

**Materiál a metodika:** Do studie byli zařazeni dárce PBPC od 1/2010 do 5/2020. Dárce 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 dárce, kteří měli první den separace hodnoty CD34+ v periferní krvi nižší než  $20 \times 10^3$  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+(10<sup>6</sup>)/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.<sup>1,2,3</sup>, Gašová, Z.<sup>4</sup>, Rahmatová, Š.<sup>2</sup>, Čemusová, B.<sup>1</sup>, Bhuiyanová-Ludvíková, Z.<sup>4</sup>, Viktorová, D.<sup>2</sup>, Válková, V.<sup>1</sup>, Bohmová, M.<sup>4</sup>, Soukup, P.<sup>1</sup>, Slouková, M.<sup>4</sup>, Štách, M.<sup>5</sup>, Trněný, M.<sup>3</sup>, Belada, D.<sup>6</sup>, Mocíková, H.<sup>7</sup>, Duraš, J.<sup>8</sup>, Šimonová, R.<sup>9</sup>, Vranický, A.<sup>10</sup>, Otáhal, P.<sup>5</sup>, Vydra, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinický úsek, <sup>2</sup> Oddělení buněčné terapie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>3</sup> 1. interní klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha

<sup>4</sup> Aferetické oddělení, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>5</sup> Oddělení imunoterapie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>6</sup> IV. interní hematologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařské fakulty Hradec Králové Univerzity Karlovy

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

<sup>8</sup> Klinika hematonekologie, Fakultní nemocnice Ostrava a Lékařská fakulta Ostravské univerzity

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

<sup>10</sup> 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 afilice). 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  $2,85 \times 10^8$  ( $1,2-4,9 \times 10^8$ ). 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.<sup>1</sup>, Pytlík, R.<sup>2</sup>, Bhuiyanová-Ludvíková, Z.<sup>1</sup>, Rahmatová, Š.<sup>2</sup>, Čemusová, B.<sup>3</sup>, Válková, V.<sup>3</sup>, Böhmová M.<sup>1</sup>, Slouková, M.<sup>1</sup>, Soukup, P.<sup>3</sup>, Trněný, M.<sup>4</sup>, Vydra, J.<sup>3</sup>

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

<sup>4</sup>I. interní klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. 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 rozpoznaly 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 separace 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  $2,6 (2,2-3,2) \times TBV$  (celkový objem krve), 14 pacientů mělo zavedený CŽK, podaná dávka ACD-A pacientovi činila 972 (562–1 128) ml.

Obsah leukocytů v přípravku činil  $12 (4-28) \times 10^9$ , 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