UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ

# BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**2013** **Martina Tichá**

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A BIOCHEMICKÝCH VĚD

# Autologní transplantace kmenových buněk

**Martina Tichá**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**
**2013**

UNIVERSITY OF PARDUBICE

FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

DEPARTMENT OF BIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL SCIENCES

# Autologous stem cell transplantation

**Martina Tichá**

**BACHELOR THESIS**
**2013**

**Univerzita Pardubice**
**Fakulta chemicko-technologická**
Akademický rok: **2012/2013**

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

| | |
|---|---|
| Jméno a příjmení: | **Martina Tichá** |
| Osobní číslo: | **C10470** |
| Studijní program: | **B3912 Speciální chemicko-biologické obory** |
| Studijní obor: | **Zdravotní laborant** |
| Název tématu: | **Autologní transplantace kmenových buněk** |
| Zadávající katedra: | **Katedra biologických a biochemických věd** |

Zásady pro vypracování:

1. Vypracovat teoretickou rešerši zabývající se autologní transplantací kmenových buněk.
2. Vymezit pojem transplantace. Základní rozdělení transplantací a jejich charakteristiky.
3. Autologní transplantace kmenových buněk a její význam.
4. Zdroje kmenových buněk a jejich manipulace, předtransplantační příprava pacienta a princip provedení autologní transplantace kmenových buněk.
5. Význam autologní transplantace kmenových buněk v současné léčbě.
6. Úspěšnost léčby.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Veronika Dvořáková**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **13. prosince 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. července 2013**

prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 15. února 2013

Prohlašuji:

Tuto bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně a veškeré literární zdroje a informace použité v této práci jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle §60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 17. 7. 2013

…….

Martina Tichá

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat své konzultantce Mgr. Veronice Dvořákové za její pomoc, trpělivost a cenné rady při psaní mé bakalářské práce. Dále děkuji paní RNDr. Lucii Korecké, Ph.D. za odborné vedení a dohled při psaní mé práce. V neposlední řadě děkuji své rodině za podporu během mého studia.

# Souhrn

Tématem bakalářské práce jsou autologní transplantace kmenových buněk a jejich praktické využití v léčbě civilizačních chorob.

Nejprve byl vymezen pojem autologní transplantace kmenových buněk a její charakteristika. Poté byly zmíněny základní zdroje kmenových buněk a jejich základní vlastnosti, kterých se využívá při aplikaci této terapie.

Tato bakalářská práce popisuje jednotlivé kroky při předtransplantační přípravě pacienta, seznamuje s principem provedení autologní transplantace kmenových buněk a uvádí nejčastější využití této metody v současné léčbě. V neposlední řadě jsou uvedeny zdravotní komplikace související s tímto léčebným zákrokem.



**Klíčová slova:** autologní transplantace
kmenové buňky
chemoterapie

## Summary

Autologous stem cell transplantation and the practical use in the treatment of civilization diseases are the topic of the thesis.

First, the concept of the autologous stem cell transplantation and the characteristic were defined. Then basic sources of stem cells and their basic attributes, used in application of this method, were mentioned.

The bachelor's thesis describes individual steps during pre – transplantation preparation of the patient, apprizes with the principle of performing the autologous stem cell transplantation and shows the most common use of this method at present treatment. Finally, there are introduced medical complications related with this therapeutic intervention.



**Key words:** autologous transplantation
stem cells
chemotherapy

**Obsah**

Úvod…….. ..... 12

1. Charakteristika transplantací ..... 13
1.1 Druhy transplantací ..... 13
1.1.1 Syngenní transplantace ..... 13
1.1.2 Alogenní transplantace ..... 14
1.1.3 Autologní transplantace ..... 14

2. Autologní transplantace kmenových buněk a její význam ..... 15

3. Zdroje kmenových buněk a jejich manipulace ..... 16
3.1 Kostní dřeň ..... 16
3.2 Periferní krev ..... 17
3.3 Pupečníková krev od novorozenců ..... 17

4. Charakteristika kmenových buněk a jejich vlastnosti ..... 18

5. Předtransplantační příprava pacienta ..... 21
5.1 Základní vyšetření ..... 21
5.2 Vysokodávková chemoterapie ..... 22
5.2.1 Vedlejší účinky chemoterapie ..... 22

6. Princip provedení autologní transplantace kmenových buněk ..... 23
6.1 Mobilizace kmenových buněk z kostní dřeně do periferní krve ..... 23
6.2 Separace kmenových buněk z periferní krve ..... 24
6.3 Zmražení kmenových buněk ..... 25
6.4 Rozmražení kmenových buněk ..... 25
6.5 Aplikace kmenových buněk pacientovi ..... 25

7. Význam autologní transplantace kmenových buněk v současné léčbě ..... 26
7.1 Hematologické malignity ..... 27
7.1.1 Leukémie ..... 28
7.1.1.1 Akutní leukémie ..... 28
7.1.1.2 Chronická leukémie ..... 29
7.1.2 Lymfomy ..... 30
7.1.2.1 Mnohočetný myelom ..... 31
7.1.2.2 Hodgkinův lymfom ..... 32
7.1.2.3 Non – Hodgkinův lymfom ..... 33
7.2 Autoimunitní onemocnění ..... 35
7.2.1 Roztroušená skleróza ..... 37
7.2.2 Systémový lupus erythematodes ..... 38

7.2.3 Systémová sklerodermie ..... 39
7.3 Solidní nádory ..... 40
7.3.1 Karcinom prsu ..... 40
8. Komplikace autologní transplantace kmenových buněk ..... 42
Závěr ..... 43
Seznam použité literatury ..... 44

# Úvod

V našem těle se vyskytují životně důležité buňky nezbytné pro tvorbu krevních buněk. Jsou to buňky kmenové. Za normálních okolností jsou všechny krevní elementy v rovnovážném stavu. Průběžné ztráty krevních buněk jsou vyrovnávány jejich novou tvorbou, kterou zajišťují nediferencované kmenové buňky vznikající v kostní dřeni. Kmenové buňky jsou schopné postupné diferenciace na zralé hemopoetické buňky všech zárodečných řad a proliferace zajišťující jejich vlastní sebeobnovu [1].

Kmenové buňky se hojně využívají v buněčné terapii pro jejich schopnost regenerace. Vytváří nejméně jeden, někdy řadu specializovaných buněčných typů. Kmenové buňky jsou nediferencované, což znamená, že nevykonávají konkrétní funkci charakteristickou pro určitou tkáň. Jsou tedy univerzální a pod vlivem různých podnětů se aktivují a přeměňují na buňky typické tkáně. Kmenové buňky vyčkávají v tkáních jako klidové buňky mající minimální metabolismus. K jejich aktivaci dochází při poškození tkáně, kdy dochází ke ztrátě buněk. To je signálem pro tvorbu nových buněk, které slouží jako náhrada buněk ztracených. Po regeneraci tkáně přechází kmenové buňky opět do klidového stavu [2,3].

Transplantací kmenových buněk – infuzí nebo vstřikováním zdravých buněk do těla – lze nahradit buňky nefunkční nebo buňky ztracené při poranění [2].

Tato práce pojednává o autologní transplantaci kmenových buněk jako účinném nástroji při léčbě dnešních civilizačních chorob. Výhodou této transplantace je schopnost imunitního systému transplantované buňky rozpoznávat jako buňky tělu vlastní, a proto proti nim netvoří protilátky [4].

# 1. Charakteristika transplantací

Transplantace je vhodný terapeutický nástroj pro léčbu mnoha chorob. Tato léčebná metoda spočívá v přenosu celého orgánu, konkrétní tkáně nebo jen určitých buněčných složek do těla pacienta za účelem obnovit funkci poškozených buněk, tkání nebo orgánů. Transplantace orgánů a tkání je chirurgickým zákrokem na rozdíl od transplantace buněk mající neinvazivní charakter. Nejčastěji se jedná o přenos kmenových buněk [5,6].

Transplantací kmenových buněk se léčí mnoho závažných nemocí jako například některé typy leukémií, lymfomy, nádorová onemocnění, autoimunitní onemocnění, těžké vrozené defekty imunity, dřeňové útlumy, diabetes mellitus, Parkinsonova nemoc, selhání srdce a mnoho dalších. Transplantace kmenových buněk se ve své podstatě podobá krevní transfuzi – transplantát je podáván intravenózně do žíly [5,6,7].

## 1.1 Druhy transplantací

V dnešní době existuje mnoho druhů transplantací, které jsou velmi dobře popsány a v praxi hojně využívány. Mezi základní druhy transplantací patří syngenní, alogenní a autologní transplantace, které se rozlišují podle dárce [6].

### 1.1.1 Syngenní transplantace

Jedná se o zvláštní typ transplantace, kdy dochází k přenosu kmenových buněk mezi jednovaječnými dvojčaty. Genetická identita zajišťuje stejné tkáňové znaky mezi dvojčaty, tudíž imunitní systém organismu rozpoznává tyto znaky jako sobě vlastní a nedochází k nepřijetí transplantátu organismem. Jednovaječná dvojčata jsou genotypově totožná a neexistují mezi nimi žádné imunologické rozdíly [8].

### 1.1.2 Alogenní transplantace

U tohoto typu transplantace se převádí kmenové buňky od jiného zdravého člověka (dárce) pacientovi (příjemci). Podmínkou je maximální možná shoda tkáňového typu (soubor HLA znaků) mezi dárcem a příjemcem. Čím větší je rozdíl v HLA znacích dárce a příjemce, tím větší je u pacienta riziko pozdějších nežádoucích reakcí. Od určitého stupně HLA neshody nelze transplantaci provést [6].

Po transplantaci může dojít k tzv. reakci štěpu proti hostiteli (z anglického Graft Versus Host Disease), při které dochází k tomu, že T – lymfocyty dárce rozpoznávají znaky tkání příjemce jako cizí a mají snahu je zničit. Tuto nežádoucí reakci lze ovlivnit podáváním tzv. imunosupresiv, která potlačí funkci imunitního systému pacienta do té doby, než dojde k navození tzv. druhotné imunologické tolerance [6].

Alogenní transplantace je nejčastěji indikována u prognosticky nepříznivých typů leukémií, vážných krvetvorných útlumů (těžká aplastická anemie, myelodysplastický syndrom) nebo těžkých vrozených poruch imunity [6].

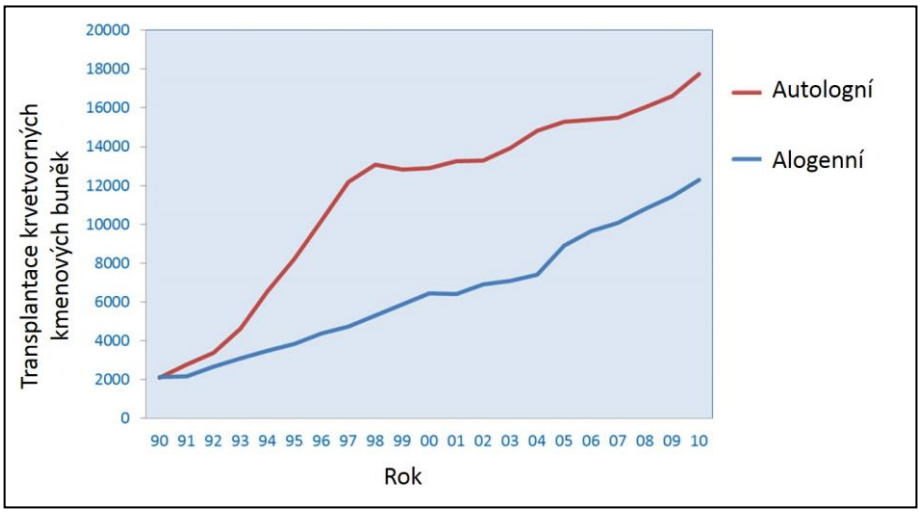
### 1.1.3 Autologní transplantace

Tento druh transplantace se provádí s pomocí kmenových buněk získaných od samotného pacienta. Autologní transplantace slouží jako podpůrná terapie při léčbě rozmanitých nádorových onemocnění. Podmínka je, že pacient má před zákrokem své základní krvetvorné buňky zdravé [6].

Autologní transplantace nemá přímý protinádorový účinek. Tato terapie musí být podpořena předtransplantační vysokodávkovou chemoterapií, aby bylo dosaženo požadovaného efektu léčby [8].

Ve většině případů autologní transplantace zlepšuje celkový efekt léčby, ale není schopna zabránit recidivě původní choroby, pokud ji předchozí chemoterapie nezlikvidovala beze zbytku [6].

Níže uvedený Obrázek č. 1 představuje incidenci autologních a alogenních transplantací prováděných v Evropě v letech 1990 – 2010.




**Obrázek č. 1: Autologní a alogenní transplantace kmenových buněk v Evropě v letech 1990 – 2010, převzato z: [9]**

# 2. Autologní transplantace kmenových buněk a její význam

Terapie autologní transplantací kmenových buněk nabývá v poslední době velkého uplatnění při léčbě vybraných hematoonkologických chorob (mnohočetný myelom, Hodgkinova choroba, non – Hodgkinova choroba, některé typy leukémií), autoimunitních onemocnění (roztroušená skleróza, systémový lupus erythematodes, systémová sklerodermie) a solidních nádorů (rakovina prsu, varlat) [6,10].

Při léčbě nádorového onemocnění je stále na prvním místě aplikace vysokodávkové chemoterapie. Tento typ léčby zastupují zejména cytostatické produkty – látky zabíjející živé buňky. Čím vyšší dávka chemoterapie je podávána, tím účinnější je protinádorový efekt. Problémem je, že cytostatika zabíjejí nejenom buňky nádorové, ale také buňky zdravé. Po chemoterapii je tedy poškozen celý organismus a s ním i kostní dřeň. Dochází k úbytku krevních buněk. Nedostatek červených krvinek vede k chudokrevnosti (anémii), nedostatek bílých krvinek umožňuje rozvoj infekcí a nedostatek krevních destiček způsobuje rozvoj krvácivých stavů [5].

Tento problém z části řeší autologní transplantace kmenových buněk. Pacientovi se odeberou zdravé kmenové buňky ještě před aplikací vysokodávkové chemoterapie a poté mu jsou opět navráceny zpět do těla. Takto ošetřené kmenové buňky rychle osídlí kostní dřeň, začnou se množit a produkovat nové krevní buňky. Význam autologní transplantace kmenových buněk tedy spočívá v obnově krvetvorby po vysokodávkované chemoterapii [5].

# 3. Zdroje kmenových buněk a jejich manipulace

K transplantaci lze použít tři základní zdroje kmenových buněk: kostní dřeň, periferní krev a pupečníkovou krev od novorozenců. Při odběru kostní dřeně je nutná celková anestezie z důvodu opakovaných punkcí (vpichů) do lopaty kosti kyčelní. Jedním vpichem lze odebrat jen několik mililitrů krve s dřeňovými buňkami, a proto je třeba provést více vpichů. Bez celkové anestezie by byl odběr kostní dřeně značně bolestivý a nepříjemný. Mnohem šetrnější a bezpečnější metodou pro pacienta je odběr kmenových buněk z periferní krve, který se v dnešní době provádí nejčastěji. Zisk kmenových buněk z pupečníkové krve od novorozenců po porodu a jejich užití při léčbě nemocí má značný význam [5,11].

## 3.1 Kostní dřeň

Kostní dřeň představuje tekutou, rosolovitou tkáň nacházející se uvnitř kostí. Mezi její hlavní funkce patří tvorba krevních elementů (erytrocytů, leukocytů, trombocytů). Erytrocyty zabezpečují transport dýchacích plynů a tím zajišťují dýchání, leukocyty chrání náš organismus před infekcí a krevní destičky se podílejí na srážení krve [11].

Podstatné je, že kostní dřeň obsahuje bohatou zásobu kmenových buněk. Z důvodu vysoké koncentrace zmiňovaných buněk byla kostní dřeň dříve využívána jako primární zdroj pro transplantaci kmenových buněk. K zisku velkého množství zdravých kmenových buněk bylo nutné odstranit velkou část dřeně, což nebylo vždy pro pacienta příliš bezpečné [11].

Odebrané buňky kostní dřeně jsou poměrně složitým procesem zpracovány a uchovávány ve speciální nádobě v zamraženém stavu v prostředí tekutého

dusíku při teplotě -196 °C. Zamražené vydrží v nepoškozeném stavu i několik let. [5].

## 3.2 Periferní krev

Periferní krev je pro odběr kmenových buněk snadno dostupná, na rozdíl od kostní dřeně, a její odběr činí transplantaci bezpečnější pro pacienta. Odběr kmenových buněk z periferní krve je v dnešní době používán nejčastěji. Tímto méně invazivním přístupem lze poměrně snadno získat větší množství kmenových buněk než při odběru z kostní dřeně. Transplantát odebraný z periferní krve je bohatší na kmenové buňky a zajišťuje lepší obnovu krvetvorby [5,12].

V periferní krvi se za normálních okolností vyskytují kmenové buňky v malém množství, a proto je potřeba před odběrem zajistit jejich umělé vyplavení z kostí do krevního oběhu podáváním růstových faktorů – speciálních bílkovin, které zajišťují regulaci růstu a množení krvetvorných buněk v krvi. Tomuto procesu se říká mobilizace (stimulace, priming) [12].

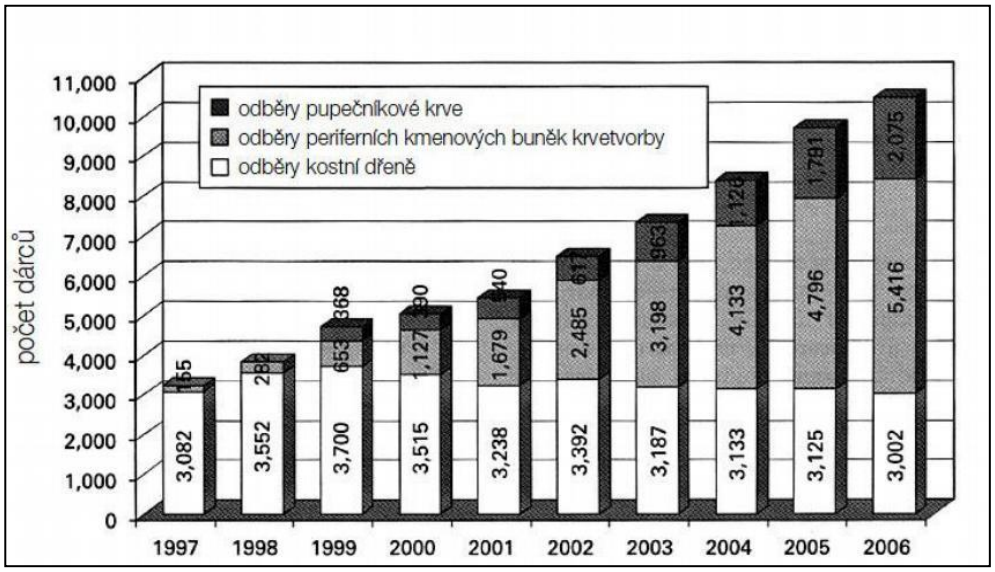
## 3.3 Pupečníková krev od novorozenců

Krev, která v těhotenství koluje mezi placentou matky a dítětem, obsahuje velké množství kmenových buněk. Po odstřižení pupeční šňůry zůstává určité množství volných kmenových buněk v placentě a v cévách pupečníku [12].

Pupečníkové kmenové buňky jsou mladé a přizpůsobivé. V organismu příjemce si lépe zvykají. Pupečníková krev se získává dobrovolně se souhlasem rodičky po porodu zdravého dítěte ze zbytků pupečníku a placenty. Následně se zamrazí a uchová se pro případné použití pro některého z budoucích pacientů. Jelikož je těchto pupečníkových buněk poměrně málo, hodí se spíše pro dětské pacienty. Darování pupečníkové krve při normálně probíhajícím porodu nezatíží matku, ani novorozence a může dokonce zachránit život jiného dítěte. Na celém světě vznikají banky pupečníkové krve [12].

Tento zdroj kmenových buněk se také používá při alogenní transplantaci, pokud není nalezen vhodný dárce, který by měl podobné tkáňové znaky. U těchto pacientů, kteří nenašli vhodného dárce, může být pupečníková krev zdrojem kmenových buněk. Nevýhodou je delší trvání transplantace a obnova krvetvorných buněk [7].

Níže uvedený Obrázek č. 2 ukazuje, z jakých zdrojů byly odebírány kmenové buňky pro transplantaci v letech 1997 – 2006 a porovnává četnost jednotlivých odběrů.




**Obrázek č. 2: Odběry štěpů kostní dřeně, periferních kmenových buněk krvetvorby a pupečníkové krve v období od roku 1997 – 2006, převzato z: [13]**

# 4. Charakteristika kmenových buněk a jejich vlastnosti

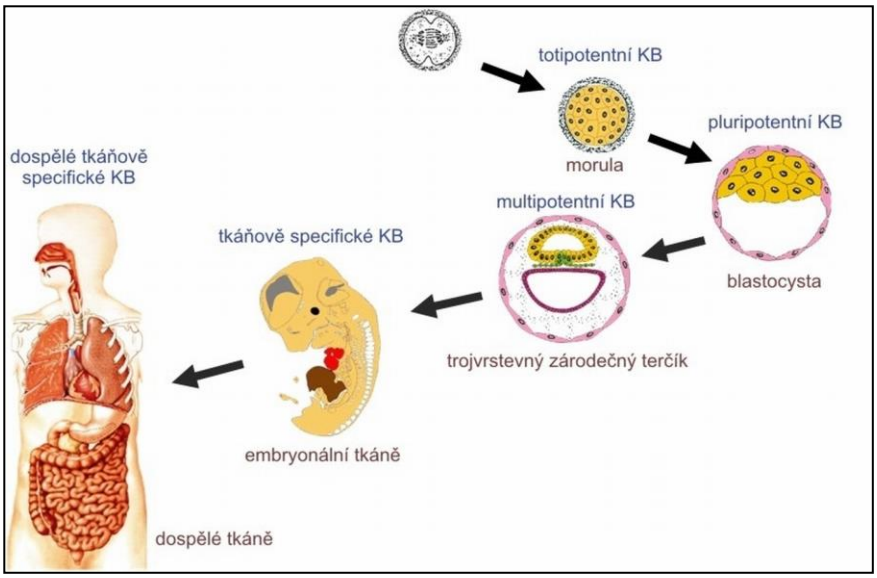
Kmenové buňky jsou první buňky vznikající při vývoji nového organismu. Jsou to primární nediferencované buňky mající schopnost přeměnit se (diferencovat) na jakýkoliv jiný typ buněk. Tím tělu umožní vytvářet nové buňky a opravovat poškozené nebo opotřebované části tkání a orgánů. Kromě schopnosti diferencovat se mají kmenové buňky i schopnost své vlastní obnovy. Sebeobnova umožňuje, že při každém buněčném dělení opět vzniká nová kmenová buňka, a proto je zásoba kmenových buněk ve tkáni nevyčerpatelná [14,15].

Tkáňově specifické kmenové buňky sídlí v tzv. niché. Jedná se o tkáňové mikroprostředí lišící se svou strukturou od okolní tkáně a poskytující „domov“ kmenovým buňkám. Oblast niché může být tak malá, že pojme jedinou kmenovou buňku, a proto obvykle jednotlivé tkáně obsahují velký počet niché. Toto mikroprostředí má za úkol regulovat chování kmenových buněk včetně jejich sebeobnovy [14].

Z hierarchického hlediska lze kmenové buňky rozdělit na totipotentní buňky, které se mohou bez omezení měnit na jakýkoliv jiný typ buněk včetně další totipotentní buňky, a pluripotentní buňky, které představují potomky totipotentních buněk. Tyto pluripotentní buňky mají schopnost produkovat opět jakýkoliv jiný typ buněk kromě buněk totipotentních. Dále existují buňky multipotentní, které produkují pouze buňky příbuzné danému typu buňky, např. krevní buňky a unipotentní neboli progenitorové buňky, které na rozdíl od všech ostatních produkují pouze jediný typ buněk a jsou schopny plné sebeobnovy, čímž se liší od buněk, které nejsou kmenové [15].

Podle původu lze kmenové buňky rozdělit na embryonální a dospělé (adultní). Dospělé kmenové buňky se nacházejí v dospělých tkáních a orgánech, kde tvoří jen nepatrnou část buněk. Jejich počet však stačí k tomu, aby se z nich mohla příslušná tkáň nebo orgán obnovovat. Dospělé kmenové buňky lze ještě rozdělit na somatické (nacházející se kdekoliv v těle) a germinální (tvoří gamety a vyskytují se v pohlavních orgánech). Embryonální kmenové buňky je možné získat z embryí ve stadiu blastocysty nebo moruly. Blastocysta je embryo obsahující zhruba 50 – 150 kmenových buněk. Embryonální kmenové buňky lze získat i z pupečníkové krve po porodu. Po stimulaci jsou tyto buňky schopny se diferencovat do všech buněčných typů dospělého organismu. Jsou natolik plastické, že za určitých okolností mohou být aplikovány jinému živočišnému druhu. Myší embryonální kmenové buňky byly například použity k léčbě srdečního poškození u ovcí [15].

Níže uvedený Obrázek č. 3 zobrazuje hierarchické postavení jednotlivých typů kmenových buněk.




**Obrázek č. 3: Hierarchie kmenových buněk, převzato z: [14]**

Kmenové buňky mají pozoruhodné vlastnosti, které se mění s věkem organismu. Za změny těchto vlastností je zodpovědné zmiňované niché, které má vliv na chování i stárnutí kmenových buněk. S přibývajícím věkem organismu dochází u kmenových buněk ke zkracování jejich telomer, tím se zpomaluje dělení a současně dochází i ke změně odolnosti a plasticity kmenových buněk [14].

Klidové a aktivované kmenové buňky se liší svými vlastnostmi. Klidové (spící) kmenové buňky nepodléhají stárnutí, protože mají minimální metabolismus a díky tomu nepodléhají tak snadno rozpadu. K aktivaci kmenových buněk dochází při poranění tkání. Aktivované kmenové buňky mají za úkol zabezpečit hojení a regeneraci poškozených tkání [14].

Typické vlastnosti kmenových buněk jako je schopnost sebeobnovy, vysoká proliferační kapacita nebo diferenciace v různé buněčné elementy souvisí s nezralostí kmenových buněk a jejich neobvyklou ohebností (deformabilitou) buněčné membrány i jádrového obalu. Kmenové buňky jsou také velmi odolné a chrání svou genetickou informaci před poškozením. Dalším charakteristickým rysem kmenových buněk je jejich plasticita. Je to schopnost tkáňově specifických kmenových buněk změnit své vlastnosti a přizpůsobit se tkáním

jiným. Dochází k tomu v případě, když kmenová buňka putuje ze svého tkáňového mikroprostředí do jiného niché, které poskytne signální molekuly vedoucí k aktivaci nových genů umožňujících produkci nového a odlišeného potomstva. Jedná se o přeprogramování kmenových buněk [14].

# 5. Předtransplantační příprava pacienta

Před transplantací musí pacient absolvovat řadu vyšetření, které stanoví diagnózu onemocnění a lékař na základě výsledků testů určí, zda je transplantace nejvhodnějším terapeutickým zákrokem při léčbě choroby [11].

## 5.1 Základní vyšetření

Základní vyšetření slouží ke zhodnocení celkového zdravotního stavu pacienta. Lékař musí shromáždit důležité informace o pacientovi (předchozí nemoci, dosavadní léčbu) a poskytnout mu veškeré informace týkající se zákroku, který bude pacient absolvovat. Následně je pacientovi provedeno fyzikální vyšetření zahrnující běžnou základní prohlídku [12].

Odběr vzorků krve a moči slouží ke stanovení krevního obrazu a k provedení jaterních a ledvinových testů. Mikrobiologické vyšetření zmapuje bakteriální osídlení v těle, případně potvrdí nosičství některých virů. Ke stanovení srdeční činnosti je provedena elektrokardiografie (EKG) a echokardiografie (ECHO). Zdatnost plic se zjišťuje pomocí spirometrického vyšetření. Neurologická prohlídka zvaná elektroencefalografie (EEG) je rovněž součástí vyšetření. Pomocí této metody je zaznamenávána elektrická aktivita mozku. Gynekologickým vyšetřením je nutné vyloučit těhotenství u žen. Chemoterapii nemohou podstoupit těhotné ženy. Je nutné vyloučit také skryté zubní kazy nebo záněty, proto se provádí zubní vyšetření a rentgenový snímek celého chrupu. Ke zjištění stavu krvetvorby se před transplantací provádí kontrolní odběr kostní dřeně [12].

## 5.2 Vysokodávková chemoterapie

Cílem tohoto zákroku je zneškodnit nádorové buňky podáváním speciálních látek, které mají cytotoxický efekt. Působí na dělící se buňky, proto je jejich účinek vyšší u buněk nádorových než u zdravých. Nicméně cytostatika poškozují i buňky zdravé. Zaměřují se především na DNA obsaženou v jádrech buněk [16].

Chemoterapie je podávána ve formě infuzí. Infuze jsou někdy podávány během několika hodin v rámci dne nebo po dobu několika dnů. Doba podávání cytostatik závisí na konkrétním onemocnění. Infuze se podávají kanylou do centrální žíly. Infuzí jsou také podávány látky, které mají za úkol snížit některé nežádoucí účinky cytostatik [5].

### 5.2.1 Vedlejší účinky chemoterapie

Podávání cytostatik při protinádorové chemoterapii zaručí neselektivní inhibici buněčné proliferace. Chemoterapie má cytotoxický účinek na kostní dřeň, epitel trávicího ústrojí, buňky vlasového folikulu, zárodečné pohlavní buňky a embryonální tkáň [1].

Chemoterapie pravidelně poškozuje krvetvorbu. V důsledku toho vzniká u pacientů anémie a zvýšená krvácivost způsobená trombocytopenií. Mezi další nežádoucí účinky patří vypadávání vlasů, pocity slabosti, únava, různé infekce, průjem, zácpa, nevolnost, nauzea, nervové změny, neplodnost a mnoho dalších [1,17].

Intenzita toxicity určitého cytostatika nezávisí pouze na jeho povaze, ale také na dávce podávané pacientovi. Pokud je zpomaleno vylučování cytostatika může dojít k vážnému poškození ledvin a jater, přestože určitá dávka cytostatika byla opakovaně prověřena. Mezi nemocnými existují značné individuální rozdíly. Při stejných dávkách mohou být projevy toxicity velmi rozdílné [1].

# 6. Princip provedení autologní transplantace kmenových buněk

## 6.1 Mobilizace kmenových buněk z kostní dřeně do periferní krve

V dnešní době je pro transplantaci kmenových buněk nejčastějším zdrojem periferní krev. Výhodou těchto buněk je odběr štěpu (transplantátu) bez nutnosti celkové anestezie. Další výhodou je rychlejší přihojení štěpu a obnovení imunitního systému pacienta po transplantaci. Pacientovi se tedy při transplantaci převádí kmenové periferní buňky, nikoliv dřeňová krev [18,19].

Periferní kmenové krvetvorné buňky se za normálních okolností vyskytují v krvi v malém množství, a proto je potřeba je mobilizovat (vyplavit) z kostní dřeně do krve, aby se jejich koncentrace v periferní krvi zvýšila [12].

Při mobilizaci se pacientovi podává růstový faktor pro granulocyty (G – CSF) ve formě podkožní injekce několik dní před plánovaným odběrem kmenových buněk. Ten navodí mobilizaci kmenových buněk z kostní dřeně do periferní krve, ze které je pak odběr prováděn [12].

Na zadržení krvetvorných buněk v kostní dřeni má vliv interakce mezi chemokinovým receptorem CXCR4 a faktorem odvozeným od stromálních buněk (buněk pojivové tkáně) SDF 1α. Podávání růstového faktoru zajišťuje degradaci SDF 1α, tím je narušena zmiňovaná interakce a dochází k uvolnění krvetvorných buněk z kostní dřeně do krve. Pokud nedochází po podání růstového faktoru k vyplavení kmenových buněk z kostní dřeně, je možné použít účinnější mobilizační přípravky – inhibitory receptoru CXCR4 (Plerixafor) [20,21].

Pro transplantaci kmenových buněk z periferní krve je rozhodující dávka $CD34^+$ buněk. Jedná se o hematopoetické krevní buňky schopné obnovy procesu krvetvorby. Pro tyto buňky je typické, že na svém povrchu mají antigen $CD34^+$ receptor na rozdíl od buněk nádorových, které na svém povrchu buňky $CD34^+$ neexprimují. Tím je zajištěno, že se separátorem vyselektují jen buňky zdravé, nikoliv nádorové [22,23].

Molekula $CD34^+$ na povrchu periferních krvetvorných kmenových buněk je glykoprotein, podle kterého se posuzuje účinnost mobilizace kmenových buněk z kostní dřeně do periferní krve. Hladina $CD34^+$ buněk v krvi se měří metodou

průtokové cytometrie a ukazuje účinnost mobilizace. Hodnoty $CD34^+$ buněk vyšší než $20*10^3$/ml krve značí úspěšnou mobilizaci kmenových buněk z kostní dřeně do periferní krve a je možné zahájit jejich sběr [20].

## 6.2 Separace kmenových buněk z periferní krve

Z periferní krve lze kmenové buňky sbírat pomocí speciálního přístroje, separátoru, který tyto předem zvolené složky krve sbírá do speciálních vaků. Proces sběru kmenových buněk z periferní krve se nazývá aferéza [20].

Napojení pacienta na separátor se provádí sterilně vpichem do žil při místním znecitlivění. Do žil jsou zavedeny speciální kanyly, které jsou spojeny s hadičkami, které vedou přímo do separátoru. Toto napojení pacienta na separátor musí zajistit dostatečně rychlý průtok krve přístrojem. Pokud má pacient na obou předloktích povrchové žíly příliš slabé, je potřeba zavést kanylu do některé z centrálních žil – nejčastěji do stehenní žíly (přes kůži v třísle) [12].

Separátor pracuje na principu odstřeďování. Krev z jedné žíly přichází do přístroje, kde se mísí s malým množstvím protisrážlivého roztoku (antikoagulačního činidla), který má za úkol snížit krevní srážlivost. Poté krev prochází systémem dělicích hadiček a vaků, kde se šetrně odstřeďuje. Přístroj je řízen pomocí počítačového programu, kde můžeme nastavit typ sbíraných buněk. Při nastavení sběru kmenových buněk se malá vrstvička těchto buněk koncentruje v malém sběrném vaku uvnitř separátoru, všechny ostatní krevní součásti se průběžně vrací pacientovi zpět do druhé žíly [12].

Odběr na separátoru trvá několik hodin, pacient při něm nic necítí. Pokud v průběhu odběru na separátoru bude pacient vnímat brnění v prstech nebo na rtech, znamená to, že byla v krvi dočasně snížena koncentrace vápníku vazbou na přidávaný protisrážlivý roztok. V tomto případě je třeba do hadičky přístroje doplnit malé množství roztoku vápníku a problémy odezní [12].

Při sběru kmenových buněk separátorem je potřeba odebrat vhodnou dávku $CD34^+$ buněk pro transplantaci. Dávka $CD34^+$ buněk souvisí s dobou přihojení štěpu po autologní transplantaci. Rychlost přihojení štěpu závisí na množství transplantovaných $CD34^+$ buněk na kilogram hmotnosti pacienta. Minimální terapeutická dávka pro transplantaci je $2,5*10^6$ $CD34^+$ buněk na kilogram hmotnosti pacienta. U některých nemocí je vhodná vyšší terapeutická dávka

$CD34^+$ buněk pro transplantaci. Doporučuje se transplantovat 5 – $8*10^6$ $CD34^+$ buněk na kilogram hmotnosti pacienta [20,24].

## 6.3 Zmražení kmenových buněk

Odebrané kmenové buňky jsou ve sběrném vaku zamraženy a skladovány v tekutém dusíku při teplotě -196 °C. Tyto kmenové buňky jsou konzervovány ve speciálním kryokonzervačním činidle, které slouží k zachování vitálních funkcí těchto buněk při zamražení v tekutém dusíku. Toto prostředí zajišťuje, aby buňky nepopraskaly a přežily. Nejčastěji používané kryokonzervační činidlo je dimethylsulfoxid [20].

## 6.4 Rozmražení kmenových buněk

Vaky se zamraženými kmenovými buňkami se rozmrazí těsně před uskutečněním transplantace při teplotě 37 °C, aby nedošlo ke ztrátě vitálních buněk. Po rozmražení je provedena kontrola počtu krvetvorných buněk. Dále se stanovuje jejich úbytek způsobený zamražením. Je potřeba zjistit, zda je dostatečné množství těchto kmenových buněk pro transplantaci. Rozmražené kmenové buňky podáváme pacientovi ve formě studené transfuze, proto musí být u pacienta sledován pulz, tlak a dechová frekvence na monitoru vitálních funkcí [20].

## 6.5 Aplikace kmenových buněk pacientovi

Rozmražené kmenové buňky jsou podávány pacientovi i s konzervačním činidlem (dimethylsulfoxidem) ve formě infuze přes podklíčkovou žílu pomocí centrálního žilního katétru, do kterého se nasají krvetvorné buňky z vaku injekční stříkačkou [12,16].

Dimethylsulfoxid je toxický a může způsobovat u pacientů pocity nevolnosti, zvracení, závratě, bušení srdce, zčervenání v obličeji, svírání v krku, brnění kolem úst nebo brnění konečků prstů. Tyto problémy se vyřeší tím, že pacient toto jedovaté činidlo jednoduše vydýchá. Poté už nemá pacient žádné potíže [5,16].

Po podání krvetvorných buněk zpět do těla pacienta se obnoví jeho krvetvorba. Doba přihojení krvetvorných buněk po transplantaci se definuje jako vzestup počtu neutrofilních leukocytů nad hodnotu $0,5*10^9$/ l krve nebo

trombocytů nad $20*10^9$/ l krve až $50*10^9$/ l krve. Obnova krvetvorby trvá zhruba 12 – 14 dnů. Rychlost přihojení je důležitá pro snížení výskytu časných komplikací po transplantaci [18,20].

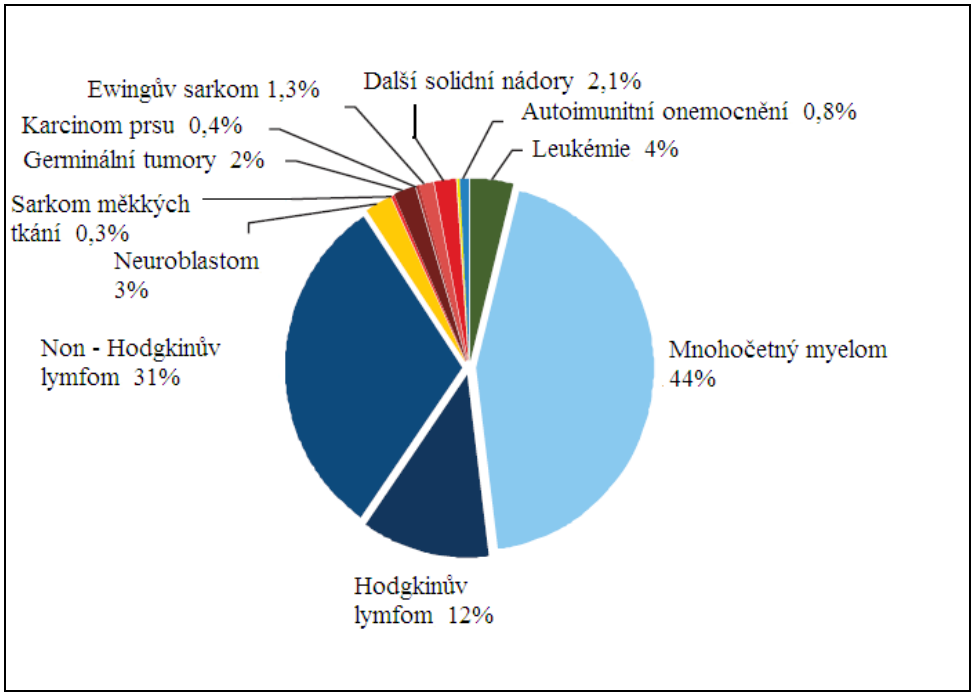
# 7. Význam autologní transplantace kmenových buněk v současné léčbě

Autologní transplantace kmenových buněk má uplatnění především při léčbě hematoonkologických malignit. U různých typů leukémií je autologní transplantace indikována vzácně. U mnohočetného myelomu, Hodgkinova lymfomu nebo non – Hodgkinova lymfomu se aplikace autologní transplantace kmenových buněk řadí mezi úspěšnou metodu léčby [10,25].

Pomocí autologní transplantace kmenových buněk se také léčí autoimunitní onemocnění. Mezi nejčastější autoimunitní onemocnění léčené pomocí této strategie patří roztroušená skleróza, systémový lupus erythematodes nebo systémová sklerodermie [10,25].

Tímto přístupem je možné léčit i některé ze solidních nádorů jako například karcinom prsu [10,25].

Níže uvedený Obrázek č. 4 zobrazuje na kruhovém diagramu podíl jednotlivých chorob léčených pomocí autologní transplantace kmenových buněk.




**Obrázek č. 4: Počet autologních transplantací u jednotlivých chorob, převzato z: [10]**

## 7.1 Hematologické malignity

Hematologické malignity jsou nádorová onemocnění zasahující především krevní elementy. Za posledních 20 let došlo ke zvýšení počtu těchto malignit až o 40% [26].

Nádory jsou imunologicky různorodé, ale často morfologicky podobné. Pro určení typu nádorového onemocnění se využívá imunofenotypizace. Imunofenotypizace je metoda sloužící k detekci maligních nádorových buněk. Využívá se reakce monoklonálních protilátek s antigeny, které na svém povrchu exprimují konkrétní imunologické znaky choroby. Imunofenotypizace pomáhá rozlišit maligní tkáň od benigní, hematologickou malignitu od nehematologické, různé typy nádorových onemocnění krve [27,28].

### 7.1.1 Leukémie

Leukémie je nádorové onemocnění poškozující krvetvorbu a lymfatické uzliny. Charakteristickým znakem je zvýšený počet bílých krvinek. Leukémii však mohou mít i nemocní, jejichž počet bílých krvinek je normální či dokonce snížený [29].

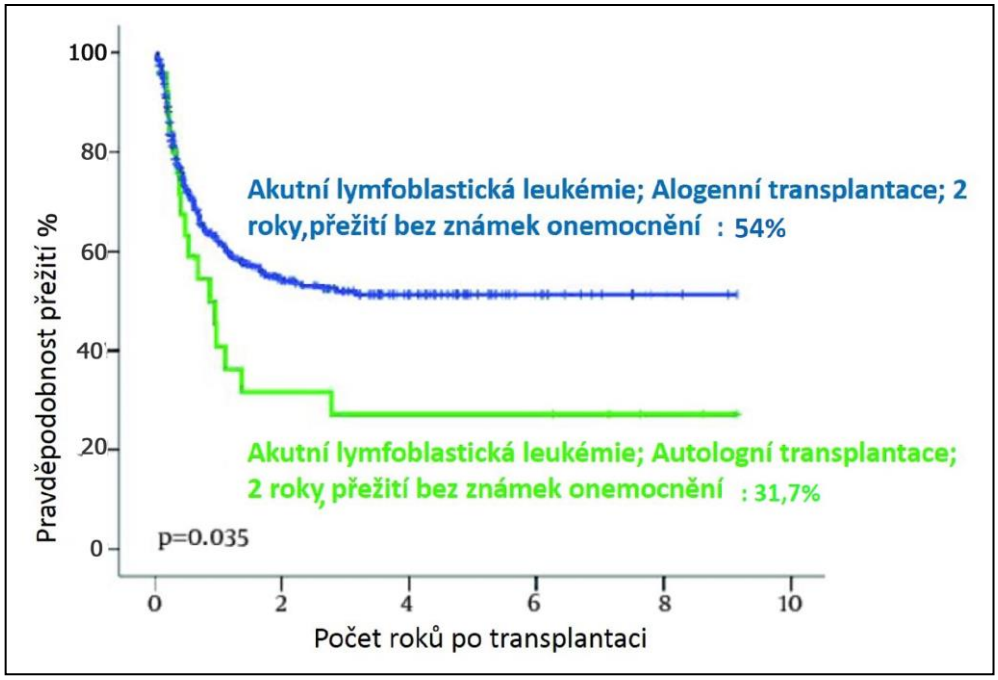
#### 7.1.1.1 Akutní leukémie

Akutní leukémie mají velmi rychlý průběh. Bez léčby může pacient zemřít během pár dnů až týdnů od prvních příznaků onemocnění. Akutní leukémie lze diagnostikovat na základě vyšetření periferní krve. Charakteristickým nálezem je zvýšený počet bílých krvinek a přítomnost tzv. blastů (nezralých patologických forem). U zdravých lidí se blasty v periferní krvi nevyskytují. Z hlediska léčby se akutní leukémie dělí podle typu blastů na akutní lymfoblastickou leukémii a akutní myeloidní leukémii [29].

Při akutní leukémii pacient trpí nedostatkem všech druhů normálních krvinek. V důsledku deficitu krevních destiček dochází ke zvýšené krvácivosti. Zvýšená únava, nevýkonnost, malátnost a motání hlavy je příčinou nedostatku červených krvinek, kdy tělo není zásobeno kyslíkem. Mohou se vyskytovat závažně probíhající infekce z důvodu nedostatku funkčních bílých krvinek (především granulocytů) [29].

Autologní transplantace kmenových buněk se u akutní leukémie nevyužívá často, protože bez čištění kostní dřeně je zatížena vysokým procentem relapsů. Je možné její použití v první nebo i dalších remisích nemoci, ale je vyšší riziko mortality než u alogenní transplantace [30].

Níže uvedený Obrázek č. 5 srovnává úspěšnost přežití po alogenní a autologní transplantaci kmenových buněk u akutní lymfoblastické leukémie.




**Obrázek č. 5: Pravděpodobnost přežití bez známek onemocnění po alogenní a autologní transplantaci kmenových buněk u akutní lymfoblastické leukémie, převzato z: [31]**

#### 7.1.1.2 Chronická leukémie

Chronické leukémie mají na rozdíl od akutních pomalý průběh. Bez léčby může pacient zemřít za měsíce až roky. Existují dvě vývojové linie při vzniku krvinek z kmenové krvetvorné buňky – lymfatická a myeloidní. Z lymfatické řady vznikají pouze lymfocyty zodpovídající za imunitní obranu. Z myeloidní řady vznikají všechny ostatní krvinky – červené krvinky, krevní destičky a bílé krvinky (granulocyty) [29].

Chronická myeloidní leukémie je onemocnění charakteristické zvýšeným počtem neutrofilů a přítomností jejich vývojových předchůdců (myelocytů a metamyelocytů – v pokročilejší fázi nemoci). V počáteční fázi onemocnění se u pacienta neobjevují typické příznaky pro leukémii jako je krvácení, anémie, opakované infekce. Tyto příznaky se projeví až v pozdější fázi onemocnění. Potvrzení diagnózy této choroby se provádí molekulárně biologickými metodami, kterými se prokazuje chromozomální odchylka – tzv. Filadelfský

chromozom vznikající translokací mezi 9. a 22. chromozomem. Tato genetická odchylka je spojena se vznikem fúzního genu bcr – abl, jehož přítomnost se prokazuje [29].

Chronická lymfatická leukémie je onemocnění charakteristické častými a špatně léčitelnými infekcemi způsobenými porušenou imunitní obranou. Choroba může probíhat měsíce až roky bez subjektivních potíží a příznaků. V pokročilém stádiu onemocnění dochází k útlumu kostní dřeně vlivem maligních buněk a postupně klesá počet neutrofilů, krevních destiček a červených krvinek. Deficit neutrofilů a nedostatek zdravých lymfocytů umožňuje vznik infekce, která je agresivnější a hůře léčitelná než u zdravých jedinců. Častá je i virová infekce (pásový opar), která má také agresivnější průběh [29].

Autologní transplantace se u chronických leukémií neprovádí, protože při provedení tohoto zákroku dochází pouze ke krátkodobé remisi onemocnění a rychlému návratu nemoci. U pacientů s chronickou leukémií, u kterých byla prováděna autologní transplantace kmenových buněk, došlo k cytogenetickému relapsu onemocnění. Ačkoliv má tento zákrok vliv na snížení zátěže nádoru na pacienta, není vhodnou metodou léčby z důvodu vysoké mortality. Vhodnou metodou léčby je alogenní transplantace [32].

### 7.1.2 Lymfomy

Lymfomy jsou maligní nádorová onemocnění postihující imunitní buňky zvané lymfocyty. Lymfatický systém je poškozen a jeho buňky se nekontrolovatelně množí. Charakteristickým znakem lymfomů jsou zvětšené uzliny na krku, v podpaží a tříslech. Zvětšení uzlin v břiše může způsobit trávicí potíže, útlak močovodu a poruchu odtoku moči z ledviny. Zvětšení uzlin v mezihrudí způsobuje dráždivý kašel, dušnost, tlak na prsou atd. Maligní lymfomy se mohou vyskytovat i mimo uzliny. Mohou vzniknout v kterémkoliv orgánu (kost, ledvina, mozek, varle, střevo) a projevují se jako nádory těchto orgánů. Mezi celkové příznaky lymfomů patří zvýšená teplota až horečky, noční pocení, hmotnostní úbytek, únava bez příčiny, svědění kůže [29,33].

Při léčbě lymfomů je důležité stanovit závažnost onemocnění. U nízce agresivních lymfomů může pacient přežít bez léčby roky, u agresivních lymfomů měsíce a u vysoce agresivních lymfomů týdny [29].

Indikací k autologní transplantaci kmenových buněk je návrat nemoci (relaps) po předchozí léčbě nebo odolnost pacienta vůči léčebné terapii. U pacientů s vyšší pravděpodobností relapsu onemocnění je snaha prodloužit pomocí autologní transplantace kmenových buněk remisi (dočasné vymizení příznaků nemoci) [34].

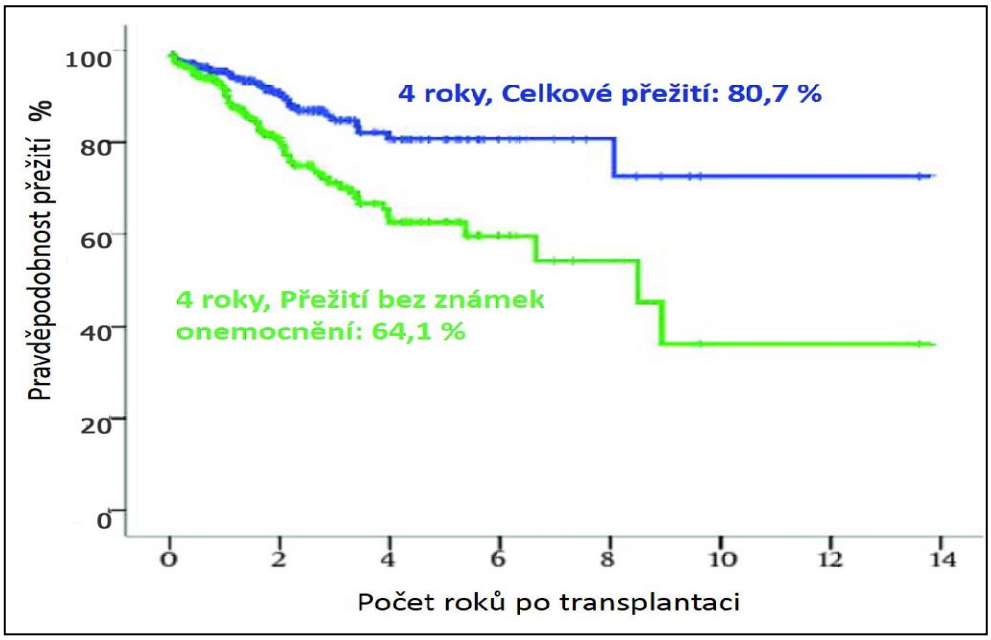
#### 7.1.2.1 Mnohočetný myelom

Mnohočetný myelom (plazmocytom, Kahlerova choroba) je nádorové onemocnění kostní dřeně, u něhož jsou nádorové buňky podobné normálním plazmatickým buňkám (plazmocytům) – tj. nejzralejší fázi B – lymfocytů produkujících imunoglobuliny. Tyto klony plazmatických buněk se množí a akumulují se v kostní dřeni. Dochází k infiltraci kostní dřeně nádorovou populací. V kostní dřeni se rozmnožily myelomové buňky a jsou zde i fyziologicky přítomné monoklonální protilátky (M – proteiny, paraproteiny). Tyto paraproteiny mohou různými mechanismy způsobit poškození organismu. Nejčastějším cílovým orgánem jsou ledviny. Dále monoklonální protilátky poškozují kosti, krvetvornou tkáň a periferní nervy [29,30,35].

Pro mnohočetný myelom je charakteristické odbourávání kostní hmoty, které je způsobeno produkcí cytokinů s aktivitou „OAF“ (osteoklasty aktivující faktor). Při vyšetření krevního obrazu pacienta je v krvi vysoká hodnota vápníku související s „rozpouštěním“ kostí. U mnohočetného myelomu jsou časté infekce a anémie způsobené nedostatkem červených krvinek [29,30,35].

Autologní transplantace kmenových buněk se využívá jako standardní postup při léčbě mnohočetného myelomu. Zvyšuje intenzitu protinádorové terapie. Při tomto onemocnění se doporučují dvojnásobné (neboli tandemové) transplantace [35].

Níže uvedený Obrázek č. 6 ukazuje úspěšnost léčby mnohočetného myelomu autologní transplantací kmenových buněk.




**Obrázek č. 6: Celkové přežití a přežití bez známek onemocnění po autologní transplantaci kmenových buněk u mnohočetného myelomu, převzato z: [36]**

### 7.1.2.2 Hodgkinův lymfom

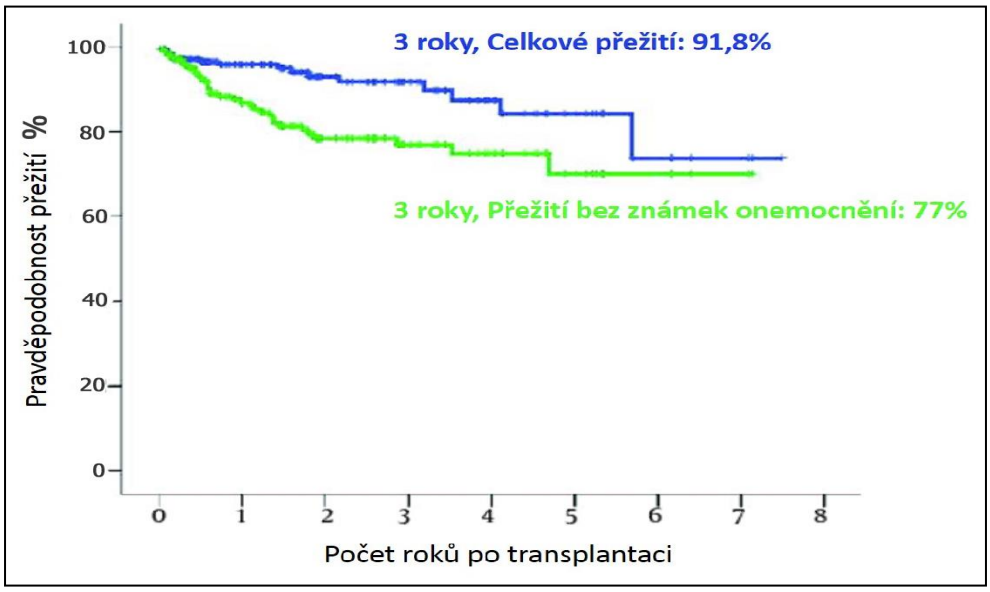
Hodgkinova choroba (lymfogranulom) je systémové onemocnění, které postihuje především lymfatické uzliny na krku a šíří se i do dalších uzlin. Může poškozovat i extralymfatické orgány a kostní dřeň. Nádorem poškozené lymfatické uzliny jsou zvětšené [30,35].

Pro diagnostiku je charakteristická přítomnost obrovských vícejaderných buněk Reedové a Sternberga vznikající pravděpodobně z jednojaderných Hodgkinových buněk, které na svém povrchu exprimují antigeny CD15 a CD30 [30].

Mezi celkové příznaky nemoci patří zvýšená teplota, svědění kůže, pocení, vzácně i bolest v místě postižení po požití alkoholu. Zvětšení uzlin v mediastinu (mezihrudí) je provázeno kašlem a námahovou dušností. Při postižení abdominálních (břišních) uzlin pacient cítí tlak v břiše a gastrointestinální obtíže [30].

Autologní transplantací kmenových buněk jsou léčeni pacienti s recidivující Hodgkinovou chorobou, kteří nereagují na polychemoterapii – kombinaci více cytostatik [30].

Níže uvedený Obrázek č. 7 zobrazuje úspěšnost léčby Hodgkinovy choroby autologní transplantací kmenových buněk.




**Obrázek č. 7: Celkové přežití a přežití bez známek onemocnění po autologní transplantaci kmenových buněk u Hodgkinovy choroby, převzato z: [37]**

### 7.1.2.3 Non – Hodgkinův lymfom

Non – Hodgkinův lymfom je maligní onemocnění projevující se maligní transformací B nebo T lymfocytů. Příčina vzniku těchto patologických změn lymfocytů není známa, ale připisuje se vlivu virové infekce. V Japonsku byl virus HTLV 1 potvrzen jako původce T lymfomu a virus EBV se opakovaně projevoval u Burkittova endemického lymfomu vyskytujícího se v malarických oblastech Afriky. Významnou úlohu při zjišťování vzniku nemoci mají molekulárně genetické změny [30,35].

Pro nádorová onemocnění nehodgkinovského typu jsou specifické mutace genů a chromozomální aberace. Nejčastější změnou je translokace částí chromozomů. U folikulárních lymfomů dochází k přesunu genu bcl 2 z 18. chromozomu na 14. chromozom. Vlivem transkripčních urychlovačů (enhancerů) sdružených s lokusem IgH dochází k poruše řízení exprese proteinu bcl 2, který je kódován genem bcl 2. Protein bcl 2 inhibuje apoptózu

patologického klonu lymfocytů. Současně způsobuje jeho akumulaci a snižuje citlivost k cytostatikům. U nehodgkinských lymfomů bývá omezena odpověď na chemoterapii [35].

Charakteristickým příznakem nemoci je nebolestivé zvětšení mízních uzlin (krčních, podpažních, tříselných). Non – Hodgkinovy lymfomy vznikají primárně v mízních uzlinách a velmi často jsou označovány jako uzlinové neboli nodální. Ložiska vznikající mimo lymfatické uzliny označujeme jako mimouzlinové neboli extranodální. Postižen může být jakýkoliv orgán nebo tkáň. Nejčastěji bývá poškozeno trávicí ústrojí (maltomy žaludku). Časté jsou i kožní lymfomy (Mycosis fungoides), lymfomy hlavy a krku, testikulární lymfomy vyskytující se v urogenitální oblasti, lymfomy prsu a kostí [35].

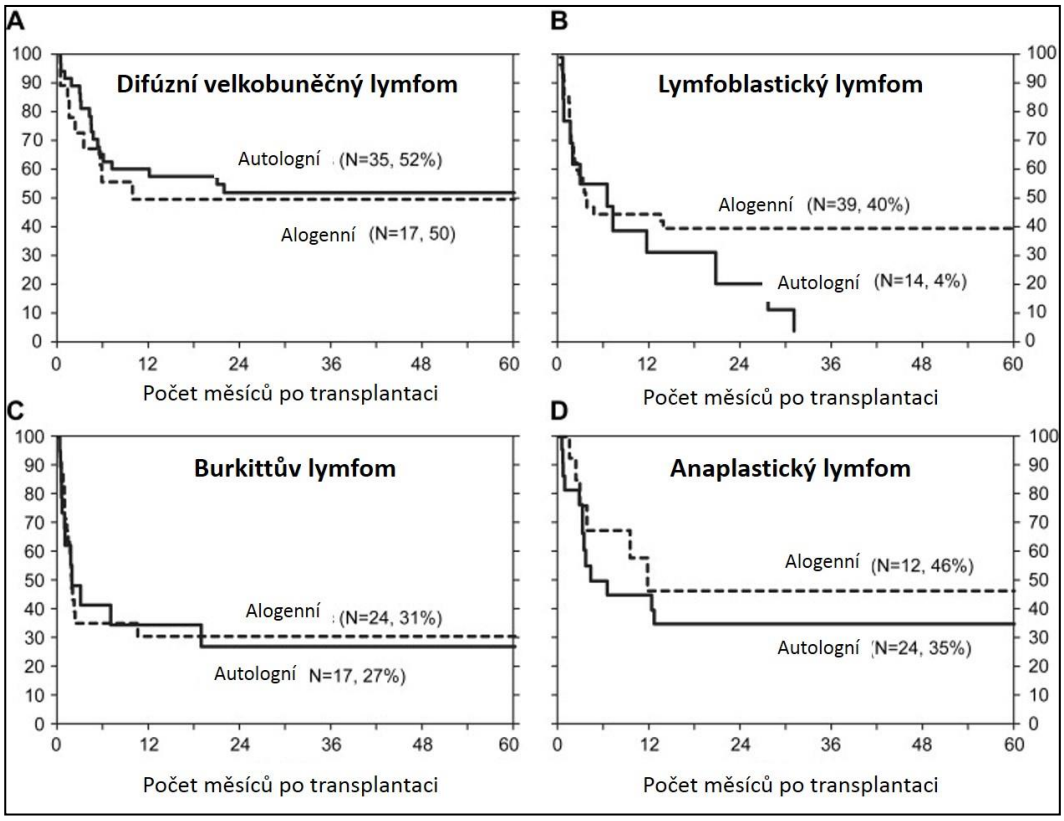
Úbytek hmotnosti (více než 10% původní váhy) je typický pro non – Hodgkinovy lymfomy. Na rozdíl od Hodgkinovy choroby mohou chybět systémové příznaky jako horečky a pocení. Zatímco u Hodgkinovy choroby převládá rozsev nádorových buněk cestou lymfogenní, u non – Hodgkinovy choroby je častější hematogenní generalizace. Klasifikace non – Hodgkinových lymfomů je velmi složitá. Existuje více než 40 definovaných typů těchto lymfomů. Určení konkrétního typu se provádí cytochemickým vyšetřením, určením morfologie, stanovením imunofenotypu patologických elementů a molekulárně biologickými metodami [30,35].

Nejčastější je dělení na lymfomy T a B. Tento systém třídění se nazývá jako klasifikace REAL (z anglického Revised European – American Lymphoma Classification). Mezi T – buněčné lymfomy patří leukémie dospělých (HTLV – 1+), angioimunoblastický T – lymfom, enteropatický lymfom, anaplastický velkobuněčný lymfom a další. B – buněčnými lymfomy jsou například lymfom z plášťových buněk a Burkittův lymfom. Pro léčbu je užitečnější dělení lymfomů na indolentní a agresivní. Indolentní průběh mají lymfomy s nízkým stupněm malignity, zatímco lymfomy s vysokým stupněm malignity mají agresivní průběh a bez léčby jeví velmi rychlou progresi. Chemoterapie je účinná pouze v kombinacích a jen u části nemocných má léčebný účinek [35].

Autologní transplantace kmenových buněk se u non – Hodgkinovy choroby využívá u pacientů s progresivním průběhem nemoci, nebo v případech, kdy remise neměla dlouhého trvání. Dalším důvodem pro léčbu pomocí autologní

transplantace může být rezistence k chemoterapii. U 25% nemocných dochází po tomto zákroku k nové kompletní remisi [30,35].

Níže uvedený Obrázek č. 8 srovnává alogenní a autologní transplantaci a jejich úspěšnost při léčbě Non-Hodgkinovy choroby.




**Obrázek č. 8: Pravděpodobnost opakovaného výskytu nebo zhoršení onemocnění po alogenní a autologní transplantaci u Non-Hodgkinovy choroby, převzato z: [38]**

## 7.2 Autoimunitní onemocnění

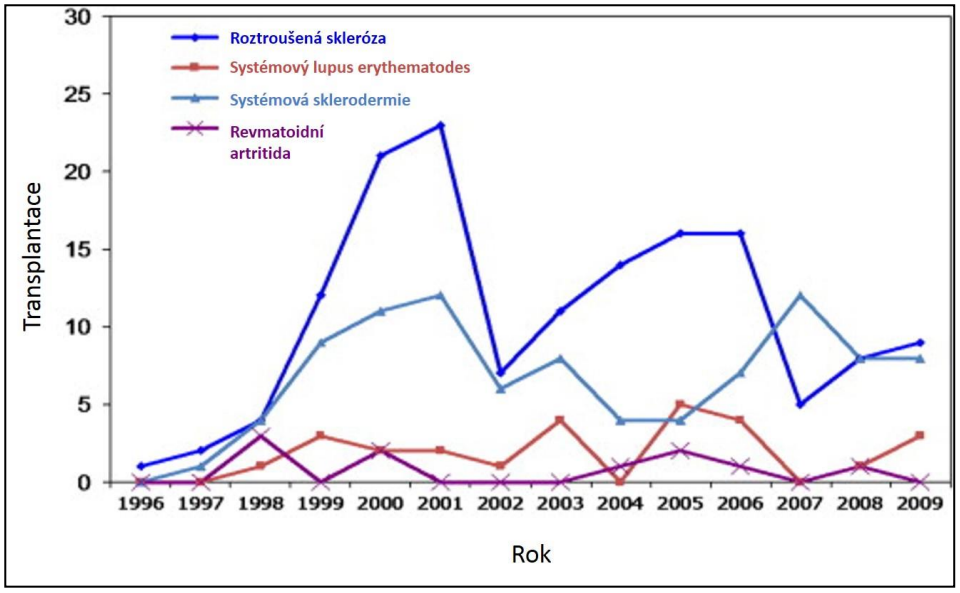
Autoimunitní onemocnění jsou choroby poškozující imunitní systém pacienta, který tvoří protilátky proti vlastním tkáním těla, které považuje za cizí. U autoimunitních onemocnění je narušena schopnost imunitního systému rozlišovat mezi cizím (vnějším) a vlastním. V důsledku toho dochází k nesprávné identifikaci nebezpečí, kdy imunitní systém považuje vlastní tkáně a orgány „za vetřelce“ a snaží se je zlikvidovat. Výsledkem takové imunity je útok sám na sebe, což vede ke vzniku nejrůznějších chorob. Může být poškozen jeden druh buněk, jeden celý orgán anebo dokonce několik orgánových systémů najednou [39].

Při vzniku autoimunitního onemocnění se uplatňují obě složky imunity: buněčná i protilátková. Způsobuje – li autoimunitní chorobu porucha buněčné imunity, dochází k napadení vlastních buněk T lymfocyty. Imunitní systém rozpoznává tyto buňky stejně jako by byly infikovány viry a snaží se je zničit. V případě poruchy protilátkové imunity produkují B lymfocyty protilátky namířené proti vlastním tkáním, tzv. autoprotilátky ničící vlastní tkáně místo boje proti bakteriím a jiným mikrobům [39].

Autologní transplantace kmenových buněk slouží při léčbě autoimunitních onemocněních jako podpůrná léčba, která pomáhá obnovit správnou funkci kostní dřeně – produkci zdravých buněk. Pokud kostní dřeň neprodukuje zdravé buňky, je porušena i imunita a vytváří se tak podmínky pro vznik autoimunitních onemocnění [39].

Indikací k provedení autologní transplantace kmenových buněk je závažný průběh autoimunitního onemocnění provázený opakovanými relapsy a remisemi, postupnou progresí nemoci a následným nevratným poškozením orgánů. U vysokého rizika úmrtí nebo při rychle postupujícím nevratném poškození orgánů by měla být provedena transplantace dříve, než dojde k nevratnému poškození či smrti [40].

Níže uvedený Obrázek č. 9 ukazuje počet jednotlivých autoimunitních onemocnění léčených pomocí autologní transplantace kmenových buněk v letech 1996 – 2009.




**Obrázek č. 9: Indikace autologní transplantace kmenových buněk u autoimunitních onemocnění v letech 1996 – 2009, převzato z: [41]**

### 7.2.1 Roztroušená skleróza

Roztroušená skleróza je onemocnění postihující jeden z nejdůležitějších orgánů – mozek. Nedochází k poškození žádných jiných orgánů. V centrálním nervovém systému dochází k nahromadění lymfocytů, které poškozují tukově – bílkovinný obal nervů (myelin). Lymfocyty atakují centrální nervový systém. V důsledku toho je narušena „elektrická izolace“ mezi nervovými buňkami a dochází k elektrickému zkratu. Pomocí magnetické rezonance lze zobrazit místa poškození [39].

U nemocných se objevují přechodné poruchy vidění, obrny a slabost v končetinách. Roztroušená skleróza probíhá v atakách lymfocytů a remisích [39].

Indikací k autologní transplantaci kmenových buněk u roztroušené sklerózy je relabující – remitentní fáze nemoci projevující se vysokou zánětlivou aktivitou, kdy se stav pacienta zhoršuje při prvních i dalších liniích standardní terapie. Pacienti s maligním průběhem roztroušené sklerózy (typ Marburg) mající v posledním roce těžký neurologický deficit a pacienti se sekundárním

progresivním typem roztroušené sklerózy, kdy je prokazatelná zánětlivá složka roztroušené sklerózy a k progresi neurologického deficitu došlo v posledním roce, jsou také doporučeni k tomuto léčebnému zákroku. Transplantace není doporučována u imobilních pacientů [40].

### 7.2.2 Systémový lupus erythematodes

Systémový lupus erythematodes je systémové onemocnění postihující více orgánů. Jedná se o poruchu protilátkové imunity, kdy má nemocný v krvi vysoké množství autoprotilátek útočících na vlastní buňky a tkáně [39].

Název onemocnění byl odvozen od typických změn na kůži obličeje. U nemocného dochází ke změnám zbarvení tváří, obličeje a nosu. Nemocný s touto chorobou připomíná vzhledem vlka, a proto se nemoc označuje lupus (latinské slovo znamenající v překladu vlk). K názvu lupus se přidává označení erytematodes popisující zarudlé vyrážky narůžovělé až červené barvy vyskytující se i na jiných částech těla než na obličeji. Nemocní mají typickou vyrážku na lících a kořeni nosu (tzv. motýlovitý raš), ta se může vyskytovat i na jiných částech těla ve formě malých červených skvrnek. K dalším příznakům choroby patří vypadávání vlasů až jejich úplná ztráta, vřídky v ústech podobné aftům, onemocnění kloubů, horečka jako znak zánětlivého procesu v organismu [39].

Toto autoimunitní onemocnění poškozuje více orgánů – ledviny, centrální nervovou soustavu, plíce a mnoho dalších. Postižení ledvin se u nemocných prokáže přítomností bílkoviny a krve v moči. Poškození ledvin je přítomné u více než 50% pacientů s touto chorobou. Poškození centrální nervové soustavy se projevuje bolestmi hlavy a epileptickými záchvaty. Při postižení plic pacient kašle a cítí dušnost [39].

Systémový lupus erythematodes má nepříznivý vliv i na krevní buňky. Může poškozovat všechny krevní elementy – červené krvinky, bílé krvinky a krevní destičky. Typickým obrazem onemocnění je anémie, zvětšení sleziny, nízký počet leukocytů, snížený počet krevních destiček (trombocytopenie) [39].

Zvláštním příznakem této autoimunitní choroby je tzv. Raynaudův fenomén charakterizovaný výrazně studenými prsty. Postihuje především mladé ženy. Při ponoření ledových prstů do studené vody na nich dochází ke změně barvy kůže z bílé po modrou až červenou barvu a v prstech cítí postižený značenou bolest.

Pokud se tento fenomén více rozvine, může dojít k výraznému zmenšení krevního průtoku prsty a vznikají drobné defekty na konečcích prstů. Fenomén se může objevit i u jiných autoimunitních onemocnění například u sklerodermie [39].

Indikací k autologní transplantaci kmenových buněk u této nemoci je odolnost vůči standardní terapii nebo u pacientů s těžkým orgánovým postižením [40].

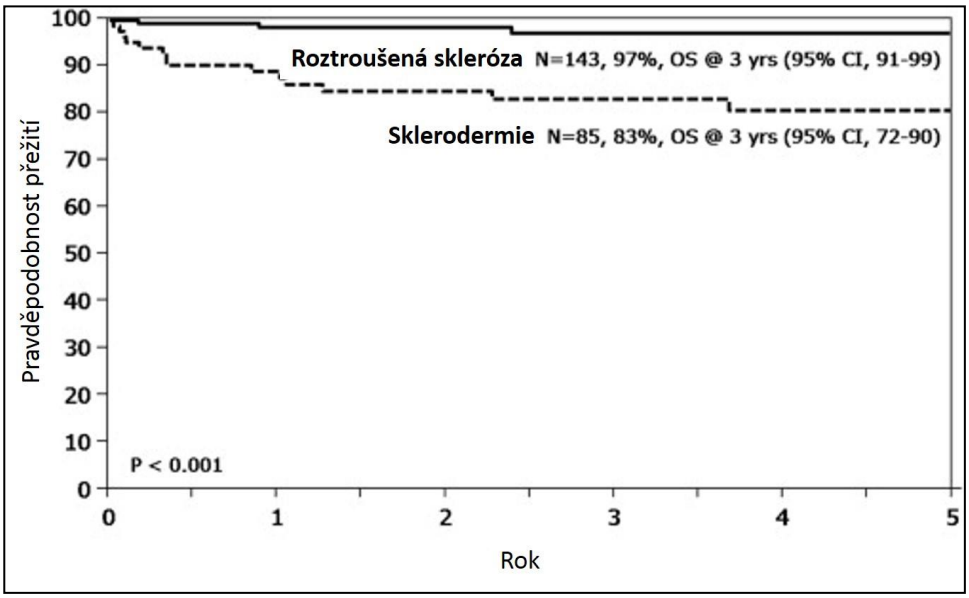
### 7.2.3 Systémová sklerodermie

Systémová sklerodermie je onemocnění poškozující více orgánů – zejména plíce a ledviny. Dochází k usazování fibrotického materiálu v kůži. V důsledku toho je kůže napnutá a nemocný nemůže plně otevřít ústa. Došlo k ztvrdnutí a ztluštění kůže. Tato choroba postihuje častěji ženy než muže [39].

Při tomto autoimunitním onemocnění je porušena protilátková imunita. Charakteristická je přítomnost autoprotilátek proti jaderným strukturám – tzv. extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA). U 40 % nemocných postižených touto chorobou je prokázána specifická autoprotilátka označující se jako anti Scl 70 a tvořící imunokomplex s enzymem zvaným topoizomeráza. Tento jaderný enzym se účastní vinutí kyseliny deoxyribonukleové (DNA) [39].

Indikací k autologní transplantaci kmenových buněk jsou pacienti refrakterní ke standardní léčbě. Autologní transplantací byl prokázán histologicky ověřený útlum kožní fibrózy. Po dlouhodobém sledování pacientů po tomto léčebném zákroku došlo k zlepšení jejich celkového stavu a ke stabilizaci plicní funkce [40].

Níže uvedený Obrázek č. 10 představuje úspěšnost léčby autologní transplantace kmenových buněk u roztroušené sklerózy a systémové sklerodermie.




**Obrázek č. 10: Celkové přežití po autologní transplantaci kmenových buněk u roztroušené sklerózy a systémové sklerodermie, převzato z: [42]**

## 7.3 Solidní nádory

Solidní nádory představují maligní onemocnění, pro která je typická tvorba ložisek v různých orgánech. Jsou viditelná pomocí zobrazovacího vyšetření (rentgen, ultrazvuk) nebo i v krajních případech pouhým okem a takovéto nádory je možné i nahmatat [43].

### 7.3.1 Karcinom prsu

Karcinom prsu patří mezi nejčastěji se vyskytující zhoubný nádor žen. Nádorové ložisko vzniká v prsní žláze, žena si jej může nahmatat sama jako nebolestivou bulku v prsu nebo je zjištěno při fyzikálním vyšetření lékařem. Pohmatem nezjistitelné léze lze identifikovat pomocí mamografického vyšetření [30].

Rakovina prsu patří mezi hormonálně dependentní nádory. Ženské hormony (především se jedná o estrogeny) indukují zvýšenou expresi některých růstových faktorů a patrně i onkogenů, jejichž produkty významně podněcují proliferaci buněk. Trvající vyšší estrogenní aktivita naruší rovnováhu mezi

proliferační a antiproliferační fyziologickou aktivitou působků ve prospěch proliferace [35,44].

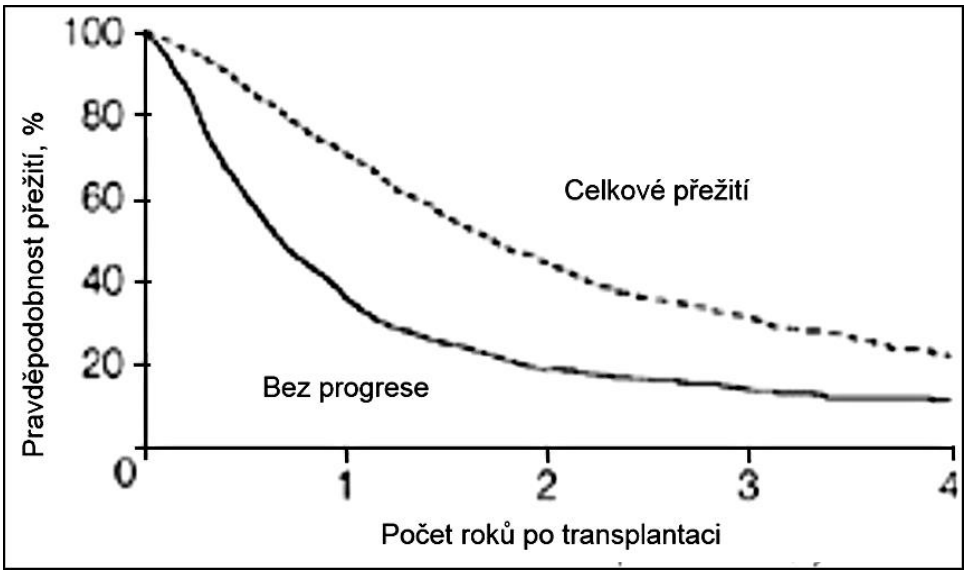
Mezi hlavní rizikové faktory vzniku karcinomu prsu patří dědičnost a věk. Čím vyšší věk, tím větší pravděpodobnost vzniku této rakoviny. K dalším rizikovým faktorům patří genetické, hormonální, nutriční faktory, obezita a nadbytek tuků v potravě a v neposlední řadě také vliv zevního prostředí [30].

Při zjišťování stupně pokročilosti onemocnění je nutné znát, kolik uzlin z celkového počtu odebraných a vyšetřených uzlin je infiltrováno nádorovými buňkami [44].

Mezi hlavní příznaky rakoviny prsu patří změna tvaru a velikosti prsu, změna tvaru bradavky a její vtažení, ekzém bradavky, výtok z bradavky, změna charakteru kůže prsu a jejího zbarvení, bolesti prsu, hmatná bulka v prsu či podpaží. Celkové příznaky jsou charakterizovány přítomností vzdálených metastáz. Nemocní cítí bolesti v kostech a nechutenství. Dochází k hmotnostnímu úbytku a pacient má zvýšenou teplotu [44].

Autologní transplantace kmenových buněk je indikována u žen s metastazujícím karcinomem prsu [32].

Níže uvedený Obrázek č. 11 zobrazuje úspěšnost léčby karcinomu prsu pomocí autologní transplantace kmenových buněk.




**Obrázek č. 11: Celkové přežití a progrese – přežití bez známek onemocnění u žen s metastatickým karcinomem prsu, které podstoupily autologní transplantaci kmenových buněk, převzato z: [45]**

# 8. Komplikace autologní transplantace kmenových buněk

Po transplantaci krvetvorných buněk často dochází k infekčním komplikacím v důsledku nedostatku imunokompetentních buněk. Jedná se nejčastěji o infekce bakteriální, plísňové a virové. Tyto infekce se nejčastěji vyskytují v době, než dojde k obnovení správné funkce kostní dřeně (v prvních dnech a týdnech po transplantaci). Pacient musí být z tohoto důvodu umístěn do sterilního pokoje, aby se nejvíce snížilo riziko infekce [29].

V časném posttransplantačním období trpí pacient nejen nedostatkem bílých krvinek, ale i krevních destiček a červených krvinek. Po transplantaci je tedy nutné nemocnému podávat transfuze erytrocytů a trombocytů [29].

Poškození jater, sliznice nebo kůže může být způsobeno toxicitou cytostatik podávaných při předtransplantační chemoterapii. Chemoterapie může způsobit také přechodnou nebo trvalou neplodnost. Cytostatika poškozují pohlavní žlázy. Poškození způsobená chemoterapií jsou rozmanitá a velmi často mají nevratný charakter [5].

U autologní transplantace kmenových buněk je možný návrat původního onemocnění, kdy vysokodávková chemoterapie nezničí všechny nádorové buňky a po transplantaci se choroba u nemocného po čase opět projeví. Návrat původní nemoci se snaží lékaři potlačit, nejčastěji další chemoterapií s následnou transplantací za účelem zničit všechny nádorové buňky a obnovit tak správnou funkci kostní dřeně [5].

# Závěr

Autologní transplantace kmenových buněk představuje léčebnou metodu, která má perspektivní uplatnění při léčbě hematoonkologických chorob, autoimunitních onemocněních a některých druhů solidních nádorů.

Hlavní výhodou tohoto léčebného zákroku je schopnost regenerace buněk poškozených chemoterapií. Tato podpůrná léčba zajistí obnovu poškozené krvetvorby a dává vyšší naději na přežití. Samotná chemoterapie zničí všechny krvetvorné buňky, včetně těch zdravých. Z tohoto důvodu je transplantace kmenových buněk za účelem obnovení krvetvorby vhodnou léčebnou metodou, která se pyšní vysokou úspěšností při léčbě řady chorob.

Další velkou výhodou autologní transplantace kmenových buněk je schopnost imunitního systému rozpoznávat transplantované buňky jako buňky tělu vlastní. Autologní transplantace je tedy bezpečnější pro pacienta než alogenní transplantace, která může mít nežádoucí účinky v případě výběru nevhodného dárce.

Přiložené grafy v mé práci u jednotlivých chorob dokazují vysokou úspěšnost léčby či zlepšení zdravotního stavu pacienta po autologní transplantaci kmenových buněk. Výjimku tvoří akutní lymfoblastická leukémie, u které je účinnější metodou léčby alogenní transplantace.

Autologní transplantace kmenových buněk by do budoucna mohla znamenat možné východisko při léčbě mnoha dosud nevyléčitelných nemocí.

# Seznam použité literatury

[1] Klener, P., Vorlíček, J., Adam, Z., Dufek, V., Elbl, L., Haber, J., Hájek, R., Janoušek, S., Král, Z., Kubešová, H., Mayer, J., Penka, M., Petruželka, L., Rechtoříková, O., Skřička, T., Skřičková, J., Ševčík, P., Tesař, V., Tomíška, M., Trněný, M., Vášová, I., Vyzula, R., Žaloudík, J. Podpůrná léčba v onkologii. Galén. ISBN: 80 – 902501 – 2 – 2. 1998. 119 – 123 p.

[2] Barry, F., Soukup, T. Utilisation of the mesenchymal stem cell receptome for rational development of uniform, serum – free culture conditions and tools for cell characterization. Projekt PurStem. National University of Ireland, Galway. 2013.
[cit. 2013-03-02]. Dostupné z:
<http://www.purstem.eu/cmsms/index.php?page=cz---introduction-to-stem-cells>

[3] Kučerová, A., Weislamplová, M., Jenyšová, R., Janoušek, S., Špinar, J. Buněčná terapie v kardiologii. Sestra. Koronární jednotka, Interní kardiologická klinika, FN Brno Bohunice. 2006. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: < http://zdravi.e15.cz/clanek/sestra/bunecna-terapie-v-kardiologii-278269>

[4] Shivanand, P. Stem cells technology: a tool for treatment of insulin deficiency in human. Stem cells 1. 2. 2010. 16 p. [cit. 2013-03-02]. Dostupné z: <http://www.globalresearchonline.net/volume1issue2/Article%20016.pdf>

[5] Mayer, J., Vorlíček, J., Kořístek, Z., Hoffová, V., Koutná, I., Navrátilová, D. Vysokodávkovaná protinádorová chemoterapie s transplantací krvetvorných buněk. Roche s.r.o. Brno. 1999. p. 18, 26. ISBN: 80-210-1573-X [cit. 2013-02-03].
Dostupné z: <http://www.fnbrno.cz/vysokodavkovana-protinadorova-chemoterapie/t1281>

[6] Procházková, R., Řehořová, L. Klinická transfuziologie pro všeobecné sestry. Technická univerzita v Liberci. 2010. ISBN: 978-80-7372-676-8. 105 p.

[7] Filip, S., Mokrý, J., Hruška, I. Kmenové buňky – biologie, medicína, filosofie. Galén. 2006. ISBN: 80 – 7262 – 401 – 6, 223 p.

[8] Slováček, L., Jebavý, L., Blažek, M., Kmoníček, M., Žák, P. Transplantace kostní dřeně – přehled základních pojmů, typy transplantací, indikace, vlastní provedení. Vojenské zdravotnické listy. LXXIV 3 – 4. 2005. 10 p. [cit. 2013-03-02].
Dostupné z: <http://www.pmfhk.cz/VZL/VZL%203_4_2005/005-Slov%C3%A1cek.pdf>

[9] Passweg, J., Halter, J., Bucher, Ch., Gerull, S., Heim, D., Rovó, A., Buser, A., Stern, M., Tichelli, A. Hematopoietic stem cell transplantation: a review and recommendations for follow-up care for the general practitioner. Behandlungszentrum Stammzelltransplantation, Basel University Hospital, Switzerland. 2012. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: <http://www.smw.ch/content/smw-2012-13696/>

[10] Passweg, JR., Baldomero, H., Gratwohl, A., Bregni, M., Cesaro, S., Dreger, P., De Witte, T., Farge-Bance, D., Gaspar, B., Marsh, J., Mohty, M., Peters, C., Tichelli, A., Velardi, A., Ruiz de Elvira, C., Falkenburg, F., Sureda, A., Madrigal, A., and for the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Special report The EBMT activity survey: 1990–2010. Bone Marrow Transplantation. 2012. 1–18 p.
Dostupné z:
<http://www.ebmt.org/Contents/Research/TransplantActivitySurvey/Documents/BMT_Activity%20Survey_2010.pdf>

[11] National Cancer Institute. Stem cell transplant (peripheral blood, bone marrow, and cord blood transplants). 2012. [cit. 2013-03-02].
Dostupné z
<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003215-pdf.pdf>

[12] Švojgrová, M., Koza, V., Hamplová, A. Transplantace kostní dřeně – průvodce Vaší léčbou. Nadace pro transplantace kostní dřeně. Plzeň. 2006. 127 p. ISBN: 80-903560-2-8

[13] Rood, JJ., Oudshoorn, M. Eleven million donors in Bone Marrow Donors Worldwide! Time for reassessment? Bone Marrow Transplant. 2008. 41, 1-9 p.

[14] Ústav histologie a embryologie. Kmenové buňky. 2013. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z:
<http://www.lfhk.cuni.cz/histologie/web/kmenove_bunky/kmenove_bunky.asp>

[15] Doubek, M. Kmenové buňky a onkologie. Interní hematoonkologická klinika FN a LF MU, Brno. Onkologická péče 2/08. 2008.
Dostupné z: < http://www.linkos.cz/files/onkologicka-pece/8/78.pdf>

[16] Silverman, E., Marino, G., Babchenko, O., Fuerst, N., Keefe, W., Weisberg, D. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 2007. [cit. 2013-03-02].
Dostupné z:
<http://biomed.brown.edu/Courses/BI108/BI108_2007_Groups/group03/index.html>

[17] National Cancer Institute. Chemotherapy Side Effects Sheets. 2013. [cit. 2013-03-02].
Dostupné z < http://www.cancer.gov/cancertopics/coping/chemo-side-effects>

[18] Klabusay, M., Suková, V., Kořístek, Z., Mayer, J., Vorlíček, J. Subpopulace CD34+ buněk a jejich význam pro přihojení štěpu u příbuzenských alogenních transplantací periferních kmenových buněk. Vnitřní lékařství. 53 (6). 2007. 646 – 651 p.
Dostupné z < http://www.prolekare.cz/pdf?ida=vl_07_06_05.pdf >

[19] Zhang, Ch., Chen, X., Zhang, X., Gao, L., Kong, P., Wang, Q., Peng, X., Liu, H. Mobilization of peripheral blood stem cells for autologous transplantation patients with hematological malignancies: Influence of disease, mobilization method, age and sex. Transfusion and Apheresis Science. 2008. 39:21 – 28 p.

[20] Řeháček. V., Masopust, J., Bohoněk, M., Čermáková, Z., Galuszková, D., Gašová, Z., Kovářová, P., Kracíková, J., Písačka, M., Procházková, R., Tesařová, E., Turek, P. Transfuzní lékařství. Grada Publishing a.s. Praha. 2013. ISBN: 978-80-247-4534-3. 239 p.

[21] Flomenberg, M., Comenzo, R., Badel, K., Calandra, G. Plerixafor (Mozobil®) Alone to Mobilize Hematopoietic Stem Cells from Multiple Myeloma Patients for Autologous Transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2010. 16: 695–700 p.

[22] Kasow, K., Sims-Poston, L., Eldridge, P., Hale, G. CD34+ Hematopoietic Progenitor Cell Selection of Bone Marrow Grafts for Autologous Transplantation in Pediatric Patients. Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2007. 13:608-614 p.

[23] Lužná, P., Kylarová, D., Novák, M., Lichnovský, V. Hematopoietic Stem Cell Separation for Experimental Purposes – Metodic Limitations, Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2009. 153 (2): 121 – 124 p.

[24] Cetkovský, P. Mobilizace hematopoetických kmenových buněk a možné postupy u tzv. obtížně mobilizovatelných nemocných. Klinická onkologie. 1999. 12 3/99. p. 91 – 96.
Dostupné z: <http://www.linkos.cz/files/klinicka-onkologie/52/1119.pdf>

[25] University of Basel. Stem cells. Uni nova research magazine.121. 2013. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z:
<http://www.unibas.ch/doc/doc_download.cfm?uuid=7E792EA5BA91EB551AEF86A39E2E66C4&&IRACER_AUTOLINK&&>

[26] Mayo Clinic. A Tradition of Leadership. 2013. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: <http://mayoresearch.mayo.edu/hematologic_malignancies/>

[27] LeBrun, D. Concepts in Hematological Malignancy. Faculty of Health Sciences, Qeen´s University. 2009. 34 p.
Dostupné z:
<http://meds.queensu.ca/medicine/deptmed/hemonc/lectures/concepts/slides.pdf>

[28] Stewart, C., Stewart, S. Clinical immunophenotyping by flow cytometry. Med TechNet Online Services. East Amherst, NY. 1995. 13 p.
Dostupné z: <http://www.medtechnet.com/public_pdf/mtc13.pdf>

[29] Vorlíček, J., Abrahámová, J., Vorlíčková, H. Klinická onkologie pro sestry. Grada Publishing, a.s. 2012. ISBN: 978 – 80 – 247 – 3742 – 3, 380 –401 p.

[30] Petruželka, L., Konopásek, B. Klinická onkologie. Karolinum. 2003. ISBN: 80 – 246 – 0395 – 0, 98 – 106 p.

[31] Ghavamzadeh, A., Alimoghaddam, K., Ghaffari, F., Derakhshandeh, R., Jalali, A., & Jahani, M. Twenty Years of Experience on Stem Cell Transplantation in Iran. Iranian Red Crescent Medical Journal, 15(2), 93. 2013. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: <http://ircmj.com/?page=article&article_id=1915>

[32] Saba, N., Abraham, R., Keating, A. Overview of autologous stem cell transplantation. Critical Reviews in Oncology/Hematology 36. 2000. 27–48 p.

[33] Česká onkologická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. Lymfomy (C81-85). 2013. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: <http://www.linkos.cz/diagnozy/lymfomy-c81-85/>

[34] Lymphoma association. Autologous stem cell transplant. 2011. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z:
<http://www.lymphomas.org.uk/sites/default/files/pdfs/Autologous%20stem%20cell%20transplant%20booklet.pdf>

[35] Klener, P., Klinická onkologie. Galén. ISBN: 80 – 7262 – 151 – 3, Karolinum. 2002. ISBN: 80 – 246 – 0468 – X, str. 565 – 602

[36] Ghavamzadeh, A., Alimoghaddam, K., Ghaffari, F., Derakhshandeh, R., Jalali, A., & Jahani, M. Twenty Years of Experience on Stem Cell Transplantation in Iran. Iranian Red Crescent Medical Journal, 15(2), 93. 2013. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: <http://ircmj.com/?page=article&article_id=1915>

[37] Ghavamzadeh, A., Alimoghaddam, K., Ghaffari, F., Derakhshandeh, R., Jalali, A., & Jahani, M. Twenty Years of Experience on Stem Cell Transplantation in Iran. Iranian Red Crescent Medical Journal, 15(2), 93. 2013. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: <http://ircmj.com/?page=article&article_id=1915>

[38] Gross, T.G., Hale, G.A., He, W., Camitta, B.M., Sanders, J.E., Cairo, M.S., Hayashi, R.J., Eapen, M. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Refractory or Recurrent Non-Hodgkin Lymphoma in Children and Adolescents. Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2010. 16 (2) , 223-230 p. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: < http://www.bbmt.org/article/PIIS1083879109004443/abstract>

[39] Shoenfeld,Y., Fučíková, T., Bartůňková, J. AUTOIMUNITA Vnitřní nepřítel. Grada Publishing, a.s. 2007. ISBN: 978 – 80 – 247 – 2044 – 9, 8 – 11, 77 p.

[40] Pohlreich, D. Transplantace krvetvorných buněk u nenádorových onemocnění v dospělém věku. Postgraduální medicína. Mladá fronta a.s. Praha 4. 2012. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/transplantace-krvetvornych-bunek-u-nenadorovych-onemocneni-v-dospelem-veku-467141>

[41] Pasquini, M. C., Voltarelli, J., Atkins, H. L., Hamerschlak, N., Zhong, X., Ahn, K. W., ... & Nash, R. A. Transplants for Autoimmune Diseases in North and South America: A Report of the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR). Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2012. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: < http://www.bbmt.org/article/S1083-8791(12)00237-6/abstract>

[42] Pasquini, M. C., Voltarelli, J., Atkins, H. L., Hamerschlak, N., Zhong, X., Ahn, K. W., ... & Nash, R. A. Transplants for Autoimmune Diseases in North and South America: A Report of the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR). Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2012. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: < http://www.bbmt.org/article/S1083-8791(12)00237-6/abstract>

[43] Česká onkologická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. Solidní nádor. 2013. [cit. 2013-03-02]
Dostupné z: <http://www.linkos.cz/slovnicek/solidni-nador/>

[44] Prausová, J. Karcinom prsu – problém i v 21. století. Radioterapeuticko-onkologické oddělení FN v Motole a 2. LF UK v Praze. Interní Med.; 12(1). 2010. 26–32 p.
Dostupné z: <http://www.solen.cz/pdfs/int/2010/01/05.pdf>

[45] Rowlings, P. A., Williams, S. F., Antman, K. H., Fields, K. K., Fay, J. W., Reed, E., ...& Horowitz, M. M. Factors correlated with progression-free survival after high-dose chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation for metastatic breast cancer. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, *282*(14). 1999. 1335-1343 p.