

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

ČAS. LÉK. ČES., 146
2007, č. 7, s. 569–632
CLC EAL 146 (7)
569–632 (2007)

INDEXED IN:
EMBASE/Excerpta Medica
MEDLINE/Index Medicus
INIS Atomindex
CHEMICAL ABSTRACTS
Excerptováno v Bibliographia
medica czechoslovaca, Scopus

ROČNÍK 146/2007, č. 7

VEDOUcí REDAKTOR

Prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.
I. interní klinika 3. LF UK a FNKV
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

REDAKČNÍ RADA

Prof. MUDr. Pavel Barták, CSc.
Dermatovenerologická klinika 3. LF UK a FNKV
Šrobárova 50, 100 00 Praha 10

Prof. MUDr. Jaroslav Blabůš, DrSc.
ČLS JEP
Sokolská 31, 120 26 Praha 2

Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
Ústav hematologie a krevní transfuze
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

MUDr. Petr Čáp, PhD.
Centrum alergologie a klinické imunologie – OKBHI
Nemocnice Na Homolce
Rentgenova 2, 150 30 Praha 5

Prof. MUDr. Jan Dvořáček, DrSc.
Urologická klinika 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 6, 128 00 Praha 2

MUDr. Norbert Gaier, CSc.
Farmakologický ústav 1. LF UK a VFN
Albertov 4, 128 00 Praha 2

Doc. MUDr. Jozef Glasa, CSc.
Národné referenčné centrum pre manažment
a liečbu chronických hepatitíd
Limbová 12, 833 03 Bratislava, Slovenská republika

Prof. MUDr. Miloš Hájek, DrSc.
Chirurgická klinika ÚVN
U Vojenské nemocnice 1/200, 169 02 Praha 6

Pavel Hamet, M.D., PhD.
Centre hospitalier de l'université de Montreal
Hotel Dieu, 3840, rue Saint-Urban
Montreal (Québec) H2W 1T8, Canada

Prof. MUDr. Jan Holčík, DrSc.
Ústav sociálního lékařství LF MU
Komenského nám. 2, 662 43 Brno

Prof. MUDr. Zbyněk Hrnčíř, DrSc.
II. interní klinika LF UK a FN
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

Prof. MUDr. Ivan Hulín, DrSc.
Ústav patologickej fyziológie LF UK
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovenská republika

MUDr. Pavel Jerie
Leymenstrasse 49
4153 Reinach, BL 1
Schweiz

doc. MUDr. Lubomír Kukla, CSc.
Oddělení preventivní a sociální pediatrie LF MU
Bieblova 16, 613 00 Brno

Doc. MUDr. Pavel Mohr, Ph.D.
Psychiatrické centrum Praha
Ústavní 91/7, 181 02 Praha–Bohnice

Prof. MUDr. Jan Petráček, DrSc. – čestný člen redakční rady
III. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.
Onkologická klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Prof. Alexander Schirger, M.D.
Mayo Clinic, Hypertension W-9
Rochester, Minnesota 55905, USA

Doc. MUDr. Petr Smolík, CSc.
Psychiatrická klinika LF UK a FN
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

Prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc.
III. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

Prof. PhDr. Milada Řihová, CSc.
Ústav dějin lékařství a cizích jazyků 1. LF UK
Karlovo náměstí 40, 120 00 Praha 2

Prof. MUDr. Eduard Zvěřina, DrSc.
Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FNM
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

KONZULTANTI

Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.
I. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc.
Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 2, 121 09 Praha 2

Prof. MUDr. Marie Pešková, DrSc.
I. chirurgická klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc.
Neurologická klinika 1. LF UK a VFN
Kateřinská 30, 120 21 Praha 2

OBSAH

Aktuální téma

Brdička R.: Hold McKusickově „Mendelian Inheritance in Man“ 571

Přehledové články

Jerie P.: Milníky kardiovaskulární terapie. IV. Reserpin 573
Trněný M., Klener P.: Deset let od úspěšného zavedení
 první monoklonální protilátky (rituximab) do léčby lymfomů 578
Zelená J., Hájek R.: Proteomické techniky a jejich aplikace
 u hematologických onemocnění 586
Tůma P., Samcová E.: Možnosti využití kapilární elektroforézy
 v klinickém výzkumu 593
*Zenáhliková Z., Výborný J., Uchytíl Z., Krška Z., Mazoch J., Malíková I.,
 Kvasnička J.*: Trombotické komplikace při sepsi a jejich
 farmakologická profylaxe 597

Původní práce

Bartůněk P., Goričan K., Veiser T., Mrázek V., Vařejka P., Hulínská, D.:
 Informační hodnota průkazu antiborreliových protilátek u zdravých
 dárců krve a rizikové skupiny populace 603

Bartošovič I., Krajčík Š.: Porovnanie aktivít obyvateľov domovov
 dôchodcov v rokoch 1989 a 2000 608

Kazuistika

Lochman P., Kabeláč K., Pospíšil I., Dobeš D., Čáp R.: Klostridiová
 sepsa a plynatá sněť břišní stěny po cholecystektomii 614

Dějiny lékařství

Hájek M.: Ohlédnutí za významnou osobností 617
Vonka V.: Vzpomínka na profesora MUDr. Jiřího Kaňku, DrSc. 618

Vybrané souhrny 620

Zprávy 623

Osobní zprávy 625

Knihy 627

Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých 628

Laureáti Nobelovy ceny

Černý K.: Frederick Grant Banting a John James Richard Macleod ... 630
Škrha J.: Od objevu inzulínu k Nobelově ceně a ještě dále 631

CONTENTS

(No. 7, 3rd July 2007) Journal of Czech Physicians

Topic

Brdička R.: Homage to McKusick's „Mendelian
 Inheritance in Man“ 571

Review Articles

Jerie P.: Milestones of Cardiovascular Therapy. IV. Reserpine 573
Trněný M., Klener P.: Ten Years Since the Successful Introduction
 of the First Monoclonal Antibody (Rituximab) into the Therapy
 of Lymphomas 578
Zelená J., Hájek R.: Proteomics Techniques and their Application
 in Haematological Malignancies 586
Tůma P., Samcová E.: Use of Capillary Electrophoresis in the Clinical
 Research 593
*Zenáhliková Z., Výborný J., Uchytíl Z., Krška Z., Mazoch J., Malíková I.,
 Kvasnička J.*: Thrombotic Complications of Sepsis and Their
 Pharmacological Prophylaxis 597

Original Articles

Bartůněk P., Goričan K., Veiser T., Mrázek V., Vařejka P., Hulínská, D.:
 The Information Value of Detection of Borrelia Antibodies in the
 Healthy Blood Donors and in the Population at Risk 603

Bartošovič I., Krajčík Š.: Comparison of the Activities of the Elderly
 in Homes of Seniors in 1989 and 2000 608

Case Report

Lochman P., Kabeláč K., Pospíšil I., Dobeš D., Čáp R.: Clostridial
 Sepsis and Gas Gangrene of the Abdominal Wall after
 Cholecystectomy 614

History of Medicine

Hájek M.: Looking Back on the Eminent Person 617
Vonka V.: Remembrance of the Professor MUDr. Jiří Kaňka, DrSc. ... 618

Selected Abstracts 620

News 623

Personal News 625

Books 627

Instruction to the Authors 628

Nobel Prize Laureates

Černý K.: Frederick Grant Banting a John James Richard Macleod ... 630
Škrha J.: From the Discovery of Insulin Beyond the Nobel Price ... 631

<http://www.clsjep.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2007

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Vydává Česká lékařská společnost J: Ev. Purkyně, Sokolská 31, 120 26 Praha 2.
 Vedoucí redaktor prof. MUDr. Jiří Horák, CSc. Odpovědná redaktorka Mgr. Helena Glezgová.

**Příspěvky do Časopisu lékařů českých procházejí zdvojeným recenzním řízením.
 Articles published in the Journal of the Czech Physicians subject to double review.**

Tiskne: Tiskárna Prager – LD s.r.o., Kováků 9, 150 00 Praha 5.

Rozšiřuje: V České republice Nakladatelství Olympia, a.s., Praha, do zahraničí (kromě SR) – Myris Trade s.r.o., V Štíhlách 1311/3, P.O. Box 2, 142 01 Praha 4,
 ve Slovenské republice Mediaprint Kapa Pressegross, a.s. oddelenie inej formy predaja - P.O. BOX 183,
 Vajnorská 137, 831 04 Bratislava, tel.: 02/444 588 21, fax: 02/444 588 19, e-mail: predplatne@abompkapa.sk.

Vychází 12x ročně. Předplatné na rok 1152 Kč (1560 Sk), jednotlivé číslo 96 Kč (130 Sk).

Informace o předplatném podává a objednávky českých předplatitelů přijímá: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP,
 Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 296 181 805 – Jana Špalová, e-mail: spalova@cls.cz

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Inzertní oddělení ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2,
 tel.: 224 266 253, tel./fax: 224 266 265, e-mail: ntsinzerce@cls.cz

Registrační značka MK ČR E 77.

Rukopisy zasílejte na adresu prof. MUDr. Jiří Horák, CSc., I. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10, e-mail: horak@fnkv.cz

Rukopis předán do výroby dne 4. 5. 2007. Zasláné příspěvky se nevracejí, jsou archivovány ČSL JEP. Vydavatel získá otištěním příspěvku výlučné nakladatelské
 právo k jejich užití. Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány, autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu, Vydavatel a redakční rada upozorňují, že za obsah
 a jazykové zpracování inzerátů a reklam odpovídá výhradně inzerent. Žádná část tohoto časopisu nesmí být kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování
 v jakémkoliv formě či jakýmkoliv způsobem, ať již mechanickým či elektronickým včetně pořizování fotokopii, nahrávek, informačních databází na mechanických
 nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění. Zpracování pro internet provádí: NT Servis s. r.o.,
 U Kněžské louky 2124/53, 130 00 Praha 3, tel.: 284 818 342-3, fax: 284 820 966, e-mail: ntservis@ntservis.cz, internet: www.ntservis.cz

AKTUÁLNÍ TÉMA

Hold McKusickově „Mendelian Inheritance in Man“

Brdička R.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

SOUHRN

Databáze MIM vznikala postupně v 60. letech minulého století a její internetová podoba je k dispozici od roku 1985. V roce 1998 vyšlo poslední tištěné vydání o třech svazcích. Původní náplní databáze byly informace o jednoduše dědičných poruchách, která však díky rozvoji poznání lidského genomu rozšířila svůj obsah na celý jaderný i mimojaderný genom a zařadila i chorobné stavy se složitou dědičností a epigenetické zásahy do funkce lidského genomu. Stala se nepostradatelnou pomůckou pro genetiky a stává se stále užitečnější i pro ostatní medicínské obory. Obdiv k této zřejmě nejvíce oceňované aktivitě prof. V. A. McKusicka by ovšem neměl zastínit i jeho ostatní aktivity, například jeho podíl na Evropské škole lékařské genetiky, kterou již dvacet let v několika specializovaných běžích ročně pořádá v Itálii prof. Giovanni Romeo (se stručnou biografií prof. V. A. Kusicka).

Klíčová slova: databáze dědičných znaků, mendlovská dědičnost, autozomálně dominantní dědičnost, autozomálně recesivní dědičnost, X-vázaná dědičnost, Y-vázaná dědičnost, mitochondriální dědičnost.

SUMMARY

Brdička R.: Homage to McKusick's „Mendelian Inheritance in Man“

McKusick's database MIM has grown since its early beginning in sixties to 1985 when the online version (OMIM) appeared. The last edition of three volumes was printed in 1998. It has become a very valuable tool for all geneticists, and also clinicians of other disciplines started using it as a source of important information. The original limitation to disorders with mendelian inheritance has been step by step broken down, all components of human genome and also genes without known function and their epigenetic changes have been included. It was a pleasure for all of us to congratulate to McKusick's honorary degree obtained this year by the oldest European university in Bologna (with a short biography).

Key words: database of genetic disorders, Mendelian inheritance, autosomal dominant and recessive inheritance, X and Y chromosomal and mitochondrial inheritance, mitochondrial inheritance. *Br:*

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 571–572.

Tento text se opírá pouze o jedinou citaci, kterou je článek zakladatele Mendelian Inheritance in Man (MIM) prof. V. A. McKusicka (1) o pro genetiky dnes již zcela nepostradatelnou databázi dědičných znaků, který vyšel v *American Journal of Human Genetics* v dubnu tohoto roku. Databáze začala vznikat koncem 60. let minulého století z několika pramenů a měla nejdříve pouze podobu tištěnou. První kniha vyšla v roce 1966 a poslední ve třech svazcích v roce 1998. V roce 1985 se objevila v podobě online a dostala označení OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>). Díky této přeměně se stala dostupnou v mnohem širším měřítku, i když knižní vydání si stále udržuje výhodu nezávislosti na počítačovém vybavení, internetovém připojení a především na elektrickém proudu. Cílem, na který je databáze zaměřena, byla původně dědičná onemocnění s jednoduchou, dalo by se říci monogenní dědičností. Jednou z jejích předností je i to, že překonala a překonává problémy nomenklatury, označování znaků (chorob) a genů a nabízí

vždy nejen základní označení, ale používá i synonyma. Z původních tří pramenů, z nichž nejstarší byly roční přehledy lékařské genetiky vypracovávané v letech 1958–1963 na John Hopkins univerzitě, k nimž v roce 1962 připojil V. A. McKusick přehled o genetickém obsahu X-chromozómu a v roce 1963 katalog autozomálně recesivních fenotypů, vznikla v roce 1994 databáze obsahující údaje o všech zásobárnách genetických informací lidské buňky, tedy o autozomálních chromozómech, pohlavních chromozómech X a Y včetně mimojaderné oblasti reprezentované mitochondriálním genomem. Původní rozlišení na dominantně a recesivně dědičné znaky bylo s vývojem poznatků zrelativizováno, neboť často záleží na konkrétní odpovědné alele, kdy u téhož genu se jedna alela prosadí ve fenotypu i v rámci heterozygotního genotypu, kdežto jiná jen v genotypu homozygotním. Podobný problém vzniká i na úrovni, ve které se vyšetřování pohybuje. Jiný výsledek dostaneme na úrovni vnějších projevů, jiný na proteinové úrovni a jiný na úrovni genotypu. Všechny mají svůj specifický význam, který je třeba

prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
128 08 Praha 2, U Nemocnice 1
fax: +420 221 977 196, e-mail: molgen@uhkt.cz

ba zohlednit při lékařské interpretaci. Takže dnes se již původní pojetí jako seznam mendelovskými dědičných fenotypů přesunulo více k přehledu lidských genů a dědičných poruch. Tento přesun stále probíhá, ale původně zcela jednoznačná a pochopitelná strategie začínala přinášet i další problémy. Podobně, jako se zkomplikovala otázka dominance a recesivity, vývoj genetiky, zvláště její molekulární podstaty, narušil jednoduchost vztahů mezi geny a jejich projevy. Museli jsme upravit představy o monogenní dědičnosti a zařadit tzv. komplexní choroby. Vrátili jsme se k termínům pleiotropie, expresivity a penetrance, které nám pomáhají vyjádřit závislost jednotlivých genů (genotypů) na celkovém obsazení genomu ostatními geny a jejich aktivitách. Další komplikací může být skutečnost, projevující se zvláště zřetelně u komplexních chorob, že u různých osob se na jejich projevech mohou podílet různé „soupravy“ genů. To vyvolává otázku, jak se s těmito fakty struktura databáze vyrovnává. Bylo by zřejmě nejjednodušší katalogizovat geny a paralelně k nim vytvořit databázi fenotypů se vzájemným propojením, aby ten, kdo vychází z určeného genotypu, našel všechny jeho možnosti projevu ve fenotypu a obráceně, aby ohraničení fenotypu dovolilo vyhledat všechny geny, které se na vytvoření fenotypu mohly podílet. Podobný problém vzniká také díky epigenetickým změnám, které v genomu probíhají a které ovlivňují převážně expresi genů. Podobně jako variabilita odvislá od strukturních odlišností, od sestavení funkční molekuly informační RNA z různých částí genu, existuje i variabilita genové exprese kvantitativního typu, tj. variabilita, která se projevuje při porovnání jednotlivých osob, různých tkání, ale pochopitelně i buněk.

Současná databáze eviduje prakticky polovinu z celkového odhadu počtu genů lidského genomu, tj. 11.224, jichž sekvence je již známa. Fenotypů s dosud neznámou etiologií na molekulární úrovni je v databázi uvedeno 1550 a fenotypů se suspektní mendelovskou dědičností 2160. Databáze identifikuje 3003 lokusů spojených s klinickými jednotkami, 159 dalších poruch, jejichž genový produkt je znám, a 942 takových, u nichž odpovědný lokus byl již umístěn na určité místo pomoci vazby. V čem zřejmě v blízké budoucnosti McKusickova databáze získá ještě větší význam, než měla dosud? Především v tom, co jí přinese tzv. postgenomová fáze výzkumu lidského genomu, tj. poznatky o funkci genů, o mezigenových vztazích a mnoha drobných molekulách, které mají regulační funkci.

Nikoho jistě nepřekvapí rychlost růstu záznamů, jehož křivka je stále strmější. Nicméně dnes by již používání této databáze nemělo být omezeno na klinické a laboratorní genetiky, ale mělo by se stát samozřejmostí pro všechny klinické pracovníky bez ohledu na obor. I když genetiky ještě stále dominuje výzkum, více a více poznatků má již klinické použití a takových bude i nadále přibývat. Vznik a péče o MIM však není jedinou, byť zřejmě nejvíce oceňovanou aktivitou prof. McKusicka. Letos proběhly oslavy 20. výročí Evropské školy lékařské genetiky, na jejímž založení se prof. McKusick spolu s prof. Romeem podílel. Oslav se zúčastnila i řada mých studentů, z nichž jeden získal jako ocenění nejlepšího účastníka kurzu 10. vydání MIM s osobním věnováním prof. McKusicka. Oslavy výročí byly spojeny s udělením čestného doktorátu prof. McKusickovi Univerzitou v Boloni – nejstarší školou toho druhu v Evropě.

Victor Almon McKusick se narodil 21. října 1921 jako bratrské dvojče. Jeho nasměrování na lékařskou dráhu je spojováno s onemocněním – infekcí, která byla po původně nepřilíživě úspěšném léčení nakonec zvládnuta díky použití sulfanylmidu, léku objeveném teprve v té době. Vysokoškolské studium započal na Tufts univerzitě, ze které v 6. semestru přešel na John Hopkins Univerzitu. Po jejím absolvování byl přijat na interní kliniku Williama Oslera, na které se v roce 1973 stal jeho nástupcem.

Vyjmenovat všechny aktivity a tituly V. A. McKusicka je na tomto místě zbytečné a téměř nevhodné, neboť jde o člověka velmi skromného. I když si uznání, kterého se mu všeobecně dostává, plně zaslouží, nemá nikdo v jeho přítomnosti jiný dojem, než že jde o laskavého učitele a rádce.

Zkratky

MIM – Mendelian Inheritance in Man

OMIM – Online Mendelian Inheritance in Man

LITERATURA

1. **McKusick, V. A.:** Mendelian Inheritance in Man and its online Version, OMIM. Am. J. Hum. Genet., 2007, 80, s. 588-604.

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Milníky kardiovaskulární terapie IV. Reserpin

Jerie P.

SOUHRN

Rauwolfia serpentina je jeden z tropických keřů rodu *Apocyanaceae*, z nichž některé byly v lidovém lékařství užívány již dávno. Rauwolfie roste v tropickém pásmu Asie, Jižní Ameriky a Afriky. Extraktů z různých částí rauwolfie i rostlin jí podobných se užívalo ve staroindické medicíně k léčení hadího uštknutí, nespavosti, duševních chorob a jiných onemocnění či obtíží. V Evropě jako první referoval o rauwolfii Georg Eberhard Rumpf roku 1755 ve svém herbáři *Herbarium amboinense*. První vědecké pojednání o možnostech léčebné aplikace rauwolfiového kořene uveřejnili Sen a Bose roku 1931 v *Indian Medical Journal* a poté bylo publikováno mnoho prací o rauwolfii z hlediska botanického a farmakognostického a o chemii i farmakologii rauwolfiových alkaloidů v indických i evropských odborných časopisech. Roku 1949 uveřejnil Vakil první pojednání o antihypertenzivním účinku Rauwolfie v *British Heart Journal*. V laboratořích Ciba v Basileji se zabývali ve 40. letech minulého století Mueller, Schlittler a Bein výzkumem rauwolfiových alkaloidů a v roce 1952 uveřejnili první podrobné pojednání o jejich chemii a farmakologii. V témže roce byl čistý reserpin pod jménem Serpasil Ciba uveden do léčby hypertenze, tachykardie a kardiální tyreotoxikózy. Kombinace reserpinu, dihydroergocristinu a diuretika se dosud užívá (Crystepin a Brinerdin). V psychiatrii měl reserpin převratnou roli v léčení schizofrenie a paranoidních psychóz před zavedením nových syntetických neuroleptik i sedativ a serotonin-dopaminových antipsychotik. V článku jsou též stručně shrnuty základní informace o chemii, farmakologii a klinickém užití reserpinových preparátů.

Klíčová slova: reserpin, *Rauwolfia serpentina*, antihypertenziva, Crystepin, Brinerdin.

SUMMARY

Jerie P.: Milestones of Cardiovascular Therapy. IV. Reserpine

Reserpine, the purified alkaloid of *Rauwolfia serpentina*, was the first potent drug widely used in the long-term treatment of hypertension. *Rauwolfia serpentina* is a tropical woody plant of the *Apocyanaceae* family indigenous to Asia, South America and Africa. Extracts of its different parts and of plants resembling to rauwolfia were used in Hindu medicine for snakebite, insomnia, insanity and many other diseases and complaints. In Europe, Georg Eberhard Rumpf first reported about rauwolfia in his *Herbarium amboinense*, 1755. The first modern paper about therapeutic applications of the whole root of rauwolfia was published in 1931 in the *Indian Medical Journal* by Sen and Bose, and many papers dealing with botanics, chemistry and pharmacology then appeared in Indian and European periodics. In 1949, Vakil published the first report of the antihypertensive effect of rauwolfia in the *British Heart Journal*. In the Ciba laboratories in Basel, Switzerland, Mueller, Schlittler and Bein analysed various rauwolfia alkaloids and published in 1952 the first complete report about their chemistry and pharmacology. In the same year, reserpine was introduced under the name Serpasil in the treatment of hypertension, tachycardia and thyrotoxicosis. The combination of reserpine, dihydroergocristine and a diuretic is still on the market (Brinerdin, Crystepin). In psychiatry, reserpine was prescribed as a tranquilizing agent until modern synthetic antidepressant and antipsychotic drugs were introduced. The author also briefly summarizes the chemistry, pharmacology and clinical use of reserpine.

Key words: reserpine, *Rauwolfia serpentina*, antihypertensives, Crystepin, Brinerdin.

Je.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 573–577.

MÍSTO RESERPINU V LÉČBĚ HYPERTENZE

Reserpin je první účinné antihypertenzivum použitelné k chronické léčbě v široké praxi (1). Byl registrován a uveden na trh v roce 1952, tedy rok po hydralazinu (Apresolin

Ciba), který nabyl na významu teprve v kombinaci s reserpinem (Adelphan Ciba). Později bylo přidáno ještě diuretikum v trojkombinaci Adelphan-Esidrex a Ser-Ap-Es. Tyto preparáty byly staženy z trhu počátkem tohoto století, stále se však užívá osvědčené fixní kombinace Brinerdin a Brinerdin mite (Sandoz, Novartis) a Crystepin i Neocrystepin (Léčiva CZ),

MUDr. Pavel Jerie
CH 4153 Reinach/BL 1, Leymenstrasse 49, Švýcarsko
fax: +0041 617 110 443

kde je 0,1 mg reserpinu kombinováno s klopamidem, resp. chlorthalidonem a dihydroergokristinem (2).

V roce 1952 a 1953 začíná tedy účinná terapie hypertenze (HT). Do té doby užívané veratrové preparáty a ganglioplegika se především pro vedlejší účinky v chronické léčbě neosvědčily (2, 3). Thiazidová diuretika – základní antihypertenziva první volby, jež znamenala hlavní obrat v léčbě HT se dostala do praxe teprve roku 1959, prakticky počátkem šedesátých let, a beta-blokátory až po roce 1970.

Methyldopa, registrovaná roku 1963, zaujala důležité místo teprve v kombinacích kolem roku 1970. Rauwolfiové preparáty byly po dobu téměř tří desetiletí v různých kombinacích základem léčby HT a z praxe dodnes nevymizely ani v Evropě ani v USA (2, 4). Neužívají se již ve Velké Británii.

RAUWOLFIA SERPENTINA A HISTORIE RESERPINU

Rauwolfie, Pagla-Ka-Dawa (rostlina proti šílenství) byla známa již ve starověku. První zmínky lze nalézt ve spisech staroindické ajurvedské medicíny – extraktů hlavně z kořene se užívalo proti hadímu uštknutí, odtud původní anglický název „snakeroot“ či „serpentwood“ ze sanskrtu – *sarpagandha*. V hindu se Rauwolfie nazývala *čándra*, tj. měsíc, snad pro uklidňující účinek při pomatenosti, což byla asi nejpůvodnější indikace výtazku z Rauwolfie. Odvar se podával i k uklidnění dětí a hadí kořen žvýkali při meditaci též „svatí mužové“. Čaj připravený z kořene Rauwolfie prý pravidelně pil též Mohandas Karamchad (Mahatma) Gándhí (5).



Obr. 2. Vyobrazení *Rauwolfia serpentina* v Rumphově herbáři: celá rostlina, vlevo dole květ, blízna a semena, vpravo kořen

GEORGII EVERHARDI RUMPHII,
*Med. Doct. Hanavenfis, Mercatoris Senioris, & in Amboina Confiliis,
nomine PLINII INDICI celebris, & Membri Infultris Societatis
Academias Naturas Curioforum Germaniae,*

HERBARIUM AMBOINENSIS AUCTUARIUM,

Reliquas complectens Arborea, Frutices, ac Plantas,

QUAE IN AMBOINA,
ET ADJACENTIBUS DEMUM REPERTAE SUNT INSULIS,
Omnes accuratissime descriptae, & delineatae juxta earum
formas, cum diversis Indicis denominationibus,
cultura, usu, ac viribus;

Nunc primum in lucem editum, & in Latinum fermonem versum,
Cura & Studio

JOANNIS BURMANNI,
*Med. Doct. Infultris Athenaei, & Horti Medici Amstelaedamensis Professoris
Botanici,*

Academiae Caesareae Naturas curioforum Socii.

Qui varia adiecit Synonyma, suasque Observaciones.



AMSTELÆDAMI,
Apud { M Y N A R D U M U Y T W E R F,
& S C H O U T E N,
Viduum ac Filium S. & C.
M. DCC. LV.

Obr. 1. Titulní list k herbáři G. E. Rumphia z roku 1755

Do Evropy se první zprávy o „hadím kořenu“ dostaly v knize o hindustánském lékařství, kterou napsal roku 1563 García de Orta, jež se opíral o pojednání Čarka sanhita z doby okolo roku 1000 př. n. l. Podrobnější zpráva je až v knize Herbarium Amboinense od lékaře Georga E. Rumphia, vydané v roce 1755 (obr. 1, 2). Popisuje, jak se zvířata chrání požitím listů Rauwolfie proti hadímu uštknutí, a líčí též, jak byliny užívají domorodci.

První zasvěcený botanický popis Rauwolfie podal francouzský botanik Charles Plumier roku 1703 a pojmenoval ji na počest augsburského lékaře dr. Leonharda Rauwolfa, který ji ale vůbec neznal, protože cestoval po Blízkém Východě, kde Rauwolfie neroste. Vyskytuje se v tropických pásmech Afriky, Asie a Jižní Ameriky, kde se všude užívalo odvaru z různých částí byliny jako univerzálního léku a ovšem i jedu v travičství. Příznaky požití byly dobře známy; jsou závislé na dávce a totožné s účinkem čistého reserpinu. Oficiální západní věda se o Rauwolfii dlouho nezajímala, ačkoli její terapeutické užití včetně hypotonického účinku uveřejnili Sen a Bose roku 1931 v Indian Medical Journal. Teprve pojednání R. J. Vakila v British Heart Journal z roku 1949 o účinku výtazku z Rauwolfie při HT vzbudilo pozornost (6). Podle amerických pramenů to byl jako první R. W. Wilkins, ředitel hypertenzní kliniky v Massachusetts Memorial Hospital, který si po přečtení Vakilovy práce objednal z Indie tablety připravené z celého kořene a vyzkoušel jejich účinek u padesáti hypertoniků. Referoval o tom roku 1952 (7). Odborníci ve farmaceutickém průmyslu ale rozhodně nemohli přehlédnout zprávy publikované např. již roku 1935 v Listech londýnské i švýcarské chemické

ké společnosti (Barger a Scholz), výsledky z Německa (Hahn et al.), ani práce o farmakologii rauwolfiových alkaloidů, o jejichž výsledcích referoval Raymond–Hamet ve zprávách Lékařské akademie a Biologické společnosti v Paříži (3, 8).

Alkaloidy z různých druhů rauwolfie systematicky zkoumali v basilejských laboratořích firmy Ciba již od roku 1940 chemici J. M. Mueller, E. Schlittler a H. J. Bein (8). Izolovali reserpin z *Rauwolfia serpentina* BENTH, ex Kurz (*R.s.*) a v roce 1952 uveřejnili pojednání, jež se stalo základem dalšího výzkumu alkaloidů reserpinové řady (8). Na přelomu let 1952 a 1953 byl již čistý reserpin v kapkách k dispozici pod firemním názvem Serpasil. V archivním materiálu Novartis (dříve Sandoz a Ciba) je o tom shromážděna bohatá dokumentace. „Early 1950 Serpasil was ready“ dočítáme se ve zvláštním čísle firemních zpráv (9).

Chemickému a farmakologickému výzkumu alkaloidů z *R.s.* ovšem předcházely rozsáhlé studie botanické a farmakognostické, které – pokud jde o rozsah a hloubku – nemají ve výzkumu léčivých rostlin obdoby.

RAUWOLFIE – BOTANICKÉ ASPEKTY

Rauwolfia je tropický rod (genus) dřevnatých rostlin – převážně keřů – patřících mezi *Apocyanaceae*, z nichž mnohé rovněž poskytují medicínální drogy, které se uplatnily v humánní farmakoterapii, jako např. strofantin, thevetin a vincamin (3, 10, 11). Celý rod byl pečlivě zpracován a dále rozříděn z hlediska botanického i farmakognostického. Botanické třídění je založeno na výskytu rostlin, jejich anatomii a na histologii kořenů. Bylo popsáno přes 175 druhů rauwolfiových dřevin, jejichž názvy jsou odvozeny od zmíněných kritérií (*R. bahiensis*, *R. cambodiana*, *R. tetraphylla*, *R. viridis*) ale i účinku (*R. vomitoria*). Jednotlivé druhy jsou velice rozdílné. *R. praecox* roste v Peru jako strom vysoký až 30 metrů, zatímco v Rhodesii rostoucí *R. nana* je jen 15 cm vysoký keř. *Rauwolfia serpentina* je popisována jako menší keř, který na dálku vypadá jako drobná azalka. V polovině minulého století byl o Rauwolfii všech druhů velký zájem, protože z ní byly izolovány nejrůznější alkaloidy s odlišnými účinky, a reserpin byl nalezen ve čtyřech dalších druzích. Avšak poté, co R. B. Woodward roku 1956 reserpin syntetizoval a farmakologie různých alkaloidů byla objasněna, zájem o jejich přírodní zdroje poklesl. Zato chemie reserpinových derivátů a analogů je dobře známa.

Chemická klasifikace rauwolfiových alkaloidů se opírá o původní práce Muellera, Schlittlera a Beina. Všechny mají základní yohimbinovou strukturu a třídí se nejčastěji na 1. yohimbin a jeho izomery, 2. alkaloidy reserpinového typu, 3. E-heterocyklické alkaloidy a jejich analoga (ajmalinin a serpentin) a 4. alkaloidy ajmalinového typu. Pouze reserpinové alkaloidy, tj. esterifikované 18-hydroxy-yohimbininy mají výrazné léčebné účinky. Některé stereoizomery reserpinu chemicky připravené mají velmi malý hypotenzivní účinek, léčebně bezvýznamný (8).

FARMAKOLOGIE RESERPINU

Reserpin má především sedativní až hypnosedativní účinek, při čemž ani vysoké dávky nepůsobí narkoticky.

U pokusných zvířat i u člověka snižuje reserpin krevní tlak. Snižování tlaku je následkem periferní vazodilatace, jež je velmi výrazná i u kožních cév. Pokles TK je provázen bradykardií. V pokuse na izolovaném srdci reserpin lehce zesiluje kontrakci a zvyšuje tak systolický (pulzový) objem. Pokles TK je tedy centrálního původu, neurohumorální mediátorové mechanismy a vegetativní ganglia zůstávají neovlivněny. Při dlouhodobém podávání reserpinu však minutový objem klesá a při zvýšení dávek může dojít ke kolapsu. Celkový obraz reserpinového účinku lze shrnout jako následek sníženého tonu sympatiku a převahu parasympatiku: Nalézáme miózu, zvýšenou sekreci slin a zvýšenou motilitu střevní a periferní vazodilataci. Pokusně byl prokázán depresivní vliv reserpinu na hypothalamus a odtud na formatio reticularis a nadřazená sympatická centra. Tak lze vysvětlit vliv rauwolfiových alkaloidů i na dýchací centrum a u vyšších dávek ovlivnění psychiky a dále i změny osobnosti a případně rozvoj extrapyramidových příznaků (3, 10–14).

Mechanismus účinku reserpinu spočívá v protrahované depleci katecholaminů a serotoninu ve všech orgánech, zejména v mozku, ale i v nervových zakončeních. Tato deplece přetrvává i poté, když byl reserpin vyplaven ze všech tkání – jde tedy o jakousi poruchu „zásobovací kapacity“ katecholaminů, při čemž rychlost jejich syntézy není porušena. Po podání reserpinu je snížená koncentrace katecholaminů měřitelná už za 1 hodinu a maxima snížení je dosaženo za 24 hodiny. Dopamin je vyplavován rychleji než adrenalin a noradrenalin. Protože tkáňové katecholaminy jsou doplňovány relativně pomalu, opakované podání reserpinu má kumulativní efekt, i když intervaly mezi dávkami jsou dlouhé. Poločas vylučování je po první dávce 4,5 hodiny, terminální – při chronickém podávání 45 až 168 hodin. Koncentrace katecholaminů ve tkáních je tedy při dlouhodobém podávání značně snižena, takže zvýšení dávky navodí hypotenzi, bradykardii a může vést ke kolapsu. Mióza, zvýšená salivace a průjem jsou způsobeny převahou centrálního parasympatického tonu (10, 15).

Reserpin se vylučuje převážně – přes 60 % stolicí, během 4 dnů, zbytek renálně. Při poruše renálních funkcí se poločas vylučování prodlužuje až na dvojnásobek (4).

KLINICKÉ ZKUŠENOSTI

Neobvyklé farmakodynamické a farmakokinetické vlastnosti rauwolfiových alkaloidů byly zdrojem omylů v preskripci a příčinou prvních zklamání v léčbě hypertenze. Protože se očekávaný účinek nedostavil ihned, byla zvýšena dávka, nebo byla léčba vůbec otevřena vysokou dávkou, jestliže šlo o těžší formy HT. Výsledkem byly nežádoucí vedlejší účinky, především pocit ucpaného nosu, únava, zácpa a spavost, bradykardie, kolaps a později deprese. V první době po zavedení rauwolfiových léků (Serpasil a Rivadescin) do praxe se stávalo, že pacientům s akutním infarktem myokardu a zvýšeným TK se podala hned na počátku „útočná dávka“, obvykle 3x0,25 mg, což vedlo k těžkému šokovému stavu, nezřídka ireverzibilnímu. Byly totiž „školy“, které interpretovaly bradykardický účinek reserpinu jako obdobu digitalisového efektu a nazývaly reserpin „třetím kardiotonikem“. Kritické následky měla také aplikace u pacientů s dekompenzovaným cor pulmonale. Docházelo ke zpomale-

ní dechu, bradykardii, poklesu TK a zhoršení cyanózy. Okamžité podání centrálních analeptik (tehdy Metrazol, Cardiazol a Coramin) a inhalace kyslíku obvykle promptně přineslo úlevu (10–15).

Základní indikací reserpinových alkaloidů byla hypertenzní choroba a kardiální tyreotoxikóza i sinusová tachykardie. Správné počáteční dávkování bylo 0,1 mg jednou, případně 2× denně, které vedlo během dvou až tří dnů u hyperteniků k signifikantnímu poklesu TK. Nestáčila-li monoterapie, přidával se opatrně ve stoupajících dávkách hydralazin (Apresolin), později obsažený ve fixní kombinaci s reserpinem (Adelphan Ciba). Hydralazin byl první syntetické antihypertenzivum, rovněž z laboratoří Ciba, registrované roku 1951. K monoterapii není vhodný (2, 11), v kombinacích s malými dávkami reserpinu a diuretika se udržel na trhu velmi dlouho. Nyní se neužívá, nahradil jej Brinerdin (Crystepin), v němž je místo hydralazinu dihydroergocristin, který snižuje periferní cévní rezistenci svým alfa-adrenolytickým účinkem a má méně nežádoucích účinků než Adelphan a Adelphan-Esidrex (13).

Rauwolfiové preparáty byly též velkým přínosem v psychiatrii dlouho před tím, než byla zavedena nová neuroleptika a antidepresiva. Užívaly se u chronických schizofrenií a obsedantních stavů, při parafreenii a paranoidních psychózách. Zlepšení se projevovalo jako snížení afektivního napětí a zmírnění emoční odezvy – halucinací a bludů, a ovšem celkovým uklidněním. Švýcarští psychiatři nazývali tento dříve nevídaný stav „Serpasilentium“. V Československu se studiem účinku rauwolfiových preparátů v psychiatrii zabýval především prof. Vladimír Vondráček, který též publikoval srovnání výsledků léčby s chlorpromazinem (14). Zajímavé je nejen srovnání vedlejších účinků, ale i pozorování, že ani velmi vysoké dávky reserpinu nebyly smrtelné. Úmrtí byla zaznamenána vždy z druhotných příčin – buď jako komplikace základního, nebo komplikujícího onemocnění (3). V pokusech na zvířatech nastává smrt po podání enormních dávek zástavou dýchání při útlumu dýchacího centra (3, 11).

Úspěchy léčby rauwolfiovými preparáty byly zejména v psychiatrii neobyčejné; zde také byly získány zkušenosti s vysokými dávkami (14). U psychóz bylo doporučeno 5–10 mg denně při minimálním trvání léčebné kúry 2–3 měsíce. Tu docházelo pochopitelně často ke kumulaci nežádoucích účinků. Tehdy sestrojila Ciba preparát se silně vyjádřenými centrálně stimulujícími účinky, Ritalin (methylphenidathydrochlorid), používaný dnes u narkolepsie a dětí trpících syndromem nepozornosti a hyperaktivity (Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder – ADHD, DSM-IV). Ritalin byl jednu dobu kombinován se Serpasilem v přípravku Serpatonil pro potřeby psychiatrů; čistý se užíval jako psychomimetikum, slabší než psychoton. Zájem o reserpin ochabl, když byla uvedena na trh nová antihypertenziva a moderní psychofarmaka. Navíc tu bylo podezření, že reserpin zvyšuje u žen dlouhodobě jím léčených výskyt karcinomu prsu (Ca mammae). Podnět k tomu dala data tzv. Bostonské studie (16), podle níž byl výskyt Ca mammae 3× vyšší u žen, které užívaly reserpin, oproti ženám neléčeným. Nová kritická vyhodnocení poukázala na metodické nedostatky a byly publikovány i další studie, zabývající se koincencí rakoviny s léčbou moderními antihypertenzivy. Diskuze byla roku 1976 uzavřena v tom smyslu, že neexistuje prokazatelný vztah mezi léčbou reserpinem a rakovinou prsu u hyperteniků léčených reserpinem (17).

KOMENTÁŘ

Reserpin je první antihypertenzivum ze skupiny psychotropních látek, u kterého bylo prokázáno, že na snížení TK se podílí ovlivněním centrálních regulativních mechanismů. Proto se řadí mezi **centrální antihypertenziva**, mezi něž patří alfa-metyldopa, clonidin (Catapresan), guanfacin (Estulic) a nově moxonidin (Cynt) a rilmenidin (Texanum). Užití dvou naposled jmenovaných se ještě nevžilo. První tři patří mezi výtečně dokumentovaná antihypertenziva (2,15). Nesnižují minutový objem a nemají nepříznivý vliv na vodně-minerální, ani na glycidový či lipidový metabolismus. Spíše naopak. Problém tolerance a rebound-efektu (withdrawal phenomenon, zvýšení TK po náhlém vysazení) je především otázka dávkování a vhodné kombinace (17).

Význam rauwolfiových alkaloidů nespočívá však jen v jejich léčebném využití u hypertenze a v psychiatrii. Na základě zkušeností získaných při studiu reserpinu a z praxe lze považovat účinek v mozkových centrech za průkaz, že u esenciální hypertenze jde o poruchu centrální hemodynamické regulace, jak upozornil prof. Jan Brod na základě vlastních studií (18). Porušená centrální regulace by se mohla podílet i na etiopatogenezi onemocnění, jejichž součástí je i vysoký TK, například u metabolického syndromu – ať už je či není nozologickou jednotkou – u něhož účast psychogenních (v každém případě centrálních) faktorů nelze vyloučit. Zatím o tom chybí jen evidence.

Zkratky

ADHA	– syndrom nepozornosti a hyperaktivity u dětí (Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder)
Ca mammae	– karcinom prsu
DSM	– diagnostický a statistický manuál psychických chorob (psychiatrická klasifikace podle Americké psychiatrické společnosti – DSM-IV je 4. vydání jeho textové revize)
HT	– arteriální hypertenze
TK	– krevní tlak
R.s.	– <i>Rauwolfia serpentina</i>

LITERATURA

1. **Ménard, J.:** Comment faire progresser la thérapeutique antihypertensive. In: Milliez, P.: Pharmacologie clinique des antihypertenseurs. Paris, Sandoz Editions, 1973. s. 19-35.
2. **Widimský, J.:** 50 let historie léčby hypertenze. Praha, Triton, 2001, s. 189.
3. **Woodson, R. E. Jr., Youngken, H. W., Schlittler, E., Schneider, J. A.:** Rauwolfia, Botany, Pharmacognosy, chemistry and pharmacology. Boston, Toronto, Little, Brown and Comp., 1957, s. 145.
4. USPDI 1997 – Drug Information for the Health Care Professional, 17. Ed Rockville, USA, 1997, s. 3362.
5. **Kreigová, M. B.:** Zelená medicína. Praha, Orbis, 1970, s. 251.
6. **Vakil, R. J.:** A clinical trial of rauwolfia serpentina in essential hypertension. Brit. Heart J., 1949, 11, s. 350-358.
7. **Wilkins, R. W.:** New drug therapies in arterial hypertension. Ann. Intern. Med., 1952, 37, s. 1144-1151.
8. **Schlittler, E.:** The chemistry of rauwolfia alkaloids. In: Woodson, R. E. et al. s. 50-108 (viz sub 3).

9. **Anonymus:** The story of Serpasil. CIBA Pharmaceut. Products Inc. New York, Summit, 1955.
10. **Gilman, A. G., Goodman, L. S. (eds.):** The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7th edition. New York, Macmillan, 1985, s. 1839.
11. **Švec, F.:** Farmakodynamika – II. vyd. Bratislava, Slov. akademie vied, 1956, s. 705.
12. **Brod, J.:** The Kidney. London, Butterworths, 1973, s. 740.
13. Novartis Index 2000/2001. Basic prescribing information and Basic Succint statements. Basel, Novartis, 2001, s. 876.
14. **Vondráček, V., Riedl, O.:** Klinická toxikologie. Praha, SZN, 1958, s. 690.
15. Martindale, 2005. The complete drug reference. London, Chicago, Ed S. C. Sweetman, Pharmaceutical Press, 2005, s. 2756.
16. Boston Collaborative Drug Surveillance Program: Reserpine and breast cancer. Lancet, 1974, 2 (7882), s. 669.
17. **McMahon, F. G. :** Management of essential hypertension. New York, Futura Publ. Copany, Inc., Mount Kisco, 1978, s. 468.
18. **Brod, J., Hejl, Z.:** Hemodynamické změny při hypotensním působení výtažků z *Rauwolfia serpentina*. Čas. Lék. čes., 1957, 96, s. 1129.

I am greatly intebted to Mrs. Elisabeth Gantner and Mr. Walter Dettwiler of Novartis Comp. Archives. Basel, who provided me with inaccessible original documents.



SRDEČNÍ ARYTMIE V KAZUISTIKÁCH

Postupy podle léčebných standardů

Jan Lukl

Tato publikace je první svého druhu na českém trhu. Vychází z rozboru jednotlivých případů nemocných se srdečními arytmiemi, na kterých by se měl čtenář poučit jaké jsou nevhodnější, ale také nejméně vhodné postupy a kroky v rozhodovacím algoritmu. Hlavní důraz je kladen na první kapitulu o maligních srdečních arytmiích, kde se nejčastěji setkáváme s chybnými postupy, které mohou vážně ohrozit prognózu nemocného. Kniha je určena hlavně praktickým lékařům, internistům a praktickým kardiologům. Všichni tyto lékaři mohou participovat na diagnostice. Čtenáři by po přečtení publikace mohli korigovat některé chybné postupy, které jsou vždy uváděny v komentářích pod čarou. Dílo lze zařadit mezi vysoce odborné publikace.

Vydala Grada Publishing v roce 2005, ISBN 89-0-247-1544-9, kat. číslo 1190, formát 15x21, pevná vazba, 116 stran, cena 149 Kč.

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Deset let od úspěšného zavedení první monoklonální protilátky (rituximab) do léčby lymfomů

Trněný M., Klener P.

I. interní klinika I. LF UK a VFN, Praha

SOUHRN

Léčba nádorových onemocnění je založena na kombinaci systémového podání chemoterapie a lokální radioterapie. V posledních deseti letech se objevily nové metody biologické léčby, kam lze zařadit i použití monoklonálních protilátek. Od roku 1997, kdy byl uveden do léčebných schémat rituximab, anti-CD20 protilátka byl zaznamenán bouřlivý rozvoj. Rituximab se stal základní součástí léčebných schémat pro nehodgkinské maligní lymfomy exprimující CD20 antigen, chronickou lymfatickou leukémií a další i nenádorová onemocnění. Imunochemoterapie poprvé v historii umožnila zlepšení přežití u indolentních lymfomů, které byly dříve považovány za inkurabilní. V předkládaném přehledném článku jsou stručně shrnuty hlavní mezníky v cestě za úspěšnou léčbou monoklonálními protilátkami, výsledky léčby rituximabem a dalšími registrovanými monoklonálními protilátkami (alemtuzumab, ibritumomab tiuxetan 90-Y) a je podán přehled nově testovaných monoklonálních protilátek. Ukazuje se, že ač je cena samotné léčby vysoká, celkově je použití rituximabu vysoce nákladově efektivní.

Klíčová slova: lymfom, rituximab, alemtuzumab, radioimunoterapie, monoklonální protilátka.

SUMMARY

Trněný M., Klener P.: Ten Years Since the Successful Introduction of the First Monoclonal Antibody (Rituximab) into the Therapy of Lymphomas

Cancer treatment is based on combination of systemic chemotherapy and radiotherapy. The new methods of therapy based on biological principles have been introduced within last decade. The monoclonal antibody rituximab was launched ten years ago in 1997. This antibody against CD20 antigen, which is expressed on B cell lymphocytes and on the majority of B-cell lymphoid malignancies, has revolutionized the lymphoma therapeutic strategy. The immuno-chemotherapy has dramatically improved the outcome of diffuse large B-cell lymphomas patients. The combination of rituximab and chemotherapy as first line therapy has for the first time improved the survival of follicular lymphoma patients previously considered to be incurable. Rituximab has become the inevitable part of therapeutic regimens for other B-cell lymphomas, chronic lymphocytic leukaemia as well as for some non-malignant diseases. The important milestones, the therapeutic results of rituximab and other approved monoclonal antibodies (alemtuzumab, ibritumomab tiuxetan 90Y) is reviewed in this paper as well as short compendium of new antibodies is given. The cost effectiveness of the new therapy is discussed.

Key words: lymphoma, rituximab, alemtuzumab, radioimmunotherapy, monoclonal antibody *Tr:*

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 578–585.

Mezi nejúspěšněji léčitelné nádory patří maligní lymfomy. Hodgkinův lymfom byl prvním vyléčitelným nádorem a zavedení kombinované chemoterapie (MOPP a ABVD) (1, 2) v sedmdesátých letech 20. století vedlo k výraznému zlepšení přežití. S postupnou intenzifikací léčby (např. režim BEACOPP) u pokročilých forem onemocnění se i v těchto případech daří dosáhnout 91% celkového přežití a 87% přežití bez selhání léčby v 5 letech (3). Výsledky léčby nehodgkinských lymfomů (NHL) se zavedením kombinované chemoterapie u nemocných s agresivními formami lymfomů také zlepšily a stalo se z nich potenciálně kurabilní onemocnění (4). Výsledky se ale nedařilo dále zlepšovat výraznějším způsobem ani zaváděním režimů druhé a další

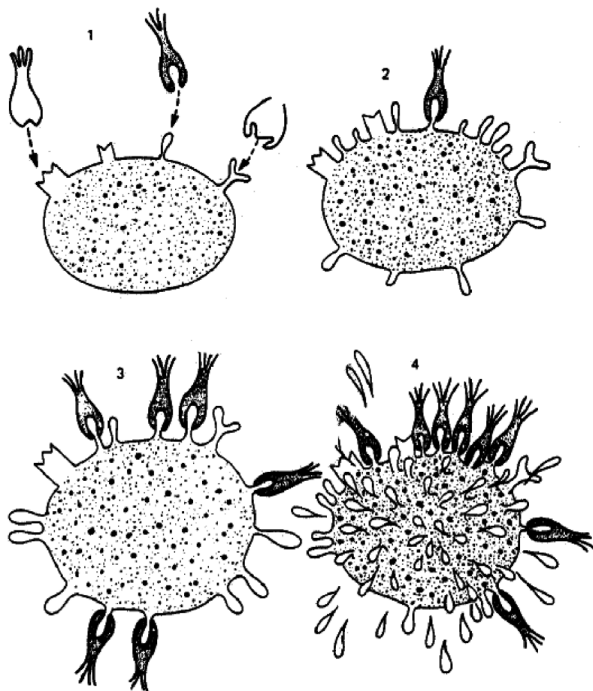
generace při srovnání se standardním režimem CHOP (5). Ani testování vysokodávkované terapie s autologní transplantací krvetvorných buněk nepřineslo zatím v randomizovaných studiích jednoznačné výsledky (6). Ve skupině nemocných s indolentními lymfomy se přes pokusy intenzifikovat léčbu a zařazení interferonu alfa do léčby folikulárních lymfomů ukazovalo, že osud nemocných se nezdařilo významněji zlepšit (7).

Přestože tedy chemoterapie u NHL zůstávala a zůstává klíčovým přístupem, který u řady nemocných může zlepšit jejich osud, další zlepšování jejich výsledků zůstávalo problematické. Přelom v léčbě z pohledu klinického znamenal až rok 1997, kdy bylo schváleno použití první monoklonální

léčby, antiCD20 – rituximabu, pro nemocné s relapsem či rezistencí folikulárního CD20 pozitivního lymfomu, na základě studie, plně publikované v roce 1998 (8). Jednalo se o první rutinní použití monoklonální protilátky v nádorové terapii. Od té doby se výrazně rozšířila indikační šíře této protilátky a zároveň se objevila řada dalších protilátek, které jsou testovány v klinických studiích. Cílem tohoto přehledu je shrnout vývoj terapie monoklonálními protilátkami, mechanismus účinku, indikace a podat stručnou informaci o nově testovaných protilátkách.

HISTORIE LÉČBY MONOKLONÁLNÍMI PROTILÁTKAMI

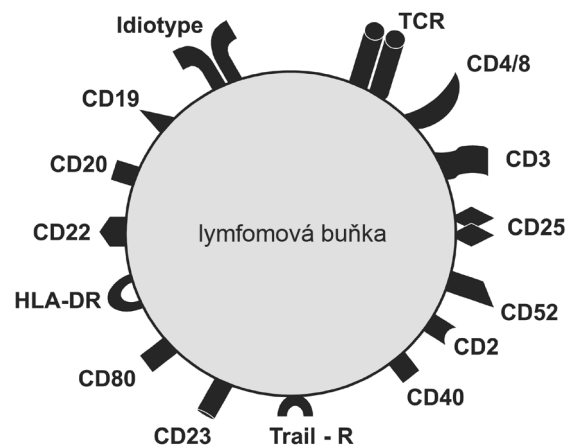
Koncepce mechanismu obrany organismu pomocí protilátek je stará více než jedno století a u jejího zrodu stál mimo jiné Paul Ehrlich, který svou teorií postranních řetězců řešil otázku, jak je imunitní systém schopen s takovou specifikitou rozeznávat tolik různých antigenů. Obrázek z publikace z roku 1900 (9) (obr. 1) ilustruje překvapivě současným způ-



Obr. 1. Buňka s povrchovými antigeny a protilátkami podle Paula Ehrlicheho (1900)

sobem jeho představy, přestože vycházel z představy, že antigeny modifikují protilátkovou imunitu, zatímco současný pohled předpokládá, že antigen stimuluje odpovídající B-lymfocyt, který je diferencován dopředu bez znalosti antigenu. Zásadním přelomem v cestě za přesnou diagnostikou a posléze i terapií byl objev tvorby monoklonálních protilátek pomocí konstrukce hybridomů (10), za něž byli Köhler a Milstein v roce 1984 oceněni Nobelovou cenou. Získávání specifických protilátek umožnilo důkladné studium imunitního systému a také posléze významnou měrou vytvoření současné klasifikace lymfoproliferativních chorob, nejprve v provizorní formě jako REAL klasifikace (11) a posléze

jako WHO klasifikace lymfoproliferací (12). Terapeuticky byla poprvé monoklonální protilátka použita v léčbě lymfomů v roce 1980 (13), kdy se jednalo o myší protilátku Ab 89 namířenou proti s lymfomem asociovanému antigenu, který nebyl přesně specifikován. Po podání dvou dávek protilátky pacientovi byl pozorován pokles počtu cirkulujících lymfomových buněk. Do počátku devadesátých let byly zkoušeny protilátky proti řadě antigenů – CD4, CD 5, CD10, CD20, CD 21, CD25, CD52 a v řadě případů cílový antigen nebyl znám. První antiCD20 protilátka byla použita v roce 1987 (14). Jednalo se o protilátku tvořenou myší bílkovinou a přes vědecký přínos a atraktivnost konceptu byly klinické výsledky hodnoceny jako celkově neuspokojivé (15). Předpokladem pro dostatečnou účinnost je vazba na buněčný receptor, který není internalizován, a vyvolání ať již přímého efektu, apoptózy, nebo aktivace efektorového mechanismu. Přehled potenciálních antigenů pro použití léčby monoklonálními protilátkami je na obrázku 2. Myší protilátky indukují tvor-

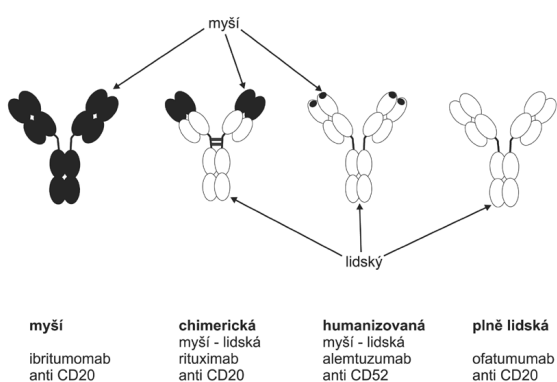


Obr. 2. Potenciální cílové antigeny na lymfomové buňce

bu lidských protilátek proti sobě samým (HAMA – human anti-mouse antibody) a ukázalo, se že nejsou příliš efektivními v aktivaci efektorových mechanismů, které vedou k destrukci cílové buňky. Dalším přelomem v léčbě monoklonálními protilátkami bylo vytvoření chimerických a humanizovaných protilátek.

TYPY MONOKLONÁLNÍCH PROTILÁTEK A MECHANIZMUS JEJICH ÚČINKU

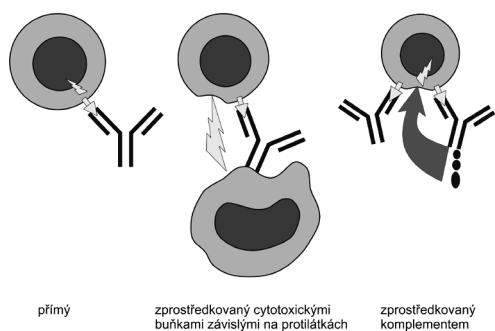
V současnosti se můžeme setkat se čtyřmi základními typy monoklonálních protilátek (MoAb) (obr. 3). Jedná se jednak o zvířecí (nejčastěji myší), chimerické, humanizované a plně lidské protilátky. Rozdíl mezi nimi spočívá v poměru lidské a zvířecí bílkoviny. Monoklonální protilátky myšího původu mají koncovku -momab, například ibritumomab – myší anti-CD20 MoAb. Již bylo zmíněno, že tyto protilátky indukují tvorbu lidských protilátek (HAMA). U chimerických MoAb je variabilní část myšího původu a konstantní původu lidského. Jejich koncova je -ximab. Jako příklad může sloužit rituximab, antiCD 20 MoAb, která byla jako první a velmi úspěšná protilátka zavedena do klinické praxe. Poměr lidské a cizí



Obr. 3. Typy monoklonálních protilátek, skladba dle původu proteinu (myší, lidský)

bílkoviny je zhruba 60–70 % proti 30–40 %. V poslední době se lze také setkat s tak zvanými primatizovanými protilátkami, které jsou protilátkami chimerickými, ale místo variabilní oblasti myšího původu je použita variabilní oblast, která pochází z primáta. Jako příklad může sloužit galiximab (anti CD80 MoAb), kde variabilní oblast je z makaka jávského. I zde mohou vznikat protilátky proti chimerické MoAb charakterizované jako tzv. HACA (human anti-chimeric antibody). V humanizovaných MoAb jsou myšího původu jen vazebná místa ve variabilní oblasti. Poměr lidské a myší bílkoviny je zhruba 95 % ku 5 %. Tyto protilátky nesou ve své koncovce -zumab. Příkladem může být anti CD52 protilátka alemtuzumab. I proti nim mohou vzniknout protilátky, tzv. HAHA protilátky (human anti-human antibody). V posledních letech se začaly testovat plně lidské protilátky, které poznáme podle koncovky - mumab. Příkladem může být anti-CD20 MoAb, ofatumumab.

Mechanismus účinku může být buď přímý, který spočívá v iniciaci apoptózy, nebo zprostředkovaný efektorovým mechanismem. Tím může být buď aktivace komplementu, nebo účast na protilátkách dependentních cytotoxických buněk (ADCC – antibody dependent cytotoxic cells) (obr. 4).



Obr. 4. Mechanismus účinku monoklonálních protilátek

V *in vitro* experimentech byl prokázán význam všech mechanismů, v *in vitro* situaci se zdá, že rozhodující význam mají mechanismy využívající aktivaci ADCC a částečně i komplementem zprostředkovaná cytotoxicita (16).

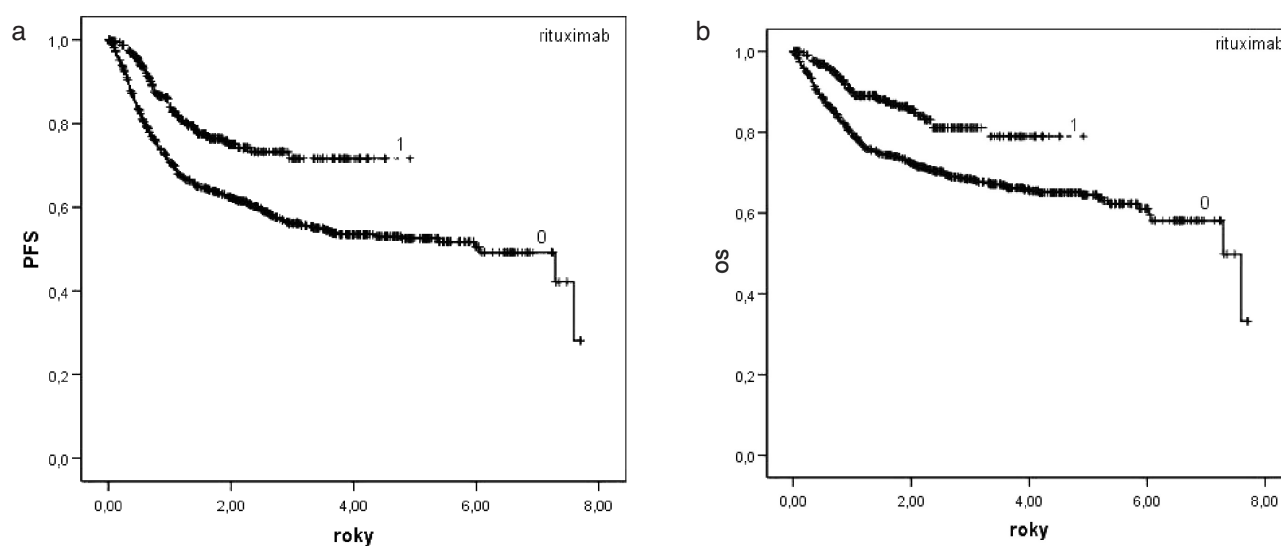
V současné době jsou registrovány a pro běžné použití dostupné tři monoklonální protilátky: antiCD20 – rituximab

(MabThera), antiCD52 – alemtuzumab (MabCampath) a protilátka antiCD20 – ibritumomab tiuxetan konjugovaná s radionuklidem ^{90}Y (Zevalin). Řada dalších protilátek se testuje v klinických studiích.

Rituximab (MabThera)

Antigen CD20 je konstantně exprimován na povrchu většiny B-lymfocytů i periferních B-lymfoproliferací, není internalizován a je tak výborným cílem pro protilátkovou terapii. Jeho funkce není přesně známa, zdá se, že může fungovat jako kalciový kanál. Chimerická protilátka rituximab (IDEC-C2B8) se ukázala jako účinná u poloviny nemocných s relabujícím či chemorezistentním lymfomem ve studii, která vedla ke schválení její indikace u této skupiny nemocných (17). Aplikace v monoterapii ve formě 1 infuze týdně v dávce 375 mg/m² do celkového počtu 4 dávek se stalo standardní metodou v léčbě těchto nemocných. Rituximab v monoterapii vykazoval jen mírnou aktivitu u agresivních forem B-lymfomů (18). U nemocných s nově diagnostikovaným difúzním velkobuněčným lymfomem (DLBCL) se však kombinace rituximabu se standardním chemoterapeutickým režimem CHOP ukázala jako signifikantně lepší než samotná chemoterapie jak v počtu odpovědí, tak i v délce přežití celkového i přežití bez známek progresu (19). Tento výsledek dosažený v populaci nemocných starších 60 let byl potvrzen v dalších studiích (20), a to i pro nemocné mladší 60 let s nízkým rizikem dle mezinárodního prognostického indexu (21). Tyto výsledky byly potvrzeny i v populační studii z Britské Kolumbie, kde při srovnání éry předrituximabové s rituximabovou výrazně vzrostla naděje nemocných na přežití (22). Rovněž při srovnání nemocných léčených v České republice a registrovaných v registru České kooperativní lymfomové skupiny dosáhli nemocní, pokud byli léčeni rituximabem a chemoterapií, výrazného zlepšení přežití ve srovnání s nemocnými léčenými samotnou chemoterapií. Zařazením rituximabu se pravděpodobnost celkového přežití zvýšila o 19 % a přežití bez známek progresu o 27 % proti skupině léčené jen chemoterapií (23) (obr. 5). V posledních dvou letech bylo publikováno několik randomizovaných studií, které potvrdily, že přidáním rituximabu k chemoterapii (CVP, CHOP a další) u nemocných s folikulárním lymfomem (FL) lze dosáhnout nejen zlepšení doby do progresu, ale také celkového přežití (24–26). Je to poprvé v historii léčby indolentního lymfomu, jako je FL, že první linie léčby zlepšila při poměrně krátkodobém sledování i celkové přežití. Průběh choroby indolentních lymfomů je charakterizován opakovanými relapsy, a proto byla v minulosti opakovaně testována možnost udržovací terapie. Prvá randomizovaná studie rituximabem u nemocných s relapsem FL, kteří dosáhli alespoň parciální odpovědi, ukázala, že podávání rituximabu jako udržovací léčby formou jedné infuze za 3 měsíce po dobu dvou let vede k signifikantnímu zlepšení jak doby do další progresu (medián 51,5 měsíců proti 14,9 měsíce ve skupině bez udržovací léčby), tak celkového přežití – 85 % proti 77 % ve třech letech (27).

Účinnost rituximabu tak byla demonstrována i u řady méně frekventních lymfoproliferací, jako je například lymfom z plášťových buněk (MCL), kdy jeho zařazení do léčebného schématu vede ve srovnání se samotnou chemoterapií k výraznějším léčebným výsledkům (28, 29). Tyto výsledky byly potvrzeny i v rámci metaanalýzy publikovaných studií (30).



Obr. 5. Přežití bez známek progresu a celkové přežití u nemocných léčených pro difuzní velkobuněčný lymfom B typu samotnou chemoterapií (0) nebo chemoterapií s rituximabem (1)

5a. Přežití bez známek progresu (PFS)

5b. Celkové přežití (OS)

Rituximab se ukázal jako velmi účinný při odstraňování lymfomových buněk zejména z kostní dřeně a periferní krve. Tato skutečnost umožňuje dosáhnout negativitu v těchto kompartmentech na molekulárně biologické úrovni v rámci tzv. „in-vivo purgingu“, který je využíván při vysokodávkované terapii a autologní transplantaci krvetvorných buněk, kdy lze získat štěp prostý lymfomových buněk (31).

Denzita CD20 receptorů na buňkách chronické lymfatické leukémie je nižší, než je tomu u ostatních lymfoproliferací. Rituximab v monoterapii vykazuje jen mírnou klinickou aktivitu, kterou bylo možné zvýšit častější aplikací nebo eskalací dávky. Významná efektivita se však ukázala u nemocných léčených kombinovanou imunochemoterapií, rituximabem v kombinaci s chemoterapií obsahující fludarabin, ať již samotným, nebo v kombinaci s cyklofosamidem. V retrospektivní analýze studií testujících kombinaci fludarabinu a rituximabu se ukázalo, že tato kombinace výrazně zlepšuje dobu do progresu (67 % proti 45 % ve 2 letech), ale také ukazuje možnost výrazného prodloužení celkového přežití (93 % proti 81 % ve 2 letech) (32). Kombinace FCR (fludarabin, cyklofosamid, rituximab) byla úspěšně testována jak v léčbě relabující chronické lymfatické leukémie (CLL), tak v primoterapii (33, 34).

Zavedení rituximabu do algoritmu léčby B-lymfoproliferací se ukázalo jako krok, který významně posunul šance řady nemocných na vyléčení a pravděpodobně otevřel tuto možnost i tam, kde se donedávna považovalo vyléčení chemoterapií za nemožné. Shrňme-li indikace k použití rituximabu, můžeme konstatovat, že mezi již schválené patří: léčba první a druhé linie u nemocných s difuzním velkobuněčným lymfomem v kombinaci s chemoterapií, léčba první linie folikulárního lymfomu spolu s chemoterapií, léčba relapsů FL a udržovací terapie FL u nemocných, kteří dosáhli odpovědi po léčbě pro relaps. Testuje se použití rituximabu jako udržovací terapie v první linii FL. Mezi indikace, kdy se na základě výsledků klinických studií považuje použití rituximabu za jednoznačně indikované a běžně používané, byť zatím stále

není součástí registrovaného použití, je použití rituximabu u nemocných s dalšími lymfomy pocházejícími z B-buněk a exprimujícími CD20 antigen. Sem patří lymfom z pláštěvých buněk, malobuněčný lymfom a další, ale také chronická lymfatická leukémie, kdy se rituximab používá v kombinaci s fludarabinovým chemoterapeutickým režimem.

Rituximab se uplatňuje nejen v léčbě nádorových B-lymfoproliferací, ale také v léčbě autoimunitních chorob. V oblasti hematologie to jsou zejména imunitně způsobené cytopenie – autoimunitní hemolytická anémie a idiopatická trombocytopenická purpura. U obou těchto jednotek byla prokázána aktivita rituximabu i v případech selhání několika linií imunosuprese včetně vysokodávkovaných imunoglobulinů (35). V současné době byl rituximab registrován k použití u nemocných s revmatoidní artritidou (36).

Alemtuzumab (MabCampth 1H)

Antigen CD52 je exprimován na buňkách T- i některých B-lymfoproliferativních chorob a normálních leukocytech, ale není přítomen na hematopoietických progenitorových buňkách. Monoklonální antiCD52 protilátka byla testována v osmdesátých letech 20. století jako krysí protilátka. V devadesátých letech byla zkonstruována humanizovaná anti CD52 protilátka – alemtuzumab (Campth-1H) (37) a byla postupně testována u nemocných s CLL, u nichž došlo k selhání fludarabinového režimu (38). Mechanismus působení protilátky není přesně znám, ale byly popsány mechanismy účinku, o nichž jsme se zmínili výše. Podává se v monoterapii intravenózně ve třech dávkách 30 mg týdně po dobu 12 týdnů a ukázalo se, že stejného účinku s menším množstvím nežádoucích příhod a větším komfortem pro nemocné lze dosáhnout i po subkutánním podávání. Stejně jako další MoAb má i alemtuzumab nejlepší účinnost v kompartmentu kostní dřeně a periferní krve a u nemocných, kteří nemají velké pakety uzlin. Alemtuzumab lze nicméně dobře kombinovat s chemoterapií, kdy celkové dávky jsou nižší než v případě monoterapie, ale účinnost například

v kombinaci s fludarabinem je velmi dobrá (39). Za důležité je možné považovat pozorování, že alemtuzumab navozuje léčebnou odpověď i u nemocných s CLL s nepříznivou prognózou danou mutací nebo delecí p53 (17p-), která je na běžnou chemoterapii rezistentní. Vzhledem k přítomnosti antigenu CD52 na buňkách T-lymfoproliferací se alemtuzumab testoval a testuje v těchto indikacích s nadějnými výsledky (40, 41).

Při aplikaci alemtuzumabu dochází k T-depleci a je zapotřebí počítat s možnými infekčními komplikacemi, kam patří i reaktivace cytomegaloviru (CMV). Tato T-lymfocytární deplece se využívá při alogenních transplantacích krvetvorných buněk, kdy vede k nižšímu výskytu reakce štetu proti hostiteli, ale na druhé straně také k nižšímu výskytu reakce štetu proti leukémii/lymfomu (GVL) a nutnosti aplikovat lymfocytární infuze (42).

Radioimunoterapie

Ibritumomab tiuxetan ⁹⁰Y (Zevalin)

Předpokladem účinného působení monoklonální protilátky je vazba na cílovou buňku prostřednictvím příslušného antigenu a aktivace efektorového mechanismu. Tímto mechanismem působí tzv. nahé protilátky. Atraktivní představou je však i možnost využít protilátku k dopravení účinného terapeutického prostředku k cílové buňce. Tato představa byla realizovaná mimo jiné formou navázání radionuklidu na monoklonální protilátku. V současné době se používají dva radionuklidy: jod-131, který je vázán na myší protilátku antiCD20 – tositumomab (Bexxar) a yttrium-90, které je vázáno rovněž na myší protilátku anti-CD20 – ibritumomab tiuxetan (Zevalin). V Evropě je registrován pouze Zevalin, v USA oba produkty. Radionuklid ¹³¹I je emitorem gama i beta záření, ⁹⁰Y emituje pouze beta záření do vzdálenosti 5 mm. Zevalin proto lze podávat i v ambulantním režimu. Podání Zevalinu má pravidla, která jsou daná právě kumulací ozáření v místech výskytu B-lymfocytů. Nemocný nesmí mít výraznou infiltraci kostní dřeně, maximální počet B-lymfocytů nesmí přesáhnout 25 % a dále vlastní rezerva kostní dřeně musí být dostatečná. Měří se zejména počtem trombocytů v obvodové krvi.

Po podání Zevalinu dochází pravidelně v odstupu zhruba 4–6 týdnů k poklesu hodnot neutrofilů i trombocytů. Ozáření kostní dřeně bylo spojováno s obavou možného vývoje sekundárního myelodysplastického syndromu nebo akutní leukémie. Přestože bude nutné ještě dlouhodobé sledování, na základě dosavadních analýz se nezdá, že by se tato obava naplňovala.

Obě molekuly – ibritumomab tiuxetan i tositumomab se ukázaly být účinné při léčbě nemocných v relapsu indolentních lymfomů (43, 44). Vzhledem k tomu, že se jedná o jednu aplikaci léku, jeví se na základě těchto výsledků možnost, že by bylo uvažovat o radioimunoterapii jako o iniciální léčbě. Výsledky publikované s tositumomabem u nemocných s FL indikovaným k primoléčbě vypadají velmi nadějně (45). V současné době se testují v klinických studiích možnosti jak podávat radioimunoterapii jako součást vysokodávkované terapie s autologní transplantací krvetvorných buněk. Preparát se podává buď ve standardní dávce a po něm následuje podání vysokodávkované chemoterapie, například tzv. režim Z-BEAM (Zevalin a po něm chemoterapie BEAM) (46), nebo se testuje možnost eskalace dávky radioimunoterapie s cílem dopravit co nejvyšší dávku do míst postižených lymfomem a s tím, že ozáření kostní dřeně je překonáno reinfuzí krvetvorných buněk zpět nemocnému. Takový model při srovnání s historickými kontrolami naznačuje zlepšení transplantačního výsledku (47).

NOVĚ TESTOVANÉ MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKY

Přehled monoklonálních protilátek testovaných v klinických studiích podává tabulka 1. Do III fáze klinického testování s dostala protilátka zaměřené proti antigenu CD80 – galiximab (48). Jedná se chimerickou protilátku, kde variabilní oblast je původem z primáta (makak jávský). Testuje se v kombinaci s rituximabem u nemocných s folikulárním lymfomem. Je ovšem potenciálně atraktivní i pro nemocné s Hodgkinovým lymfomem, neboť buňky Reed-Sternbergo-

Tab. 1. Přehled monoklonálních protilátek testovaných v klinických studiích

Antigen	protilátka	typ	choroba/studie fáze	citace
CD80	galiximab	chimerická	NHL/fáze II	(48)
CD23	lumiliximab	chimerická	CLL/fáze I	(49)
CD22	epratuzumab	humanizovaná	NHL/fáze II	(50)
HLA-DR	1D09C3	plně lidská	NHL, CLL, HL/fáze I	(52)
HLA-DR	apolizumab	humanizovaná	NHL/fáze I	(51)
CD40	SGN-40	humanizovaná	NHL/fáze I	(53)
CD2	siplizumab	humanizovaná fáze I	T-NHL, T-leukémie	(57)
CD4	zanolimumab (HuMax-CD4)	plně lidská PTL/fáze II	kožní NHL/fáze II (55)	(54)
CD25	daclizumab	humanizovaná	ATLL/fáze II	(56)
CD30	SGN-30	chimerická	ALCL/fáze II Hodgkinův lymfom	(58) (59)
TRAIL-R1	mapatumumab plně lidská	NHL/fáze II		(60)
CD20	ofatumumab	plně lidská	CLL/fáze II	(61)

vé exprimují antigen CD80. U chronické lymfatické leukémie se testuje stejně konstruovaná chimerická protilátka anti CD23 – lumiliximab (49). Epratuzumab je humanizovaná antiCD22 protilátka (50), která v monoterapii prokázala střední účinnost a testuje se v kombinaci s rituximabem. Mezi další protilátky patří apolizumab (51), humanizovaná protilátka proti HLA DR beta řetězci, další protilátka proti HLA DR je plně lidská 1D09C3 (52), anti CD40 humanizovaná SGN40 (53) protilátka a další. U T-lymfoproliferací se testuje řada protilátek, jako je zanolimumab (54, 55), plně lidská antiCD4 protilátka, dactilizumab – humanizovaná anti CD25 protilátka (56), sipilizumab – humanizovaná antiCD2 protilátka (57) a anti CD30 – chimerická SGN30 protilátka (58, 59), která se testuje i u Hodgkinova lymfomu. Atraktivním přístupem se jeví použití protilátek zaměřených na TRAIL receptory, které se podílejí na mechanismu apoptózy. Jako příklad může sloužit mapatumumab, plně lidská agonistická protilátka proti TRAIL-R1 (60).

Řada protilátek se testuje ve vzájemné kombinaci s dalšími a případně ještě v kombinaci s chemoterapií.

Do fáze klinických studií vstoupily i nové generace anti-CD20 protilátek. Patří mezi ně například ofatumumab (61), plně lidská antiCD20 protilátka, která využívá ve srovnání s rituximabem částečně odlišná vazebná místa a zachovává si aktivitu i v případech nižší denzity CD20 antigenu na povrchu cílových buněk.

NÁKLADOVÁ EFEKTIVITA

Významným prvkem při zařazování nových metod léčby je v současnosti cena léčby. Vzhledem však k tomu, že hlavním cílem zavádění nových léčebných metod je prodloužit život, jinými slovy získat pro nemocné další roky kvalitního života je nutno hodnotit cenu nové léčby společně s tímto parametrem. Nadto v sobě cena určité léčby nezahrnuje jen náklady na úvodní léčbu, ale také náklady na léčbu komplikací, léčbu relapsů a další. V ekonomicky se chovajících zdravotnických systémech je snaha stanovit hranici velikosti přídatných nákladů na rok kvalitního života (incremental cost per quality-adjusted life-year, QALY), která je akceptovatelná. Například ve Velké Británii se pohybuje tato hranice mezi 21 500 £ (62) a 30 000 £ (63). Při analýze dvou randomizovaných studií srovnávajících chemoterapii CVP, resp. CHOP proti rituximabu + CVP (R-CVP) resp rituximabu + CHOP (R-CHOP), se ukázalo, že ICER (poměr přídatné nákladové efektivity) při léčbě R-CVP resp R-CHOP byl 8290 £ (62) resp 7533 £ (63), což je bezpečně ve výše uvedených mezích pro léčbu považovanou za efektivní. Při srovnání přímých nákladů různých léčebných režimů u nemocných s folikulárním lymfomem, jako je CVP, CHOP, fludarabin, rituximab, vychází výrazně vyšší náklady na rituximab. Při započítání nákladů na léčbu komplikací se tento rozdíl výrazně stírá (64, 65). Z výše uvedeného příkladu vyplývá, že na první pohled nákladná léčba (rituximab) má v konečném důsledku velmi příznivý poměr nákladové efektivity vůči QALY a je považována za efektivní z pohledu nákladové efektivity (cost-effectiveness).

ZÁVĚR

Využití monoklonálních protilátek v terapii nádorových onemocnění, v tomto případě lymfomů, představuje zásadní posun v léčbě srovnatelný se zavedením kombinované chemoterapie. Rituximab výrazně změnil léčebná schémata při léčbě nemocných s B-lymfoproliferativními chorobami, jeho potenciál přesahuje i do oblasti nenádorové medicíny, zejména autoimunitních chorob. Přes vysokou cenu vlastní léčby je léčba rituximabem v dosud sledovaných indikacích nákladově efektivní. Monoklonální protilátky tak mohou sloužit jako příklad vysoce efektivní biologické léčby, která má ještě potenciál v kombinaci s dalšími formami biologické a cílené léčby.

Zkratky

CLL	– chronická lymfatická leukémie
CMV	– cytomegalovirus
CVP	– cyklofosfamid, vincristin, prednison
DLBCL	– difúzní velkobuněčný lymfom
FCR	– fludarabin, cyklofosfamid, rituximab
FL	– folikulární lymfom
GVL	– reakce štěpu proti leukémii/lymfomu
HACA	– human anti-chimeric antibody
HAHA	– human anti-human antibody
HAMA	– human anti-mouse antibody
HLA DR	– lidský leukocytární antigen typu DR
CHOP	– cyklofosfamid, adriamycin, vincristin, prednison
ICER	– poměr přídatné nákladové efektivity
MCL	– lymfom z pláštěvých buněk
NHL	– nehodgkinský lymfom
QALY	– quality-adjusted life-year
WHO	– Mezinárodní zdravotnická organizace (World Health Organization)

LITERATURA

1. **DeVita, V. T., Jr.:** Hodgkin's disease--clinical trials and trends. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348, s. 2375-2376.
2. **Bonadonna, G., Zucali, R., Monfardini, S. et al.:** Combination chemotherapy of Hodgkin's disease with Adriamycin, bleomycin, vinblastin and imidazole caboxamide versus MOPP. *Cancer*, 1975, 36, s. 252-259.
3. **Diehl, V., Franklin, J., Pfreundschuh, M. et al.:** Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348, s. 2386-2395.
4. **DeVita, V. T., Jr., Canellos, G. P., Chabner, B. et al.:** Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease. *Lancet*, 1975, 1, s. 248-250.
5. **Fisher, R. I., Gaynor, E. R., Dahlberg, S. et al.:** Comparison of a standard regimen CHOP with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 1993, 328, s. 1002-1006.
6. **Strehl, J., Mey, U., Glasmacher, A. et al.:** High-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation as first-line therapy in aggressive non-Hodgkin's lymphoma, a meta-analysis. *Haematologica*, 2003, 88, s. 1304-1315.
7. **Horning, S. J.:** Natural history of and therapy for the indolent non-Hodgkin's lymphomas. *Semin. Oncol.*, 1993, 20, s. 75-88.
8. **McLaughlin, P., Grillo-Lopez, A. J., Link, B. K. et al.:** Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody thera-

- py for relapsed indolent lymphoma, s. half of patients respond to a four-dose treatment program. *J. Clin. Oncol.*, 1998, 16, s. 2825-2833.
9. **Ehrlich, P.:** On immunity with special reference to cell life. *Proc. R. Soc. Lond.*, 1900, 66, s. 424-448.
 10. **Kohler, G., Milstein, C.:** Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975, 256, s. 495-497.
 11. **Harris, N. L., Jaffe, E. S., Stein, H. et al.:** A revised European-American classification of lymphoid neoplasms, s. a proposal from the International Lymphoma Study Group [see comments]. *Blood*, 1994, 84, s. 1361-1392.
 12. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue. Lyon, IARC Press, 2001.
 13. **Nadler, L. M., Stashenko, P., Hardy, R. et al.:** Serotherapy of a patient with a monoclonal antibody directed against a human lymphoma-associated antigen. *Cancer Res.*, 1980, 40, s. 3147-3154.
 14. **Press, O. W., Appelbaum, F., Ledbetter, J. A. et al.:** Monoclonal antibody 1F5 anti-CD20. serotherapy of human B cell lymphomas. *Blood*, 1987, 69, s. 584-591.
 15. **Grossbard, M. L., Press, O. W., Appelbaum, F. R. et al.:** Monoclonal Antibody-Based Therapies of Leukemia and Lymphoma. *Blood*, 1992, 80, s. 863-878.
 16. **Maloney, D. G., Smith, B., Rose, A.:** Rituximab, s. mechanism of action and resistance. *Semin. Oncol.*, 2002, 29, s. 2-9.
 17. **Mclaughlin, P., Grillo, L., Link, B. K. et al.:** Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma, s. half of patients respond to a four-dose treatment program. *J. Clin. Oncol.*, 1998, 16, s. 2825-2833.
 18. **Coiffier, B., Haioun, C., Ketterer, N. et al.:** Rituximab anti-CD20 monoclonal antibody. for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma, s. a multicenter phase II study. *Blood*, 1998, 92, s. 1927-1932.
 19. **Coiffier B, Lepage E, Briere J :** CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, s. 235-242.
 20. **Habermann, T. M., Weller, E. A., Morrison, V. A. et al.:** Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 2006, 24, s. 3121-3127.
 21. **Pfreundschuh, M., Trumper, L., Osterborg, A. et al.:** CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma, s. a randomised controlled trial by the MabThera International Trial MInT Group. *Lancet Oncol.*, 2006, 7, s. 379-391.
 22. **Sehn, L. H., Donaldson, J., Chhanabhai, M. et al.:** Introduction of combined CHOP plus rituximab therapy dramatically improved outcome of diffuse large B-cell lymphoma in British Columbia. *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23, s. 5027-5033.
 23. **Trněný, M., Vášova, I., Pytlík, R. et al.:** Distribuce podtypů non-hodgkinského lymfomu v ČR a přežití podle diagnózy. *Klin. Onkol.*, 2007 (v tisku).
 24. **Hidemann, W., Kneba, M., Dreyling, M. et al.:** Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone CHOP. significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone, s. results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood*, 2005, 106, s. 3725-3732.
 25. **Marcus, R., Imrie, K., Belch, A. et al.:** CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first-line treatment for advanced follicular lymphoma. *Blood*, 2005, 105, s. 1417-1423.
 26. **Foussard, C., Mounier, N., Van Hoof, A. et al.:** Update of the FL2000 randomized trial combining rituximab to CHVP-Interferon in follicular lymphoma FL. patients pts. *J. Clin. Oncol. Meeting (abstracts)*, 2006, 24, s. 7508.
 27. **van Oers, M. H., Klasa, R., Marcus, R. E. et al.:** Rituximab maintenance improves clinical outcome of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin lymphoma in patients both with and without rituximab during induction, s. results of a prospective randomized phase 3 intergroup trial. *Blood*, 2006, 108, s. 3295-3301.
 28. **Romaguera, J. E., Fayad, L., Rodriguez, M. A. et al.:** High rate of durable remissions after treatment of newly diagnosed aggressive mantle-cell lymphoma with rituximab plus hyper-CVAD alternating with rituximab plus high-dose methotrexate and cytarabine. *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23, s. 7013-7023.
 29. **Geisler, C. H., Elonen, E., Kolstad, A. et al.:** Nordic Mantle Cell Lymphoma MCL. Project, s. Prolonged Follow-Up of 86 Patients Treated with BEAM/BEAC + PBSCT Confirms That Addition of High-Dose Ara-C and Rituximab to CHOP Induction + In-Vivo Purging with Rituximab Increases Clinical and Molecular Response Rates, PCR-Neg. Grafts, Failure-Free, Relapse-Free and Overall Survival. *ASH Annual Meeting (abstracts)*, 2004, 104, s. 8.
 30. **Schulz, H., Bohlius, J., Skoetz, N. et al.:** Combined Immunotherapy with Rituximab Improves Overall Survival in Patients with Follicular and Mantle Cell Lymphoma, s. Updated Meta-Analysis Results. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 2760.
 31. **Gianni, A. M., Magni, M., Martelli, M. et al.:** Long-term remission in mantle cell lymphoma following high-dose sequential chemotherapy and in vivo rituximab-purged stem cell autografting R-HDS regimen. *Blood*, 2003, 102, s. 749-755.
 32. **Byrd, J. C., Rai, K., Peterson, B. L. et al.:** Addition of rituximab to fludarabine may prolong progression-free survival and overall survival in patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia, s. an updated retrospective comparative analysis of CALGB 9712 and CALGB 9011. *Blood*, 2005, 105, s. 49-53.
 33. **Wierda, W., O'Brien, S., Faderl, S. et al.:** A retrospective comparison of three sequential groups of patients with Recurrent/Refractory chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine-based regimens. *Cancer*, 2006, 106, s. 337-345.
 34. **Keating, M. J., O'Brien, S., Albitar, M. et al.:** Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23, s. 4079-4088.
 35. **Narat, S., Gandla, J., Hoffbrand, A. V. et al.:** Rituximab in the treatment of refractory autoimmune cytopenias in adults. *Haematologica*, 2005, 90, s. 1273-1274.
 36. **Smolen, J. S., Keystone, E. C., Emery, P. et al.:** Consensus statement on the use of rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2007, 66, s. 143-150.
 37. **Crowe, J. S., Hall, V. S., Smith, M. A. et al.:** Humanized monoclonal antibody CAMPATH-1H, s. myeloma cell expression of genomic constructs, nucleotide sequence of cDNA constructs and comparison of effector mechanisms of myeloma and Chinese hamster ovary cell-derived material. *Clin. Exp. Immunol.*, 1992, 87, s. 105-110.
 38. **Keating, M. J., Flinn, I., Jain, V. et al.:** Therapeutic role of alemtuzumab Campath-1H. in patients who have failed fludarabine, s. results of a large international study. *Blood*, 2002, 99, s. 3554-3561.

39. **Elter, T., Borchmann, P., Schulz, H. et al.:** Fludarabine in Combination With Alemtuzumab Is Effective and Feasible in Patients With Relapsed or Refractory B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia, s. Results of a Phase II Trial. *Journal of Clinical Oncology*, 2005, 23, s. 7024-7031.
40. **Enblad, G., Hagberg, H., Erlanson, M. et al.:** A pilot study of alemtuzumab anti-CD52 monoclonal antibody. therapy for patients with relapsed or chemotherapy-refractory peripheral T-cell lymphomas. *Blood*, 2004, 103, s. 2920-2924.
41. **Weidmann, E., Hess, G., Krause, S. W. et al.:** Combination Chemoimmunotherapy Using Alemtuzumab, Fludarabine, Cyclophosphamide, and Doxorubicin Campath-FCD. Is an Effective First-Line Regimen in Peripheral T-Cell Lymphomas. *ASH Annual Meeting (abstracts)*, 2004, 104, s. 2640.
42. **Morris, E., Mackinnon, S.:** Outcome following alemtuzumab CAMPATH-1H. -containing reduced intensity allogeneic transplant regimen for relapsed and refractory non-Hodgkin's lymphoma NHL. *Transfus Apher Sci.*, 2005, 32, s. 73-83.
43. **Witzig, T. E., Flinn, I. W., Gordon, L. I. et al.:** Treatment with ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy in patients with rituximab-refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 2002, 20, s. 3262-3269.
44. **Vose, J. M., Wahl, R. L., Saleh, M. et al.:** Multicenter phase II study of iodine-131 tositumomab for chemotherapy-relapsed/refractory low-grade and transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J. Clin. Oncol.*, 2000, 18, s. 1316-1323.
45. **Kaminski, M. S., Tuck, M., Estes, J. et al.:** 131I-tositumomab therapy as initial treatment for follicular lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 2005, 352, s. 441-449.
46. **Nademanee, A. P., Krishnan, A., Tsai, N. et al.:** 90Y-Ibritumomab Tiuxetan ZevalinR. . in Combination with High-Dose Therapy HDT. Followed by Autologous Stem Cell Transplant ASCT. May Improve Survival in Patients with Poor-Risk Follicular Lymphoma FL. and Diffuse Large B-Cell Lymphoma DLBCL: Results of a Retrospective Comparative Analysis. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 327.
47. **Press, O. W., Eary, J. F., Gooley, T. et al.:** A phase I/II trial of iodine-131-tositumomab anti-CD20, etoposide, cyclophosphamide, and autologous stem cell transplantation for relapsed B-cell lymphomas. *Blood*, 2000, 96, s. 2934-2942.
48. **Czuczman, M. S., Thall, A., Witzig, T. E. et al.:** Phase I/II Study of Galiximab, an Anti-CD80 Antibody, for Relapsed or Refractory Follicular Lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*, 2005, 23, s. 4390-4398.
49. **Byrd, J. C., O'Brien, S., Flinn, I. et al.:** Safety and efficacy results from a phase I trial of single-agent lumiliximab anti-CD23 antibody. for chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2004, 104, s. 686A.
50. **Leonard, J. P., Coleman, M., Ketas, J. C. et al.:** Epratuzumab, a Humanized Anti-CD22 Antibody, in Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma, s. Phase I/II Clinical Trial Results. *Clin. Cancer Research*, 2004, 10, s. 5327-5334.
51. **Rech, J., Repp, R., Rech, D. et al.:** A Humanized HLA-DR Antibody HU1D10, Apolizumab. in Combination with G-CSF Filgrastim. for the Treatment of Non-Hodgkin's Lymphoma, s. A Pilot Study. *Blood ASH Annual Meeting (abstracts)*, 2005, 106, s. 4775.
52. **Gianni, A. M., Carlo-Stella, C., Guidetti, A. et al.:** Two Phase I Open-Label Studies of the Fully Human HLA-DR-Specific IgG4 Monoclonal Antibody 1D09C3 in Patients with Relapsed and/or Refractory B-Cell Lymphoproliferative Neoplasias on a Weekly and Bi-Weekly Dosing Scheme. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 2730.
53. **Advani, R., Forero-Torres, A., Furman, R. R. et al.:** SGN-40 Anti-huCD40 mAb. Monotherapy Induces Durable Objective Responses in Patients with Relapsed Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma, s. Evidence of Antitumor Activity from a Phase I Study. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 695.
54. **Kim, Y. H., Duvic, M., Obitz, E. et al.:** Clinical efficacy of zanolimumab HuMax-CD4. , s. two Phase II studies in refractory cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*, 2007 (v tisku).
55. **d'Amore, F., Relander, T., Jerkeman, M. et al.:** Zanolimumab, a Fully Human Monoclonal Antibody, s. Preliminary Results of an Ongoing Clinical Trial in CD4+ Peripheral T-Cell Lymphomas PTCL. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 2723.
56. **Simpson, S., Thanigaikumar, M., Taylor, G. et al.:** Combination Chemotherapy with CHOP-Daclizumab in HTLV-I Associated Adult T-Cell Leukaemia/Lymphoma. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 2750.
57. **O'Mahony, D., Morris, J. C., Moses, L. et al.:** Phase I Trial of Siplizumab in CD2-Positive Lymphoproliferative Disease. *Blood ASH Annual Meeting Abstracts*, 2005, 106, s. 3353.
58. **Forero-Torres, A., Bernstein, S. H., Gopal, A. et al.:** SGN-30 Anti-CD30 mAb. Has a Single-Agent Response Rate of 21% in Patients with Refractory or Recurrent Systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma ALCL. . *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 2718.
59. **Leonard, J. P., Rosenblatt, J. D., Bartlett, N. L. et al.:** Phase II Study of SGN-30 Anti-CD30 Monoclonal Antibody. in Patients with Refractory or Recurrent Hodgkin's Disease. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2004, 104, s. 2635.
60. **Younes, A., Vose, J. M., Zelenetz, A. D. et al.:** Results of a Phase 2 Trial of HGS-ETR1 Agonistic Human Monoclonal Antibody to TRAIL Receptor 1. in Subjects with Relapsed/Refractory Non-Hodgkin's Lymphoma NHL. *Blood ASH Annual Meeting Abstracts*, 2005, 106, s. 489.
61. **Coiffier, B., Tilly, H., Pedersen, L. M. et al.:** Significant Correlation between Survival Endpoints and Exposure to Ofatumumab HuMax-CD20. in Chronic Lymphocytic Leukemia. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 2842.
62. **Lewis, G., Marcus, R. E., Proctor, S. J. et al.:** The Cost-Effectiveness of Rituximab, Cyclophosphamide, Vincristine and Prednisolone RCVp. Compared with CVP for the Treatment of Follicular Non-Hodgkin's Lymphoma NHL. in the UK. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2006, 108, s. 345.
63. **Knight, C., Hind, D., Brewer, N., Abbott, V.:** Rituximab (MabThera) for aggressive non-Hodgkin's lymphoma, s. systematic review and economic evaluation. *Health. Technol. Assess.*, 2004, 8, s. 82.
64. **Sweetenham, J., Hieke, K., Kerrigan, M. et al.:** Cost-minimization analysis of CHOP, fludarabine and rituximab for the treatment of relapsed indolent B-cell non-Hodgkin's lymphoma in the U.K. *Br. J. Haematol.*, 1999, 106, s. 47-54.
65. **Schmitz, S., Aly, F., Steinmetz, T. et al.:** Sensitivity analysis of cost factors for various therapy options in the treatment of follicular lymphoma. *Onkologie*, 2006, 29, s. 258-264.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NR/9453-3 a výzkumným záměrem MSM0021620808.

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Proteomické techniky a jejich aplikace u hematologických onemocnění

^{1,2}Zelená J., ^{1,2,3}Hájek R.

¹Laboratoř experimentální hematologie a buněčné imunoterapie, Oddělení klinické hematologie FN, Brno-Bohunice

²Centrum základního výzkumu pro mnohočetný myelom a monoklonální gamapatie – Integrované laboratoře biomedicínských technologií, Univerzitní kampus MU, Brno-Bohunice

³Interní hematologická klinika FN, Brno-Bohunice

SOUHRN

Pochopení hematologických onemocnění na proteinové úrovni je významné pro předpověď citlivosti na podanou terapii, možnost diagnostiky onemocnění či vývoj cílené léčby a musí být podloženo znalostí molekulární patogeneze nádoru. Proteomika popisuje analýzu kompletního proteomu buňky nebo tkáně a zahrnuje v sobě mnoho technologií – Western blotting, dvourozměrnou elektroforézu v polyakrylamidovém gelu, hmotnostní spektrometrii, protein–čipové technologie. Ačkoli dosud bylo provedeno jen několik proteomických studií u hematologických onemocnění, potenciál těchto technologií umožňuje objevení nových biomarkerů spojených s rezistencí na podané léčivo a identifikaci biomarkerů, které mohou usnadnit vývoj rychlých diagnostických testů, snadno aplikovatelných v klinickém nastavení. Článek proto popisuje používané proteomické techniky a upozorňuje na práce věnované proteomickému výzkumu hematologických onemocnění, zejména publikací věnovaných výzkumu mnohočetnému myelomu, leukémií a lymfomů.

Klíčová slova: proteomika, metody, hematologická onemocnění.

SUMMARY

Zelená J., Hájek R.: Proteomics Techniques and their Application in Haematological Malignancies

The understanding haematological malignancies at the protein level is important for the prediction of therapy response, the possibility for disease diagnostics, the development of targeted treatment, and it must be based on the knowledge regarding the molecular pathogenesis of the tumour. 'Proteomics' describes the analysis of the entire proteome of a cell or a tissue and incorporates multiple technologies, including - Western blotting, two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, mass spectrometry, and ProteinChip-based technology. Although there is a limited number of studies to date in haematological malignancies, those performed highlight the potential impact of these technologies in the discovery of novel markers associated with the drug resistance and the identification of biomarkers which may facilitate the development of a rapid diagnostic test that would be easily applicable in the clinical setting. Thereby this article describes used proteomics techniques and highlights studies regarding proteomic research in haematological malignancies, namely the primarily publications concerning research of multiple myeloma, leukaemias and lymphomas.

Key words: proteomics, methods, haematological malignancies.

Ze.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 586–592.

Proteomika (proteomics) je v současné době rychle se rozvíjející vědní obor, který se zabývá systematickou analýzou veškerých bílkovin (proteomů) dané buňky organismu, orgánu, tkáně nebo tělesné tekutiny. Protože je proteom studován v určitém okamžiku za přesně definovaných podmínek, odráží tak aktuální metabolický stav dané buňky. Základním cílem proteomiky je objasnění struktury a funkce všech funkčních produktů genové exprese zahrnující identifikaci každého proteinu včetně jeho kvantifikace, lokalizace

v buňce, určení protein–proteinových interakcí, analýzu multiproteinových komplexů a charakterizaci posttranslačních modifikací.

V biomedicínckém výzkumu nachází proteomika stále větší uplatnění. V oblasti farmacie se podílí na hledání a vývoji nových léčiv (1), u onkologických onemocnění je její snahou nalézt a stanovit biomarkery, jejichž měření by vedlo k efektivnímu rozlišení definovaných fází různých typů onemocnění či sledování odpovědi pacienta na použitou terapii.

PROTEOMICKÉ TECHNIKY

2D-PAGE a MS (Two-Dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry)

Nejčastěji používanou separační technikou je tzv. dvourozměrná elektroforéza v polyakrylamidovém gelu (2D-PAGE) (2), která k identifikaci jednotlivých proteinů využívá hmotnostní spektrometrii (MS). Metoda 2D-PAGE je založena na rozdělení proteinů podle jejich náboje (izoelektrického bodu, pI) v prvním směru a poté podle molekulové hmotnosti ve směru druhém. Výsledkem je tzv. dvourozměrná mapa, v níž každý protein zaujímá charakteristickou pozici. Neboť separační a identifikační techniky jsou detailně popsány v přehledovém článku J. Petráka včetně obrázkových schémat (3), zaměřili jsme se zde na doplnění výhod a nevýhod použití metody 2D-PAGE (tab. 1). Velkou výhodou je zavedení tzv.

ké rozpětí výskytu proteinů současně. Zdokonaluje se účinnost solubilizace membránových proteinů, ale stále přetrvávají problémy s analýzou hydrofobních proteinů, velmi malých proteinů, proteinů s extrémní velikostí či problémy s analýzou a detekcí extrémně bazických a kyselých proteinů. Vylepšuje a automatizuje se počítačové vyhodnocování velkého počtu proteinových map, nezbytné pro úplné objasnění různých biologických procesů, přesto stále vyžaduje určité manuální zásahy.

SELDI-TOF MS (Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry)

Mezi nejdůležitější proteomické přístupy nové generace patří v současnosti proteinové čipy (6). Přístup propojující proteinové čipy v kombinaci s hmotnostní spektrometrií je nazýván SELDI-TOF MS (7). Metoda SELDI je založena na

Tab. 1. Souhrnný přehled výhod a nevýhod použití metody 2D-PAGE

Výhody	limitace
separace proteinů v rozmezí pH = 3–12 s molekulovou hmotností 6–300 kDa	požadována vysoká kvalita a kvantita vstupního materiálu
separace velkého množství proteinů	(1000–2000 proteinových spotů/gel) nemožnost analýzy širokého rozpětí koncentrace přítomných proteinů
zvýšená separace proteinů použitím několika různých pH rozmezí stripů	nemožnost detekce velmi malých/velkých a extrémně kyselých/bazických a hydrofobních proteinů
identifikace posttranslačních modifikací fosforylovaných proteinů	ztížená identifikace malých proteinů
identifikace proteinů MS po jejich štěpení specifickou proteázou	vhodný MS přístroj s vysoce citlivým detektorem
možnost separace několika vzorků současně	odlišná citlivost barvení pro různé proteiny
uchovávání gelů po neomezenou dobu	pracná a časově náročná metoda
přijatelná cena	

MS – hmotnostní spektrometrie (mass spectrometry)

stripů, imobilizovaných pH gradientů v tenkém proužku akrylamidového gelu až do pH 12, které zvýšilo reprodukovatelnost prvního rozměru a umožnilo dělení bazických proteinů (4). V závislosti na použité velikosti gelu a zvoleném pH gradientu stripu je technika 2D-PAGE schopna rozdělit velká množství proteinů, v optimalizovaných podmínkách až několik tisíc proteinů. Separace proteinů je vylepšena použitím stripů o velmi úzkém rozmezí (5–6, 4–7 aj.) a analýza přítomných proteinů je rozdělena do sady překrývajících se gelů. Zavedením vysokokapacitních aparatur pro tvorbu velkých gelů probíhá proteomická analýza až 12 vzorků současně, čímž se podstatně zvyšuje citlivost a reprodukovatelnost vytvořených proteinových map. Nevýhodou je však časová náročnost a pracnost celého procesu, která vyžaduje specifické dovednosti a zručnost pro tvorbu kvantitativně a prostorově reprodukovatelných gelů. Další nevýhodou je problém analýzy širokého rozpětí koncentrace jednotlivých přítomných proteinů. V případě lidských buněk představuje toto rozpětí přibližně 7 řádů, od nejmenšího výskytu (1 kopie) po nejhojnější (10⁶ kopií) zastoupení proteinů přítomných v buňce ve stejném okamžiku. Používané metody barvení proteinů v gelech včetně fluorescenčního zobrazování, však vizualizují pouze ty proteiny, které ve vzorku vykazují střední až vysokou míru výskytu (2, 5), a tak není možné analyzovat tak širo-

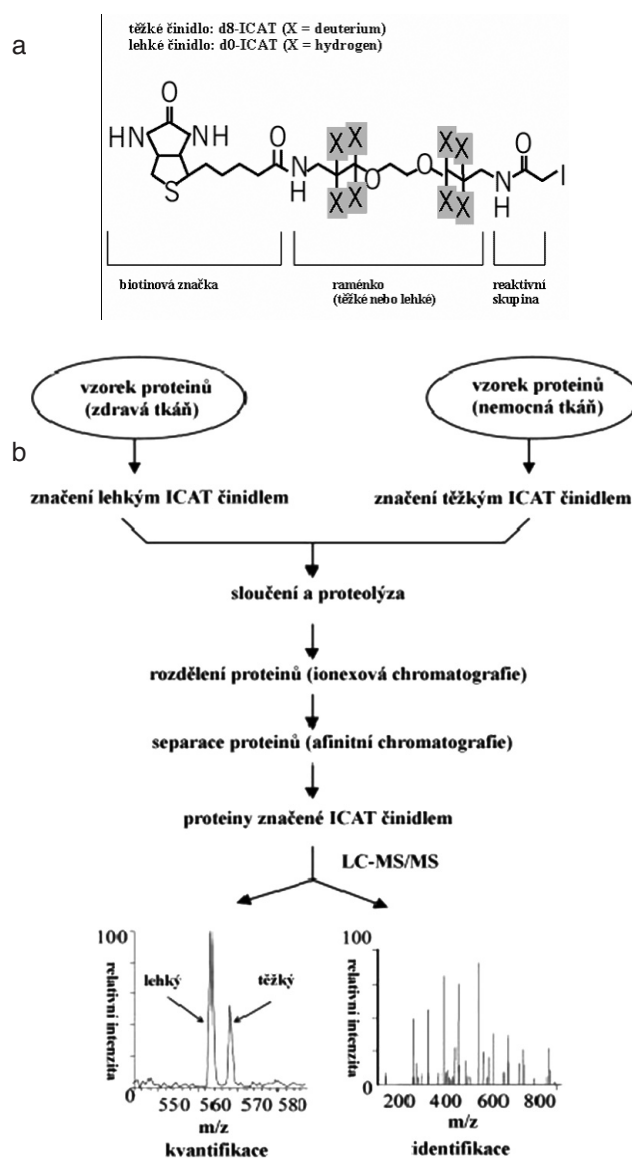
specifické vazbě proteinů na předem připravený (chromatografický) čip se speciálně upraveným povrchem, který může mít chemické (hydrofobní, hydrofilní, anionické, kationické, afinitní aj.) či biochemické vlastnosti (protilátka, receptor, DNA, enzym, ligand aj.). Metoda je přehledně popsána v článkách J. Petráka (3) a Š. Helánové (8) a je využívána zejména pro analýzu malých proteinů přítomných v biologických vzorcích (nejčastěji v séru, plazmě, krvi, moči, tkáňových extraktech). Metoda SELDI-TOF našla uplatnění především v hledání biomarkerů pro diagnostiku karcinomu prostaty (9), prsu (10, 11), močového měchýře (12), plic (13), neurologických onemocnění (14, 15) a umožňuje studium biomolekulárních interakcí. Výhodou metody je analýza proteinového vzorku několika různými typy chromatografických čipů současně. Na základě (bio)chemických vlastností přítomných proteinů dochází k jejich specifickému zachycení na zvolený povrch chromatografického čipu. Ty proteiny, které nejsou na čipu specificky zachyceny, jsou promyty a selektivně zachycené proteiny jsou identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie. Kombinací chromatografických čipů, fungujících na různých principech, tak můžeme analyzovat veškeré proteiny studovaného vzorku. Tato metoda umožňuje získat velké množství informací o přítomných proteinech analyzovaných z minimálního množství vzorku

(několik mikrolitrů). Její hlavní předností je, že pro svou reprodukovatelnost umožňuje analyzovat velké skupiny vzorků s následnou statistickou analýzou, což tradiční proteomické techniky neumožňují. Nevýhodou je, že není ve většině případů schopná umožnit přímou identifikaci jednotlivých proteinů a obtížně analyzuje vysokomolekulární proteiny (tab. 2).

ICAT (ISOTOPE CODED AFFINITY TAG)

Omezení související s použitím klasické elektromigrační techniky vedla k rychlému rozvoji pokročilejší generace proteomických technik, zejména kombinace kapalinové chromatografie (LC), tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS) a značení stabilní izotopem. Stabilní izotopové značky mohou být do peptidů zavedeny metabolicky pomocí značených aminokyselin, enzymově prostřednictvím přenosu ^{18}O z vody do peptidů, nebo chemickou reakcí. Nový přístup uplatňovaný v klasické kvantitativní proteomice je založen na *in vitro* izotopovém značení proteinů chemickou reakcí využívajících izotopicky kódovaných afinitních značek (16) (obr. 1a). ICAT činidlo reaguje se sulfhydrylovými skupinami proteinů obsahujících cystein, čímž se zjednodušuje výběr výchozí směsi proteinového vzorku a doba analýzy je kratší. Tento přístup umožňuje simultánní kvantitativní analýzu párových proteinových vzorků, například umožňuje porovnávat relativní zastoupení bílkovin v tkáni zdravého člověka se zastoupením bílkovin ve tkáni nemocného člověka (obr. 1b). Proteiny s cysteinovými zbytky jsou ve vzorku zdravého člověka derivatizovány pomocí lehkých ICAT činidel a ve vzorku nemocného pomocí těžkých ICAT činidel. Obě frakce značených proteinů jsou poté spojeny a proteiny jsou štěpeny proteázou – nejčastěji trypsinem, který štěpí peptidovou vazbu specificky vždy za argininem a lysinem. Biotin obsažený v ICAT činidlu pak umožňuje separaci značených peptidů avidin–afinitní chromatografií a poté probíhá v tandemovém spektrometru jejich identifikace a kvantifikace (LC-MS/MS). Každý peptid obsažený v obou vzorcích se v hmotnostní spektru objevuje jako dvojitý pík s rozdílem hmotnosti rovnajícím se počtu atomů deuteria (8 daltonů). Relativní zastoupení daného proteinu je pak určeno poměrem intenzit iontových signálů této dvojice párových peptidů (obr. 1b). V současnosti jsou vytvořeny ICAT činidla druhé generace, které místo 8 atomů deuteria používají ve spojovacím řetězci činidla 9 atomů ^{13}C (rozdíl 9 daltonů v MS spektru), přičemž se odstraňuje interference v MS/MS spektrech, která se občas vyskytuje při použití ICAT činidel s deuteriem.

ICAT technologie je vhodná pro analýzu komplexních vzorků proteinů (tělesných tekutin, buněk, organel, tkání, kultur) a umožňuje separovat a kvantifikovat membránové proteiny a proteiny s extrémními hodnotami pI, které se klasickými metodami proteomiky těžko analyzují (17). Použitím ICAT činidla se značně zjednodušuje analýza výchozí směsi proteinového vzorku. Další výhodou je její kompatibilita s dalšími metodami vhodnými pro analýzu obsažených minoritních proteinů. Metoda však není schopná analyzovat proteiny, které neobsahují cystein.



Obr. 1. Kvantitativní analýza párových proteinových vzorků pomocí technologie ICAT

1a. Struktura ICAT činidla

Reaktivní skupina činidla váže kovalentně cysteinové zbytky proteinů. Biotinová značka činidla umožňuje separaci značených peptidů avidin–afinitní chromatografií. V raménku jsou včleněny buď atomy lehkého, nebo těžkého vodíku, které umožní identifikaci a relativní kvantifikaci párových proteinů v MS/MS spektru.

1b. Strategie použití technologie ICAT

Dva proteinové vzorky pocházející z normální a nádorové tkáně jsou derivatizovány pomocí lehkých nebo těžkých ICAT činidel. Vzorky jsou poté spojeny a podrobeny proteolytickému štěpení. Vzniklé peptidy mohou být děleny ionexovou chromatografií a separace ICAT-značených peptidů probíhá avidin–afinitní chromatografií. Identifikace proteinů probíhá pomocí vhodného programu ve vyhledávacích databázích dle počtu přiřazených tryptických peptidů analyzovaných v MS/MS spektru a každý peptid obsažený v obou vzorcích se v MS spektru objevuje jako dvojitý pík s rozdílem hmotnosti rovnajícím se počtu atomů deuteria (8 daltonů).

Relativní zastoupení daného proteinu je pak určeno poměrem intenzit iontových signálů této dvojice párových peptidů.

Tab. 2. Souhrnný přehled výhod a nevýhod použití metody SELDI

Výhody	limity
požadována nízká koncentrace vstupního materiálu (sérum, plazma, moč, buněčný extrakt)	problematická detekce vysokomolekulárních proteinů: nad 100 kDa v séru a nad 60 kDa v buněčném extraktu
výborná detekce nízkomolekulárních proteinů (do 20 kDa)	obtížná identifikace jednotlivých proteinů
možnost detekce extrémně kyselých/bazických a hydrofobních proteinů	nízká expirace proteinových čipů (nemožnost uchovávat je dlouhodobě)
detekce vybraných proteinů je závislá na zvoleném povrchu čipu	nezaručena dlouhodobá stabilita laseru (nutné technické zlepšení pro rutinní využití)
vhodná pro skrínink a analýzu biomarkerů	vysoká cena
rychlá metoda s vysokou kapacitou	

APLIKACE PROTEOMIKY U HEMATOONKOLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

V posledních pěti letech vyšla v zahraničním písemnictví řada přehledových referátů věnovaných proteomickému výzkumu u hematoonkologických onemocnění (18–21). Celkový přehled o proteomickém studiu krve, jejích jednotlivých kompartmentech, podává publikace Thadikkarana et al. (22). Tento článek předkládá čtenářům přehled publikací proteomického výzkumu skupiny 3 heterogenních onemocnění: mnohočetného myelomu (MM), leukémií a lymfomů.

B. Seshi (23) provedl izolaci, identifikaci a kvantifikaci proteinů z buněk kostní dřeně zdravých a 2 typů leukemických buněk pomocí nové technologie iTRAQ-MS. V proteomu zdravých purifikovaných progenitorových buněk bylo identifikováno cca 9000 odlišných proteinů, z nichž 73 proteinů bylo také exprimováno v leukemických buňkách. Pomocí této specifické metody bylo dosaženo 90% korelace mezi transkriptem a exprimovanými proteiny. Mitsiades et al. (24) jako první srovnávala proteomický profil signálních proteinů v plazmatických buňkách pacientů s Waldenströmovou makroglobulinémií (WM) a MM. V těchto buňkách byly zjištěny významné odlišnosti v expresi proteinů, jako je například nepřítomnost exprese germinálního centra kinasy (GCK), která udává post-zárodečnou ontogenezi.

Weissinger et al. (25) sepsala přehledovou publikaci, týkající se sledování časné detekce akutní imunitní reakce štěpů vůči hostiteli (GVHD) po alogenní transplantaci kostní dřeně (allo-HSCT). V tomto článku jsou porovnány dvě metody používané pro studium proteinového profilu GVHD - SELDI TOF MS a CE-MS (kapilární zónová elektroforéza spojená s hmotnostní spektrometrií). Metoda CE-MS byla autory použita pro studium GVHD ve vzorcích moči od pacientů po allo-HSCT a umožňuje detekci časné diagnózy GVHD, která je obvykle detekována mezi 2. a 10. dnem, ještě dříve než je klinicky diagnostikována.

Zavedení terapie kombinací all-trans-retinové kyseliny (ATRA) a chemoterapie vede ke kompletní remisi u 90% pacientů s akutní promyelocytární leukémií (APL). Metody 2D-PAGE a MS byly u lidské promyelocytární linie NB4 použity k identifikaci proteinů regulovaných terapií ATRA (26). Srovnávací proteomická analýza lyzátu léčených a neléčených buněk odhalila statisticky významně sníženou expresi iniciačních (iF2, eIF4AI, eIF4G, eIF5, eIF6), elongačních faktorů (eEF1A-1, EF-1δ, eEF1γ, 14-3-3ε), hetero-

genních jaderných ribozomálních proteinů (hnRNPs- C1/C2, UP2, K a F), malých RNPs (D3, E) a protein fosfatázy 2A (PP2A). Tento objev vysvětluje molekulární mechanismus zapojení ATRA do iniciační a elongační fáze, při které dochází k inhibici transportu m-RNA v cytoplazmě a inhibici růstu APL buněk.

Boyd et al. (27) provedli proteomickou analýzu membránových proteinů u pacientů s chronickou B lymfocytární leukémií (B-CLL). Pomocí 1D-PAGE byly proteiny rozděleny a dále podrobeny proteolytickému štěpení trypsinem a následně analýze MS. Tímto způsobem autoři identifikovali mnoho známých buněčných povrchových antigenů, popsali také 2 nové proteiny: MIG2B a BCNP1.

Cui et al. (28) se zabývali studiem proteomického profilu buněk 61 pacientů s akutní leukémií (AL) rozdělených do subtypů podle FAB klasifikace. Analýzou metodami 2D-PAGE a MS identifikovali odlišné proteinové profily pro jednotlivé AL: akutní myeloidní leukémii (AML), subtypy M2, M3, M5 a akutní lymfocytární leukémii (ALL). Autoři našli odlišné proteinové profily mezi buňkami AL a zdravými lymfocyty a jako první publikovali zřetelné proteinové odlišení AML a ALL.

Identifikace skupiny nádorových antigenů, které vyvolávají humorální imunitní odpověď u leukémií, byla studována v sérech 21 pacientů s novou diagnózou AL, 20 pacientů se solidními nádory, v sérech 22 zdravých lidí (29) a 30 pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) (30). U 15 pacientů s AL (71 %) byla nalezena GTPáza patřící do rodiny Rho (GDP dissociation inhibitor: Rho-GDI2), která byla identifikována také u 1 pacienta se solidním nádorem (5 %) a 1 zdravého člověka (4,5 %). Expresce Rho-GDI2 byla detekována u mnoha různých nádorů a je považována za potenciální prognostický faktor progresu onemocnění. Pomocí analýzy 2D-PAGE a Western-blot bylo v sérech 22 pacientů s CML (73 %) nalezeno 6 proteinů vyvolávajících humorální odpověď a tyto proteiny se v sérech zdravých jedinců neexprimují (30). Jedná se o proteiny sdružené s nádorem (aldoláza A, α-enoláza), chaperony (HSP 70 protein8) a strukturální proteiny (β-tubulin, izoformy tropomyosinu). Autoři se domnívají, že tyto proteiny hrají významnou roli v diagnóze a sledování průběhu onemocnění CML.

Odpověď buněk CML na léčbu imatinib mesylátem (Glivec®) byla určena stupněm fosforylace BCR-ABL kinázy metodou SILAC (stable isotope labeling with amino acid in cell culture) a LC-MS/MS (31). Do kultury buněk CML byla přidána stabilní izotopová značka, která je do proteinů meta-

bolicky zavedena pomocí značených aminokyselin (^{13}C -arginin). Stupeň fosforylace je určen mezi dvěma buněčnými stavy (kontrolní neléčenou linií a léčenou imatinibem). K identifikaci fosforylovaných proteinů byly použity protilátky proti tyrosinovým zbytkům nebo SH2 domény inositol fosfatázy 2 (SHIP-2). Autoři zjistili, že BCR-ABL kináza je konstitutivně autofosforylována na tyrosinových zbytcích 393 a 644 a proteiny SHIP a Dok jsou jejím prostřednictvím také konstitutivně fosforylovány (na Tyr 1135 a 299). Po 1 hodině působení imatinibu na buňky dochází k 90% inhibici autofosforylace BCR-ABL kinázy a k 85% inhibici fosforylace jejich substrátů SHIP-2 a Dok-2 proteinů.

Další proteomická studie u AML se zabývá studiem molekulární odpovědi lidské leukemické linie HL-60 na potenciační protinádorové léčivo – genistein (inhibitor protein tyroxin kináz) (32). Autoři objevili 9 proteinů se zvýšenou expresí, 5 proteinů se sníženou expresí a tyto proteiny rozdělili podle jejich funkce do 6 skupin. Zvýšenou expresi vykazují proteiny účastníci se buněčné proliferace (PA2G4), metabolismu (izocitrát dehydrogenáza, 6-fosfoglukonlaktónáza, NADPH, pyruvát dehydrogenáza E1), zpracování RNA (hnRNP H1), signalizace (cyklofilin A, manóza-6-fosfatáza) a odpovědi na buněčný stres (HSP 70 protein8). Sníženou expresi vykazují proteiny související se strukturou (stathmin-1), metabolismem (anorganická pyrofosfatáza), signalizací (Rab14) a zpracováním RNA (hnRNP A1, hnRNP C). Tyto objevené informace pomohou v hledání nových cílů protinádorových léčiv.

U různých subtypů AML byla provedena proteomická analýza a identifikace potenciačních biomarkerů časné prognózy a patogeneze nádoru (33). Mezi jednotlivými subtypy AML byla nalezena rozdílná exprese proteinů řadících se k supresorovým genům, metabolickým enzymům, antioxidantům, strukturálním proteinům a mediátorům transdukce. Srovnáním proteomické analýzy subtypů AML a analýzy zdravých monocytárních buněk bylo identifikováno téměř u všech blastů AML, 7 rozdílně exprimovaných proteinů: α -enoláza, RhoGDI2, annexin A10, kataláza, peroxiredoxin 2, tropomyosin 3 a annexin 1. Tyto proteiny hrají významnou roli v různých funkcích, jako je glykolýza, nádorová suprese, apoptóza, angioogeneze a metastáze buněk, a mohou tak přispívat k nepříznivému vývoji onemocnění AML.

Ota et al. (34) se zabývá identifikací proteinů specificky exprimovaných u leukémií. U 13 pacientů s diagnostikovaným různým leukemickým onemocněním provedl proteomickou analýzu 2D-PAGE hematopoetických kmenových buněk AC133⁺ izolovaných z kostní dřevě. Analýza u těchto pacientů odhaluje 10 rozdílně exprimovaných proteinů (heat shock proteiny: HSP 70 protein5, HSP 70 protein8, HSP 70 protein9B, jaderný protein lokalizovaný v mitóze (NuMA) a regulátory redox systému: adenosin deamináza, aldoláza A, trifosfát isomeráza 1, glutathion S-transferáza pi, superoxid dismutáza 2, peptidyl-prolyl isomeráza A). Protein NuMA je nutný pro stabilizaci a vytvoření dělicího vřetenka a jeho nadměrná exprese v leukemických blastech je přisuzována výskytu mnoha abnormalit karyotypu. Zvýšená exprese proteinů patřících do rodiny HSP 70 v leukemických blastech může být spojována s leukemogenezí nebo vývojem rezistence buněk k protinádorovým léčivům.

Dalším heterogenním onemocněním, kterým se zabývá proteomika, je lymfom. Kvantitativní ICAT-LC-MS/MS

technologii a Western-blot analýzou byla hodnocena proteomická analýza odpovědi folikulárních lymfatických buněk na inhibici p38 mitogeny aktivovanou protein kinázu (MAPK) inhibitorem SB203580 (35). Inhibice MAPK kinázy je závislá na časovém působení a podané dávce inhibitoru a způsobuje deregulaci mnoha signálních cest. Po 3 hodinovém působení inhibitoru bylo identifikováno 277 rozdílně exprimovaných proteinů, po 21 hodinovém působení 350 rozdílně exprimovaných proteinů, z nichž většina proteinů byla down-regulována. Sníženou expresi vykazovaly proteiny spojené s růstem (IGF 2, EGF like2, FGF 6, WNT), biosyntézou (ribozomální proteiny), transkripční faktory (STAT4, AT-vazebný transkripční faktor 1, MAPKAPK2, NF κ B), chaperony (HSP 60/70/90) a cytoskeletární proteiny (aktin, keratin). Tyto proteiny se zapojují do různých signálních cest (p38 MAPK/MAPKAPK2 dráha, p38 MAPK/NF- κ B dráha, IL-6/fosfatidylinositol-3-kináza (PI3K) dráha, MKK/JNK dráha, Ras/Raf dráha, WNT/Frizzled dráha) a výsledkem jejich regulace pomocí inhibice p38 MAPK je zástava růstu folikulárních lymfatických buněk.

Antonucci et al. metodou 2D-PAGE a MS analýzou identifikovala a srovnala proteinový profil lyzátu buněk u B-nehodgkinského lymfomu (NHL) s lyzátem buněk zdravé lymfatické tkáně (36). U NHL bylo nalezeno 145 rozdílně exprimovaných proteinů (se sníženou i zvýšenou expresí) z celkového počtu 750 vizualizovaných spotů. Z toho bylo MS analýzou identifikováno 20 proteinů, které jsou u NHL rozdílně exprimovány (od 10 \times snížené exprese až po 13 \times zvýšenou expresí srovnanou s expresí proteinů u zdravé lymfatické tkáně).

ZÁVĚR

Proteomika je dynamický obor, který se zabývá systematickým studiem proteomů buněk, tkání, orgánů aj. s cílem poskytnout podrobné informace o funkci, struktuře a kontrole biologických systémů. V této práci jsme shrnuli výhody a nevýhody použití 2 nejčastěji používaných proteomických technik (2D-PAGE, SELDI-TOF-MS) a do přehledu zařadili novou metodu umožňující kvantitativní analýzu párových proteinových vzorků (ICAT). V závěrečné části práce jsme shrnuli současné studie věnované proteomickému výzkumu MM, leukémií a lymfomů.

Zkratky

AL	– akutní leukémie
ALL	– akutní lymfocytární leukémie
allo-HSCT	– alogenní transplantace kostní dřevě
AML	– akutní myeloidní leukémie
APL	– akutní promyelocytární leukémie
B-CLL	– chronická B lymfocytární leukémie
CE	– kapilární zónová elektroforéza (capillary zone electrophoresis)
2D-LC	– dvourozměrná kapalinová chromatografie (two-dimensional liquid chromatography)
GCK	– germinal centre kinase
GVHD	– reakce štěpu proti hostiteli
HL-60	– lidská buněčná linie, typ AML-M2
hnRNP	– heterogenní jaderný ribozomální protein

2D-PAGE	– dvourozměrná elektroforéza v polyakrylamidovém gelu (two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis)
ICAT	– izotopicky kódovaná afinitní značka (isotope coded affinity tag)
iTRAQ	– isobaric tag for relative and absolute quantification
LC	– kapalinová chromatografie (liquid chromatography)
MM	– mnohočetný myelom
MS	– hmotnostní spektrometrie (mass spectrometry)
MS/MS	– tandemová hmotnostní spektrometrie (tandem mass spectrometry)
NB4	– lidská buněčná linie, typ APL
NHL	– B-nehodgkinský lymfom
NuMA	– nuclear protein that associates with the mitotic apparatus
pI	– izoelektrický bod
SELDI	– desorbce/ionizace laserem usnadněná povrchem (surface-enhanced laser desorption/ionization)
SILAC	– stable isotope labeling with amino acid in cell culture
TOF	– analýza „doby letu“ nabitě částice (time of flight)
WM	– Waldenströmova makroglobulinémie

LITERATURA

- Pandey, A., Mann, M.:** Proteomics to study genes and genomes. *Nature*, 2000, 405, s. 837-846.
- Görg, A., Weiss, W., Dunn, M. J.:** Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. *Proteomics*, 2004, 4, s. 3665-3685.
- Petrák, J.:** Proteomika a její místo v medicíně. *Čas. Lék. čes.*, 2005, 144, s. 365-370.
- Görg, A., Obermaier, C., Boguth, G. et al.:** Recent developments in two-dimensional gel electrophoresis with immobilized pH gradients: Wide pH gradients up to pH 12, longer separation distances and simplified procedures. *Electrophoresis*, 1999, 20, s. 712-717.
- Miller, I., Crawford, J., Gianazza, E.:** Protein stains for proteomic applications: Which, when, why? *Proteomics*, 2006, 6, s. 5385-5408.
- Espina, V., Mehta, A. I., Calvert, V. et al.:** Protein microarrays: Molecular profiling technologies for clinical specimens. *Proteomics*, 2003, 3, s. 2091-2100.
- Issaq, H. J., Veenstra, T. D., Conrads, T. P. et al.:** The SELDI-TOF MS Approach to Proteomics: Protein Profiling and Biomarker Identification. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 292, s. 587-592.
- Helánová, Š., Vyzula, R., Žaloudík, J. et al.:** Technologie Cipergen - nová perspektiva v proteomice nádorových onemocnění. *Klin. onkologie*, 2004, 17, s. 157-161.
- Gretzer, M. B., Chan, D. W., van Rootselaar, C. L. et al.:** Proteomic analysis of dunning prostate cancer cell lines with variable metastatic potential using SELDI-TOF. *Prostate*, 2004, 60, s. 325-331.
- Somiari, R. L., Somiari, S., Russell, S. et al.:** Proteomics of breast carcinoma. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2005, 815, s. 215-225.
- Ricolleau, G., Charbonnel, C., Lode, L. et al.:** Surface-enhanced laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry protein profiling identifies ubiquitin and ferritin light chain as prognostic biomarkers in node-negative breast cancer tumors. *Proteomics*, 2006, 6, s. 1963-1975.
- Liu, W., Guan, M., Wu, D. et al.:** Using tree analysis pattern and SELDI-TOF-MS to discriminate transitional cell carcinoma of the bladder cancer from noncancer patients. *Eur Urol.*, 2005, 47, s. 456-462.
- Yang, S. Y., Xiao, X. Y., Zhang, W. G. et al.:** Application of serum SELDI proteomic patterns in diagnosis of lung cancer. *BMC Cancer*, 2005, 5, s. 1-7.
- Khwaja, F. W., Nolen, J. D., Mendrinos, S. E. et al.:** Proteomic analysis of cerebrospinal fluid discriminates malignant and nonmalignant disease of the central nervous system and identifies specific protein markers. *Proteomics*, 2006, 6, s. 6277-6287.
- Carrette, O., Demalte, I., Scherl, A. et al.:** A panel of cerebrospinal fluid potential biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Proteomics*, 2003, 3, s. 1486-1494.
- Shiio, Y., Aebersold, R.:** Quantitative proteome analysis using isotope-coded affinity tags and mass spectrometry. *Nature protocols*, 2006, 1, s. 139-145.
- Han, D. K., Eng, J., Zhou, H. et al.:** Quantitative profiling of differentiation-induced microsomal proteins using isotope-coded affinity tags and mass spectrometry. *Nat. Biotechnol.*, 2001, 19, s. 946-951.
- Cristea, I. M., Gaskell, S. J., Whetton, A. D.:** Proteomics techniques and their application to hematology. *Blood*, 2004, 103, s. 3624-3634.
- Ress-Unwin, K. S., Morgan, G. J., Davies, F. E.:** Proteomics and the haematologist. *Clin. Lab. Haem.*, 2004, 26, s. 77-86.
- Caron, M., Joubert-Caron, R.:** Proteomics in hematological malignancies. *Expert. Rev. Proteomics*, 2005, 2, s. 567-576.
- Joubert-Caron, R., Caron, M.:** Proteome analysis in the study of lymphoma cells. *Mass Spectrom. Rev.*, 2004, 24, s. 455-468.
- Thadikkaran, L., Siegenthaler, M. A., Crettaz, D. et al.:** Recent advances in blood-related proteomics. *Proteomics*, 2005, 5, s. 3019-3034.
- Seshi, B.:** An integrated approach to mapping the proteome of the human bone marrow stromal cell. *Proteomics*, 2006, 6, s. 5169-5182.
- Mitsiades, C. S., Mitsiades, N., Freon, S. P. et al.:** Proteomic analyses in Waldenstroms macroglobulinemia and other plasma cell dyscrasias. *Semin. Oncol.*, 2003, 30, s. 156-160 (abstract).
- Weissinger, E. M., Mischak, H., Ganser, A. et al.:** Value of proteomics applied to the follow-up in stem cell transplantation. *Ann. Hematol.*, 2006, 85, s. 205-211.
- Harris, M. N., Ozpolat, B., Abdi, F. et al.:** Comparative proteomic analysis of all-trans-retinoic acid treatment reveals systematic posttranscriptional control mechanisms in acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 2004, 104, s. 1314-1323.
- Boyd, R. S., Adam, P. J., Patel, S. et al.:** Proteomic analysis of the cell-surface membrane in chronic lymphocytic leukemia: identification of two novel proteins, BCNP1 and MIG2B. *Leukemia*, 2003, 17, s. 1605-1612 (abstract).
- Cui, J.-W., Wang, J., He, K. et al.:** Two-dimensional electrophoresis protein profiling as an analytical tool for human acute leukemia classification. *Electrophoresis*, 2005, 26, s. 268-279.
- Cui, J.-W., Li, W.-H., Wang, J. et al.:** Proteomics-based Identification of Human Acute Leukemia Antigens That Induce Humoral Immune Response. *Mol. Cell Proteomics*, 2005, 4, s. 1718-1724.
- Zou, L., Wu, Y., Pei, L. et al.:** Identification of leukemia-associated antigens in chronic myeloid leukemia by proteomics analysis. *Leukemia Res.*, 2005, 29, s. 1387-1391.
- Liang, X., Hajivandi, M., Veach, D. et al.:** Quantification of change in phosphorylation of BCR-ABL kinase and its sub-

- strates in response to Imatinib treatment in human chronic myelogenous leukemia cells. *Proteomics*, 2006, 6, s. 4554-4564.
32. **Zhang, D., Tai, Y.-C., Wong, C.-H. S. et al.:** Molecular response of leukemia HL-60 cells to genistein treatment, a proteomics study. *Leukemia Res.*, 2007, 31, s. 75-82.
33. **López-Pedrerá, C., Villalba, J. M., Siendones, E. et al.:** Proteomic analysis of acute myeloid leukemia: Identification of potential early biomarkers and therapeutic targets. *Proteomics*, 2006, 6, s. S293-S299.
34. **Ota, J., Yamashita, Y., Okawa, K. et al.:** Proteomic analysis of hematopoietic stem cell-like fractions in leukemic disorders. *Oncogene*, 2003, 22, s. 5720-5728.
35. **Lin, Z., Crockett, D. K., Jenson, S. D. et al.:** Quantitative Proteomic and Transcriptional Analysis of the Response to the p38 Mitogen-activated Protein Kinase Inhibitor SB203580 in Transformed Follicular Lymphoma Cells. *Mol. Cell. Proteomics*, 2004, 3, s. 820-833.
36. **Antonucci, F., Chilosi, M., Parolini, C. et al.:** Two-dimensional molecular profiling of mantle cell lymphoma. *Electrophoresis*, 2003, 24, s. 2376-2385.

Práce byla podpořena grantem MŠMT LC06027.

DIAGNOSTIKA A LÉČBA MNOHOČETNÉHO MYELOMU

Supplementum č. 2 časopisu Transfúze a hematologie dnes

Doporučení vypracované Českou myelomovou skupinou a experty Slovenské republiky pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu.

Proces formování názorů na optimální léčbu jakékoliv nemoci má svůj historický vývoj. Zpočátku bylo léčení považováno dominantně za umění (*ars medici*) a v umění, jak známo, existují sice určité směry, ale žádná přísná pravidla. Od počátku minulého století se názory na léčbu odvíjely od mínění vedoucích osobností oboru, které se zakládalo na jejich zkušenosti. Koncem minulého století, v době prudkého rozvoje informačních technologií, se mění i způsob formování názorů na optimální léčbu. Z takzvané *opinion based medicine* vzniká *evidence based medicine*. Počítačové zpracování dat umožnilo rychlé vyhodnocení výsledků klinických studií, prováděných na souborech o tak velkém počtu jedinců, aby rozdíly ve výsledcích nemohly být způsobeny individuální variabilitou. *Evidence based medicine* rozděluje sílu důkazu do kategorií a dle nich odvozuje také úroveň doporučení. Takto rozříděné veškeré dostupné informace jsou pak základem tvorby názorů na to, co lze považovat za optimální a co ne.

Výše uvedené doporučení zcela respektuje tyto principy. Ve stručnosti uvádí přehled studií, které řeší dílčí otázky související s léčbou a z nich dle principů uvedených v tabulce formuluje konkrétní doporučení pro praxi jak řešit tu či onu situaci u pacienta.

Čtenář zde nalezne návod, jak dospět k diagnóze u osob s hraničními nálezy, je zde definováno kdy je vhodné začít léčbu a jakou léčbu pro které pacienty považovat za optimální. Léčba zhoubných chorob však není prosta vedlejších účinků, a proto obsahuje text návod, jak se těmito nežádoucími účinkům vyhnout, nebo jak je zmírnit, jaké léky přidat s cílem profylaxe nežádoucí účinků k základní protinádorové léčbě. Hodně prostoru je zde věnováno zkušenostem s novými léky, thalidomidem a bortezomibem.

Doporučení pro léčbu mnohočetného myelomu svojí formou odpovídá obdobným textům, tvořených Americkou onkologickou společností, případně evropskými hematoonkologickými společnostmi. Obsáhlostí a precizností argumentace se liší od některých doporučení zveřejněných v ČR, nicméně preciznost, věcnost a zdůvodnění každého dílčího doporučení dle výše uvedeného principu bude čím dále tím více důležité, neboť jednotlivé léčebné alternativy mají i svoje finanční rozměry, které se v případě nových léků ze skupiny *targetid therapy* pohybují v rozmezí 5 000 000 až 1 000 000 Kč na jednu léčebnou kúru pro pacienta. Vzhledem k ekonomickému dopadu těchto doporučení existují v USA i Německu instituce, ověřující správnost, aby tak zamezily zveřejnění doporučení zvýhodňující zájmy některé farmaceutické firmy. V ČR a SR tuto kontrolní roli převzaly výbory Slovenské a České hematologické společnosti.

Rok vydání 2005. Pro předplatitele časopisu Transfúze a hematologie dnes je supplementum zdarma. Ostatní zájemci si jej mohou objednat za cenu běžného čísla, tj. 60 Kč (85 Sk) na adrese:

Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Možnosti využití kapilární elektroforézy v klinickém výzkumu

Tůma P., Samcová E.

Ústav biochemie, molekulární a buněčné biologie – oddělení biochemie 3. LF UK a FNKV, Praha

SOUHRN

Kapilární elektroforéza je moderní separační metoda, která se v současné době stává vhodnou alternativou ke kapalinové chromatografii. Separace jsou v kapilární elektroforéze prováděny v tenkých křemenných kapilárách, což s sebou přináší vysokou separační účinnost, malé požadavky na množství vzorku a vysokou rychlost analýzy. Kapilární elektroforéza má široké uplatnění při analýze komplexních směsí, jakými jsou tělní tekutiny. Kapilární elektroforéza je vhodná jak pro stanovení nízkomolekulárních biologicky aktivních látek, tak i proteinů.

Klíčová slova: kapilární elektroforéza, kapalinová chromatografie, tělní tekutiny, nízkomolekulární látky, proteiny, aminokyseliny.

SUMMARY

Tůma P., Samcová E.: Use of Capillary Electrophoresis in the Clinical Research

Capillary electrophoresis (CE) is a modern separation method, which represents a competent alternative to liquid chromatography. The CE separation is performed in very thin silica capillaries. Advantages of CE are the high separation efficiency, low sample consumption and short time of analysis compared to liquid chromatography. CE represents a strong tool for analysis of body fluids.

Key words: capillary electrophoresis, liquid chromatography, body fluids, low molecular compounds, proteins, amino acids. *Tů.*

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 593–596.

Současný klinický výzkum se neobejde bez použití moderních fyzikálně–chemických metod. Široké uplatnění nachází zejména metody spektroskopické studující interakci elektromagnetického záření se sledovaným objektem a metody elektrochemické založené na oxidaci nebo redukci elektroaktivní látky na různých typech elektrod. Spektroskopických a elektrochemických metod lze využít při stanovení koncentrace širokého spektra různých chemických látek až do velmi nízkých koncentrací. Z klinického hlediska je ovšem důležité sledování hladin klinicky významných analytů v krvi, moči, mozkomíšním moku, popřípadě v tkáňových biopsiích. Tyto typy biologických materiálů představují pro analytického chemika velmi složité matrice, které obsahují desítky makrokomponent a stovky mikrokomponent. Provádět stanovení vybraného analytu v takto složitých směsích je mnohem obtížnější než sledování nízké koncentrace této látky v čisté vodě a obvykle se neobejde bez použití separačního kroku.

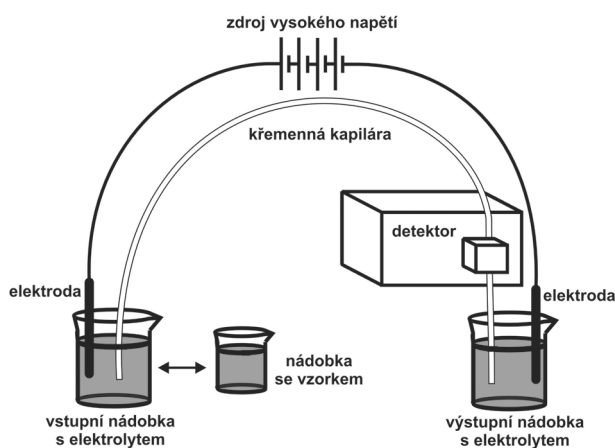
Pro oddělování jednotlivých složek ze složité směsi byly vyvinuty chromatografické metody (1). V chromatografii je směsný vzorek nadávkován do toku tzv. mobilní fáze, kterou může být kapalina – kapalinová chromatografie nebo plyn –

plynová chromatografie. Mobilní fáze protéká kolonou naplněnou tzv. stacionární fází, v ilustrativním případě sorbentem (např. silikagelem). Molekuly analytu se v koloně dostávají do styku s povrchem stacionární fáze a interagují s ním tvorbou slabých vazeb. Tyto interakce mezi molekulami analytu a stacionární fází ovlivňují selektivně dobu, kterou jednotlivé složky směsi stráví v koloně. V ideálním případě dojde k tomu, že po průchodu směsného vzorku kolonou, z kolony vychází oddělené zóny jednotlivých čistých složek. Tyto čisté zóny jednotlivých komponent směsi lze již bez problémů detekovat spektrálním nebo elektrochemickým detektorem.

KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZA JAKO SEPARAČNÍ METODA

Kromě metod chromatografických lze pro separaci složité směsi použít také metod elektromigračních. Princip separace látek v elektromigračních metodách je v zásadě jiný než v chromatografii a je založen na rozdílné pohyblivosti nabitých částic v elektrickém poli. Zjednodušeně řečeno: Čím

jsou částice dané látky menší a čím větší náboj nesou, tím rychleji se pohybují v elektrickém poli. Z analytického hlediska je nejvýznamnější elektromigrační technikou kapilární elektroforéza (CE) (2). Separační kolonou v CE je křemenná kapilára o vnitřním průměru 20–100 μm a délce 30–100 cm. Separace směsného vzorku probíhá v CE v několika krocích. Nejprve se celá kapilára naplní separačním elektrolytem a poté je na vstupní konec kapiláry nadávkován vzorek. Délka nadávkované zóny vzorku by neměla přesáhnout 1 % z celkové délky kapiláry. Po nadávkování vzorku je vstupní i výstupní konec kapiláry ponořen do oddělených nádobek se separačním elektrolytem. V těchto nádobkách jsou také umístěny elektrody, na které je vkládáno napětí o vysoké intenzitě (100–500 V na 1 cm délky kapiláry). Celé ilustrativní schéma elektroforetického přístroje je znázorněno na obrázku 1. Po zapnutí vysokého napětí dojde k tomu, že se jednotlivé nabitě částice začnou pohybovat kapilárou k místu, kde se nachází detektor. Během průchodu kapilárou dojde k rozdělení směsného vzorku na jednotlivé zóny čistých látek, které jsou na konci kapiláry detekovány.



Obr. 1. Ilustrativní schéma přístroje pro kapilární elektroforézu

CE a kapalinová chromatografie mají ze všech separačních technik nejširší uplatnění při analýze komplexních směsí, jakými jsou biologické tekutiny. Největší předností CE před kapalinovou chromatografií je mnohem vyšší separační účinnost. Zóny látek jsou v CE velmi úzké a z tohoto důvodu je lze od sebe mnohem snadněji oddělit, než kdybychom daný vzorek separovali metodou kapalinové chromatografie. Malý vnitřní průměr kapilár používaných v CE má za následek velmi malou spotřebu separačního elektrolytu i velmi malé požadavky na objem vzorku potřebný k analýze. Objem vzorku nadávkovaný do kapiláry je nepatrný a pohybuje v rozmezí několika desítek nL. Pro vlastní nadávkování je potřebné mít vzorku o něco více (asi kolem 1 μl), protože konec kapiláry je nutné ponořit do vzorku. Další nezanedbatelnou výhodou CE je i snadná příprava biologického materiálu před vlastní analýzou. Obvykle postačuje analyzovaný materiál přefiltrovat, popřípadě v jednom kroku odstranit nadbytečné proteiny. Snadná úprava vzorku, vysoká rychlost analýzy ve spojení se automatizací zabudovanou do moderních přístrojů CE umožňuje provádět analýzy velkých souborů vzorků, což je jeden ze základních požadavků současného klinického výzkumu. Není bez zajímavosti, že pro sekvenování lidského genomu byla použita právě CE, která přinesla oproti konvenčním technikám přibližně dvěstěnásobné urychlení tohoto procesu.

VYUŽITÍ KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZY PRO STANOVENÍ KLINICKY VÝZNAMNÝCH LÁTEK

Hlavní přínos CE do klinické analýzy spočívá především v jejím uplatnění na širokou škálu různých analytů – od stanovení minerálů po organické látky, od nízkomolekulárních molekul až po makromolekuly. Pro takto rozsáhlé spektrum rozličných látek, které lze stanovit na jednom přístroji CE, bylo vyvinuto několik různých technik separace prováděných v kapiláře.

Tab. 1. Vybrané klinické aplikace CE při stanovení nízkomolekulárních biogenních látek

Látka	vzorek	klinický význam	literatura
Na^+ , K^+ , Cl^-	plazma	udržování acidobazické rovnováhy a osmotického tlaku	3
Li^+	plazma	toxický prvek	3
Ca^{2+} a Mg^{2+} v iontové formě	plazma	významné biogenní prvky	4
NO_2^- , NO_3^-	plazma	sledování koncentrace NO (NO se v krvi rychle rozkládá na NO_2^- a NO_3^-)	5
kyselina šťavelová, citronová a močová	moč	tvorba močových kamenů	6
kyselina isovalerová, metylmalonová, propionová, hippurová	moč, plazma	vrozené metabolické vady	7
kyselina pyrohroznová a mléčná	mozkomíšni mok	zvýšený poměr laktát/pyruvát odhaluje ischemii a bakteriální infekci	8
fruktóza, sorbitol	plazma	diabetes mellitus	9
proteinogenní aminokyseliny	plazma	vrozené metabolické vady	10
3-methylhistidin	moč	odbourávání proteinů kosterního svalstva	11
puriny, pyrimidiny, kyselina orotová	plazma, moč	vrozené vady purinového a pyrimidinového metabolismu	12
8-hydroxy-2'-deoxyguanosin	moč	oxidativní stres	13
homocystein, glutathion a jejich metabolity	plazma, moč, erytrocyt	oxidativní stres	14
biogenní aminy	plazma, moč, mozkomíšni mok, buňka	neurotransmitery	15

Tab. 2. Příklady stanovení klinicky významných proteinů kapilární elektroforézou

Látka	vzorek	klinický význam	literatura
proteiny krevního séra	sérum	frakcionace proteinů	18
proteiny v moči	moč	patologie glomerulů a tubulů ledvin	19
hemoglobiny	plazma	hemoglobinopatie	20
apolipoproteiny	sérum	poruchy metabolismu lipidů	21
myoglobin	moč	svalová dystrofie	22
monoklonální imunoglobiny (anti-TNF, anti-CEA)	sérum	leukémie a další onemocnění	23
proteiny v mozkomíšním moku	mozkomíšní mok	poruchy centrálního nervového systému a mozkomíšní bariéry	24

TNF – tumor nekrotizující faktor (tumor necrosis factor), CEA – karcinoembryonální antigen

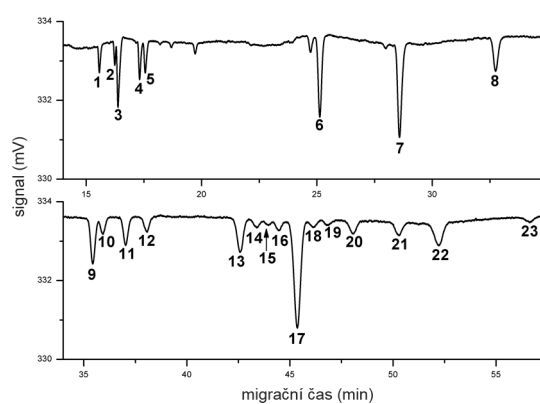
Nízkomolekulární látky anorganického i organického charakteru, které v roztoku tvoří ionty, lze analyzovat metodou kapilární zónové elektroforézy (CZE). U techniky CZE probíhá separace v otevřené kapiláře naplněné pouze základním elektrolytem. Základní elektrolyt musí udržovat konstantní hodnotu pH roztoku a zároveň musí být dostatečně vodivý, aby kapilárou tekla elektrický proud. Rozsah použití CZE při stanovení nízkomolekulárních látek v tělních tekutinách je uveden v tabulce 1.

Další používanou technikou prováděnou v kapiláře je micelární elektrokinetická chromatografie (MECK). MECK je vhodná především pro stanovení látek, které netvoří v roztoku ionty. Z klinicky významných látek to jsou například steroidy a od nich odvozené metabolity (16). U techniky MECK se do základního elektrolytu přidává povrchově aktivní látka (detergent), který v roztoku tvoří pohyblivé micely. Molekula steroidu, která se za normálních okolností nepohybuje v elektrickém poli, vstupuje do micely a migruje společně s ní.

Pro separaci látek makromolekulárního charakteru se používají kapiláry naplněné hydrofilním gelem – polyakrylamidem nebo agarózou. Protože velikosti pórů v gelu nejsou uniformní, ale liší se svou velikostí, prochází makromolekula při pohybu gelem pouze póry, do nichž se vejde (17). Trajektorie makromolekuly tedy není přímá, ale značně klikatá. Tento nepřímý pohyb částic gelem má příznivý vliv na rozdělení směsi makromolekul podle jejich molekulárních hmotností. Tato technika se označuje jako kapilární gelová elektroforéza (CGE) a v praxi se používá především pro separaci proteinů a štěpů nukleových kyselin. Vybrané aplikace CGE při stanovení a frakcionaci různých skupin proteinů jsou uvedeny v tabulce 2.

STANOVENÍ PROFILU PROTEINOGENNÍCH AMINOKYSELIN V KREVNI PLAZMĚ

Příkladem využití CE v klinickém výzkumu je stanovení celého spektra proteinogenních aminokyselin v krevní plazmě. Proteinogenní aminokyseliny se nenachází v lidském organismu pouze ve vázané formě (proteiny, peptidy), ale jsou obsaženy také jako volné ve všech tělních tekutinách. Všechny 20 kódovaných proteinogenních aminokyselin má stejnou základní chemickou strukturu a liší se pouze svým postranním řetězcem. Jednotlivé látky s takto podobnou chemickou strukturou nelze vedle stanovit bez použití nějaké



Obr. 2. Ukázka elektroforetické separace aminokyselin v krevní plazmě

Plazma byla před nadávkováním deproteinována acetonitrilem. Experimentální podmínky: křemenná kapilára – vnitřní průměr 75 μ m, délka 80 cm; separační elektrolyt – 1,7 M kyselina octová + 0,1 % hydroxyethylcelulóza (pH 2,15); separační napětí +20 kV; dávkování vzorku tlakem 50 mbar po dobu 20 s. Identifikace píků: 1 – kreatinin, 2 – ornithin, 3 – lysin, 4 – arginin, 5 – histidin, 6 – glycin, 7 – alanin, 8 – interní standard (kyselina 2-aminomáselná), 9 – valin, 10 – isoleucin, 11 – leucin, 12 – serin, 13 – threonin, 14 – asparagin, 15 – methionin, 16 – tryptofan, 17 – glutamin, 18 – citrulin, 19 – kyselina glutamová, 20 – fenylalanin, 21 – tyrosin, 22 – prolin, 23 – cystin

separační metody. V klinické praxi se profil aminokyselin stanovuje nejčastěji pomocí jednoúčelových analyzátorů, které fungují na principu kapalinné chromatografie (25). Pro stanovení celého profilu proteinogenních aminokyselin v tělních tekutinách lze s úspěchem použít i kapilární elektroforézu (26–27). Na obrázku 2 je elektroferogram separace krevní plazmy s vyznačenými píky jednotlivých aminokyselin. Vyvinutá metoda CE (experimentální podmínky jsou uvedeny v popisku obrázku 2) umožňuje kvantifikovat 19 proteinogenních aminokyselin a další 3 biogenní látky (kreatinin, ornitin a citrulin). Z 20 proteinogenních aminokyselin není na obrázku 2 patrný pouze pík kyseliny asparagové, která se vyskytuje v plazmě o velmi malé koncentraci. Plazma je před CE analýzou pouze deproteinizována přidávkem acetonitrilu a po centrifugaci je supernatant dávkován do kapiláry bez potřeby dalších úprav. Pro detekci aminokyselin byl použit vodivostní detektor. Tato metoda byla v praxi aplikována na měření koncentrací celého profilu proteinogenních aminokyselin v krevní plazmě (26) a plodové vodě (27).

ZÁVĚR

První komerční přístroj kapilární elektroforézy, který byl uveden na trh na počátku osmdesátých let 20. století, způsobil obrovský rozvoj této metody a její využití v praxi. Především vysoká separační účinnost CE ve spojení s malou spotřebou vzorku a dalších činidel činí z této separační techniky vhodný doplněk i konkurenci kapalinové chromatografie. I když toto sdělení zdaleka nevyčerpává všechny možnosti CE uplatnitelné při klinické analýze, je zřejmé, že CE má silný potenciál v této oblasti výzkumu.

Zkratky

CE	– kapilární elektroforéza
CGE	– kapilární gelová elektroforéza
CZE	– kapilární zónová elektroforéza
MECK	– micelární elektrokinetická chromatografie

LITERATURA

- Jandera, P.:** Pokroky v instrumentaci kapalinové chromatografie. In: Churáček, J. et al.: Nové trendy v teorii a instrumentaci vybraných analytických metod. Praha, Academia, 1993, s. 223-255.
- Boček, P.:** Analytická kapilární elektroforéza. In: Churáček, J. et al.: Nové trendy v teorii a instrumentaci vybraných analytických metod. Praha, Academia, 1993, s. 100-145.
- Wan, Q. J., Kubáň, P., Tanyaniwa, J. et al.:** Determination of major inorganic ions in blood serum and urine by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *Anal. Chim. Acta*, 2004, 525, s. 11-16.
- Zhang, R. L., Shi, H. L., Ma, Y. F.:** Quantitative-determination of ionized calcium and total calcium in human serum by capillary zone electrophoresis with indirect photometric detection. *J. Microcol. Sep.*, 1994, 6, s. 217-221.
- Ueda, T., Maekawa T., Sadamitsu D. et al.:** The determination of nitrite and nitrate in human blood-plasma by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis*, 1995, 16, s. 1002-1004.
- Holmes, R. P.:** Measurement of urinary oxalate and citrate by capillary electrophoresis and indirect ultraviolet absorbency. *Clin. Chem.*, 1995, 41, s. 1297-1301.
- Shirao, M., Furuta, R., Suzuki, S. et al.:** Determination of organic-acids in urine by capillary zone electrophoresis. *J. Chrom. A*, 1994, 680, s. 247-251.
- Hiroaka, A., Akai, J., Tominaga, I. et al.:** Capillary zone electrophoretic determination of organic-acids in cerebrospinal-fluid from patients with central-nervous-system diseases. *J. Chrom. A*, 1994, 680, s. 243-246.
- El Rassi, Z., Mechref, Y.:** Recent advances in capillary electrophoresis of carbohydrates, *Electrophoresis*, 1996, 17, s. 275-301.
- Tůma, P., Samcová, E.:** Stanovení volných aminokyselin v biologických tekutinách kapilární elektroforézou. *Chem. listy*, 2007, 101, s. 200-207.
- Tůma, P., Samcová, E., Balínová, P.:** Determination of 3-methylhistidine and 1-methylhistidine in untreated urine samples by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. B*, 2005, 821, s. 53-59.
- Friedecký, D., Adam, T., Barták, P.:** Capillary electrophoresis for detection of inherited disorders of purine and pyrimidine metabolism: A selective approach. *Electrophoresis*, 2002, 23, s. 565-571.
- Tůma, P., Samcová, E., Kvasnicová, V.:** Improved detection limit for a direct determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in untreated urine samples by capillary electrophoresis with optical detection. *J. Chromatogr. B*, 2004, 813, s. 255-261.
- Bayle, C., Caussé, E., Couderc, F.:** Determination of amino-thiols in body fluids, cells and tissues by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 2004, 25, s. 1457-1472.
- Chiu, T.-C., Lin, Y.-W., Huang, Y.-F., Chang, H.-T.:** Analysis of biologically active amines by CE. *Electrophoresis*, 2006, 27, s. 4792-4807.
- Vomastová, L., Mikšík, I., Deyl, Z.:** Microemulsion and micellar electrokinetic chromatography of steroids. *J. Chrom. B*, 1996, 681, s. 107-113.
- Huang, Y. F., Huang, C. C., Hu, C. C., Chang, H. T.:** Capillary electrophoresis based separation techniques for the analysis of proteins. *Electrophoresis*, 2006, 27, s. 3503-3522.
- Bossuyt, X.:** Separation of serum proteins by automated capillary zone electrophoresis. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2003, 41, s. 762-772.
- Waller, K. V., Ward, K. M., Mahan, J. D., Wismatt, D. K.:** Current concepts in proteinuria. *Clin. Chem.*, 1989, 35, s. 755-765.
- Hempe, J. M., Granger, J. N., Craver, R. D.:** Capillary isoelectric focusing of hemoglobin variants in the pediatric clinical laboratory. *Electrophoresis*, 1997, 18, s. 1785-1795.
- Liebich, H. M., Lehmann, R., Weiler, A. E. et al.:** Capillary electrophoresis, A rapid and sensitive method for routine analysis of apolipoprotein-A-I in clinical samples. *J. Chrom. A*, 1995, 717, s. 25-31.
- Shihabi, Z. K.:** Myoglobinuria detection by capillary electrophoresis. *J. Chrom. B*, 1995, 669, s. 53-58.
- Yao, Y. J., Loh, K. C., Chung, M. C. M., Li, S. F. Y.:** Analysis of recombinant human tumor necrosis factor beta by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 1995, 16, s. 647-653.
- Cowdrey, G., Firth, M., Firth, G.:** Separation of cerebrospinal fluid proteins using capillary electrophoresis: A potential method for the diagnosis of neurological disorders. *Electrophoresis*, 1995, 16, s. 1922-1926.
- Moore, S., Spackman, D. H., Stein, W. H.:** Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. *Anal. Chem.*, 1958, 30, s. 1185-1190.
- Samcová, E., Tůma, P.:** Determination of Proteinogenic Amino Acids in Human Plasma by Capillary Electrophoresis with Contactless Conductivity Detection. *Electroanalysis*, 2006, 18, s. 152-157.
- Tůma, P., Samcová, E., Andělová, K.:** Determination of free amino acids and related compounds in amniotic fluid by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *J. Chromatogr. B*, 2006, 839, s. 12-18.

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Trombotické komplikace při sepsi a jejich farmakologická profylaxe

¹Zenáhlíková Z., ²Výborný J., ²Uchytíl Z., ²Krška Z., ¹Mazoch J.,
¹Malíková I., ¹Kvasnička J.

¹Trombotické centrum a Centrální hematologické laboratoře VFN, Praha

²1. chirurgická klinika VFN, Praha

SOUHRN

Pacienti s těžkou sepsí mají zvýšené riziko vzniku tromboembolických komplikací. Cílem tohoto článku je objasnit patogenezi koagulačních abnormalit při těžké sepsi a shrnout současné poznatky o vztahu mezi systémovou zánětlivou odpovědí organismu a aktivací koagulace. Článek nabízí přehled o incidenci, rizikových faktorech a současných doporučeních pro profylaxi tromboembolické nemoci u pacientů se sepsí.

Klíčová slova: sepse, zánět, žilní trombóza.

SUMMARY

Zenáhlíková Z., Výborný J., Uchytíl Z. et al.: Thrombotic Complications of Sepsis and Their Pharmacological Prophylaxis

Patients with severe sepsis are at increased risk for developing thrombotic phenomena. This article aims to clarify the association between systemic inflammation activation and coagulation, pathogenesis of coagulation abnormalities during severe sepsis. The article reviews incidence and deep venous thrombosis risk factors among these patients and summarizes recent evidence-based guidelines for deep venous thrombosis prophylaxis.

Klíčová slova: sepsis, inflammation, venous thromboembolism.

Ze.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 597–602.

Hluboká žilní trombóza (HŽT) a plicní embolie (PE) jsou častou komplikací u pacientů se sepsí (1, 2). Příčinou vysoké incidence tromboembolické nemoci (TEN) u těchto pacientů je především zánětem navozený trombofilní stav. Hyperkoagulační stav dále potencují některé další rizikové faktory (RF). U většiny pacientů se sepsí se sdružuje několik těchto RF. Jedná se zejména o faktory vznikající jako následek sepse a multiorgánového selhávání (edém, respirační, srdeční selhání, šok), další jsou dané režimem a použitou léčbou na jednotce intenzivní péče (JIP) (imobilizace, zavedený centrální žilní katétr, podávání vazopresorů, umělá plicní ventilace, operace) (3, 4), některé předcházejí samotnému septickému onemocnění (předchozí HŽT, vysoký věk) (3). U nemocných s anamnézou fibrilace síní a infarktu myokardu statisticky významně stoupá pravděpodobnost rozvoje mezenterální trombózy (5).

ZÁNĚT A HYPERKOAGULACE

Klinické studie SIRIUS (3) a MEDENOX (4) prokázaly vyšší výskyt HŽT u pacientů s akutním infekčním onemocněním (odds ratio 1,95, resp. 1,74).

Zánět navozuje protrombotický stav několika mechanismy, důležitou úlohu hrají 3 základní faktory: zvýšená tvorba trombinu, dysfunkce inhibice koagulace a také porušená fibrinolýza (6).

Při sepsi dochází k poškození endotelu, a to přímo (např. endotoxinem) nebo zprostředkovaně (zánětlivými mediátory). Takto aktivované buňky endotelu, trombocyty a monocytů exprimují na svém povrchu celou řadu molekul, které dále podporují nejen zánětlivou, ale i koagulační odpověď (6). Na povrchu aktivovaného endotelu, monocytů a destiček dochází k odkrytí tkáňového faktoru (TF), jehož exprese je vyvolaná především po uvolnění prozánětlivých cytokinů typu interleukinu 1 (např. IL-1, TNF- α) z mononukleárů a leukocytů (7). TF je receptorem pro faktor VII (FVII), váže jej, a následně tak iniciuje koagulaci (8).

Jeden se zánětlivých mediátorů, interleukin 6 (IL-6), aktivuje také trombocyty. Aktivované trombocyty na svém povrchu exprimují P-selektin a destičkový ligand CD 40.

V játrech se pod vlivem IL-6 zvyšuje syntéza tzv. proteinů akutní fáze. Mezi tyto proteiny patří i některé koagulační faktory (např. fibrinogen, faktor VIII) a inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1) (9). Jejich zvýšená syntéza tak dále

Tab. 1. Studie zabývající se výskytem a profylaxí TEN u akutně interně nemocných pacientů se zastoupením pacientů s infekcí/sepsí

Studie	soubor	n	% pacientů se sepsí/infekcí	výsledky
Pingleton et al. (36)	respirační jednotka intenzivní péče	188	28	signifikantní pokles incidence PE při profylaxi UFH (P<0,05)
Cade et al. (2)	interní JIP	119/131	není známo	pokles incidence HŽT 29 % vs. 13 % při profylaxi UFH
Belch et al. (37)	JIP	100	52	pokles incidence HŽT 26 % vs. 4 % při profylaxi UFH
Gardlund (38)	interní oddělení	11693	14	pokles incidence nefatální PE o 19,2 % při profylaxi UFH
Samama et al. (39)	interní oddělení/JIP	1102	53	pokles incidence HŽT 14,9 % vs. 5,5 % při profylaxi LMWH Enoxaparin 40 mg/den
Hirsch et al. (1)	interní JIP	100	není známo	incidence HŽT 33 %

přispívá k hyperkoagulačnímu stavu. Detailní rozbor rozvoje zánětlivé reakce v průběhu sepse byl Holubem popsán též v Časopisu lékařů českých. V patogenezi sepse a reakci organismu dominuje zprvu abnormální systémová zánětlivá reakce (SIRS), která je v dalším průběhu následována kompenzatorní protizánětlivou reakcí (CARS) s indukci cytokinů typu IL-10 (10).

Za normálních okolností je tvorba trombinu regulována inhibitory koagulace – antitrombinem III (ATIII), proteinem C a S (PC a PS) a inhibitory kaskády tkáňového faktoru (TF pathway inhibitor – TFPI). Během těžké sepse jsou všechny tyto regulační systémy oslabeny – jednak jejich urychlenou spotřebou, degradací elastázami z aktivovaných neutrofilů a nedostatečnou syntézou. Snížená účinnost PS je také ovlivněna vazbou na protein C4b binding protein (C4bBP). Plazmatické hladiny C4bBP jsou při zánětlivé reakci zvýšeny. Využívání volného PS může přispívat k relativnímu deficitu PS a oslabení inhibičního efektu proteinu C (11). K nízké účinnosti PC dále přispívá i jeho nedostatečná aktivace trombomodulinem, jehož produkce endotelem je vlivem zánětlivých cytokinů snížena (12).

Fibrinolytický systém zajišťuje degradaci vzniklého fibrinu. Ve fázi iniciace zánětu je krátkodobě fibrinolytická aktivita zvýšena jako důsledek rychlého vyplavení aktivátorů plazminogenu z endotelu. Tento efekt je však pouze krátkodobý a je rychle inhibován vyplavením inhibitorů fibrinolýzy, zejména PAI-1. Trombin indukuje také zvýšení TAFI (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor) (13). Oslabená fibrinolytická aktivita pak přispívá k přetrvávání fibrinových náletů v cirkulaci, a tím i k rozvoji multiorganového selhání (6).

Vztah zánětlivé odpovědi a koagulace je oboustranný. Řada koagulačních faktorů může také zasahovat do zánětlivých procesů. Zejména koagulační faktory Xa, trombin a komplex TF/FVII ovlivňují zánětlivou reakci organismu. Tyto koagulační proteázy aktivují PAR receptory (proteázami aktivované receptory), na destičkách PAR-1 a na endotelu PAR-1 a PAR-2. Aktivace PAR-1 receptorů trombinem pak dále indukuje transkripci faktorů regulujících expresi TF, adhezivních molekul, růstových faktorů, cytokinů (IL-6 a IL-8) a jiných molekul, které se dále účastní regulace jak koagulační, tak i zánětlivé odpovědi (14–16).

Důležité regulační pojítko mezi koagulací a zánětlivou odpovědí představuje protein C. Aktivovaný protein C má přímé i nepřímé (prostřednictvím inhibice generace trombinu) protizánětlivé účinky na mononukleární a granulocytární, snižuje produkci některých prozánětlivých cytokinů, např. IL-6 (17). Z tohoto důvodu je také při dekompenzované SIRS doporučováno podat koncentrát PC (18).

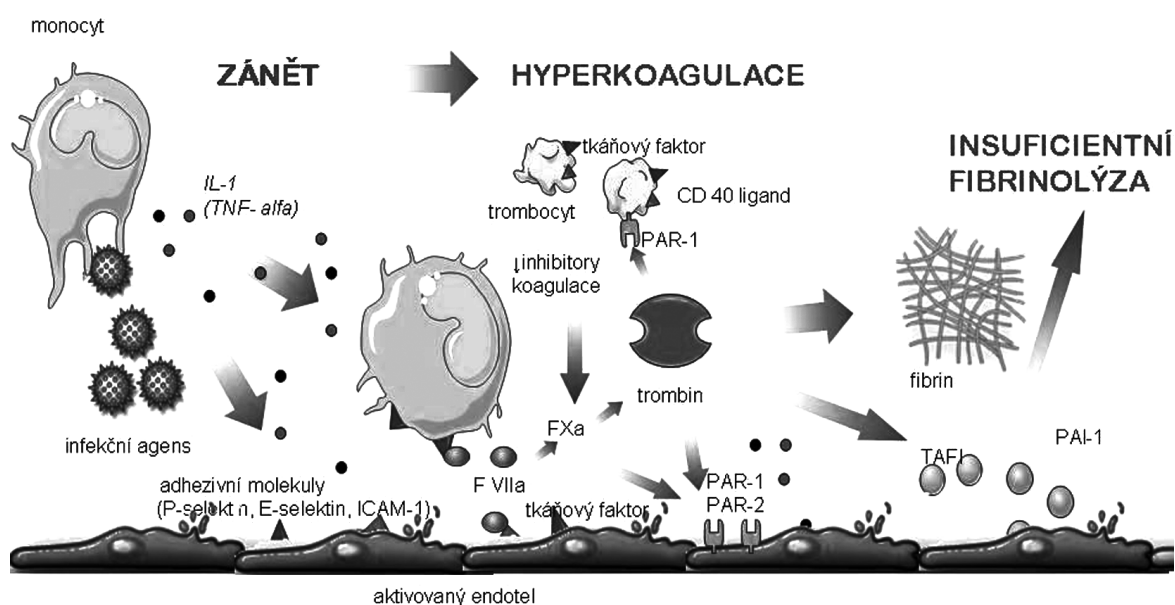
Zánětlivou odpověď stimulují několika mechanismy také aktivované destičky. Jsou schopné uvolňovat zánětlivé cytokiny IL-1 a dále na svém povrchu exprimují CD 40 ligand, který je ligandem receptoru CD 40 (receptor pro tumor necrosis factor alfa). Aktivované destičky tak vlastně přebírají funkci tumor necrosis factor alfa, a mohou tak dále indukovat zánětlivou aktivaci endotelu.

Je možné, že k podobné kontraregulaci jako u CARS dochází i u hemostázy. V terminálním stadiu sepse může dojít i k jejímu selhání, které se manifestuje jako syndrom diseminované intravaskulární koagulace s projevy buď krvácení, nebo trombotizace, respektive kombinace obou.

Výsledky nedávných studií ukazují také, že průběh sepse ovlivňují endogenní kanabinoidy (tab. 1). V organismu jsou tyto látky zapojeny do řady fyziologických i patofyziologických pochodů. Ovlivňují zejména funkci kardiiovaskulárního systému a regulují pravděpodobně i imunitní a zánětlivou odpověď organismu (23–25). Imunitní systém zase reguluje hladiny těchto molekul ovlivněním míry jejich tvorby a degradace (26). V etiopatogenezi sepse se mimo jiné podílejí na hypotenzii a šoku rezistentního na podávání katecholaminů, a zvyšují tak riziko vzniku tkáňové ischemie (27). Produkci těchto endokannabinoidů v destičkách nebo makrofázích stimuluje například bakteriální lipopolysacharid (28) (obr. 1).

VLIV PROTROMBOGENNÍCH POLYMORFIZMŮ NA PRŮBĚH SEPSE

Jednotliví pacienti se také velmi výrazně liší ve schopnosti vyrovnat se se zjevně stejným infekčním procesem. Tyto rozdíly mohou být částečně vysvětleny i geneticky podmíněnými rozdíly v hostitelské odpovědi (29). Jedná se o polymorfizmy genů kódujících proteiny, které se účastní



Obr. 1. Vzájemné interakce zánětlivé a koagulační odpovědi

Buňky imunitního systému po rozpoznání infekčního agens produkují řadu zánětlivých cytokinů, které dále aktivují endotel, leukocyty a destičky. Aktivovaný endotel na svém povrchu exprimuje řadu molekul (vW faktor, P-selektin, tkáňový faktor). Tkáňový faktor iniciuje koagulaci a vede k masivní tvorbě FXa a trombinu. Trombin dále prostřednictvím PAR-1 receptoru stimuluje endotel a destičky k další expresi adhezních molekul a tvorbě zánětlivých cytokinů. Také FXa působí podobně na endotel a stimuluje PAR 2 receptor. Snížená hladina inhibitorů koagulace umožňuje další progresi trombogeneze. Zvýšená hladina inhibitorů fibrinolýzy TAFI (indukovaný trombinem) a PAI-1 (uvolněný aktivovaným endotelem) způsobí insuficienci fibrinolytického systému. Dochází k bludnému kruhu aktivace koagulace, trombofilii, vyčerpání inhibitorů a v konečném výsledku až k rozvoji DIC syndromu s krvácením, nebo multiorgánovému selhání při trombotizaci v mikrocirkulaci postižených orgánů.

regulace imunitní, koagulační a fibrinolytické odpovědi. Byla popsána již řada genetických odchylek, které mají protrombogenní vliv, oslabují fibrinolýzu nebo inhibiči koagulace. Mezi tyto polymorfizmy patří například mutace FV-Leiden, mutace FII protrombinu, trombomodulinu, PAI-1 a další.

Podle výsledků některých studií (30, 31) se ale zdá, že při sepsi představuje mutace FV-Leiden paradoxně protektivní faktor ovlivňující přežití. Přesný mechanismus tohoto vlivu není zatím objasněn. Ochranný vliv této mutace může zde být vysvětlen zvýšenou tvorbou trombinu. Ten následně váže trombomodulin, který aktivuje protein C (aPC). Takto sekundárně navozená zvýšená tvorba aPC může mít pak podobné pozitivní účinky jako exogenně podaný rekombinantní aktivovaný protein C. Dalším možným mechanismem může být i některý dosud neznámý protektivní účinek faktoru V, který je díky rezistenci k aPC méně degradován (26). Na druhé straně nadměrná trombogeneze u pacientů s Leidenskou mutací může způsobit tvorbu fibrinových depozit a následnou vyšší incidenci některých komplikací, jako je orgánová dysfunkce a purpura fulminans u meningokokové sepse (27, 32, 33).

U genu pro PAI-1 byly identifikovány 2 varianty polymorfismu – 4G a 5G. Homozygocie pro alelu 4G je spojena se zvýšenou transkripcí genu, a tedy i vyššími plazmatickými hladinami PAI-I. Vysoké hladiny PAI-1 inhibují nadměrně fibrinolýzu, a způsobují tedy přetrvávání fibrinových depozit v mikrocirkulaci (34).

Studie na zvířecích modelech dále prokázaly, že geneticky podmíněný deficit trombomodulinu zvyšuje mortalitu po aplikaci bakteriálního lipopolysacharidu (35).

VÝSKYT TROMBOEMBOLICKÉ NEMOCI U PACIENTŮ SE SEPSÍ

Byla publikovaná řada studií zahrnující velký počet pacientů se sepsí nebo akutním infekčním onemocněním (36–39). V těchto studiích je popisován výskyt objektivně potvrzené TEN mezi 9,6–33% pacientů JIP. Závažný je fakt, že výskyt objektivně prokázané TEN u těchto pacientů je vysoký (15,5 %) i při zajištění antikoagulační profylaxe TEN (1, 2, 36–39). Výskyt ovlivňují zejména dekompenzace stavu, intenzivní péče s umělou plicní ventilací, nehybnost, zavedení žilní katétr a jiné (3, 4).

DOPORUČENÍ PRO PROFYLAXI TEN U PACIENTŮ SE SEPSÍ

V roce 2004 vypracovala skupina expertů guidelines pro vedení podpůrné terapie u pacientů se sepsí – Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock (40). Jedná se o takzvané evidence based guidelines, neboli doporučení vzniklá na základě výsledků provedených klinických studií. Guidelines obsahují i doporučení týkající se profylaxe žilní trombózy u těchto pacientů. Tato doporučení vycházejí z výsledků multicentrických randomizovaných studií prokazujících přínos zajištění profylaxe TEN, do kterých byl zařazen dostatečný počet septických pacientů (2, 37, 39). Doporučují, aby u pacientů se závažnou sepsí byla profylaxe HŽT zajištěna nízkomolekulárními hepariny (LMWH) nebo nefrakcionovaným heparinem (UFH) s.c. U pacientů kontraindikovaných k podávání hepa-

rinů (např. pro trombocytopenii, těžkou koagulopatii, aktivní krvácení, krvácení do mozku a jiné) je doporučováno zajištění alespoň mechanické profylaxe (kompresivní punčochy s graduovanou kompresí, intermitentní pneumatická komprese). U pacientů s vysokým rizikem HŽT (např. s HŽT v anamnéze) je doporučována kombinace farmakologické a mechanické profylaxe TEN. Všechna tato doporučení jsou označena jako doporučení nejvyššího stupně 1A, což znamená silné doporučení (jasný poměr benefit/riziko včetně ekonomického přínosu doporučení na základě kladných výsledků 2 na sobě nezávislých, randomizovaných, velkých klinických studií s malým počtem chyb, kontrolovaných proti placebo).

Také guidelines 7. ACCP konference o antitrombotické a trombolytické terapii z roku 2004 (41) uvádějí, že u většiny pacientů JIP je vhodná profylaxe TEN. U pacientů se středním rizikem vzniku TEN je doporučováno podávání LMWH nebo UFH, u pacientů s vysokým rizikem je upřednostňováno podávání LMWH. Jedná se opět o nejsilnější doporučení 1A. Samostatnou skupinou jsou pacienti s popáleninami, u kterých často vzniká septický stav. I u těchto pacientů je dle těchto guidelines doporučeno podávání farmakologické profylaxe (pokud není kontraindikována), mají-li některý další přídatný rizikový faktor (např. vysoký věk, obezita, rozsáhlé popálení, popálení dolních končetin, femorální žilní katétr, dlouhodobá imobilita).

Správné zajištění profylaxe žilního tromboembolizmu u pacientů se sepsí je ale velmi často obtížné. Mnohdy se současně vyskytuje vysoké riziko vzniku TEN a závažného krvácení. Nejčastější příčinou vysokého rizika krvácení je trombocytopenie, trauma, koagulopatie vzniklá jako následek jaterního selhání, urémie a koagulopatie způsobená deficitem koagulačních faktorů při jejich konzumpci vedoucí až k DIC (diseminované intravaskulární koagulaci) (42, 43). Oba zmíněné stavy, tromboembolická nemoc i krvácení, jsou potencionálně smrtelné komplikace a představují vlastně z hlediska etiopatogeneze dvě strany jedné mince. Vysoké riziko krvácení (mimo DIC syndromu) pak znamená relativní kontraindikaci k podávání farmakologické profylaxe TEN antikoagulancii. V tomto případě je doporučováno zajištění profylaxe TEN mechanickými metodami, tedy punčochy s graduovanou kompresí nebo intermitentní pneumatickou kompresí (41). Použití mechanické profylaxe je tedy přípustnou metodou u pacientů s vysokým rizikem krvácení (44–47), v tomto směru je však nutno počítat s nižším profylaktickým efektem (48, 49) a farmakologickou profylaxi zahájit, jakmile riziko krvácení pomine (41).

I farmakologická profylaxe TEN však u pacientů se sepsí často selhává, to je dokumentováno vyšší incidencí TEN (až 15,5 %) i při použití profylaxe (1, 2). Selhání profylaxe může být způsobeno jednak kontinuální protrombotickou stimulací zánětem, jednak nedostatečným efektem antikoagulancí (50). Několik klinických studií již prokázalo nižší aktivity anti FXa po subkutánní (s.c.) aplikaci LMWH u kriticky nemocných pacientů v porovnání s efektem u zdravých dobrovolníků (28, 51–53). Účinek podkožně podaného LMWH u kriticky nemocných zde může ovlivňovat celá řada faktorů, jako je například nízký srdeční výdej, pokles perfuze periferních tkání, podávání vazopresorů nebo subkutánní edém s poruchou perfuze periferních tkání, kam je s.c. aplikován LMWH (23, 50).

Další možností je naopak zvýšený antitrombotický efekt spojený s rizikem krvácení při aplikaci LMWH u pacientů s poruchou renálních funkcí. LMWH jsou primárně eliminovány renální cestou. U septických pacientů tak může renální selhání vést ke kumulaci farmaka v organizmu (24). Z tohoto důvodu je tedy vhodné monitorovat antitrombotický efekt LMWH (vyšetření inhibice FXa u všech pacientů s poklesem clearance kreatininu pod 30 ml/min) (25).

ZÁVĚR

Pacienty se sepsí řadíme do skupiny se středně vysokým až vysokým rizikem tromboembolické nemoci. U těchto pacientů je hlavní příčinou vysoké incidence TEN zánětem navozený trombofilní stav. Vzájemné propojení zánětu a koagulačního systému způsobuje v průběhu sepse aktivaci koagulace, pokles účinnosti přirozených inhibitorů koagulace a v neposlední řadě i inhibici fibrinolýzy. Aktivace koagulace však nemá za následek jen vznik trombofilie, ale může také dále stimulovat zánětlivou odpověď (aktivací PAR receptorů trombinem nebo FXa na endotelu). Tato vazba pak vede k další stimulaci jak prokoagulační, tak i zánětlivé odpovědi, a následné progresi multiorgánového selhání.

Současná guidelines pro léčbu pacientů se sepsí proto doporučují zahájit farmakologickou profylaxi HŽT hepariny (včetně LMWH) u všech pacientů s těžkou sepsí, kteří nemají kontraindikaci k jejímu podávání (klasifikováno jako 1A). Antitrombotický účinek by však bylo vhodné monitorovat.

Zkratky

ACCP	– American College of Chest Physicians Conference
ATIII	– antitrombin III
CARS	– kompenzatorní protizánětlivá reakce
C4bBP	– C4b binding protein
HŽT	– hluboká žilní trombóza
IL-1	– interleukin 1
IL-6	– interleukin 6
JIP	– jednotka intenzivní péče
LMWH	– nízkomolekulární heparin
PAI-1	– inhibitor aktivátoru plazminogenu 1
PC	– protein C
PE	– plicní embolie
PS	– protein S
RF	– rizikový faktor
s.c.	– subkutánní
SIRS	– systémová zánětlivá odpověď organizmu
TEN	– tromboembolická nemoc
TF	– tkáňový faktor
TFPI	– thrombin-aktivatable fibrinolysis inhibitor
UFH	– nefrakcionovaný heparin

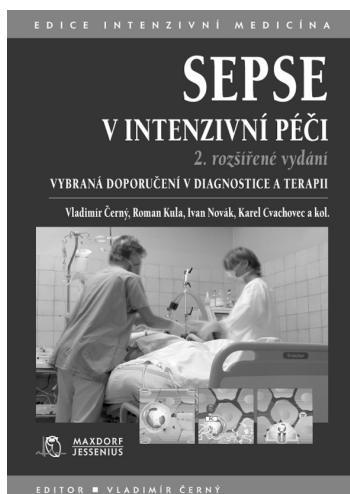
LITERATURA

1. **Hirsch, D. R., Ingenito, E. P., Goldhaber, S. Z.:** Prevalence of deep venous thrombosis among patients in medical intensive care. *JAMA*, 1995, 274, s. 335-337.
2. **Cade, J. F.:** High risk of the critically ill for venous thromboembolism. *Crit. Care Med.*, 1981, 10, s. 448-450.

3. **Samama, M. M.:** An epidemiologic study of risk factors for deep vein thrombosis in medical outpatients: the Sirius study. *Arch. Intern. Med.*, 2000, 160, s. 3415-3420.
4. **Alikhan, R., Cohen, A. T., Combe, S. et al.:** Risk factors for venous thromboembolism in hospitalized patients with acute medical illness: analysis of the MEDENOX Study. *Arch. Intern. Med.*, 2004, 164, s. 963-968.
5. **Vokurka J., Žák J., Kábela M. et al.:** Naše zkušenosti s léčením akutní mesenterální ischemie. *Prakt. Lék.*, 2007, 87, s. 43-45.
6. **Levi, M., ten Cate, H., van der Poll, T.:** Endothelium: interface between coagulation and inflammation. *Crit. Care Med.*, 2002, 30, s. S220-S224.
7. **Camerer, E., Kolsto, A. B., Prydz, H.:** Cell biology of tissue factor, the principal initiator of blood coagulation. *Thromb. Res.*, 1996, 81, s. 1-41.
8. **ten Cate, H., Bauer, K. A., Levi, M. et al.:** The activation of factor X and prothrombin by recombinant factor VIIa *in vivo* is mediated by tissue factor. *J. Clin. Invest.*, 1993, 92, s. 1207-1212.
9. **Gabay, C., Kushner, I.:** Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.*, 1999, 340, s. 448-454.
10. **Holub M.:** Sepse: infekce a systémová zánětová odpověď. *Čas. Lék. čes.*, 2007, 146, s. 109-114.
11. **Taylor, F. B., Jr., Dahlback, B., Chang, A. C. et al.:** Role of free protein S and C4b binding protein in regulating the coagulant response to *Escherichia coli*. *Blood*, 1995, 86, s. 2642-2652.
12. **Faust, S. N., Levin, M., Harrison, O. B. et al.:** Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N. Engl. J. Med.*, 2001, 345, s. 408-416.
13. **Biamond, B. J., Levi, M., Ten Cate, H. et al.:** Plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor I release during experimental endotoxaemia in chimpanzees: effect of interventions in the cytokine and coagulation cascades. *Clin. Sci. Lond.*, 1995, 88, s. 587-594.
14. **Camerer, E., Huang, W., Coughlin, S. R.:** Tissue factor and factor X-dependent activation of protease-activated receptor 2 by factor VIIa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, s. 5255-5260.
15. **Kahn, M. L., Nakanishi-Matsui, M., Shapiro, M. J. et al.:** Protease-activated receptors 1 and 4 mediate activation of human platelets by thrombin. *J. Clin. Invest.*, 1999, 103, s. 879-887.
16. **Johnson, K., Choi, Y., DeGroot, E. et al.:** Potential mechanisms for a proinflammatory vascular cytokine response to coagulation activation. *J. Immunol.*, 1998, 160, s. 5130-5135.
17. **Hancock, W. W., Tsuchida, A., Hau, H. et al.:** The anticoagulants protein C and protein S display potent antiinflammatory and immunosuppressive effects relevant to transplant biology and therapy. *Transplant. Proc.*, 1992, 24, s. 2302-2303.
18. **Kvasnička, J., Ehler Z., Polívková, J. et al.:** Syndrom dieminované intravaskulární koagulace a protein C. *Sborník Lék.*, 2002, 103, s. 257-264.
19. **Wagner, J. A., Varga, K., Jarai, Z., Kunos, G.:** Mesenteric vasodilation mediated by endothelial anandamide receptors. *Hypertension*. 1999, 33, s. 429-434.
20. **Randall, M. D., Alexander, S. P., Bennett, T. et al.:** An endogenous cannabinoid as an endothelium-derived vasorelaxant. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, 229, s. 114-120.
21. **Di Marzo, V., Melck, D., De Petrocellis, L., Bisogno, T.:** Cannabimimetic fatty acid derivatives in cancer and inflammation. *Prostaglandins Other. Lipid. Mediat.*, 2000, 61, s. 43-61.
22. **Maccarrone, M., Bari, M., Battista, N., Finazzi-Agro, A.:** Endocannabinoid degradation, endotoxic shock and inflammation. *Curr. Drug. Targets. Inflamm. Allergy*, 2002, 1, s. 53-63.
23. **Dorffler-Melly, J., de Jonge, E., Pont, A. C. et al.:** Bioavailability of subcutaneous low-molecular-weight heparin to patients on vasopressors. *Lancet*, 2002, 359, s. 849-850.
24. **Nagge, J., Crowther, M., Hirsh, J.:** Is impaired renal function a contraindication to the use of low-molecular-weight heparin? *Arch. Intern. Med.*, 2002, 162, s. 2605-2609.
25. **Hirsh, J., Raschke, R.:** Heparin and low-molecular-weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*, 2004, 126, s. 188S-203S.
26. **Weiler, H., Kerlin, B., Lytle, M. C.:** Factor V Leiden polymorphism modifies sepsis outcome: evidence from animal studies. *Crit. Care Med.*, 2004, 32, s. S233-S238.
27. **Kondaveeti, S., Hibberd, M. L., Booy, R. et al.:** Effect of the Factor V Leiden mutation on the severity of meningococcal disease. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1999, 18, s. 893-896.
28. **Rutherford, E. J., Schooler, W. G., Sredzienski, E. et al.:** Optimal dose of enoxaparin in critically ill trauma and surgical patients. *J. Trauma*, 2005, 58, s. 1167-1170.
29. **Texereau, J., Pene, F., Chiche, J. D. et al.:** Importance of hemostatic gene polymorphisms for susceptibility to and outcome of severe sepsis. *Crit. Care Med.*, 2004, 32, s. S313-S319.
30. **Kerlin, B. A., Yan, S. B., Isermann, B. H. et al.:** Survival advantage associated with heterozygous factor V Leiden mutation in patients with severe sepsis and in mouse endotoxemia. *Blood*, 2003, 102, s. 3085-3092.
31. **Yan, S. B., Nelson, D. R.:** Effect of factor V Leiden polymorphism in severe sepsis and on treatment with recombinant human activated protein C. *Crit. Care Med.*, 2004, 32, s. S239-S246.
32. **Jackson, R. T., Luplow R. E., 3rd:** Adult purpura fulminans and digital necrosis associated with sepsis and the factor V mutation. *JAMA*, 1998, 280, s. 1829-1830.
33. **Pipe, S. W., Schmaier, A. H., Nichols, W. C. et al.:** Neonatal purpura fulminans in association with factor V R506Q mutation. *J. Pediatr.*, 1996, 128, s. 706-709.
34. **Hermans, P. W., Hibberd, M. L., Booy, R. et al.:** 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. *Meningococcal Research Group. Lancet*, 1999, 354, s. 556-560.
35. **Weiler, H., Lindner, V., Kerlin, B. et al.:** Characterization of a mouse model for thrombomodulin deficiency. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, 21, s. 1531-1537.
36. **Pingleton, S. K., Bone, R. C., Pingleton, W. W., Ruth, W. E.:** Prevention of pulmonary emboli in a respiratory intensive care unit: efficacy of low-dose heparin. *Chest*, 1981, 79, s. 647-650.
37. **Belch, J. J., Lowe, G. D., Ward, A. G. et al.:** Prevention of deep vein thrombosis in medical patients by low-dose heparin. *Scott. Med. J.*, 1981, 26, s. 115-117.
38. **Gardlund, B.:** Randomised, controlled trial of low-dose heparin for prevention of fatal pulmonary embolism in patients with infectious diseases. *The Heparin Prophylaxis Study Group. Lancet*, 1996, 347, s. 1357-1361.
39. **Samama, M. M., Cohen, A. T., Darmon, J. Y. et al.:** A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients.

- Prophylaxis in Medical Patients with Enoxaparin Study Group. N. Engl. J. Med., 1999, 341, s. 793-800.
40. **Dellinger, R. P., Carlet, J. M., Masur, H. et al.:** Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Crit. Care Med., 2004, 32, s. 858-873.
 41. **Geerts, W. H., Pineo, G. F., Heit, J. A. et al.:** Prevention of venous thromboembolism: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest, 2004, 126, s. 338S-400S.
 42. **Lee, K. H., Hui, K. P., Tan, W. C.:** Thrombocytopenia in sepsis: a predictor of mortality in the intensive care unit. Singapore Med. J., 1993, 34, s. 245-246.
 43. **Dempfle, C. E.:** Coagulopathy of sepsis. Thromb. Haemost., 2004, 91, s. 213-224.
 44. **Turpie, A. G., Hirsh, J., Gent, M. et al.:** Prevention of deep vein thrombosis in potential neurosurgical patients. A randomized trial comparing graduated compression stockings alone or graduated compression stockings plus intermittent pneumatic compression with control. Arch Intern Med, 1989, 149, s. 679-81.
 45. **Vanek, V. W.:** Meta-analysis of effectiveness of intermittent pneumatic compression devices with a comparison of thigh-high to knee-high sleeves. Am. Surg., 1996, 64, s. 1050-1058.
 46. **Agu, O., Hamilton, G., Baker, D.:** Graduated compression stockings in the prevention of venous thromboembolism. Br. J. Surg., 1999, 86, s. 992-1004.
 47. **Amaragiri, SV., Lees, TA:** Elastic compression stockings for prevention of deep vein thrombosis. Cochrane Database Syst. Rev., 2000, CD001484.
 48. **Hull, R. D., Raskob, G. E., Gent, M. et al.:** Effectiveness of intermittent pneumatic leg compression for preventing deep vein thrombosis after total hip replacement. JAMA, 1990, 263, s. 2313-2317.
 49. **Blanchard, J., Meuwly, J. Y., Leyvraz, P. F. et al.:** Prevention of deep-vein thrombosis after total knee replacement. Randomised comparison between a low-molecular-weight heparin nadroparin and mechanical prophylaxis with a foot-pump system. J. Bone Joint Surg. Br., 1999, 81, s. 654-659.
 50. **Crowther, M., Lim, W.:** Measuring the anticoagulant effect of low molecular weight heparins in the critically ill. Crit Care, 2006, 10, s. 150.
 51. **Rommers, M. K., Van der Lely, N., Egberts, T. C., van den Bemt, P. M.:** Anti-Xa activity after subcutaneous administration of dalteparin in ICU patients with and without subcutaneous oedema: a pilot study. Crit. Care, 2006, 10, s. R93.
 52. **Priglinger, U., Delle Karth, G., Geppert, A. et al.:** Prophylactic anticoagulation with enoxaparin: Is the subcutaneous route appropriate in the critically ill? Crit. Care Med., 2003, 31, s. 1405-9.
 53. **Jochberger, S., Mayr, V., Luckner, G. et al.:** Antifactor Xa activity in critically ill patients receiving antithrombotic prophylaxis with standard dosages of certoparin: a prospective, clinical study. Crit. Care, 2005, 9, s. R541-R548.

Podpořeno výzkumným záměrem MZO 00064165.



SEPSE V INTENZIVNÍ PÉČI (2. vyd.)

Vladimír Černý, Roman Kula, Ivan Novák, Karel Cvachovec
a kolektiv

Sepse se stala jedním z nevážnějších témat v oblasti intenzivní medicíny. V roce 2002 vydalo nakladatelství Maxdorf publikaci, která obsahovala doporučené postupy léčby těžké sepse. Text vycházel z výzkumů mezinárodní skupiny expertů International Sepsis Forum. Nyní byl rozšířen o nová, aktualizovaná doporučení léčby septického šoku (Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock; 2004) a s ohledem na závažnost problematiky byl do knihy zařazen i doporučený postup diagnostiky jedné z nejtěžších forem invazivního meningokokového onemocnění – meningokokové sepse. Cílem a přáním autorů je usnadnit svým kolegům z nejšířší odborné veřejnosti rozhodování v denní klinické praxi. Pokud bude tento účel alespoň z části splněn, nebylo jejich úsilí vynaložené na vznik této publikace zbytečné.

Vydal Maxdorf v roce 2005, formát A5, váz., ISBN 80-7345-054-2, 212 str., 395 Kč.

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz

PŮVODNÍ PRÁCE

Informační hodnota průkazu antiborreliových protilátek u zdravých dárců krve a rizikové skupiny populace

¹Bartůněk P., ¹Goričan K., ¹Veiser T., ²Mrázek V., ²Vařejka P., ³Hulínská D.

¹IV. interní klinika I. LF UK a VFN, Praha

²II. interní klinika I. LF UK a VFN, Praha,

³Národní referenční laboratoř pro lymeskou borreliózu SZÚ, Praha

SOUHRN

Východisko. Geografické diference jednotlivých druhů klíšťat a variantní kmeny borrelií znesnadňují komparaci zkušeností domácích se zahraničními. Autoři se pokusili některé literární informace podpořit vlastním pozorováním a uspořádali studii zaměřenou na stanovení antiborreliových (AB) protilátek ve vybraných populačních vzorcích.

Cílem práce bylo zjistit a statisticky zhodnotit: a) rozdíl v rozložení hodnot hladin AB v souboru probandů z rizikového a nerizikového prostředí (šumavští lesní dělníci a pražští dárce krve) metodou ELISA, b) četnost kousnutí klíštětem v rizikové a nerizikové skupině, c) určit a statisticky zhodnotit četnost probandů se zvýšenou hodnotou hladin antiborreliových protilátek v domácí populaci metodou ELISA a četnost probandů s nenormální hodnotou metodou Western blot (WB).

Metody a výsledky. Ve skupině pražských dárců krve (kontrolní skupina) bylo vyšetřeno celkem 200 probandů, z toho 100 mužů a 100 žen. V rizikové skupině jsme vyšetřili celkem 71 probandů ze šumavského polesí, z toho bylo 39 mužů a 32 žen. Krevní vzorky byly vyšetřeny v Národní referenční laboratoři pro lymeskou borreliózu. U všech vzorků byla použita metoda ELISA NRLB KC 90. Ke konfirmaci byla použita metoda Western blot.

Závěry. Na základě písemnictví z Evropy a USA lze zobecnit i přes některé naše zkušenosti: 1. regionální rozdíly nejsou významné, pokud nejde o vysoce riziková teritoria či „profesionální expozici“; 2. není významný rozdíl mezi muži a ženami; 3. je třeba značné obezřetnosti při srovnávání kontrolní a rizikové skupiny; podmínkou takové komparace je přesné definování charakteristik obou skupin.

Klíčová slova: klíště, kmeny borrelií, antiborreliové protilátky.

SUMMARY

Bartůněk P., Goričan K., Veiser T. et al.: The Information Value of Detection of Borrelia Antibodies in the Healthy Blood Donors and in the Population at Risk

Background. Geographic differences of particular species of ticks and variant strains of *Borrelia* impede the comparison of local and foreign experience. The authors tried to support some literary observations with their own results and designed a study aimed at determination of anti-*Borrelia* antibodies (AB) in the selected population samples. The goal of the study was to find and statistically evaluate: a) difference in distribution of values of AB in the sample of probands from the risk and non-risk environment (foresters in Šumava and Prague blood donors, respectively) by means of ELISA method, b) tick bite frequency in the risk and non-risk groups, c) to determine and statistically evaluate the prevalence of probands with increased levels of antiborrelial antibodies in the local study population by ELISA method and the prevalence of probands with non-normal values found by Western blot (WB) method.

Methods and Results. In the group of Prague blood donors (control group), in total 200 probands were examined; in the risk group, 71 probands from Šumava forest were examined. Blood specimens were examined in the National Reference Laboratory for Lyme Borreliosis in Prague. In all specimens, ELISA NRLB KC90 was used. Western blot assay was used for confirmation.

Conclusions. On the basis of literature review from Europe and USA, it is possible to generalize the following, despite some equivocations: 1. regional differences are not significant, with the exception of high-risk territories or „occupational exposure“; 2. there is no significant difference between males and females; 3. considerable caution is necessary in comparing the control and risk groups; prerequisite for such comparison is defining the characteristics of both groups.

Key words: tick, *borrelia* strains, antiborrelial antibodies

Ba.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 603–607.

Ipřes značné množství nových informací o lymeské borrelióze (LB) zůstává mnoho otázek nezodpovězených. Navíc není jasné, zda se dají zkušenosti z jiných států přenášet do našich podmínek nebo s určitou modifikací. Toto specifikum (oproti např. civilizačním chorobám) vyplývá z charakteru onemocnění (infekční proces), ale i ze složitosti jeho přenosu (antropozoonóza). V Evropě a patrně i v Čechách se vyskytují jiné druhy klíšťat a hlavně jiné kmeny borrelií. Z toho vyplývá mimo jiné nutnost pečlivého ověřování zahraničních zkušeností v našich podmínkách.

Proto jsme se rozhodli některé literární informace podpořit vlastním pozorováním a uspořádali jsme vlastní studii zaměřenou na stanovení antiborreliových (AB) protilátek v populaci u:

- a) zdravých dárců krve,
- b) obyvatel žijících a pracujících v oblasti velkého výskytu klíšťat.

PREVALENCE ANTIBORRELIOVÝCH PROTILÁTEK V POPULACI

Geografické rozdíly, endemické oblasti

V posledních letech se objevila v odborném písemnictví řada prací zaměřená na srovnání výskytu AB u zdravé populace a u obyvatel endemických oblastí, resp. u rizikové populace, kam jsou zařazováni vedle lesníků a zemědělských dělníků, lesníků a myslivců, rovněž orientační běžci. Zatímco v USA se pohybuje pozitivita AB v rozmezí od 0 do 10 % (1–5) a v Anglii od 1 do 7 % (6), ve Spolkové republice Německo byla prokázána u 15,7 % venkovského obyvatelstva a od 13,7 do 27 % u lesních dělníků (7–9). Blaauw et al. vyšetřili 431 holandských myslivců; 336 z nich (78 %) nemělo v anamnéze obtíže kompatibilní s LB, ale mělo pozitivní sérologické vyšetření, 65 z nich (15,1 %) nemělo klinické projevy LB, ale mělo pozitivní sérologický nálezy, pouze 1,9 % této skupiny mělo příznaky nepochybné, resp. pravděpodobné LB (10). Podobné nálezy publikovali i další autoři (11).

Berglund et al. sledovali prospektivně (1991–1994) 301 rezidentů žijících ve vysoce endemické oblasti Švédska. Protilátky typu IgG prokázali na počátku studie metodou ELISA u 63 z nich (21 %). U stejné sestavy probandů došlo o tři roky později k vzestupu AB u 101 z nich (34 %). Rozvoj manifestní LB nastal v průběhu sledovaného období u celkem 34 (11 %) sledovaných (12).

Rizikové populační skupiny

Vedle rizikových skupin ohrožených z důvodů profese, dlouhodobého pobytu v epidemiologicky exponovaných oblastech, a vedle orientačních běžců, kteří jsou infekci Bb vystaveni intermitentně, je svým způsobem ohrožena i část městské populace. Dokladem toho je studie Reesova. S cílem upřesnit údaje o riziku výskytu LB u městské populace se autor dotazoval 44 pracovníků dvou londýnských parků a 27 ošetřovatelů zoo mimo město (kontrolní skupina) na přísátí klíštěte, příznaky LB a zároveň u nich provedl vyšetření směřující ke stanovení hladin antiborreliových protilátek. Metodou ELISA bylo prokázáno, že hodnoty pracovníků městských sadů byly vždy signifikantně vyšší než v kontrolní skupině (13).

Limity sérologického skríninku

Už v roce 1986 poukázali němečtí autoři na zkušenost, že jedním z ukazatelů častosti kontaktu populace s infekcí je výskyt zvýšených hladin protilátek v krvi (14).

Mezi fundované studie zaměřené na prevalenci a incidenci klinicky zjevné a asymptomatické lymeské borreliózy patří bezesporu práce Fahrera et al. z roku 1991 (15). Autoři se zajímali především o odhad užitečnosti sérologického skríninku jako diagnostického prostředku, přičemž si zároveň uvědomovali význam limitů senzitivity a specifity z hlediska prediktivní hodnoty tohoto vyšetření. Studovali anamnézu a klinický průběh LB, resp. sérokonverzi v průběhu šestiměsíčního sledování. Do studie zahrnuli orientační běžce ze všech regionů Švýcarska, přičemž bylo známo, že oblast, v níž závody probíhají, je charakteristická kolonizací klíšťat druhu *Ixodes ricinus* borreliemi v rozsahu od 5 do 34 %. V diskuzi nad výsledkem této studie poukazují autoři na diskrepanci mezi nálezy amerických autorů a nálezy vlastními. Zatímco ve studii Great Island (16) je odhad poměru mezi zjevnou a inaparentní LB v poměru 1:1, švýcarští autoři prokázali, že největší část postižených LB je klinicky němá. Průkaz IgG protilátek u 248 z 950 orientačních běžců (26,1 %) byl ve zřejmém kontrastu ke 101členné kontrolní skupině, kde se pozitivita těchto protilátek vyskytovala mezi 3,9–6,0 %. Zajímavý je rovněž údaj, že pouze u 6 osob ze 755 (0,8 %) se v období mezi jarem a podzimem rozvinul manifestní klinický obraz LB a u 45 z těch, kteří byli původně séronegativní, došlo k asymptomatické sérokonverzi. Toto zjištění pochopitelně navozuje otázku, jaké mohou být důsledky vysoké prevalence pozitivního průkazu antiborreliových protilátek při zanedbatelném výskytu klinických forem LB.

Cílem studie bylo:

1. zjistit a statisticky zhodnotit
 - a) rozdíl v rozložení hodnot hladin AB v souboru probandů z rizikového a nerizikového prostředí (šumavští lesní dělníci a pražští dárce krve) metodou ELISA,
 - b) četnost kousnutí klíštětem v rizikové a nerizikové skupině;
2. určit a statisticky zhodnotit četnost probandů se zvýšenou hodnotou hladin antiborreliových protilátek v domácí populaci metodou ELISA a četnost probandů s nenormální hodnotou metodou Western blot (WB)
 - a) probandů bez profesionální expozice klíšťatům (dárce krve z Prahy),
 - b) probandů s častou profesionální expozicí klíšťatům (lesní dělníci ze šumavského polesí);
3. u obou skupin probandů posoudit retrospektivně epidemiologickou a klinickou anamnézu se zaměřením na LB.

SOUBOR VYŠETŘENÝCH A POUŽITÉ METODY

Ve skupině pražských dárců krve (kontrolní skupina) bylo vyšetřeno celkem 200 probandů, z toho 100 mužů o průměrném věku 33,5 roku (rozmezí 18–58 roku) a 100 žen o průměrném věku 24,4 roku (rozmezí 18–60 roku).

V rizikové skupině jsme vyšetřili celkem 71 probandů (lesních dělníků, dělnic, lesníků a traktoristů pracujících v lese) ze šumavského polesí Trhanov, z toho bylo 39 mužů s průměrným věkem 40,6 roku (rozmezí 22–57 roku) a 32 žen s průměrným věkem 44,5 roku (rozmezí 27–61 roku).

Krevní vzorky byly vyšetřeny v Národní referenční laboratoři pro lymeskou borreliózu CEM ve Státním zdravotním ústavu v Praze. U všech vzorků byla použita metoda ELISA NRLB KC 90. Normální hodnoty pro tuto metodiku jsou do 900 pro IgM a do 700 u IgG. Ke confirmaci byla použita metoda Western blot. Kritériem pro pozitivní WB ve třídě IgM je přítomnost alespoň dvou pozitivně zbarvených specifických proužků nitrocelulóзовé membrány a ve třídě IgG přítomnost alespoň čtyř proužků (17).

Rozložení hodnot hladin antiborreliových protilátek není symetrické (gausovské) rozložení, a proto jsme k testování použili neparametrickou metodu –Mannův–Whitneyův test. Tímto testem jsme testovali hypotézu o stejnosti rozložení hodnot protilátek ve třídě IgM a IgG metodou ELISA – bez ohledu na to, jestli byly hodnoty normální, nebo zvýšené.

Při statistickém zhodnocení výskytu znaku, definovaného jako zvýšená hodnota protilátek zvláště ve třídě IgM a IgG zjištěná metodou ELISA a výskyt znaku definovaného jako nenormální hodnota pro metodu Western blot opět ve třídách IgM a IgG, jsme použili χ^2 test.

VÝSLEDKY

Kontrolní skupina

V kontrolní skupině (200 zdravých dárců krve z Prahy) byly prokázány vyšší hodnoty antiborreliových protilátek u 23 (11,5 %) z nich. V 6 případech (3 %) byly zvýšeny hladiny antiborreliových protilátek ve třídě IgM, v 18 případech (9 %) ve třídě IgG a z toho 1 proband (0,5 %) měl vyšší hladiny protilátek v obou třídách. Metodou Western blot Lyme byly prokázány vyšší hodnoty ve třídě IgG u 10 probandů (5 %). Ve třídě IgM byly výsledky ve všech případech negativní.

Klíště v anamnéze během posledních 6 týdnů udalo celkem 11 probandů (5,5 %) kontrolní skupiny, z toho 5 mužů a 6 žen. Pouze u dvou z nich byla kožní erupce charakteru možného erythema migrans (jeden muž a jedna žena), u tří mužů artralgie a u jednoho muže chronický únavový syndrom (tab. 1).

Riziková skupina

V rizikové skupině (71 lesních zaměstnanců ze Šumavy) byly prokázány vyšší hodnoty AB u 13 (18,3 %) z nich. Ve 4

Tab. 1. Probandi kontrolní skupiny (dárci krve z Prahy), u nichž byly prokázány zvýšené hladiny antiborreliových protilátek při současném výskytu symptomu kompatibilního s možným klinickým projevem lymeské borreliózy

Proband	věk (roky)	pohlaví	ELISA		WB		klíště	EM	artralgie	CFS
			IgM	IgG	IgM	IgG				
1	25	žena	769	213	negat.	negat.	ano	ne	ne	ne
2	29	muž	897	196	negat.	negat.	ne	ne	ano	ne
3	27	muž	922	293	negat.	negat.	ano	ne	ne	ne
4	44	muž	1065	444	negat.	pozit.	ano	ne	ano	ne
5	48	žena	1088	107	negat.	hran.	ne	ne	ne	ne
7	21	žena	3000	111	negat.	negat.	ano	ne	ne	ne
9	40	muž	250	703	negat.	hran.	ano	ne	ne	ne
12	46	žena	560	751	negat.	negat.	ano	ano	ne	ne
14	19	muž	447	917	negat.	hran.	ano	ne	ne	ne
17	22	žena	433	1032	negat.	hran.	ano	ne	ne	ne
18	26	žena	416	1101	negat.	negat.	ano	ne	ne	ne
19	35	muž	269	1236	negat.	hran.	ano	ano	ano	ano
21	37	žena	185	1355	negat.	pozit.	ano	ne	ne	ne

Tab. 2. Probandi rizikové skupiny (lesní dělníci ze Šumavy), u nichž byly prokázány zvýšené hladiny antiborreliových protilátek při současném výskytu symptomu kompatibilního s možným klinickým projevem lymeské borreliózy

Proband	věk (roky)	pohlaví	ELISA		WB		klíště	EM	artralgie	CFS
			IgM	IgG	IgM	IgG				
1	25	žena	897	174	negat.	negat.	ano	ne	ne	ne
2	35	žena	903	179	negat.	hran.	ano	ne	ne	ne
3	26	žena	937	330	negat.	hran.	ne	ne	ne	ano
4	19	žena	1389	359	negat.	negat.	ano	ne	ano	ne
5	38	muž	778	895	hran.	negat.	ano	ano	ne	ne
6	44	žena	1478	2670	pozit.	pozit.	ano	ne	ne	ne
7	40	muž	435	834	negat.	negat.	ano	ne	ne	ne
8	27	muž	489	1112	hran.	negat.	ano	ne	ne	ne
9	41	žena	297	1258	hran.	negat.	ano	ano	ne	ne
10	35	muž	387	1444	pozit.	negat.	ano	ne	ne	ne
11	29	žena	529	1868	pozit.	negat.	ne	ne	ano	ne
12	23	muž	404	2027	pozit.	negat.	ano	ne	ne	ne

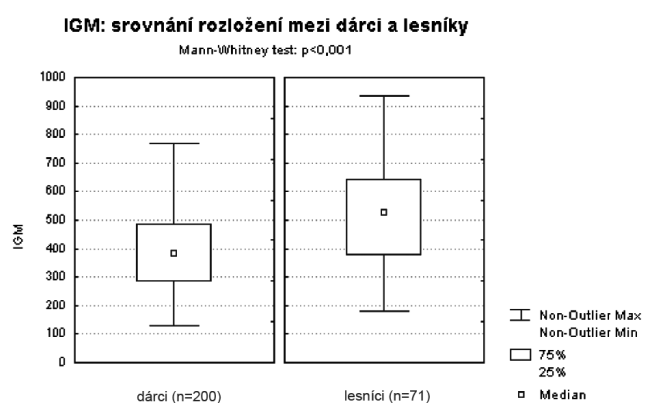
ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay, WB – Western blot, EM – erythema migrans, CSF – chronický únavový syndrom

Tab. 3. Základní statistické ukazatele hodnot protilátek třídy IgM

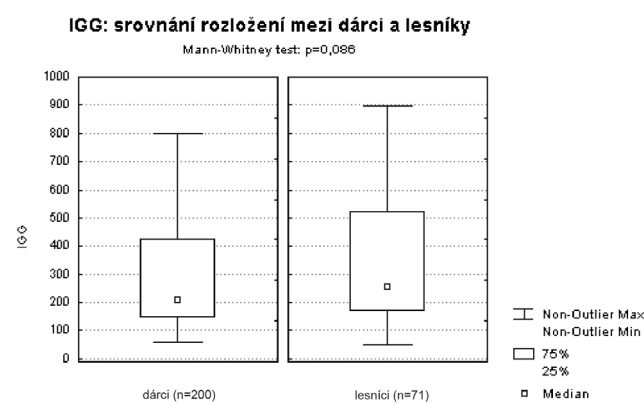
IgM (ELISA)	dárci	lesníci
počet	200	71
medián	382	529
dolní kvartil	284	375
horní kvartil	486	644
průměr	415	536
směrodatná odchylka	253	235
Mannův-Whitney test	p<0,001	

Tab. 4. Základní statistické ukazatele hodnot protilátek třídy IgG

IgG (ELISA)	dárci	lesníci
počet	200	71
medián	210	258
dolní kvartil	144	168
horní kvartil	424	521
průměr	340	439
směrodatná odchylka	362	479
Mannův-Whitney test	p=0,086 (NS)	



Graf 1. Srovnání rozložení protilátek třídy IgM



Graf 2. Srovnání rozložení protilátek ve třídě IgG

Tab. 5. Srovnání výskytu hodnocených znaků obou skupin

Znak	kontrolní skupina (n=200)	riziková skupina (n=71)	statistická	významnost
ELISA	IgM	6 (3,0 %)	4 (5,6 %)	p=0,312 (NS)
	IgG	18 (9,0 %)	6 (8,5 %)	p=0,227 (NS)
WB	IgM	0	9 (12,7 %)	p<0,001
	IgG	10 (5,0 %)	5 (7,0 %)	p=0,518 (NS)
klíště		11 (5,5 %)	10 (14,1 %)	p=0,020

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay, WB – Western blot, p – hladina statistické významnosti

případech (5,6 %) byly zvýšeny hladiny AB ve třídě IgM, v 6 případech (8,5 %) ve třídě IgG a z toho 1 proband (0,7 %) měl vyšší hladiny protilátek v obou třídách. Metodou WB byly prokázány vyšší hodnoty ve třídě IgM u 9 probandů (12,7 %). Ve třídě IgG byly prokázány vyšší hodnoty u 5 probandů (7 %), pozitivní u 1 (1,4 %).

Klíště v anamnéze během posledních 6 týdnů udalo celkem 10 probandů (14,1 %) kontrolní skupiny, z toho 5 mužů a 5 žen. Pouze u dvou byla kožní erupce charakteru možného erythema migrans (dvě ženy), u dvou žen artralgie a u jedné ženy chronický únavový syndrom (tab. 2).

Srovnání rozložení hodnot hladin protiborreliových protilátek v obou souborech je přehledně uvedeno v tabulkách 3 a 4 a v grafech 1 a 2.

Srovnání výskytu hodnocených znaků (zvýšené hodnoty protilátek a výskyt klíštěte) v obou skupinách je přehledně uvedeno v tabulce 5.

ZÁVĚR

Ze srovnání vyplývá, že mezi oběma soubory byl nalezen statisticky významný rozdíl v celkovém rozložení protilátek ve třídě IgM stanovených metodou ELISA (bez vztahu k normálním hodnotám). Vyšší hodnoty protilátek ve třídě IgM metodou ELISA byly shledány u rizikové skupiny lesních dělníků. Ve třídě IgG metodou ELISA nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v celkovém rozložení AB mezi oběma skupinami, tedy že soubor rizikový se neliší od souboru kontrolního v hodnotách protilátek třídy IgG metodou ELISA (bez vztahu k normálním hodnotám).

Při zjišťování rozdílnosti četnosti znaku definovaného jako vyšší hodnota AB protilátek oproti normě metodou ELISA nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi oběma skupinami, a to ani ve třídě IgM ani ve třídě IgG. Tedy, že soubor rizikový se neliší od souboru kontrolního v četnosti

jedinců proti normě s vyššími hodnotami protilátek třídy IgM ani IgG zjišťovaných metodou ELISA.

Metodou Western blot ve třídě IgM však byl shledán statisticky významný rozdíl v četnosti znaku definovaného jako hodnota nenormální. Ve třídě IgG metodou Western blot statisticky významný rozdíl v četnosti nenormálních hodnot nalezen nebyl.

Statisticky významně vyšší četnost kousnutí klíštětem byla zjištěna u probandů rizikového souboru – skupiny lesních dělníků.

Na základě písemnictví z Evropy a z USA lze zobecnit i přes některé naše zkušenosti, že:

1. Regionální rozdíly nejsou významné, pokud nejde o vysoce riziková teritoria či „profesionální expozici“.

2. Není významný rozdíl mezi muži a ženami.

3. Je třeba značné obezřetnosti při srovnávání kontrolní a rizikové skupiny; podmínkou takové komparace je přesné definování charakteristik obou skupin.

Zkratky

AB	– antiborreliový
IgG	– imunoglobulin G
IgM	– imunoglobulin M
LB	– lymeská borrelióza
WB	– Western blot

LITERATURA

- Hanrahan, J. P., Benach, J. L., Coleman, J. L. et al.:** Incidence and cumulative frequency of endemic Lyme disease in a community. *J. Infect. Dis.*, 1984, 150, s. 489-496.
- Mertz, L. E., Wobig, G. H., Duffy, J., Katzmann, J. A.:** Ticks, spirochetes, and new diagnostic tests for Lyme disease. *Mayo Clin. Proc.*, 1985, 60, s. 402-406.
- Russell, H., Sampson, J. S., Schmid, G. P. et al.:** Enzyme-linked immunosorbent assay and immunofluorescence for Lyme disease. *J. Infect. Dis.*, 1984, 149, s. 465-470.
- Steere, A.C., Taylor, E., Wilson, M. L. et al.:** Longitudinal assessment of the clinical and epidemiological features of Lyme disease in a defined population. *J. Infect. Dis.*, 1986, 154, s. 295-300.
- Wilkinson, H. W.:** Immunodiagnostic tests for Lyme disease. *Yale J. Biol. Med.*, 1984, 57, s. 567-572.
- Cooper, C., Muhlemann, M. F., Wright D. J. M. et al.:** Arthritis as manifestation of Lyme disease in England. *Lancet*, 1987, 1, s. 1313-1314.
- Paul, H., Gerth, H. J., Ackermann, R.:** Infectiousness for humans of *Ixodes ricinus* containing *Borrelia burgdorferi*. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. (A)*, 1987, 263, s. 473-476.
- Schmidt, R., Kabatzki, J., Hartung, S., Ackermann, R.:** Erythema chronicum migrans disease in Federal Republic of Germany. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. (A)*, 1987, 263, s. 435-441.
- Wilske, B., Munchhoff, P., Schierz, G.:** Zur Epidemiologie der Erythema migrans: Nachweis von Antikörpern gegen Schildzecken-spirochaeten bei Waldarbeitern in Oberbayern. *Münch. Med. Wochenschr.*, 1985, 127, s. 171-173.
- Blaauw, I., Nohlmans, L., van den Bogaard, T.:** Diagnostics tools in Lyme borreliosis: Clinical history compared with serology. *J. Clin. Epidemiol.*, 1992, 45, s. 1229-1236.
- Guy, E. C., Bateman, D. E., Martyn, C. N. et al.:** Lyme disease: prevalence and clinical importance of *Borrelia burgdorferi* specific IgG in forestry workers. *Lancet*, 1989, 1, s. 484-486.
- Berglund, J., Eitrem, R., Norrby, S. R.:** Long-term study of Lyme borreliosis in a highly endemic area in Sweden. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1996, 28, s. 473-478.
- Ress, D. H. E., Axford, J. S.:** Evidence for Lyme disease in urban park workers: a potential new hazard for city inhabitants. *Brit. J. Rheumatol.*, 1994, 33, s. 123-128.
- Munchhoff, P., Wilske, B., Mursic, V. P., Schierz, G.:** Antibodies against *Borrelia burgdorferi* in Bavarian forest workers. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. (A)*, 1987, 263, s. 412-419.
- Fahrer, H., van der Linden, S. M., Sauvain, M. J. et al.:** The prevalence and incidence of clinical and asymptomatic Lyme borreliosis in a population at risk. *J. Infect. Dis.*, 1991, 163, s. 305-310.
- Schwartz, B. S., Goldstein, M. D.:** Lyme disease in outdoor workers: risk factors, preventive measures, and tick removal methods. *Am. J. Epidemiol.*, 1990, 131, s. 877-885.
- Hulínská, D.:** Findings on Lyme Borreliosis Assessed by Means of the Western. Blot. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.*, 1997, 46, s. 3-8.

PŮVODNÍ PRÁCE

Porovnanie aktivít obyvateľov domovov dôchodcov v rokoch 1989 a 2000

¹Bartošovič I., ²Krajčík Š.

¹Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Katedra ošetrovateľstva, Bratislava

²Slovenská zdravotnícka univerzita, Fakulta odborných špecializačných štúdií, Katedra geriatrickej a gerontologickej, Bratislava

SÚHRN

Východisko. Jedným z dôležitých faktorov ovplyvňujúcich život obyvateľov v domovoch dôchodcov (ďalej DD) je ich aktivita vo voľnom čase. Cieľom práce bolo posúdiť tieto činnosti a ich vývoj v jedenásťročnom období.

Metódy a výsledky. Vlastnými riadenými rozhovormi sme vyšetrili dva súbory obyvateľov DD; v roku 1989 všetkých 48 obyvateľov jedného DD (priemerný vek 69,3 rokov); v roku 2000 59 náhodne vybraných obyvateľov štyroch DD s priemerným vekom 71,2 rokov. V rozhovore sa seniori vyjadrovali k účasti na navrhovaných možnostiach činností. Uvedené dva súbory sme navzájom porovnávali podľa pohlavia, veku, kognitívnych porúch a porúch mobility. Štatistické zisťovanie sme vykonali pomocou χ -kvadrátového testu v kontingenčných tabuľkách. V roku 1989 nám obyvatelia uviedli 179 aktivít, priemerne 3,7 na jedného obyvateľa; v roku 2000 uviedli 187 aktivít, priemerný počet aktivít na jedného obyvateľa poklesol na 3,2. Najčastejšími v oboch rokoch boli prechádzky v okolí, sledovanie TV a počúvanie rozhlasu. V šiestich z porovnávaných činností prišlo v roku 2000 ku zníženiu počtu obyvateľov, ktorí sa nimi zaoberali. Pri hodnotení záujmov podľa pohlavia sme zistili väčší úbytok aktivít u mužov ako u žien. Pri zohľadnení vekových skupín sme pozorovali väčší úbytok záujmov u „starých“ obyvateľov (75 + ročných). Značná časť seniorov (bez ohľadu na vek) sa v roku 2000 zapájala do akcií, organizovaných zariadeniami. Pozorovali sme významný vzostup počtu obyvateľov s kognitívnymi poruchami i poruchami mobility.

Záver. Autori poukazujú na problematiku voľnočasových aktivít u seniorov v DD. V sledovanom 11 ročnom období pozorovali pokles týchto činností.

Kľúčové slová: domov dôchodcov, aktivity, seniori, gerontológia, kognitívne poruchy, mobilita.

SUMMARY

Bartošovič I., Krajčík Š.: Comparison of the Activities of the Elderly in Homes of Seniors in 1989 and 2000

Background. One of important factors affecting the life of the residents in seniors' homes (SHs) is their activity in leisure time. The objective of our work was to describe these activities and their development in a period of eleven years.

Methods and Results. We have examined two sets of inhabitants of SHs with our own standardized interview: all 48 residents of one SH (average age 69.3 years) in 1989, and randomly selected 59 residents of four SHs (average age 71.2 years) in 2000. In our questionnaire, seniors answered if they took part in some of the proposed activities. The two sets of inhabitants were compared with each other, in sex and age groups, and according to cognitive impairments and mobility. In statistical evaluations we used the χ -square test in contingency tables. The inhabitants reported 179 activities, on average 3.7 activities per one resident in 1989. In 2000 they presented 187 activities, and the average (3.2 activities per one resident) decreased slightly. In both years, the most frequent activities were walking outdoors, watching TV and listening to radio. In six of the compared activities we observed a decrease in the number of residents pursuing them in 2000. When comparing the activities in sexes, we observed a greater decrease in activities in women than in men. Comparisons in age groups revealed a greater decrease of activities in "old" inhabitants (75 + years). In 2000, a considerable number of residents (without regard to age) took part in activities organized by institutions. We observed a significant increase in the number of residents with cognitive impairments and mobility deficits.

Conclusions. The authors point at the issue of leisure time activities of the elderly in seniors' homes. In the monitored period of eleven years, a decrease of activities was observed.

Key words: homes of seniors, activities, elderly, gerontology, cognitive impairments, mobility. Ba.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 608–613.

Mimopracovné činnosti, aktivity či záľuby majú svoj dôležitý význam aj u seniorov žijúcich v inštitucionálnej starostlivosti. Pri príchode do zariadenia môžu pozitívne ovplyvniť poruchy adaptácie seniorov, neskôr prispievajú k potrebnej kvalite života v inštitúciách (1, 2). Cieľom práce bolo vyhodnotiť niektoré aktivity obyvateľov domovov dôchodcov (ďalej DD) v priebehu jedenástich rokov, poukázať na ich vývoj a jeho možné ovplyvnenie pracovníkmi inštitúcií.

SÚBOR CHORYCH A POUŽITÉ METÓDY

Aktivity seniorov v DD sme zisťovali v dvoch súboroch. Prvým bolo všetkých 48 obyvateľov jedného DD z roku 1989, ktorí mali priemerný vek 69,3 rokov; 18 mužov (37,5 %) s priemerným vekom 68,6 rokov a tridsať žien (62,5 %) s priemerným vekom 69,8 rokov. Súbor sme vyšetrili vlastným riadeným rozhovorom – dotazníkom s 32 položkami, ktoré sa zaoberali rôznymi zdravotnými i sociálnymi charakteristikami seniorov. V druhom súbore z roku 2000 bolo 59 náhodne vybraných obyvateľov štyroch DD s priemerným vekom 71,2 rokov; 24 mužov (40,7 % súboru) malo priemerný vek 69 rokov; u 35 žien (59,3 %) súboru bol priemerný vek 72,8 rokov. Vekový interval

bol od 47–92 rokov. S pomocou inštruovaných vrchných sestier zariadení sme ich vyšetrili pozmeneným riadeným rozhovorom – dotazníkom, ktorý mal 37 otázok venujúúcich sa rovnakým charakteristikám ako v roku 1989. V oboch rokoch mali seniori sami uviesť jednotlivé aktivity, ktorým sa venujú, v prípade problémov s komunikáciou nám odpovedali pozitívne alebo negatívne na dopredu určené činnosti v priebehu rozhovoru. Frekvenciu vykonávania aktivít sme nezisťovali, v záujme dosiahnutia čo najjednoduchšieho dotazníka. Z technických dôvodov nebolo možné porovnávať dĺžku pobytu v ústavnej starostlivosti a mortalitu obyvateľov, keďže zariadenie z prvého súboru začalo fungovať len v roku 1987.

Uvedené dva súbory sme navzájom porovnávali podľa pohlavia a vekových kategórií („starší“ seniori do 74 rokov a „starí“ seniori vo veku 75 rokov a viac). Podľa odpovedí v dotazníku, zdravotnej dokumentácie (rok 1989) a výsledkov Folsteinovho testu MMSE (rok 2000) sme ich rozdelili na seniorov s výskytom kognitívnych porúch (Folsteinov test ≤ 24 bodov) a na seniorov bez kognitívnych porúch. Na skupiny obyvateľov s poruchami a bez porúch mobility sme rozdelili oba súbory podľa odpovedí v dotazníku a zdravotnej dokumen-

tácie. Zisťovali sme aj vzdelanie seniorov. Spokojnosť obyvateľov so životom v zariadení a s mierou aktivít nebola cieľom nášho zisťovania. Štatistické zisťovanie sme vykonali pomocou χ^2 -kvadrátového testu v kontingenčných tabuľkách. Používame štandardné štatistické značky (hladina významnosti p, ns = nesignifikantné).

VÝSLEDKY

Tabuľka 1 porovnáva obyvateľov DD v rokoch 1989 a 2000 podľa výskytu kognitívnych porúch, porúch mobility i vzdelania. Štatisticky významne aj v našich malých súboroch prišlo v roku 2000 ku zvýšeniu počtu seniorov s kognitívnymi poruchami i poruchami mobility. Vzdelanie seniorov v oboch súboroch je porovnateľné.

V roku 1989 nám obyvatelia uviedli celkom 179 aktivít, priemerne 3,7 na jedného obyvateľa; v roku 2000 uviedli 187 aktivít, priemerný počet aktivít na jedného obyvateľa poklesol na 3,2. Najčastejšími aktivitami v oboch rokoch boli prechádzky v okolí, sledovanie TV a počúvanie rozhlasu. V roku 1989 jeden obyvateľ chodieval do kina, o jedenásť rokov neskôr sme

Tab. 1. Sledované charakteristiky obyvateľov DD v rokoch 1989 a 2000

Charakteristiky obyvateľov DD	1989 (n=48)	2000 (n=59)	χ^2	p
obyvatelia s kognitívnymi poruchami	14 (29,2 %)	41 (69,5 %)	17,23	< 0,005
obyvatelia bez kognitívnych porúch	34 (70,8 %)	18 (30,5 %)		
obyvatelia s poruchami mobility	11 (22,9 %)	25 (42,4 %)	4,49	< 0,05
obyvatelia bez porúch mobility	37 (77,1 %)	34 (57,6 %)		
základné a neukončené základné vzdelanie	40 (83,3 %)	53 (89,8 %)	2,4	ns
stredné vzdelanie	8 (16,7 %)	5 (8,5 %)		
vysokoškolské vzdelanie	–	1 (1,7 %)		

zaznamenali aj účasť na akciách organizovaných inštitúciami a aktívnu prácu v spoločenských organizáciách. V šiestich z porovnávaných činností prišlo v roku 2000 ku zníženiu počtu seniorov, ktorí sa nimi zaoberali; pri čítaní tlače a kníh, prechádzkach v okolí a ručných prácach aj štatisticky významne (tab. 2).

Pri porovnávaní aktivít seniorov podľa pohlavia sme zistili úbytok záujmov u žien (z priemerného počtu 3,9 aktivít u jedného obyvateľa na 3,5 aktivít) aj u mužov (z 3,5 na 2,9 činností). Väčší pokles sme zaznamenali u mužov (štatisticky významne v čítaní a prechádzkach) oproti ženám (štatisticky významne len v ručných prácach) (tab. 3).

Pri zohľadnení vekových skupín sme pozorovali v priebehu jedenástich rokov úbytok počtu záujmov v oboch vekových kategóriách; výraznejšie u 75 ročných a starších seniorov. Pomerne značná časť obyvateľov (bez ohľadu na vek) sa v roku 2000 zapájala do akcií, organizovaných zariadeniami (tab. 4).

V tabuľke 5 porovnáваме aktivity u seniorov s kognitívnymi

Tab. 2. Celkové porovnanie aktivít obyvateľov v rokoch 1989 a 2000

Aktivity obyvateľov DD	1989 (n=48)	2000 (n=59)	X ²	p
prechádzky v okolí	39 (81,3 %)	32 (54,2 %)	8,65	< 0,005
sledovanie TV	36 (75 %)	42 (71,2 %)	0,19	ns
počúvanie rozhlasu	35 (72,9 %)	40 (67,8 %)	0,33	ns
čítanie tlače, kníh	33 (68,8 %)	28 (47,5 %)	4,90	< 0,05
pravidelné cvičenie	16 (33,3 %)	12 (20,3 %)	2,31	ns
ručné práce	16 (33,3 %)	6 (10,2 %)	8,69	< 0,005
fyzická práca, v záhrade	3 (6,25 %)	6 (10,2 %)	0,53	ns.
kino	1 (2,1 %)	–	–	– –
účasť na akciách	–	17 (28,8 %)	–	–
aktivita v organizáciách	–	4 (6,8 %)	–	– –
aktivít spolu na jedného obyvateľa	179 3,7	187 3,2		

Tab. 3. Porovnanie aktivít obyvateľov v rokoch 1989 a 2000 podľa pohlavia

Aktivity	muži 1989 (n=18)	muži 2000 (n=24)	X ²	p	ženy 1989 (n=30)	ženy 2000 (n=35)	X ²	p
sledovanie TV	11 (61,1 %)	17 (70,8 %)	0,44	ns	25 (83,3 %)	25 (71,4 %)	1,29	ns
počúvanie rozhlasu	13 (72,2 %)	15 (62,5 %)	0,44	ns	22 (73,3 %)	25 (71,4 %)	0,03	ns
čítanie tlače, kníh	13 (72,2 %)	7 (29,2 %)	7,64	< 0,01	20 (66,7 %)	21 (60 %)	0,31	ns
prechádzky v okolí	16 (88,9 %)	11 (45,9 %)	8,30	< 0,005	23 (76,7 %)	21 (60 %)	2,05	ns
pravidelné cvičenie	5 (27,8 %)	3 (12,5 %)	1,56	ns	11 (36,7 %)	9 (25,7 %)	0,91	ns
ručné práce	1 (5,6 %)	–	–	–	15 (50 %)	6 (17,1 %)	7,97	< 0,005
fyzická práca v záhrade	3 (16,7 %)	4 (16,7 %)	0,05	ns	–	2 (5,7 %)	–	–
kino	1 (5,6 %)	–	–	–	–	–	–	–
účasť na akciách	–	6 (25%)	–	–	–	11 (31,4%)	–	–
aktivita v organizáciách	–	2 (8,3%)	–	–	–	2 (5,7%)	–	–
aktivít spolu na jedného obyvateľa	63 3,5	65 2,7			116 3,9	122 3,5		

mi poruchami i poruchami mobility. U oboch skupín prišlo k štatisticky významnej redukcii prechádzok v okolí i vo vykonávaní ručných prác, podobne ako sme pozorovali u všetkých obyvateľov DD.

DISKUSIA

Podľa niektorých autorov je najlepšou prevenciou predčasného starnutia **aktivita**. Prevencia maladaptácie na starnutie

spočíva v zaistení aktivity, kedy hovoríme o programe úspešného starnutia a aktívnej staroby (3). Akákoľvek činnosť, ktorú starý človek vykonáva, je prospešná. Prináša mu osobné pozitíva (pocit spokojnosti, užitočnosti, prospešnosti; oddaľovanie straty sebestačnosti, závislosti na druhej osobe a sociálnej izolácie) i celospoločenský prospech (svojimi skúsenosťami, radami a pomocou obohacujú život mladej generácie). Aktivita predlžuje život, oddaľuje starnutie, znižuje spotrebu i potrebu lekárskej starostlivosti, oddaľuje vznik závislosti a nutnosť hospitalizácie (4).

Tab. 4. Porovnanie aktivít obyvateľov v rokoch 1989 a 2000 podľa vekových skupín

Aktivity	do 74 r. 1989 (n = 30)	do 74 r. 2000 (n = 32)	X ²	p	75 + r. 1989 (n = 18)	75 + r. 2000 (n = 27)	X ²	p
sledovanie TV	22 (73,3 %)	24 (75 %)	0,02	ns	14 (77,8 %)	18 (66,7 %)	0,65	ns
počúvanie rozhlasu	23 (76,7 %)	23 (71,9 %)	0,19	ns	12 (66,7 %)	17 (63 %)	0,06	ns
čítanie tlače, kníh	21 (70 %)	14 (43,8 %)	4,34	< 0,05	12 (66,7 %)	14 (51,9 %)	0,97	ns
prechádzky v okolí	25 (83,3 %)	21 (65,6 %)	2,54	ns	14 (77,8 %)	11 (40,7 %)	6,00	< 0,025
pravidelné cvičenie	10 (33,3 %)	6 (18,8 %)	1,72	ns	6 (33,3 %)	6 (22,2 %)	0,68	ns
ručné práce	11 (36,7 %)	5 (15,6 %)	3,58	ns.	5 (27,8 %)	1 (3,7 %)	5,42	< 0,025
fyzická práca v záhrade	3 (10 %)	6 (18,8 %)	0,96	ns.	–	–	–	–
kino	–	–	–	–	1 (5,6 %)	–	–	–
účasť na akciách	–	10 (31,3 %)	–	–	–	7 (25,9 %)	–	–
aktivita v organizáciách	–	4 (12,5%)	–	–	–	–	–	–
aktivít spolu	115	113			64	74		
na jedného obyvateľa	3,8	3,5			3,5	2,7		

Tab. 5. Porovnanie aktivít obyvateľov DD podľa výskytu kognitívnej poruchy i poruchy mobility

Aktivity	obyvatelia s kognitívnymi poruchami 1989 (n=14)	obyvatelia s kognitívnymi poruchami 2000 (n=41)	X ²	p	obyvatelia s poruchami mobility 1989 (n=11)	obyvatelia s poruchami mobility 2000 (n=25)	X ²	p
sledovanie TV	8 (57,1 %)	29 (70,7 %)	0,88	ns	10 (90,9 %)	17 (68 %)	2,14	ns
počúvanie rozhlasu	8 (57,1 %)	26 (63,4 %)	0,17	ns	6 (54,5 %)	16 (64 %)	0,29	ns
čítanie tlače, kníh	8 (57,1 %)	18 (43,9 %)	0,73	ns	6 (54,5 %)	13 (52 %)	0,02	ns
prechádzky v okolí	12 (85,7 %)	21 (51,2 %)	5,17	< 0,025	7 (63,6 %)	6 (24 %)	5,20	< 0,025
pravidelné cvičenie	6 (42,9 %)	8 (19,5 %)	3,00	ns	2 (18,2 %)	6 (24 %)	0,15	ns
ručné práce	5 (35,7 %)	5 (12,2 %)	3,88	< 0,05	6 (54,5 %)	2 (8 %)	9,58	< 0,005
fyzická práca v záhrade	–	4 (9,8 %)	–	–	–	1 (4 %)	–	–
kino	1 (7,1 %)	–	–	–	–	–	–	–
účasť na akciách	–	11 (26,8 %)	–	–	–	3 (12 %)	–	–
aktivita v organizáciách	–	2 (4,9 %)	–	–	–	–	–	–
aktivít spolu	48	124			37	64		
aktivít priemerne	3,43	3,02			3,36	2,56		

Aktivita v starobe je ovplyvnená prevažne štyrmi faktormi:

- zdravotným stavom (niektoré zdravotné problémy obmedzujú činnosti, pri ktorých musí senior opúšťať svoj byt či zariadenie),

- individualitou starého človeka (ovplyvnená vzdelaním, skúsenosťami, celým predchádzajúcim životom, postojom i zdravotným uvedomením),

- spoločenskou atmosférou (otázky zamestnávania, nutnosť integrácie seniorov),

- ponukou možností (rozširovanie možností rozvíjať aktivity

by malo byť záujmom samotných seniorov, komunity i inštitúcií – Akadémia či Univerzita tretieho veku) (5).

Zdravý výkonný senior je schopný plánovať a organizovať si svoje aktivity samostatne, človek s oslabeným zdravím, poruchou mobility, postihnutím motoriky zmyslových orgánov či kognitívnych funkcií je vo svojich aktivitách limitovaný. Čím väčšie je fyzické alebo duševné obmedzenie v dôsledku zdravotného stavu, tým dôležitejšia je podporná funkcia prostredia (6). V staršom a starom veku sa vzájomne podmieňujú funkčný stav, zdravie, aktivity a kvalita života seniorov.

Nečinnosť i zníženie aktivity má aj svoj **diagnostický** význam. Môže byť prejavom porúch adaptácie, kognitívnych porúch a demencie, depresie, vplyvu polyfarmácie a polypragmázie, malnutricie, organického ochorenia i prognosticky závažnej geriatrickej deteriorácie. Preto je aktivita dôležitým medicínskym faktorom a mala by sa stať predmetom záujmu ústavných lekárov i lekárov všetkých odborností, ktorí prídu do kontaktu so seniormi.

V sociálnych zariadeniach je dôležité aktivity **programovať**. Cieľom programovania aktivít (aktivizácie, animácie) je vytváranie podporného prostredia materiálneho, sociálneho, psychologického i duchovného. Prostredie, v ktorom senior žije, má pomáhať pri hľadaní významu aj zmyslu, má inšpirovať a uľahčovať činnosť, vyvolávať príjemné spomienky (6). Kvalitný program poskytuje obyvateľom potrebnú fyzickú činnosť, adekvátnu mentálnu stimuláciu a príležitosť k vzájomnému zblížovaniu a spoločenskému životu, ktorý je pre psychiku človeka nutný. Úspech akéhokoľvek programu závisí od troch požiadaviek: nadšenia personálu (sestier, sociálnych pracovníkov i lekárov) i dobrovoľníkov; tvorivej príprave programu a príprave obyvateľov (7).

V inštitúciách je často problémom **motivácia** seniorov k činnosti. Aktivity pre seniorov v inštitúciách by mali čo najviac pripomínať aktivity každodenného života staršieho človeka v domácom prostredí. K ich programovaniu musí prispievať v rámci tímovej spolupráce sestra aj sociálny pracovník. Veľký význam má aj zapojenie dobrovoľníkov. Motiváciu k aktivite podporuje (6):

- dôraz na praktickú každodennosť (podpora bežných, každodenných činností),
- zmysluplnosť (účel činnosti si však nachádza každý sám),
- dobrovoľnosť (aktivity si majú obyvatelia dobrovoľne vybrať),
- príjemnosť (činnosti majú byť príjemné, odohrávať sa v nerušenom prostredí),
- sociálna primeranosť (činnosť musí posilňovať dôstojnosť a vlastné sebauznanie, usilovať sa o identitu a kontinuitu celého života),
- úspešnosť (aktivity by mali prinášať konkrétny výsledok a pocit úspechu),
- pomoc a podmieňovanie (pri zhoršovaní funkčnej kapacity, asistenciou a kompenzáciou).

Rheinwaldová (7) uvádza nasledovné kategórie programov pre obyvateľov DD:

- ručné práce, tvorivé činnosti;
- spoločenské programy, diskusie, hry, tanec, hudba;
- cvičenie, šport, športové hry;
- činnosti vonku v prírode;
- náboženské programy;
- vzdelávacia činnosť.

V našich menších súboroch sme porovnávali vývoj aktivít u obyvateľov DD. Pri **celkovom** zhodnotení v priebehu jedenástich rokov vidíme, že prišlo k **poklesu** aktivít obyvateľov aj pri zohľadnení veku, pohlavia, mobility či výskytu kognitívnych porúch. Prevládajúce pasívne záujmy (TV, rozhlas) sa veľmi nezmenili, zistili sme výrazné zníženie čítania novin či kníh (pre ich zvýšenú cenu?) i záľuby v ručných prácach (súbor 2000 bol starší, v horšom zdravotnom i funkčnom stave). Zníženie pravidelných prechádzok po okolí môže byť v súvisení so zhoršeným stavom pohybového aparátu, ale aj s preferenciou „konzumného“ spôsobu života. V oboch obdobiach

sme pozorovali nízky záujem obyvateľov o fyzickú prácu a prácu v záhrade, zrejme súvisiacu s uprednostňovaním pasívnych aktivít, menšími možnosťami fyzickej práce a slabším vzťahom ku spoločným miestam, kde tieto aktivity možno vykonávať. Určitou pozitívnou črtou je novozistená účasť seniorov na organizovaných akciách (kultúrne programy, zábavy, zájazdy a pod.). Zrejme je to jednou z ciest, ktorou sa naše sociálne zariadenia môžu uberať. Na druhej strane pri týchto akciách sa treba snažiť o udržanie individuality jedincov, aby tu nešlo len o pasívne prispôsobenie sa režimu v inštitúcii.

Pri porovnaní podľa **pohlavia** si v oboch obdobiach udržali viac aktivít ženy. Muži sa štatisticky významne zhoršili v dvoch aktivitách (čítaní kníh a tlače, prechádzky v okolí), ženy len pri vykonávaní ručných prác. Aj keď nepoznáme presnú príčinu tohto zistenia, môžeme usudzovať, že sú ženy lepšie adaptované na život v inštitúcii a viac využívajú možnosti inštitúcie. Na druhej strane však klesá ich záujem o typicky ženskú záľubu (ručné práce), čo si v našom prípade vysvetľujeme ich výraznejším zostarnutím (o tri roky) a horším zdravotným i funkčným stavom.

Pri porovnaní podľa **veku** sme potvrdili, že so stúpajúcim vekom klesá zainteresovanosť seniorov v pasívnych i aktívnych činnostiach v inštitúcii. Príčinou je zhoršenie ich zdravia a vyšší výskyt senzorických porúch.

Výsledky iných autorov z prostredia DD sa príliš neodlišujú od našich zistení. Nováková et al. (8) ako najčastejšiu činnosť medzi obyvateľmi DD uvádza denné čítanie tlače (40,4 % obyvateľov). Po nej nasledovalo občasné sledovanie televízie (39,2 %), denné počúvanie rozhlasu (37,8 %), čítanie kníh (35,8 %), občasné počúvanie rozhlasu (36,2 %), denné sledovanie televízie (29,8 %). Tieto počty sú ovplyvnené aj faktom, že v rokoch jej zisťovania (1983–1984) bola vybavenosť seniorov v DD televíznymi i rozhlasovými prístrojmi podstatne menšia, ako je dnes. Iné autorky (9) v menšom súbore 35 obyvateľov DD konštatujú, že muži i ženy pestujú najmä pasívne aktivity, hlavne prevláda záujem o literatúru. U žien potom nasleduje záujem o prácu s ihlou (vyšívanie, šitie atď.), u mužov šport a prechádzky v prírode. Aj Guráš (10) udáva, že v DD väčšinou prevládajú pasívne aktivity (televízia, rozhlas, knihy, tlač), ktoré sú pre mnohých jediným zdrojom uvoľnenia, a preto nadobúdajú v tomto prostredí dôležitý rozmer. Kultúrne podujatia sa javili ako pomerne žiadané, zájazdy a výlety sú hodnotené pozitívne, ale prežívané rozporne. V ďalšej práci s touto tematikou sa 69 % obyvateľov vo voľnom čase venuje záľubám a koníčkam, prevažne pasívnym činnostiam individuálneho charakteru. Čítaním a sledovaním televízie trávi čas 41 % ľudí, muži nevýznamne častejšie ako ženy. Desiat percent obyvateľov má nejakého koníčka a 8 % chodí na prechádzky (11).

Sú však aj práce, ktoré hodnotia činnosť obyvateľov kritickejšie. V súbore Potockého (12) personál označil za pasívnych 78 % obyvateľov, len 15,3 % číta alebo pestuje „koníčky“. Schimmerlingová (13) upozorňuje, že starí ľudia žijú v DD veľmi jednotvárnym spôsobom. Nabáda na sústavné povzbudzovanie a udržanie určitého stupňa aktivity seniora, napr. záujmovou činnosťou, kondičným telocvikom, výletmi a pod. Autori zdôrazňujú, že vykonávanie tých činností, ktoré nie sú pocitované ako samoučelné, udržuje starého človeka v duševnej čulosti (14).

V najnovšej štúdiu sa obyvatelia DD iba veľmi zriedka zúčastňujú na aktivitách zameraných na rozvoj a vzdelávanie

osobnosti, na pohybových aktivitách a alarmujúco nízko na pracovných aktivitách. Najvyššie percento seniorov sa zúčastňuje skôr často a veľmi často aktivít zameraných na komunikáciu a rozvoj sociálnych vzťahov (styk s rodinou, rozhovory s priateľmi, susedmi a personálom DD). V kultúrno–poznávacích aktivitách (podobne ako v našich súboroch) prevláda sledovanie televízie a počúvanie rozhlasu. Seniori takmer vôbec nenavštevujú kino, divadlo, múzeá, koncerty, výstavy (15).

Spektrum aktivít seniorov, žijúcich vo svojich **domácnostiach** je rôznorodejšie ako u obyvateľov inštitúcií. Ak naše výsledky porovnáme s prácou Zavázalovej et al. (16) vidíme, že mimopracovná činnosť v súbore 951 osôb 60 ročných a starších žijúcich vo svojich domácnostiach je vo všetkých ukazovateľoch vyššia (sledovanie televízie 97 %, rozhlasu 91 %, tlač číta 93 %, knihy 83 %, pohybová aktivita 60 %, prechádzky 90 % zo súboru). Pohybovú a pracovnú aktivitu zisťovali autori u 103 sebestačných seniorov s priemerným vekom 73 rokov. Najčastejšou činnosťou boli prechádzky (47,6 %) a práca v záhradke (34 %), pričom až 30,1 % z nich nevykonávalo žiadnu pohybovú aktivitu (17).

Našou štúdiou sme potvrdili, že v zariadeniach podstatne stúpa počet seniorov s **kognitívnymi poruchami**, ktoré sú spolu s behaviorálnymi a poruchami bežných denných aktivít súčasťou klinického obrazu **demencií** (18). Štatisticky významne klesol počet kognitívne alterovaných seniorov vo vykonávaní ručných prác a v prechádzkach po okolí. Okrem zmien, súvisiacich s progresiou príznakov demencií, môže spolupôsobiť aj zhoršenie **mobility** všetkých obyvateľov i obyvateľov s kognitívnymi poruchami.

Zo šiestich porovnateľných činností sme pozorovali vzostup aktivít v dvoch pasívnych činnostiach (sledovanie TV, počúvanie rozhlasu), ktoré môžu súvisieť s väčšou osobnou zabezpečenosťou obyvateľov týmito prístrojmi v priebehu sledovaného obdobia (tab. 5).

V troch porovnávajúcich faktoroch (vek, pohlavie, kognitívne poruchy) sme u obyvateľov potvrdili aj narastajúci pokles v **pohybovej aktivite** (v našich súboroch zahrnuté v prechádzkach v okolí či v pravidelnom cvičení). Zníženie pohybovej aktivity sa podieľa na vzniku mnohých patologických stavov, udržanie primeranej telesnej aktivity patrí k najlepšej prevencii sarkopénie a krehkosti („frailty“) vyššieho veku (19). Aj keď primeraná aktivita seniorov môže byť niekedy vzhľadom na ich zdravotný stav problematická, jej pravidelné vykonávanie prináša rad pozitívnych vplyvov v každej vekovej kategórii, v zdraví i chorobe (20).

ZÁVER

Náš prieskum zistil, že počas sledovaného obdobia došlo k poklesu aktivity obyvateľov domovov dôchodcov, čo možno vysvetlí tým, že do týchto zariadení prichádzajú obyvatelia s ťažším postihnutím kognitívnych funkcií a mobility. Môže to byť spôsobené i zlepšovaním domácej starostlivosti, ktorá umožňuje starým ľuďom dlhšie zostať v domácom prostredí. Na túto skutočnosť by mali kompetentné orgány zareagovať zvýšením počtu psychológov a liečebných pedagógov, ktorí svojou činnosťou prispejú k zlepšenej kvalite života obyvateľov DD.

Skratky

DD – domov dôchodcov

LITERATÚRA

1. **Hegyí, L., Krajčík, Š.:** Geriatria pre praktického lekára. 2. vyd. Bratislava, Herba, 2006, 364 s.
2. **Weber, P. et al.:** Minimum z klinické gerontologie pro lékaře a sestru v ambulanci. 1. vyd. Brno, IDV PZ, 2000, 151 s.
3. **Čeledová, L., Zavázalová, H., Zikmundová, K.:** Mimopracovní aktivity seniorů jako nedílná součást zdravotně sociální prevence. Geriatria, 2005, 11, s. 73-77.
4. **Zavázalová, H., Vožehová, S., Zaremba, V.:** Uplatnění starého člověka ve společnosti. Lek. Obzor, 1994, 43, s. 739-744.
5. **Zavázalová, H. et al.:** Vybrané kapitoly ze sociální gerontologie. Plzeň, LF UK, 2001, 89 s.
6. **Janečková, H., Kalvach, Z., Holmerová, I.:** Programování aktivit, motivování, akceptování a kognitivní rehabilitace. In: Kalvach, Z., Zadák, Z., Jiráček, R. et al.: Geriatrie a gerontologie. 1. vyd. Praha, Grada Publishing, 2004, s. 436-451.
7. **Rheinwaldová, E.:** Novodobá péče o seniory. 1. vyd. Praha, Grada Publishing, 1999, 88 s.
8. **Nováková, H., Skalská, H., Truhlářová, J.:** Staří lidé v domovech důchodců a léčebnách pro dlouhodobě nemocné (zdravotní a sociální aspekty). Suppl. sborníku vědeckých prací LF UK, Hradec Králové, 1987, 82 s.
9. **Bratská, M., Poliačková, N.:** Aktivity obyvateľov domovov dôchodcov vo voľnom čase. In: Hegyí, L. (ed.) Care of Elderly in Countries in Transition, (Starostlivosť o starých ľuďoch v transformujúcich sa krajinách). Bratislava, Charis, 1994, s. 110-111.
10. **Guráň, P.:** Adaptačné problémy očami obyvateľov domova dôchodcov. In: Hegyí, L. (ed.) Development of care of elderly in Central Europe, (Vývoj starostlivosti o seniorov v Strednej Európe). 1. vyd. Bratislava, Charis, 1997, s. 82-86.
11. **Zikmundová, K., Zavázalová, H., Vožehová, S., Neklanová, A.:** Sociální charakteristiky obyvatel domova důchodců. Plzeň. lék. Sborn., 1995, 62, s. 47-51.
12. **Potocký, P.:** Posúdenie obyvateľov domovov dôchodcov pomocou Plutchikovho testu a jeho výsledky. In: Hegyí, L. (ed.) Care of Elderly in Countries in Transition, (Starostlivosť o starých ľuďoch v transformujúcich sa krajinách). Bratislava, Charis, 1994, s. 44-45.
13. **Schimmerlingová, V.:** K problematice maladaptace obyvatel domovů důchodců a sociotechnické přístupy k řešení. In: Rameš, I., Reban, J., Vedral, P. (ed.) – III. Jihočeské gerontologické dny – Sborník přednášek a referátů. České Budějovice, OUNZ, 1979, s. 87-94.
14. **Kasalová, H.:** Životní situace starých občanů. Výzkumná práce č. 111. Praha, VÚSRP, 1988, 87 s.
15. **Suchanová, R., Tirpáková, L.:** Seniori a voľnočasové aktivity. Geriatria, 2006, 12, s. 62-67.
16. **Zavázalová, H., Zaremba, V., Vožehová, S., Zikmundová, K.:** Starý člověk a rodinné vztahy. In: Hegyí, L., Potocký, A. (ed.) Problémy seniorov na konci storočia. 1. vyd. Bratislava, Retaas, 1999, s. 40-44.
17. **Kudlová, E., Slámová, A.:** Analýza životního stylu seniorů žijících v domácím prostředí se zaměřením na stravovací návyky. Prakt. Lék., 2006, 86, s. 439-442.
18. **Pidrman, V., Kolibáš, E.:** Změny jednání seniorů. 1 vyd. Praha, Galén, 2005, 189 s.
19. **Holmerová, I., Jurašková, B., Vaňková, H., Veleta, P.:** Křehkost vyššího věku a sarkopénie jako její důležitá komponenta. Čes. Ger. Rev., 2007, 5, s. 24-32.
20. **Máček, M.:** Stárnutí a tělesná aktivita. In: Kalvach, Z., Zadák, Z., Jiráček, R. et al.: Geriatrie a gerontologie. 1. vyd. Praha, Grada Publishing, 2004, s. 153-164.

KAZUISTIKA

Klostridiová sepsa a plynatá sněť břišní stěny po cholecystektomii

^{1,2}Lochman P., ²Kabeláč K., ²Pospíšil I., ^{1,2}Dobeš D., ^{1,2}Čáp R.

¹Katedra válečné chirurgie, ²Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové

²Chirurgická klinika FN, Hradec Králové

SOUHRN

Klostridiová sepsa je vzácnou komplikací po nitrobřišních operacích, v mnoha případech smrtelnou. V našem písemnictví byly podle námi dostupných informací dosud publikovány pouze dvě práce popisující klostridiovou sepsi jako pooperační komplikaci celkem u 4 pacientů, z nichž pouze jediný přežil. Autoři předkládají kazuistiku pacienta operovaného pro cholecystolitíazu a obstrukční ikterus, u něhož došlo do 48 hodin po cholecystektomii k rozvoji klostridiové sepsy a plynaté sněti břišní stěny, které byly úspěšně zvládnuty.

Klíčová slova: klostridiová sepsa, plynatá sněť břišní stěny, cholecystektomie.

SUMMARY

Lochman P., Kabeláč K., Pospíšil I., Dobeš D., Čáp R.: Clostridial Sepsis and Gas Gangrene of the Abdominal Wall After Cholecystectomy

Clostridial sepsis is a rare complication after intraabdominal operations, mostly fatal.

According to our knowledge only two papers describing clostridial sepsis as postoperative complication in 4 patients were published in the Czech literature, only one of them survived.

Authors present a case report of patient operated on for cholecystolithiasis and obstructive icterus where within 48 hours after cholecystectomy the clostridial sepsis and gas gangrene of the abdominal wall developed and that were successfully managed.

Key words: clostridial sepsis, gas gangrene of the abdominal wall, cholecystectomy.

Lo.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 614–616.

Plynatá sněť je málo častou komplikací po cholecystektomii vyznačující se vysokou úmrtností. Řadí se mezi infekce chirurgického místa, v anglickém překladu surgical site infections (SSI), které se po cholecystektomii vyskytují v rozpětí 7–20 % (1). Většina těchto infekcí je způsobena gramnegativními (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp.) a grampozitivními (*Staphylococcus* spp.) aerobními bakteriemi. Průkaz anaerobů jako vyvolávajícího agens je vzácný. V několika studiích, které se zabývaly vyšetřením žluče na přítomnost bakterií, byly klostridia nebo další anaerobní mikroorganizmy (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides* spp.) nalezeny pouze ojediněle. Kazuistika popisuje léčbu klostridiové sepsy a plynaté sněti břišní stěny u pacienta po cholecystektomii. Příčinou infekce břišní stěny a septického stavu byla endogenní infekce *Clostridium perfringens*, jež vznikla do 48 hodin po operaci. Projevila se klinickým obrazem typickým pro klostridiové infekce a byla potvrzena mikroskopickým a kulturačním vyšetřením sekretů z rány a dutiny břišní.

KAZUISTIKA

Pěťasedmdesátiletý pacient, diabetik s anamnézou prodělané akutní biliární pankreatitidy při choledocholitíaze, jež byla řešena ERCP s papilotomií a odstraněním kamenů, byl půl roku poté operován na chirurgickém oddělení spádové nemocnice pro cholecystolitíazu a obstrukční ikterus. Z pravostranného subkostálního řezu byla provedena cholecystektomie a pooperační cholangiografie s normálním nálezem na žlučových cestách.

První pooperační den došlo ke zhoršení celkového stavu pacienta. Objevily se febrilie a oligurie. V laboratorním nálezu došlo k nárůstu hladin alaninaminotransferázy ALT (5,75 μ kat/l), aspartátaminotransferázy AST (5,51 μ kat/l), bilirubinu (107 μ mol/l), CRP (276) a dusíkatých katabolitů (urea 17,8 mmol/l a kreatinin 204 μ mol/l). Byla zahájena léčba aminopenicilinem s inhibítorem beta-laktamázy – ampicilin/sulbaktamem (Unasyn[®], Pfizer S.r.l., Itálie). Stav nadále progredoval a druhý den byla zahájena podpora oběhu malými dávkami noradrenalinu pro progredující hypoten-

zi. Pacient si stěžoval na bolesti vpravo od operační rány, kde byl palpačně nalezen krepitace. Rána byla klidná, bez sekrece, z pojistného břišního drénu byla páchnoucí sérosanguinolentní sekrece. Ultrasonografické vyšetření břicha prokázalo plyn v pravém horním kvadrantu břišní stěny. Následně provedené CT vyšetření břicha potvrdilo přítomnost většího množství plynu ve stěně břišní anterolaterálně. Stav byl uzavřen jako pravděpodobná anaerobní infekce stěny břišní s projevy multiorgánového selhávání a šokovým stavem. Bylo rozhodnuto o překladi pacienta k další léčbě na naši kliniku.

Po přijetí na chirurgickou kliniku FN Hradec Králové byl pacient indikován k operační revizi. Z podkoží a také z dutiny břišní byl evakuován purulentní výpotek s příměsí žluče, jehož vzorek byl odeslán na bakteriologické vyšetření. Mikroskopickým vyšetřením nátěru na sklíčko byly v obou vzorcích zachyceny masivně grampozitivní tyče, ojediněle grampozitivní koky. Kultivačním vyšetřením byly následně prokázány *Escherichia coli*, *Enterococcus* a *Clostridium perfringens*. Příčinou biliární sekrece byl aberantní žlučovod v lůžku žlučníku po cholecystektomii. Tento byl ošetřen opičem, lůžko sešito pokračujícím stehem a byl proveden výplach dutiny břišní roztokem polyvidonjodu (Betadine[®], Egis Pharmaceuticals Ltd., Maďarsko). Do levého podbráničního, podjaterního a Douglasova prostoru byly umístěny tubicové dreny, které byly vyvedeny břišní stěnou z drobných samostatných incizí mimo operační ránu. Operační rána byla dočasně uzavřena Ethizipem[®] (Ethicon, Johnson & Johnson, Norderstedt, Německo). Dále byla provedena incize a kontrainticize kůže a podkoží v místě největšího nálezu krepitace v okolí původního subkostálního řezu a ranami byl epifasciálně protažen tubicový drén.

Po operaci byl pacient umístěn zpět na chirurgickou jednotku intenzivní péče, kde bylo pokračováno v intenzivní resuscitační péči včetně antibiotické terapie v dvojkombinaci imipenem/cilastatin (Tienam[®], Merck Sharp and Dohme B.V., Nizozemí) a metronidazol (Metronidazol[®], B. Braun Melsungen AG, SRN). Pátý den hospitalizace bylo přistoupeno k „second look“ operaci. V dutině břišní nebylo nalezeno depo volné tekutiny, byl proveden výplach dutiny břišní a její opětovná drenáž. V oblasti operační rány byly nalezeny nekrózy podkožního tuku a další nekrózy šířící se mezi jednotlivé vrstvy břišní stěny. Byla provedena nekrektomie a vzhledem k infektu v oblasti operační rány byla tato uzavřena vstřebatelným monofilním materiálem, podkoží nešito, kůže sešita monofilním stehem.

Pro přetrvávající flegmónu v oblasti laterální břišní stěny vpravo byla osmý den hospitalizace indikována operační revize, při níž byly prodlouženy původní incize. V oblasti pravého třísla byly nalezeny známky svědčící pro nekrotizující fasciitidu a nekrotizující myositidu. Byla provedena rozsáhlá nekrektomie, přesto byla poměrně velká část ischemické tkáně ponechána, aby nedošlo k evisceraci.

Rány byly ponechány k sekundárnímu hojení. Vzorky tkáně byly odeslány k histologickému vyšetření, jehož závěr byl ve shodě s klinickým nálezem.

Během další hospitalizace byla ještě 2x provedena nekrektomie v celkové anestezii. Po 21 dnech pobytu na jednotce intenzivní péče byl pacient přeložen na standardní oddělení ve stabilizovaném stavu. Po překladi na oddělení byla rána na pravém boku již bez dalších nekróz s čistými granulace-

mi, pacient byl subjektivně bez obtíží, bez teplot a bez další antibiotické terapie.

Po 27 dnech pobytu na naší klinice byl pacient přeložen zpět na chirurgické oddělení spádové nemocnice k další léčbě.

DISKUZE

Infekce *Clostridium perfringens* (dříve *Clostridium welchii*) byla poprvé popsána v roce 1898 Veilonem a Zuberem, ale je známa již od dob Hippokrata (2). *Clostridium perfringens* je grampozitivní aerotolerantní sporulující tyčinka, která se běžně vyskytuje v půdě a prachu, ale může být přítomna i ve střevním traktu lidí a zvířat. Způsobuje až 80 % všech klostridiových infekcí. Podle produkce toxinů rozlišujeme 5 typů A–E, z nichž typ A je nejčastějším původcem lidských onemocnění od nejméně závažné klostridiové celulitidy, přes lokalizovanou myositidu a fasciitidu až po myonekrózu („plynatou sněť“) komplikovanou sepsí a multiorgánovým selháváním (2–4).

Spóry mohou přežívat v těle dlouhou dobu bez příznaků, významným vyvolávajícím momentem infekce je snížený oxidoredukční potenciál tkání, který umožní růst a přeměnu spór na vegetativní, toxiny produkující patogeny. Hlavním toxinem je α -toxin (lecitináza, fosfolipáza C), jehož účinek je hemolytický, myonekrotický, dermolytický a lipolytický.

Infekce se rozvíjí v průběhu několika hodin až dní, nejčastěji do 48 hodin po operaci. Projevuje se progresivně se zhoršující bolestí v oblasti rány, jejím otokem a barevnými změnami kůže, krepitací a páchnoucí sekrecí z rány. V celkovém klinickém obrazu pak dominuje teplota jako iniciální příznak. Příznaky jsou vyvolány účinky exotoxinů a stav může vyústit v sepsi končící smrtí pacienta. Jedním z hlavních rizikových faktorů vzniku infekce chirurgického místa po operaci, a tedy i po cholecystektomii je diabetes mellitus. Riziko infekce lze snížit antibiotickou profylaxií a korekcí glykémie v perioperačním období.

Zásadním momentem pro prognózu pacienta je včasné stanovení správné diagnózy a zahájení agresivní antibiotické léčby. Lékem volby je penicilin G v megadávkách, popřípadě lze užít aminopenicilin s inhibitorem beta-laktamázy. U pacientů s alergií na penicilin lze aplikovat i klindamycin, metronidazol či chloramfenikol (5).

Současně se zahájením antibiotické terapie je nezbytné provést chirurgické debridement veškeré postižené tkáně, a to i opakovaně. Ránu lze ponechat k otevřenému sekundárnímu hojení, či uzavřít odloženě po zvládnutí infekce a septického šoku.

Otázka indikace hyperbarické terapie zůstává nadále otevřena, bylo však prokázáno, že hyperbarická oxygenoterapie významně snižuje mortalitu či počet chirurgických excizí postižené tkáně, vždy ale následuje až po chirurgickém ošetření a podání antibiotik! Na druhou stranu odpovídající přístrojové vybavení (hyperbarická komora) není k dispozici ve všech zařízeních a transport pacienta může být spíše rizikem než přínosem v léčbě. Účinnost této terapie je dána chyběním enzymu superoxidodismutázy u klostridií, a tím nemožností přežívání a produkce toxinů v prostředí bohatém na kyslík. Jedinou absolutní kontraindikací je neléčený pneumotorax. Obsolentní je dnes již aplikace antigangrenózního globulinu, jak terapeuticky, tak i profylakticky.

Komplexní péče o pacienta na jednotce intenzivní péče včetně kontinuální monitorace, aplikace kyslíku, antibiotické terapie parenterální náhrady ztrát tekutin a profylaxe tetanu je samozřejmostí. I přes výrazný pokrok v diagnostice zůstává celková mortalita klostridiových infekcí kolem 20–30 %, plynatě sněti kolem 60 %. Mortalita při postižení trupu je vyšší než při postižení končetin a v případě neléčení je takřka 100 % (5).

V české literatuře Mergancová et al. (3) a Antoš et al. (4) publikovali 4 případy klostridiové sepse. Vždy se jednalo o pacienta s maligním tumorem. Ve 3 případech došlo k rozvoji klostridiové sepse po embolizaci renálních tepen pro Grawitzův tumor a v 1 případě po embolizaci hepatické arterie před resekcí výkonem na játrech pro hepatocelulární karcinom. Pouze v jednom případě pacient přežil. Námi uváděný případ je v naší literatuře ojedinělý.

Za posledních 25 let bylo podle dostupných pramenů publikováno v anglosaské literatuře 6 prací popisujících rozvoj plynatě sněti břišní stěny po cholecystektomii. Ve 4 případech se jednalo o klasickou („open“) cholecystektomii a ve 2 případech o laparoskopickou cholecystektomii, pouze 2 pacienti přežili (7–10).

Zkratky

ALT	– alaninaminotransferáza
AST	– aspartátaminotransferáza
CRP	– C reaktivní protein
ERCP	– endoskopická retrográdní cholangiopankreatografie
spp.	– species
SSI	– infekce chirurgického místa (surgical site infections)

LITERATURA

1. **Harbi, M. A., Osoha, A. O., Mowallad, A., Al-Ahmadi, K.:** Tract microflora in Saudi patients with cholelithiasis. *Tropical Medicine and International Health*, 2001, 6, s. 570-574.
2. **Viechová, J., Beneš, J., Gabrielová, A.:** Infekce *Clostridium perfringens* po aplikaci intramuskulární injekce vitamínu B12. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*, 2003, 11, s. 212-214.
3. **Mergancová, J., Schejbalová, J., Pur, E., Neubauer, J.:** Klostridiová sepe po arteficiální obliteraci ledvinných tepen. *Čas. Lék. čes.*, 1985, 124, s. 1370-1373.
4. **Antoš, F., Kalajová, R., Kašpar, M.:** Smrtící klostridiová sepe po předoperační embolizaci arteria hepatica. *Rozhl. Chir.*, 1999, 78, s. 583-586.
5. **Revis, D. R. Jr.:** Clostridial gas gangrene. online Dostupné na: <http://www.emedicine.com/med/topic394.htm> 2004-03-03 cit. 2005-11-22 07:00
6. **Brown, D. R., Davis, N. L., Lepawsky, M. et al.:** A multi-center review of the treatment of major truncal necrotizing infections with and without hyperbaric oxygen therapy. *Am. J. Surg.*, 1994, 167, s. 485-489.
7. **Krause-Bergmann, A., Fleischer, B.:** Gasbrandinfektion nach Cholecystektomie. *Chirurg.*, 1995, 66, s. 66-68.
8. **Haerty, W., Schelling, G., Halley, M. et al.:** Generalisierte Gasbrandinfektion mit Rhabdomyolyse nach Cholecystektomie. *Anaesthesist.*, 1997, 46, s. 207-210.
9. **Michelsen, E. G., Michelsen, M.:** Gasödem der Bauchwand nach Cholecystektomie; Ausgang in Heilung. *Zbl. Chirurgie*, 1980, 105, s. 1553-1561.
10. **Samel, S., Post, S., Martell, J., Becker, H.:** Clostridial gas gangrene of the abdominal wall after laparoscopic cholecystectomy. *J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech. A.*, 1997, 7, s. 245-247.

Nové externum spojující účinnou hydrataci, antibakteriální a imunosupresivní efekt

Byla provedena klinická zkouška kombinovaného preparátu Fucicort Lipid krému u 629 nemocných atopickou dermatitidou. Jde o spojení betamethazon-17-valerátu

s fusidovou kyselinou, která je namířena zejména na zlatého stafylokoka. Kontrolovány byly i bakteriologické vzorky. Výsledky ukazují výrazně lepší účinek než samotné krémové vehikulum, preparát je dobře tolerován a jeví se jako efektivní a bezpečný pro krátkodobé léčení atopické dermatitidy.

Literatura:

Schulz Larsen, F. et al.: An efficient new formulation of fusidic acid and betamethazone 17-valerate (Fucicort*Lipid Cream) for treatment of clinically infected atopic dermatitis. *Acta Derm. Venereol.*, 2007, 87, s. 62-68.

P. Barták

Léčení vulvárního sklerotického lichenu

Účelem studie bylo ověřit si léčebné schopnosti takrolimové 0,1% masti při léčení tak odolné choroby, jakou je vulvární lichen sclerosus. Studie byla provedena na 11 osobách, u kterých nebylo dosavadní

léčení silnými kortikoidními externy úspěšné. Pacientky byly ošetřeny 2x denně po dobu 6 týdnů a dalších 6 týdnů trvalo pozorování výsledků. Nevyskytly se žádné projevy karcinogeneze ani imunosuprese. Je však třeba ještě delší pozorovací periody pro ověření výsledků, které se zdají být dobré, dokonce i v histologickém obrazu.

Literatura:

Virgili, A. et al.: Vulvar lichen sclerosus: 11 women treated with Tacrolimus 1,2% ointment. *Acta Derm. Venereol.*, 2007, 87, s. 69-72.

P. Barták

Ohlédnutí za významnou osobností

Hájek M.

Chirurgická klinika ÚVN, Praha

Dne 28. března 2007 uplynulo sto let od narození prof. MUDr. Bohuslava Niederleho, DrSc., zaslužilého lékaře, výborného chirurga a muže vysokých morálních vlastností, který byl obdivovanou a respektovanou postavou pražských chirurgických klinik.

Bohuslav Niederle pocházel z Kladna, z rodiny dlouholetého kladenského primáře prof. MUDr. Bohuslava Niederleho st., rovněž významného chirurga, který byl žákem prof. Karla Maydla.

Dětství mladičkého Bohuslava v rodině, kde měl příkladné zázemí, bylo šťastné. Studentská léta započatá na reálce v Kladně ukončil maturitou s vyznamenáním na reálném gymnáziu v Křemencově ulici v Praze v roce 1925. Byl to pro něho snadný start do studií na pražské lékařské fakultě Univerzity Karlovy, která zakončil promocií sub auspiciis v roce 1931. Před promocií, ještě jako student, byl nehonoraným asistentem v anatomickém ústavu prof. K. Weignera a v této práci pokračoval i po doktorátu. Pobyl krátký čas jako mladý asistent i v patologicko-anatomickém ústavu prof. H. Šikla a pak celý rok jako sekundář na interní klinice prof. J. Pelnáře.

Otcův příklad a úspěchy moderní chirurgie ho však stále více lákaly k tomuto oboru, takže již v roce 1932 vstoupil jako operační elév na I. chirurgickou kliniku prof. Arnolda Jiráka, které zůstal věrný po dlouhých 13 let.

V roce 1942 získal aprobaci z chirurgie a urologie a když v létě roku 1945 opouštěl svou mateřskou kliniku, která jej po odborné stránce vzorně vychovala a připravila pro náročnou práci, byl již zástupcem šéfa kliniky, tedy prvním asistentem. Bylo to těsně po skončení 2. světové války, kterou prožil v Praze ve Všeobecné nemocnici. V té době byl i nově jmenovaným univerzitním docentem chirurgie. Bylo mu tehdy 38 let. Na radu svého přednosty odešel do pražské motolské nemocnice, kde dříve vedl chirurgické oddělení prof. MUDr. Jiří Diviš, který se z Motola vrátil do Všeobecné nemocnice na Karlovo náměstí. Tam mu bylo svěřeno vedení II. chirurgické kliniky LF UK.

Mladý docent Niederle začal odvážně s náročnou operativou, která již tehdy existovala i na neklinických pracovištích pražských nemocnic, a brzy si vychoval spolehlivé chirurgické spolupracovníky z řad lékařů i zdravotních sester. Všem věnoval svůj čas, který poctivě dělil mezi medicínskou praxí, výchovu studentů a postgraduální výcvik svých nejbližších spolupracovníků, lékařů a sester.

V prvních letech primariátu se proslavil plicní lobektomií pro tuberkulózu a náhradou trepanovaného úseku lbi plexi-



sklem, což mu vyneslo obdiv; stejně jako jeho chirurgická praxe byla následně oceňována i publikace o strumách zadního mediastina a o léčbě močových vaginálních píštělí. Na prvním místě zůstávala především jeho rozsáhlá operační činnost v hepatobiliární chirurgii. Nejen v tehdejší Československu, ale i v zahraničí – v západní i ve východní Evropě – se velmi dobře uvedly jeho monografie o operacích náhlých příhod břišních, o chirurgii žlučových cest, o řešení neodkladných speciálních operací a také jeho jedinečná kniha pro sestry – instrumentářky „Práce sestry na operačním sále“. Všechny jeho publikace se dočkaly opětovných vydání doma i v zahraničí. Niederlův precizní odborný pisatelský výkon byl zakončen při jeho 90. narozeninách odkazem na 257 chirurgických publikací v časopisech pěti světových jazyků a rovněž odkazem na 8 knižních publikací, z nichž prvá vyšla již v roce 1943 (K otázce paralytického ileu); ta poslední se týkala vzpomínek na jeho učitele prof. MUDr. Arnolda Jiráka a překladů druhého dílu chirurgického atlasu autorů Grewe–Kremera.

Prof. B. Niederle byl za svého plodného života pacienty velmi milován, lékaři ctěn a organizátory zdravotnictví respektován. Protože však jako nestraník neměl na rozhodujících místech a v daném čase žádné přímluvce, musel předčasně opustit chirurgickou kliniku, kterou vedl v motolské nemocnici od roku 1967, a jen nerad, s těžkým srdcem odešel v 70 letech do penze. Poslední dva roky před penzionováním, kdy pracoval na klinice jako ordinář v endoskopické laboratoři, vnímal jako nevděk – vzhledem ke třicetileté službě šéfa chirurgie pro pražské zdravotnictví – a litoval toho, že mu nepomohli ani ti lékaři, které tak svědomitě vychovával a připravoval. Nevděk sice světem vládne, ale pan profesor se dožil požehnaného věku. A protože historie se opakuje, asi by se příliš nedivil, kdyby se dočkal dnešních dnů!

DĚJINY LÉKAŘSTVÍ

Vzpomínka na profesora MUDr. Jiřího Kaňku, DrSc.

Vonka V.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Začátkem 70. let minulého století začalo rychle přibývat důkazů o tom, že virus herpes simplex typu 2 (HSV2) je oním dlouho hledaným původcem karcinomu děložního čípku (KDC). V souhrnu nálezů však byly některé, které zcela neodpovídaly modelu, jaký vznikl v předchozím desetiletí při studiu dobře definovaných zvířecích nádorových virů. Stalo se zřejmým, že situaci může rozhodnout jen dobře provedená prospektivní studie, v jejímž průběhu by byl po dostatečně dlouhou dobu sledován výskyt neoplazií děložního čípku ve velkých skupinách původně zdravých žen, které prodělaly či neprodělaly infekci HSV2. Bylo mi jasné, že taková výzkumná práce není možná bez spolupráce s vysoce kvalifikovaným onkogynekologickým pracovištěm. Ve své tehdejší naivitě jsem se domníval, že kamkoli se obrátím, najdu pochopení. Opak byl pravdou. Byl jsem zpravidla vyslechnut s pozorností, ale jakmile došlo na diskuzi o plánech budoucího výzkumu, narážel jsem na hradbu nepochopení.



Koncem roku 1972 jsem se setkal poprvé s Jiřím Kaňkou. Přijal mne vlídně ve své prostorově stísněné pracovně a začali jsme diskutovat o možnosti společně provést prospektivní studii. Po deseti minutách jsem si uvědomil, že jsem našel muže, jakého jsem hledal. Vysoce vzdělaný klinik, jehož hlavním pracovním a výzkumným tématem byl KDC, s vyhraněným zájmem o epidemiologii této nemoci a o její příčiny. Navíc překypoval energií a z dokumentace, kterou mi ukazoval a v níž se bezproblémově pohyboval, vyplývalo, že je člověkem neobyčejně dobře a účelně organizovaným, naplněným důvěrou ve své poslání. Diskutovali jsme dlouze a obsáhle o počtech žen, které by musely být do studie zahrnuty, a o logistických podmínkách pro její provedení. Báječně jsme si notovali, zjišťovali jsme, že se výborně doplňujeme, protože to, co jsem nevěděl já, věděl on a naopak. Schůzka měla jeden jasný závěr. Dohodli jsme se, že

budeme usilovat o provedení studie v Praze 10, ve spádové oblasti Vinohradské nemocnice. Když jsme se toho dne potkali, oslovovali jsme se „pane doktore“. Po třech či čtyřech hodinách jsme se rozcházeli jako „Jirka“ a „Vláda“. Toho dne se zrodilo jedno z mých velkých životních přátelství, které nikdy nezkaleno, bylo ukončeno až v létě roku 2005 Jirkovou smrtí.

Příští dva roky jsme trávili přípravou prospektivní studie. Zahraniční spolupráce s bohatými finančními zdroji a s potřebnou expertizou, která se nám nabízela, byla tehdejšími nadřízenými orgány zamítnuta. A tak jsme s Jirkou zůstali na přípravu studie sami, rozhodnutí realizovat ji jako akci národní. Postupně jsem ho poznával a čím dále více jsem si ho vážil. Byl to člověk exaktního myšlení, akademicky důkladný a pečlivý vykonavatel všeho toho, co se dohodlo. Dobře psal a dokázal velmi dobře mluvit. Při dlouhých jednáních, která jsme vedli s pracovníky ministerstva, vedením fakulty, OÚNZ Praha 10 a na různých seminářích, uměl dovedně, věcně a srozumitelně a přitom autoritativně, ale bez jakékoli povýšenosti, použít svých velkých znalostí a rezolutně směřovat k danému cíli. Byl-li přesvědčen, že má pravdu, dával do svých prezentací celou svou osobnost, celé své cítění a celou svou prestiž. Při přípravách jsme postupovali tak, aby byl vytvořen dělný a kvalitní tým, což se nám posléze podařilo. Navzdory velkému úsilí jsme však nezískali kvalitního epidemiologa, kterého jsme jako spolupracovníka nutně potřebovali. Oba jsme byli pouze epidemiology amatéry, ale rozhodli jsme se, že se epidemiologii naučíme natolik, abychom byli s to výsledky zpracovat a interpretovat. To jsme nakonec zvládli, ale epidemiology amatéry jsme přeci jen zůstali, snad jen o něco nadšenějšími, než když jsme projekt začínali.

Potíže, na které jsme naráželi, nemá asi smysl popisovat. Mnohé z nich by se z hlediska dnešní doby byly absurdní a pro příslušníky mladší generace nepochopitelné. V průběhu roku 1982 terénní práce skončila a my zahájili zpracování materiálů. Začátkem roku 1983 jsme dokončili vyšetření sér od pacientek a kontrol, které jsme vybrali podle rizikových faktorů, které jsme v průběhu studie zjistili. Séra byla vyšetřena naslepo. Když byla rozkódována, výsledek byl pro nás šokující: Ženy, které prodělaly infekci, neměly větší riziko vzniku onemocnění HSV2 tedy nemůže být příčinou KDC. V první chvíli jsme byli oba zdrceni, protože hypotéza, kterou jsme prověřovali a v jejíž platnost jsme beze zbytku věřili, padla. Ale brzy jsme si uvědomili, že z hlediska poznání příčiny KDC a z obecného epistemologického hlediska, má popření hypotézy větší význam, než kdyby s ní

naše výsledky byly kompatibilní. Mezinárodní reakce nás o tom brzy přesvědčila.

Ale vraťme se k osobě Jiřího Kaňky, jemuž je tento medailonek věnován. Naše vztahy získaly novou dimenzi, když nám Jirka sehnal starou chalupu v Hutích, malé jihočeské vesničce v blízkosti Bechyně. Jeho otec tam těsně před válkou koupil pěknou vilku a od těch dob tam Kaňkovi trávili každé prázdniny a od jara do pozdního podzimu většinu víkendů. Jirka to místo nesmírně miloval a oblíbila si je i jeho choť Dagmar, s níž se v 50. letech oženil, a později i jejich potomci. Od roku 1974 jsme do Hutí začali jezdit i my. Tím se samozřejmě naše osobní vztahy zintenzivnily. Velká část problémů, tykající se prospektivní studie se řešila v Hutích, při sklence vína bylo-li to u nás, anebo při sklence whisky, setkali-li jsme se u Kaňků. Ale to nebyl jediný předmět našich diskuzí. Jirka se zajímal o politiku a historii. Byl vlastenecky zaujatý, jako by v něm přežívalo kus z národně buditecké tradice starších generací. Brzy jsme přišli na to, že se v drtivé většině názorů shodujeme. Oba jsme byli fascinováni myslitelskou osobností T. G. Masaryka, prvního prezidenta Československé republiky. Kdykoli přišla za totalitní řeč na Masaryka, Jirka se rozesmútněl nad tím, jak bylo jeho dílo devastováno. Když přišla listopadová revoluce, doufal v rychlou obnovu masarykovských tradic a politicko-mravního stylu jeho práce. To, že k tomu nedošlo v rozsahu, v jaký doufal, těžce nesl.

Ale Jirka nebyl suchý intelektuál. Byl člověkem šťastným, byl jádrou lidskou bytostí, nepřemožitelně živelnou. Uměl se bavit a uměl bavit i druhé. Vzpomínám na setkání v našich pražských domácnostech, na společnou dovolenou u Balatonu, ale hlavně na huťská posezení. Pravidelně se stával dominantní postavou takových setkání. Nad jiné vynikal svou výmluvností, nevyčerpateľnou zásobou vtípů, ale i silou svého hlasu, který dostupoval neobyčejné intenzity při zpěvu. Ale skutečným, absolutním vyvrcholením bývala jeho slavná „přehlídka vojsk na letenské pláni“. Ta doslova vyrážela dech svou přesnou autentičností a dokladovala Jirkův neobyčejný herecký talent. Když jste přivřeli oči, mohli jste

jej vidět, jak projíždí v maršálské uniformě v otevřeném voze a zdraví přesně nastoupené pluky.

Jirka byl rozhodný, přísný, nekompromisní při posuzování pochybení ať již způsobených nízkou kvalifikací, či lajdáctvím. S tím, kdo neuměl či nechtěl řádně pracovat, anebo by dokonce podváděl, se rychle a bez skrupulí rozešel. Za touto rozhodnou přísností se však skrývala vnímavá a sentimentální duše. Miloval svou rodinu, pyšnil se úspěchy jejich příslušníků a byl kdykoliv připraven přinést pro ně jakoukoliv oběť. Měl precitlivý vztah k částem Prahy, ve kterých žil, postupně to byla Malá Strana a pak Smíchov, ale zejména k melancholické jihočeské krajině a vesničce Hutě, kam s neměnnou pravidelností dojížděl po více než 66 let, kde znal kdekoho, mnohé od jejich nejranějšího dětství až do smrti. Počet těch, kterým tam nezištně pomohl, šel do desítek. Platí pro něho slova básníka „kdo moudrý je, ten nerozváže motouzek, co nás s dětstvím spíná, a krásná pouta neroztíná“. Až donedávna vozil Jirka každoročně vánoční stromek z huťského lesa. Jeho zdobení v pražském bytě bylo obřadem. Věšel na něj ozdoby po svých rodičích, ale i po své babičce a snad i prababičce.

V posledních dvou letech se jeho zdravotní stav zhoršoval a musel ukončit pracovní poměr. Chronická pankreatitida se komplikovala diabetem, což znamenalo vážná dietetická omezení. Ztrátu kontaktu s prací, kterou miloval, a omezení plynoucí z nemocí, jimiž trpěl, těžce nesl, ale dokázal se s nimi smířovat. S Jiřím Kaňkou jsem naposledy hovořil 9. července 2005. Přišel jsem mu dodatečně popřát k jeho 80. narozeninám. Na jejich huťské zahrádce jsme si přitukli sklenkou červeného vína, já plnou a on disciplinovaně téměř prázdnou. Pak jsme dlouze hovořili o všem možném a nakonec dohodli setkání o dva týdny později u nás. Za deset dní Jirka zemřel. Ztratil jsem ryzího, ohleduplného a chápavého přítele, žáci školy, kterou na 3. lékařské fakultě vybudoval, svého skvělého učitele, a česká medicína jednu ze svých velkých postav, jednoho z mála těch, které možno označit za razitele nových cest.

Stopa, kterou za sebou zanechal, hned tak nezmizí.

VYBRANÉ SOUHRNY

Ahmed, A. R., Spigelman, Z., Cavacini, L. A., Posner, M. R.:
**Treatment of pemphigus vulgaris with rituximab
 and intravenous immune globulin**

N. Engl. J. Med., 2006, 355, s. 1772-1779.

Pemphigus vulgaris je potenciálně fatální autoimunitní mukokutánní onemocnění, které se u některých nemocných nedaří kontrolovat obvyklou terapií. Ta zahrnuje kortikosteroidy, imunosupresiva a intravenózní imunoglobuliny (IVIG).

Předkládaná studie hodnotila účinky přidatné léčby rituximabem (Ritux) monoklonální protilátkou anti CD-20 u těžkého pemfigu, s nedostatečnou odpovědí na obvyklou terapii, postihujícího 30 a více % tělesného povrchu a více jak 3 slizniční oblasti. Léčba byla vedena jako přídatná navíc k terapii IVIG. Pacienti byli léčeni rituximabem, 375 mg/m² tělesné plochy intravenózně, ve 2 cyklech. Iniciačně společně s terapií IVIG. Tato léčba byla aplikována týdně po dobu celkem 3 týdnů a IVIG v dávce 2 g/kg tělesné váhy ve 4. týdnu. Tato indukční terapie byla následována měsíčně infuzí rituximabem a IVIG po dobu následujících celkem 4 měsíců. Monitorovány byly titry protilátek proti keratinocytům a počet periferních B-lymfocytů. Touto léčbou bylo dosaženo rychlé úpravy stavu, vymizení lézí, a dosaženo klinické remise v délce trvání 22 až 37 měsíců. Veškerá imunosupresivní terapie včetně prednisonu mohla být u všech pacientů přerušena před ukončením terapie rituximabem. Titr antikernatinocytových protilátek IgG4 koreloval s aktivitou onemocnění. Krátce po iniciační terapii rituximabem byly B-lymfocyty neměřitelné, ale následně se vše upravilo k normálním hodnotám. Nebyly zaznamenány žádné vedlejší účinky spojené s terapií rituximabem ani infekce.

Tato kombináční terapie se ukázala jako efektivní v terapii pemfigu vulgaris, který byl refrakterní na předchozí obvyklou imunosupresivní léčbu.

Holgate, S. T., Polosa, R.:

**The mechanisms, diagnosis, and management
 of severe asthma in adults**

Lancet, 2006, 368, s. 780-793.

V poslední době byl zaznamenán vzestup prevalence astmatu na celém světě, pouze však 5–10 % nemocných má těžkou formu tohoto onemocnění a ta představuje základní podíl zdravotních nákladů. Přestože léčba většiny nemocných astmatem může být uspokojivě vedena kombinací protizánětlivých a bronchodilatačních léků, zůstávají pacienti, jejichž symptomatologie přetrvává bez ohledu na maximální kombinovanou terapii. Jde o heterogenní skupinu sestávající jednak z podléčených jedinců a z těch, kteří k předepsané medikaci neadherují. Astma refrakterní na terapii kortikosteroidy může být identifikováno až po vyloučení možnosti podléčení či špatné compliance jako subfenotyp s vystupňovanou neutrofilní zánětlivou odpovědí (ať už v přítomnosti eozinofilů nebo bez nich) s doloženým významnějším poškozením tkáně a její remodelací. Ačkoli existuje široká škála faktorů prostředí, jako jsou alergen, kouření, znečištěné ovzduší, hormony a specifické léky, které mohou přispívat k tomu fenotypu, měly by být brány v úvahu i takové aspekty, které jsou spojeny se změnami zánětlivé odpovědi dýchacích cest. Aberantní spojení mezi poškozeným epitelem dýchacích cest a podslizničním mesenchymem přispívají k chronicitě onemocnění a neodpovídavosti na terapii kortikosteroidy. Významnost těchto příčinných, elementárních a identifikujících faktorů a možnosti uvedení nových terapeutických postupů **včetně terapie monoklonálními imunoglobuliny anti-IgE a anti-TNF alfa**, zdůrazňuje potřebu pečlivé fenotypizace pacientů s těžkou formou onemocnění, ve snaze zacílit zdokonalení managementu na individuální potřeby pacienta.

Meggitt, S. J. et al.:

Léčba těžké atopické dermatitidy dospělých azathioprinem

Lancet, 2006, 367, s. 839-846.

Atopická dermatitida (AD) může působit závažnou morbiditu. Studie s imunosupresivním lékem azathioprinem u AD může být limitována toxicitou vůči kostní dřeni. Tato randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie hodnotila účinky léčby azathioprinem u 63 dospělých se středně těžkou až těžkou AD bez ohledu na intenzivní lokální léčbu. Jako iniciální dávky bylo použito 0,5–1 mg/kg/den. Dávky 1 mg /kg/den bylo použito v pokračovací léčbě u jedinců s thipurin metyltransferázovým polymorfismem (TPMT) – což je klíčový determinant azathioprinem indukované myelotoxicity. U pacientů s normální TPMT enzymovou aktivitou bylo pokračováno v léčbě dávkou 2,5 mg/kg/den.

Primární mírou klinické odpovědi byla aktivita onemocnění hodnocená v šesti oblastech 6 známkami, prostřednictvím skóre v jednotkách.

Po 12 týdnech léčby, bylo registrováno 37 % (12 jednotek) zlepšení při průměrné aktivitě choroby za léčby azathioprinem ve srovnání s 20 % (6,6 jednotek) zlepšení u placebo. U subjektů léčených azathioprinem byl tento nález provázen signifikantně větším zlepšením v případě svědění, oblasti postižené kůže, celkového hodnocení a kvality života. Avšak v odpovědi na léčbu byla mezi jednotlivci zaznamenána významná variace. AD pacientů s TPMT aktivitou polymorfismů odpovídala na azathioprin v obdobných proporcích jakou u jedinců s normální TPMT aktivitou a zcela bez vývoje myelotoxicity. Všeobecně byl azathioprin dobře tolerován, ačkoli u 2 pacientů se objevily hypersenzitivní poléková reakce. Autoři uzavírají, že **azathioprin jako systémová monoterapie působí klinicky relevantní zlepšení u středně těžké až těžké AD**, která zůstává aktivní bez ohledu na optimální terapii lokálními steroidy.

Zdá se, že hodnocení TPMT aktivity bez zahájením léčby azathioprinem dovoluje bezpečnější užití této látky v průběhu udržovacího a léčebného efektu.

Murray, C. J.:

Towards good practice for health statistics: lessons from the Millennium Development Goal health indicators

Lancet, 2007, 369, s. 862-873. Harvard University, School of Public Health and Initiative for Global Health, Cambridge, MA, USA.

Ke správné praxi ve zdravotnické statistice: poučení ze zdravotních ukazatelů Rozvojových cílů milénia

Zdravotnická statistika je v centru narůstajícího počtu sporných otázek v oblasti zdraví na celém světě. Některé faktory vyhrocují napětí mezi zdroji dat a požadavkem vysoké kvality zdravotnických informací. Pádny příklad poskytují Rozvojové cíle milénia (Millennium Development Goals – MDG) zabývající se problematikou zdraví. S tisíci doporučených, avšak málokdy správně měřených ukazatelů potřebuje světová zdravotnická komunita zaměřit své úsilí na zlepšení měření v malém okruhu prioritních oblastí. Prioritní ukazatele by měly být vybrány na základě významnosti pro veřejné zdraví a několika charakteristik měřitelnosti. Ukazatele zdravotnické statistiky lze rozdělit na tři typy: hrubé, upravené (korigované) a predikované. Zdravotnické ukazatele jsou nezbytnými podklady pro plánování a přijímání strategických rozhodnutí, implementaci programů, monitorování vývoje směrem k cílům a pro zjišťování, co má smysl měřit a co nikoliv. Hrubé ukazatele, které jsou zkreslené, vůbec nehrají roli v žádném z těchto kroků; přednost se dává upraveným ukazatelům. V případě, kdy nejsou upravené ukazatele k dispozici, mohou mít pro strategické rozhodování značný význam ukazatele predikované. Avšak pro monitorování vývoje k dohodnutým cílům a ke zjišťování, co má smysl měřit a co nikoliv, by predikované ukazatele neměly být používány. Snad neefektivnější metodou ke snížení sporných výkladů v oblasti zdravotnické statistiky a k podnícení lepšího sběru primárních dat a vývoje lepších analytických metod je pevný závazek k zajištění explicitního auditorského posouzení dat. Tato iniciativa by umožnila zpřístupnění primárních dat, všech jejich následných úprav, modelů včetně doprovodných proměnných použitých pro předpověď a odhad výsledků v jiných časových a prostorových dimenzích, i nezbytné dokumentace pro veřejnost.

Palareti, G., Cosmi, B., Legnani, C. et al.:

D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy

N. Engl. J. Med., 2006, 355, s. 1780-1789.

D-dimer a posouzení doby trvání antikoagulační léčby

Optimální délka perorální antikoagulační terapie u nemocných s idiopatickou žilní trombózou je nejasná. Testování hladin D-dimeru může mít význam v hodnocení potřeby prolongované antikoagulace. D-dimer byl vyšetřen 1 měsíc po přerušení antikoagulační terapie u nemocných s první atakou hluboké žilní trombózy bez zjevné vyvolávající příčiny, nebo plicní embolií, kteří obdrželi antagonisty vitamínu K po dobu alespoň 3 měsíců. Pacienti s normální hladinou D-dimeru dále v antikoagulační terapii nepokračovali, zatímco ti s hladinami abnormálními byli náhodně rozděleni do dvou skupin. V jedné byla léčba přerušena a ve druhé znovuobnovena. Výsledným ukazatelem byl počet rekurentních žilní tromboembolizmů a významná krvácení v průběhu průměrného následného sledování po dobu 1,4 roku. Z 608 pacientů byl u 223 (36,7 %) identifikován D-dimer jako abnormální. V porovnání se 3 (2,9 %) případy z celkového počtu 103 pacientů, u kterých byla obnovena antikoagulace, bylo ve skupině, kde antikoagulace byla ukončena, mezi 120 jedinci identifikováno 18 příhod (15 %). Po úpravě vychází relativní riziko jako 4,26 (95% interval spolehlivosti, $p=0,02$). Tromboembolické epizody se objevily ve 24 případech z celkového počtu 385 pacientů s normální hladinou D-dimeru (6,2 %). Relativní riziko rekurence tromboembolizmů mezi jedinci s abnormálním D-dimerem a s normálními hladinami bylo 2,27 (95% interval spolehlivosti, $p=0,02$).

Nemocní s abnormální hladinou D-dimeru stanovenou 1 měsíc po přerušení terapie antikoagulancii vykazovali významně vyšší výskyt rekurentních žilních tromboembolizmů. Tento výskyt může být redukován znovuzavedením antikoagulační terapie. Optimální délka antikoagulační terapie však nebyla jasně stanovena.

Vráska a kouření

Většina výzkumů v poslední době dokazuje, že kouření přináší četná zdravotní rizika, v kůži především předčasné stárnutí s tvorbou vrásek. Hlavně jsou to vlákna elastiky, která jsou postižena. Španělská skupina ve své experimentální práci vyšetřila 69 osob, z nichž bylo 20 nekuřáků, 19 bývalých kuřáků, a 30 kuřáků současných. V biopsiích kuřáků byl nale-

zen větší procentuální podíl elastických vláken na mm^2 , především v pars reticularis, a s tím byla v souhlasu také různá kumulativní dávka tabáku. Přitom imunohistochemie v kuřácké kůži zřetelně ukázala změny na elastinu a mikrofibrilách a je zřejmé, že nadměrné jejich množství nepochází z novotvorby, nýbrž naopak z jejich rozpadu. Veškerý nález je velice podobný škodám solárním a obojí se může kombinovat a navzájem se sumovat.

Výsledkem jsou nejen hluboké a těžko reparable vrásky, ale také poruchy pigmentace.

Literatura:

Miquel Just et al.: Effect of smoking on skin elastic fibres: morphometric and immunohistochemical analysis. *Br. J. Dermatol.*, 2007, 156, s. 85-91

P. Barták

Žírná buňka v alergii

Pro funkci žírných buněk jsou rozhodující aktivační nebo inhibiční receptory na povrchu celulózní membrány, především vysokoafinitní $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$, který aktivací mění své místo. Na tom závisí změna aktivity celé řady cytoplazmatických enzymů, hlavně fosoforylace tyrosinů, které jsou samy o sobě regulátorem enzymové aktivity.

Nedávno objevené proteiny plazmatické membrány LAN a NTAL kumulují signální molekuly na povrchu buněčné membrány a tvoří signální komplexy – signalozómy. Ty za pomoci kalciových iontů určují kvalitu i kvantitu buněčné aktivity. Koncentrace Ca^{2+} je v endoplazmatickém retikulu přísně kontrolována a podílí se na regulaci vápenatých kanálů buňky.

Zbrusu nové objevy těchto závislostí

ukazují složitost regulačních dějů, které určují stupeň zánětlivé odpovědi v závislosti na počátečním impulzu.

Literatura:

Dráber, P., Dráberová, L.: Jak se aktivuje žírná buňka. *Alergie*, 2006, 8 (Suppl. 2), s. 99-100.

P. Barták

ZPRÁVY

KOMPLETNÍ CERTIFIKACI ZÍSKALA PRVNÍ FAKULTNÍ NEMOCNICE V ČESKÉ REPUBLICE

Fakultní nemocnice Brno získala jako první z fakultních nemocnic v České republice mezinárodní certifikáty kvality podle normy ISO 9001 pro všechny své součásti i pro zařízení jako celek. Slavnostní předání certifikátu proběhlo na konferenci s názvem Nástroje k řízení kvality ve zdravotnictví konané 11. dubna v Brně.

Proces certifikace byl zahájen v roce 1999, kdy jako první součást FNB získalo certifikát kvality Transfuzní oddělení. Postupně byla prověřována a certifikována

i další oddělení, odborné kliniky, technické a podpůrné provozy. V minulém roce prošlo certifikačním auditem i vrcholové vedení nemocnice. Letos v lednu bylo celé úsilí završeno konečným certifikačním auditem a Fakultní nemocnice Brno získala zastřešující certifikát, jenž deklaruje, že nemocnice jako celek má zavedeny systémy řízení, které odpovídají normě ISO 9001. Certifikát za přítomnosti účastníků konference Nástroje k řízení kvality ve zdravotnictví slavnostně předal do rukou ing. Petra Košky, MBA pověřeného řízením FN Brno ředitel společnosti Det Norske Veritas v České republice Mgr. Viktor Šaroch, MBA.

V největší nemocnici na Moravě s více jak 4500 zaměstnanci hodnotili experti Det Norske Veritas, autonomní, nezávislé nadace se sídlem v norském Oslu, která byla založena v roce 1864

a jejím posláním je ochrana života, majetku a životního prostředí, vedení a strategii, komunikaci a vzdělávání, sledovali rovněž cestu pacienta nemocnicí včetně hospitalizace, rozebírali rizika a preventivní opatření.

Pro zdravotníky certifikace znamená především zavedení přesných pravidel pro všechny procesy od příjmu pacientů až po jejich propuštění včetně distribuce stravy a léků. Podle náměstka ředitele nemocnice Jaroslava Peprly je hlavním přínosem certifikace především zkvalitnění péče o pacienty v důsledku zavedení dokonalého pořádku a zvýšení konkurenceschopnosti a prestiže FNB vůči jiným zdravotnickým zařízením.

Daniela Hauserová

e-mail: daniela.hauserova@hauska.cz

INFORMACE PRO PRAXI NA JEDNOM MÍSTĚ

MedProGO přináší nyní jako novinku tři multimediální platformy, a to z oborů diabetologie (DiabetologyNews), psychiatrie (PsychiatryNews) a dermatologie (DermatologyNews). Na těchto internetových stránkách naleznete souhrny článků z těchto oborů, které jsou excerповány z amerických prestižních odborných časopisů Journal of Diabetes and Its Complications, Archives of Dermatology a světových časopisů z oboru psychiatrie a vycházejí v překladových českých časopisech Journal of Diabetes and Its Complications-CZ a Archives of Dermatology-CS.

Články jsou doplněny komentáři odborníků a kvizem, v němž je možno otestovat odborné znalosti. Garantem stránek pro diabetologii je prof. MUDr. Vladimír Bartoš, DrSc., pro psychiatrii MUDr. Radkin Honzák, CSc. a pro dermatologii prof. MUDr. Lubor Malina, DrSc.

Studie a kvízy jsou aktualizovány každé tři měsíce souběžně s vydávanými čísly časopisů Journal of Diabetes and Its Complications-CZ a Archives of Dermatology-CS.

Ve farmakoterapeutické sekci jsou uveřejněny souhrny klinických studií publikovaných v nezávislých renomovaných odborných periodících. Pomocí vyhledávací v této sekci je možno po zadání aktivní substance nalézt aktuální klinické studie

z nezávislých zdrojů. Vyhledávat lze rovněž podle firemního názvu přípravku či podle jména výrobce. Na těchto platformách jsou rovněž publikovány pacientské stránky.

Zaregistrovat se lze na DiabetologyNews, PsychiatryNews a DermatologyNews přes portál MediClub. Pokud jste již členem MediClubu, můžete použít stejné jméno a heslo, které používáte při přihlášení na

Nové multimediální platformy naleznete na těchto adresách: www.diabetologynews.cz, www.psychiatrynews.cz, www.dermatologynews.cz.

(šab)

V IRSKU BYLA POZASTAVENA REGISTRACE LÉČIVÝCH PŘÍPRAVKŮ S OBSAHEM NIMESULIDU URČENÝCH PRO CELKOVÉ PODÁNÍ

Irská agentura obdržela na začátku května informace z národního transplantčního centra, které retrospektivně hodnotilo příčiny vedoucí k transplantaci jater za období 1994–2007. V tomto hodnocení bylo zjištěno šest případů fulminantního jaterního selhání vedoucího k transplantaci jater, jimž předcházelo užívání nimesulidu. Tato skutečnost vedla k pozastavení registrace léčivých přípravků s obsahem nimesulidu v Irsku. V návaznosti na toto opatření zahájila Evropská léková agentura (EMA) celoevropské přehodnocení možného rizika

vzniku jaterního poškození v souvislosti s celkovým podáváním nimesulidu. Výbor pro humánní léčivé přípravky EMA (CHMP) rozhodl ponechat v průběhu současného přehodnocení přípravky obsahující nimesulid na evropském trhu. Závěry přehodnocení by měly být dostupné v červenci 2007.

Nimesulid je nesteroidní antirevmatikum, které se používá k léčbě akutní bolesti, bolestivé menstruace a symptomatické léčbě bolestivé artrózy. V České republice jsou na trhu následující přípravky s obsahem nimesulidu: Aulin, Coxtral, Mesulid, Nimed a Nimesil.

Současné přehodnocování bezpečnosti se nevztahuje na přípravky s obsahem nimesulidu určené k místnímu podávání (Aulin gel, Coxtral gel).

Z důvodu hepatotoxicity byl nimesulid již jednou celoevropsky přehodnocován

v letech 2002–2003 se závěrem, že v doporučených indikacích a s doporučenými omezeními je poměr přínosů a rizik pozitivní.

SÚKL až do současné doby zaznamenal z území České republiky v souvislosti s užíváním nimesulidu 8 případů závažných nežádoucích účinků postihujících játra. V žádném z těchto případů se nejednalo o fulminantní jaterní selhání, transplantaci jater ani o úmrtí, všechny případy skončily zlepšením stavu až uzdravením. Ve všech případech pacienti užívali spolu s nimesulidem ještě jiné léky, v 6 případech bylo vysloveno podezření na možnou souvislost s nimesulidem, v 1 případě byly podezřelé současně dva přípravky a v 1 případě bylo podezření na souvislost s jinou látkou než nimesulidem. Jeden pacient měl již předcházející jaterní poškození.

SÚKL připomíná předepisujícím lékařům:

Indikace pro použití nimesulidu jsou následující:

- léčba akutní bolesti,
- primární dysmenorea,
- symptomatická léčba bolestivé osteoartrózy.

Nimesulid by měl být podáván po co nejkratší možnou dobu.

Je kontraindikován u pacientů s poruchou funkce jater.

U pacientů, u nichž se vyskytlo při

terapii nimesulidem jaterní poškození, nesmí být znovu podán.

Při podání nimesulidu je nutné se vyhnout podání jiných přípravků, u nichž je známo, že poškozují jaterní funkce. Rovněž je nutné se striktně vyhnout požívání alkoholu.

Pacientům užívajícím nimesulid doporučujeme v případě objevení se příznaků poškození jater (nechutenství, pocit na zvracení, bolest břicha, únava, tmavá moč) okamžité ukončení léčby a vyhledání lékaře.

Děkujeme zdravotnickým pracovníkům

za hlášení podezření na nežádoucí účinky léčiv, která je možné zasílat jak poštou na adresu SÚKL, Šrobárova 48, 100 41 Praha 10, tak elektronicky na adresu farmakovigilance@sukl.cz, nebo faxem na číslo 272 185 816. Formulář pro hlášení nežádoucích účinků je dostupný na webové stránce SÚKL http://www.sukl.cz/_download/cs14farmakovig/CIOMS.rtf. K hlášení je možné také využít interaktivní webový formulář, který je k dispozici na www.sukl.cz.

MUDr. Eva Jirsová

VÝZVA REDAKCE

Apelujeme na všechny přispěvatele Časopisu lékařů českých, aby ve svých publikacích *neopomíjeli citovat domácí autory.*

Uvádění citací českých autorů je nejen v zájmu publikujících, ale v zájmu celé naší lékařské veřejnosti.

Děkujeme za porozumění a spolupráci.

Redakční rada Časopisu lékařů českých

OSOBNÍ ZPRÁVY

**PROF. MUDr. PAVEL
KLENER, DrSc.**

V dubnu tohoto roku se prof. Pavel Klenner, DrSc., dožil 70 let. Tohoto významného jubilea se dožívá v plné pracovní aktivitě. A je to aktivita mimořádná, která ho provázela celou jeho profesionální dráhu.

Prof. Klenner vystudoval fakultu všeobecného lékařství univerzity Karlovy v Praze a promoval v roce 1961. Již za studií pracoval jako pomocná vědecká síla na II. interní klinice pod vedením prof. L. Donnera. Po absolvování vojenské služby se vrátil na II. interní kliniku a již plně se zaměřil na obor klinické hematologie. Zde pracoval až do roku 1988. V letech 1965–1966 absolvoval studijní pobyt na hematologické klinice prof. J. Bernarda v Paříži, který definitivně určil jeho zaměření na hematologickou onkologii a protinádorovou chemoterapii. Od poloviny 70. let minulého století rozšířil svůj zájem na onkologii. Obhájil vědecké hodnosti CSc. a DrSc., v roce 1982 byl habilitován, v roce 1988 jmenován profesorem vnitřního lékařství. V roce 1988 z II. interní kliniky odchází a stává se přednostou Onkologické kliniky a vedoucím Katedry onkologie Institutu pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů.

Po listopadu 1989 se prof. Klenner významně zapojil i do veřejné činnosti. V letech 1989–1990 byl ministrem zdravotnictví a sociálních věcí ČR, v letech 1990–1992 poslancem České národní rady a člen Komise pro vědu. Po odchodu z ministerstva zdravotnictví se stal přednostou I. interní kliniky I. LF UK a VFN. Dostalo se mu dalších akademických funkcí, v letech 1990–1993 byl proděkanem pro vědu na I. lékařské fakultě a v letech 1994–2006 prorektorem pro vědu na Univerzitě Karlově. V roce 2002 se stal ředitelem Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze.

Dominantním odborným zájmem profesora Klenera byla již od studentských let hematologie a onkologie. Jeho zaměření bylo definitivně formováno studijním pobytem ve Francii, kde obhájil dizertaci a získal titul „assistant étranger“ Univerzity v Paříži. Pařížský pobyt byl začátkem mimořádně úspěšného působení na mezinárodním vědeckém poli. Výrazem mezinárodního uznání jeho vědeckých kvalit byly četné přednášky jako „invited speaker“ nebo členství v domácích a zahraničních vědeckých radách a institucích. V roce 1988 byl v Anglii jmenován „visiting professor“ Southamptonské univerzity. Právě



takové postavení profesorovi Klenerovi pomohlo při organizování řady velmi zdařilých domácích i mezinárodních sympozií v České republice.

Publikoval více než 250 publikací v časopisech, je autorem 13 monografií a spoluautorem řady dalších monografií a skript z vnitřního lékařství a onkologie. Je členem domácích i zahraničních odborných společností, členem redakčních rad domácích a zahraničních časopisů, členem vědeckých rad a zastává řadu dalších funkcí. V letech 1986–1990 byl vědeckým sekretářem České hematologické společnosti a v letech 1999–2003 předsedou České onkologické společnosti. Stal se místopředsedou regionální pobočky European School of Oncology se sídlem ve Vídni.

Prof. Klenner svým příchodem na I. interní kliniku obnovil hematologickou tradici této kliniky, danou profesory K. Hynkem, M. Netouškem a F. Heřmanským. Období působení profesora Klenera ve funkci přednosty I. interní kliniky spadá do doby hlubokých společenských změn v naší zemi, která je i dobou transformace fakultních nemocnic, kdy kliniky, především interní, které v minulosti v různé míře odborně pokrývaly celé vnitřní lékařství, se specializují na jednotlivé obory. I. interní klinika se stala hematologickou a v souladu se zaměřením sousedícího Ústavu hematologie a krevní transfuze se zaměřila na maligní lymfoproliferace. V tomto období se klinika modernizovala, byla otevřena transplantační jednotka a byla vytvořena laboratoř molekulární genetiky a buněčné biologie. Na I. interní klinice byla s podporou profesora Klenera ustavena Lymfomová kooperativní skupina (KLS) s celostátní působností. KLS soustřeďuje data o nemocných s maligními lymfomy v České republice, vypracovává terapeutická doporučení a organizuje klinické studie často v rámci mezinárodních

studií. Obdobně se klinika podílí na činnosti České myelomové skupiny. Roku 2002 se prof. Klenner stává ředitelem Ústavu hematologie a krevní transfuze, nejvýznamnější hematologické instituce v ČR pokrývající klinickou činnost, výzkum včetně výzkumu základního a experimentálního a transfuzní lékařství. Za jeho vedení se uskutečnila přestavba klinických oddělení a ustavení řady specializovaných referenčních center. Národní referenční laboratoř pro papilomaviry se pak významně podílela na projektu očkování proti papilomavírům organizovaným ČLS JEP.

Vědecké práci a akademické činnosti profesora Klenera se dostalo řady ocenění. Byly to ceny odborných lékařských společností, fakult Univerzity Karlovy a nadací (Hlávkova nadace, nadace dr. Paula Janssen). Z nejvýznamnějších ocenění jmenujeme, Cenu ministra školství za vědu (1997), Zlatou medaili Univerzity Karlovy (1997) a Státní vyznamenání za zásluhy o stát v oblasti vědy (2003).

Neméně významné je i veřejné působení profesora Klenera. V době poslanecké funkce v letech 1990–1992 byl členem parlamentní Komise pro vědu, v letech 1992–1995 člen Komise pro vědu Parlamentu ČR, v letech 1992–1998 členem Rady vlády pro vědu a vývoj technologií. V současné době je členem Národní rady zdraví, Rady pro mezinárodní spolupráci a místopředsedou správní rady grantové agentury MZ ČR.

Pouhý výčet funkcí, třebaže neúplný, je úctyhodný. Ale obdivuhodný je především proto, že profesor Klenner ve všech z nich pracuje s nezdojnou činností a produktivitou. Vedle účasti na vedení fakulty a univerzity se podílí na formování celého zdravotnictví, školství a vědy. Téměř žádný závažnější problém, kterých je tolik, nezůstává bez jeho analýzy, nebo alespoň komentáře, vyznačujícího se vždy odborností, rozhledem a zájmem o věci veřejné.

Přes nepřetržitě pracovní a společenské vytížení překvapoval profesor Klenner v osobním jednání se svými spolupracovníky nebo nemocnými vždy bezprostředností a vřelostí. Setkání s profesorem Klenerem je vždy příjemným zážitkem.

Za kolektiv pracovníků I. interní kliniky I. LF UK a VFN si dovoluujeme prof. Klenerovi poděkovat za možnost s ním spolupracovat, nechat se inspirovat a popřát mu do dalších let mnoho zdraví a elánu.

*pracovníci I. interní kliniky
I. LF UK a VFN
128 08 Praha 2, U Nemocnice 2*

ODEŠEL PROF. MUDr. JAN NĚMEC, DrSc.

Dne 21. dubna 2007 zesnul po dlouhé těžké nemoci ve věku nedožitých 75 let významný český endokrinolog, vědecký pracovník a dlouholetý přednosta Radioizotopového oddělení Endokrinologického ústavu, pozdější Kliniky nukleární medicíny a endokrinologie (KNME) 2. LF UK a FN v Motole, prof. MUDr. Jan Němec, DrSc.

Prof. Němec se narodil 11. srpna 1932 v Plzni, kde získal základní vzdělání. Se svou matkou se poté přestěhoval do Ostravy, kde studoval na gymnáziu. Záliba v přírodní vědy ho přivedla ke studiu medicíny. Již během studia na Fakultě všeobecného lékařství UK v Praze pracoval jako volontér v hematologické laboratoři III. interní kliniky. Po promoci v roce 1957 nastoupil na interní oddělení nemocnice v Českých Budějovicích, kde pracoval do roku 1959. V té době probíhalo konkurzní řízení do Endokrinologického ústavu v Praze, ve kterém zvítězil, a byl poté jako sekundární lékař zařazen trvale na Radioizotopové oddělení v tehdejší Státní nemocnici v Motole. Od té doby se datuje jeho vztah k tyreologické problematice, endokrinologii a nukleární medicíně.

V roce 1964 obhájil kandidátskou dizertační práci na téma „Erytropoetická polyploidie ve vztahu k radiaci a chorobám štítné žlázy“. V té době již pracoval v Endokrinologickém ústavu i jako vědecký pracovník a současně vedl oddělení nukleární medicíny v Motole. V roce 1972 se stal starším výzkumným pracovníkem, v roce 1984 obhájil doktorskou dizertační práci na téma „Diagnosa a léčba karcinomu štítné žlázy“ a stal se vedoucím vědeckým pracovníkem Endokrinologického ústavu.

Celý vědecký život zasvětil převážně tyreoidální problematice. Věnoval se optimalizaci diagnostických algoritmů v tyreologii („krokový diagnostický systém“) za racionálního využití klinických i laboratorních postupů. Spolu se svými blízkými spolupracovníky zahájil systematickou diagnostiku a léčbu endokrinních orbitopatií u nás. Jeho trvalou láskou však byla tyreo-



idální onkologie. Během let se mu podařilo vybudovat v Motole mezinárodně uznávané centrum pro komplexní péči o nemocné s karcinomem štítné žlázy. Současně se na pracovišti pod jeho vedením řešila řada výzkumných projektů věnovaných otázkám dlouhodobého přežití nemocných s diferencovaným karcinomem. Sledovaly se faktory, které se na délce přežití podílejí, význam tyreoglobulinu v monitorování nemoci u diferencovaných karcinomů a kalcitoninu u medulárních karcinomů. Výsledky svého pozorování sděloval průběžně odborné veřejnosti: Publikoval přes 500 odborných statí a pronesl rovněž přes 500 přednášek. Přestože mu nebyl tehdejší režim příliš nakloněn, jeho práce byla v roce 1985 oceněna státní cenou.

Jeho neutuchající činnost na poli vědy a výuky dostala výraznějšího uznání až po roce 1989, kdy se mohl habilitovat na 2. lékařské fakultě UK pro obor vnitřního lékařství (1991). V roce 1992 se stal přednostou nově zřízené Kliniky nukleární medicíny 2. lékařské fakulty (bývalého ONM v Motole) a o dva roky později byl jmenován profesorem pro obor nukleární medicíny.

Prof. Němce vždy těšilo vědomí, že svou prací prospívá svým pacientům, ale zároveň pomáhá i české vědě. Nevyhýbal se proto někdy méně inspirující, ale nesmírně užitečné činnosti v odborných společnostech. Dlouhá léta byl členem výborů České endokrinologické společnosti a České společnosti nukleární medicíny, členem EANM (Evropská společ-

nost nukleární medicíny) a čestným členem ETA (Evropská společnost pro štítnou žlázu). Byl řadu let členem vědecké rady IGA, předsedou její oborové komise pro endokrinologii, metabolismus a výživu. Byl rovněž řadu let předsedou komise pro obhajoby doktorských prací pro nukleární medicínu a předsedou zkušební komise ILF (dnešního IPVZ) pro obor endokrinologie.

Byl rovněž vynikajícím organizátorem klinické praxe a lékařského výzkumu. Vychoval řadu kvalitních endokrinologů a vždy se věnoval vzdělávání široké lékařské veřejnosti. Mnozí pamatují jeho výjezdy na odborné akce Spolku lékařů doslova od Šumavy do Beskyd. Výčet aktivit prof. Němce není jistě zcela vyčerpávající. Je až k nevíře, co jeden člověk v poměrně krátkém časovém úseku života dokázal obsáhnout.

Miloval vážnou hudbu, zejména barokní a klasického období. Z ojedinělých cest do zahraničí, které směl absolvovat před rokem 1989, si pravidelně přivážel CD nahrávky. Byl znalcem kvalitní whisky a v mladším věku i náruživým kuřákem, rád se pohyboval v kuchyni, kde jako vynalézavý kuchař dokázal překvapit, někdy i sám sebe, velmi chutnou a kreativní stravou. Přes až neuvěřitelné pracovní vypětí si vždy našel čas pro rodinu a cítil se dobře ve společnosti blízkých lidí.

Jeho vpravdě až hektický způsob života si bohužel vyžádal i svou daň na jeho zdravotním stavu. Těžký diabetes s orgánovými komplikacemi mu pomalu ukrajovalo na radosti ze života, a přestože se vždy rád navracel ke svým pacientům, zdraví mu to již v posledních letech neumožňovalo.

Vážený pane profesore, milý Honzo, děkujeme Ti, že jsme mohli být v Tvé blízkosti, že jsme měli tu čest se radovat z Tvého přátelství, že jsi kus svého životního elánu a nadšení pro medicínu přenesl i na své blízké spolupracovníky.

Čest Tvé památce!

*doc. MUDr. Petr Vlček, CSc. s kolektivem spolupracovníků KNME Motol
150 06 Praha 5, V Úvalu 84*

KNIHY

**Schauenburg, H., Hofmann, B. (Hrsg.):
PSYCHOTERAPIE DER
DEPRESSION**

Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 2007, 2. vydání, s. 230, cena 29,95 euro. ISBN 978-3-13-126062-8.

Recenzovaná kniha je sborníkem a současně učebním textem postgraduálního a celoživotního vzdělávání německých lékařů, klinických psychologů – v psychoterapii. Poprvé vyšla v roce 2000, nynější vydání je aktualizované a rozšířené.

V Německu je psychoterapie již po řadu let samostatným klinickým oborem a nazývá se psychoterapeutickou medicínou.

Práce vychází v rámci vzdělávacích modulů v psychoterapii, které jsou již 57 let (!) realizovány na Lindavských psychoterapeutických týdnech (Lindauer Psychotherapiewochen) v Lindavě na Bodamském jezeře a jichž se autor recenze několikrát účastnil. Kniha je společným dílem 25 lékařů a psychologů z německé jazykové oblasti. Depresi je věnována pozornost proto, že je závažným klinickým (a lidským) problémem a u svých pacientů se s ní setkávají lékaři prakticky všech klinických oborů. V Německu se vyskytuje depresivní porucha zdraví u 5 % dospělé populace a její záludnost spočívá zejména v tom, že bývá maskována tělesnými příznaky. A hned musím dodat, že psychofarmakologická léčba (i při včasné a správné diagnostice) nepřináší pacientům takovou úlevu a vyléčení, jaké bychom si přáli. Ze sborníku zjistíme, že asi 20 % pacientů je na farmakoterapii rezistentní a jejich stav postupně chronifikuje. Po vysazení léků dojde zhruba u 50 % německých nemocných k recidivě.

Svízelí bývá i špatná spolupráce (noncompliance) pacientů s lékařem z důvodu nepříjemně vnímaných vedlejších účinků léčby. Za pozornost stojí i údaj, že zhruba 10–15 % německých nemocných depresi předčasně ukončí život suicidiem. Překvapivě vysoký je i placebo efekt zjištěný v randomizovaných studiích – uvedeno je 30–40 %. Proto se nedivíme, že je psychologickým léčebným postupům věnována mimořádná pozornost a považujeme za zdůvodněný závěr, že systematické psychologické a psychoterapeutické působení je nutnou podmínkou léčebného úspěchu, i když podmínkou ne vždy postačující. Význam psychologického vedení a účinnost psychoterapie jsou podepřeny také neurobiologickými výzkumy z posledních let, využívajícími zobrazovací metody.

Vydavatelé knihu rozčlenili do 18 kapitol, závěrem pak zařadili použitou a doporučenou literaturu (16 stran) a věcný rejstřík (5 stran).

Pro přiblížení této užitečné publikace uvádím překlad jednotlivých kapitol.

1. Symptomatika, diagnostika a epidemiologie, 2. Léčebná péče, 3. Behaviorální terapie, 4. Psychodynamická psychoterapie, 5. Psychoanalýza, 6. Rogersovská psychoterapie, 7. Interpersonální psychoterapie (IPT), 8. „Cognitive Behavioral Analysis System of Psychotherapy“ při léčbě chronické deprese, 9. Rodinná a párová terapie deprese, 10. Způsoby léčebné pomoci při hledání smyslu, 11. Stacionární psychoterapie deprese, 12. Kombinace a interakce psychoterapie a farmakoterapie, 13. Zvláštnosti vztahu terapeut – pacient u depresivních pacientů, 14. Sebevražednost a krizová intervence, 15. Deprese ve stáří, 16. Reagování smutkem a jeho terapeutické doprovázení,

17. Psychoterapie afektivních poruch v šestinedělí a 18. Zajišťování kvality při léčbě depresivních poruch.

Přednosti recenzovaného sborníku jsou následující: K problematice přistupuje integrativně, je orientován na praxi a přesvědčivě dokládá, že léčba deprese (jako nemoci sui generis, deprese v souběhu s jinými poruchami zdraví i v případě tzv. symptomatické deprese) bez užití psychoterapeutických postupů není léčbou lege artis. Jako nedostatečný (i když v praxi častý) lze považovat postup, že nemocnému ordinujeme antidepressiva, předpokládáme, že je dle doporučení užívá a čekáme na jejich příznivý účinek, kterého se ne vždy dočkáme, zkoušíme jiné antidepressivum, ad infinitum.

Při kritickém pohledu na publikaci bych upozornil, že je v ní minimální (až žádná) pozornost věnována prevenci, stejně tak se téměř nic nedozvíme o rehabilitaci nemocných léčených pro depresivní poruchu zdraví. Také za těchto okolností hrají psychologické prostředky významnou a nezanedbatelnou roli.

Recenzovanou práci lze rozhodně doporučit všem německy čtoucím lékařům a psychologům v klinické praxi, neboť podporuje psychosomatické myšlení a biopsychosociální přístup k nemocným a jejich rodinám. Pokud povede k hlubšímu zájmu o psychoterapii, případně k úvahám o možnostech získání vlastní psychoterapeutické kvalifikace, účel recenze bude překročen pozitivním směrem.

Jan Vymětal
ÚHSL 1. LF UK v Praze
128 00 Praha 2, Karlovo náměstí 40

Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých

UPOZORNĚNÍ

Níže uvedené Pokyny pro autory se v některých bodech liší od pokynů dříve uveřejňovaných. Žádáme autory, aby pokynům a právě rukopisů věnovali zvýšenou pozornost.

Časopis lékařů českých zpoplatňuje publikaci článků s dedikací grantového či jinak finančně podporovaného výzkumu a vývoje z veřejných zdrojů. Cena jedné černobílé tiskové strany v časopisu je 1800 Kč včetně DPH a potřebnou částku lze čerpat z prostředků na tento výzkum.

Pokud si přeje autor článku uveřejnit dedikaci grantu, výzkumnému záměru apod., zašle redakci spolu s rukopisem vyplněný formulář objednávky k publikaci práce. Formulář lze nalézt na domácí stránce Časopisu lékařů českých (). Příslušná částka bude fakturována ve fázi korektury a daňový doklad bude autorovi zaslán po zveřejnění článku. Rukopisy s dedikací bez přílohy objednávky nebudou redakcí posuzovány a autor bude upozorněn na nutnost zaslání objednávky publikace. Pokud ani pak redakce objednávku neobdrží, bude rukopis autorovi vrácen.

Bližší informace Vám poskytne Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel./fax: 224 266 226, e-mail: nts@iol.cz.

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Časopis lékařů českých je vydáván Českou lékařskou společností J. Ev. Purkyně. Je časopisem interdisciplinárním. Tím se liší od úzce oborově profilovaných časopisů odborných společností. Je časopisem vědeckým publikujícím přehledové články a původní vědecké práce ze všech oborů medicíny. Přináší rovněž informace z jednání, sjezdů, recenze nejnovějších knih, kapitoly z dějin medicíny, osobní zprávy, kazuistiky, články o pre- i post-graduálním vzdělávání lékařů, odpovědi na odborné dotazy čtenářů aj.

Tyto Pokyny pro autory jsou v souladu s „Jednotnými požadavky na úpravu rukopisů určených k publikaci v lékařských a biologických časopisech“ (3. revize, 1988, „Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals“ publikovanými v plném překladu v Čas. Léč. čes., 139, 2000, č. 1. s. 31).

OBEČNÉ POŽADAVKY NA ÚPRAVU RUKOPISŮ

K publikaci v Časopisu lékařů českých může být přijat pouze rukopis, který nebyl a nebude publikován v jiném časopise. Výjimku tvoří pouze abstrakta vědeckých konferencí.

K rukopisu přiložte tabulky, obrázky, fotografie i seznam použité literatury a celý text včetně příloh na CD nebo disketě 3,5" (Word 6.0/95 a vyšší verze, typ písma Times New Roman, velikost 12). Píšte po jedné straně kvalitního bílého nelesklého papíru formátu A4, minimálně 2,5 cm od obou okrajů, řádkování 1,5. Text, který má být zvýrazněn, podtrhněte, text, který má být vysázen kurzívou, podtrhněte vlnovkou. Jinak text graficky neupravujte!

Redakce netrvá na „Imprimatur“ vedoucího pracoviště; jeho udělení ponechává na zvyklostech pracoviště. **K rukopisu přiložte prohlášení podepsané všemi uvedenými autory, že splňují požadavky autorství a že souhlasí s jeho uveřejněním v předkládaném znění.**

Práce musí být formulovány s konečnou platností.

Při autorské korektuře není dovoleno měnit, eventuálně doplňovat text. Korekturu je nutné provést podle platných korektorských značek (ČSN 88 0410), a to nejlépe výraznou (barevnou) tužkou. **Korektury vracejte obratem, nejpozději však do 8 dnů od data odeslání z redakce.** Na pozdější autorské korektury nemůže být brán z časových důvodů zřetel.

Pro urychlení komunikace uvádějte prosím svojí e-mailovou adresu a telefonní číslo.

MÍRY, HMOTNOSTI, JEDNOTKY

Výsledky chemických, fyzikálních i klinických vyšetření se uvádějí v jednotkách SI normy (Système international d'Unités). Hodnoty pulzu, teploty a krevního tlaku je možné uvádět v konvenčních jednotkách.

NÁZVY LÉČIV

U léčivých specialit je nutné vedle výrobního názvu uvést i generický název.

ZKRATKY A SYMBOLY

Pokud je použita zkratka, musí před jejím prvním použitím v textu předcházet plný název. **V nadpise a souhrnu zkratky nepoužívejte.** Seznam zkratk v abecedním pořádku s jejich vysvětlením se zařazuje mezi vlastní text a literaturu. V písemné podobě jej přikládejte na zvláštním listu.

TABULKY

Rozsáhlé tabulky, přeplněné daty, nebudou přijaty. Každá tabulka musí být na zvláštním listu, číslována arabskými číslicemi, s popisem, vysvětlivkami a symboly statistického hodnocení. Číslo tabulky musí být uvedeno na příslušném místě v textu.

OBRAZOVÁ DOKUMENTACE

Obrázky, fotografie musí mít profesionální úroveň. **Pérovky, fotografie a výstupy z přístrojů přijímá redakce ve formátech tif, eps a jpg, grafy v programu Excel. Fotografie, obrázky, grafy a schémata dodejte na disketě 3,5", CD, zip nebo jaz, ale veškerá dokumentace musí být zaslána i v papírové podobě.** Pokud jsou obrázky ve formátu jpg, je třeba užít velkého rozlišení (nejlépe 300 dip) z důvodů kvality. Názvy obrázkových souborů musí vycházet ze jména autora a čísla obrázku (např. Macek1.tif). Názvy mohou být maximálně osmimístné.

U mikrofotografií musí být uveden způsob barvení a zvětšení. Každou ilustraci označte na rubu jménem autora a počátkem názvu práce a označte horní okraj obrázku. Jménem autora a názvem práce označte i médium (disketu, CD ...). Legendy k ilustracím se píšou na zvláštní list s dvouřádkovou mezerou. **Autor je povinen zbavit dokumentaci osobních iniciál pacienta.**

Možnosti barevné reprodukce jsou v časopisu omezeny. Časopis přechází na systém úhrady barevných reprodukcí. V rukopisech předkládaných k publikaci je nutné přesně vyznačit, které obrázky mají být barevné, a připojit písemný souhlas s platbou. Je třeba uvést přesnou adresu plátce, v případě právnické nebo podnikající fyzické osoby také IČ a DIČ. **Barevné strany bez ohledu na to, kolik obsahují barevných obrázků, si hradí autoři sami.** Obrazová dokumentace, která nebude mít tyto náležitosti, bude automaticky publikována černobíle.

KLÍČOVÁ SLOVA

Tři až deset klíčových slov uveďte pod souhrnem/abstraktem. Užívejte termínů/hesel z Index Medicus (tezaurus MeSH).

LITERATURA

Smí obsahovat jen skutečné prameny, tj. publikace, na něž se autor v textu odvolává. Nesmějí se uvádět práce jen z důvodů formálních. **Citace jsou sestaveny v pořadí, v jakém se vyskytují v textu.** V textu citace vyznačte číslem v závorce, např. (1).

Vyhýbejte se odkazům na abstrakta; tzv. „nepublikovaná pozorování“ a „osobní informace“. Správnost odkazu (citace) by měla být ověřena. Při citacích upřednostňujte domácí autory a publikace před zahraničními.

Příklady citací monografické publikace (1), příspěvku v monografické publikaci (2), ve sborníku (3), článku v časopisu (4):

1. **Medková, Z., Kalousek, J., Jarčuška, P.:** Chlamydiové infekce. Praha, Triton, 2001, 111 s.
2. **Trunečka, P., Ryska, M., Bělina, F.:** Transplantace jater u dětí. In: Pozler, O. et al.: Trendy soudobé pediatrie. sv.1, Praha, Galén, 1999, s. 24-26.
3. **Dunovský, J.:** Úmluva o právech dítěte a práva dětí v České republice. In: Sborník z 1. mezinárodní konference o dětských právech, České Budějovice, Zdravotně sociální fakulta JÚ, 2003, s. 5-15.

4. Saudek, F., Bouček, P., Adamec, M.: Transplantace pankreatu: komu a kdy? Čas. Lék. čes., 2001, 140, s. 195-199.

POUŽITÍ CIZÍCH MATERIÁLŮ

Materiály (schémata, obrázky, grafy aj.) převzaté z jiných pramenů/publikací mohou být publikovány pouze s písemným souhlasem osoby/nakladatelství, které mají příslušné autorské/nakladatelské právo (copyright ©). Vyžádejte si svolení i od autorů prací v tisku, nepublikovaných dat, příp. osobního sdělení. Písemné potvrzení o svolení přiložte k rukopisu.

ETICKÉ ASPEKTY

Je-li referováno o pokusech na lidech, přiložte čestné prohlášení, že studie byla před zahájením schválena místní etickou komisí. **Zásadně neuvádějte na ilustrujícím materiálu jména nebo iniciály nemocných nebo nemocniční či protokolová čísla.** U pokusů na zvířatech uveďte, zda byly dodrženy ústavní nebo národní předpisy a směrnice pro chov a experimentální používání zvířat, nebo přiložte čestné prohlášení o souhlasu místní etické komise.

KONFLIKT ZÁJMŮ

Autor má povinnost oznámit redakci podporu firmy, jejíž produkt v práci použil.

Předpokládá se, že autoři přehledových farmakoterapeutických článků nejsou finančně zainteresováni (nebo konkurenti) ve společnosti/firmě, o jejímž výrobku v článku referují.

Všechny informace tohoto druhu, které budou redakci svěřeny, budou drženy v tajnosti.

FORMY PUBLIKACÍ A JEJICH ROZSAH

Přehledový článek

Maximální rozsah 10 stran textu, tj. 2500 slov, 40 citací, 4 kusy libovolných ilustrací, pokud redakce nerozhodla jinak.

Aktuální téma, Původní práce, Speciální sdělení, Vyšetřovací metody

Maximální rozsah textu 10 stran, tj. 2500 slov, 6 tabulek, 40 citací, 4 ilustrace.

Farmakoterapie, Kazuistika, Lékařská etika, Dějiny lékařství, Vzdělávání

Maximální rozsah 8 stran, tj. 2000 slov, 30 citací, 4 ilustrace.

Komentáře

Maximální rozsah 4 strany, tj. 1000 slov, 5 citací.

Zprávy ze sjezdů a konferencí

Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov; u světových sjezdů 3 strany, tj. 750 slov.

Recenze

Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov.

Dopisy redakci, Diskuze

Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov, 5 citací.

Zprávy, Osobní zprávy

Maximální rozsah 1,5 strany. Jubilea významných osobností (pouze 60, 70, 80, 90 let). Maximální rozsah 2,5 strany + fotografie.

Otázky z praxe

Maximální rozsah půl strany, bez citací.

ÚPRAVA JEDNOTLIVÝCH TYPŮ ČLÁNKŮ

Aktuální téma, Přehledový článek, Farmakoterapie, Kazuistika, Speciální sdělení

Titulní strana:

- krátký, výstižný název práce,
- zkratka jména, příjmení autora/ů,
- úřední název pracoviště.

Souhrn: 2x (1x česky, 1x anglicky), maxim. rozsah 1 strana (200 slov) bez vnitřního členění, zakončeno 3–10 klíčovými slovy.

Vlastní text. Seznam použitých zkratk. Literatura. Poděkování. Celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

Původní práce, Vyšetřovací metody

Titulní strana:

- krátký, výstižný název práce,
- zkratka jména, příjmení autora/ů,
- úřední název pracoviště.

Strukturovaný abstrakt:

2x (1x česky, 1x anglicky), maxim. rozsah 1 strana (200 slov).

Části abstraktu:

Východisko: 2–4 věty charakterizující stav problému, 2–3 věty udávající cíl práce.

Metody a výsledky: charakteristika sledované skupiny, použité metody. Nejvýznamnější výsledky, vyjádřené numericky s udáním statistické významnosti.

Závěry: co z dané studie vyplývá.

Klíčová slova: 3–10 slov.

Vlastní text, metody, výsledky, diskuze. Seznam použitých zkratek. Literatura.

Celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

Pokud si autor přeje, aby jeho práce byla uveřejněna v anglické mutaci časopisu na internetu, dodá spolu s rukopisem v češtině také anglický překlad. Redakce překlady nezajišťuje, vyhrazuje si však právo nekvalitní překlad neuveřejnit.

Zprávy ze sjezdů, Dějiny lékařství, Dopisy redakci, Diskuze

Titulní strana:

- krátký, výstižný název práce,
- zkratka jména, příjmení autora/ů,
- úřední název pracoviště.

Vlastní text, celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

U VŠECH FOREM RUKOPISŮ

Pod seznam použité literatury se uvádí informace o případné podpoře grantem (plný název agentury a číslo grantu), dále přesná adresa pracoviště i bydliště a rodné číslo prvního autora.

Každý rukopis je hodnocen redakcí a prochází zdvojeným recenzním řízením. Nepřijatá práce jsou na vyžádání vráceny zpravidla do 3 měsíců.

Redakce nepřijme práce:

- které neodpovídají uvedeným požadavkům,
- které byly nepříznivě posouzeny recenzenty,
- jestliže redakce v poslední době práci stejného tématu přijala nebo již publikovala,
- není-li v záměru redakce a posláním časopisu danou problematiku publikovat.

Rukopisy vyhovující uvedeným požadavkům

zasílejte na adresu:

prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.

I. interní klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady

Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

e-mail: horak@fnkv.cz

LAUREÁTI NOBELOVY CENY

**FREDERICK
GRANT BANTING**

(1891–1941)

Frederick Grant Banting se narodil 14. listopadu 1891 na malé farmě v Allistonu v kanadské provincii Ontario jako nejmladší z pěti dětí. Budoucí významný badatel na poli *diabetes mellitus* se setkal poprvé s touto – v té době neléčitelnou chorobou – již během školní docházky, když jeden z jeho spolužáků zemřel v diabetickém kómatu. Na univerzitu v Torontu se sice původně přihlásil v roce 1911 se záměrem vystudovat teologii, ale již následujícího roku se registroval jako student medicíny. Po absolvování teoretických oborů ho nejvíce upoutala ortopedická chirurgie, pravděpodobně pod vlivem C. L. Starra – hlavního chirurga v dětské nemocnici v Torontu.

V roce 1915, ještě během studií, odešel na krátkou dobu k vojenské zdravotní službě na bojiště první světové války, ale protože armáda potřebovala graduované lékaře více než ošetřovatele, byl poslán zpět. V roce 1916 dokončil studia a hned nato byl povolán do lékařského sboru královské kanadské armády. Druhou polovinu války prožil nejprve v Anglii, kde získal výjimečné zkušenosti válečného chirurga v řadě vojenských nemocnic. Později se dostal do Francie a v září 1918 utrpěl zranění šrapnelem. Za odvahu v boji byl vyznamenán vojenským křížem.

Zpět do vlasti dorazil v roce 1919 a stal se na krátkou dobu chirurgem v již zmíněné torontské dětské nemocnici (Hospital for Sick Children). V následujícím roce si ale založil vlastní praxi ve městě London v Ontariu a zároveň působil jako demonstrátor na tamní univerzitě (University of Western Ontario). Právě zde se jednoho dne – bylo to 30. října 1920, když si pro studenty připravoval přednášku o slinivce břišní na zítřek – dostal k článku, který se zabýval experimenty se slinivkou břišní na pokusných zvířatech. Téma probudilo v Bantingovi velký zájem, ale na london-ské univerzitě probíhal výzkum v oblasti neurofyziologie, a tak se obrátil do Toron-

ta na profesora J. J. R. Macleoda – tehdy světovou autoritu v oblasti metabolismu sacharidů – se svými názory na tuto problematiku a prosil o zapojení do výzkumného programu. Macleod jej však zpočátku odmítl. Banting totiž netušil, že nastupuje do rozjetého vlaku, který se nicméně pohyboval stále po slepé koleji. První výzkumy sekrece pankreatu byly učiněny již před řadou desetiletí, ale sám Macleod považoval tuto skutečnost dosud za neprokázanou. Banting se nevzdal a na opakované naléhání nakonec Macleod svolil, že mu v létě na osm týdnů poskytne přístup do své laboratoře, a navíc jej spojil se studentem posledního ročníku kurzů fyziologie a biochemie Charlesem Bestem, protože si uvědomoval, že Banting potřebuje někoho, kdo mu pomůže s efektivní laboratorní prací. Banting rezignoval na své místo na Univerzitě západního Ontaria a den po Bestových závěrečných bakalářských zkouškách 17. května 1921 se oba badatelé sešli, aby zahájili práci na svém prvním projektu. Úvodní pokusy byly neúspěšné, ale poměrně brzy se podařilo získat extrakt, který měl dramatický dopad na zdravotní stav pokusných psů se záměrně odoperovanou slinivkou břišní.

Již před Bantingem se vědělo, že Langerhansovy ostrůvky jsou pravděpodobně zdrojem látky, která upravuje metabolismus cukru v organismu, ale předchozí pokusy zahrnující konzumaci čerstvé slinivky břišní nebo subkutánní či intravenózní injekce extraktu ze slinivky nevedly k žádným výsledkům. Banting si vytvořil teorii, že při vzniku extraktu je požadovaný hormon zničen dalšími látkami produkovanými slinivkou, a proto je nutno při jeho získávání postupovat jiným způsobem. V praxi se tento předpoklad ukázal jako správný a opakované testy přesvědčily i Macleoda. Výsledkem byla v listopadu téhož roku společná publikace, v níž Banting a Best popsali „isletin“ – látku izolovanou z Langerhansových ostrůvků (angl. Islets, a proto isletin, později byla přejmenována podle latinského překladu insula na inzulín).

Tento výzkum vzbudil velký zájem jak odborníků, tak i široké veřejnosti. Inzulín

se stal velmi žádanou substancí a badatelé proto předali jeho výrobu a výzkum zdokonalené extrakce do rukou dr. J. B. Collipa. Sami se pak orientovali na další pokrok ve vlastním vědeckém výzkumu.

V roce 1923 byl Banting vyznamenán spolu s Macleodem za objev inzulínu Nobelovou cenou a oba badatelé se o finanční částku s ní spojenou podělili (Banting s Bestem a Macleod s Collipem). V témže roce bylo pro Besta s Bantingem díky vládnímu grantu ustaveno oddělení lékařského výzkumu na Torontské univerzitě, jehož šéfem se stal Banting a strávil v této funkci většinu své profesionální kariéry. Již od roku 1923 byl také profesorem lékařského výzkumu na Torontské univerzitě.

V následujícím desetiletí obrátil Banting svoji pozornost k jiným oblastem, ale podíl na výzkumu inzulínu mu zajistil exkluzivní pověst. Nejprve ji podnítila tzv. „inzulinová horečka“ na počátku 20. let, když se mezi pacienty dostala informace o prvních úspěšných pokusech o extrakci této životně důležité látky. Do Toronta se sjížděly davy postižených v naději, že novou léčbou zlepší svůj stav. I když se později podařilo realizovat produkci inzulínu na komerční bázi, Bantingova pověst celebrity neoslabovala, stal se členem řady vědeckých společností. Jedenáct let po Nobelově ceně obdržel titul komandéra řádu Britského impéria a v roce 1935 byl zvolen členem Royal Society v Londýně. Banting opustil výzkum spojený s diabetem ke konci dvacátých let a věnoval se koronární trombóze, silikóze a rakovině. Těsně před druhou světovou válkou a v jejím průběhu byl přední kanadskou postavou v oblasti vládní podpory lékařského výzkumu. Stal se předsedou Výboru pro lékařský výzkum při Národní výzkumné radě a také předsedou asociované Rady pro lékařský výzkum spojený s létáním. Důležitou součástí jeho práce bylo prohlubování spolupráce s britskými vědci, kvůli níž pendloval mezi Kanadou a Velkou Británií. Konce války se nedožil. Při jedné z těchto cest havarovalo 21. února 1941 letadlo s Bantingem na palubě na pobřeží Newfoundlandu.

JOHN JAMES RICHARD MACLEOD

(1876–1935)

John James Richard Macleod se narodil 6. září 1876 v Cluny u Dunkeldu ve Skotsku v rodině pastora Roberta Macleoda, který byl krátce po chlapcově narození povolán do Aberdeenu. Zde se také Johnu Jamesovi dostalo vzdělání nejprve v Aberdeen Grammar School a pak i na Aberdeenském univerzitě. Medicínu vystudoval na Marischalově koleji. Během studia obdržel jako vzorný student medaile Mattewse Duncana, Fife Jamiesona a také Andersonovo stipendium, díky němuž strávil rok ve fyziologickém ústavu v Lipsku. V roce 1900 se stal zaměstnancem London Hospital Medical College jako demonstrátor fyziologie pod sirem Leonardem Hillelem. Začal přednášet v oboru biochemie na téže škole v roce 1902 a získal Mackinnonovo stipendium od Royal Society. V té době se také oženil s Mary Watson McWalterovou. Manželství zůstalo bezdětné.

Macleod v době svého londýnského působení orientoval výzkum například na nitrolebeční oběh a také na problematiku dýchání, která byla v ohnisku jeho bádání mnoho let. O respiraci publikoval opakovaně v letech 1902–1922.

Pobyt v Londýně byl krátký, neboť v roce 1903 Macleod publikoval knihu *Practical Physiology* a díky tomu získal místo v Clevelandu (Ohio) v USA na

Western Reserve University, kde působil jako učitel a výzkumník 15 let až do roku 1918. Ještě v Clevelandu začala v roce 1907 vycházet Macleodova série studií o experimentální glykosurii v *Americal Journal of Physiology*. A o několik let později (a téměř deset let před objevem inzulínu) vyšla jeho kniha o diabetes, která byla výsledkem přednášek na London University, kde hostoval v letním semestru 1912.

V roce 1918 se stal profesorem fyziologie na univerzitě v Torontu. Nedlouho poté publikoval se svými spolupracovníky téměř tisícistránkovou učebnici *Physiology and Biochemistry in Modern Medicine*. O významu tohoto díla svědčí fakt, že do Macleodovy smrti dosáhlo sedmi vydání, bylo přijímáno širokou odbornou veřejností a často citováno. V Torontu se Macleod znovu věnoval respiraci například v souvislosti s anoxemií a nebo přebytkem kyslíku. V roce 1921 obrátil svoji pozornost k problematice úrovně krevního cukru u zvířat s odňatou slinivkou břišní a také studoval jakou roli v metabolismu cukru hrají svaly či játra. Jeden z jeho spolupracovníků – J. B. Collip – později poznamenal, že v roce 1918 měl Macleod již významné postavení mezi badateli na poli metabolismu sacharidů a právě proto se objev inzulínu mohl odehrát v jeho laboratoři. Zároveň bylo podle Collipa štěstí pro objevitele inzulínu Bantina a Besta, že narazili právě na zkušeného odborníka v této problematice, který vytyčil potenciál jejich výzkumu.

Koneckonců Best byl v této době ještě Macleodovým studentem. Dvoučlenný badatelský tým Banting – Best získal první výsledky v Macleodově laboratoři v polovině léta právě v době, kdy Macleod pobýval na dovolené ve Skotsku. Když se vrátil, okamžitě přerušil dosavadní výzkum na téma anoxémie a věnoval veškeré dostupné zdroje studiu inzulínu. Do týmu pak přibyl ještě J. B. Collip a skupina na počátku roku 1922 připravila první použitelné vzorky inzulínu. Je pozoruhodné, že objevitelé si nechali proces výroby inzulínu patentovat, ale výnos z jeho vlastnictví byl převeden na „Britskou lékařskou výzkumnou radu pro podporu výzkumu“. Podíl na objevení inzulínu Macleodovu skvělou pověst ještě zvýšilo. Spolu s Bantingem dostal v roce 1923 Nobelovu cenu. V témže roce se stal členem Royal Society a získal čestné doktoráty například v Torontu, Aberdeenu, Western Reserve a na dalších univerzitách. V roce 1928 se vrátil do rodného Skotska, kde nadále působil v Aberdeenu. Stále pracoval vědecky, i když jej v rostoucí míře začalo zrazovat zdraví a artritida mu nakonec zabránila v další laboratorní práci. Mimo vědy se rád věnoval golfu, své zahradě a výtvarnému umění. Zemřel 16. března 1935 v Aberdeenu ve Skotsku.

Mgr. Karel Černý
Ústav dějin lékařství
a cizích jazyků 1. LF UK
121 08 Praha 2, Kateřinská 32
e-mail: karel.cerny@lfl.cuni.cz

OD OBJEVU INZULÍNU K NOBELOVĚ CENĚ A JEŠTĚ DÁLE

Vývoj poznatků o diabetu významně pokročil koncem 19. století. Experimentální práce ukázaly, že slinivka je orgánem regulujícím sacharidový metabolismus. Její odnětí znamenalo u experimentálních zvířat rozvoj typické diabetické ketoacidózy s následným kómatem a smrtí, jak ukázaly v roce 1889 pokusy Minkowského a Meringa. V roce 1908 použil německý lékař Zülzer extrakt z hovězí slinivky k aplikaci u diabetického psa. Došlo ke zlepšení, takže v následujícím roce podal extrakt diabetikům. Vedle jasně pozitivního účinku však byly přítomny i nežádoucí reakce, takže dále se o aplikaci u člověka již nepokoušel.

O několik let později pozoruje Nicolae Paulesco efekt tzv. pancréinu (vodného extraktu ze slinivky), který vede k dramatickému poklesu glykémie u diabetického psa. Koncem srpna 1921 vychází jeho článek ve francouzském časopise *Archives internatio-*

nales de physiologie. Ve stejném roce tuto skutečnost potvrzují v torontské laboratoři fyziologického ústavu vedeného profesorem J. J. R. Macleodem i další pracovníci, ortoped Frederic Banting (na fotografii vpravo) se svým asistujícím studentem Charlesem Bestem (vlevo), ale článek publikují o několik měsíců později. Jejich pokusy na psech vedou vzápětí k uplatnění i u člověka. V lednu 1922 je zachráněn čtrnáctiletý chlapec Leonard Thompson z rozvíjející se diabetické ketoacidózy. Již v roce 1923 jsou uděleny dvě Nobelovy ceny za objev inzulínu. Jednu dostává profesor John James Richard Macleod, druhou dostává Frederic Grant Banting. Oba se o ní dělí s dalšími dvěma badateli, již zmíněným Ch. Bestem a dále ještě s chemikem J. Collipem, který se zasloužil o purifikaci účinné látky z extraktu ze slinivky. Látka původně označená jako „isletin“ je na návrh Macleoda přejmenována na insulin (pozn.: pojem „inzulín“ byl poprvé použit de Mayerem v roce 1909). Historie tohoto objevu i jeho „anamnézy“ je značně složitější, ale to není předmětem tohoto komentáře.

V roce 1922 se tak zahájila zcela nová éra pacientů s diabetem. Objev inzulínu je považován za epochální. Inzulín znamená totiž zásadní obrat v léčbě do té doby nevladatelného diabetes mellitus 1. typu, který se bez inzulínu neobejde. Do dnešního dne tak mohly být zachráněny před smrtí miliony těchto pacientů.

Z původně amorfního preparátu byl připraven krystalický inzulín, později pak preparáty s prodlouženým účinkem. V roce 1958 dostává F. Sanger Nobelovu cenu za průkaz chemické struktury molekuly inzulínu, na přelomu 50. a 60. let pak Yalowová s Bersonem poprvé stanovují koncentraci inzulínu v krvi. V praxi se později ukazuje, že glykémie jsou u mnoha pacientů s diabetem vzdáleny od fyziologických hodnot a dokládá se, že tím přibývají pozdní komplikace. Prohájají první studie poukazující na potřebu lepší kompenzace diabetu. Zdokonaluje se čištění zvířecích inzulínů, PUR inzulíny jsou vystřídány MONOKomponentními inzulíny a vzápětí je syntetizován poprvé lidský inzulín. Původní léčba jednou až dvěma dávkami inzulínu denně je

nahrazena tzv. intenzivní terapií s kombinací inzulínu krátce působícího a preparátu s prodlouženým účinkem. Znalost primární struktury lidského inzulínu vede k syntéze a zkoušení derivátů molekuly inzulínu, k inzulínovým analogům. Ultrakrátce působící analoga umožňují především snížit nežádoucí přetrvávající hyperinzulinémii a zlepšit postprandiální glykémie, dlouze působící analoga pak vyrovnávají oscilace hladin inzulínu pozorované u preparátů s prodlouženým efektem a snižují frekvenci hypoglykemií.

Klasická léčba je nahrazena inzulínovou pumpou. Přesto se nedaří dlouhodobě zajistit zcela fyziologickou regulaci, jakou má zdravý člověk. Ta je umožněna aspoň na určitý čas transplantací slinivky, ale objevují se jiné problémy jako potřeba imunosupresivní léčby a její nežádoucí důsledky. Rozvíjejí se techniky transplantace ostrůvků.

Základní objev inzulínu je nesporně tím významným mezníkem, další pokrok je zejména technický či technologický. Klinická praxe tak zažívá urychlený vývoj, zlepšuje se kvalita života diabetika.

Inzulín znamená také další posun v poznání. Experimentální fyziologie při-

nášší nové poznatky o mechanismech sekrece a působení inzulínu, o jejich regulacích, a současně dokládá, že mnohému nerozumíme. Molekulární genetika napomáhá k objevu podstaty některých podtypů diabetu, což přispívá i ke zcela novému přístupu k léčbě. Přesto nejsme spokojeni. Přibývá pacientů s komplikacemi, neboť je léčíme intenzivněji, takže žijí déle. Tím více pozorujeme své omezené schopnosti, neboť přes různé léčebné kombinace nedosahujeme potřebné úrovně výsledků léčby, které by zabránily rozvoji zmíněných dlouhodobých následků. Dosud nerozumíme genetické podmíněnosti diabetu u mnoha našich pacientů včetně jejich komplikací. Slibná je zatím transformace kmenových buněk nebo diferenciace duktálních buněk proximálních vývodů exokrinního pankreatu, z nichž vznikají ostrůvkové buňky. Tato cesta je zatím tak složitá, že v nejbližších letech nelze očekávat zásadní změnu v léčbě diabetu. Je to však možnost, jak se dostat k fyziologické regulaci glukózové homeostázy, a tudíž jak jednou úspěšně zvládnout terapii diabetu.

Klinické využití inzulínu tak nastartovalo v roce 1922 nové perspektivy pro

diabetiky a nyní záleží na dalších řadách výzkumných i klinických pracovníků, aby se podařilo léčbou přiblížit prognózu pacientů nediabetické populaci. Přesto více než 80 let uplynulých od zavedení inzulínu nás mnoho naučilo. Přinejmenším i tu skutečnost, že nejen technický pokrok a další objevy, ale i náš moderní způsob života mohou podstatně přispívat k dlouhodobé prognóze diabetika. Je to právě „práce s inzulínem“ dokládající, že je třeba věnovat pozornost jak moderním farmakologickým opatřením, která se opírají o výsledky studií, tak i správným a tedy fyziologickým zásadám způsobu života, který trpí stále větším nedostatkem fyzické aktivity. Znalosti o působení inzulínu ve svalové tkáni a vlivu fyzické aktivity nás o tom přesvědčují.

Objevu inzulínu a především jeho zavedení do léčby diabetiků předcházely více než tři desítky let experimentální práce, kterou teprve Banting s Bestem přivedli do klinického využití.

*prof. MUDr. Jan Škrha, DrSc., MBA
III. interní klinika 1. LF UK a VFN
128 08 Praha 2, U Nemocnice 1
e-mail: jan.skrha@lf1.cuni.cz*



*Nezdar není hanba!
Hanba je bázeň před pokusem.*

IVAN VLADIMIROVIČ MIČURIN