

Materiál a metodika: Do studie byli zařazeni dárči PBPC od 1/2010 do 5/2020. Dárči byli označeni jako R (rodinní), NR (nerodinní) a rozdělení podle věku. Byla posouzena jejich způsobilost k odběru. Separace byly zahájeny po 4. dávce filgrastimu. Hodnoceny byly první sběry. Za obtížně mobilizované byli označeni dárči, kteří měli první den separace hodnoty CD34+ v periferní krvi nižší než 20×10^3 v ml. Požadovaná transplantační dávka byla $4-5 \times 10^6$ CD 34+/kg příjemce. Statistická analýza byla provedena pomocí Mannova-Whitneyho testu.

Výsledky: V našem hodnocení bylo 327 dárců (R 259, NR 68). Ve skupině R je rovnoměrné zastoupení mužů a žen podle věku. U skupiny NR převažují muži ve věku do 40 let (73 %). Nejvyšší počet dárců s anamnézou interních onemocnění je ve skupině R nad 40 let (38 %). Od zavedení haploidentických transplantací tento trend narůstá. Nejvíce je zastoupena arteriální hypertenze (41 %), onemocnění štítné žlázy (17 %) a anamnéza psychiatrického onemocnění (14 %). Podíl obtížně mobilizovaných dárců je u obou skupin obdobný (7 % u R, 6 % u NR). Vyšší množství komplikací při odběru se vyskytuje u R (38 %), u NR pouze 14 %. Medián získaného množství CD 34+(10⁶)/kg příjemce byl 5,7, vyšší výtěžky sběrů byly u NR. K získání požadované transplantační dávky bylo třeba 2 sběrů u R nad 40 let nejčastěji (39 %).

Závěr: Potvrdilo se, že se v současnosti mění požadavky na zdravotní způsobilost rodinných dárců. Se zavedením haploidentických transplantací narůstá jejich počet s anamnézou interních onemocnění. Tento fakt však nemá vliv na efektivní a bezpečné provedení sběru PBPC. V praxi jsou důležité zkušenosti aferetického oddělení s péčí o tyto dárce a úzká spolupráce aferetického a klinického oddělení. U nerodinných dárců se trendy nemění.

Léčba CD19 pozitivních hematologických malignit T-lymfocyty s chimérickým antigenním receptorem (CAR-T-lymfocyty). Přehled a vlastní zkušenosti s preparátem tisagenlecleucel (Kymriah) u prvních deseti pacientů

Pytlík, R.^{1,2,3}, Gašová, Z.⁴, Rahmatová, Š.², Čemusová, B.¹, Bhuiyanová-Ludvíková, Z.⁴, Viktorová, D.², Válková, V.¹, Bohmová, M.⁴, Soukup, P.¹, Slouková, M.⁴, Štách, M.⁵, Trněný, M.³, Belada, D.⁶, Mocíková, H.⁷, Duraš, J.⁸, Šimonová, R.⁹, Vranický, A.¹⁰, Otáhal, P.⁵, Vydra, J.¹

¹ Klinický úsek, ² Oddělení buněčné terapie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

³ 1. interní klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha

⁴ Aferetické oddělení, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁵ Oddělení imunoterapie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁶ IV. interní hematologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařské fakulty Hradec Králové Univerzity Karlovy

⁷ I. interní hematologická klinika Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha

⁸ Klinika hematonekologie, Fakultní nemocnice Ostrava a Lékařská fakulta Ostravské univerzity

⁹ Klinika hematologie a transfuziologie, Univerzitní nemocnice Martin a Jesseniova lékařská fakulta v Martine Univerzity Komenského v Bratislavě, Martin

¹⁰ Klinika onkohematologie Lékařské fakulty Univerzity Komenského v Bratislavě a Národního onkologického ústavu v Bratislavě

Úvod: T-lymfocyty s chimérickým antigenním receptorem (CAR-T) jsou buňky, do nichž je vpraven chimérický gen kódující receptor pro nádorový antigen a kostimulační molekulu, která posiluje cytotoxicitu. V současné době jsou v ČR dostupné dva preparáty antiCD19 CAR-T lymfocytů pro léčbu relabujících/refrakterních hematologických malignit (ALL a DLBCL) – tisagenlecleucel (Kymriah) a axicabtagen ciloleucel (Novartis). Oba přípravky dosahují setrvalé kompletní remise (CR) u 30–40 % pacientů s DLBCL, tisagenlecleucel pak rovněž u zhruba 40–50 % pacientů s ALL. Oba přípravky mají unikátní akutní toxicitu: cytokine release syndromem (CRS) a neurotoxicitu. Těžké toxicity se objevují u 10–50 % pacientů v závislosti na přípravku a léčeném onemocnění (ALL v. DLBCL). Dlouhodobá toxicita je vzácná.

Pacienti a metodika: K léčbě tisagenlecleucelem byli referováni pacienti z klinických pracovišť ČR i SR (viz afiliace). Podle SPC je podávána jedna dávka přípravku na jednotce intenzivní péče. Před infuzí je aplikována lymfodepleční chemoterapie. Těžký CRS je léčen tocilizumabem ± kortikoidy, ostatní péče probíhala podle standardů ÚHKT. Expanze CAR-T-lymfocytů byla měřena průtokovou cytometrií.

16. PRACOVNÍ DNY V TRANSFUZNÍM LÉKAŘSTVÍ

Výsledky: Na ÚHKT bylo léčeno 10 pacientů, 7 mužů a 10 žen, 2 ALL a 8 DLBCL. Věkový medián byl 47,5 roku (25–77). Medián počtu aplikovaných CAR-T buněk byl $2,85 \times 10^8$ ($1,2\text{--}4,9 \times 10^8$). U všech pacientů došlo k *in vivo* expanzi CAR-T-lymfocytů. CRS byl pozorován u 7 pacientů, u 5 byl podán tocilizumab (medián 2 dávky). Mírná neurotoxicita byla u 3 nemocných. Medián doby hospitalizace od CAR-T infuze byl 16,5 dne (10–23). Při mediánu sledování 62 dní od aplikace (14–332) byly pozorovány 2 relapsy: 1 pacientka s ALL léčená úvodně v Mnichově je v další CR po 2. dávce CAR-T a alogenní transplantaci na ÚHKT, 1 pacient s DLBCL je léčen paliativně.

Závěr: Léčba přípravkem tisagenlecleucel se ukázala jako schůdná, se zvládnutelnou toxicitou. Vzhledem ke krátké době sledování nelze zatím hodnotit léčebný efekt.

Separace mononukleárních buněk pro přípravu CAR-T-lymfocytu k terapii nemocných s CD19 pozitivními hematologickými malignitami

Gašová, Z.¹, Pytlík, R.², Bhuiyanová-Ludvíková, Z.¹, Rahmatová, Š.², Čemusová, B.³, Válková, V.³, Böhmová M.¹, Slouková, M.¹, Soukup, P.³, Trněný, M.⁴, Vydra, J.³

¹ Aferetické oddělení, ² Oddělení buněčné terapie, ³ Klinický úsek, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁴ I. interní klinika Všeobecné fakultní nemocnice a I. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha

Úvod: CAR-T-lymfocyty (chimérické antigenní receptorové buňky) představují účinnou formu adoptivní buněčné terapie, při níž se z mononukleárních buněk pacienta (MNC) izolují T-lymfocyty, které se modifikují k tomu, aby rozeznaly antigen specifický pro nádorové buňky. CAR-T jsou schopné po podání identifikovat a zničit nádorové buňky. Klinické studie ukazují vysokou účinnost terapie u nemocných s relabujícím nebo refrakterním nádorovým onemocněním.

Materiál a metodika: Cílem práce bylo provést a vyhodnotit separaci MNC pro přípravu CAR-T (Spectra Optia, v. 11, Terumo) u 18 pacientů s relabující formou ALL a DLBCL (2019, 2020). Analýzu přípravků jsme prováděli za pomoci FCM (BD FACS Canto II) a analyzátoru Sysmex XS1000i. Stanovili jsme obsah CD 3+ T-lymfocytů, leukocytů, erytrocytů, trombocytů a mononukleárních buněk. Výsledky jsou vyjádřené v mediánech a jejich intervalech.

Výsledky: Hodnotili jsme výsledky 18 separací MNC, ženy 4, věk 62 (25–77), muži 14, věk 53 (21–74) let. Objem zpracované krve činil $2,6 (2,2\text{--}3,2) \times \text{TBV}$ (celkový objem krve), 14 pacientů mělo zavedený ČŽK, podaná dávka ACD-A pacientovi činila 972 (562–1 128) ml.

Obsah leukocytů v přípravku činil $12 (4\text{--}28) \times 10^9$, HTK 2,5 (1,8–3,9) %, MNC 93 (66–100) %, CD 3 + T 6,5 (1,3–11,2) $\times 10^9$. Interval mezi separací, přípravou a podáním přípravku CAR-T činil 2 (1–6) měsíců. CAR-T byly podány 9 pacientům, 4 přípravky jsou zatím ve výrobě a u 4 pacientů nastal exitus ještě před podáním přípravků v odstupu 3,5 (1–4) měsíce po separaci. Po podání CAR-T došlo u 7 pacientů k CRS (cytokine release syndrom), který bylo možné zvládnout v podmínkách JIP.

Závěr: V průběhu separací nebyly u pacientů zaznamenány závažné nežádoucí reakce. Parametry všech přípravků splnily požadavky zpracovatele. Pacienti jsou po podání CAR-T zatím v uspokojivém stavu, účinnost terapie se průběžně sleduje.

Zpracování a odeslání výchozího materiálu PBMC pro výrobu ct1019 (tisagenlecleucel Kymriah), příjem vyrobených produktů LPMT a výdej k aplikaci: roční zkušenosti na OBT ÚHKT *

Rahmatová Š., Viktorová D., Moutelíková K., Konrádová Š., Lukášková H., Vrbasová J., Vlasatý J., Pytlík R.
Oddělení buněčné terapie, Ústav hematologie a krevní transfuze (OBT ÚHKT), Praha

Na OBT ÚHKT Praha zpracováváme autologní PBMC (mononukleární buňky z periferní krve) odebrané na aferetickém oddělení ÚHKT jako výchozí materiál pro výrobu LPMT (léčivého přípravku moderní terapie) tisagenlecleucel (Kymriah® firma Novartis). Činnost OBT zahrnuje zpracování a kryokonzervaci vstupního materiálu, zadání do elektronického systému firmy Novartis, přípravu dokumentace a odeslání do výrobního místa Novartis