Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Terapeutické hemaferézy

Veronika Teclová

Bakalářská práce

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: **2016/2017**

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Veronika Teclová**
Osobní číslo:	**C14349**
Studijní program:	**B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor:	**Zdravotní laborant**
Název tématu:	**Terapeutické hemaferézy**
Zadávající katedra:	**Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování:

1. Nastudovat literární údaje týkající se krve a krevních derivátů a metod pro selektivní odběr součástí krve: složení krve, přehled krevních derivátů a jejich využití - ÚVOD.
2. Nastudovat recentní literární údaje týkající se terapeutické hemaferézy - typy výkonů, typy přístrojů, indikace a klinické využití, speciální léčebné metodiky.
3. Nastudovat recentní literární údaje týkající se léčebné aferézy - současný stav v klinické praxi a současné pokroky v oblasti vývoje a výzkumu.
4. Vše přehledně zpracovat, doplnit obrázky a schémata. Z nastudovaných informací nastínit nové možnosti využití léčebné afarézy.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **28. listopadu 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **7. července 2017**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.

prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, 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.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice

V Pardubicích dne 30. 6. 2017

…….

Veronika Teclová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala prof. RNDr. Zuzaně Bílkové, Ph.D. za odborné vedení, pomoc a rady při zpracování této bakalářské práce.

ANOTACE

Práce je věnována problematice terapeutických hemaferéz. Jsou zde popsány jednotlivé typy hemaferetických výkonů včetně popisu používaných přístrojů a postupů jednotlivých výkonů. Také jsou v práci uvedeny indikace terapeutických hemaferéz v klinické praxi.

KLÍČOVÁ SLOVA

hemoterapie, aferézy, imunoadsorpce, extrakorponální fotoferéza, separátory, centrifugace

TITLE

Therapeutical hemapheresis

ANNOTATION

The work is focused on the issue of therapeutical hemapheresis. There are described individual types of hemapheretics performances, including a description of the instruments and procedures of individual performance. The work also mentioned the indications of therapeutical hemapheresis in clinical practice.

KEYWORDS

hemotherapy, apheresis, immunoadsorption, extracorporeal photopheresis, separators, centrifugation

OBSAH

ÚVOD 12

1 VYMEZENÍ ZÁKLADNÍCH POJMŮ 13

1.1 Krev 13

1.1.1 Krevní plazma 14

1.1.2 Krevní buňky 16

1.1.3 Hemopoéza 19

1.2 Hemoterapie 20

1.2.1 Krevní transfuze 20

1.2.2 Krevní deriváty vs. transfuzní přípravky 20

1.2.3 Hemaferéza 21

2 TERAPEUTICKÉ HEMAFERETICKÉ VÝKONY 22

2.1 Depleční výkony 22

2.1.1 Erytrocytaferéza 22

2.1.2 Leukocytaferéza 23

2.1.3 Trombocytaferéza 23

2.2 Výměnné výkony 24

2.2.1 Výměnná terapeutická plazmaferéza 24

2.2.2 Výměnná erytrocytaferéza 25

2.3 Speciální výkony 25

2.3.1 Imunoadsorpce 25

2.3.2 Hemorheoferéza 28

2.3.3 Extrakorporální fotoferéza 28

3 INSTRUMENTACE, PROVEDENÍ VÝKONŮ 29

3.1 Instrumentace 29

3.1.1 Centrifugační separátory 29

3.1.2 Filtrační separátory 30

3.1.3 Porovnání separátorů Haemonetics MCS+ a Spectra Optia 31

3.2 Provedení hemaferetických výkonů 32

3.2.1 Depleční výkony 32

3.2.2 Výměnné výkony 33

3.2.3 Imunoadsorpce 34

3.2.4 Hemorheoferéza 35

3.2.5 Extrakorporální fotoforéza 36

4 HEMAFEZÉZA V KLINICKÉ PRAXI 37
4.1 Erytrocytaferéza 37
4.1.1 Polycytemie 37
4.1.2 Hereditární hemochromatóza 38
4.2 Leukocytaferéza 38
4.2.1 Akutní myeloidní leukémie 38
4.2.2 Akutní lymfoblastická leukémie 39
4.2.3 Chronická myeloidní leukémie 39
4.3 Trombocytaferéza 40
4.3.1 Esenciální trombocytemie 40
4.4 Výměnná plazmaferéza 40
4.4.1 Kryoglobulinémie 40
4.4.2 Guillain-Barré syndrom 41
4.5 Výměnná erytrocytaferéza 41
4.5.1 Srpkovitá anémie 41
4.6 Imunoadsorpce 42
4.6.1 Familiární hypercholesterolemie 42
4.7 Hemorheoferéza 42
4.7.1 Věkem podmíněná degenerace makuly 42
4.8 Extrakorporální fotoforéza 43
4.8.1 Kožní T-lymfomy 43
5 HEMAFERÉZA V ČASE 44
5.1 Objevy v oblasti instrumentace 44
5.2 Organizace a registry pro terapeutické aferézy 45
5.3 Četnost hemaferetických procedur 45
6 ZÁVĚR 48
7 SEZNAM ZDROJŮ 49

SEZNAM ILUSTRACÍ, TABULEK A GRAFŮ

Obrázek 1: Krevní obraz – světelný mikroskop, zvětšení 300x 13
Obrázek 2: Erytrocyty – skenovací elektronový mikroskop, zvětšení 5 000x 16
Obrázek 3: Neutrofily před (vlevo) a po (vpravo) aktivaci - skenovací elektronový mikroskop, zvětšení 4 000x 17
Obrázek 4: Aktivovaný trombocyt - rastovací elektronový mikroskop, zvětšení 4 000x ... 18
Obrázek 5: Hemopoéza: vývojová stádia krevních elementů 19
Obrázek 6: Rozdělená krev po centrifugaci bez hustotního gradientu 30
Obrázek 7: Detail membránové filtrace krve 30
Obrázek 8: Separátor Haemonetics MCS+ 31
Obrázek 9: Separátor Spectra Optia 31
Obrázek 10: Schéma deplečních hemaferetických výkonů 32
Obrázek 11: Schéma výměnných hemaferetických výkonů 33
Obrázek 12: Schéma provedení imunoadsorpce 34
Obrázek 13: Schéma provedení hemorheoferézy 35
Obrázek 14: Schéma provedení fotoforézy 36
Obrázek 15: Lathamův zvon 44

Tabulka 1: Nejvýznamnější ionty krevní plazmy 14
Tabulka 2: Nejvýznamnější bílkoviny plazmy. 15
Tabulka 3: Koagulační faktory obsažené v plazmě 15
Tabulka 4: Diferenciální rozpočet leukocytů 18
Tabulka 5: Extrakorporální metody eliminace LDL cholesterolu. 27
Tabulka 6: Porovnání parametrů separátorů při výměnné plazmaferéze 31
Tabulka 7: Počet provedených hemaferéz ve Francii, 2007 – 2014 46

Graf 1: Celkový počet provedených výměnných plazmaferéz v Kanadě dle CAG 46
Graf 2: Počet výměnných plazmaferetických procedur v kategoriích dle původu léčeného onemocnění v roce 1984 a 2014 47
Graf 3: Počet výkonů výměnné plazmaferézy ve vybraných indikacích 47

SEZNAM ZKRATEK

ALL	akutní lymfoblastická leukémie
AML	akutní myeloidní leukémie
Apo B	apoprotein B
CML	chronická myeloidní leukémie
CIDP	chronická zánětlivá demyelinizační polyneuropatie (z angl. Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy)
CTCL	kožní T-lymfomy (z angl. Cutaneous T-Cell Lymphoma)
DALI	přímá adsorpce lipproteinů (z angl. Direct Adsorption of Lipids)
EBV	virus Epstein-Barrové
ECP	extrakorporální fotoferéza (z angl. Extracorporeal Photopheresis)
ERY	erytrocyty
ET	esenciální trombocytémie
FH	familiární hypercholesterolemie
FSGS	fokálně segmentální glomeruloskleróza (z angl. Focal Segmental Glomerulosclerosis)
GBS	syndrom Guillain-Barré
GVHD	reakce štěpu proti hostiteli (z angl. Graft Versus Host Disease)
HELP	heparinem indukovaná extrakorporální LDL precipitace
HH	hereditární hemochromatóza
ISFA	Mezinárodní společnost pro aferézu (z angl. International Society for Apheresis)
LEU	leukocyty
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě (z angl. Low Density Lipoprotein)
MG	myasthenia gravis
MNC	mononukleární buňky (z angl. Mononuclear Cells)
PV	pravá polycytemie
RCE	výměnná erytrocytaferéza (z angl. Red Cell Exchange)
SOTR	rejekce transplantovaného orgánu (z angl. Solid Organ Transplant Rejection)
SPA	stafylokokový protein A
TPE	terapeutická výměnná plazmaferéza (z angl. Therapeutic Plasma Exchange)
TRO	trombocyty

TTP	trombotická trombocytopenická purpura
VEGF	vaskulární endotelový růstový faktor (z angl. Vascular Endothelial Growth Factor)
VPMD	věkem podmíněná degenerace makuly
WAA	Světová aferetická asociace (z angl. World Apheresis Association)
WAR	Světový aferetický registr (z angl. World Apheresis Registry)
8-MOP	8-metoxypsoralen

ÚVOD

Důležitost krve, jako tělní tekutiny nutné pro život, si lidé začali uvědomovat již od dávného starověku. Její zázračné účinky byly zkoušeny ve formě koupelí pro věčné mládí a vitalitu nebo přímo její konzumací. S první metodou prosazovanou za léčebnou, ale přišel až Galén ve druhém století. Galén používal léčebné metody venesekce neboli pouštění žilou, která se velmi rychle ujala a po mnoho století byla využívána jako hlavní léčba všech neduhů. Není, však jisté kolika pacientům skutečně pomohla a kolika z nich jen uspíšila smrt.

S postupem času a novými poznatky, jako například s objevem krevního oběhu nebo později krevních skupin, se i hemoterapie vyvíjela a nyní je nedílnou součástí zdravotnictví. Každý zná pojem krevní transfuze a mnozí se stali i dárci krve. Co, ale ne každý zná, je léčba formou terapeutických hemaferéz. Co to hemaferéza je? Jak tato léčba probíhá? Jaké nemoci pomáhá léčit? S tím vším vás seznámí následující stránky této práce.

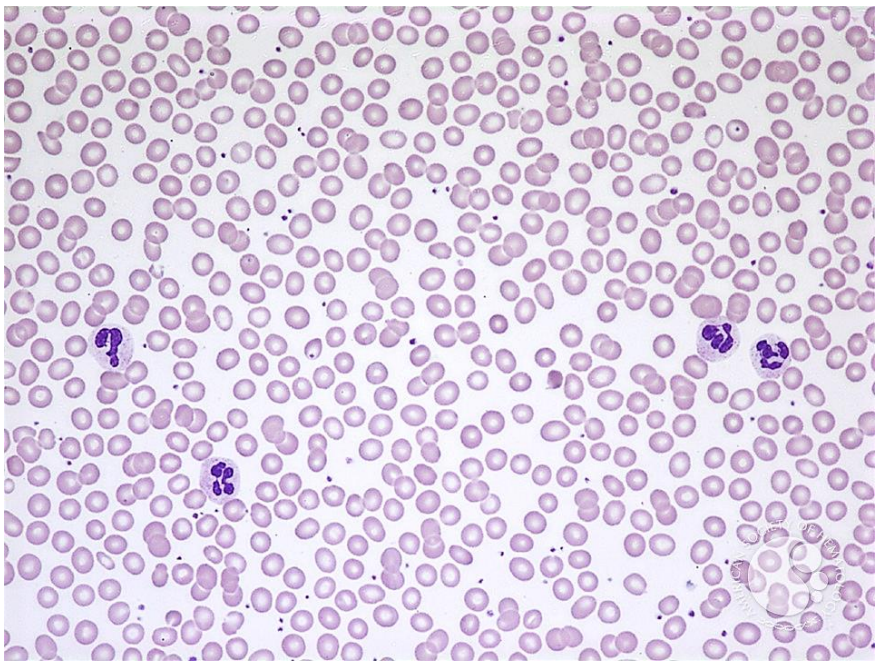
1 VYMEZENÍ ZÁKLADNÍCH POJMŮ

1.1 Krev

Krev je základní součást vnitřního prostředí organismu. Mezi její hlavní funkce patří:

- transport O_2, CO_2, hormonů, vitamínů, živin, produktů metabolismu a dalších,
- termoregulace,
- pufrování - udržení stálého pH, acidobazické rovnováhy,
- udržování stálosti vnitřního objemu,
- hemostáza, hemokoagulace,
- obranná funkce - účast při imunitních reakcích.

Je to viskózní suspenze složená z kapalné plazmy a buněčných elementů - erytrocyty, leukocyty, trombocyty. Celkový objem krve je závislý na tělesné hmotnosti jedince v průměru lze u žen přepokládat 3,6 l a u mužů 4,5 l [1].



Obrázek 1: *Krevní obraz - světelný mikroskop, zvětšení 300x* (1)

1.1.1 Krevní plazma

Krevní plazma tvoří tekutou část krve, je to nažloutlý vodný roztok bílkovin a dalších organických i anorganických látek. U dospělého člověka odpovídá objem plazmy 5% tělesné hmotnosti tj. přibližně 2,8 - 3,5 l [2].

Plazma vs. sérum

Rozdíl mezi plazmou a sérem je ve způsobu získávání a mírně odlišném složení. Plazma se získává z nesrážlivé krve, proto jsou při odběru nutná antikoagulancia např. EDTA, heparin nebo citrát sodný. Oproti tomu sérum se získává ze sražené krve a na rozdíl od plazmy neobsahuje srážecí faktory.

Složení plazmy

Plazmu z 90 % tvoří voda, 7 % proteiny a zbytek tvoří rozpuštěné soli. Nejdůležitější anorganické látky a plazmatické bílkoviny jsou shrnuty v následujících tabulkách (viz Tabulky 1 - 3).

Tabulka 1: *Nejvýznamnější ionty krevní plazmy* [2].

Iont	**Koncentrace v plazmě [mmol/l]**	**Význam**
Na^+	136 - 148	Udržování osmotického tlaku, stálého objemu a pH
K^+	3,7 - 5,0	Dráždivost svalů a nervů
Ca^{2+}	2,15 - 2,61	Nervosvalový přenos, hemokoagulace, druhý posel
Mg^{2+}	0,66 - 0,94	Aktivace enzymů, tlumivé účinky na nervovou dráždivost
Cl^-	95 - 110	Udržování osmolality, stálého objemu a pH, žaludeční šťávy
P	0,6 - 1,4	Udržování pH
HCO_3^-	22 - 26	Transport CO_2, udržování pH

Tabulka 2: *Nejvýznamnější bílkoviny plazmy* [3].

Frakce	**Bílkovina**	**Koncentrace v séru [g/l]**	**Význam**
Albuminy	Prealbumin	0,2 - 0,4	Transport thyroxinu
	Albumin	35 - 53	Transport lipofilních látek
α_1	Antitrypsin	0,9 - 2,0	Inhibitor trypsinu, antiproteinasa
	Kyselý glykoprotein	0,5 - 1,2	Regulace imunitní odpovědi
α_2	Haptoglobin	0,3 - 2,0	Vychytávání volného hemoglobinu
	Ceruloplazmin	0,2 - 0,6	Vychytávání mědi
	Makroglobulin	1,3 - 3,0	Inhibitor proteáz, transport zinku
β_1	Transferin	2,0 - 3,6	Vychytávání a transport volného železa
β_2	C3 složka komplementu	0,8 - 1,4	Součást komplementu
γ	IgG	7,0 - 18,0	Pozdní protilátky
	IgM	0,6 - 5,0	Časné protilátky

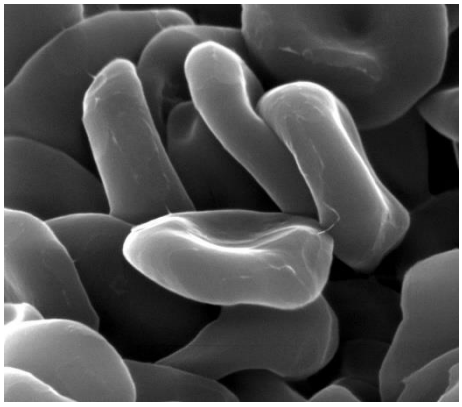
Tabulka 3: *Koagulační faktory obsažené v plazmě* [1].

Koagulační faktor	**Název**
I	Fibrinogen
II	Protrombin
III	Tkáňový tromboplastin
IV	Ionty Ca^{2+}
V	Proakcelerin
VII	Prokonvertin
VIII	Antihemofilní faktor A
IX	Christmasův faktor - antihemofilní faktor B
X	Stuartův-Prowerův faktor
XI	Plazmatický předchůdce tromboplastinu (PTA)
XII	Hagemanův faktor
XIII	Fibrin stabilizující faktor
	Von Willebrandův faktor
	Vysokomolekulární kininogen (HMWK)
	Prekalikrein (PKK)

1.1.2 Krevní buňky

Erytrocyty

Červené krvinky neboli erytrocyty jsou bezjaderné buňky typického bikonkávního tvaru, díky kterému je zvětšen povrch buňky až o 30 % oproti kouli. Tento tvar je ideální pro výměnu plynů mezi krvinkami a tkáněmi.



Obrázek 2: *Erytrocyty – skenovací elektronový mikroskop, zvětšení 5 000x* (2)

Velikost typického erytrocytu tzv. normocytu je v průměru 7,4 μm, pokud je jeho velikost menší než 6,7 μm nazýváme ho mikrocytem, pokud nad 7,7 μm makrocytem. Objem erytrocytu se pohybuje mezi 75 - 95 fl [2]. Jejich počet je odlišný u mužů, kteří mají 4,0 - 5,8x10^{12}/l, a u žen, kde se počet pohybuje mezi 3,8 - 5,2 x10^{12}/l [4]. V případě zvýšení počtu erytrocytů nad fyziologické rozmezí hovoříme o erytrocytóze. V opačném případě, při snížení, o erytrocytopenii.

Životnost erytrocytů v periferní krvi je 120 dní. Po uplynutí této doby staré erytrocyty pronikají do sleziny, kde jsou destruovány a poté fagocytovány [1].

Energii erytrocyty získávají výhradně glykolýzou, je pro ně tedy nezbytně nutná dostatečná hladina glukózy v krvi.

Složení erytrocytů

60 % erytrocytu tvoří voda. 40 % sušina, která je až z 96% tvořena hemoglobinem.

Hemoglobin je červené krevní barvivo, jehož molekula se skládá ze čtyř podjednotek. Každá podjednotka je tvořena polypeptidovým řetězcem - globinem a hemem. Hem obsahuje

protoporfyrin IX s navázaným iontem Fe^{2+} nezbytným pro vazbu molekuly kyslíku. Množství hemoglobinu u mužů je 135 - 170 g/l, u žen 120 - 158 g/l krve [2].

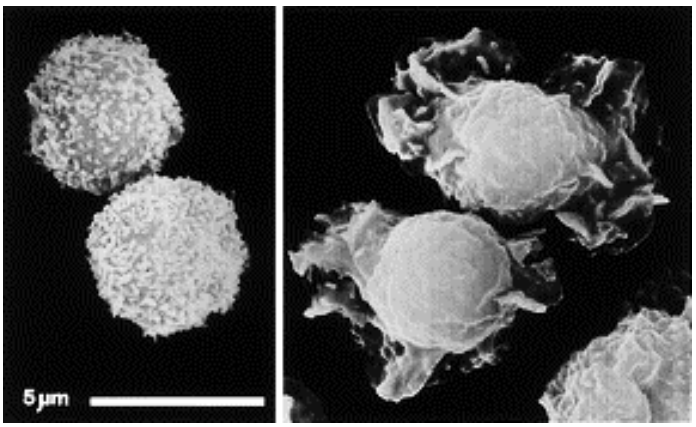
Mezi další důležité látky patří bisfosfoglycerát, který ve zvýšeném množství snižuje afinitu hemoglobinu ke kyslíku a usnadňuje tedy uvolňování kyslíku do tkání. Glutathion brání erytrocyty před oxidačním poškozením a methemoglobin reduktázy zase brání oxidaci Fe^{2+} na Fe^{3+}.

Membrána je tvořena vláknitými lipoproteiny a glykoproteiny a díky membránovým proteinům je spojena s cytoskeletem. V membráně jsou také vázány skupinové antigeny AB0 a Rh systému.

Leukocyty

Leukocyty jsou na rozdíl od erytrocytů jaderné buňky. Jsou to mobilní jednotky obranného systému, pro které je krev transportním médiem pro rozvádění do tkání a orgánů.

Životnost leukocytů se liší, podle jednotlivých typů, od několika dní až po celý život (paměťové buňky). Počet leukocytů se fyziologicky pohybuje mezi 4 - $10x10^9$/l [4]. Zvýšený počet je označován jako leukocytóza, snížený počet leukocytopenie.



Obrázek 3: *Neutrofily před (vlevo) a po (vpravo) aktivaci - skenovací elektronový mikroskop, zvětšení 4 000x* (3)

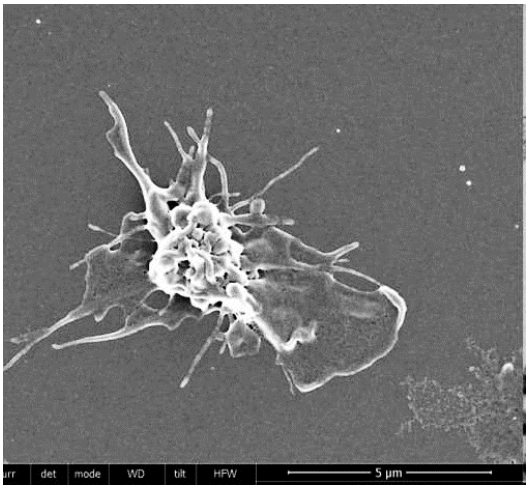
Podle toho, zda obsahují sekundární barvitelná granula, se rozdělují na granulocyty a agranuocyty. Mezi granulocyty patří neutrofily, eozinofily a bazofily. Lymfocyty a monocyty se řadí mezi agranulocyty, protože neobsahují sekundární granula. Fyziologické hodnoty diferenciálního rozpočtu leukocytů jsou uvedeny v Tabulce 4.

Tabulka 4: *Diferenciální rozpočet leukocytů* [2].

Leukocyt	**Počet [%]**	**Vlastnosti**	**Význam**
Neutrofil	57 - 67	Jádro: 2-5 segmentů	Fagocytóza
Eozinofil	1 - 3	Jádro: 2 segmenty spojené můstkem chromatinu, cihlově červená granula	Alergické reakce
Bazofil	0 - 1	Segmentované jádro, překryté tmavou bazofilní granulou	Alergické reakce
Monocyt	3 - 8	Nehomogenní ledvinovité jádro, vakuoly	Prekurzor makrofágu
Lymfocyt	24 - 40	Jádro: kondenzované, zabírá 90% buňky	B-ly: protilátky T-ly: buněčná imunita

Trombocyty

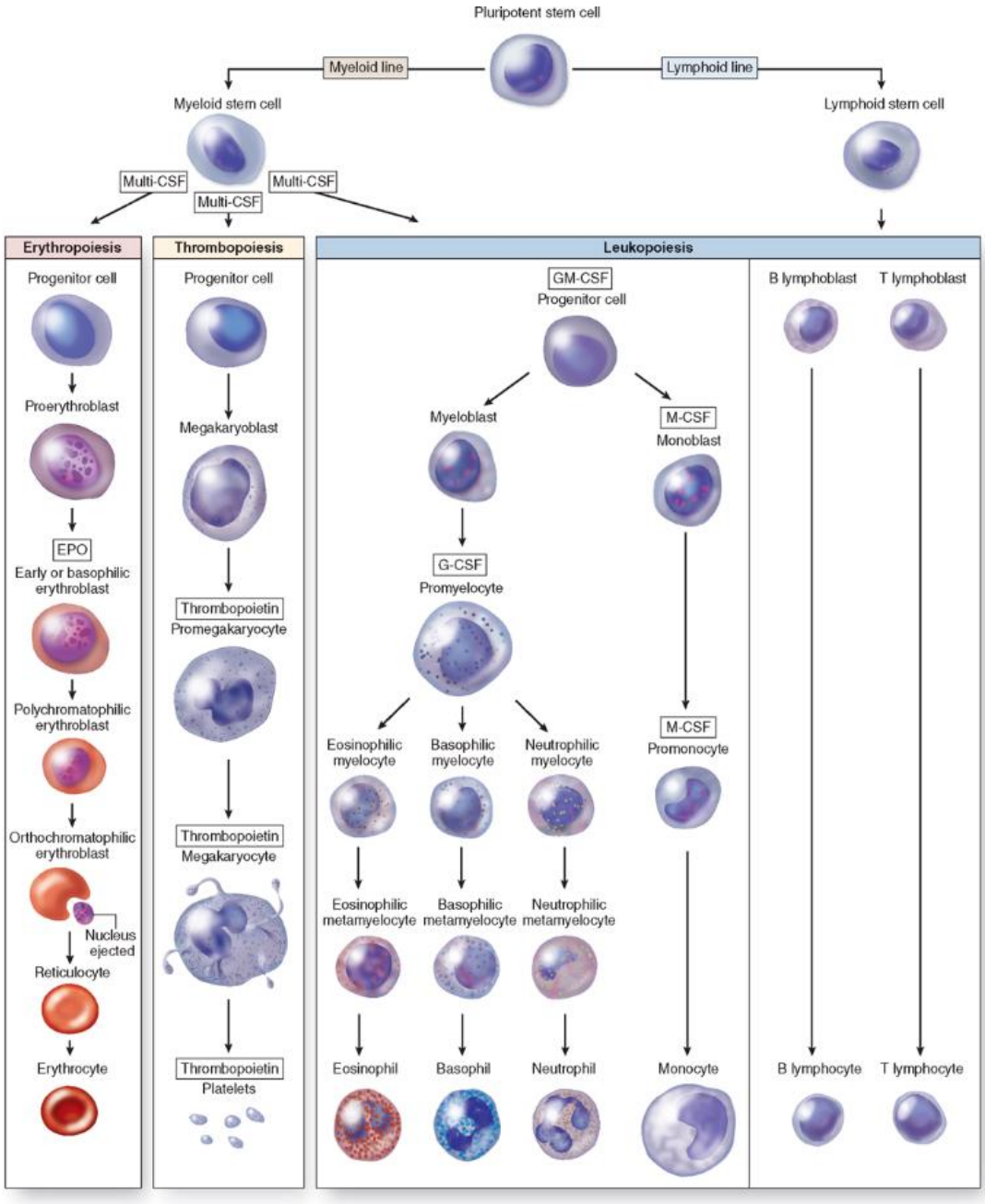
Trombocyty jsou bezjaderné krevní fragmenty (viz Obrázek 4), které vznikají zráním megakaryocytů v kostní dřeni. Jejich hlavní funkce je v zástavě krvácení (hemostáze), kdy se trombocyty v místě poranění aktivují, adherují na odhalený kolagen a vysíláním pseudopodií vytvářejí bílý trombus, který uzavře krvácející cévu. Životnost trombocytu je 7 - 10 dní. Počet v periferní krvi 150 - 350x10^9/l [4]. V případě zvýšení počtu dochází k trombocytóze, při snížení k trombocytopenii.



Obrázek 4: *Aktivovaný trombocyt - rastovací elektronový mikroskop, zvětšení 4 000x* (4)

1.1.3 Hemopoéza

Hemopoéza je proces tvorby krve, kdy se z pluripotentních buněk diferencují jednotlivé krevní elementy o dané funkci. Postnatálně probíhá v kostní dřeni, prenatálně v závislosti na stupni vývoje ve žloutkovém vaku, slezině nebo játrech. Jednotlivé vývojové řady krevních elementů včetně vývojových stádií jsou uvedeny v následujícím schématu (viz Obrázek 5).



Obrázek 5: *Hemopoéza: vývojová stádia krevních elementů* (5)

1.2 Hemoterapie

Hemoterapie je typ léčby, kdy se nahrazuje složka krve, která je snížená nebo má nedostatečnou funkci. Léčba je prováděna procesem, krevní transfuze pomocí transfuzních přípravků nebo krevních derivátů. Cíl hemoterapie je, co nejvyšší léčebný efekt při minimálním riziku.

1.2.1 Krevní transfuze

Krevní transfuze je proces, při kterém je převáděna plná krev, plazma, krevní elementy nebo krevní deriváty od dárce do krevního oběhu příjemce. Při převodu musí být splněna kompatibilita krevní skupiny v AB0 a Rh systému. V opačném případě může dojít k posttransfuzní reakci, která může končit i smrtí pacienta.

Indikace podání krevní transfuze je při:

- zvýšené ztrátě krve např. při těžkých úrazech, porodech nebo operacích;
- krevních onemocnění - anémie, hemofilie, trombocytopenie a další;
- nádorových onemocnění, některých imunodeficitech, chronických onemocnění jater nebo ledvin apod.

Z hlediska původu transfuzních přípravků lze transfuzi rozdělit na alogenní, kdy transfuzní přípravek pochází od jiného člověka (dárce) a autologní, kdy je pacientovi transfundována jeho vlastní krev. U autologní transfuze odpadá riziko posttransfuzní reakce z důvodu inkompatibilní krve, je používána u plánovaných operací.

1.2.2 Krevní deriváty vs. transfuzní přípravky

Krevní deriváty jsou vyráběny farmaceutickými firmami z plazmy mnoha dárců. Mezi krevní deriváty patří koagulační faktory, fibrinogen, albumin a imunoglobuliny. Oproti tomu transfuzní přípravky připravuje transfuzní službou na dané transfuzní stanici z krve pouze jednoho dárce. Do transfuzních přípravků se řadí plná krev, erytrocytární masa, čerstvě zmražená plazma a trombokoncentrát.

1.2.3 Hemaferéza

Hemaferéza je metoda, při které se krevní složky separují podle specifické hmotnosti. Požadovaná složka krve je odstraněna a zbývající krev je navrácena zpět do oběhu pacienta popřípadě dárce. Pokud je hemaferéza použita k výrobě transfuzních přípravků jedná se o tzv. dárcovskou hemaferézu. Druhým typem je hemaferéza terapeutická, ta je využívána jako léčebná metoda, kdy je cílem snížit obsah zmnožených krevních elementů nebo patologických komponent krevní plazmy [5].

Terapeutická hemaferéza je tématem bakalářské práce a bude podrobněji rozebrána v následujících kapitolách.

2 TERAPEUTICKÉ HEMAFERETICKÉ VÝKONY

Jak bylo zmíněno výše terapeutická hemaferéza je proces, při kterém je odstraněna daná zvýšená nebo patologická složka krve [6]. Tyto složky mohou být dle potřeby nahrazeny roztoky koloidů, krystaloidů popřípadě plazmou od dárce. Samotná hemaferéza nevede k vyléčení onemocnění, pouze zlepšuje klinický stav pacienta, tím že oddaluje nebo eliminuje komplikace onemocnění [7].

Terapeutické hemaferézy lze podle typu výkonu rozdělit na depleční, výměnné a speciální. Depleční i výměnné výkony patří dnes mezi běžně prováděné výkony [8].

2.1 Depleční výkony

Při deplečních výkonech jsou zmnožené složky krve odstraňovány z cirkulace pacienta. Umožňují tedy snížit obsah patologicky zmnožených elementů. Podle druhu zmnoženého krevního elementu rozlišujeme erytrocytaferézu, leukocytaferézu, trombocytaferézu [9]. Depleční výkony jsou nejčastěji indikovány v situacích, kdy je potřeba rychle snížit počet zmnožených elementů. V případě leukocytaferézy se jedná o počet leukocytů vyšší než $100x10^9$/l, u trombocytaferézy nad $1500x10^9$ trombocytů na litr krve [7].

2.1.1 Erytrocytaferéza

Depleční erytrocytaferéza je metoda, kterou lze odstranit velkou část objemu erytrocytární masy cirkulující v krevním oběhu. Objem odstraněných erytrocytů je různý a závisí na několika počátečních parametrech při vstupním vyšetření pacienta a na požadované cílové hodnotě těchto parametrů, obvykle ale nepřesahuje 1000 ml. Mezi tyto parametry lze zařadit: celkový objem krve, hodnota hematokritu a hodnota hemoglobinu. Na rozdíl od terapeutické venepunkce nedochází k rychlému poklesu krevního objemu ani ztrátám plazmatických bílkovin, trombocytů a granulocytů [10].

Cílem této metody je snížit zmnožený obsah červených krvinek a tím snížit i hodnoty hematokritu, upravit hyperviskozitu krve a zlepšit perfuzi tkání [11].

Erytrocytaferéza je indikována nejen u zmnožení erytrocytů, ale také při nadbytku železa. Mezi onemocnění, u kterých je tato metoda indikována jsou nejčastěji zařazovány polycytemie, a to jak primární polycytemie neboli pravá polycytemie, tak polycytemie sekundární [10]. Dále sem patří onemocnění způsobená chronickým přetížením železem jako například hereditární hemochromatózy nebo sekundární hemosiderózy [7].

2.1.2 Leukocytaferéza

Leukocytaferéza je terapeutická metoda, při níž jsou z krve odstraňovány zmnožené leukocyty. V případě zmnožení leukocytů nad hranici je možné pozorovat syndrom leukostázy a hyperviskozitu. Tyto syndromy zapříčiňují orgánové dysfunkce, může docházet k tkáňovým ischemiím, infarktům, plicním a krvácivým komplikacím nebo poruchám centrálního nervového systému [6].

Tuto metodu lze rozdělit na leukocytaferézy terapeutické a profylaktické. Terapeutické leukocytaferézy jsou indikovány u pacientů s jasnými symptomy leukostázy nebo hyperviskozity a zmnožením leukocytů nad $100x10^9$/l. Profylaktické mají význam u asymptomatických pacientů s akutní myeloidní leukémií a leukocyty nad $100x10^9$/l nebo u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií s počtem leukocytů nad $400x10^9$/l. Důvodem indikace jsou těžko předvídatelné komplikace a závažný průběh možných symptomů onemocnění [7].

U terapeutické leukocytaferézy je snaha snížit obsah leukocytů opakováním metody na cílovou hodnotu alespoň $50x10^9$/l. Během jednoho výkonu je předpokládaný pokles leukocytů o 30 - 60 % v závislosti na rychlosti hemopoézy pacienta [11].

Kromě zmíněné akutní myeloidní leukémie a akutní lymfoblastické leukémie se leukocytaferéza provádí i u pacientů s chronickou myeloidní leukémií [12].

2.1.3 Trombocytaferéza

Trombocytaferéza je terapeutický výkon, jejímž cílem je redukce obsahu zmnožených trombocytů v cirkulaci nemocného, s počtem trombocytů nad $1500x10^9$/l. Výkon se provádí z preventivních důvodů proti trombotickým nebo krvácivým stavům, a to především u pacientů s myeloproliferativním onemocněním, kdy lze trombocytózu ovlivnit jen těžko nebo

u esenciální trombocytemie, dále u pacientů s pravou polycytémií nebo po splenektomii s projevem sekundární trombocytózy [7].

Cílem u trombocytaferézy je snížit počet krevních destiček na $600x10^9$/l. Během jednoho výkonu je předpokládaný pokles destiček o 30 - 60 % [11].

2.2 Výměnné výkony

V průběhu výměnných hemaferetických výkonů se z krve pacienta odebírají velké objemy plazmy nebo erytrocytů. Během výkonů je nahrazen 1 - 2 násobek celkového plazmového, popřípadě erytrocytárního objemu. Při odebrání tak velkého objemu krve je nutné chybějící složku krve nahradit plazmou nebo erytrocyty od dárců, případně roztoky koloidů nebo albuminem [11]. Cílem výměnné hemaferézy je odstranění patologických komponent z krevní cirkulace [7].

2.2.1 Výměnná terapeutická plazmaferéza

Výměnná terapeutická plazmaferéza umožňuje odstranění patogeneticky aktivně působících elementů, jako jsou autoimunitní protilátky, aloprotilátky, cirkulující imunokomplexy, paraproteiny apod., z cirkulace nemocného. V průběhu výkonu jsou zároveň s patologickými částmi odebírány i fyziologické součásti krve jako elektrolyty a vysokomolekulární látky – plazmatické bílkoviny, lipidy, enzymy a další. Proto je nutné plazmu v průběhu výkonu nahrazovat, a to buď čerstvě zmraženou plazmou od zdravého dárce, nebo koloidním roztokem albuminu s příměsí krystaloidů [7, 13].

Autoři Fencl, Seeman a kol. [13] uvádí v časopise *Česko-slovenská pediatrie* následující tři předpoklady pro provedení smysluplné terapeutické plazmaferézy. Prvním z nich je existence známé nebo alespoň předpokládané patologické komponenty krevní plazmy, která způsobuje dané onemocnění. Dále je to schopnost odstranění dané patologické složky v takovém množství, že její koncentrace zřetelně poklesne. A konečně, předpoklad, že se plazmatická hladina patologické komponenty nebude rychle obnovovat.

Léčebná výměnná plazmaferéza má široké využití, je indikována při renálních, hematologických, revmatologických, metabolických i neurologických onemocnění. Mezi konkrétní choroby lze zařadit například Crohnovu chorobu, trombotickou trombocytopenickou

purpuru, hemolyticko-uremický syndrom, kryoglobulinémii, Goodpastureův syndrom, Guillaina-Barré syndrom, familiární hypercholesterolémii a další [14].

2.2.2 Výměnná erytrocytaferéza

Výměnná erytrocytaferéza spočívá v odstranění velkého objemu masy červených krvinek, které jsou patologicky postižené. Tyto krvinky, které neplní svou fyziologickou funkci, jsou poté nahrazeny krvinkami od zdravého dárce. Nejvhodnější jsou transfuzní přípravky červených krvinek, které jsou vyrobené do 7 dnů od odběru [11].

Tento výkon je indikován u pacientů se srpkovitou anémií a malárií, kde byl potvrzen jeho přínos. Cílem u srpkovité anémie je snížit počet počáteční hodnoty patologických erytrocytů na 25 - 30 %, což je možné uskutečnit již během jednoho výkonu. Opakované výkony se provádí u chronických stádií a je snaha snižovat hladinu hemoglobinu S na 30 - 50 % [7].

2.3 Speciální výkony

2.3.1 Imunoadsorpce

Imunoadsorpce funguje na principu chromatografie. K selektivní imunoadsorpci se používá protilátka, na kterou se váže jen daná patologická složka. Nebo naopak je vyvazován patologický imunoglobulin. Nejčastěji jsou z krevní plazmy odstraňovány imunoglobuliny a jejich části nebo cirkulující komplexy [15]. Tyto patologické části jsou odstraněny, a to bez nežádoucí eliminace plazmatických bílkovin, minerálů a dalších fyziologických součástí krve. Díky navrácení fyziologických komponent zpět do krevního oběhu není nutné podávat substituční roztoky koloidů nebo plazmu od dárců. Z tohoto důvodu lze říci, že je imunoadsorpce efektivnější a především šetrnější než výměnná plazmaferéza [13].

V současné době je imunoadsorpce používána jako součást léčby autoimunitních onemocnění. Příkladem může být myasthenia gravis, roztroušená skleróza, revmatoidní artritida, dilatační kardiomyopatie a další. Možnost využití je také u humorální rejekce štěpu při orgánových transplantacích [16].

Podle vazby patogenní složky na adsorbent lze imunoadsorpci rozdělit na neselektivní, semiselektivní a selektivní.

Neselektivní adsorpce

Neselektivní adsorpce využívá neselektivní adsorbenty, které váží danou část bílkovin, pouze na základě fyzikálně-chemických vlastností. Princip reakce je založen na hydrofobní chromatografii, která využívá například vlastností syntetické pryskyřice. Tato pryskyřice je složena z polyvinylalkoholu, které představuje nosič a na něj je kovalentně navázán adsorbent – tryptofan nebo fenylalanin. Další možností je využití dextransulfátu navázaného na celulózový nosič. [13].

Výhodou oproti výměnné plazmaferéze je malá schopnost vázat albumin a transferin. Zároveň je tato metoda nenáročná, ale je používána pouze v naléhavých situacích, a to pro odstranění revmatoidního faktoru, anti-DNA nebo antifosfolipidových protilátek. Značnou nevýhodou je jednorázové použití a samozřejmě malá specifita pro imunoglobuliny. V České republice dokonce není využívána vůbec [17].

Semiselektivní imunoadsorpce

U semiselektivní imunoadsorpce je využíván princip afinitní chromatografie. Semiselektivní adsorbenty váží pouze imunoglobuliny. Mezi takové adsorbenty patří sepharóza nebo oxid křemičitý s navázaným stafylokokovým proteinem A (SPA) na povrchu a protilátky proti lidským imunoglobulinům (nejčastěji polyklonální ovčí protilátky) vázané opět na sepharózu [7]. Stafylokokový protein A dokáže specificky vázat Fc fragment imunoglobulinu G, protože má nejvyšší afinitu právě k protilátkám typu IgG. Jedná se zde o interakci na základě biospecifického párování. Protilátky proti lidským imunoglobulinům mají oproti SPA větší rozsah, dobře váží všechny typy protilátek i jejich fragmenty a také cirkulující imunokomplexy [13].

Hlavní výhodou semiselektivních metod je obnovitelnost, tedy opakovatelné využití kolon. V České republice jsou tyto metody používány především k léčbě onemocnění myasthenia gravis. [13,17]

Selektivní imunoadsorpce

Ideální případ eliminace patogenní komponenty je selektivní imunoadsorpce, kdy jsou využity specifické adsorbenty vázající pouze jednu danou složku. Nejčastější, a v ČR v podstatě jediné používané, jsou specifické adsorbenty pro léčbu LDL-aferézou (viz LDL- aferéza s imunoadsorpcí) [17].

LDL-aferéza

LDL–aferéza byla původně popsána jako selektivní imunoadsorpční metoda, později se pod tento pojem shrnuli všechny (i neimunoadsorpční) metody, které extrakorporálně odstraňují LDL cholesterol [18]. Všechny tyto aktuální metody jsou zobrazeny v Tabulce 5.

Tabulka 5: *Extrakorporální metody eliminace LDL cholesterolu*, upraveno dle [19].

Systém	redukce LDL cholesterolu	Zpracovávaná část krve
Imunoadsorpce	80 - 90 %	Plazma
Dvojitá filtrace plazmy	60 - 70 %	Plazma
Dextransulfát	57 - 65 %	Plazma
Heparinem indukovaná precipitace (HELP)	67 %	Plazma
Přímá adsorpce lipproteinů (DALI)	61 %	Plná krev
Dextransulfát – přímá adsorpce	62 %	Plná krev

LDL-aferéza s imunoadsorpcí

LDL-aferéza s imunoadsorpcí je založena na skutečnosti, že LDL cholesterol obsahuje apoprotein B (Apo B). Principem je tedy reakce antigen - protilátka. Kde antigenem je daný Apo B na povrchu lipoproteinové částice a protilátkou je polyklonální ovčí protilátka proti lidskému Apo B, kovalentně navázaná na nosič - sepharózu [20].

Nejprve musí být na separátoru přes membránu oddělena plazma od buněčných elementů. Poté dochází k samotné reakci s protilátkou v koloně. Kolona je dále promývána pufrem a fyziologickým roztokem, aby došlo k uvolnění Apo B z imunokomplexu [19]. Kolona může být používaná pro daného pacienta opakovaně až po dobu 9 měsíců, při opakování procedury v intervalu 1 - 15 měsíců [20].

LDL-aferéza nepatří mezi léčebnou metodu první volby, ale má vysoké procento úspěšnosti [19]. Indikuje se ve vážných případech, a to u homozygotů s familiární hypercholesterolemií, heterozygotní familiární hypercholesterolemie s onemocněním koronálních tepen a u pacientů se zvýšeným lipoproteinem (a), když nereagují na farmakoléčbu [21].

2.3.2 Hemorheoferéza

Hemorheoferéza je v podstatě spojení hemaferézy s lékařskou rheologií. Rheologie je obor, který studuje krevní fluiditu, především u patologických poruch mikrocirkulace. Synonymem pro hemorheoferézu je dvojitá filtrace plazmy, kdy první separace probíhá centrifugací a druhá filtrací (viz kapitola 3.2.4) [22].

Cílem této metody je eliminace vysokomolekulárních proteinů (např. fibrinogen, LDL cholesterol, imunoglobulin M, α-makroglobulin, von Willebrandův faktor a další), které nejvíce ovlivňují fluiditu krve. Tím se sníží viskozita krve, a zároveň je zabráněno agregaci erytrocytů [23].

Mezi onemocnění, u kterých hemorheoferéza prokazatelně zlepšuje stav pacienta, patří suchá forma věkem podmíněná degenerace makuly. Dále lze indikovat v řadě diabetických komplikací jako je například tzv. diabetická noha nebo diabetická nefropatie, nebo při akutní nedoslýchavosti [22].

2.3.3 Extrakorporální fotoferéza

Extrakorporální fotoferéza (ECP) je imunomodulační terapie, ovlivňuje tedy reaktivitu imunitního systému, ale nezpůsobuje imunosupresi. Metoda spočívá v kombinaci hemaferézy, konkrétně leukocytaferézy, a ozáření UV zářením. Po takovém ozáření dochází ke zkřížení vazeb mezi pyrimidinovými bázemi a následné inhibici syntézy DNA a zástavě proliferace buněk. Důsledkem je apoptóza ozářených buněk (viz kapitola 3.2.5) [24].

ECP technika může fungovat v tzv.. „in-line“ nebo „off-line“ systému. „In-line“ funguje jako jedna uzavřená jednotka, kde dochází k oddělení bílých krvinek, pomocí diskontinuálního nebo kontinuálního průtokového separátoru, a zároveň k jejich ozáření. U „off-line“ systému jsou 2 oddělené instrumentace, jedna k separaci leukocytů, druhá k jejich ozáření. Aktuálně patří „off-line“ metoda ECP mezi účinnější, kvůli vyššímu záchytu mononukleárních buněk [25].

Indikace k ECP je u všech imunitních onemocnění, kde jsou patogenicky působícími buňkami T- lymfocyty. Metoda je úspěšně aplikována při léčbě kožních T-lymfomů, dále se začala používat u systémové sklerodermie, akutní i chronické GVHD nebo rejekci štěpu po orgánových transplantacích [25,11].

3 INSTRUMENTACE, PROVEDENÍ VÝKONŮ

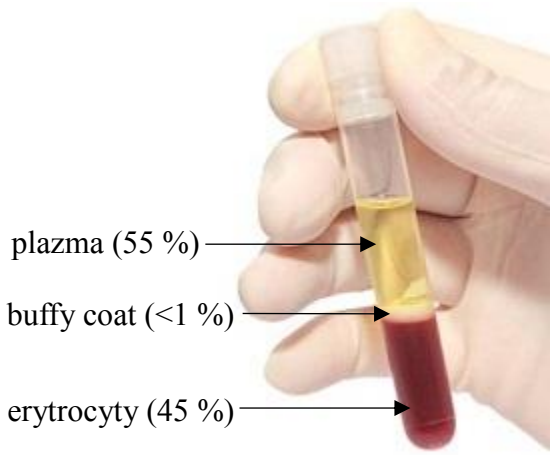
3.1 Instrumentace

Separátory používané pro terapeutické hemaferézy se nijak neliší od těch pro hemaferézu dárcovskou. Ve skutečnosti se jedná o tentýž přístroj, pouze je nastaven typ protokolu na léčebnou aferézu [10]. Tyto separátory rozdělují plnou krev na jednotlivé krevní komponenty. Nejčastěji pracují na principu centrifugace. Další možností je membránová filtrace, která je obvykle používána u metody terapeutické výměnné plazmaferézy. Případně lze využít kombinaci obou, což je typické pro hemorheoferézu [9].

Přístroje mohou pracovat dvěma principy. Prvním je diskontinuální způsob, kde je pouze jeden žilní vstup a krev je sbírána a zpracována po částech. Krev je tedy pacientovi odebírána pouze z jedné žíly v intervalech asi po 200 ml. Následně je krev rozdělena na jednotlivé části a požadovaná komponenta je odstraněna. Zbytek krve je pak stejnou žilou vracen zpět. Druhý způsob je kontinuální**,** v tomto případě se jedná většinou o dvoužilní přístup (je možnost i jednožilního), kdy je periferní krev odebírána z jedné žíly a po separaci se vrací do žíly na druhé ruce. Tento způsob pracuje kontinuálně, zároveň je tedy krev odebírána i vracena do těla pacienta [26].

3.1.1 Centrifugační separátory

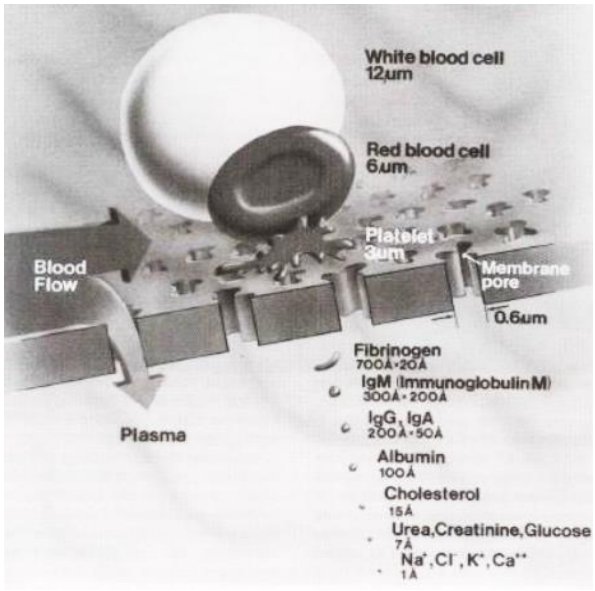
Na přístrojích, které pracující na principu centrifugace, je krev rozdělena podle specifické hmotnosti jednotlivých komponent při 3000 - 7000 otáčkách [27]. Jde tedy v podstatě o urychlenou sedimentaci. Plná krev je poté rozdělena na vrstvu erytrocytů, které mají největší specifickou hmotnost, dále je frakce trombocytů a leukocytů, tzv. „buffy coat“ a nakonec plazma. Výhodou centrifugace je schopnost oddělení i jednotlivých krevních buněk ve vrstvě trombocyto-leukocytární frakce. Případně je možné rozdělit i leukocyty na granulocyty a mononukleáry (MNC), a to pomocí centrifugace v hustotním gradientu, například v prostředí Ficoll. Takto rozdělené vrstvy, je pak možné jednoduše odsát [22].



Obrázek 6: *Rozdělená krev po centrifugaci bez hustotního gradientu* (6)

3.1.2 Filtrační separátory

V technice filtrace je plná krev čerpána na propustnou membránu s póry o dané velikosti. Membrána tedy propustí pouze ty částice krve, které mají požadovanou velikost. Filtrační metoda je používána především u výměnné plazmaferézy, kde jsou póry velké asi 0,2 - 0,4 μm. Tato velikost pórů umožní propuštění i vysokomolekulárních plazmatických bílkovin, které jsou spolu s plazmou odstraněny. Naopak ostatní krevní buňky membránou neprojdou a jsou čerpány zpět do žíly pacienta [13].



Obrázek 7*: Detail membránové filtrace krve* (7)

3.1.3 Porovnání separátorů Haemonetics MCS+ a Spectra Optia

Příkladem diskontinuálního (intermitentního) separátoru je Haemonetics MCS+. Výhodou tohoto separátoru je především jeho malá velikost, která umožňuje s přístrojem pohodlně manipulovat a přenášet ho [28]. Mezi zástupce pracující na kontinuálním principu lze zařadit separátor Spectra Optia, respektive jeho předchůdce Cobe Spectra.

V časopise *Journal of Clinical Apheresis* porovnává autorka Catherine Lambert se svými kolegy právě tyto dva typy krevních separátorů při výměnné terapeutické plazmaferéze. Srovnání jasně ukazuje lepší výsledky, ať už z hlediska délky trvání výkonu nebo efektivity plazmaferézy, u separátoru Spectra Optia [29]. Porovnání jednotlivých parametrů je uvedeno v Tabulce 6.

Tabulka 6: *Porovnání parametrů separátorů při výměnné plazmaferéze*, upraveno dle [29].

Měřený parametr	**Haemonetics MCS+**	**Spectra Optia**
Čas výkonu	148 min	82 min
Nahrazený objem plazmy	2456 ml	2323 ml
Průtok	17 ml/min	30 ml/min
Efektivita plazmaferézy	80 %	83,2 %

Z uvedeného srovnání je zřejmé, že kontinuální separátory pracují rychleji, a to kvůli dvoužilnímu přístupu. Na druhou stranu je u kontinuálních separátorů nutné použít větší množství antikoagulačních roztoků, což může způsobit nežádoucí komplikace během procesu [29, 30].

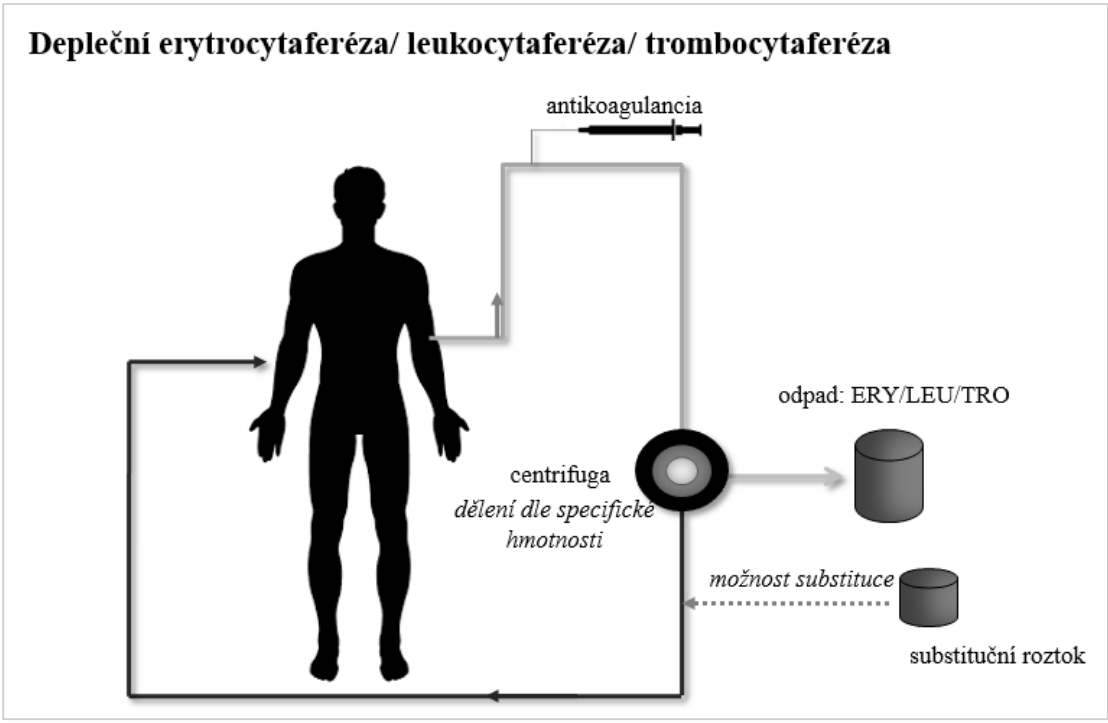
Obrázek 8: *Separátor Haemonetics MCS+* (8)

Obrázek 9: *Separátor Spectra Optia* (9)

3.2 Provedení hemaferetických výkonů

3.2.1 Depleční výkony

Při deplečních výkonech, tedy erytro-, leuko- a trombocytaferéze, je na začátku odebíraná krev mísena s antikoagulačním roztokem, nejčastěji citrátem sodným. Dále je krev čerpána do centrifugy, kde je rozdělena podle specifické hmotnosti daných komponent na plazmu, erytrocyty, leukocyty, trombocyty. Dle typu výkonu je požadovaná zmnožená složka odstraněna, ostatní složky jsou navráceny do cirkulace pacienta. Odebrané krevní ztráty je možné nahradit 0,9% roztokem NaCl nebo 5% roztokem albuminu [6, 10].

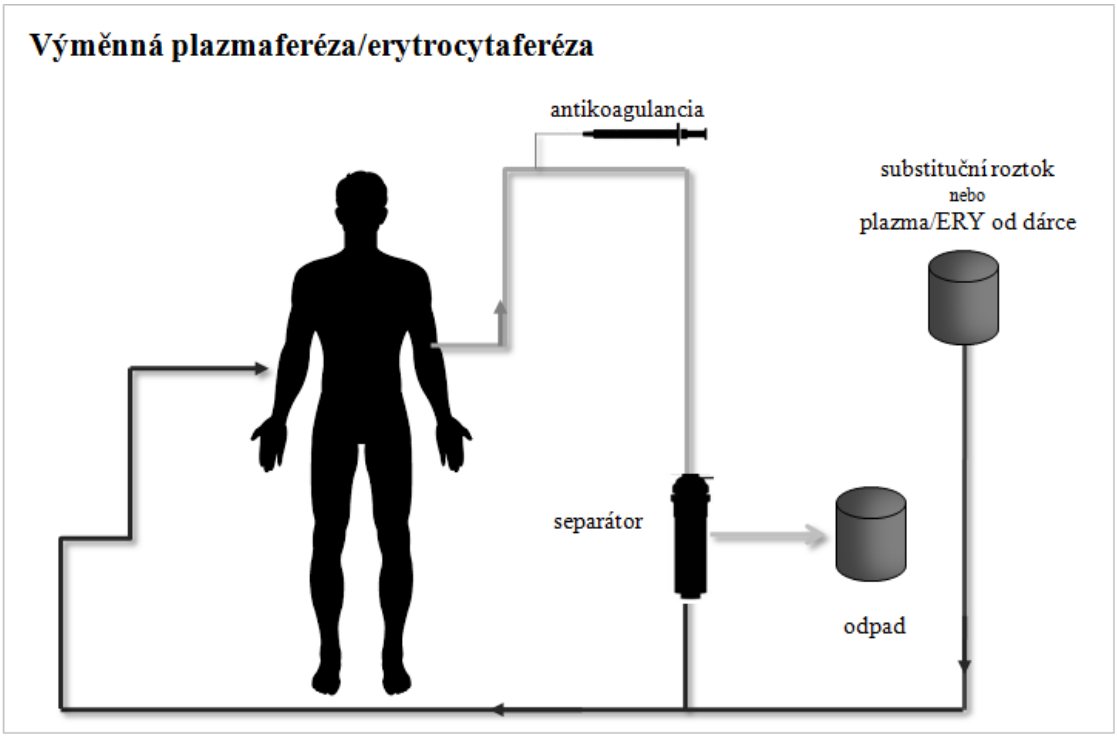


Obrázek 10: *Schéma deplečních hemaferetických výkonů* (10)

3.2.2 Výměnné výkony

Proces výměnných hemaferetických výkonů je podobný deplečním. Hlavním rozdílem je nutné nahrazení patologické komponenty, tedy plazmy nebo erytrocytů, substitučním roztokem nebo transfuzními přípravky - čerstvě zmražená plazma, erytrocytární masa.

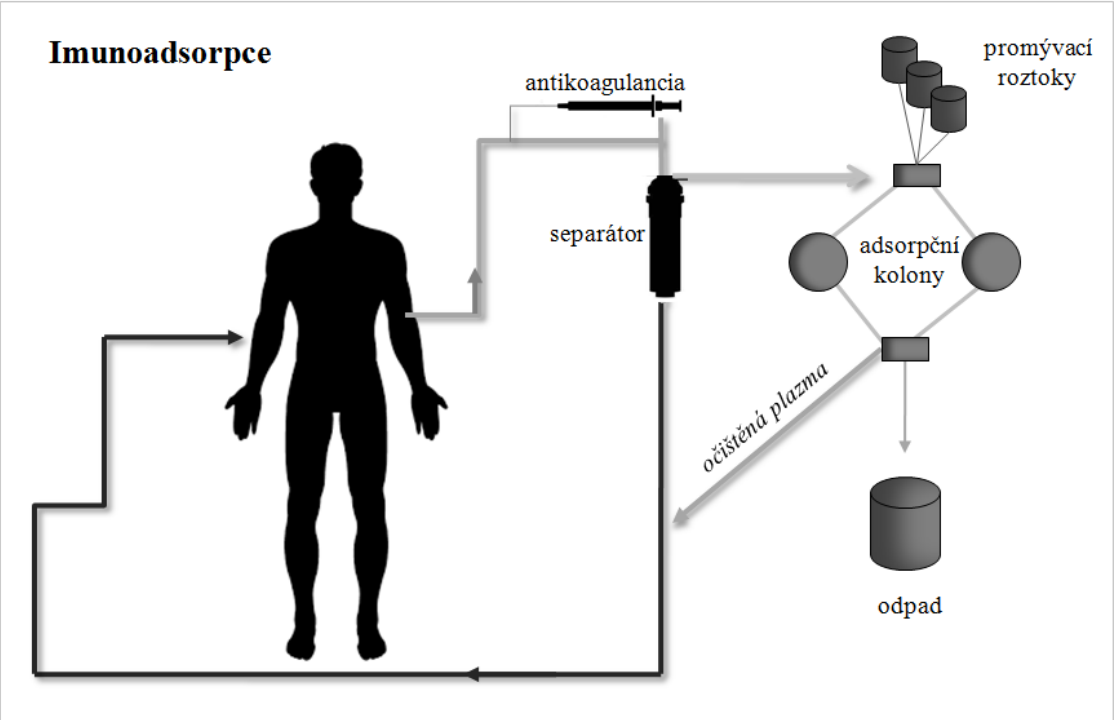
První krokem je smísení plné krve s antikoagulačním roztokem. Dále je krev rozdělena separátorem. V případě plazmaferézy se nejčastěji používá jako separátor membrána s póry o velikosti 0,2 - 0,4 μm. U erytrocytaferézy je vhodnějším separátorem centrifuga vzhledem k vysoké specifické hmotnosti erytrocytů a jejich vysokému procentuálnímu zastoupení oproti ostatním složkám krve. Červené krvinky jsou tak lehce odseparovatelné i centrifugací bez hustotního gradientu. Odseparovaná složka je odstraněna, zbytek je veden dál, kde se mísí s náhradním roztokem a je transfundován zpět pacientovi [6, 31].



Obrázek 11: *Schéma výměnných hemaferetických výkonů* (10)

3.2.3 Imunoadsorpce

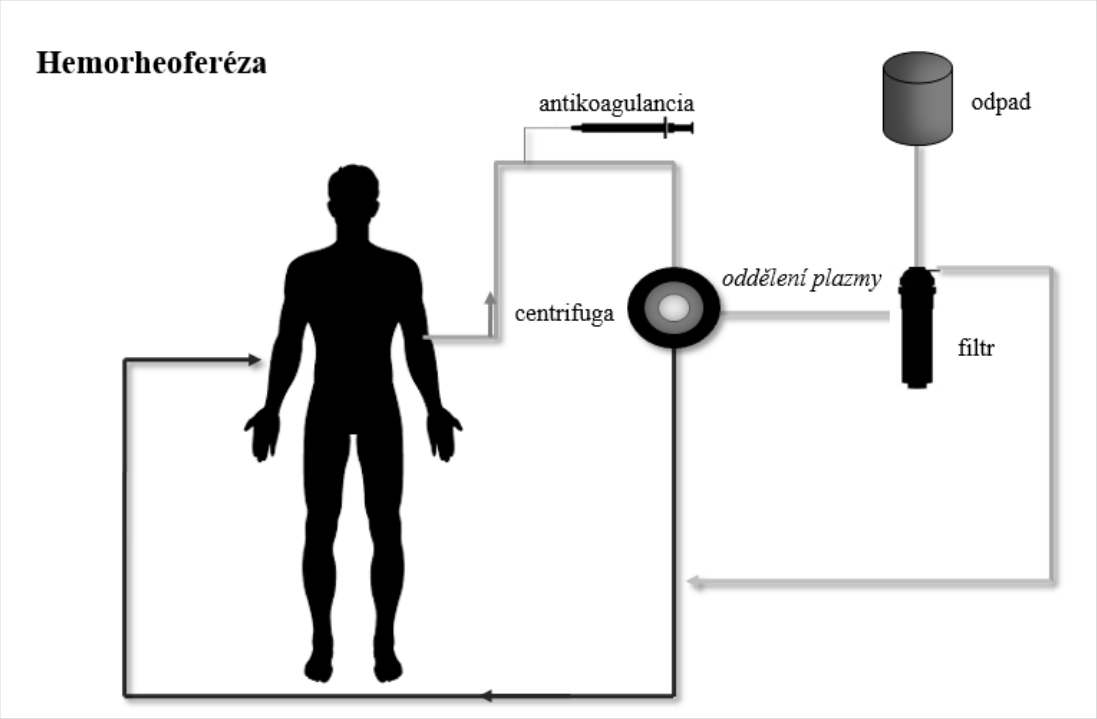
U této metody je nejprve na separátoru oddělena plazma od ostatních elementů krve, a to na principu membránové filtrace. Odseparovaná plazma je následně čerpána na jednu z dvojice adsorpčních kolon. Na koloně je požadovaná patologická komponenta (daný imunoglobulin) reverzibilně navázána na adsorber. Zaplněný adsorber je poté promýván, tak dojde k uvolnění navázané látky do odpadu. Kolona je i nadále promývána, čímž je regenerována a připravena k dalšímu použití. Tento systém dvou kolon tedy pracuje střídavě, kdy jedna adsorbuje a druhá se regeneruje. Očištěná plazma je nakonec čerpána zpět a spolu s ostatními krevními elementy navrácena do těla pacienta [13, 19].



Obrázek 12: *Schéma provedení imunoadsorpce* (10)

3.2.4 Hemorheoferéza

Pro hemorheoferézu je typické dvojité filtrování plazmy. První oddělení od plné krve probíhá centrifugací. Takto oddělená plazma je dále čerpána na filtr, který představuje polopropustnou membránu. Velikost pórů filtru 0,03 μm zajistí zachycení požadovaných vysokomolekulárních látek, které jsou odvedeny do odpadu. Očištěná plazma je spolu se zbytkem krevních buněk navrácena do těla pacienta [22].

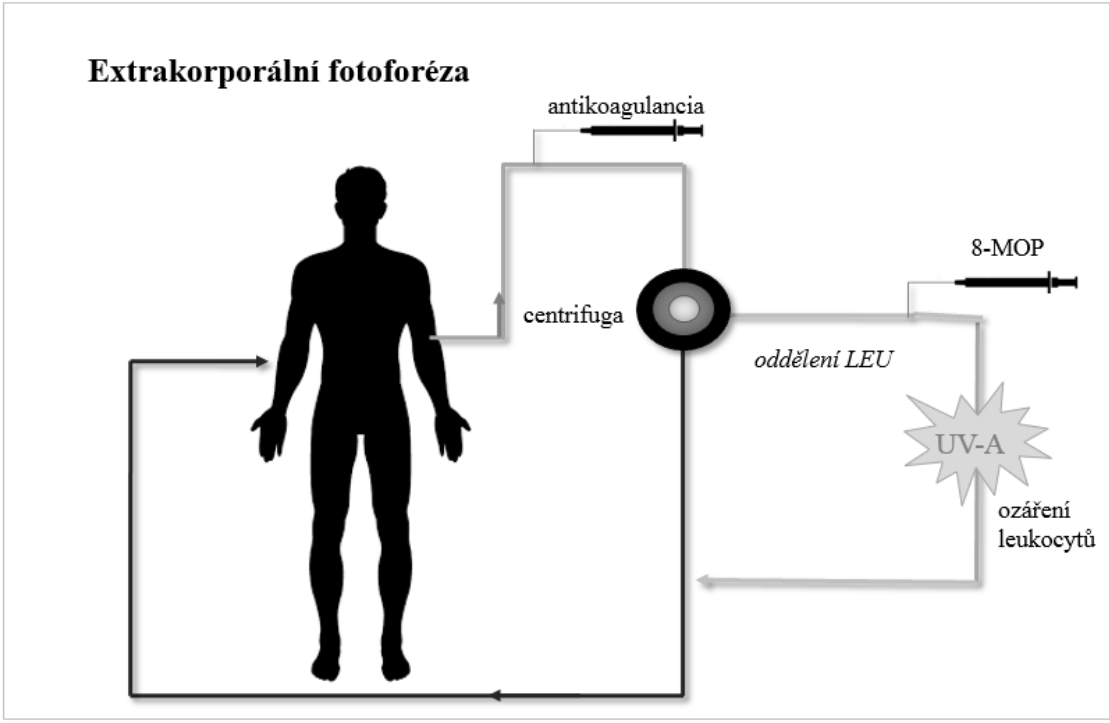


Obrázek 13: *Schéma provedení hemorheoferézy* (10)

3.2.5 Extrakorporální fotoforéza

Při fotoforéze dochází, po smísení krve s antikoagulačním roztokem například heparinem, k vychytání leukocytů, respektive mononukleárních buněk (MNC), z plné krve pomocí centrifugace. V další fázi je k MNC přidána fotosenzitivní látka *8-metoxypsoralen* (8- MOP). Tato látka zajistí, co největší absorpci UVA záření, kterým jsou leukocyty následně ozářeny [32].

Takto ozářené buňky jsou spolu s ostatními částmi krve vráceny do oběhu pacienta, kde dochází k jejich apoptóze. Zároveň se zvýší produkce protizánětlivých cytokinů a monocyty se mohou začít diferencovat do dendritických buněk, které mohou vystavit specifický antigen ozářených buněk a tím navodit imunitní odpověď proti nádorovým buňkám [11, 33].



Obrázek 14: *Schéma provedení fotoforézy* (10)

4 HEMAFEZÉZA V KLINICKÉ PRAXI

V této kapitole jsou popsány příklady vybraných chorob včetně typických znaků, k nimž lze přiřadit využití daného hemaferetického výkonu. Tyto výkony jsou prováděny jako součást paliativní léčby. Cílem je zlepšit klinický stav pacienta, tedy kvalitu jeho života.

4.1 Erytrocytaferéza

Jak je zmíněno v kapitole 2.1.1 erytrocytaferéza je terapeutický výkon, který pomáhá snižovat množství patologicky zmnožených erytrocytů. Je indikována například u následujících onemocnění.

4.1.1 Polycytemie

Polycytemie se obecně vyznačuje zvýšeným hematokritem. Toto zvýšení může být způsobeno zvýšeným objemem erytrocytární masy, jehož příčinou může být buď zvýšená erytropoéza anebo snížená apoptóza erytroidních progenitorů. Další příčinou zvýšení hematokritu může být snížení objemu plazmy, což mám stejný důsledek, a sice zvýšení hemoglobinu [34].

Polycytemie lze rozdělit na primární a sekundární. Primární jsou takové, které vznikají mutací genu pro vývoj hemapoetického progenitoru a typickým znakem je snížený sérový erytropoetin. Sekundární souvisí s primárním patologickým dějem, který v těle probíhá a způsobuje zvýšení hladin stimulačních faktorů pro erytropoézu a je pro ně typický zvýšená hladina sérového erytropoetinu [10].

Pravá polycytemie

Mezi primární polycytemie patří polycythaemia vera neboli pravá polycytemie (PV). U tohoto onemocnění dochází ke klonální proliferaci kmenové hematopoetické buňky, která se diferencuje především do červené krevní řady. Zároveň dochází i k mírnému zvýšení počtu buněk ve zbylých dvou krevních řadách. Příčinou nemoci je specifická mutace genu JAK2 tyrozinové kinázy [35].

Podle WHO lze diagnostikovat PV podle následujících kritérií: erytrocytární masa nad 25 %, hodnota hemoglobinu u mužů nad 185 g/l, u žen nad 165 g/l, průkaz JAK2 mutace, vyloučená sekundární erytrocytóza, růst erytroidních kolonií in vitro bez přítomnosti erytropoetinu, mírně zvýšené trombocyty nad hodnotu $400x10^9$ /l, lehká leukocytóza s hodnotami vyššími než $12x10^9$ /l, nízká hladina erytropoetinu v séru [35].

Pravá polycytemie je rizikovým onemocněním především pro osoby starší 50 let, kdy onemocní asi 1 člověk ze 100 000 každý rok [36].

4.1.2 Hereditární hemochromatóza

Hereditární hemochromatóza (HH) je autozomálně recesivní onemocnění, při kterém je porušen metabolismu železa. Porucha vstřebávání železa v gastrointestinálním traktu způsobí jeho ukládání do parenchymatózních orgánů, nejčastěji do jater [37]. Klinickými projevy HH jsou hepatopatie, slabost, malátnost, hypotyreóza, hyperpigmentace, kardiomyopatie, diabetes mellitus, bolesti břicha a další [35].

4.2 Leukocytaferéza

Cílem leukocytaferézy je odstranění zmnožených leukocytů z krevního oběhu a tím zabránit syndromu leukostázy a hyperviskozity (viz kapitola 2.1.2). Nejčastěji je indikována u leukémií.

4.2.1 Akutní myeloidní leukémie

Akutní myeloidní leukémie (AML) patří mezi maligní nádorové onemocnění, které se rozvíjí z myeloblastů. Charakteristická je proliferace a akumulace nezralých krvetvorných buněk v kostní dřeni. Tyto buňky jsou následně vyplavovány do krevního oběhu [36, 38].

Definice AML je určena jako klonální expanze myeloblastů, které tvoří více než 20 % jaderných buněk v kostní dřeni. V praxi, ale nelze toto onemocnění jednoznačně určit pouze z vysokého počtu leukocytů v krvi, protože ve velkém množství případů jsou leukocyty v normálu nebo dokonce snížené [39].

Z akutních leukémií zastupuje myeloidní až 80 %, zbylých 20 % tvoří akutní lymfoblastická leukémie. AML je onemocněním především ve stáří, kdy onemocní asi 15 z 100 000 osob. Ve věku do 60 let jsou to pouze 3 osoby na 100 000 [36].

4.2.2 Akutní lymfoblastická leukémie

Akutní lymfoblastická leukémie (ALL) je nádorové onemocnění krvetvorby, které vzniká zhoubnou transformací kmenové hematopoetické buňky. Ta se diferencuje do lymfoblastů, které jsou následně nalézány i v periferní krvi [37]. Zároveň jsou velmi často výrazně snížené hodnoty erytrocytů a trombocytů. O akutní lymfoblastické leukémii lze hovořit při počtu lymfoblastů nad 25 % z celkového počtu buněk kostní dřeně [36,39].

Spolu s akutní myeloidní leukémií patří mezi vysoce agresivní onemocnění s rychlým průběhem. První skupinou, kterou ALL nejčastěji postihuje, jsou děti kolem 4. roku života, do druhé skupiny pak patří osoby nad 50 let. Ročně v dětství onemocnění asi 5 dětí na 100 000 a v dospělosti pak pouze 1 osoba na 100 000 [39].

4.2.3 Chronická myeloidní leukémie

Chronická myeloidní leukémie (CML) patří mezi Ph_1 pozitivní klonální myeloproliferativní onemocnění (pozn. dělení podle přítomnosti Ph neboli Filadelfského chromozomu, který vznikl translokací chromozomu 9 a 22). Onemocnění vzniká v důsledku působení genu BCR-ABL1, který vzniká díky Ph chromozomu [40].

Typickým nálezem je leukocytóza s hodnotami až $400x10^9$ /l s posunem k nevyzrálým formám. CML má na počátku většinou pozvolný chronický průběh, který může trvat i několik let. Následně se agresivita zvyšuje a přechází do fáze akcelerace, ve které je průměrné přežití pacientů s chemoterapií 1 - 2 roky [36, 39].

Ze všech leukémií tvoří CML 15 - 20 % [40]. V roce 2011 v ČR nově onemocnělo touto chorobou 100 - 150 dospělých osob, tento počet lze prozatím považovat jako neměnný [41].

4.3 Trombocytaferéza

Trombocytaferéza je indikována v případech, kdy jsou krevní destičky zmnoženy nad počet $1500x10^9$/l a je nutná jejich redukce (viz kapitola 2.1.3).

4.3.1 Esenciální trombocytemie

Esenciální trombocytémie (ET) lze zařadit mezi Ph_1 negativní chronická myeloproliferativní onemocnění [42]. Projevuje se zvýšenou proliferací krevních destiček v kostní dřeni, ale nelze určit žádnou charakteristickou příčinu jako u ostatních myeloproliferativních onemocnění nebo relativního zvýšení krevních destiček [43]. ET má pozvolný několikaletý průběh. Mezi klasické příznaky patří trombózy, embolie, ale i uzávěry mozkových nebo portálních žil [39].

Do rizikových skupin patří osoby nad 60 let s trombózou v anamnéze, ale také kuřáci, diabetici a obézní jedinci [36]. V roce 2010 MUDr. Penka a kol. [44] uvádí v časopise *Vnitřní lékařství* četnost onemocnění 0,1 - 2,5 na 100 000 osob.

4.4 Výměnná plazmaferéza

Výměnná plazmaferéza umožňuje odstranění patologických částic z cirkulace pacienta. Zároveň je nutné odebranou plazmu nahrazovat náhradními roztoky (viz kapitola 2.2.1). Níže jsou zmíněny onemocnění, které lze pomocí této metody léčit.

4.4.1 Kryoglobulinémie

Kryoglobulinémie je stav organismu, kdy je v krevním oběhu obsažen imunoglobulin tzv. kryoglobulin. Tato bílkovina v chladu způsobuje precipitaci plazmy a precipitát se stává nerozpustným. Tato precipitace je ale reverzibilní a při ohřátí krve nad 37°C opět dochází k rozpuštění [45].

Podle charakteru precipitátu je kryoglobulinémie dělena na tři typy. Kryoglobulinémie I. typu je způsobena monoklonálními protilátkami, většinou třídy IgM. Tento typ je nejčastěji spojován s Waldenströmovou makroglobulinémií. U kryoglobulinémie II. typu je příčinou komplex polyklonálního proteinu (IgG) v kombinaci s monoklonálním (IgM). II. typ nacházíme například u chronické hepatitidy C. Konečně III. typ kryoglobulinémie doprovází systémová,

autoimunitní onemocnění a její precipitát je tvořen směsí polyklonálních imunoglobulinů [45, 46].

4.4.2 Guillain-Barré syndrom

Syndrom Guillain-Barré (GBS) je onemocnění, které má příčinu v autoimunitní reakci organismu na části periferního nervu. Patří k nejčastějším příčinám chabé svalové paralýzy. Pro onemocnění je typický akutní začátek s rychlým přechodem do fáze svalové slabosti, a to během 14 dní. U nejvážnějších stavů dochází k ochabnutí dýchacích svalů a následnému respiračnímu selhání. Jako spouštěč je považována infekce, ať už původu virového (chřipka, hepatitida, EBV,…) nebo bakteriálního (především Campylobacter jejuni, Mycoplasma pneumoniae), nebo reakce na vakcinaci [31].

GBS se projevuje především v dětském věku a ve stáří. Roční incidence je asi 1 - 3 osoby na 100 000 s mortalitou menší než 5 %, z čehož vyplývá včasný záchyt a vhodná terapie, která je podporována terapeutickou plazmaferézou [47].

4.5 Výměnná erytrocytaferéza

Na rozdíl od depleční erytrocytaferézy pomocí výměnné erytrocytaferézy (kapitola 2.2.2) lze odstranit erytrocyty, které jsou patologicky postižené. Tyto postižené krvinky jsou poté nahrazeny fyziologickými krvinkami od dárce. Typické je použití u srpkovité anémie.

4.5.1 Srpkovitá anémie

Srpkovitá anémie je dědičná hemolytická choroba způsobená mutací fyziologického hemoglobinu A na β řetězci, kterou vzniká tzv. hemoglobin S. Klinický nález je zjevný pouze u homozygotů [35].

Typickým nálezem jsou tzv. „srpkovité erytrocyty“, které mají pozměněný tvar a zároveň i funkci. Deformace červené krvinky vzniká v důsledku působení hemoglobinu S, ten je po deoxygenaci méně rozpustný než hemoglobin A, díky tomu se vytváří fibrinózní síť a tvar krvinky se změní. Takto změněná krvinka je následně vychytávána a odstraňována z krevního oběhu, nebo dochází k hemolýze intravaskulárně [4]. Díky vychytání patologických erytrocytů pomocí výměnné erytrocyataferézy lze zabránit hemolýze a s ní spojenými komplikacím.

4.6 Imunoadsorpce

Pomocí imunoadsorpce jsou specificky odstraňovány patologické částice krevní plazmy, nejčastěji imunoglobuliny a jejich fragmenty. Více informací v kapitolách 2.3.1, 3.2.3.

4.6.1 Familiární hypercholesterolemie

Familiární hypercholesterolemie (FH) patří mezi autozomálně dominatně dědičné onemocnění. Frekvence této nemoci se odhaduje až na 1:250 osob, což ji řadí na první místo mezi všemi dědičnými poruchami metabolismu [48]. V 85 - 90 % je příčinou mutace genu pro LDL-receptor, z 5 - 10 % se jedná o mutaci genu pro apoprotein B nebo pro enzym *PCSK9*, který je odpovědný za degradaci LDL-receptoru [49].

Významným ukazatelem FH je zvýšená hladina LDL cholesterolu v plazmě. LDL cholesterol se dále ukládá do tkání a způsobuje šlachovité xantomy nebo závažnější aterosklerózu, která vede k výskytu kardiovaskulárních chorob, především ischemické choroby srdeční [50].

LDL-aferéza patří, především u homozygotů, mezi základní léčebné metodiky, samozřejmě v kombinaci s hypolipidemiky a striktní změnou životního stylu [49].

4.7 Hemorheoferéza

Cílem hemorheoferézy je odstranění vysokomolekulárních proteinů a tím snížit viskozitu krve. Jedná se v podstatě o dvojitou filtraci plazmy (viz kapitoly 2.3.2, 3.2.4).

4.7.1 Věkem podmíněná degenerace makuly

Věkem podmíněná degenerace makuly (VPMD) je onemocnění, které je nejčastější příčinou slepoty ve stáří. Začíná v tzv. suché formě s měkkými drúzami, které mohou být ohraničené, neohraničené nebo retikulární. Příčinou vzniku suché formy je zánik pigmentových buněk. Během této fáze může docházet k poruchám perfuze cévnatky a sítnice, což je příčina vzniku vlhké formy. Ve vlhké fázi mohou pacienti trpět příznaky jako je zkreslené vidění, náhlé ztráty zraku a postupně dochází k úplné ztrátě zraku [51, 52].

Vlhká forma VPDM lze léčit snížením produkce vaskulárního endotelového růstového faktoru (VEGF) nebo hemorheoferézou, která sníží viskozitu krve a tím zlepší perfuzi v cévnatce a sítnici [51].

4.8 Extrakorporální fotoforéza

Jak je vysvětleno v kapitole 2.3.3 a 3.2.5 extrakorporální fotoferéza patří mezi imunomodulační terapii. Při tomto výkonu jsou leukocyty ozařovány UV zářením a tím ničeny.

4.8.1 Kožní T-lymfomy

Vznik lymfomů je podmíněné získanou genetickou změnou, která způsobí nekontrolovatelné dělení lymfocytů. Jednou ze skupin lymfomů jsou kožní T-lymfomy (CTCL). CTCL patří do skupiny extranodálních non-hodgkinských lymfomů, pro které je typické umístění na kůži, kde dlouhou dobu přetrvávají [53].

Kožní T-lymfomy zahrnují rozličnou skupinu onemocnění s různými příznaky. Mezi nejčastější onemocnění patří mycosis fungoides a Sézary syndrom. Obě onemocnění mají podobné cytologické a histologické charakteristiky, postupují od malých plaků po kožní tumory a nakonec mohou postihnout i lymfatické uzliny nebo orgány.

Incidence CTCL pro rok 2016 je asi 7,7 na 1 milion osob za rok. Nejčastější je diagnostika ve věku kolem 50 let s převahou mužů. Doba přežití je asi 63 měsíců, liší se u jednotlivých typů onemocnění. Například u onemocnění mycosis fungoides, které je indikováno ve 44 % případů je pravděpodobnost přežití déle jak 5 let až v 88 %. Naopak Sezary syndrom je velmi agresivní onemocnění, kde předpoklad přežití více než 5 let je pouze 24 % [54].

5 HEMAFERÉZA V ČASE

Aferéza byla prvně popsána na začátku 20. století. V té době byla, ale prosazována pouze jako dárcovská aferéza, tedy technika pro sběr krevních komponent. Používání aferézy k léčebným účelům začalo až v 50. letech 20. století, po objevení nových principů a zdokonalení přístrojů [55].

5.1 Objevy v oblasti instrumentace

První představení hemaferézy jako léčebné metody se uskutečnilo v 50. letech 20. století, poté, co americký biochemik Dr. Edwin Cohn vynalezl metodu pro purifikaci albuminu od ostatní krevní plazmy. Pro tento objev dokázal najít uplatnění i v transfuzním lékařství, kde představil tzv. Cohnovu centrifugu. Tato centrifuga dokázala oddělit plazmu od ostatních krevních elementů a to již během procesu odběru krve. Je tedy možné považovat tento proces za první provedenou plazmaferézu. Bohužel byl přístroj příliš velký a nepraktický [56, 57].

Objev Dr. Edwina Cohna zdokonalil inženýr Allan Latham. Ten představil tzv. Lathamův zvon, který už byl mnohem praktičtější a stal se součástí krevního separátoru Heamonetics Model 10. Později byl přístroj přizpůsoben diskontinuálnímu průtoku a stal se součástí Haemonetics Model 30, který je považován za první komerčně dostupný aferetický separátor [56].

Obrázek 15: *Lathamův zvon* (11)

V roce 1965 Dr. Emil Freireich vytvořil ve spolupráci s inženýrem Georgem Judsonem, jehož syn trpěl chronickou myeloidní leukémií, krevní separátor založený na principu kontinuálního

průtoku. Tento přístroj byl používán nejen pro terapeutickou leukocytaferézu, ale také pro výměnnou plazmaferézu nebo erytrocytaferézu [56, 57].

Od roku 1978 je separace krevních složek možná také pomocí membrány. V tomto roce byl vytvořen separátor, který pracoval na principu membránové filtrace [57]. Tato metoda se nadále používá především v Evropě při výměnné terapeutické plazmaferéze.

Postupem času se všechny separátory zdokonalovaly. Vývojové trendy pro aferetické separátory zahrnovaly především snižování extrakorporálního objemu, zdokonalení monitorování funkcí, zavedení automatických programů a snížení hmotnosti a velikosti pro lepší manipulaci s přístroji [56].

5.2 Organizace a registry pro terapeutické aferézy

První národní aferetický registr byl vytvořen kanadskou aferetickou skupinou v roce 1981 [59]. Od té doby byly podobné registry vydávány aferetickými organizacemi po celém světě. Kromě Kanady mezi první vydávající země patří například Francie, Švédsko, Itálie nebo Japonsko. Tyto registry hrají důležitou roli pro celosvětové srovnávání jednotlivých hemaferetických metod, jejich indikaci, účinnost a úspěšnost [55].

Mezi první založené organizace, které pomáhají s rozvojem hemaferézy dodnes patří Mezinárodní společnost pro aferézu (ISFA) a Světová aferetická asociace (WAA). IFSA zveřejňuje informace o proběhlých procedurách od roku 1983. WAA od roku 2003 pravidelně vydává Světový aferetický registr (WAR) [55, 56].

5.3 Četnost hemaferetických procedur

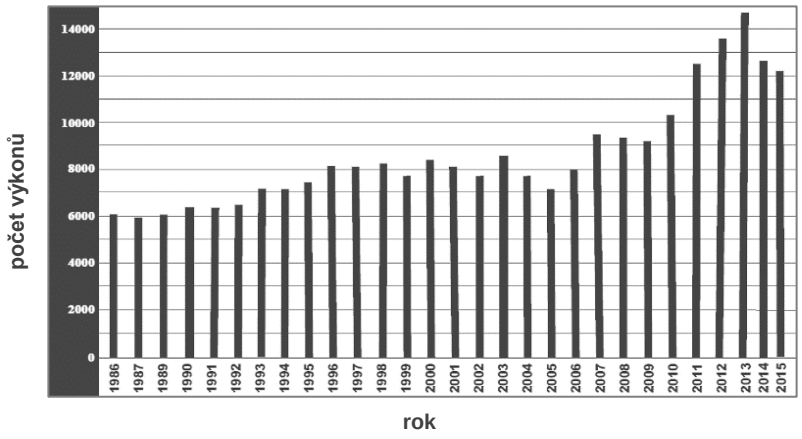
První provedenou terapeutickou hemaferetickou procedurou byla plazmaferéza, kterou byla léčena Waldenströmova makroglobulinemie. I po několika desítkách let je výměnná plazmaferéza stále nejčastěji indikovaným aferetickým výkonem. Druhou nejčastěji využívanou hemaferetickou procedurou je extrakorporální fotoferéza [58]. Četnost i ostatních procedur je možné uvést na příkladu francouzského aferetického registru, který patří mezi nejstarší v Evropě (viz Tabulka 7).

Tabulka 7*: Počet provedených hemaferéz ve Francii, 2007 - 2014*, upraveno dle [58]

Rok / výkon	**2014**	**2013**	**2012**	**2011**	**2010**	**2009**	**2008**	**2007**
TPE	17354	16988	15423	13563	13396	11735	9674	7886
Imunoadsorpce	1978	1246	705	300	171	72	311	979
Erytrocytaferéza	3832	3552	2908	2708	2390	2093	1478	1230
LDL-aferéza	3314	3093	2886	2761	2574	2181	1712	1543
RCE	984	1109	1157	1233	1481	1349	1626	1825
Leukocytaferéza	241	313	383	375	339	354	236	216
Trombocytaferéza	37	63	13	12	26	23	23	18
ECP	10304	8077	7434	5112	4118	3371	2894	2570
Celkem	44143	39844	36276	31185	30046	26038	22675	20378

Pozn. TPE - terapeutiká výměnná plazmaferéza, RCE - výměnná erytrocytaferéza ECP - exktrakorpolární fotoforéza.

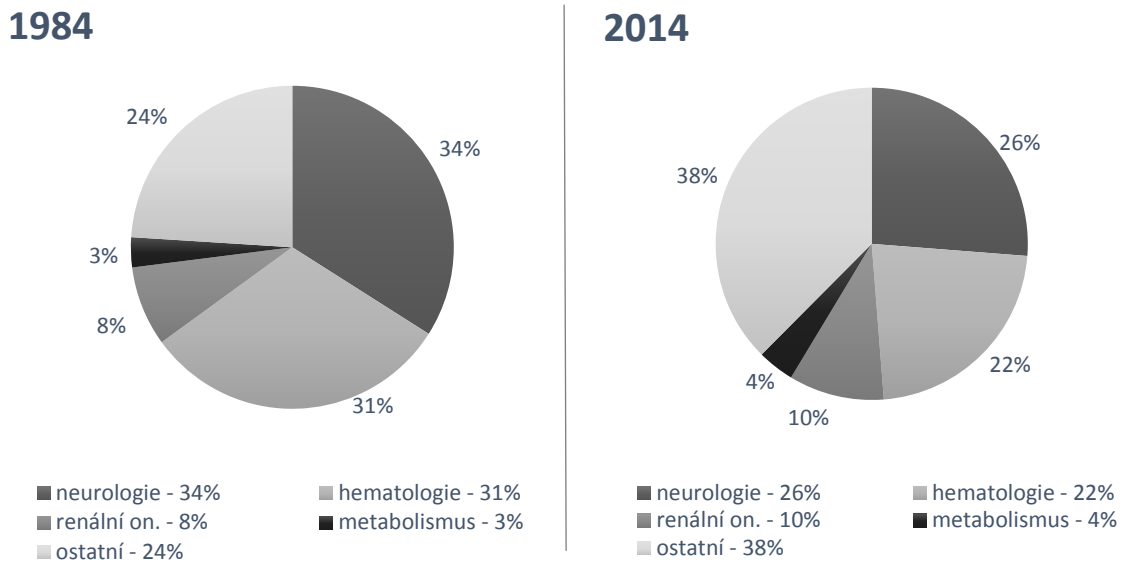
Vzhledem k jednoznačné převaze výměnných terapeutických plazmaferéz je na následujících grafech (Graf 1 - 3) podrobněji rozebrána právě tato metoda. Vysoké počty provedených plazmaferéz jsou již od počátku, jak je vidět v Grafu 1. Stále je, ale zřetelná tendence vzestupu v indikaci této metody.



Graf 1: *Celkový počet provedených výměnných plazmaferéz v Kanadě dle CAG*, upraveno dle [59]

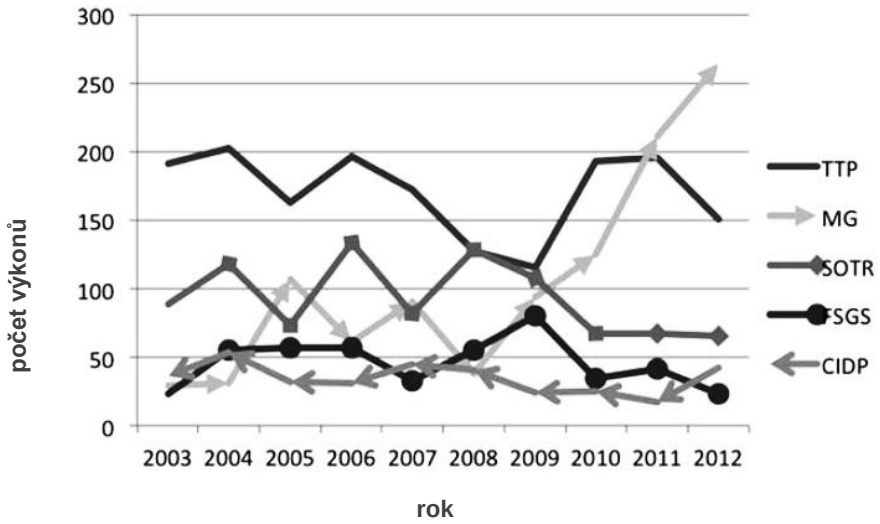
Plazmaferéza je nejčastěji indikována v oblastech neurologie, kam lze zařadit nemoci jako například chronickou zánětlivou demyelinizační polyneuropatii nebo myasthenia gravis. Druhá jsou nejčastěji indikována hematologická onemocnění jako je trombotická trombocytopenická purpura. Další častá onemocnění jsou renálního a metabolického charakteru. V neposlední řadě je nutné zmínit případy rejekce transplantátů, které také

zaujímají v počtu indikací důležité místo [55, 59]. Procentuální zastoupení jednotlivých oborů, ve kterých byla a stále je plazmaferéza nejčastěji indikována je zobrazeno na Grafu 2.



Graf 2: *Počet výměnných plazmaferetických procedur v kategoriích dle původu léčeného onemocnění v roce 1984 a 2014*, upraveno dle [59]

Poslední Graf 3 zobrazuje 5 nejčastěji indikovaných onemocnění dle průzkumu na alabamské univerzitě, a to od roku 2003 do roku 2012. Z grafu je patrné výrazné zvýšení indikace plazmaferézy pro onemocnění myasthenia gravis, z počátečních 29 na 264 procedur v roce 2012 [55].



Pozn. CIDP - chronická zánětlivá demyelinizační polyneuropatie, FSGS - fokálně segmentální glomeruloskleróza, MG - myasthenia gravis, SOTR - rejekce transplantovaného orgánu, TTP - trombotická trombocytopenická purpura.

Graf 3: *Počet výkonů výměnné plazmaferézy ve vybraných indikacích*, upraveno dle [55]

6 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo představení terapeutických hemaferéz, jako jednu z možností hemoterapie. Metoda léčebných hemaferéz není veřejnosti natolik známá jako dárcovské aferézy, které se dostaly do podvědomí všem.

Terapeutické hemaferézy nabízí možnost podpůrné léčby u mnoha onemocnění, a to nejčastěji neurologického a hematologického původu, výjimkou, ale nejsou ani případy rejekce transplantátu nebo renální onemocnění.

Vzhledem k tomu, že terapeutické hemaferézy působí pouze jako podpůrná, nikoli jako kurativní léčba, nepatří mezi metody první volby. A ani nelze očekávat, že by se jejich postavení v medicíně změnilo. V dnešní době je na prvním místě léčba farmakologická, která je pro pacienty i ošetřující personál pohodlná a časově nenáročná. Naopak u hemaferéz se, i přes značné technologické pokroky, stále jedná o časově náročnou a pro pacienta nepohodlnou a pravděpodobně i stresující léčbu, na kterou musí docházet na specializovaná zdravotnická zařízení, kde musí trávit i hodiny připojený na separátory.

Význam hemaferetických výkonů, ale nelze zpochybňovat. Výsledky podpůrné léčby jsou jasně zřetelné a mnoha lidem velmi ulehčují život a zlepšují kvalitu jejich života. U akutních zhoršení příznaků dané choroby dokonce patří mezi výkony zachraňující život.

7 SEZNAM ZDROJŮ

[1] SILBERNAGL Stefan; DESPOPOULOS Agamemnon, *Atlas fyziologie člověka 6. vydání, zcela přepracované a rozšířené*, Praha: GRADA 2004, 448s. ISBN 80-247-0630-X

[2] TROJAN Stanislav a kol., *Lékařská fyziologie 4. vydání, přepracované a doplněné,* Praha: GRADA 2003, 772s. ISBN 80-247-0512-5

[3] MATOUŠ B., *Základy lékařské chemie a biochemie,* 1. vydání, Praha: GALÉN, 2010, 540 s. ISBN 978-80-7262-702-8

[4] PENKA M., TESAŘOVÁ E. a kol., *Hematologie a transfuzní lekařství I- hematologie*, 1. vydání, Praha: GRADA, 2011, 424s. ISBN 978-80-247-3458-0

[5] RATNER Buddy D., HOFFMAN Allan S, SCHOEN Frederick J., LEMONS Jack E., *Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine,zazu 3rd Edition*, Hardcover 2012, 1573s. ISBN: 978-0-12-374626-9

[6] KOKEI P. ITAM, IFEYINWA M. OKAFOR, Use of apheresis in the treatment of Haematological conditions, *World Scientific News*, 2016, 50, s. 250-265, ISSN 2392-2192

[7] ŘEHÁČEK Vít, MASOPUST Jiří a kol., *Transfuzní lékařství 1. vydání,* Praha: GRADA 2013, 240s. ISBN 978-80-247-4534-3

[8] GAŠOVÁ Z, BOHMOVÁ M, BHUIYAN-LUDVÍKOVÁ Z a spol., Dárcovské a terapeutické aferézy, *Transfuze a hematologie dnes* 2012, 15 (014), s. 15-16, ISSN 1805-4587

[9] INDRÁK K., *Hematologie a transfuzní lékařství*, Praha: Triton 2014, Lékařské repetitorium, 612s. ISBN 978-80-7387-722-4

[10] BOHONĚK M, HRABÁNEK J, KOŘÁNOVÁ M, KUTÁČ D, 2013, Venepunkční a aferetická léčba polyglobulií, *Transfuze a hematologie dnes* 2013, 19 (4), s. 216- 22, ISSN 1805-4587

[11] GAŠOVÁ Z., Hemaferéza – vysoce účinná technika v terapii nemocných, *Vnitřní lékařství*, 2012, 58 (2), s. 91-102, ISSN 1801–7592

[12] Ústav hematologie a krevní transfuze, [online] dostupné z: www.uhkt.cz/zdravotnik/terapeuticke-aferezy/sub_article_1 [cit. 30. 3. 2017]

[13] FENCL F., SEEMAN T., ŠIMKOVÁ E., JANDA J., Plazmaferéza a imunoadsorbce v pediatrii, *Česko-slovenská pediatrie,* 2008, 63 (3), s. 148-155, ISSN 1805-4501

[14] BEDNAŘÍK J., Léčebná výměnná plazmaferéza v léčbě autoimunitních nervosvalových onemocnění, *Neurologie pro praxi*, 2011, 12 (6), s. 394-397, ISSN 1803-5280

[15] KOZIOLEK M. J., TAMPE D., BÄHR M. et.al, Immunoadsorption therapy in patients with multiple sclerosis with steroid-refractory optical neuritis, *Journal of Neuroinflammation* 2012, 9 (80), ISSN 1742-2094

[16] HONORÉ P. M.., JACOBS R., DE WAELE E., VAN GORP V., SPAPEN H. D., Immunoadsorption Versus Therapeutic Plasma Exchange. Will Fibrinogen Make the Difference?, *Blood Purification*, 2014, 38, s. 158-159, ISSN 1421-9735

[17] PTÁK J., Léčba imunoadsorpcí: současné možnosti a perspektivy, *Praktický lékař,* 2005, 85 (10), s. 555-560, ISSN 1805-4544

[18] BORBERG H., 26 Years of LDL – Apheresis: A review of experience, *Transfusion and Apheresis Science*, 2009, 41, s. 49-59, ISSN 1473-0502

[19] BLÁHA V., BLÁHA M., LÁNSKÁ M. a kol., LDL-aferéza v léčbě familiárních hyperlipoproteinemií, *Vnitřní lékařství,* 2014, 60 (11), s. 970-976, ISSN 1801–7592

[20] WINTERS L., Low-Density Lipoprotein Apheresis: Principles and Indications Jeffrey, *Seminars in Dialysis*, 2012, 25 (2), s. 145-150, ISSN 1525-139X

[21] THOMPSON G. R., BARBIR M., DAVIES D., Efficacy criteria and cholesterol targets for LDL apheresis, *Atherosclerosis*, 2010, 208, s. 317-321, ISSN 0021-9150

[22] BLÁHA M., RENCOVÁ E., MALÝ R., Léčba hemorheoferézou (současný stav a vlastní zkušenosti), *Aktuality v nefrologii*, 2008, 3, s. 118-124, ISSN 1213-3248

[23] KLINGEL R., FASSBENDER C., FASSBENDER T., Rheopheresis: Rheologic, Functional, and Structural Aspects, *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 2000, 4 (5), s. 348-357, ISSN 1744-9987

[24] KLASSEN J**.,** The role of photopheresis in the treatment of graftversus-host disease, *Current Oncology,* 2010, 17 (2), s. 55-58, ISSN 1718-7729

[25] SNIECINSKI I., SEGHATCHIAN J., Factual reflections and recommendations on extracorporealphotopheresis in pediatrics, *Transfusion and Apheresis Science*, 2017, v tisku, přístupno online, ISSN 1473-0502

[26] Ústřední vojenská nemocnice - Vojenská fakultní nemocnice Praha, Speciální odběrové postupy, 2009, [online], dostupné z: www.uvn.cz [26. 4. 2017]

[27] PROCHÁZKOVÁ R., Multikomponentní automatizované odběry - nový trend v dárcovství krve, *Vnitřní lékařství,* 2005, 51 (3), s. 320-326, ISSN 1801–7592

[28] FEI-YI WU, KEE KHIANG HENG K. K., SALLEH R. B., et al, Comparing peripheral blood stem cell collection using the COBE Spectra, Haemonetics MCS+, and Baxter Amicus, *Transfusion and Apheresis Science*, 2012, 47, s. 345-350, ISSN 1473-0502

[29] CATHERINE LAMBERT C., GERICKE M., et al, Plasma Extraction Rate and Collection Efficiency During Therapeutic Plasma Exchange with Spectra Optia in Comparison with Haemonetics MCS+, *Journal of Clinical Apheresis*, 2011, 26, s. 17-22, ISSN 1098-1101

[30] ABDELKEFI A., MAAMAR M., TORJMAN L., et al., Prospective Randomised Comparison of the COBE Spectra Version 6 and Haemonetics MCS+ Cell Separators for Hematopoietic Progenitor Cells Leucapheresis in Patients With Multiple Myeloma, *Journal of Clinical Apheresis*, 2006, 21, s. 111-115, ISSN 1098-1101

[31] ZAZULA R., ŘÁHÁČ T., CIHLÁŘ J., Syndrom Guillain-Barré. Specifika intenzivní péče, možnosti terapeutického využité plazmaferézy a naše zkušenosti, *Praktický lékař,* 2008, 88 (10), s. 582-588, ISSN 1805-4544

[32] MARQUES M. B., ADAMSKI J., Extracorporeal Photopheresis: Technique, Established and Novel Indications, *Journal of Clinical Apheresis*, 2014, 29, s. 228–234, ISSN 1098-1101

[33] DEL FANTE C., PEROTTI C., Extracorporeal photopheresis for bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic stem cell transplant: An emerging therapeutic approach?, *Transfusion and Apheresis Science,* 2017, 56, s. 17-19, ISSN 1473-0502

[34] KUČEROVÁ J., HORVÁTOVÁ M., POSPÍŠILOVÁ D., DIVOKÝ V., Vrozené polycytemie, *Transfuze a hematologie dnes* 2009, 15 (4), s. 216-222, ISSN 1805-4587

[35] PENKA M., BULIKOVÁ A. a kol., *Neonkologická hematologie 2., doplněné a zcela přepracované vydání,* Praha: GRADA, 2009, 240 s., ISBN 978-80-247-2299-3

[36] VOKURKA S., *Základní hemato-onkologická onemocnění a jejich charakteristiky,* 1. vydání, Praha: GALÉN, 2008, 89 s., ISBN 978-80-7262-553-6

[37] NOVOTNÝ J., SMEJKAL P., ČECH Z., Hereditární hemochromatóza, *Transfuze a hematologie dnes* 2005, 11 (3), s. 87-97, ISSN 1805-4587

[38] ŽÁK A., PETRÁŠEK J. a kol., *Základy vnitřního lékařství,* 1. vydání, Praha GALÉN, 2011, 523 s., ISBN 978-80-7262-697-7

[39] ADAM Z., KREJČÍ M., VORLÍČEK J. a kol., *Hematologie přehled maligních hematologických nemocí 2., doplněné a zcela přepracované vydání,* Praha: GRADA 2008, 392 s., ISBN 978-80-247-2502-4

[40] KLAMOVÁ H., Chronická myeloidní leukémie - zásadní změna prognózy nemocných po zavedení léčby inhibitory tyrozinových kináz, *Vnitřní lékařství,* 2012, 58 (2), s. 27-37, ISSN 1801–7592

[41] KLAMOVÁ H., VOGLOVÁ J., Doporučení pro diagnostiku, monitorování a léčbu CML u dospělých, aktualizovaná verze 2011, *Česká hematologická společnost ČLS JEP*, Doporučené postupy, [online], dostupné z: www.prolekare.cz [28. 4. 2017]

[42] POSPÍŠILOVÁ D., VESELOVSKÁ J., HORVÁTOVÁ M. a kol., Esenciální trombocytémie v dětském věku, *Transfuze a hematologie dnes,* 2008, 14 (2), s. 63-70, ISSN 1805-4587

[43] PENKA M., SCHWARZ J., PYTLÍK R. a kol., Doporučený postup diagnostiky a terapie esenciální tromocytémie a trombocytémie provázející jiná myeloproliferativní onemocnění, *Vnitřní lékařství,* 2005, 51 (6), ISSN 1801–7592

[44] PENKA M,. SCHWARZ J., OVESNÁ P. a kol., Esenciální trombocytémie a jiné myeloproliferace s trombocytémií léčená Thromboreductinem. Výstupy z databáze Registru k 1. čtvrtletí roku 2010, *Vnitřní lékařství,* 2010, 56 (6), s. 503-512, ISSN 1801–7592

[45] MINAŘÍK J., PIKA T., BAČOVSKÝ J., ŠČUDLA V., Kryoglobulinemická vaskulitida u nemocného s mnohočetným myelomem, *Interní medicína pro praxi,* 2012, 14 (12), s. 478-480, ISSN 1803-5256

[46] ADAM Z., KREJČÍ M., POUR L., ŠEVČÍKOVÁ E., Léčba Waldenströmovy makroglobulinémie v roce 2014, *Vnitřní lékařství,* 2014, 60 (2), s. 139-157, ISSN 1801–7592

[47] HAVRÁNEK J., DEDEK V. a kol., Guillain-Barré syndrom, *Pediatrie pro praxi*, 2008, 9 (1), s. 51-54, ISSN 1803-5264

[48] VRABLÍK M., RAŠLOVÁ K., FREIBERGER T, Co je nejdůležitější pro pacienty s familiární hypercholesterolemií? Projekt MedPed v České a Slovenské republice, *AtheroReview*, 2016; 1 (1), s. 28–33, ISSN 2464-6563

[49] LÁNSKÁ M, BLÁHA M, ŽÁK P., Extrakorporální eliminace cholesterolu u familiární hypercholesterolemie – srovnání dvou metodik, *Transfuze a hematologie dnes*, 2014, 20 (3), s. 67-75, ISSN 1805-4587

[50] VRABLÍK M., SCHWARZOVÁ L., FREIBERGER T, Familiární hypercholesterolemie: klinické nálezy, molekulární genetika a diferenciální diagnostika, *AtheroReview*, 2016; 1 (1), s. 19-27, ISSN 2464-6563

[51] RENCOVÁ E., BLÁHA M., BLAŽEK M. a další, Možnost ovlivnění suché formy věkem podmíněné makulární degenerace hemorheoferézou, *Česká a slovenská oftalmologie*, 2009, 65 (2), s. 43-48, ISSN 1805-4447

[52] AMOL D. KULKARNI, BARUCH D. KUPPERMANN, Wet age-related macular degeneration, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, 57, s. 1994–2009, ISSN 1872-8294

[53] KINCL J., POKORNÝ J., STÁREK I., TICHÁ V., VIDURA R., Kožní T-lymfom ORL oblasti, *Otorinolaryngologie a foniatrie*, 2008, 57 (4), s. 238–242, ISSN 1805-4528

[54] MA H., MAHER ABDUL-HAY, T-cell lymphomas, a challenging disease: types, treatments, and future, *International Journal of Clinical Oncology*, 2017, 22, s.18-51, ISSN 1437-7772

[55] MANN A., McCLESKEY B., Establishing an Institutional Therapeutic Apheresis Registry, *Journal of Clinical Apheresis*, 2016, 31, s. 516-522, ISSN 1098-1101

[56] McLEOD B. C., Therapeutic apheresis: history, clinical application, and lingering uncertainties, *Transfusion*, 2010, 50, s. 1413-1426, ISSN 1537-2995

[57] HARMENING D. M., *Modern Blood Banking & Transfusion Practices, 6th Edition*, Hardback, 2012, 672 s., ISBN-13: 978-0-8036-2682-9

[58] KANOUNI T., AUBAS P., HESHMATI F., The use of a medico economic database as a part of French apheresis registry, *Transfusion and Apheresis Science*, 2017, 56, s. 82-85, ISSN 1473-0502

[59] ROCK G. a členové the Canadian Apheresis Group, The Canadian Apheresis Group registry, *Transfusion and Apheresis Science*, 2017, 56, s. 86-88, ISSN 1473-0502

Seznam zdrojů - obrázky

(1) American Society of Hematology, [online], [cit. 21. 6. 2017], dostupné z: http://imagebank.hematology.org/image/3666/normal-peripheral-blood-smear--1

(2) Nature, [online], [cit. 4. 5. 2017], dostupné z: http://www.nature.com/nnano/journal/v6/n4/fig_tab/nnano.2011.55_F1.html

(3) Nature, [online], [cit. 4. 5. 2017], dostupné z: http://www.nature.com/nature/journal/v392/n6676/fig_tab/392565a0_F1.html#figure-title

(4) Objective Source E-Learning, [online], [cit. 4. 5. 2017], dostupné z: http://www.osel.cz/9044-krevni-desticky-mame-obycejne-a-pak-jeste-ty-super-aktivovane.html

(5) MESCHER A., Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas, 13th Edition, [online], [cit. 4. 2. 2017], dostupné z: http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=574&sectionid=42524599

(6) NEODENTA clinic (upraveno), [online], [cit. 26.4 2017], dostupné z: http://www.neodenta.lt/Treatment-using-concentrated-blood-plasma

(7) KIPROV D., Principles of Blood Separation and Apheresis Instrumentation, [online], [cit. 17. 5. 2017], dostupné z: http://c.ymcdn.com/sites/www.apheresis.org/resource/collection/E759EDA3-9E20-4A23-A02B-A22C602AEC42/15.05.06-0830-LonestarBC-Kiprov-v2.pdf

(8) Haemonetics, [online], [cit. 27.4 2017], dostupné z: https://www.haemonetics.com/products/devices/blood-and-plasma-center-devices/mcs-8150

(9) TERUMO Group, [online], [cit. 4.5 2017], dostupné z: https://www.terumobct.com/spectra-optia

(10) vlastní zdroj

(11) Haemonetics (upraveno), [online], [cit. 23.5 2017], dostupné z: http://www.haemonetics.com/about/company-background/timelines/1990