243.
 - Impact Factor: 0.938
48. **Bystřická, D.**; Zemanová, Z.; **Březinová, J.**; Gančarčíková, M.; Grosová, L.; **Šárová, I.**; **Izáková, S.**; Berková, A.; **Michalová, K.**
 - The assessment of array comparative genomic hybridization in complex karyotype analyses.
 - Folia Biol. (Prague). Roč. 56, č. 5 (2010), s. 223–230.
 - Impact Factor: 0.924
49. Forsterová, K.; **Votavová, H.**; **Schwarz, J.**; Karban, J.; Štuka, Č.; **Trněný, M.**
 - Advanced Rai stage in patients with chronic lymphocytic leukaemia correlates with simultaneous hypermethylation of plural tumour suppressor genes.
 - Folia Biol. (Prague). Roč. 56, č. 4 (2010), s. 158–164.
 - Impact Factor: 0.924
50. **Fuchs, O.**; **Kostečka, A.**; **Provazníková, D.**; **Krásná, B.**; **Kotlín, R.**; **Staňková, M.**; **Kobylka, P.**; Dostálová, G.; Zeman, M.; Chochola, M.
 - CCAAT/Enhancer-Binding Protein Alpha (CEBPA) polymorphisms and mutation in healthy individuals and in patients with peripheral artery disease, ischaemic heart disease and hyperlipidaemia.
 - Folia Biol. (Prague). Roč. 56, č. 2 (2010), s. 51–57.
 - Impact Factor: 0.924
51. Pytlík, R.; Kideryová, L.; **Benešová, K.**; **Čechová, H.**; Veselá, R.; Rychtrmccová, H.; **Trněný, M.**
 - Circulating endothelial precursor cells (EPC) in patients undergoing allogeneic haematopoietic progenitor cell transplantation.
 - Folia Biol. (Prague). Roč. 56, č. 1 (2010), s. 32–35.
 - Impact Factor: 0.924
52. **Smetana, K.**; Zápotocký, M.
 - The effect of a histone deacetylase inhibitor: valproic acid: on nucleoli in human leukaemic myeloblasts.
 - Folia Biol. (Prague). Roč. 56, č. 5 (2010), s. 201–205.
 - Impact Factor: 0.924
53. Berková, A.; **Michalová, K.**
 - Cytogenetické nálezy u chronické lymfocytární leukemie (CLL).
 - Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S1 (2010), s. 52–55.
 - Impact Factor: 0.000

54. Brdička, R.

- Genetické databáze a DNA banky: rozšířený abstrakt.
- Čas. Lék. čes. Roč. 149, č. 10 (2010), s. 488–489.
- Impact Factor: 0.000

55. Brdička, R.

- Postgenomová éra a co přijde po ní?
- Čas. Lék. čes. Roč. 149, č. 7 (2010), s. 315–318.
- Impact Factor: 0.000

56. Brejcha, M.; Doubek, M.; Cmunt, E.; Schwarz, J.; Pospíšil, Z.; Kozmon, P.; Brychtová, Y.; Cetkovský, P.; Trněný, M.; Mayer, J.

- Nové prognostické markery u chronické lymfocytární leukemie v každodenní hematologické praxi: analýza dat ze čtyř pracovišť.
- Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S1 (2010), s. 62–66.
- Impact Factor: 0.000

57. Burgetová, A.; Cetkovský, P.; Vaněčková, M.; Vondráčková, M.; Němcová, J.; Seidl, Z.

- Neinfekční plicní komplikace u pacientů po transplantaci kmenových buněk krvetvorby.
- Čes. Radiolog. Roč. 64, č. 3 (2010), s. 218–225.
- Impact Factor: 0.000

58. Cetkovský, P.; Burgetová, A.

- Neinvazivní vyšetřování nemocných s plicními komplikacemi: klinické nálezy a zobrazovací metody v diferenciální diagnostice plicních infiltrátů.
- Postgrad. Med. Roč. 12, č. příl. 5 (2010), s. 26–31.
- Impact Factor: 0.000

59. Čermák, J.

- Akutní leukemie.
- Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S3 (2010), s. 5.
- Impact Factor: 0.000

60. Čermák, J.

- Myelodysplastický syndrom – novinky v diagnostice a léčbě.
- Postgrad. Med. Roč. 12, č. 6 (2010), s. 712–719.
- Impact Factor: 0.000

61. Čermák, J.; Jonášová, A.

- Myelodysplastický syndrom.
- Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S3 (2010), s. 38–44.
- Impact Factor: 0.000

62. Čermák, J.

- Paroxysmální noční hemoglobinurie – novinky v diagnostice a léčbě.
- Postgrad. Med. Roč. 12, č. 6 (2010), s. 720–725.
- Impact Factor: 0.000

63. Čermák, J.

- Trombocytopenie u myelodysplastického syndromu.
- Vnitř. Lék. Roč. 56, č. S1 (2010), s. S39–S42.
- Impact Factor: 0.000

64. Doubek, M.; Šálek, C.; Mayer, J.

- Akutní lymfoblastická leukemie.
- Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S3 (2010), s. 6–9.
- Impact Factor: 0.000

65. Dušková, D.; Kubánková, H.; Masopust, J.; Pejchalová, A.; Písačka, M.

- Imunohematologická vyšetření v těhotenství a po porodu: doporučené postupy: doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP č. STL2010_06 ze dne 1. 3. 2010 verze 2 (2010_04).
- Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. 1 (2010), s. 2–20 [vlož. příl.].
- Impact Factor: 0.000

66. Dyr, J. E.; Kotlín, R.; Suttar, J.

- Fibrinogen, fibrin, fibrinolýza v roce 2010.
- Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 33–35.
- Impact Factor: 0.000

67. Dyr, J. E.; Riedel, T.; Suttar, J.

- Is for thrombus formation determining the release of fibrinopeptides B, the level of thrombin or fibrinogen?
- Transfuz. Hemat. dnes. Vol. 16, no. S4 (2010), s. 14–16.
- Impact Factor: 0.000

68. Folber, F.; Šálek, C.; Doubek, M.; Soukupová Maaloufová, J.; Valová, T.; Trka, J.; Gökbüget, N.; Vydra, J.; Kozák, T.; Horáček, J. M.; Žák, P.; Cetkovský, P.; Hoelzer, D.; Mayer, J.

- Léčba dospělých pacientů s akutní lymfoblastickou leukemií dle protokolu GMALL 07/2003 a její výsledky: první zkušenosti v České republice.
- Vnitř. Lék. Roč. 56, č. 3 (2010), s. 176–182.
- Impact Factor: 0.000

69. Fuchs, O.

- Transcription factor NF-kappaB inhibitors as single therapeutics agents or in combination with classical chemotherapeutic agents for the treatment of hematologic malignancies.
- Curr. Mol. Pharmacol. Vol. 3, no. 3 (2010), s. 98–122.
- Impact Factor: 0.000

70. Gančarčíková, M.; Zemanová, Z.; Březinová, J.; Včelíková, S.; Šmigová, J.; Michalová, K.

- The role of telomeres and telomerase complex in haematological neoplasia:

the length of telomeres as a marker of carcinogenesis and prognosis of disease.

- Prague Med. Rep. Roč. 111, č. 2 (2010), s. 91–105.
- Impact Factor: 0.000

71. Gürlich, R.; Salaj, P.

- Prodoužená profylaxe tromboembolismu při resekci kolorekta pro malignitu.
- Rozhl. Chir. Roč. 89, č. 3 (2010), s. 194–197.
- Impact Factor: 0.000

72. Hrbáček, J.; Heráček, J.; Eis, V.; Hamšíková, E.; Tachezy, R.; Urban, M.

- Incidence, diagnostika a léčba karcinomu prostaty u HIV pozitivních pacientů.
- Čes. Urol. Roč. 14, č. 1 (2010), s. 14–23.
- Impact Factor: 0.000

73. Hrbáček, J.; Konopásek, P.; Eis, V.; Hamšíková, E.; Tachezy, R.; Pokorný, J.; El-Balouly, K.; Urban, M.; Heráček, J.

- Urologické komplikace HIV/AIDS.
- Čas. Lék. čes. Roč. 149, č. 3 (2010), s. 115–119.
- Impact Factor: 0.000

74. Jansa, P.; Hrachovinová, I.; Ambrož, D.; Marešová, J.; Poláček, P.; Šimková, I.; Linhart, A.; Aschermann, M.

- Effect of warfarin anticoagulation on thrombin generation in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension.
- Bratisl. lek. Listy. Vol. 111, no. 11 (2010), s. 595–598.
- Impact Factor: 0.000

75. Klamová, H.; Voglová, J.

- Chronická myeloidní leukemie.
- Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S3 (2010), s. 17–20.
- Impact Factor: 0.000

76. Klener, P.; Klener, P. jr.

- ABL1, SRC a další nerekceptorové tyrozinkinázy jako nové cíle specifické protinádorové léčby.
- Klin. Onkol. Roč. 23, č. 4 (2010), s. 203–209.
- Impact Factor: 0.000

77. Klener, P.

- Angiogeneze jako součást nádorového „ekosystému“ a možnosti jejího ovlivnění.
- Klin. Onkol. Roč. 23, č. 1 (2010), s. 14–24.
- Impact Factor: 0.000

78. Klener, P.; Šťastný, M.

- Posuzování léčebné odpovědi u zhoubných nádorů a potřeba úpravy kritérií pro hodnocení účinnosti imunoterapie.
- Remedia. Roč. 20, č. 5 (2010), s. 38–42.
- Impact Factor: 0.000

79. Klozar, J.; Tachezy, R.; Rotnáglová, E.; Košlabová, E.; Saláková, M.; Hamšíková, E.
 ■ Human papillomavirus in head and neck tumors: epidemiological, molecular and clinical aspects.
 ■ Wien. Med. Wochenschr. Vol. 160, no. 11–12 (2010), s. 305–309.
 ■ Impact Factor: 0.000
80. Kouba, M.
 ■ Volba antitykotik pro empirickou antitykotickou léčbu u nemocných po selhání různých typů antitykotické profylaxe.
 ■ Postgrad. Med. Roč. 13, č. příl. 5 (2010), s. 11–15.
 ■ Impact Factor: 0.000
81. Lemež, P.; Gáliková, J.; Michalová, K.; Dvořáková, D.; MacWhannell, A.; Zemanová, Z.; Stejskal, J.
 ■ Nemocní starší 80 let s de novo akutními myeloidními leukemiemi bez dysplazie v erytroidní a/nebo megakaryocytární řadě dosahují kompletní remise a delšího přežití po klasické chemoterapii 3+7.
 ■ Vnitř. Lék. Roč. 56, č. 1 (2010), s. 37–43.
 ■ Impact Factor: 0.000
82. Maaloufová-Soukupová, J.; Žák, P.
 ■ Akutní myeloidní leukemie.
 ■ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S3 (2010), s. 11–14.
 ■ Impact Factor: 0.000
83. Marinov, I.; Mikulenkova, D.; Luxová, A.; Tkáčová, V.
 ■ Imunofenotypizace a diagnostika obtížně klasifikovatelných akutních leukemií: nová diagnostická skupina dle WHO klasifikace 2008.
 ■ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. 3 (2010), s. 166–171.
 ■ Impact Factor: 0.000
84. Penka, M.; Schwarz, J.; Ovesná, J.; Hluší, A.; Kořístek, Z.; Doubek, M.; Dulíček, P.; Pospíšilová, D.; Kissová, J.; Bulíková, A.; Pavlík, T.; et al.
 ■ Esenciální trombocytémie a jiné myeloproliferace s trombocytémií léčené Thromboreductinem: výstupy z databáze Registru k 1. čtvrtletí roku 2010.
 ■ Vnitř. Lék. Roč. 56, č. 6 (2010), s. 503–512.
 ■ Impact Factor: 0.000
85. Ráčil, Z.; Haber, J.; Drgoňa, L.; Kouba, M.; Žák, P.; Sedláček, P.; Múdry, P.; Štěrbá, J.; Kocmanová, I.; Mallátová, N.; Cetkovský, P.; Mayer, J.
 ■ Empirická antitykotická léčba febrilní neutropenie u nemocných s hematologickou malignitou: doporučení odborníků: s podporou CELL, ČHS ČLS JEP, ČOS ČLS JEP, SCHS SLS.
 ■ Postgrad. Med. Roč. 12, č. příl. 5 (2010), s. 23–25.
 ■ Impact Factor: 0.000
86. Rotnáglová, E.; Tachezy, R.; Saláková, M.; Košlabová, E.; Šmahelová, J.; Hamšíková, E.; Ludvíková, V.; Klozar, J.
 ■ Vztah lidských papillomavirů a etiologie karcinomů patrových mandlí.
 ■ Otorinolaryng. a Foniatic. (Prague). Roč. 59, č. 1 (2010), s. 32–37.
 ■ Impact Factor: 0.000
87. Roubalová, K.; Strunecký, O.; Žufanová, S.; Procházka, B.; Vitek, A.
 ■ Genotypizace virového glykoproteinu B (gB) u příjemců transplantátu kmenových buněk krvetvorby s aktivní infekcí cytomegalovirem: sledování vlivu genotypů na průběh infekce.
 ■ Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. Roč. 59, č. 2 (2010), s. 92–99.
 ■ Impact Factor: 0.000
88. Roubalová, K.; Žufanová, S.; Vitek, A.; Staňková, M.
 ■ Zastoupení různých genotypů glykoproteinu gB u pacientů s vysokým rizikem symptomatické infekce lidským cytomegalovirem (CMV).
 ■ Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. Roč. 59, č. 4 (2010), s. 148–153.
 ■ Impact Factor: 0.000
89. Salaj, P.; Smejkal, P.; Komrska, V.; Blatný, J.; Penka, M.
 ■ Hemofilie.
 ■ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S3 (2010), s. 49–51.
 ■ Impact Factor: 0.000
90. Smetana, K.
 ■ Kmenové buňky.
 ■ Kontakt. Roč. 12, č. 3 (2010), s. 251–254.
 ■ Impact Factor: 0.000
91. Smetana, K.
 ■ Stručné morfometrické poznámky k heterogenitě lymfocytů periferní krve (*minireview* s vlastními výsledky).
 ■ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. 2 (2010), s. 89–91.
 ■ Impact Factor: 0.000
92. Smith, E.M.; Parker, M.A.; Rubenstein, L.M.; Haugen, T.H.; Hamšíková, E.; Turek, L.P.
 ■ Evidence for vertical transmission of HPV from mothers to infants.
 ■ Infect. Dis. Obstet. Gynecol. (2010), art. no. 326369.
 ■ Impact Factor: 0.000
93. Sýkorová, A.; Belada, D.; Smolej, L.; Pytlík, R.; Benešová, K.; Vášová, I.; Papajík, T.; Šálek, D.; Procházka, V.; Matuška, M.; Brejcha, M.; Kubáčková, K.; Kabičková, E.; Móciková, H.; Campr, V.; Trněný, M.
 ■ Určování rozsahu onemocnění u non-Hodgkinových lymfomů: doporučení Kooperativní lymfomové skupiny.
 ■ Klin. Onkol. Roč. 23, č. 3 (2010), s. 146–154.
 ■ Impact Factor: 0.000
94. Škultěty, J.; Nováčková, M.; Binder, T.; Hadačová, I.; Salaj, P.; Rob, L.
 ■ Trombotická trombocytopenická purpura v těhotenství: kazuistika.
 ■ Čes. Gynek. Roč. 75, č. 4 (2010), s. 306–308.
 ■ Impact Factor: 0.000
95. Šťastný, M.; Machová Poláková, K.; Klamová, H.; Žáčková, D.; Voglová, J.; Karas, M.; Moravcová, J.; Faber, E.
 ■ Analýza mutací BCR-ABL u CML pacientů rezistentních k imatinibu umožňuje poskytnout „terapii šitou na míru“.
 ■ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. 1 (2010), s. 47–54.
 ■ Impact Factor: 0.000
96. Trněný, M.
 ■ Maligní lymfomy.
 ■ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S3 (2010), s. 25–29.
 ■ Impact Factor: 0.000
97. Válková, V.; Cetkovský, P.
 ■ Současná role transplantace hematopoetických kmenových buněk v léčbě chronické lymfocytární leukemie.
 ■ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S1 (2010), s. 81–87.
 ■ Impact Factor: 0.000
98. Válková, V.; Trněný, M.
 ■ Současné postavení transplantace krvetvorných buněk v léčbě lymfomů: přehled.
 ■ Klin. Onkol. Roč. 23, č. 3 (2010), s. 155–164.
 ■ Impact Factor: 0.000
99. Vonka, V.
 ■ Book review: Professor MUDr. Pavel Klener, DrSc. and MUDr. Pavel Klener, Jr., PhD.: New anticancer drugs and therapeutic strategies in oncology.
 ■ Prague Med. Rep. Vol. 111, no. 2 (2010), s. 164–166.
 ■ Impact Factor: 0.000
100. Vonka, V.
 ■ Dočkáme se protinádorových vakcín?
 ■ Vnitř. Lék. Roč. 56, č. 7 (2010), s. 739–746.
 ■ Impact Factor: 0.000

101. Vonka, V.

- Genová terapie nádorů.
- Postgrad. Med. Roč. 12, č. 5 (2010), s. 541–549.
- Impact Factor: 0.000

102. Vonka, V.

- Immunotherapy of chronic myeloid leukemia: present state and future prospects.
- Immunotherapy-UK. Vol. 2, no. 2 (2010), s. 227–241.
- Impact Factor: 0.000

103. Pokorná R.

- Hygiena provozu zdravotnických zařízení – nejčastější chyby.
- Sestra. Roč. 20, č. 11 (2010), s. 58–60.
- Impact Factor: 0.000

104. Pokorná R.

- Prevence nozokomiálních infekcí.
- Diagnóza. Roč. 6, č. 11 (2010), s. 10–11.
- Impact Factor: 0.000

Monografie

■ Klener, P.; Klener, P. jr.

- Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii.
- Praha: Grada Publishing, 2010. 209 s. ISBN 978-80-247-2808-7.

Kapitoly z monografií

1. Jarošová, M.; Moravcová, J.; Machová Poláková, K.

- Cytogenetika a molekulární genetika. In Faber, E.; Indrák, K. Chronická myeloidní leukémie.
- Praha: Galén, c2010, s. 29–50. ISBN 978-80-7262-680-9.

2. Klamová, H.

- Fertilita, těhotenství a chronická myeloidní leukémie. In Faber, E.; Indrák, K. Chronická myeloidní leukémie.
- Praha: Galén, c2010, s. 173–180. ISBN 978-80-7262-680-9.

3. Kvasnička, J.; Marková, M.

- Farmakoterapie v hematologii. In Marek, J.; et al. (ed.). Farmakoterapie vnitřních nemocí.
- Praha: Grada Publishing, 2010, s. 239–308. ISBN 978-80-247-2639-7.

4. Smetana, K.

- Nucleoli in cells of the granulocytic lineage. In Hägg, R.; Kohlund, S. (ed.). Handbook of granulocytes: classification, toxic materials produced and pathology.
- New York: Nova Science Publishers, 2010, s. 271–288. ISBN 978-1-60741-582-4.

5. Trněný, M.; Čermák, J.; Klamová, H.; Šálek, C.; Cieslar, P.; Salaj, P.; Kvasnička, J.; Písačka, M.; Gašová, Z.

- Hematologie. In Česka, R.; et al. (ed.). Interna.
- Praha: Triton, 2010, s. 656–738. ISBN 978-80-7387-423-0.

Abstrakty z časopisů, sborníků, posterů

1. Babiarová, K.; Kutinová, L.; Brabcová, E.; Kryštofová, J.; Hainz, P.; Němečková, Š.

- Development of different types of vaccine against WT1 tumor antigen. In CIMT: cancer immunotherapy: abstractbook 2010.
- Mainz: CIMT, 2010, s. 49.

2. Beličková, M.; Čermák, J.; Fejglová, K.; Dostálová Merkerová, M.; Neuwirtová, R.; Čaniga, M.; Šišková, M.; Červínek, L.; Jonášová, A.

- Gene expression changes in patients with 5q – syndrome treated with lenalidomide.
- Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), abstract. no. 4641.

3. Beličková, M.; Jonášová, A.; Grmanová, M.; Čermák, J.

- Large scale genetic association study of MDS patients. In XXXIII World Congress of the International Society of Hematology: final program [CD-ROM].
- Jerusalem: ISH, 2010, nestr.

4. Benešová, K.; Trnková, M.;

- Hamouzová, M.; Mikulášová, P.; Marešová, I.; Doskočilová, K.; Pokorná, V.; Hrabětová, Š.; Lukš, A.; Nepomucká, J.
- Comparison of transplant related mortality between the first and second high-dose stem cell transplantations: the data from the Czech registry.
- Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. 25 (2010), s. S162.

5. Berková, A.; Stříteský, J.; Staněk, R.; Tvrdík, D.; Velenská, Z.; Zemanová, Z.; Povýšil, C.; Michalová, K.

- FISH analýza malobuněčného lymfoidního infiltrátu v trepanobiopsickém materiálu. In 43. výroční cytogenetická konference.
- Ostravice: ČLK a SLG ČLS JEP a Cytogen. sekce Čs. biologické společnosti, 2010, nestr.

6. Bolcková, H.; Matějková, E.; Žučková, M.; Šimáčková, J.

- HLA allosensibilization of differently immunized persons. Poster: XIth European symposium on platelet and granulocyte immunobiology. Beaune, France, 21.–24. 10. 2010.

7. Bolcková, H.; Matějková, E.; Žučková, M.; Šimáčková, J.

- HLA allosensibilization of differently immunized persons.
- Vox Sang. Vol. 99, no. S2 (2010), s. 47.

8. Bolcková, H. T.; Matějková, E.; Žučková, M.; Průšová, J.

- HLA antibodies in poly-transfused hematologic patients.
- Tissue Antigens. Vol. 75, no. 5 (2010), s. 530.

9. Bolcková, H. T.; Matějková, E.; Žučková, M.; Šimáčková, J.

- Prevalence HLA protilátek u polytransfundovaných hematologických pacientů.
- Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 46.

10. Bolcková, H. T.; Matějková, E.; Gašová, Z.; Žlabová, J.; Vlachová, A.

- Prevalence of HLA antibodies in post pregnancies female blood donors. Poster: X. a XI. česko-slovenská konference laboratorní hematologie s mezinárodní účastí. Hradec Králové, 2.–3. 12. 2010.

11. Bolcková, H. T.; Matějková, E.; Gašová, Z.; Žlabová, J.; Vlachová, A.

- Prevalence of HLA antibodies in post pregnancies female blood donors.
- Vox Sang. Vol. 99, no. S1 (2010), s. 492–493.

12. Bowen, D.T.; 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.; Malcovati, L.; De Witte, T.M.

- The population-based ‘real world’ of low risk myelodysplastic syndromes: second interim analysis of the European LeukemiaNet MDS registry at 800 registered new patients.
- Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 778.

13. Brodská, B.; Otevřelová, P.; Holoubek, A.

- Decitabine in combination with SAHA causes apoptosis in cancer cells as well as in normal PBMC.
- FEBS J. Vol. 277, no. S1 (2010), s. 160.

14. Brodská, B.; Otevřelová, P.; Holoubek, A.

- MCL-1 as a regulator of apoptosis in CML cell line and peripheral blood mononuclear cells. In XXII. biochemický zjazd.
- Martin: Jeseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského v Martine, 2010, s. 158. ISBN 978-80-88866-83-1.

15. Březinová, J.; Zemanová, Z.; Izáková, S.; Šárová, I.; Lizcová, L.; Malinová, E.; Čermák, J.; Polívka, J.; Jonášová, A.; Michalová, K.
 □ Isochromosome of short arm of chromosome 5: sporadic recurrent chromosome abnormality in myeloid malignancies. In XXXIII World Congress of the International Society of Hematology: final program [CD-ROM].
 □ Jerusalem: ISH, 2010, nestr.
16. Březinová, J.; Včelíková, S.; Berková, A.; Zemanová, Z.; Izáková, S.; Šárová, I.; Čechová, H.; Grosová, L.; Lizcová, L.; Malinová, E.; Zemanová, M.; Cmunt, E.; Trněný, M.; Karban, J.; Schwarz, J.; Michalová, K.
 □ Telomere length evaluation in patients with B-chronic lymphocytic leukemia: correlation with other molecular, cytogenetic and immunophenotypic features.
 □ Eur. J. Hum. Genet. Vol. 18, no. S1 (2010), s. 193–194.
17. Bystřická, D.; Zemanová, Z.; Gančarčíková, M.; Březinová, J.; Michalová, K.
 □ Příprava DNA z fixovaných buněk kostní dřeně a periferní krve pro čipové technologie. In 14. celostátní konference DNA diagnostiky: sborník abstrakt.
 □ Brno: b.n., 2010, s. 35.
18. Bystřická, D.; Zemanová, Z.; Březinová, J.; Merkerová-Dostálová, M.; Krejčík, Z.; Grosová, L.; Berková, A.; Lizcová, L.; Šárová, I.; Izáková, S.; Michalová, K.
 □ Techniky microarray: zajímavé nálezy u pacientů s preleukemií. In 43. výroční cytogenetická konference.
 □ Ostravice: ČLK a SLG ČLS JEP a Cytogen. sekce ČS. biologické společnosti, 2010, nestr.
19. Bystřická, D.; Dostálová Merkerová, M.; Zemanová, Z.; Krejčík, Z.; Belíčková, M.; Březinová, J.; Michalová, K.
 □ Využití SNP microarrays při detekci nebalancovaných chromosomových aberací u pacientů s MDS a AML.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 25.
20. Cetkovský, P.; Kouba, M.; Marková, M.; Kolář, M.; Hříčinová, M.; Mertová, J.; Šálek, C.; Vitek, A.; Čermák, J.; Soukup, P.
 □ Combination of voriconazole and anidulafungin as primary therapy in hematologic patients.
 □ Biol. Blood Marrow Transplant. Vol. 16, no. 2, S1 (2010), s. S264.
21. Čermák, J.; Vitek, A.; Marková, M.; Cetkovský, P.
 □ Combination chemotherapy leading in advanced MDS patients to a rapid clearance of bone marrow blasts prior stem cell transplantation (SCT) is superior to up-front SCT even with intensified conditioning for long-term survival.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 1638.
22. Čermák, J.
 □ Evropský registr nemocných s myelodysplastickým syndromem.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 32.
23. Čermák, J.
 □ Incidence a léčba stavů s přetížením železem: studie Paillette 2.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 33–34.
24. Čermák, J.; Hellström-Lindberg, E.
 □ Systém postgraduálního vzdělávání v hematologii v Evropě: projekt EHA H-Net.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 20.
25. Dubský, M.; Jirkovská, A.; Bém, R.; Pagáčová, L.; Fejfarová, V.; Varga, M.; Skibová, J.; Langkramer, Š.; Lesný, P.; Syková, E.
 □ Comparison of two different methods of stem cell therapy of critical limb ischemia in patients with diabetic foot disease.
 □ Diabetes. Vol. 59, no. S1 (2010), s. A323-A324.
26. Dyr, J. E.; Medved, L.; Riedel, T.; Suttner, J.
 □ The density of surface bound fibrinogen effects the release of fibrinopeptides. In 20th international congress on fibrinolysis and proteolysis: programme and abstract book.
 □ Amsterdam: b.n., 2010, s. 88–89.
27. Ernst, T.; Lin, F.; White, H.E.; La Rosée, P.; Lion, T.; Mitterbauer-Hohendanner, G.; Vandenberghe, P.; Zadro, R.; Machová Poláková, K.; Plachý, R.; Nyvold, C.G.; Lundán, T.; Cayuela, J.-M.; Lange, T.; Müller, M.C.; Zoi, K.; Andrikovics, H.; Tohami, T.; Pane, F.; Soverini, S.; Arruga, F.; Eggen, L.; Sacha, T.; Diamond, J.; Talmaci, R.; Pajic, T.; Colomer, D.; Hermanson, M.; Oppliger Leibundgut, E.; Valk, P.J.M.; Ozbek, U.; Gerrard, G.; Saglio, G.; Hochhaus, A.; Cross, N.C.P.
 □ Harmonized testing for BCR-ABL kinase domain mutations in CML: results of a survey and first control round within 28 national reference laboratories in Europe.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 392–393.
28. Gabriel, P.; Babiarová, K.; Kryštofová, J.; Hainz, P.; Kutinová, L.; Němečková, Š.
 □ Chemokine binding protein of vaccinia virus enhances therapeutic immunization against HPV16E6/E7 expressing tumors. In European society for virology: abstracts.
 □ Cernobbio, Italy: European society for virology, 2010, s. 155.
29. Gašová, Z.; Bhuiyan-Ludvíková, Z.; Böhmová, M.; Žlabová, J.; Kynclová, E.; Franzová, K.
 □ PBPC collections: procedures, efficiency and risks.
 □ Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. S2 (2010), s. S162.
30. Girodon, F.; Broseus, J.; Florensa, L.; Zipperer, E.; Schnittger, S.; Malcovati, L.; Richebourg, S.; Lippert, E.; Čermák, J.; Nangalia, J.; Mounier, M.; Raya, J.M.; Gattermann, N.; Haferlach, T.; Cazzola, M.; Garand, R.; Kaoutar, A.; Maynadie, M.; Besses, C.; Germing, U.; Haferlach, C.; Travaglino, E.; Hermouet, S.
 □ Outcome of refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis (RARS-T) in a large cohort of patients.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 1674.
31. Göhring, G.; Michalová, K.; Beverloo, H.B.; Betts, D.R.; Harbott, J.; Haas, O.A.; Kerndrup, G.; Sainati, L.; Bergstraesser, E.; Hasle, H.; Starý, J.; Trebo, M.; van den Heuvel-Eibrink, M.M.; Zecca, M.; van Wering, E.; Fischer, A.; Noellke, P.; Locatelli, F.; Niemeyer, C.M.; Schlegelberger, B.
 □ Complex aberrant karyotype newly defined: the strongest prognostic factor in advanced childhood myelodysplastic syndrome.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 84.
32. Guilhot, J.; Tartarin, F.; Hochhaus, A.; Saussele, S.; Nicolini, F.; Rosti, G.; Steegman, J.L.; Sacha, T.; Le Coutre, P.; Nagler, A.; Abruzzese, E.; Heim, D.; Clark, R.; Stentoft, J.; Faber, E.; Porkka, K.; Cervantes, F.; Höglund, M.; O'Brien, S.; Thaler, J.; Turkina, A.; Ossenkoppele, G.; Žáčková, D.; Klamová, H.; Gambacorti, C.; Pfirrmann, M.; Hasford, J.; Hehlmann, R.
 □ European sub-registry of chronic myeloid leukemia (CML) patients (PTS) in failure after Imatinib therapy (IFP): rationale, study design and current status: a study from the European leukemianet (ELN).
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 60–61.

33. Hájková, H.; Polák, J.; Nováková, L.; Schwarz, J.; Haškovec, C.
 □ Epigenetically regulated genes involved in anti-cancer immunity in AML patients. In XXXIII World Congress of the International Society of Hematology: final program [CD-ROM].
 □ Jerusalem: ISH, 2010, nestr.
34. Hájková, H.; Petrboková, R.; Nováková, L.; Čermák, J.; Haškovec, C.
 □ Monitoring of aberrantly methylated genes in AML patients.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 19.
35. Hájková, H.; Schwarz, J.; Čermák, J.; Haškovec, C.
 □ Monitoring of hypermethylated genes in AML. In Sixth Meeting of Biomedical Doctoral Schools, Prague 2010.
 □ Praha: 2. LF UK, 2010, s. 14.
36. Hájková, H.; Petrboková, R.; Nováková, L.; Schwarz, J.; Čermák, J.; Haškovec, C.
 □ Search for genes affected by DNA hypomethylation treatment in AML patients.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 44.
37. Hamšíková, E.; Ludvíková, V.; Šmahelová, J.; Saláková, M.; Stašíková, J.; Tachezy, R.
 □ Markers of HPV infection in HPV vaccinated Czech women. In The Lancet conferences: HPV and cancer.
 □ Amsterdam: Elsevier, 2010, s. 44–45.
38. Haškovec, C.; Polák, J.; Hájková, H.; Marková, J.; Šálek, C.; Maaloufová, J.; Schwarz, J.
 □ Estimation of upper remission limit of WT-1 expression in peripheral blood for monitoring residual disease in AML patients. In 1st world congress on controversies in hematology: program and abstracts.
 □ Rome, Italy: b.n., 2010, s. P-10.
39. Haškovec, C.; Moravcová, J.; Marková, J.; Polák, J.; Zuna, J.; Petrboková, R.; Schwarz, J.; Šálek, C.
 □ Possibilities of monitoring residual disease in human leukemia. In 1st international conference on advances in cell and gene therapy and immunotherapy: from basic research to clinical applications and 3rd workshop on immunotherapy.
 □ Mikulov: CSGCT, 2010, abstr. 4.
40. Holoubek, A.; Otevřelová, P.; Brodská, B.
 □ Interaction of nucleolar and apoptotic proteins in actinomycin D – treated cells.
 Poster: 25. kongres Československé společnosti mikrobiologické s mezinárodní účastí. Stará Lesná, Vysoké Tatry, 15.–18. 9. 2010.
41. Hrachovinová, I.
 □ Vrozené krvácivé stavy: molekulární genetické aspekty. In Pražský hematologický den 14. 10. 2010: sborník abstrakt.
 □ Praha: I. interní klinika: klinika hematologie VFN a 1. LFUK, 2010, s. 9. ISBN 978-80-254-8415-9.
42. Hrbáček, J.; Hamšíková, E.; Tachezy, R.; Eis, V.; Brabec, M.; Urban, M.; Heráček, J.
 □ Men with BPH have higher plasma antibody levels against CMV and HPV 18 than prostate cancer patients. Poster: EAU 10th Central European Meeting (CEM). Bratislava, Slovenská republika, 22.–23. 10. 2010.
43. Hrkál, Z.
 □ Proteomics of leukemias. In Informal proteomic meeting 2010.
 □ Liblice: Czech Proteomics Society, 2010, s. 33.
44. Hubáček, P.; Boutolleau, D.; Deback, C.; Keslová, P.; Hrdličková, A.; Conan, F.; Lelabousse, B.; Zajac, M.; Marková, M.; Škapa, P.; Pohleisch, D.; Agut, H.; Sedláček, P.; Cetkovský, P.
 □ Cytomegalovirus disease and resistance to antiviral disease in children and adult haematopoietic stem cell transplant recipients from the Czech Republic: a single-centre experience.
 □ Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. 2S (2010), s. S38.
45. Indrák, K.; Voglová, J.; Koza, V.; Maaloufová, J.; Kozák, T.; Mužík, J.; Jarošová, M.; Sztokowski, T.; Michalová, K.; Žák, P.; Steinerová, K.; Vydra, J.; Sičová, K.; Dušek, L.
 □ Výsledky léčby a vybrané prognostické faktory u de-novo AML v 5 centrech intenzivní hematologické péče v ČR v letech 1999 až 2009: data registru ALERT ČR.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 42.
46. Indrák, K.; Voglová, J.; Koza, V.; Maaloufová, J.; Kozák, T.; Mužík, J.; Jarošová, M.; Sztokowski, T.; Michalová, K.; Žák, P.; Steinerová, K.; Vydra, J.; Sičová, K.; Dušek, L.
 □ Výsledky léčby sekundárních AML v 5 centrech intenzivní hematologické péče v ČR v letech 1999 až 2009: data registru ALERT.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 41–42.
47. Izáková, S.; Březinová, J.; Šárová, I.; Zemanová, Z.; Lizcová, L.; Gančarčíková, M.; Malinová, E.; Čermák, J.; Nováková, L.; Polívka, J.; Michalová, K.
 □ Isochromosom 5p: ojediněle se opakující nálezy u myeloidních leukémií.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 89–90.
48. Izáková, S.; Březinová, J.; Šárová, I.; Zemanová, Z.; Konvalinková, D.; Vrzáková, M.; Čermák, J.; Šišková, M.; Michalová, K.
 □ Přestavby genů PDGFRA/PDGFRB u myeloidních neoplazií s eosinofilií. In 43. výroční cytogenetická konference.
 □ Ostravice: ČLK a SLG ČLS JEP a Cytogen. sekce Čs. biologické společnosti, 2010, nestr.
49. Jindra, P.; Mužík, J.; Indrák, K.; Žák, P.; Alsabty, F.; Kozák, T.; Koza, V.; Cetkovský, P.; Karas, M.; Jungová, A.; Sičová, K.; Voglová, J.; Dušek, L.; Hrabětová, Š.
 □ Alogenní transplantace u pacientů s AML starších 50 let mají srovnatelné výsledky s příbuzným i nepříbuzným dárce: finální analýza multicentrického podprojektu ALERT.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 51–52.
50. Jonášová, A.; Nováková, L.; Bělohávková, P.; Vondráková, J.; Červínek, L.; Čermák, J.
 □ První zkušenosti České MDS skupiny s terapií 5-Azacitidinem (5-AZA) u nemocných s myelodysplastickým syndromem s vyšším rizikem (IPSS střední II a vysoké riziko) a AML.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 34.
51. Kaplanová, V.; Krizo, M.; Kouba, M.; Cetkovský, P.
 □ Invasive aspergillosis in haematological patients: 40 cases from a single centre.
 □ Clin. Microbiol. Infec. Vol. 16, no. S2 (2010), s. S233.
52. Klamová, H.; Žáčková, D.; Faber, E.; Steinerová, K.; Karas, M.; Demečková, E.; Voglová, J.; Demitrovičová, L.; Tóthová, E.; Chudej, L.; Markuljak, I.; Kozák, T.; Cmunt, E.; Jarošová, M.; Machová Poláková, K.; Michalová, K.; Dušek, L.; Mužík, J.; Mistrík, M.; Mayer, J.; Trněný, M.; Indrák, K.
 □ The outcome of unselected patients with chronic myeloid leukemia (CML) in chronic phase (CP) treated with Imatinib in the first line and the prognostic value of ELN defined responses: population based analysis of 458 patients treated between 2003–2009.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 530.

53. Klimentová, H.; Vondráčková, H.
 □ HLA typizace.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 72–73.
54. Klimentová, H.; Vondráčková, H.; Dobrovolná, M.; Vraná, M.; Nazarová, S.; Melková, M.
 □ HLA typizace. Poster: XXIV. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí: satelitní symposium Novartis. Olomouc, 24. 6. 2010.
55. Kocingerová, R.; Papáček, A.; Mikulenkova, D.
 □ Parvovirus B-19 jako příčina čisté aplázie červené řady: kazuistika.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 45.
56. Koniřová, E.; Trněný, M.; Ulrych, J.; Cieslar, P.; Karban, J.
 □ Splenektomie v terapii ITP.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 102.
57. Kotlín, R.; Khaznadar, T.; Suttmar, J.; Riedel, T.; Salaj, P.; Kvasnička, J.; Dyr, J. E.
 □ A new case of dysfibrinogenemia associated with thrombosis.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 764.
58. Kotlín, R.; Suttmar, J.; Sobotková, A.; Salaj, P.; Riedel, T.; Khaznadar, T.; Dyr, J. E.
 □ Autoantibody production against fibrinogen gamma chain associated with multiple myeloma. Poster: 7th international congress on autoimmunity. Ljubljana, Slovenia, 5.–9. 5. 2010.
59. Kotlín, R.; Suttmar, J.; Dyr, J. E.
 □ Biochemical characterization of abnormal fibrinogens causing hereditary dysfibrinogenemia. In OzBio 2010: program.
 □ Melbourne: b.n., 2010, s. 125.
60. Kotlín, R.; Suttmar, J.; Riedel, T.; Blažek, B.; Dyr, J. E.
 □ Fibrinogen Ostrava I a Ostrava II.
 □ Vaskulár. Med. Vol. 2, no. S3 (2010), s. 44.
61. Kotlín, R.; Suttmar, J.; Riedel, T.; Blažek, B.; Dyr, J. E.
 □ Fibrinogen Ostrava I a Ostrava II. Poster: XVII. Slovensko-Česká konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí. Martin, Slovenská republika, 20.–22. 5. 2010.
62. Kotlín, R.; Khaznadar, T.; Reicheltová, Z.; Riedel, T.; Salaj, P.; Suttmar, J.; Dyr, J. E.
 □ Genetic variations in fibrinogen in the Czech Republic. In XXIII international fibrinogen workshop: programme and abstract book.
 □ Rotterdam/Amsterdam: IFRS, 2010, s. 72.
63. Kotlín, R.; Suttmar, J.; Khaznadar, T.; Salaj, P.; Zichová, K.
 □ Mutation in fibrinogen polymerization pocket: the outcome in thrombosis or bleeding? In 1st world congress on controversies in hematology: program and abstracts.
 □ Rome, Italy: b.n., 2010, s. P-12.
64. Kotlín, R.; Hlaváčková, A.; Suttmar, J.; Šantrůček, J.; Dyr, J. E.
 □ Proteomic detection of altered fibrinogen molecules in plasmas of patients with hereditary dysfibrinogenemias and hypofibrinogenemias. In HUPO 2010: abstract book.
 □ Sydney, Australia: HUPO, 2010, s. 380–381.
65. Kotlín, R.; Khaznadar, T.; Suttmar, J.; Riedel, T.; Salaj, P.; Dyr, J. E.
 □ Two cases of dysfibrinogenemia associated with thrombosis. In 20th international congress on fibrinolysis and proteolysis: programme and abstract book.
 □ Amsterdam: b.n., 2010, s. 87–88.
66. Krejčík, Z.; Votavová, H.; Belíčková, M.; Vašíková, A.; Čermák, J.; Dostálová Merkerová, M.
 □ Differential expression profiles of miRNAs in CD34+ bone marrow cells from patients with MDS. Poster: XXXIII world congress of the International Society of Hematology. Jerusalem, Israel, 10.–13. 10. 2010.
67. Krménčíková, M.; Staněk, L.; Dunder, P.; Vonka, V.
 □ Altered properties of BCR-ABL-transformed cells expressing endostatin.
 □ Hum. Gene Ther. Vol. 21, no. 10 (2010), s. 1441–1442.
68. Krménčíková, M.; Staněk, L.; Dunder, P.; Vonka, V.
 □ Altered properties of BCR-ABL-transformed cells expressing endostatin. Poster: XVIIIth annual congress of the European society of gene and cell therapy. Milano, Italy, 22.–25. 10. 2010.
69. Kuhn, T.; Kotlín, R.; Blažek, B.; Ptoszková, H.; Hrachovinová, I.; Dyr, J. E.
 □ Dysfibrinogenemie v dětském věku.
 □ Vnitř. Lék. Roč. 56, č. S1 (2010), s. S125.
70. Kuželová, K.; Pluskalová, M.; Grebeňová, D.; Hrkál, Z.
 □ Apoptosis-related cofilin phosphorylation at Ser3 is independent of ROCK activity.
 □ FEBS J. Vol. 277, no. S1 (2010), s. 188–189.
71. Kuželová, K.; Grebeňová, D.; Pluskalová, M.
 □ Distinct effects of caspase inhibitors on caspase-3 activity, DNA fragmentation and cell adhesion to fibronectin in apoptotic cells.
 □ FEBS J. Vol. 277, no. S1 (2010), s. 177.
72. Laššuthová, P.; Mazanec, R.; Prášilová, Š.; Vondráček, P.; Šišková, D.; Haberlová, J.; Seeman, P.
 □ High frequency of SH3TC2 (KIAA1985) mutations in Czech HMSN I patients. Poster: XII international congress on neuromuscular diseases. Naples, Italy, 17.–22. 7. 2010.
73. Laššuthová, P.; Mazanec, R.; Prášilová, Š.; Vondráček, P.; Šišková, D.; Haberlová, J.; Seeman, P.
 □ Spektrum a frekvence mutací v genu SH3TC2 u českých pacientů s dědičnou neuropatií Charcot – Marie-Tooth typ 4C (CMT4C). Poster: Vědecká konference 2. LF UK 2010. Praha, 7.–8. 4. 2010.
74. Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Malinová, E.; Mejstříková, E.; Smíšek, P.; Starý, J.; Michalová, K.
 □ Hypodiploidie v buňkách kostní dřeně u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií. In 43. výroční cytogenetická konference.
 □ Ostravice: ČLK a SLG ČLS JEP a Cytogen. sekce Čs. biologické společnosti, 2010, nestr.
75. Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Malinová, E.; Jarošová, M.; Mejstříková, E.; Smíšek, P.; Pospíšilová, D.; Starý, J.; Michalová, K.
 □ Molecular cytogenetic analysis of novel recurrent abnormality of chromosome 7 in three pediatric patients with myelodysplastic syndrome (MDS).
 □ Eur. J. Hum. Genet. Vol. 18, no. S1 (2010), s. 196.
76. Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Kramář, F.; Ransdorfová, Š.; Bystřická, D.; Hrabal, P.; Michalová, K.
 □ Significance of additional chromosomal aberrations in patients with oligodendroglial tumors and 1p/19q deletion. In 12th European Workshop on Cytogenetics and Molecular Genetics of Solid Tumors.
 □ Nijmegen, Netherlands: b.n., 2010, s. 73.
77. Lopotová, T.; Žáčková, M.; Polák, J.; Schwarz, J.; Klamová, H.; Machová Poláková, K.; Moravcová, J.
 □ Expres sestřihových variant WT1: vývoj metodiky a první výsledky u pacientů s AML a CML.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 73–74.

78. Lopotová, T.; Polák, J.; Klamová, H.; Schwarz, J.; Moravcová, J.
 □ Expression analysis of WT1 splicing variants in CML and AML: -5/+KTS as a novel candidate for early marker of relapse.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 1134.
79. Lopotová, T.; Žáčková, M.; Polívková, V.; Klamová, H.; Moravcová, J.; Machová Poláková, K.
 □ MiR-451 may positively regulate MDR1 in chronic myeloid leukemia.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 50.
80. Lopotová, T.; Žáčková, M.; Polák, J.; Klamová, H.; Schwarz, J.; Machová Poláková, K.; Moravcová, J.
 □ Short WT1 variant of Wilms tumor gene is expressed in leukemic cell lines, patients with AML, MDS in CML blast crisis.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 495–496.
81. Lopotová, T.; Žáčková, M.; Klamová, H.; Machová Poláková, K.; Moravcová, J.
 □ Sledování závislosti hladin miR-150 a miR-451 na aktivitě BCR-ABL a vzájemných vztahů miRNA a jejich targetů pomocí kultivace leukocytů CML pacientů s imatinibem.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 76–77.
82. Luxová, A.; Tkáčová, V.; Mikulenkova, D.; Campr, V.; Marinov, I.
 □ Diagnostika leukemie z blastických plazmacytoidních dendritických buněk (BPDN) metodou průtokové cytometrie: vlastní zkušenost.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 46.
83. Machová Poláková, K.; Rulcová, J.; Zemanová, K.; Nádorníková, S.; Moravcová, J.
 □ Harmonizace molekulárního monitorování hladiny transkriptů BCR-ABL a detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL u chronické myeloidní leukémie v ČR.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 79.
84. Machová Poláková, K.; Nádorníková, S.; Zemanová, K.; Klamová, H.; Jurček, T.; Dvořáková, D.; Žáčková, D.; Mayer, J.; Trněný, M.; Moravcová, J.
 □ Minimal residual resistance in CML: stable BCR-ABL gene expression at levels 0,01–0,1% (IS) in the consecutive samples may be associated with BCR-ABL mutation development and MMOR lost in a small number of tyrosine kinase inhibitor responders.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 1400–1401.
85. Májek, P.; Reicheltová, Z.; Štikarová, J.; Pimková, K.; Suttar, J.; Dyr, J. E.
 □ Změny proteomu aktivovaných krevních destiček. In Pražský hematologický den 14. 10. 2010. sborník abstrakt.
 □ Praha: I. interní klinika: klinika hematologie VFN a 1. LFUK, 2010, s. 21. ISBN 978-80-254-8415-9.
86. Májek, P.; Reicheltová, Z.; Štikarová, J.; Sobotková, A.; Suttar, J.; Dyr, J. E.
 □ Změny proteomu aktivovaných krevních destiček.
 □ Vaskulár. Med. Vol. 2, No. S3 (2010), s. 45.
87. Májek, P.; Reicheltová, Z.; Štikarová, J.; Sobotková, A.; Suttar, J.; Dyr, J. E.
 □ Změny proteomu aktivovaných krevních destiček. Poster: XVII. Slovensko-Česká konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí. Martin, Slovenská republika, 20.–22. 5. 2010.
88. Májek, P.; Reicheltová, Z.; Suttar, J.; Malý, M.; Oravec, M.; Štikarová, J.; Dyr, J. E.
 □ Změny proteomu u pacientů s nestabilní anginou pectoris.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 111.
89. Malinová, E.; Lizcová, L.; Zemanová, Z.; Berková, A.; Smíšek, P.; Starý, J.; Michalová, K.
 □ Isochromosome i(9)(q10) in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia.
 □ Eur. J. Hum. Genet. Vol. 18, no. S1 (2010), s. 196–197.
90. Malinová, E.; Merjavá, S.; Zemanová, Z.; Jirsová, K.; Michalová, K.
 □ Kombinace metodik nepřímé fluorescenční imunohistochemie s fluorescenční in situ hybridizací u pacienta se zadní polymorfni dystrofií rohovky. In 43. výroční cytogenetická konference.
 □ Ostravice: ČLK a SLG ČLS JEP a Cytogen. sekce Čs. biologické společnosti, 2010, nestr.
91. Mareček, F.; Novotná, H.; Hrachovinová, I.
 □ Vliv deficitní plazmy na nejistotu měření a korelace výsledků při stanovení FXI.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 48.
92. Marinov, I.; Luxová, A.; Tkáčová, V.
 □ Stanovení PNH klonů a diagnostika paroxysmální noční hemoglobinurie metodou průtokové cytometrie: doporučené a standardizované postupy.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 31.
93. Marková, J.; Burčková, K.; Maaloufová, J.; Cetkovský, P.; Schwarz, J.
 □ The impact of length and integration site of the internal tandem duplication of FLT3 gene on the clinical outcome of patients with AML.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 22.
94. Martínez, C.; Canals, C.; Castagna, L.; Alessandrino, P.E.; Karakasis, D.; Paola, A.; Leone, G.; Trněný, M.; Snowden, J.; Kanfer, E.; Milpied, N.; Bosi, A.; Caselli, D.; de Souza, C.A.; Luan, J.; Oneto, R.; Willemze, R.; Arranz, R.; Jebavý, L.; Hellmann, A.; Gisselbrecht, C.; Sureda, A.
 □ Outcome of patients with Hodgkin's lymphoma relapsing after autologous stem cell transplantation: comparison between reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation and chemo-radiotherapy salvage approaches.
 □ Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. 2S (2010), s. S252.
95. Martínez, C.; Canals, C.; Alessandrino, P.E.; Karakasis, D.; Pulsoni, A.; Leone, G.; Trněný, M.; Snowden, J.; Kanfer, E.; Milpied, N.; Bosi, A.; Caselli, D.; de Souza, C.A.; Luan, J.; Oneto, R.; Willemze, R.; Arranz, R.; Jebavý, L.; Hellmann, A.; Sibon, D.; Sureda, A.
 □ Relapse of Hodgkin's lymphoma after autologous stem cell transplantation: prognostic factors in 462 patients registered in the database of the EBMT.
 □ Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. 2S (2010), s. S44–S45.
96. Matějková, E.; Svozílková, P.; Průšová, J.; Žučková, M.
 □ Utility of HLA typing in ophthalmology.
 □ Tissue Antigens. Vol. 75, no. 5 (2010), s. 629.
97. Matoušek, J.; Podzimek, T.; Poučková, P.; Souček, J.; Stehlík, J.; Škvor, J.; Lipovová, P.; Dohnálek, J.; Koval, T.; Novotná, B.; Matoušek, J.
 □ Anticancerogenic recombinant nucleases from plants-potential cytostatics with the perspective of low side effects. Poster: 8th RNase Congress. Naples, Italy, 20.–22. 10. 2010.
98. Michallet, M.; Sobh, M.; Milligan, D.; Morisset, S.; Niederwieser, D.; Koza, V.; Ruutu, T.; Russell, N.H.; Verdonck, L.F.; Dhedin, N.; Vitek, A.; Boogaerts, M.; Vindelov, L.; Finke, J.; Dubois, V.; Van Biezen, A.; Brand, R.; Dreger, P.
 □ Human leukocyte antigen matching and conditioning impact on long-term transplant outcome after allogeneic HSCT for chronic lymphocytic leukemia: study from the EBMT registry.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 223.

99. Michalová, K.; Zemanová, Z.; Bystřická, D.; Březinová, J.; Lizcová, L.; Izáková, S.; Šárová, I.; Dostálová-Merkerová, M.
 - Molecular cytogenetic characterization of common deleted region of chromosome 5 in malignant myeloid diseases. In Functional organization of the cell nucleus symposium. Praha: Společnost buněčné biologie ČsBS, 2010, nestr.
100. Mikulenková, D.; Marinov, I.; Campr, V.
 - Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: diagnostic case report.
 - Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 514.
101. Mikulenková, D.
 - Myelodysplastický syndrom a nová WHO klasifikace 2008.
 - Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 38.
102. Móciková, H.; Pytlík, R.; Raida, L.; Marková, J.; Král, Z.; Steinerová, K.; Vacková, B.; Trnková, M.; Trněný, M.; Belada, D.; Faber, E.; Váľková, V.; Mayer, J.; Koza, V.; Kozák, T.
 - Positive pretransplantation positron emission tomography indicates poor prognosis in relapsed Hodgkin lymphoma patients.
 - Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 368.
103. Móciková, H.; Pytlík, R.; Marková, J.; Steinerová, K.; Král, Z.; Belada, D.; Trnková, M.; Trněný, M.; Koza, V.; Mayer, J.; Žák, P.; Kozák, T.
 - Pozitivní PET před autologní transplantací periferních kmenových buněk je spojen se zlou prognózou u pacientů s relabovaným Hodgkinovým lymfomem.
 - Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 31–32.
104. Molinský, J.; Marková, M.; Klánová, M.; Koc, M.; Beranová, L.; Anděra, L.; Ludvíková, Z.; Böhmová, M.; Gašová, Z.; Trněný, M.; Nečas, E.; Živný, J.; Klener, P.
 - Roscovitine sensitizes leukemia and lymphoma cells to TRAIL-induced apoptosis and enhances cell-mediated cytotoxicity.
 - Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 262–263.
105. Morris, M.; Scholten, M.; Brand, R.; Van Biezen, A.; Dickmeiss, E.; Trněný, M.; Apperley, J.F.; Chiusolo, P.; van Imhoff, G.; Lenhoff, S.; Uharek, L.; Martinelli, G.; Hentrich, M.; Sureda, A.; De Witte, T. M.; Ruutu, T.
 - EBMT non-interventional prospective study on DMSO toxicity in autologous transplantation.
 - Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. 2S (2010), s. S34.
106. Morris, T.C.M.; Scholten, M.; de Wreede, L.; Van Biezen, A.; Dickmeiss, E.; Trněný, M.; Apperley, J.F.; Chiusolo, P.; van Imhoff, G.; Lenhoff, S.; Uharek, L.; Martinelli, G.; Hentrich, M.; Sureda, A.; De Witte, T.M.; Ruutu, T.
 - DMSO reduction strategies reduce DMSO induced post autologous transplant morbidity in patients with lymphoma and myeloma: results from an EBMT non interventional prospective study.
 - Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 994.
107. Müller, M.C.; Munjal, U.; Erben, P.; Lion, T.; Mitterbauer-Hohendanner, G.; El Housni, H.; Boeckx, N.; Zadro, R.; Mayer, J.; Rohoň, P.; Rulcová, J.; Grubach, L.; Raudsepp, K.; Kairisto, V.; Mahon, F.-X.; Preudhomme, C.; Hayette, S.; Gabert, J.; Cayuela, J.-M.; Thiede, C.; Galonska, L.; Pfeifer, H.; Hirt, C.; Schaffhausen, P.; van Neuhoof, N.; Roskos, M.; Pott, C.; Lange, T.; Hess, G.; Schnittger, S.; Dufour, A.; Koschmieder, S.; Stegelmann, F.; Zoi, K.; Stamatopoulos, K.; Andrikovics, H.; Tohami, T.; Martinelli, G.; Izzo, B.; Gottardi, E.; Stoskus, M.; Nymoen, D.A.; Sacha, T.; Diamond, J.; Talmaci, R.; Misyurin, A.; Dubina, M.V.; Pajic, T.; Nomdedeu, J.; Colomer, D.; Barbany-Bustinza, G.; Ehrencrona, H.; Oppliger Leibundgut, E.; Janssen, J.; van der Velden, V.H.; Valk, P.J.M.; Ozbek, U.; Wang, L.; Gerrard, G.; White, H.E.; Schenk, T.; Ernst, T.; Hehlmann, R.; Saglio, G.; Hochhaus, A.; Cross, N.C.P.
 - Stability of conversion factors for BCR-ABL monitoring: implications for the frequency of validation rounds.
 - Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 392.
108. Nádvorníková, S.; Polívková, V.; Shaik, G.M.; Dráber, P.; Moravcová, J.; Machová Poláková, K.
 - Detekce mutací v BCR-ABL genu pomocí High Resolution Melting (HRM) analýzy závisí na nukleotidové sekvenci templátu, umístění mutace, typu nukleotidové záměny a použité PCR směsi včetně DNA interkalačního barviva.
 - Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 26–27.
109. Neuwirtová, R.; Fuchs, O.; Jonášová, A.; Čermák, J.; Vondráková, J.; Hochová, I.; Michalová, K.
 - The role of FLI1 and EKLF gene expression in 5q – syndrome compared to MDS low risk with normal chromosome 5. In XXXIII World Congress of the International Society of Hematology: final program [CD-ROM]. Jerusalem: ISH, 2010, nestr.
110. Neuwirtová, R.; Fuchs, O.; Jonášová, A.; Čermák, J.; Šišková, M.; Vondráková, J.; Hochová, I.; Libiger, J.; Nováková, L.; Kadlčková, E.; Kostečka, A.; Holická, M.; Provazníková, D.; Michalová, K.; Březinová, J.
 - Transkripční faktory EKLF a FLI1 u 5q minus syndromu: srovnání s nálezem u MDS o nízkém riziku s normálním 5. chromozomem.
 - Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 32–33.
111. Novotná, H.; Šponerová, D.; Salaj, P.; Říhová, J.; Thineo, L. C.; Zemanová, M.; Hrachovinová, I.
 - Vzácné deficity kontaktní fáze a jejich laboratorní stanovení.
 - Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 38.
112. Otáhalová, E.; Prchal, J.T.
 - CDKN2A: jeden z predispozičních faktorů polycythemia vera? In Pražský hematologický den 14. 10. 2010: sborník abstrakt.
 - Praha: I. interní klinika: klinika hematologie VFN a 1. LFUK, 2010, s. 16. ISBN 978-80-254-8415-9.
113. Otáhalová, E.; Wang, K.; Lorenzo, F.; Prchal, J.T.
 - CDKN2A: one of the predisposing factors of polycythemia vera? In MPN/MPNr-EuroNet Second Workshop: programme of the conference.
 - Albufeira, Portugal: Université de Nantes, 2010, s. 11.
114. Otáhalová, E.; Prchal, J.T.
 - Studium molekulární podstaty polycythemia vera.
 - Chem. Listy. Roč. 104, č. 5 (2010), s. 377–378.
115. Peková, S.; Čmejla, R.; Dvořáková, L.; Voglová, J.; Bělohávková, P.; Karas, M.; Žejšková, L.; Plachý, R.; Mazal, O.; Haugvicová, R.
 - In vitro technique to assess biological properties of BCR/ABL kinase domain variants identified in CML patients.
 - Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 64.
116. Peková, S.; Čmejla, R.; Mazal, O.; Haugvicová, R.; Zazula, R.; Šťastný, P.; Vydra, J.; Žejšková, L.; Plachý, R.; Kozák, T.; Průcha, M.
 - Molecular detection of pathogens in hematological critically ill patients: an update on available methodologies.
 - Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 24.

117. Peková, S.; Mazal, O.; Čmejla, R.; Plachý, R.; Žejšková, L.; Karas, M.; Smolej, L.; Kozák, T.
 □ TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia: analysis of 2,435 consecutive CLL samples.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 17–18.
118. Peková, S.; Mazal, O.; Čmejla, R.; Haugvicová, R.; Plachý, R.; Žejšková, L.; Karas, M.; Smolej, L.; Kozák, T.
 □ TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia: analysis of 2,435 consecutive CLL samples.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 38.
119. Penka, M.; Schwarz, J.; Ovesná, P.; Indrák, K.; Doubek, M.; Dulíček, P.; Pospíšilová, D.
 □ Registr nemocných s esenciální trombocytémií a jinými myeloproliferacemi s trombocytémií léčených Anagrelidem k prvnímu čtvrtletí roku 2010.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 58–59.
120. Pfreundschuh, M.; Kuhnt, E.; Trümper, L.; Österborg, A.; Trněný, M.; Shepherd, L.; Gill, D.S.; Walewski, J.; Pettengell, O.; Zinzani, P.L.; Shpilberg, O.; Kvaloy, S.; Hansen, M.; Stahel, R.; Milpied, N.; Lopez-Guillermo, A.; Grass, S.; Murawski, N.; Pöschel, V.; Löffler, M.
 □ Randomised intergroup trial of first line treatment for young low-risk patients (<61 years) with diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma (DLBCL) with a CHOP-like regimen with or without the anti-CD20 antibody rituximab: 6-year follow-up of the Mint study of the Mabthera International Trial (MINT) group.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 55.
121. Picková, I.; Perháčová, J.; Zelničková, M.
 □ Zajištění ošetrovatelské péče o nemocné s hemofilii.
 □ Vaskulár. Med. Vol. 2, no. S3 (2010), s. 33–34.
122. Pimková, K.; Bocková, M.; Hegnerová, K.; Sutttnar, J.; Homola, J.; Dyr, J. E.
 □ Detection of VEGF-R1 – protein marker of MDS in blood plasma using SPR.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 50.
123. Pimková, K.; Májek, P.; Hlaváčková, A.; Chrastinová, L.; Čermák, J.; Sutttnar, J.; Dyr, J. E.; Sobotková, A.
 □ Oxidační stres a jeho vliv na krevní destičky u myelodysplastického syndromu.
 □ Vaskulár. Med. Vol. 2, no. S3 (2010), s. 47.
124. Pimková, K.; Májek, P.; Sobotková, A.; Chrastinová, L.; Čermák, J.; Sutttnar, J.; Dyr, J. E.
 □ Oxidační stres a jeho vliv na krevní destičky u myelodysplastického syndromu. Poster: XVII. Slovensko-Česká konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí. Martin, Slovenská republika, 20.–22. 5. 2010.
125. Pimková, K.; Hegnerová, K.; Májek, P.; Kotlín, R.; Sutttnar, J.; Homola, J.; Dyr, J. E.
 □ Protein markers of myelodysplastic syndrome for SPR chip analysis. In EUROPT(R) ODE X 230 (2010): book of abstracts.
 □ Praha: Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR, 2010, s. 230.
126. Pimková, K.; Hegnerová, K.; Májek, P.; Kotlín, R.; Sutttnar, J.; Homola, J.; Dyr, J. E.
 □ Protein markers of myelodysplastic syndrome for SPR chip analysis. Poster: Xth European conference on optical chemical sensors and biosensors-EUROPT(R)ODE X. Praha, 28.3.–31. 3. 2010.
127. Pimková, K.; Hegnerová, K.; Sutttnar, J.; Homola, J.; Dyr, J. E.
 □ Proteinové markery myelodysplastického syndromu pro analýzu na SPR čipu. In 11. studentská vědecká konference 1. lékařské fakulty.
 □ Praha: 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, 2010, s. 42.
128. Pimková, K.; Bocková, M.; Sutttnar, J.; Homola, J.; Dyr, J. E.
 □ SPR detekce plasmatického markeru myelodysplastického syndromu VEGF-R1. In Pražský hematologický den 14. 10. 2010. sborník abstrakt.
 □ Praha: I. interní klinika: klinika hematologie VFN a 1. LFUK, 2010, s. 23. ISBN 978-80-254-8415-9.
129. Písačka, M.; Vytisková, J.; Králová, M.; Škarková, J.; Sklenářová, M.
 □ Atypical pattern of a partial/weak D case: DFR-like serology but D cat III type 7 PCR-SSP.
 □ Transfusion. Vol. 50, no. 5 (2010), s. 147A–148A.
130. Písačka, M.
 □ Three new RHD genotypes found in Czech population: single point mutations in exon 1 /48G>C/ and exon 5 /787G>A/ and hybrid gene RHD(1-8)-CE(9)-D(10).
 □ Vox Sang. Vol. 99, no. S1 (2010), s. 83.
131. Pohlreich, D.; Vacková, B.; Pytlík, R.; Trnková, M.; Hamouzová, M.; Trněný, M.
 □ 1000 autologous haematopoietic stem cell transplantations: single-centre experience.
 □ Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. 2S (2010), s. S184.
132. Polák, J.; Váľková, V.; Vítek, A.; Hájková, H.; Marková, M.; Šálek, C.; Cetkovský, P.
 □ Quantitative monitoring of WT1 gene expression in peripheral blood after allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: an useful tool for early detection of minimal residual disease.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 213.
133. Poučková, P.; Zadinová, M.; Souček, J.; Škvor, J.; Kalous, J.; Podzimek, T.; Šubr, V.; Matoušek, J.; Matoušek, J.
 □ Neamine and further antiangiogenins with PEG conjugated tomato nuclease (TBN1) injected to nude mice bearing human two tumors. Poster: 8th RNase Congress. Naples, Italy, 20.–22. 10. 2010.
134. Procházka, V.; Trněný, M.; Pytlík, R.; Vášová, I.; Šálek, D.; Belada, D.; Sýkorová, A.; Papajík, T.; Jankovská, M.; Kozák, T.; Kubáčková, K.; Bar, R.; Brejcha, M.; Čiberová, J.; Dostálová, L.; Fraňková, H.; Holíková, Z.; Lysý, M.; Matuška, M.; Nepomucká, J.; Novotný, J.; Otavová, B.; Petráková, K.; Pirnos, J.; Starostka, D.; Stejskal, L.; Svoboda, P.; Adamová, D.
 □ Clinical findings and treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: the analysis of the 1425 patients included in Czech lymphoma project (CLP).
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 279–280.
135. Procházka, V.; Trněný, M.; Pytlík, R.; Vášová, I.; Šálek, D.; Belada, D.; Sýkorová, A.; Papajík, T.; Jankovská, M.; Kozák, T.; Kubáčková, K.; Petrová, M.; Campr, V.; Boudová, L.; Matuška, M.; Trnková, M.
 □ Klinický obraz a léčba starších nemocných s difúzním velkobuněčným B-lymfomem: analýza dat 1425 pacientů Českého lymfomového projektu (CLP).
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 39–40.
136. Procházka, V.; Trněný, M.; Šálek, D.; Belada, D.; Kozák, T.; Papajík, T.; Pytlík, R.; Vášová, I.; Sýkorová, A.; Jankovská, M.; Kubáčková, K.; Brejcha, M.; Matuška, M.; Petráková, K.; Pirnos, J.; Nepomucká, J.; Starostka, D.; Lysý, M.; Campr, V.; Boudová, L.; Trnková, M.; Petrová, M.
 □ Median absolute lymphocyte count independently predicts survival of elderly patients with diffuse large B-cell Lymphoma treated with R-chemotherapy: analysis of 651 patients included in the Czech Lymphoma Project.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 1187–1188.

- 137. Rahmatová, Š.; Fales, I.; Kuřiková, M.; Kolaříková, I.; Záhlavová, L.; Vinklárková, J.; Karkošková, L.; Kobylka, P.**
 □ Current status of the Cord blood bank Czech Republic. Poster: World cord blood congress. Marseille, France, 4.–7. 11. 2010.
- 138. Reicheltová, Z.; Májek, P.; Štikarová, J.; Kotlín, R.; Sutttnar, J.; Dyr, J. E.**
 □ Expresní profily proteinů aktivovaných krevních destiček.
 □ Vaskulár. Med. Vol. 2, no. S3 (2010), s. 49.
- 139. Reicheltová, Z.; Májek, P.; Štikarová, J.; Kotlín, R.; Sutttnar, J.; Dyr, J. E.**
 □ Expresní profily proteinů aktivovaných krevních destiček. Poster: XVII. Slovensko-Česká konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí. Martin, Slovenská republika, 20.–22. 5. 2010.
- 140. Reicheltová, Z.; Májek, P.; Sutttnar, J.; Malý, M.; Oravec, M.; Štikarová, J.; Dyr, J. E.**
 □ Vyhledávání biomarkerů akutního infarktu myokardu pomocí proteomických metod.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 111.
- 141. Reicheltová, Z.; Májek, P.; Malý, M.; Oravec, M.; Sutttnar, J.; Dyr, J. E.**
 □ Vyhledávání markerů u kardiovaskulárních onemocnění. In Pražský hematologický den 14. 10. 2010: sborník abstrakt.
 □ Praha: I. interní klinika: klinika hematologie VFN a 1. LFUK, 2010, s. 24. ISBN 978-80-254-8415-9.
- 142. Riedel, T.; Brynda, E.; Chlupáč, J.; Filová, E.; Bačáková, L.; Dyr, J. E.**
 □ Biomimetické tenké fibrinové sítě jako skelet pro podpodru endothelizace umělých cévních protéz.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 101.
- 143. Riedel, T.; Brynda, E.; Chlupáč, J.; Filová, E.; Bačáková, L.; Dyr, J. E.**
 □ Modifikace pletených cévních protéz tenkou vrstvou fibrinové sítě pro vylepšení endothelizace.
 □ Vaskulár. Med. Vol. 2, no. S3 (2010), s. 37.
- 144. Riedel, T.; Brynda, E.; Chlupáč, J.; Filová, E.; Bačáková, L.; Dyr, J. E.**
 □ Modifikace umělých cévních protéz tenkou biomimetickou fibrinovou sítí pro podporu endothelizace. In Pražský hematologický den 14. 10. 2010: sborník abstrakt.
 □ Praha: I. interní klinika: klinika hematologie VFN a 1. LFUK, 2010, s. 25. ISBN 978-80-254-8415-9.
- 145. Rosenauerová, A.; Procházková, D.; Zahradníček, L.; Jílek, D.; Hrachovinová, I.; Kotlín, R.**
 □ Proč měla tříletá pacientka enormě prodloužený trombinový čas?
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 51.
- 146. Rotnáglová, E.; Tachezy, R.; Saláková, M.; Košlabová, E.; Veselá, E.; Šmahelová, J.; Hamšíková, E.; Ludvíková, V.; Klozar, J.**
 □ Úloha lidských papillomavirů v etiopatogenezi karcinomů patrových mandlí. In Hajtman, A.; Čalkovský, V.; Hanzel, P. (ed.). Aktuality v otorinolaryngologii.
 □ Martin, Slovenská republika: Jesseniova lékařská fakulta UK, 2010, s. 31–32. ISBN 978-80-88866-75-6.
- 147. Salaj, P.**
 □ Early treatment benefits: analyses from HemoRec registry.
 □ Haemophilia. Vol. 16, no. S3 (2010), s. 69.
- 148. Salaj, P.; Penka, M.; Smejkal, P.; Cetkovský, P.; Brabec, P.; Ovesná, P.; Geierová, V.**
 □ Economic evaluation of rFVIIa high first-line dose compared to rFVIIa standard first-line dose. In XXXIII World Congress of the International Society of Hematology: final program [CD-ROM].
 □ Jerusalem: ISH, 2010, nestr.
- 149. Schmid, C.; Van Biezen, A.; Brand, R.; Finke, J.; Volin, L.; Vitek, A.; Selleslag, D.; Heim, D.; von dem Borne, P.; Ganser, A.; Mohty, M.; Boogaerts, M.; De Witte, T. M.; Kröger, N.**
 □ Management and outcome of myelodysplastic syndrome (MDS) and secondary acute myeloid leukaemia relapsing after allogeneic stem cell transplantation: a retrospective analysis on 888 patients by the MDS Subcommittee of the EBMT Chronic Leukaemia Working Party.
 □ Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. 2S (2010), s. S62–S63.
- 150. Schönfeldová, E.; Chrastinová, L.; Štikarová, J.; Hlaváčková, A.; Veselá, B.; Sutttnar, J.; Dyr, J. E.**
 □ Vliv bilirubinu na stanovení volného hemoglobinu v plazmě.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 52.
- 151. Schwarz, J.; Penka, M.; Pospíšilová, D.; Křen, L.; Camp, V.**
 □ Doporučení CZEMP pro diagnostiku a léčbu Ph-negativních myeloproliferativních onemocnění (MPO).
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 21.
- 152. Smetana, K.**
 □ Ještě další příspěvek k počítačové obrazové karyometrii a denzitometrii lymfocytů na úrovni jedné buňky.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 12–13.
- 153. Smetana, K.; Jirásková, I.; Karban, J.; Trněný, M.**
 □ Karyometry, RNA and DNA image densitometry of lymphocytes in patients suffering from B-chronic lymphocytic leukemia (B-CLL).
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 27–28.
- 154. Smolej, L.; Vášová, I.; Šálek, D.; Šálková, J.; Karban, J.; Belada, D.; Sýkorová, A.; Špaček, M.; Jankovská, M.; Camp, V.; Krejčová, H.; Trněný, M.**
 □ Diagnostic and therapeutic approach to small lymphocytic lymphoma (SLL): experience of Czech lymphoma study group.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 330.
- 155. Smolej, L.; Špaček, M.; Brychtová, Y.; Belada, D.; Schwarz, J.; Doubek, M.; Motýčková, M.; Cmunt, E.; Rohoň, P.; Klásková, K.; Kozák, T.**
 □ Low-dose fludarabine and cyclophosphamide combined with rituximab in the treatment of elderly/comorbid patients with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL): preliminary results of project Q-lite by Czech CLL study group.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 1024–1025.
- 156. Smolej, L.; Špaček, M.; Belada, D.; Hrudková, M.; Brychtová, Y.; Doubek, M.; Schwarz, J.; Cmunt, E.; Rohoň, P.; Klásková, K.; Kozák, T.**
 □ Nízkodávkovaný fludarabin a cyklofosfamid v kombinaci s rituximabem v léčbě starších a komorbidních nemocných s chronickou lymfocytární leukémií/lymfomem z malých lymfocytů (CLL/SLL): projekt Q-lite České skupiny pro CLL.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 10.
- 157. Spinnewijn, L.; Strobbe, L.; Van Biezen, A.; Brand, R.; Finke, J.; Platzbecker, U.; Ruutu, T.; Beelen, D.; Schwerdtfeger, R.; Floisand, Y.; Martino, R.; Al-Ali, H.K.; Atienza, A.; Steinerová, K.; Nagler, A.; Vitek, A.; Kröger, N.; De Witte, T.M.**
 □ The impact of pretransplant variables on relapse-free survival in homogeneous cohort patients with adult MDS primarily treated with myeloablative alloSCT:

a retrospective study of the MDS subcommittee of the Chronic Leukemia Working Party of the EBMT.

□ Bone Marrow Transpl. Vol. 45, no. 2S (2010), s. S63.

158. Staněk, L.; Petráčková, M.; Dundr, P.; Vonka, V.

□ Organ damage associated with overproduction of GM-CSF by gene modified mouse cells transformed by bcr-abl fusion gene. Poster: 1st international conference on advances in cell and gene therapy and immunotherapy: from basic research to clinical applications and 3rd workshop on immunotherapy. Mikulov, 23.–25. 9. 2010.

159. Staněk, L.; Petráčková, M.; Dundr, P.; Krmenčíková, M.; Vonka, V.

□ Toxicity of GM-CSF overproduced by gene modified mouse cells.
□ Hum. Gene Ther. Vol. 21, no. 10 (2010), s. 1442.

160. Staněk, L.; Petráčková, M.; Dundr, P.; Krmenčíková, M.; Vonka, V.

□ Toxicity of GM-CSF overproduced by gene modified mouse cells. Poster: XVIIIth annual congress of the European society of gene and cell therapy. Milano, Italy, 22.–25. 10. 2010.

161. Starý, J.; Sedláček, P.; Smíšek, P.; Štěrbá, J.; Hrstková, H.; Blažek, B.; Mihál, V.; Hak, J.; Procházková, D.; Černá, Z.; Timr, P.; Zemanová, Z.; Jarošová, M.; Oltová, A.; Schwarz, J.; Mejstříková, E.; Hrušák, O.; Zuna, J.; Janotová, K.; Vodičková, E.; Zámková, A.; Vávra, V.; Kaspers, G.
□ Výsledky léčby dětí s relapsem a primárně rezistentní akutní myeloidní leukémií ve studii „Relapsed AML 2001/01, 02“.

□ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 51.

162. Stauder, R.; Smith, A.; De Witte, T.M.; Droste, J.; Fenaux, P.; Symeonidis, A.; Hellström-Lindberg, E.; Sanz, G.; Čermák, J.; Georgescu, O.; Germing, U.; MacKenzie, M.; Beyne Rauzy, O.; Malcovati, L.; Bowen, D.T.
□ Health-related quality of life in newly diagnosed low risk and intermediate-1 risk MDS: report on the first 683 patients from the European LeukemiaNet Registry.

□ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 1630.

163. Steurer, M.; Gisslinger, H.; Penka, M.; Sormann, S.; Schwarz, J.; Tóthová, E.; Hrubíško, M.; Hellmann, A.; Podolak-Dawidziak, M.; Petrides, P.E.

□ Long-term experience with anagrelide (Thromboreductin®) in the treatment of

essential thrombocythemia: data from an international registry.

□ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), abstract no. 5064.

164. Stopka, T.; Vargová, K.; Čuřík, N.; Burda, P.; Savvulidi, F.; Pospíšil, V.; Berková, A.; Basová, P.; Trněný, M.; Karban, J.; Obrtlíková, P.; Nečas, E.; Zavadil, J.

□ In search of clinical relevance of MIR155 host gene upregulation in B-cell chronic lymphocytic leukemia.

□ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 52.

165. Stopka, T.; Burda, P.; Vargová, K.; Čuřík, N.; Jonášová, A.; Šišková, M.; Trněný, M.

□ 5-Azacytidine and Valproic acid modify chromatin structure near key hematopoietic genes in myelodysplastic syndrome (MDS).

□ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 45.

166. Storry, J.R.; Písačka, M.; Pejchalová, A.; Hult, A.K.; Olsson, M.

□ Heterozygosity for consensus FUT1 associated with a new ABH phenotype challenging current dogma: H-negative group A or B.

□ Vox Sang. Vol. 99, no. S1 (2010), s. 379–380.

167. Sutttnar, J.; Štikarová, J.; Kotlín, R.; Dyr, J. E.

□ Fibrinopeptides release from fibrinogen in washed platelets activated with thrombin. In XXIIth international fibrinogen workshop: programme and abstract book.

□ Rotterdam/Amsterdam: IFRS, 2010, s. 69.

168. Sutttnar, J.; Pimková, K.; Bocková, M.; Májek, P.; Kotlín, R.; Homola, J.; Dyr, J. E.

□ Human plasma depletion techniques for label-free detection of low-abundance plasma proteins. In EUROPT(R)ODE X 230 (2010): book of abstracts.

□ Praha: Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR, 2010, s. 238.

169. Sutttnar, J.; Chrastinová, L.; Pimková, K.; Májek, P.; Čermák, J.; Dyr, J. E.

□ Oxidative stress in blood plasma of patients with myelodysplastic syndromes.

□ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 566.

170. Sutttnar, J.; Mášová, L.; Pimková, K.; Májek, P.; Malý, M.; Dyr, J. E.

□ Oxidative stress in blood plasma of patients with coronary disease and platelet responses to S-nitroso compounds.

□ Vaskulár. Med. Vol. 2, no. S3 (2010), s. 50.

171. Sutttnar, J.; Mášová, L.; Pimková, K.; Májek, P.; Malý, M.; Dyr, J. E.

□ Oxidative stress in blood plasma of patients with coronary disease and platelet responses to S-nitroso compounds. Poster: XVII. Slovensko-Česká konferencia o hemostáze a trombóze s medzinárodnou účasťou. Martin, Slovenská republika, 20.–22. 5. 2010.

172. Sýkorová, A.; Belada, D.; Smolej, L.; Pytlík, R.; Benešová, K.; Vášová, I.; Papajík, T.; Šálek, D.; Procházková, V.; Trněný, M.; Matuška, M.; Brejcha, M.; Kubáčková, K.; Kabičková, E.; Móciková, H.; Camp, V.

□ Určování rozsahu onemocnění u non – Hodgkinových lymfomů s extralymfatickým šířením: doporučení Kooperativní lymfomové skupiny.

□ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 29–30.

173. Šárová, I.; Březinová, J.; Izáková, S.; Malinová, E.; Zemanová, Z.; Lizcová, L.; Čermák, J.; Polívka, J.; Vydra, J.; Šišková, M.; Michalová, K.

□ Cytogenetic analyses of the chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia.

□ Eur. J. Hum. Genet. Vol. 18, no. S1 (2010), s. 195.

174. Šárová, I.; Březinová, J.; Izáková, S.; Zemanová, Z.; Malinová, E.; Lizcová, L.; Bystřická, D.; Gančarčíková, M.; Grosová, L.; Čermák, J.; Polívka, J.; Vydra, J.; Šišková, M.; Michalová, K.

□ Mapování zlomových míst na chromosomu 11 u akutní myeloidní leukémie. In 43. výroční cytogenetická konference.
□ Ostravice: ČLK a SLG ČLS JEP a Cytogen. sekce Čs. biologické společnosti, 2010, nestr.

175. Šárová, I.; Březinová, J.; Izáková, S.; Zemanová, Z.; Malinová, E.; Lizcová, L.; Bystřická, D.; Gančarčíková, M.; Grosová, L.; Čermák, J.; Polívka, J.; Vydra, J.; Šišková, M.; Michalová, K.

□ Molecular-cytogenetic analysis of chromosome 11 aberrations in hematological malignancies. In International Life Sciences Students' Conference.
□ Nijmegen: ILSSC, 2010, s. 76–77.

176. Šroll, V.; Saláková, M.; Vochozková, P.; Němečková, Š.

□ Merkel cell polyomavirus in the Czech Republic: Merkel cell polyomavirus, variants, seroprevalence, immunosuppression. Poster: Molecular Biology of DNA Tumor Virus Conference. Madison, USA, 13.–18. 7. 2010.

- 177. Šroller, V.; Saláková, M.; Vochozková, P.; Němečková, Š.**
 □ Nový lidský onkogenní virus?: infekce polyomavirem karcinomu Merkelových buněk (MCPyV) v České republice. In 24. Pečenkovy epidemiologické dny.
 □ České Budějovice: Společnost pro epidemiologii a mikrobiologii ČLS JEP, 2010, s. 60.
- 178. Štemberková, R.; Laššuthová, P.; Čechová, H.; Staňková, M.; Hrabáková, P.; Jenčík, J.; Čermák, J.; Žižková, H.**
 □ Bodové mutace N-RAS genu u pacientů s myelodysplastickým syndromem jako nepříznivý prognostický faktor onemocnění.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 33.
- 179. Štemberková, R.; Laššuthová, P.; Čechová, H.; Staňková, M.; Hrabáková, P.; Jenčík, J.; Žižková, H.; Čermák, J.**
 □ N-RAS gene mutations are indicative of an unfavorable overall survival prognosis in patients with myelodysplastic syndromes, but not in patients with acute myeloid leukemia.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 91.
- 180. Štikarová, J.; Suttar, J.; Májek, P.; Reicheltová, Z.; Riedel, T.; Dyr, J. E.**
 □ Vliv modifikovaného fibrinogenu na adhezi krevních destiček.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 101.
- 181. Štikarová, J.; Májek, P.; Reicheltová, Z.; Suttar, J.; Dyr, J. E.**
 □ Vliv oxidační modifikace fibrinogenu na jeho vlastnosti. In Pražský hematologický den 14. 10. 2010: sborník abstrakt.
 □ Praha: I. interní klinika: klinika hematologie VFU a 1. LFUK, 2010, s. 26. ISBN 978-80-254-8415-9.
- 182. Štikarová, J.; Suttar, J.; Májek, P.; Reicheltová, Z.; Reicheltová, Z.; Riedel, T.; Dyr, J. E.**
 □ Vliv oxidační modifikace fibrinogenu na jeho vlastnosti.
 □ Vaskulár. Med. Vol. 2, no. S3 (2010), s. 50–51.
- 183. Štikarová, J.; Suttar, J.; Májek, P.; Reicheltová, Z.; Riedel, T.; Dyr, J. E.**
 □ Vliv oxidační modifikace fibrinogenu na jeho vlastnosti. Poster: XVII. Slovensko-Česká konference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí. Martin, Slovenská republika, 20.–22. 5. 2010.
- 184. Tkáčová, V.; Váľková, V.; Luxová, A.; Marinov, I.**
 □ CMV specific immunity is significantly influenced by donor CMV serological status and treatment for GvHD following allogeneic stem cell transplantation.
 □ Cytom. Part B-Clin. Cytom. Vol. 78B, no. 6 (2010), s. 452.
- 185. Tkáčová, V.; Marinov, I.; Váľková, V.; Luxová, A.**
 □ Vliv sérologického statusu dárce na rekonstituci buněčné imunity i pacientů po alogenní transplantaci kmenových buněk.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S4 (2010), s. 53.
- 186. Trněný, M.; Obrtlíková, P.; Karban, J.; Pytlík, R.; Váľková, V.; Schwarz, J.**
 □ Chronická lymfatická leukemie: na cestě k vyléčení?
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 9.
- 187. Trněný, M.; Pytlík, R.; Hnátková, M.; Vášová, I.; Belada, D.; Kubáčková, K.; Kozák, T.; Bělohávek, O.; Pirnos, J.; Lysý, M.; Hamouzová, M.; Šálková, J.; Trnková, M.**
 □ The treatment modification does not seem to change the DLBCL patient's outcome when correlated with early PET results.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 285.
- 188. Váňová, P.; Šiffnerová, V.; Klimentová, H.; Melková, M.; Nazarová, S.; Novotný, M.; Vondráčková, H.; Vraná, M.; Dobrovolná, M.**
 □ Continuous validation of key reagents for HLA genotyping conformable with EFI standards and ČSN EN ISO 15189. In Proceeding of 5th East-West Immunogenetics Conference.
 □ Plzeň: Euroverlag, 2010, nestr. ISBN 978-80-7177-022-0.
- 189. Veselá, R.; Doležalová, L.; Rychtrmárová, H.; Kideryová, L.; Pytlík, R.; Trněný, M.**
 □ Srovnání metod hodnocení přežití a proliferace lymfocytů v autologní smíšené lymfocytární reakci s dendritickými buňkami: inkorporace 3H-thymidinu a diferenciálního gatingu.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 82.
- 190. Veselá, R.; Doležalová, L.; Pytlík, R.; Rychtrmárová, H.; Marečková, H.; Trněný, M.**
 □ The evaluation of survival and proliferation of T-lymphocytes in autologous MLR: the comparison of incorporation of 3H thymidine and differential gating. In XXXIII World
- Congress of the International Society of Hematology: final program [CD-ROM].
 □ Jerusalem: ISH, 2010, nestr.
- 191. Votava, T.; Doležalová, L.; Černá, Z.; Geierová, V.; Karas, M.**
 □ Vzácná příčina trombocytopenie v dětském věku.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 107–108.
- 192. Votavová, H.; Forstrová, K.; Campr, V.; Střiteský, J.; Velenská, Z.; Pytlík, R.; Procházka, B.; Trněný, M.**
 □ CD10 expression in lymph node stromal cells does not significantly influence gene expression analysis of CD10 positivity or negativity of a tumor.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 610.
- 193. Votavová, H.; Forstrová, K.; Campr, V.; Střiteský, J.; Velenská, Z.; Pytlík, R.; Procházka, B.; Trněný, M.**
 □ Limited number of genes distinguishes between germinal centre-like and nongerminal centre-like diffuse large B cell lymphoma.
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 177.
- 194. Vraná, M.; Cuchalová, L.; Králíčková, M.; Řezáčová, J.; Madar, J.**
 □ KIR repertoire in women enrolled for in vitro fertilisation. Poster: 24th European immunogenetics and histocompatibility conference: 17th annual meeting of the Italian Society for immunogenetics and transplantation biology. Florence, Italy, 15.–18. 5. 2010.
- 195. Zemanová, Z.; Bystřická, D.; Březinová, J.; Gančarčíková, M.; Lizcová, L.; Izáková, S.; Šárová, I.; Dostálová Merkerová, M.; Šišková, M.; Černá, O.; Čermák, J.; Michalová, K.**
 □ DNA copy number changes in bone marrow cells of 60 MDS patients with complex karyotype ascertained by array CGH and mFISH/mBAND. In XXXIII World Congress of the International Society of Hematology: final program [CD-ROM].
 □ Jerusalem: ISH, 2010, nestr.
- 196. Zemanová, Z.; Březinová, J.; Bystřická, D.; Lizcová, L.; Izáková, S.; Šárová, I.; Šišková, M.; Neuwirtová, R.; Černá, O.; Čermák, J.; Michalová, K.**
 □ Komplexní chromosomové aberace u dospělých nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS). In 43. výroční cytogenetická konference.
 □ Ostravice: ČLK a SLG ČLS JEP a Cytogen. sekce Čs. biologické společnosti, 2010, nestr.

197. Zemanová, Z.; Michalová, K.; Březinová, J.; Lizcová, L.; Izáková, S.; Bystřická, D.; Šárová, I.; Šišková, M.; Černá, O.; Čermák, J.
 □ Molecular study of complex karyotypes in bone marrow cells of patients with myelodysplastic syndromes (MDS).
 □ Cytogenet. Genome Res. Vol. 128, no. 4 (2010), abstract no. 18.
198. Žáčková, D.; Klamová, H.; Dušek, L.; Mužík, J.; Dobešová, B.; Ryšavá, J.; Ráčil, Z.; Doubek, M.; Dvořáková, D.; Jurček, T.; Razga, F.; Moravcová, J.; Machová Poláková, K.; Rulcová, J.; Cetkovský, P.; Mayer, J.
 □ Imatinib in the first line chronic myeloid leukemia (CML) treatment: can we compare the real-life data to clinical trial results?
 □ Haematologica/Hematol. J. Vol. 95, no. S2 (2010), s. 350.
199. Žáčková, D.; Klamová, H.; Dušek, L.; Mužík, J.; Dobešová, B.; Ryšavá, J.; Ráčil, Z.; Machová Poláková, K.; Pospíšil, Z.; Doubek, M.; Dvořáková, D.; Jurček, T.; Razga, F.; Moravcová, J.; Cetkovský, P.; Trněný, M.; Mayer, J.
 □ Imatinib v první linii léčby pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) v chronické fázi (CP): můžeme srovnat výsledky z reálné klinické praxe s výsledky dosaženými v klinických studiích?
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 59–60.
200. Žáčková, M.; Moučková, D.; Lopotová, T.; Ondráčková, Z.; Moravcová, J.
 □ HSP90 as a possible indicator of disease progression in chronic myeloid leukemia. In The 5th conference on the HSP90 chaperone machine.
 □ Les Diablerets, Switzerland: b.n., 2010, s. 135.
201. Žáčková, M.; Lopotová, T.; Ondráčková, Z.; Klamová, H.; Moravcová, J.
 □ In vitro sensitivity to tyrosine kinase inhibitors is one of possible predictive parameters for therapy switch in patients with chronic myeloid leukemia.
 □ Blood. Vol. 116, no. 21 (2010), s. 1133.
202. Žáčková, M.; Lopotová, T.; Ondráčková, Z.; Klamová, H.; Moravcová, J.
 □ Optimalizace in vitro testování vlivu imatinibu na leukocyty pacientů s CML.
 □ Transfuz. Hemat. dnes. Roč. 16, č. S2 (2010), s. 76.
203. Žůrková, K.; Hainz, P.; Kryštofová, J.; Kutinová, L.; Šanda, M.; Němečková, Š.
 □ Attenuation of vaccinia virus by the expression of human Flt3 ligand. In European society for virology: abstracts.

□ Cernobbio, Italy: European society for virology, 2010, s. 179.

Původní práce ve sbornících

1. Klener, P.
 □ Zarzio®: možnost rozšířeného uplatnění G-CSF v hematologii a onkologii. In Vyzula, R.; Svoboda, M. (ed.). Nové léky v onkologické praxi.
 □ Praha: Ambit Media, 2010, s. 79–84. ISBN 978-80-904596-1-8.
2. Pimková, K.; Hegnerová, K.; Suttner, J.; Homola, J.; Dyr, J. E.
 □ Proteinové markery myelodysplastického syndromu pro analýzu na SPR čipu. In 11. studentská vědecká konference 1. lékařské fakulty.
 □ Praha: 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, 2010, s. 84–85.

ZKRATKY

- AA – aplastická anémie
- aHUS – atypický hemolyticko-uremický syndrom
- ALL – akutní lymfoblastická leukémie
- AML – akutní myeloidní leukémie
- APL – akutní promyelocytární leukémie
- APTT – aktivovaný parciální trombotoplastinový test
- AT – antitrombin
- BMDW – Bone Marrow Donors Worldwide
- BPH – benigní hyperplazie prostaty
- BPK – banka pupečnickové krve
- CCC – Comprehensive Care Centres
- CLL – chronická lymfatická leukémie
- CML – chronická myeloidní leukémie
- CMMoL – chronická melomonocytární leukémie
- CMPD – chronické myeloproliferativní onemocnění
- CP – chronická fáze
- CR – celková remise
- CVVHD – kontinuální venovenózní hemodialýza
- CTCL – lymfomy z T-lymfocytů v kožní lokalizaci
- ČIA – Český Institut pro Akreditaci ops.
- DBA – Diamondova-Blackfanova anémie
- DD – D-dimer
- DHPLC – denaturační vysoce účinná kapalinová chromatografie
- DLI – infuze dárcovských lymfocytů
- DNA – deoxyribonukleová kyselina
- DNPH – dinitrofenylhydrazin
- EBD – virus Epstein-Barrové
- EBR – erytrocytový koncentrát resuspendovaný
- ECP – extrakorporální fotochemoterapie
- EFI – European Federation for Immunogenetics
- EHK – externí hodnocení kvality
- ELN – European LeukemiaNet
- ERD – erytrocytový koncentrát de leukocytovaný
- ES – endostatin
- ESCCA – European Society of Clinical Cell Analysis
- FA – Fanconiho anémie
- Fbg – fibrinogen
- FISH – Fluorescence in situ hybridization
- Fp – fibrinopeptid
- GvHD – reakce štěpu proti hostiteli
- HAK – hormonální antikoncepce
- Hb – hemoglobin
- HES – hypereosinofilní syndrom
- HIT – heparinem indukovaná trombocytopenie
- HPV – lidský papillomavirus
- HRMA – high resolution melting analysis
- HUS – hemolyticko-uremický syndrom
- CHT – chemoterapie
- ICCS – International Clinical Cytometry Society
- Ig – imunoglobulin
- IKEM – Institut klinické a experimentální medicíny
- IM – Imatinib
- IPVZ – Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví
- ITP – idiopatická trombocytopenická purpura
- JCI – Joint Commission International
- JIHeP – jednotka intenzivní hematologické péče
- KD – kostní dřev
- LCT – lymfocytotoxický test
- LMWH, LMW – heparin nízkomolekulární heparin
- LNA – Locked Nucleic Acid
- LPD – lymfoproliferativní onemocnění
- LPVZ – laboratoř prevence virových nákaz
- MALDI-TOF – matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight
- MDA – malondialdehyd
- MDS – myelodysplastický syndrom
- MM – mnohočetný myelom
- MMM – myelofibróza s myeloidní metaplasii
- MNC – mononukleární buňky
- MPO – myeloproliferativní onemocnění
- MRN – minimální residuální nemoc
- MRO – minimální reziduální onemocnění
- MS – hmotnostní spektrometrie
- MS-MLPA – methylation specific – multiplex ligation-dependent probe amplification
- NRL – národní referenční laboratoř
- OS – celkové přežití
- PBPC – kmenové buňky periferní krve
- PC – karcinom prostaty
- PCR – polymerázová řetězová reakce
- PF2D – dvourozměrná frakcionace proteinů
- PK – pupečnicková krev
- PR – parciální remise
- PT – protrombinový test
- PV – polycytemia vera
- RLP – rekurentní laryngeální papillomatóza
- RNA – ribonukleová kyselina
- RP – ribozomový protein
- SAA – těžká aplastická anémie
- SAHA – suberoylanilid hydroxamové kyseliny
- SCT – transplantace kmenových buněk krvetvorby
- SEP – skupina expertních pracovišť
- SIN-1-3 – morpholinosydnominin
- SPR – rezonance povrchového plasmonu
- TAD – krevní destičky z aferézy de leukocytované
- TAO – krevní destičky z aferézy ochuzené o leukocyty
- TB – krevní destičky z buffycoatu
- TGA – generace trombinu
- TEN – trombo-embolická nemoc
- TEP – totální endoprotéza
- TKI – tyrosinkinasový inhibitor
- TRALI – Transfusion Related Acute Lung Injury
- TU – transfúzní jednotka
- TTP – trombotická trombocytopenická purpura
- ÚKEH – Ústav klinické a experimentální hematologie
- UPD – uniparentální dizomie
- UV – ultrafialová
- vWF – von Willebrandův faktor
- WAA – World Apheresis Association
- WHO – World Health Organisation (Světová zdravotnická organizace)