

# ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

ČAS. LÉK. ČES., 145  
2006, č. 1, s. 1-84  
CLC EAL 145 (4)  
1-84 (2006)

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

ROČNÍK 145 / 2006, č. 1

## VEDOUcí REDAKTOR

*Doc. MUDr. Petr Bartůnek, CSc.*  
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

## REDAKČNÍ RADA

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

*Prof. MUDr. Jaroslav Blabů, DrSc.*  
ÚVN, 169 02 Praha 6

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

*Prof. MUDr. Evžen Čech, DrSc.*  
Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN  
Apolinářská 18, 128 08 Praha 2

*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

*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 Holčák, DrSc.*  
Ústav sociálního lékařství LF MU  
Komenského nám. 2, 662 43 Brno

*Prof. MUDr. Zbyněk Hrnčíř, DrSc.*  
II. interní klinika LF UK a FN  
Pospíšilova 13, 500 05 Hradec Králové

*MUDr. Pavel Jerie*  
Leymenstrasse 49  
4153 Reinach, BL 1  
Švýcarsko

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

*Doc. MUDr. Josef Kopecký, DrSc.*  
Zdravotně sociální fakulta Ostravské univerzity  
Syllabova 19, 703 00 Ostrava - Zábřeh

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

*Prof. MUDr. Jan Petrášek, 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  
500 05 Hradec Králové

*Prof. MUDr. Martin Vizek, CSc.*  
Ústav patologické fyziologie 2. LF UK  
Plzeňská 130/221, 150 00 Praha 5

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

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

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

**OBSAH**

<b>Úvodník</b>	
<i>Bartůněk P.</i> : Úvodník	3
<i>Klener P.</i> : Některé nové poznatky o patogenezi myeloproliferativních onemocnění a možnosti jejich efektivnější léčby	4
<b>Přehledové články</b>	
<i>Jarošová M., Pospíšilová H., Plachý R., Divoká M., Holzerová M., Papajík T., Koptíková J., Indrák K.</i> : Princip a význam metody arrayCGH v hematologii	9
<i>Hlavatý P., Kunešová M.</i> : Acylaci stimulující protein – úloha v regulaci metabolismu tukové tkáně	14
<b>Původní práce</b>	
<i>Trněný M., Vacková B., Pytlík R., Cieslar P., Válková V., Gašová Z., Kobyłka P., Trnková M., Krejčová H., Klener P.</i> : Vysokodávkovaná terapie s autologní transplantací krvetvorných buněk u nemocných s Hodgkinovým lymfomem: dlouhodobé sledování nemocných léčených v jednom centru	19
<i>Beránek M., Voglová J., Sýkorová A., Belada D., Bláha M.</i> : Význam kvantitativního hodnocení transkriptů BCR-ABL pomocí real-time PCR pro efektivní léčbu chronické myeloidní leukémie	25
<i>Komentář Cmunt E.</i>	29
<i>Dobrovolná M., Vraná M., Brdička R., Loudová M.</i> : Význam konfirmačních testů HLA systému nepřibuzných dárců hematopoetických kmenových buněk metodami molekulární genetiky	32
<i>Polák J., Marková J., Schwarz J., Maaloufová J., Volková Z., Čermák J., Haškovec C.</i> : Užítí kvantitativního stanovení exprese genu Wilmsova tumoru 1 pro monitorování reziduální nemoci pacientů s akutní myeloidní leukémií	36
<i>Soumarová R., Homola L., Štursa M., Perková H.</i> : Akutní nežádoucí účinky brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem v kombinaci se zevní radioterapií u lokalizovaného karcinomu prostaty	43
<b>Kazuistika</b>	
<i>Špišek R., Mejstříková E., Formánková R., Žižková H., Vávra V., Hrušák O., Šedivá A., Sedláček P., Starý J.</i> : Familiální hemofagocytující lymfohistiocytóza na podkladě deficitu perforinu úspěšně léčená transplantací hematopoetických kmenových buněk – první diagnostikovaný případ v České republice	50
<i>Šváb J., Feyerleis J., Růžička P., Burget F., Hořejší J., Kolářová L., Stejskal F.</i> : Echinokoková nákaza – <i>Echinococcus</i>	55
<b>Speciální sdělení</b>	
<i>Nešpor K., Csémy L.</i> : Zneužívání buprenorfinu se stává v České republice problémem	59
<i>Šváb J.</i> : Robotika v chirurgii	61
<b>Dějiny lékařství</b>	
<i>Tomíček D.</i> : Historicko-medicínská výročí v roce 2006	64
<i>Jerie P.</i> : Profesor Pavel Lukl a profesor Jan Brod – dva čestí internisté na mezinárodním fóru	67
<b>Diskuzní příspěvek</b>	
<i>Špála M.</i> : Impact faktor – dobrý sluha, ale špatný pán	69
<b>Osobní zprávy</b>	79
<b>Zprávy</b>	81
<b>Knihy</b>	13, 63, 82
<b>Nejvýznamnější osobnosti pražské lékařské fakulty</b>	
<i>Svobodný P.</i> : Edward Babák	84

**CONTENTS**

(No. 1, 3<sup>rd</sup> January 2006) Journal of Czech Physicians

<b>Editorial</b>	
<i>Bartůněk P.</i> : Editorial	3
<i>Klener P.</i> : Some New Findings in the Pathogenesis of Myeloproliferative Disorders and New Insight into More Effective Treatment	4
<b>Review Articles</b>	
<i>Jarošová M., Pospíšilová H., Plachý R., Divoká M., Holzerová M., Papajík T., Koptíková J., Indrák K.</i> : Principle and Importance of Using the Array CGH in Hematooncology	9
<i>Hlavatý P., Kunešová M.</i> : Acylation Stimulating Protein – Its Role in Control of Metabolism in the Adipose Tissue	14
<b>Original Articles</b>	
<i>Trněný M., Vacková B., Pytlík R., Cieslar P., Válková V., Gašová Z., Kobyłka P., Trnková M., Krejčová H., Klener P.</i> : High Dose Therapy with Autologous Stem Cell Transplantation in Patients with Hodgkin's Lymphoma: Long Term Follow-up in Patients Treated in One Center	19
<i>Beránek M., Voglová J., Sýkorová A., Belada D., Bláha M.</i> : Importance of Quantitative Evaluation of BCR-ABL Transcripts Using Real-time PCR for Effective Treatment of Chronic Myeloid Leukemia	25
<i>Komentář Cmunt E.</i>	29
<i>Dobrovolná M., Vraná M., Brdička R., Loudová M.</i> : Significance of Confirmatory Testing of HLA Systems in Unrelated Haematopoietic Stem Cell Donors	32
<i>Polák J., Marková J., Schwarz J., Maaloufová J., Volková Z., Čermák J., Haškovec C.</i> : The Use of Quantitative Assessment of Wilms Tumour Gene for Monitoring of Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia Patients	36
<i>Soumarová R., Homola L., Štursa M., Perková H.</i> : Acute Toxicity of High Dose Interstitial Brachytherapy Boost in Prostate Cancer	43
<b>Case Reports</b>	
<i>Špišek R., Mejstříková E., Formánková R., Žižková H., Vávra V., Hrušák O., Šedivá A., Sedláček P., Starý J.</i> : Familial Haemophagocytic Lymphohistiocytosis Caused by Perforin Deficit Can Be Successfully Treated by Haematopoietic Stem Cell Transplantation – The First Diagnosed Case in the Czech Republic	50
<i>Šváb J., Feyerleis J., Růžička P., Burget F., Hořejší J., Kolářová L., Stejskal F.</i> : Hydatid Cysts – <i>Echinococcus</i>	55
<b>Special Articles</b>	
<i>Nešpor K., Csémy L.</i> : Abuse of Buprenorphine Becomes a Problem of the Czech Republic	59
<i>Šváb J.</i> : Robotic Surgery	61
<b>History of Medicine</b>	
<i>Tomíček M.</i> : Anniversaries in the History of Medicine for the Year 2006	64
<i>Jerie P.</i> : Professor Pavel Lukl and Professor Jan Brod – Two Czech Internists at the International Forum	67
<b>Discussion</b>	
<i>Špála M.</i> : Impact Factor – Good Servant, but a Bad Master	69
<b>Personal News</b>	79
<b>News</b>	81
<b>Books</b>	13, 63, 82
<b>The Most Eminent Personalities of the Prague Medical Faculty</b>	
<i>Svobodný P.</i> : Edward Babák	84

<http://www.clsjep.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2006

**ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH**

Vydává Česká lékařská společnost J: Ev. Purkyně, Sokolská 31, 120 26 Praha 2.  
Vedoucí redaktor doc. MUDr. Petr Bartůněk, 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 objednávký 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 objednávký 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 doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc., IV. interní klinika I. LF UK a VFN, U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2.  
Rukopis předán do výroby dne 15. 11. 2005. Zaslání příspěvků se nevracejí, jsou archivovány ČSL JEP. Vydavatel získá otiskem příspěvku výlučné nakladatelské právo k jejich užití. Otiskované 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

## ÚVODNÍK

### Vážení čtenáři, milé kolegyně a kolegové,

dovolte, abych na prahu nového roku 2006 uvedl několik slov o činnosti redakční rady v uplynulém roce a současně o našich představách o práci budoucí.

Jsem přesvědčen, že struktura časopisu, tak jak byla koncipována v posledním roce, dává vcelku ucelený přehled o progresivních diagnostických i terapeutických pokrocích na domácí medicínské scéně. Za zvláště uspokojující považuji skutečnost, že náš časopis má dostatek kvalitních autorů z oblastí, kde je patrný neobyčejně rychlý rozvoj, tedy především z oblasti genetiky, molekulární biologie, imunologie a z klinických oborů, zvláště z oboru onkohematologie. Tyto přednosti do jisté míry oslabuje skutečnost asymetrie v počtu prací z hlediska oborového. Při úvaze o příčinách tohoto jevu nelze ignorovat fakt, že v České republice v posledních letech vychází přibližně 150 převážně monotematických, resp. oborově specializovaných lékařských časopisů, které jsou pochopitelně nepřehlédnutelnou konkurencí multidisciplinárnímu časopisu, jakým jsme po celou dobu naší existence. Exploze nových oborů a podoborů, vytváření bezpočtu nových odborných společenství i mimo platformu České lékařské společnosti J. Ev. Purkyně, které prakticky bez výjimky vydávají svůj úzce zaměřený časopis ve většině případů se silným ekonomickým zázemím farmaceutických společností, odčerpávají nejen autory, ale logicky i čtenáře.

V kontextu uvedeného proto považuji za úspěch, že se s dílčí pomocí grantu MZ ČR podařilo uskutečnit elektronickou verzi vybraných článků Časopisu lékařů českých v anglickém jazyce. Základní ideou je rozšířit znalost nejstaršího českého lékařského časopisu a prací v něm publikovaných mezi zahraničními čtenáři, a napomoci tak zvýšení mezinárodní citovanosti českých autorů. Časopis lékařů českých je v současné době aktivně abstrahován/indexován ve 24 zdrojích (např. Chemical Abstracts, Excerpta Medica, Inis Atomindex, Medline, Scopus), jak je uvedeno v Ulrich's Periodicals Directory, z něhož je poslední dobou přístupná již i anglická elektronická verze ČLČ.

V návaznosti na uvedenou problematiku nemohu nezmínit problematické opatření, které bylo iniciováno vládní Radou pro vědu a výzkum ČR vztahující se k hodnocení ČLČ z hlediska využitelnosti při posuzování publikačních výstupů projektů řešených s podporou grantových agentur, resp. výzkumných záměrů. Skutečnost, že v tomto kontextu byla dle „Seznamu neimpaktovaných časopisů pro účely hodnocení výzkumu a vývoje a jeho výsledků“ dána přednost časopisu „Praktický lékař“ (PL) před ČLČ mě vedla k tomu, že jsem se písemně obrátil na místopředsedu vlády ing. M. Jahna, abych upozornil na některé charakteristiky těchto periodik, které vydává Česká lékařská společnost J. Ev. Purkyně.

Totíž, že ČLČ je především nejstarší lékařský časopis v České republice. Vychází nepřetržitě od svého prvního vydání v roce 1862, tedy plných 144 let. Je známo, že mimo jiné sehrál mimořádnou úlohu při tvorbě české odborné terminologie, vzniku české lékařské fakulty a v období obou světových válek udržoval – jako de facto jediný subjekt – kontinuitu vědecké práce v naší zemi a z historického aspektu je tvořen většinou prací národního vědního fondu. Především jsem však zdůraznil, že v posledních dvou ročnících (2003, 2004) tvoří práce podporované granty, resp. výzkumnými záměry, plných 52 % všech sdělení publikovaných v ČLČ! Mezi členy redakční rady a kmenovými konzultanty jsou přední představitelé řady oborů od nás i ze zahraničí, kteří garantují jeho interdisciplinární charakter. Jako prezidiální časopis ČLS J. Ev. Purkyně je považován za nejprestižnější. Patří rovněž mezi nejvíce citované.

Se stejnou argumentací jsem navštívil bývalou ministryni, doc. MUDr. M. Emmerovou, CSc. Přes ujištění z obou stran, že celá záležitost, kterou nelze považovat než za nekompetentní rozhodnutí, bude revokována, dosud ke změně stanoviska nedošlo.

V nastávajícím ročníku bychom chtěli v každém čísle shromáždit několik textů jak v oblasti přehledových článků, tak původních prací či kazuistik, které by byly určitým obrazem jednoho oboru, vždy s editorialem předního odborníka. V tomto čísle rovněž otevíráme stránky pro další diskuzi, k níž redakce vyzvala řadu předních představitelů lékařských fakult a dalších lékařských výzkumných pracovišť, jakož i reprezentantů pracovišť akademie věd. Jejím cílem je rozprava o významu „instituce“ označované jako impact factor, resp. o nutnosti vytvoření aktuálního hodnotícího systému odborné publikační činnosti, který by se opíral o reálné možnosti i jednoznačná východiska, aniž by nebyly oprávněně oceněny výkony domácích autorů. Autorem úvodního příspěvku v tomto čísle (s. 69–78) je doc. MUDr. Milan Špála, CSc., který se v souvislosti se svou dlouholetou editorskou činností zabývá teoreticky bibliometrickými aspekty hodnocení publikační činnosti. Od roku 1994 spolupracuje s Dr. Eugenem Garfieldem, tvůrcem citačního rejstříku SCI a jako člen řešitelského týmu Národní lékařské knihovny v letech 1998–2000 prakticky sestavil český citační rejstřík lékařské literatury včetně stanovení impakt faktoru.

Protože tyto řádky píšete ve dnech, kdy se opět mění vedení ministerstva zdravotnictví, které rychlostí obměn svých ministrů je nepochybně hodno zápisu do Guinnessovy knihy rekordů, nemohu nezmínit pocity, které sdílí lékařská veřejnost. Nezpůsobilost všech polistopadových vlád věnovat náležitou, a tedy kvalifikovanou pozornost resortu zdravotnictví se mi jeví jako trestuhodná.

Neschopnost vytvořit kompetentní tým, který by byl schopen adaptovat léty ověřené zkušenosti evropského zdravotnictví a integrovat je do systému veřejného zdravotnictví u nás, stejně jako trvalá ekonomická diskriminace lékařů i ostatních zdravotníků, jsou smutnou reflexí autentické politické úrovně současného i předchozích establishmentů naší země.

Závěrem mi dovolte, abych využil této příležitosti a jménem svým, jménem redakční rady a všech jejích spolupracovníků popřál našim autorům a čtenářům v roce 2006 pevné zdraví, spokojenost v soukromém i profesním životě i naději v lepší časy našeho resortu.



ÚVODNÍK

## Některé nové poznatky o patogenezi myeloproliferativních onemocnění a možnosti jejich efektivnější léčby

Klener P.

1. interní klinika 1. LF UK a VFN a ÚHKT, Praha

SOUHRN

Pokroky molekulární biologie umožnily hlubší porozumění patogeneze myeloproliferativních onemocnění, na které dnes pohlížíme jako na poruchu hematopoetické kmenové buňky. Je podán stručný přehled genetických poruch, které vedou ke vzniku chronické myeloidní leukémie, myelodysplastického syndromu a akutní myeloidní leukémie. Ve druhé části sdělení jsou probrány různé způsoby molekulárně cílené léčby, které byly vyvinuty na základě nových poznatků. Jde především o způsoby ovlivňující zvýšenou proliferaci, jako jsou inhibitory tyrozinkináz (imatinib, dasatinib), inhibitory farnesyltransferázy (tipifarnib), inhibitory angiogeneze (bevacizumab) a dále induktory diferenciac (hypometylační látky) a induktory apoptózy. Podrobnější informace je věnována látkám, které se již prověřují v rámci klinických studií.

**Klíčová slova:** leukemická krvetvorba, myeloproliferativní onemocnění, nové léčebné způsoby.

SUMMARY

*Klener P.: Some New Findings in the Pathogenesis of Myeloproliferative Disorders and New Insight into More Effective Treatment*

Advances in molecular biology and genomics enabled more detailed view on the pathogenesis of myeloproliferative disorders, which are considered to be a diseases of hematopoietic stem cell. The autor provides an brief overview of the genetic alterations, leading to the chronic myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. In the second part, molecular targeted therapies that have been developed based on these insights are reviewed. These are particularly methods preventing increased proliferation such as inhibition of tyrosinkinases (imatinib, dasatinib), inhibitions of farnesyltransferase (tipifarnib), inhibition of angiogenesis (bevacizumab, vatalanib), induction of diferentiation (hypomethylating agenents) and induction of apoptosis (bortezomib). More detailed information is given on some novel drugs which are currently in clinical trials.

**Key words:** leukemic hematopoiesis, myeloproliferative disorders, novel therapies.

Kl.

Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 4-8.

**P**okroky molekulární biologie přispěly v posledním desetiletí k hlubšímu porozumění patogenetických mechanismů vzniku všech forem hematologických malignit. Logickým důsledkem nových poznatků jsou i snahy o jejich využití jednak k přesnější diagnostice a odhadu prognózy, jednak k zavedení nových léčebných postupů. Je velmi obtížné shrnout nové poznatky do krátkého přehledu. Pokusíme se však upozornit alespoň na nejdůležitější z nich, týkajících se myeloproliferativních onemocnění.

### PATOGENETICKÉ MECHANIZMY VZNIKU MYELOPROLIFERATIVNÍCH ONEMOCNĚNÍ

Na většinu myeloproliferativních onemocnění se dnes pohlíží jako na poruchu hematopoetické kmenové buňky (1). Maligní krvetvorba napodobuje svou strukturou normální krvetvorbu, z níž se transformovala, spolu s hierarchicky nejvýše postavenou leukemickou kmenovou buňkou. Leukemické kmenové buňky vznikají maligním zvratem normálních hematopoetických kmenových

buněk na podkladě genové mutace. Transformace normální buňky v leukemickou vyžaduje podle současných znalostí minimálně dvě mutace, resp. mutace dvou odlišných typů (2-4).

První skupina mutací zahrnuje **mutace genu pro receptorovou tyrozinkinázu** (nejčastěji na podkladě chromozomální translokace). Prototypem onemocnění vzniklého na tomto podkladě je např. **chronická myeloidní leukémie (CML)**. Ta vzniká v důsledku chromozomální translokace t(9:22), během níž dochází k přesunu genu pro receptorové tyrozinkinázy ABL (Abelson Leukemia) do oblasti BCR (Breakpoint Cluster Region). Vzniká chimerický gen, jehož produktem je fúzní protein bcr-abl s tyrozinkinázovou aktivitou. Zatímco receptorová tyrozinkináza ABL se aktivuje pouze vazbou specifického ligandu, její translokovaná forma BCR-ABL je aberantně aktivní a signalizuje do jádra podnět, který působí zvýšenou proliferaci autonomního (leukemického) klonu. Ten však (zatím) normálně vyžívá. Přítomnost translokace BCR-ABL ve všech typech buněk krevní tkáně je dokladem toho, že k maligní transformaci došlo na úrovni hematopoetické kmenové buňky.

prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.  
128 08 Praha 2, U Nemocnice 2  
fax: +420 224 923 346, e-mail: pavel.klener@ruk.cuni.cz

**Tab.1.** Klasifikace akutních leukémií podle WHO (Blood, 2002, 100, s. 2292-2302)

**AML s genetickými abnormalitami**

AML s translokací t(8:21) (q22;q22), (AML1/ETO)  
 AML s abnormální eozinofilií inv(16) (p13;q22) nebo T(16:16)(P13;q22)  
 akutní promyelocytární leukémie t(15:17) (q22;q12), (PML/RAR-alfa)  
 AML s chromozomální abnormalitou 11q23

**AML s multilineární dysplazií**

AML po předcházejícím MDS  
 AML bez předchozího MDS více než 50 % dysplastických buněk

**AML a MDS po léčbě**

AML po léčba alkylačními látkami  
 AML po léčbě inhibitory topoizomerázy II

**AML jinak nezařaditelné**

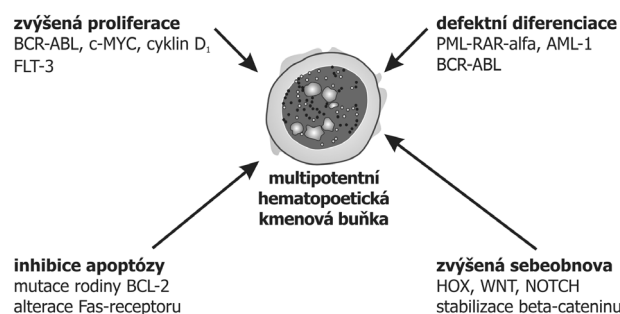
AML s minimální diferenciací  
 AML bez vyzrávání  
 akutní myelomonocytární leukémie  
 akutní monoblastická/monocytární leukémie  
 akutní erytroidní leukémie  
 akutní megakaryoblastická leukémie  
 akutní bazofilní leukémie  
 akutní panmyelóza s myelofibrózou  
 myeloidní sarkom

Druhá skupina mutací nezbytných pro leukemogenezi jsou **mutace genů pro hematopoetické transkripční faktory** (bodové mutace, chromozomální delece, translokace). Jestliže mutace genu pro receptorovou tyrozinkinázu vede k aktivaci příslušných tyrozinkináz, mutace genu pro hematopoetický transkripční faktor působí jejich inhibicí. To má za následek diferenciační blok, což se projeví přítomností určitého procenta nezralých buněk (leukemických blastů) v kostní dřeni, popřípadě i v periferní krvi. Vzniká tak autonomní klon s dysplastickými rysy, který však (zatím) nemá potřebnou proliferativní aktivitu. Prototypem onemocnění, která vznikají mutací genu pro hematopoetické transkripční faktory jsou **myelodysplastické syndromy (MDS)**.

Dojde-li ke **kombinaci obou typů mutací**, tedy mutaci (aktivaci) receptorové tyrozinkinázy a mutaci (zablokování) hematopoetického transkripčního faktoru, dochází k transformaci do **akutní myeloidní leukémie (AML)**, při které se kombinuje zvýšený proliferativní potenciál leukemických buněk s diferenciačním blokem. V krevním obrazu vidíme proto leukocytózu s typickým hiatus leucemicus, tedy přítomnost nezralých dysplastických (blastických) elementů vedle normálních zralých buněk, kterých postupně ubývá v důsledku expanze leukemického klonu. K maligní transformaci buněk přispívají ještě další mutace působící kromě stimulace proliferace a blokady diferenciace také inhibicí apoptózy a zvýšení sebeobnovy leukemických kmenových buněk.

Velmi zjednodušené schéma mechanismů odpovědných za maligní transformaci multipotentní hematopoetické kmenové buňky a příklady genů působících změnu biologického chování buňky jsou na obrázku 1.

Zmíněné poznatky o patogenezi leukémií vedly jednak k přehodnocení jejich klasifikace, jednak k hledání účinnějšího způsobu léčby. V klasifikaci AML se dosud používá francouzsko-americko-britská klasifikace (FAB), která rozděluje leukémie podle morfologie leukemických buněk (5). Nově doporučená klasifikace WHO pro AML, která je uvedena v tabulce 1, již bere v úvahu cytogenetické charakteristiky jednotlivých forem leukémií a umožňuje odlišit prognosticky nepříznivé formy, které by měly být léčeny poněkud odlišnou strategií (6).



**Obr. 1.** Schéma mechanismů odpovědných za maligní transformaci multipotentní hematopoetické kmenové buňky a příklady genů působících změnu biologického chování buňky

**SOUČASNĚ A PERSPEKTIVNÍ LÉČEBNÉ MOŽNOSTI**

Zatímco korekce jednotlivých abnormalit **genovou terapií** je dosud předmětem usilovného výzkumu a v klinické praxi se dosud neuplatňuje, existují již klinicky prověřované metody umožňující předcházet vzniku těchto abnormalit nebo korigovat jejich důsledky, tj. omezovat proliferaci, angiogenezi či metastatický potenciál, nebo indukovat zablokovanou diferenciaci či apoptózu (7). Pokusíme se podat stručný přehled těchto nových léčebných možností.

Základní léčebnou metodou akutních leukémií zůstává klasická chemoterapie, v indikovaných případech alogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk, která se považuje za jedinou kurativní metodu. Nicméně v klinické praxi se již uplatňují některé nové metody a v klinickém zkoušení je celá plejáda nových metod.

**Nové přípravky s cytotoxickým účinkem**

**Homoharingtonin** je rostlinný alkaloid získaný z jehličí a kůry čínské stromu *Cephalotoxus fortunei*, který se používá k léčbě CML. Jeho protinádorový účinek se vysvětluje potlačováním exprese genu BCR-ABL, kromě toho působí inhibicí proteosyntézy a degradaci polyribosómů (8). Doporučené dávky jsou 3–6 mg/den v infuzi fyziologického roztoku v pětidenním cyklu. Z nežádoucích účinků se udává periferní vazodilatace, hypotenze a myelosuprese.

**5-azacytidin** (Vidaza) byl syntetizován v ČR již v 60. letech minulého století, později izolován v USA z kultur *Streptovorticium ladacamus* jako antibiotikum ladakadamicin. Širší uplatnění v léčbě hematologických malignit nachází až v posledních letech. Jeho zvláštností je kromě cytostatického účinku též účinek hypometylační. Zvýšená metylace některých úseků DNA totiž výrazně zvyšuje proliferativní potenciál buněk a působí inhibicí recesivních onkogenů (tumor supresorových genů). Reexpresi těchto genů naopak umožní demetylaci, která může indukovat i zablokovanou diferenciaci buněk. Proto našel přípravek uplatnění hlavně v léčbě MDS, kde se doporučuje aplikace v dávce 75 mg/m<sup>2</sup>/den v sedmidenním cyklu jedenkrát za měsíc, nebo 15 mg/m<sup>2</sup>/den v desetidenním cyklu. Zkouší se však také v léčbě leukémií nebo u blastického zvratu CML, kde ve vyšších dávkách (50–100 mg/m<sup>2</sup> po 5 dní) navodí až 14 % cytogenetických remisí (9).

**Decitabin** (Dacogen, Mylosar), 5-áza-2'-deoxyazacytidin je látka s podobným hypometylačním účinkem. Jeho aktivaci (fosforylaci) katalyzuje enzym deoxycytidinkináza, nacházející se ve vysoké koncentraci v lymfatické tkáni. Proto se zkouší v léčbě akutních lymfatických leukémií, ale též u MDS. Podává se 75 mg/m<sup>2</sup>/den po dobu 1 týdne.

**Tretinoín** – Vesanoíd (all-trans-retinoid acid-ATRA) je přirozený metabolit retinolu (vitaminu A) s výraznými diferenciačními účinky na maligní promyelocyty. Mechanismus účinku spočívá

v potlačení fúzního genu PML/RAR-alfa vznikajícího reciproko translokací chromozómů 15 a 11. Chimerický protein, který je produktem zmíněného genu, inhibuje transkripci diferenciacních genů a umožňuje tak zvýšenou proliferaci leukemických buněk. Tretinoin se podává perorálně v dávce 45 mg/m<sup>2</sup>/den ve dvou denních dávkách až do dosažení remise. Komplikací léčby může být tzv. retinoidní syndrom, projevující se retencí tekutin, výpotky, horečkou a leukocytózou.

**Anagrelid** (Thromboreductin, Agrylin) je imidazolcholinolový derivát, který snižuje maturaci megakaryocytů a omezuje tvorbu trombocytů. Má též výrazné antiagregační účinky. Je účinným lékem primární trombocytémie. V dávce 0,5 mg per os 4x denně (maximálně 10 mg/den) se dosáhne snížení počtu trombocytů již během dvou týdnů.

#### Monoklonální protilátky

Monoklonální protilátky (MP) našly uplatnění především v léčbě lymfoproliferativních onemocnění a podrobněji jsou možnosti jejich použití shrnuty jinde (10). U AML se již v klinické praxi používá protilátka proti antigenu CD33, který je exprimován na leukemických blastech. Účinnost této protilátky je posílena její konjugací s cytotoxickým antibiotikem calichecymycinem a nese generický název **gemtuzumab ozagamyin** (Mylotarg). Osvědčila se v léčbě AML v relapsu, kde indukuje až 30 % remisí. Podává se obvykle v dávce 9 mg/m<sup>2</sup> v infuzi, tolerance je dobrá, z nežádoucích účinků je nejčastější horečka, nauzea a myelosuprese (11).

MP lze využít též k inhibici extracelulární domény membránových receptorů. Příkladem může být humanizovaná monoklonální protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru (VEGF) **bevacizumab** (Avastin), neboť se ukázalo, že vystupňovaná angiogeneze může nepříznivě ovlivnit i rozvoj akutní leukémie. Účinnost inhibice angiogeneze se vysvětluje zvýšenou expresí receptorů KDR a c-KIT na leukemických buňkách. Receptory c-KIT jsou totiž také vazebným místem pro VEGF (12). V pokročilejším stadiu klinického výzkumu je však inhibice angiogeneze látkami blokujícími intracelulární domény receptory pro VEGF (viz dále).

#### Inhibice transdukční kaskády

Inhibice transdukční kaskády představuje formu tzv. cílené terapie, tj. ovlivnění nitrobuněčných pochodů vedoucích ke změně normálního buněčného fenotypu v maligní.

Složitý intracelulární pochody signálního přenosu lze cíleně postihnout v různých etapách.

**1. Inhibice tyrozinkináz** je nejvíce prostudovanou oblastí. Proteinkinázy tvoří početné rodiny kináz, z nichž některé jsou aktivovány vazbou specifického ligandu na membránový receptor (13), jiné jsou aktivovány intracelulárně.

**Receptorové tyrozinkinázy.** Do této kategorie patří tyrozinkinázy pro receptory epidermálního růstového faktoru (EGF – epidermal growth factor), růstového faktoru odvozeného z destiček (PDGF – platelet derived growth factor), růstového faktoru fibroblastů (FGF – fibroblast growth factor), růstového faktoru hepatocytů (HGF – hepatocyte growth factor) a VEGF. Inhibitory pro EGF se již prověřují v léčbě různých solidních nádorů (erlotinib – Tarceva, gefitinib – Iressa). V léčbě hematologických malignit by mohl nalézt uplatnění **semaxanib (SU5416)**. Je to indolinový derivát, který blokuje tyrozinkinázu receptoru pro VEGF, a tím omezuje angiogenezi (14). Po nadějných výsledcích I. a II. etapy klinických zkoušek bylo přikročeno ke III. fázi klinického zkoušení u různých malignit, ale očekávání účinnosti se nenaplnila a studie byla předčasně ukončena. Naproti tomu dobré zkušenosti jsou s anilinoftalazinovým derivátem s generickým názvem **vatalanib (PT 787/ZK 33584)**. Tento přípravek inhibuje nejen intracelulární doménu receptorů rodiny VEGF, ale též doménu receptoru PDGF, c-KIT

a c-FMS. Podává se 500 mg denně *per os*. Podobné účinky má i nově zaváděný **sorafenib**. Velké úsilí je věnováno přípravě inhibitoru pro receptorovou kinázu FLT3, neboť receptory pro FLT3 jsou zvýšeně exprimovány na leukemických blastech (15). Několik inhibitorů tohoto receptoru se v současné době prověřuje na myších modelech (16).

**Nereceptorové (cytoplazmatické) tyrozinkinázy** mají důležitou roli v přenosu signálu. Jsou aktivovány různými intracelulárními pochody (17). Bylo popsáno téměř 30 různých nereceptorových kináz, z nichž nejdůležitější jsou tyrozinkinázy SRC, ABL a JAK. Od inhibice těchto kináz lze očekávat blokádu maligní transformace buňky. Klinicky ověřený je inhibitor tyrozinkinázy BCR-ABL **imatinib mesylát** (Glivec), dosud nejúčinnější lék CML. Indukuje hematologickou remisi v 90%, a u 60-70% nemocných i remisi cytogenetickou (18). Působí blokádu tyrozinkinázy patologického fúzního genu BCR-ABL. Aberantní proteinkinázová aktivita tohoto genu je odpovědná za intenzivní proliferaci myeloidních prekurzorů. Imatinib blokuje i další tyrozinkinázy. Je to inhibice c-KIT, jehož zvýšenou expresi jeví buňky gastrointestinálního stromálního tumoru (GIST) a dále inhibice aktivity genu FIP1L1-PDGFR, který je odpovědný za vznik hypereozinofilního syndromu a eozinofilní leukémie (19). Účinnost imatinibu u těchto onemocnění byla již klinicky potvrzena. Inhibiční účinek na tyrozinkinázu receptoru pro PDGF, který je mitogenem pro pojivové tkáň, ukazuje na možnost využití imatinibu též u syndromu myelofibrózy a některých dalších nádorových onemocnění s vysokou expresí PDGFR (20). **Dasatinib** je duální inhibitor SRC a ABL kinázy. Není strukturálně podobný imatinibu, ale je 100–300x účinnější, a to i v případech, kdy se objevila rezistence k imatinibu. Dávkování není ustálené, v klinických studiích se podával v 25–180 mg/den ve dvou dávkách 2x denně. Dalším zkoušeným inhibitorem s podobnými vlastnostmi je **AMN-107** (21).

**2. Inhibice farnesyltransferázy.** V signálním přenosu mají významné postavení proteiny ras, které jsou do značné míry odpovědné za mitogenní stimulaci. Bylo prokázáno, že mutace onkogenu RAS se nachází u více než třetiny nádorových onemocnění. K-RAS u nemalobuněčného karcinomu plic, u karcinomu pankreatu a kolorekta, H-RAS u nádorů močového měchýře, ledviny a štítné žlázy a N-RAS u hematologických malignit a melanomu. Ras kaskáda aktivuje nukleární onkogeny (FOS, JUN aj.) regulující buněčnou proliferaci. Aktivace RAS závisí na lipidaci (farnesylaci) tohoto proteinu, která je zprostředkována enzymaticky farnesyltransferázou. Inhibice farnesyltransferázy zablokuje funkci ras proteinu, a tím i hlavní cestu transdukční kaskády. Bylo zkoušeno více než 20 různých inhibitorů, zatím pouze dva nejúčinnější pronikly do klinické praxe (22). Je to přípravek s kódovým označením **BMS 214662**, dále **lonafarnib** (Sarasar), které se klinicky zkouší u vybraných solidních nádorů, a **tipifarnib** (Zarnestra) jeví účinnost u refrakterní nebo relabující AML (23). V dávce 300 mg *per os* 2x denně po 2–3 týdny prokázal účinnost i u blastického zvratu CML (24).

**3. Inhibice proteazómu a indukce apoptózy.** Proteazóm je multikatalytický enzymový komplex, který hraje klíčovou úlohu v řízení proteinů, regulujících buněčný cyklus a proces apoptózy. Narušení degradace těchto proteinů může vést ke zpomalení nebo zastavení buněčného cyklu rychle proliferujících buněk (25). Kromě toho proteazóm významně zasahuje do regulace procesu apoptózy ovlivněním funkce transkripčního faktoru –nukleárního faktoru kappa B (NFκB). Tento faktor aktivuje transkripci genů pro růstové faktory (II-6, angiogenní a antiapoptotické faktory). Proto může inhibice proteazómu nejen potlačovat proliferaci, ale inhibici NFκB též indukovat apoptózu (26). Jediným dosud v praxi používaným inhibitorem proteazómu je derivát kyseliny boronové **bortezomib** (Velcade). Stal se důležitou součástí palety léků pro mnohočetný myelom, ale začíná se testovat i u dalších hematologických

malignt (27, 28). Podává se v dávce 1–1,3 mg/m<sup>2</sup> 2x týdně po 2 týdny, s následnou přestávkou 10 dní. Z nežádoucích účinků se uvádí nejčastěji anorexie, nevolnost, slabost, průjmy, horečky, senzoričká neuropatie a trombocytopenie.

Proapoptotické účinky byly prokázány ještě u dalších látek. Je to **arsentrioxid** (Trisenox), který působí antiproliferačně zvýšením exprese inhibitorů cyklin dependentních kináz (cdk). Jeho proapoptotický účinek se vysvětluje aktivací cysteinových proteáz (kaspáz), inhibicí NFκB, a zvýšením exprese proteinu bax. Tím omezí účinnost proteinu bcl-2, silného inhibitoru apoptózy. Těchto vlastností se využívá v léčbě akutní peomyelocytární leukémie, zkouší se i v léčbě MDS. Velmi účinným induktorem apoptózy se zdá být **thalidomid** (Thalomid, Celgen), i když jeho účinky jsou komplexní. Působí inhibicí TNFα, zvyšuje expresi adhezních molekul a má výrazné antiangiogenní účinky. Stal se součástí léčby mnohočetného myelomu (v dávce 200 mg/den – maximální denní dávka je 800 mg), z myeloproliferativních onemocnění se uplatňuje v léčbě MDS, i když se dnes dává přednost jeho účinnějšímu derivátu, kterým je **lenalidomid** (Revlimid, Actimid).

V experimentálním výzkumu je ještě mnoho jiných látek, které by mohly významně ovlivnit nitrobuňčecí pochody. Jsou to například inhibitory proteinkinázy M-TOR (mammalian targeted of rapamycine), což je proteinkináza účastnící se translačních a transkripčních pochodů, inhibitory histon deacetylázy a dále některé extrakty přírodních látek. Je to například berbamin, extrakt z mořského léčivce *Berberis amurensis*, účinný u CML, nebo aplidin, extrakt z rostliny *Aplidium albicans* s účinností u akutních leukémií.

## ZÁVĚR

Jestliže bylo v úvodu zdůrazněno, že vznik i průběh myeloproliferativních onemocnění je důsledkem genetických změn, je evidentní, že zásadní obrat v možnostech účinné léčby by mohla přinést genová terapie. I když se různé metody genové terapie (zejména příprava protinádorových vakcín) intenzivně zkoumá, bude patrně ještě dlouhá cesta, než tyto metody bude možno využít v klinické praxi. Proto je třeba alespoň maximálně využít těch léčebných možností, které jsou v současné době k dispozici. Jejich přehled je uveden v tabulce 2.

**Tab. 2.** Přehled nově zavedených nebo zkoušených přípravků u myeloproliferativních onemocnění

AML	APL	MDS	CML
gemtuzumab	vesanoid	5-azacytidin	imatinib
tipifarnib	arsentrioxid	decitabin	dasatinib
bevacizumab		thalidomid	AMN107
vatalanib		lenalidomid	homoharingtonin
5-azacytidin ?			berbamin

AML – akutní myeloidní leukémie, APL – akutní promyelocytární leukémie, MDS – myelodysplastický syndrom, CML – chronická myeloidní leukémie

### Zkratky

AML	– akutní myeloidní leukémie
ABL	– abelson leukemia
BCR	– breakpoint cluster region
BCR-ABL	– patologický fúzní gen

cdk	– cyklin dependentní kináza
CML	– chronická myeloidní leukémie
EGF	– receptory epidermálního růstového faktoru (epidermal growth factor)
FAB	– francouzsko-americko-britská klasifikace
FGF	– růstový faktor fibroblastů (fibroblast growth factor)
GIST	– gastrointestinální stromální tumor
HGF	– růstový faktor hepatocytů (hepatocyte growth factor)
JAK	– Janus kináza
MDS	– myelodysplastický syndrom
MP	– monoklonální protilátka
NFκB	– nukleární faktor kappa B
PML/RAR-alfa	– fúzní gen
PDGF	– růstový faktor odvozený z destiček (platelet derived growth factor)
PDGFR	– receptor pro PDGF
VEGF	– vaskulární endoteliální růstový faktor
WHO	– Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

## LITERATURA

1. **Hope, K. J., Jin, L., Dick, J. E.:** Acute myeloid leukemia stem cells. Arch. Med. Res., 2003, 34, s. 507-514.
2. **Frohling, S., Scholl, C., Gilliland, G. et al.:** Genetics of myeloid malignancies: pathogenetic and clinical implications. J. Clin. Oncol., 2005, 23, s. 6285-6295.
3. **Gilliland, D. G.:** Hematologic malignancies. Curr. Opin. Hematol., 2001, 8, s. 189-191.
4. **Hustly, B. J., Gilliland, D. G.:** Leukemia stem cell and the evolution of cancer-stem-cell research. Nat. Rev. Cancer, 2005, 5, s. 311-321.
5. **Bennet, J. M., Catovsky, D., Daniel, M. T. et al.:** Proposal for the classification of the acute leukemias: French-American-British cooperative group. Brit. J. Haemat., 1976, 33, s. 451-458.
6. **Vardiman, J. W., Harris, N. L., Brunning, R. D.:** The World Health Organisation (WHO) classification of the myeloid neoplasms. Blood, 2002, 100, s. 2202-2302.
7. **Adjei, A. A., Hidalgo, M.:** Intracellular signal transduction pathway proteins as target for cancer therapy. J. Clin. Oncol., 2005, 23, s. 5386 až 5403.
8. **Feldman, E. J., Steiner, K. P., Ahmed, T. et al.:** Homoharringtonine in patients with myelodysplastic syndrome (MDS) and MDS evolving in acute myeloid leukemia. Leukemia, 2003, 10, s. 40-42.
9. **Kantarjian, H. M., Garcia-Maner, G., O'Brien, S. et al.:** Results of decitabin (5-azacytidine) therapy in 130 patients with chronic myelogenous leukemia. Cancer, 2003, 98, s. 522-528.
10. **Klener, P.:** Monoklonální protilátka v léčbě hematologických malignit. Hematologie a transfúze dnes, 2002, 4, s. 157-160.
11. **Hamann, P. R., Hinman, L. M., Hollander, I. et al.:** Gemtuzumab ozagamicin, a potent and selective anti CD33 antibody-calicheamicin conjugate for treatment of acute myeloid leukemia. Bioconjug. Chem., 2002, 13, s. 47-58.
12. **Karp, J. E., Gojo, I., Pili, R. et al.:** Targeting vascular endothelial growth factor for relapsed and refractory adult acute myelogenous leukemia. Clin. Cancer Res., 2004, 10, s. 3577-3585.
13. **Krause, D. S., Van Etten, R. A.:** Mechanisms of disease: tyrosin kinases as targets for cancer therapy. N. Engl. J. Med., 2005, 353, s. 172-187.
14. **Fiedler, W., Mesters, R., Tinnefeld, H. et al.:** A phase 2 clinical study of SU5416 in patients with refractory acute myeloid leukemia. Blood, 2003, 102, s. 2763-2767.
15. **Gilliland, D. G., Griffin, J. D.:** The role of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. Blood, 2002, 100, s. 1532-1542.
16. **Levis, M., Allebach, J., Tse, K. F. et al.:** FLT-3 –targeted tyrosin-kinase inhibitor is cytotoxic to leukemia cells *in vitro* and *in vivo*. Blood, 2002, 99, s. 3885-3891.
17. **Schlesinger, J.:** Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell, 2000, 13, s. 211-225.
18. **Klener, P., Klamová, H.:** Imatinib- nová perspektiva v léčbě nádorových onemocnění. Čas. Lék. čes., 2004, 143, s. 577-581.

19. **Cools, J., DeAngelo, D. J., Gotlib, J. et al.:** A tyrosinkinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348, s. 1201-1213.
20. **Wadleigh, M., DeAngelo, D. J., Griffin, J. D. et al.:** After chronic myeloid leukemia: tyrosine kinase inhibitors in other hematological malignancies. *Blood*, 2005, 105, s. 22-30.
21. **Weisberg, E., Manley, P. W., Breitenstein, W. et al.:** Characterization of AMN 107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell*, 2005, 7, s. 129-141.
22. **Karp, J., Lancet, J. E., Kaufmann, S. H. et al.:** Clinical and biological activity of the farnesyltransferase inhibitor R115777 in adults with refractory acute leukemias. *Blood*, 2001, 97, s. 3361-3369.
23. **Gotlib, J.:** Farnesyltransferase inhibitor therapy in acute myelogenous leukemia. *Curr. Hemat. Rep.*, 2005, 4, s. 77-84.
24. **Jabbour, E., Kantarjian, H., Cortes, J.:** Clinical activity of farnesyltransferase inhibitors in hematologic malignancies: Possible mechanisms of action. *Leuk. Lymphoma*, 2004, 45, s. 2187-2195.
25. **Guzman, M. L., Swierderski, C. F., Howard, D. S. et al.:** Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99, s. 16220-16225.
26. **Rajkumar, S. V., Richardson, P. G., Hideshima, I. et al.:** Proteasome inhibition as a novel therapeutic target in human cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23, s. 630-639.
27. **Hideshima, T., Anderson, K. C.:** Molecular mechanisms of novel therapeutic approaches for multiple myeloma. *Nat. Rev. Cancer*, 2002, 2, s. 927-937.
28. **Špička, I., Klener, P.:** Inhibitory proteasomu – nová možnost léčby nádorových onemocnění. *Čas. Lék. čes.*, 2004, 143, s. 701-704.

## VÍTĚZNÉ PRÁCE 2004 – NADAČNÍ FOND DR. PAULA JANSSENA

### (Slavnostní předání cen – 10. 11. 2005, Karolinum, Praha)

*Cílem Nadačního fondu Dr. Paula Janssena je podpora vědeckého bádání ve vybraných oborech medicíny v České republice. Nadační fond vyvíjí svou činnost především prostřednictvím udělování prestižních cen za původní vědecké práce nebo monografie publikované tiskem v příslušném roce. Většina současných cen je udělována letos již podesáté. Ceny se udělují v jedenácti oborech a nesou jména významných představitelů daného oboru v České republice. Hodnocení prací provádějí nezávislé komise, které jmenují jednotlivé výbory odborných společností České lékařské společnosti JEP.*

#### CENA JANA BRODA – OBOR NEFROLOGIE

*Monhart, V.:* *Hypertenze a ledviny. Praha, Triton, 2004. 130 s.*

Obsahem monografie je přehled současných znalostí vzájemných vztahů mezi ledvinami a zvýšeným krevním tlakem. Ledviny, podílejí-

cí se za fyziologického stavu na regulaci krevního tlaku, se účastní při vzniku esenciální hypertenze. Onemocnění ledvin jsou nejčastější příčinou sekundární hypertenze. Hypertenze je významným faktorem progresu chronických ledvinových onemocnění. Dlouhotrvající hypertenze jak esenciální, tak i sekundární může způsobit poškození ledvin. V textu jsou uvedené vyšetřovací a léčebné postupy u renální

parenchymatózní hypertenze, renovaskulární hypertenze, ischemické choroby ledvin a u hypertenze provázející terminální selhání ledvin léčené dialýzou a transplantací ledviny. Uceleně zpracovaná tematika je přínosem nejen pro obor nefrologie, ale také pro internisty, praktické lékaře a další ambulantní specialisty, kteří vyšetřují a léčí nemocné se zvýšeným krevním tlakem.

#### LÉČBA BOLESTI

*Soubor prací:*

**Kříkava, K., Kalla, K., Yamamotová, A., Rokyta, R.:** Blood serum changes in patients with pain during bone fractures and acute pancreatitis. *Neuroendocrinology Letters*, 2004, 25, s. 62-69.

**Rokyta, R., Stopka, P., Holeček, V., Kříkava, K., Pekárková, I.:** Direct measurement of free radicals in the brain cortex and the blood serum after nociceptive stimulation in rats. *Neuroendocrinology Letters*, 2004, 25, s. 252-256.

**Kozák, J., Vondráčková, D., Yamamotová, A., Crkovská, J., Štípek, S., Rokyta, R.:** Možné využití antioxydačních enzymů a metabolitů volných radikálů při diagnostice bolesti. *Čes. a slov. Neurol. Neurochir.*, 2004, 67/100, s. 241-245.

**Kříkava, K., Kalla, K., Yamamotová, A., Rokyta, R.:** Bolest jako příčina změn u onemocnění žlučníku. *Bolest*, 2004, 7, s. 27-30.

Soubor prací je přehledem experimentu na zvířatech a klinických pozorování o možné biochemické evaluaci bolesti. V experimentech na zvířatech bylo zjištěno, že volné radikály se zvyšují po opakované akutní nociceptivní stimulaci a toto zvýšení přetrvává i po jejím skončení. U lidí s bolestmi zad jsou podobné změny volných radikálů. Na základě předchozích experimentálních výsledků byly ověřovány i změny biochemických parametrů u lidí s bolestmi u pankreatitid, fraktur a onemocnění žlučníku. Největší změny byly nalezeny v lipidovém spektru, ale změny jsou i u proteinu a sacharidu. Výsledky publikací jsou využitelné při stanovení intenzity bolesti a jejího průběhu u různých onemocnění.

#### FARMAKOEKONOMIKA A ZDRAVOTNÍ POLITIKA

**Dostál, O.:** Práva pacientů v Evropě. Dizertační práce. Praha, Právnická fakulta UK, katedra evropského práva, 2004, 88 s.

Práce Práva pacientů v Evropě reaguje na nejnovější právní vývoj v oblasti zdravotnického práva, související zejména s přijetím Úmlu-

vy o lidských právech a biomedicíně a vstupem České republiky do EU. V první části se zabývá výkladem práva pacienta na poučení a informovaný souhlas se zákrokem, práva na soukromí a práva na péči standardní kvality. V souvislosti s tím pojednává též o praktickém uplatňování těchto práv v praxi a navrhuje řešení právních otázek vznikajících v řízení o právech pacientů před soudy, zejména v oblastech určení výše odškodného a prokazování příčinné souvislosti

mezi porušením práva a vzniklou újmou. Ve druhé části, zaměřené právně-politicky, práce pojednává o problematice rovné dostupnosti zdravotní péče, alokace zdravotnických zdrojů, poskytování informací o kvalitě zdravotnických zařízení a otázce ekonomického prospěchu z využití materiálu lidského původu. Dále se věnuje problému zajištění přístupu ke spravedlnosti, odměň právních zástupců a mimosoudního řešení medicínsko-právních sporů.



## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

## Princip a význam metody arrayCGH v hemato-onkologii

Jarošová M., Pospíšilová H., Plachý R., Divoká M., Holzerová M., Papajík T.,  
<sup>1</sup>Koptíková J., Indrák K.*Hemato-onkologická klinika LF a FN, Olomouc*  
<sup>1</sup>*Centrum biostatistiky a analýz LF a PŘF MU, Brno*

## SOUHRN

Určení chromozómových změn u lidských nádorů vede k hlubšímu poznání příčin vzniku a vývoje nádorů. Častými chromozómovými změnami u nádorů jsou získané ztráty a zmožení genetického materiálu s postižením chromozómových oblastí obsahujících řadu genů účastnících se buněčné proliferace a diferenciaci, ale také onkogeny a nádorové supresory. Určení genových změn je limitováno citlivostí použitých technik. Se zavedením analýzy genomu pomocí čipových technologií (microarray technology) se významným způsobem posunula citlivost určování genových změn i u nádorů. Metoda arrayCGH (array comparative genomic hybridization) dovoluje určit dávku genů v nádorovém genomu, přičemž v jednom vyšetření je možné analyzovat desítky až tisíce genů najednou. Její citlivost je limitována pouze hustotou genů umístěných na daném čipu. Cílem práce je informovat o principech metody array-CGH a možnostech jejího využití pro studium nebalancovaných změn nádorového genomu se zaměřením na hematologické malignity.

**Klíčová slova:** DNA, *in situ* hybridizace, CGH, arrayCGH, čip, onkogen, nádorový supresor.

## SUMMARY

*Jarošová M., Pospíšilová H., Plachý R. et al.: Principle and Importance of Using the Array CGH in Hematooncology*  
Identification of chromosomal changes and variation in DNA copy number allows us to understand pathogenesis of tumors. To the frequently diagnosed chromosomal changes belong acquired gains and losses of chromosomal regions carrying genes involved in cellular proliferation and differentiation as well as oncogenes and tumor suppressor genes. The determination of gene changes is limited by techniques used for their identification. The introduction of genom-wide microarray technology, resolution has rapidly increased. Array comparative genomic hybridization (arrayCGH) offers higher resolution for genome-wide detection of chromosomal alteration and it is able to analyze hundreds of genes presented on microarray in one experiment. The aim of this study was to perform arrayCGH technology and to stress its value for the identification of chromosomal imbalances in hematological malignancies.

**Key words:** DNA, *in situ* hybridization, CGH, arrayCGH, microarray, oncogene, tumor suppressor gene. *Ja.*

*Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 9–13.*

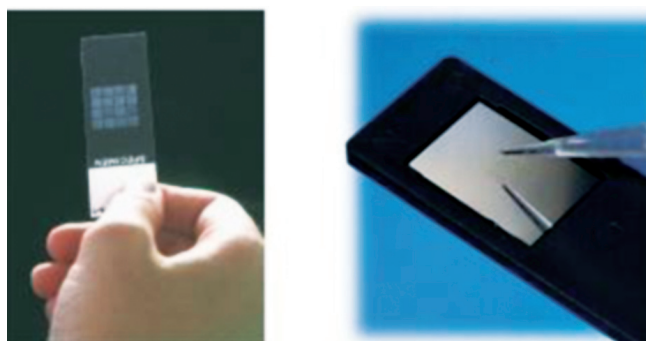
## UVOD DO PROBLEMATIKY ARRAYCGH

Vznik nádorového onemocnění definujeme jako proces, při kterém dochází k progresivní kumulaci genetických a epigenetických změn. Kumulace změn indukuje fenotypickou transformaci, která definuje nové charakteristiky nádorových buněk (1, 2). Chromozómová instabilita je jednou z vlastností nádorových buněk. Ta se manifestuje změnami počtu chromozómů, strukturními chromozómovými změnami, jako jsou translokace, inverze, delecce a amplifikace, které jsou určitelné cytogeneticky, nebo mutacemi genů, které jsou určitelné metodami molekulární genetiky. Všechny tyto změny ve svém důsledku vedou ke změnám v expresi genů a následně k buněčným deregulacím, spojeným s maligní transformací.

Častými genetickými změnami, které se v průběhu kancerogeneze objevují, jsou chromozómové změny představující ztráty nebo

zmožení genetického materiálu. Tyto změny často postihují chromozómové oblasti, ve kterých jsou lokalizovány onkogeny a nádorové supresorové geny. Bylo prokázáno, že genetické změny zahrnující amplifikaci onkogenů anebo delecce nádorových supresorových genů jsou klíčové události, ke kterým dochází u řady lidských nádorů (3–5).

Určení genových změn je limitováno nejen citlivostí metod, ale i jejich pracností a v mnoha případech pouze schopností metody analyzovat „v jednom experimentu pouze jeden gen“. Rozvoj metod molekulární cytogenetiky, především metod fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) s řadou genomických DNA sond, přinesl nové možnosti analýzy nádorového genomu. Na jejich principu byly vyvinuty metody, které dovolují analyzovat celý nádorový genom v jediném experimentu. Takovou metodou je komparativní genomická hybridizace (CGH – comparative genomic hybridization), při které rozdílně značené „testované“



Obr. 1. Příklady čipů (microarray)

(nádorové) a „referenční“ (normální) DNA hybridizují k normálním metafázovým chromozómům. Poměr fluorescenční intenzity, tvořený při hybridizovanou „testovanou“ a „kontrolní“ DNA měřený podél každého chromozómu, určuje oblasti s normálním genomickým obsahem, ale i zmnožení nebo ztráty sekvencí nádorové DNA. Metoda CGH dovoluje určit kvantitativní genomické změny ve smyslu zmnožení a ztrát chromozómových oblastí (6–8). Hlavním přínosem metody CGH pro nádorovou genetiku je, že pro toto vyšetření nepotřebujeme nádorové chromozómy, ale pouze malé množství nádorové DNA. Řada CGH studií vedla k určení nových nebalancovaných chromozómových změn a k následnému určení genů lokalizovaných v deletovaných nebo amplifikovaných oblastech (9, 10).

Od svého představení v roce 1992 se metoda CGH stala široce užívaná pro analýzu změn počtu kopií sekvencí DNA v nádorových buňkách, které dosahují velikosti 3–10 Mb (megabází) (6, 8, 11–13). Toto rozlišení je pro určení změn jednotlivých genů hrubé. Rozlišení metody CGH může být významně zvýšeno nahrazením metafázových chromozómů, jako cíle hybridizace, fragmenty DNA klonovaných genů. Tyto DNA fragmenty mohou být umístěny na speciálně upraveném povrchu podložního skla, které je označeno microarray nebo čip (obr. 1) a metoda se označuje arrayCGH nebo také matrix-CGH.

**Vymezení pojmu microarray neboli čip**

Klonovaná DNA pro přípravu čipu je DNA genů, která byla získána tak, že DNA genu nebo jeho části byla vložena do vektorů, namnožena a následně z vektorů vyizolována a upravena pro vazbu

k povrchu skla. Vektory mohou být například kvasinkové arteficiální chromozómy (YAC – yeast arteficial chromosome) nebo bakteriální arteficiální chromozómy (BAC –bacterial arteficial chromosome).

Jednotlivé klony DNA genů jsou vybírány podle své chromozómové lokalizace (obr. 2) nebo genového obsahu z mnoha dostupných knihoven, jako je například „BACPAC Resources at the Childrens Hospital Oakland Research Institute“ (<http://www.chori.org/bacpac/>).

Genové sekvence jsou vždy vybírány tak, aby nebyly vybrány geny, jejichž sekvence vykazují homologii s jinými místy v genomu, přičemž metodou FISH musí být vždy ověřena unikátní lokalizace na metafázových chromozómech.

Tyto klonované sekvence DNA jsou pomocí speciální techniky, která je nazvána tištění nebo spotování, s použitím speciálních přístrojů – spotteru, umístěny na podložní sklo a takto připravené jsou cílem hybridizace pro metodu arrayCGH.

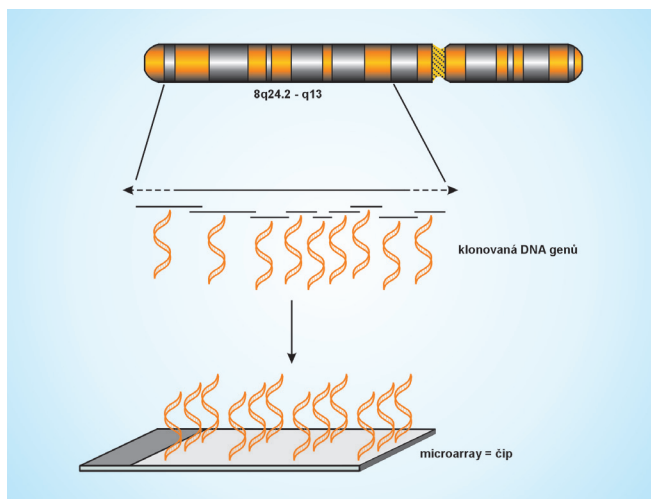
Povrch skla určeného pro přípravu čipu bývá speciálně upraven pro vazbu vláken DNA. Vazba mezi vlákny DNA a povrchem skla je chemickou vazbou, jejíž základem je vazba mezi chrómem nebo poly-L-lysinem, kterými je potažen povrch skla, a vlákny klonované DNA.

Skleněné čipy byly poprvé připraveny Patrikem Brownem v laboratoři na Stanfordské univerzitě (14). Oblast určená pro spotování – navázání klonované DNA, může mít rozměr 0,5x0,5 cm, ale také 2x7 cm, přičemž jednotlivé klony DNA zastoupených genů jsou naspotovány v duplikátech nebo triplikátech.

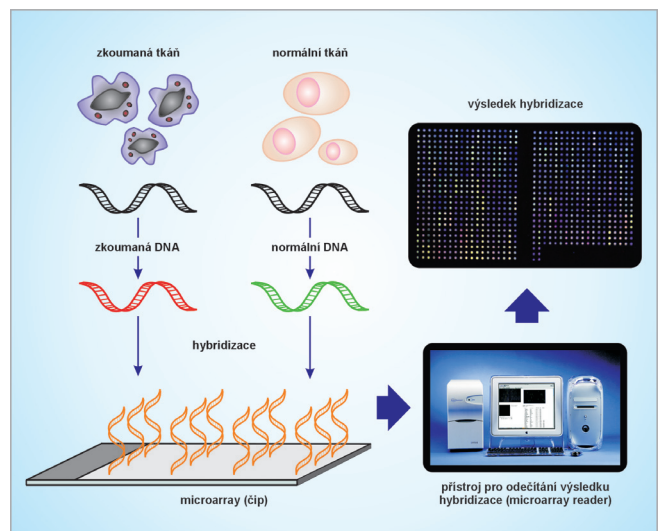
V současnosti je k dispozici celá řada komerčně dostupných čipů, a to jak obecných, pokrývajících celý genom s rozlišením 1 až 20 Mb, tak čipy pro jednotlivé chromozómy či ramena chromozómů (15) (obr. 2).

Název microarray je odvozen od řeckého slova mikro, znamenající malý, a francouzského slova arranger – uspořádání (14). V české odborném výkladu je používáno označení čip nebo anglické microarray a označuje podložní sklo se souborem malých fragmentů klonované DNA uspořádaných do řad a sloupců (obr. 2).

Základem čipových technologií je hybridizace zkoumaného vzorku DNA k přesně definované cílové sekvenci imobilizované na pevném podkladu, k microarray neboli čipu (16, 17). Cílem hybridizace metody arrayCGH jsou nejen čipy s klonovanou DNA genů, ale mohou to být i čipy, na kterých jsou umístěna vlákna komplementární DNA (cDNA) (18, 19) nebo syntetizované oligonukleotidy (20, 21).



Obr. 2. Schematické znázornění přípravy čipů  
Z vybrané oblasti lidského genomu, představující jeden chromozóm, jsou naklonovány příslušné geny a následně umístěny na hybridizační sklo – čip.



Obr. 3. Schematické znázornění principu metody arrayCGH (popis uveden v textu)

ArrayCGH byla poprvé popsána S. Solinas-Toldo a spolupracovníky v roce 1997 (22). Další práce vedly ke zpřesnění a rozšíření aplikací na řadu oblastí (19, 20). ArrayCGH poskytuje kvantitativní informaci týkající se změny počtu kopií genů v nádorovém genomu a předpokládá se, že kvantitativní genová analýza, dovolující určení genových změn, může přinést nové informace o kandidátních genech zahrnutých do maligní transformace. Stejně tak může přinést vysvětlení rozdílného klinického chování histologicky stejných nádorů. Očekává se, že výsledky těchto pozorování mohou být základem nové subklasifikace nádorů.

### PRINCIP METODY ARRAYCGH

Základním principem metody arrayCGH je párování bází (obr. 3). Stejně množství denaturované, rozdílně značené, normální a nádorové genomické DNA je pod supresními podmínkami hybridizováno 48–72 hodin k čipu, hybridizačnímu sklu, obsahující fragmenty genomické DNA genů nebo cDNA (komplementární DNA) genů a nebo oligonukleotidy. Po odmytí nepřihybridizované sondy je výsledek hybridizace odečítán pomocí speciálního čtecího zařízení – microarray readeru, který změří intenzity červené a zelené fluorescence v každém spotu – místě přihybridizované DNA analyzovaného čipu. Poměr intenzity přihybridizované normální a nádorové DNA určuje geny s normální obsahem DNA, stejně jako genové ztráty nebo zmožnění.

Vstupním materiálem pro metodu arrayCGH je normální a nádorová DNA. **Kontrolní – normální DNA** je možno získat izolací z buněk zdravé tkáně jako směs DNA normálních zdravých dárců, nebo lze využít řady komerčních nabídek.

**Nádorová DNA** je izolována přímo z nádorové tkáně nebo z nádorových buněk izolovaných na hustotních gradientech. Izolace DNA může být provedena technikou fenol-chloroformové izolace nebo pomocí různých typů komerčně dostupných kitů. Základní podmínkou je minimální kontaminace DNA normálních buněk. Pro validní analýzu hematologických malignit metodou arrayCGH musí být zastoupení nádorových buněk v kostní dřeni vždy větší než 50 % (11, 12, 17). Práce Garnis a spolupracovníků (23) však ukázala, že heterogenita nádorové tkáně může být překonána volbou čipu s vysokým počtem naspotovaných klonů DNA.

Normální a zkoumaná (nádorová) DNA jsou pomocí metody „*random priming PCR*“ značeny rozdílnými fluorochromy. Nejčastěji se používají nukleotidy značené cyaninem, Cy3-dCTP a Cy5-dCTP. Z rozdílně značených DNA se připravuje hybridizační sonda, obsahující stejné množství normální a nádorové DNA a určené množství lidské Cot-1 DNA (lidská Cot-1 potlačuje repetitivní sekvence v genomu a zabraňuje nespecifickým vazbám). Hybridizační sonda se podrobí tepelné denaturaci s následnou aplikací na čip. Vlastní hybridizace probíhá při teplotě 37 °C po dobu 48 až 72 hodin podle typu použitého čipu. Hybridizace je ukončena odmytím zbytku nepřihybridizované sondy a následuje hodnocení výsledku hybridizace. Výsledek hybridizace je hodnocen pomocí speciálních čtecích zařízení (microarray reader nebo scanner). Pro skenování se používá buď laserová technika, nebo systém založený na skenování pomocí CCD (charge couple device) kamery. Oba přístupy umožňují měření intenzity fluorescence přihybridizované normální a nádorové DNA k fragmentům genů na hybridizačním skle – čipu a vytvoření barevného pseudoobrazu (obr. 3).

Je-li cílem hybridizace čip s fragmenty cDNA nebo oligonukleotidy, pak se hybridizační protokol obvykle nepatrně liší v množství značených DNA vstupující do hybridizace a délkou hybridizace. Protože některé cDNA čipy mohou být použity jak pro arrayCGH, tak pro expresní profilování, je možné výsledku analýzy využít k určení vztahu mezi změnami počtu kopií genů a jejich expresí. Takové cDNA čipové analýzy určily geny, které hrají významnou roli v patogenezi některých nádorů (20, 21).

### SOFTWAREVÁ ANALÝZA VÝSLEDKŮ ARRAYCGH

Rychlý rozvoj čipových technologií si vyžádal vývoj a vytvoření speciálních softwarových programů, které jsou schopné ukládat a statisticky analyzovat obrovské množství získaných dat (24). Hodnocení výsledku hybridizace je založeno na vytvoření digitálního obrazu a statistickém zpracování naměřených hodnot.

Statistické zpracování naměřených hodnot intenzity fluorescence představuje použití souboru statistických metod pro určení hladiny významnosti naměřených dat.

Normalizace dat je proces, kterým prochází každé vyhodnocení výsledku měření. Protože hybridizace k čipu je komplikovaný proces, není neobvyklé získání dat s velkou variabilitou. Různá inkorporace fluorochromů, různá úroveň vazby sondy v průběhu hybridizace, topografická různorodost skla nebo měřicí schopnosti skeneru, to všechno jsou jen některé příklady faktorů, které mohou hrát významnou roli v hodnocení variability dat experimentu (25). Většina těchto variabilních faktorů může být překonána jednou nebo více statistickými metodami, zahrnutými do normalizace dat.

Robustnost získaných dat vyžaduje pro jejich konečné hodnocení další speciální softwarové přístupy. Takovými jsou například programy pro klastrování (např. Cluster a TreView) (26). Pomocí například programu Cluster jsou organizována data příbuzných genů do skupin se zhruba stejným vzorem. Program TreView dovoluje uspořádat data tak, aby byly vizuálně jednoduše hodnotitelná. Cílem klastrovacích technik je nalézt v analyzovaných datech jasně definované skupiny a z takových dat pak vytvořit například návrh na definici nových podskupin onemocnění.

### Využití arrayCGH pro určování genových změn u hematologických malignit

Metoda arrayCGH byla použita u řady malignit, například u nádorů prsu (19, 20, 27), ovariálních karcinomů (28) a řady dalších. U hematologických malignit je využití metody arrayCGH spojeno s určováním změn především u těch typů hematologických malignit, u kterých jsou často pozorovány nebalancované změny, především delecce a amplifikace. Takovým typem onemocnění je chronická lymfatická leukémie (CLL). Cytogeneticky a molekulárně cytogeneticky, především metodou FISH, určené změny u CLL nemocných se týkají především delecí na chromozómech 11, 13 a 17 a trizómii chromozómu 12. Obrovská variabilita onemocnění naznačuje, že při vzniku a progresi onemocnění mohou hrát významnou roli další chromozómové změny. Metoda arrayCGH pomocí čipu s celkem 644 BAC a PAC klony, byla použita pro analýzu 106 nemocných s CLL (29) a bylo zjištěno, že kromě opakujících se změn, jako je trizómie 12, delecí na chromozómech 6q, 13q, 17p a 11q, byly zjištěny nové, dosud nepozorované změny: trizómie chromozómu 19 a amplifikace genu *c-myc*.

Metodou arrayCGH byly získány nové informace také u nemocných s ne Hodgkinsonskými lymfomy (NHL). ArrayCGH analýza ukázala, že *MALT1* onkogen může být deregulován různými mechanismy včetně genomické amplifikace nejen u *MALT* lymfomů, ale i u dalších histologických subtypů NHL (30).

Analýza 16 agresivních NHL metodou arrayCGH s čipem obsahujícím 496 genomických cílů, ukázala změny u 10 nemocných. Studie potvrdila, že genová amplifikace je mnohem častější u agresivních NHL, než se předpokládalo (31).

ArrayCGH byla použita pro analýzu 53 nemocných s lymfomem plášťové zóny (MCL) pozitivních pro translokaci t(11;14). Chromozómové změny byly nalezeny u 49 nemocných a v porovnání s klasickou metodou CGH se zvýšila záchytnost chromozómových změn o 50 %. V univariální analýze vztahu genomických změn a klinického stadia byl s nepříznivou prognózou nemocných spojen nález delecce chromozómové oblasti 8p a 13q14. Tato analýza

poskytuje základ pro další studie u nemocných s MCL (32).

Rubio-Moscardo et al. (33) provedli arrayCGH analýzu 68 nemocných s lymfomem pláštové zóny (MCL) a 9 MCL buněčných linií. Ukázalo se, že MCL jsou charakterizovány delecemi chromozómu 1p21 a 11q22.3-ATM, současně s amplifikací 10p12-BMI1 a delecí 10p14 společně s chyběním genetického materiálu v chromozómové oblasti 9q21-22. Tyto nálezy byly spojeny se specifickými podskupinami MCL. Blastická varianta MCL je spojena s delecí genů p16 a p53 a koreluje se špatnou prognózou nemocných.

ArrayCGH byla také použita pro analýzu nemocných s T-buněčnou akutní lymfoblastickou leukémií (T-ALL) (34). Tato analýza doplnila metodu FISH a potvrdila epizomální amplifikaci ABL1-NUP214 fúzního genu u 5,6 % nemocných s T-ALL, jako zcela nový nálezy u nemocných s T-ALL.

Dalším příkladem významu použití metody arrayCGH u hematologických malignit je studium komplexních přestaveb u nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS). Pro molekulárně cytogenetické studium byl použit subtelomerický čip, obsahující 414 autozomálních BAC klonů s rozlišením 5 Mb. Jeho přínosem bylo určení několika subtelomerických změn, které jinými technikami nebyly pozorovány (35).

Na našem pracovišti jsme zavedli a použili metodu arrayCGH u 22 nemocných s akutní myeloidní leukémií (AML) s normálním karyotypem. Použili jsme komerční čip s 287 klonovanými DNA geny a potvrdili jsme, že 1/3 nemocných s AML má ve svém nádorovém genomu různé delecce a amplifikace, které dovoluje určit právě metoda arrayCGH (36).

Výsledky studií arrayCGH provedených u hemato-onkologických nemocných potvrzují, že arrayCGH je významným nástrojem pro určování změn počtu kopií genů v nádorovém genomu. Dosud provedené analýzy ukázaly nejen změny již známých nádorově specifických genů, ale odhalily zcela nové kandidátní geny, jejichž následné studium může přinést významné informace o jejich možné roli v procesu kancerogeneze. Velkým příslibem je také využití výsledků pro výběr cílené terapie stejně jako další subklasifikaci nádorů. Přesto, že řada laboratoří vyvíjí vlastní čipy a využívá je ke klinickým studiím, rutinní využití této technologie je stále ještě ve stadiu vývoje.

#### Zkratky

AML	– akutní myeloidní leukémie
CGH	– komparativní genomická hybridizace (comparative genomic hybridization)
CLL	– chronická lymfatická leukémie
FISH	– fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
MCL	– lymfom pláštové zóny
MDS	– myelodysplastický syndrom
NHL	– ne Hodgkinské lymfomy
T-ALL	– T-buněčná akutní lymfoblastická leukémie

#### LITERATURA

1. Coleman, W. B., Tsongalis, G. J.: The role of genomic instability in human carcinogenesis. *Anticancer Res.*, 1999, 19, s. 4645-4664.
2. Dos Santos, N. R., Van Kessel, A. G.: Chromosomal abnormalities: detection and implication for cancer development. *Anticancer Res.*, 1999, 19, s. 4697-4714.
3. Pollack, J. R., Sorlie, T., Perou, C. M. et al.: Microarray analysis reveals a major direct role of DNA copy number alteration in the transcriptional program of human breast tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99, s. 12963-12968.
4. Ozaki, T., Schaefer, K. L., Wai, D. et al.: Genetic imbalances revealed by comparative genomic hybridization in osteosarkomas. *Int. J. Cancer*, 2002, 102, s. 355-365.

5. Mao, X., Lillington, D., Child, F. et al.: Comparative genomic hybridization analysis of primary cutaneous B-cell lymphomas: identification of common genomic alterations in disease pathogenesis. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002, 35, s. 144-155.
6. Kallioniemi, A., Kallioniemi O. P., Sidar D. et al.: Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*, 1992, 258, s. 818-821.
7. Du Manoir, S., Speicher, M. R., Joos, S. et al.: Detection of complete and partial chromosome gains and losses by comparative genomic hybridization. *Human. Genet.*, 1993, 90, s. 590-610.
8. Joos, S., Scherthan, H., Speicher, M. R. et al.: Detection of amplified sequences by reverse chromosome painting using genomic tumor DNA as probe. *Human. Genet.*, 1993, 90, s. 584-589.
9. Kallioniemi, O. P.: Comparative genomic hybridization gaining in popularity. *Trends in Genet.*, 1996, 12, s. 237-238.
10. Lichter, P., Fischer, K., Joos, S. et al.: Efficacy of current molecular cytogenetic protocols for the diagnosis of chromosome aberrations in tumor specimens. *Cytokines and Molecular Therapy*, 1996, 2, s. 163-170.
11. Bentz, M., Plesch, A., Stilgenbauer, S. et al.: Minimal sizes of deletions detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes. Cancer*, 1998, 21, s. 172-175.
12. Lichter, P., Joos, S., Bentz, M. et al.: Comparative genomic hybridization: uses and limitations. *Semin. Hematol.*, 2000, 37, s. 348-357.
13. Piper, J., Rutovitz, D., Sudar, D. et al.: Computer image analysis of comparative genomic hybridization. *Cytometry*, 1995, 19, s. 10-26.
14. Schena, M.: *Microarray analysis. First Textbook on Microarray Analysis*, 1st Edition, J. Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 2003, 648 s.
15. Lander, E. S.: The new genomics: Global views of biology. *Science*, 1996, 274, s. 536-539.
16. Southern, E. M.: High-density gridding: Techniques and applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 1996, 7, s. 85-88.
17. Snijders, A. M., Nowak, N., Segreaves, R. et al.: Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy number. *Nat. Genet.*, 2001, 29, s. 263-264.
18. Pollack, J. R., Iyer, V. R.: Characterization of physical genome. *Nat. Genet.*, 2002, 32 (Suppl.), s. 515-521.
19. Kauraniemi, P., Bärlund, M., Monni, O., Kallioniemi, A.: New Amplified and Highly Expressed Genes Discovered in the ERBB2 Amplicon in Breast Cancer by cDNA Microarrays. *Cancer Research*, 2001, 61, s. 8235-8240.
20. Holzmann, K., Kohlhammer, H., Schwaenen, C. et al.: Genomic DNA-chip hybridization reveals a higher incidence of genomic amplifications in pancreatic cancer than conventional comparative genomic hybridization and leads to the identification of novel candidate genes. *Cancer Res.*, 2004, 64, s. 4428-4433.
21. Monni, O., Bärlund, M., Mousses, S. et al.: Comprehensive copy number and gene expression profiling of the 17q23 amplicon in human breast cancer. *PNAS*, 2001, 98, s. 5711-5716.
22. Solinas-Toldo, S., Lampel, S., Stilgenbauer, S. et al.: Matrix-based comparative genomic hybridization biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*, 1997, 20, s. 399-407.
23. Garnis, C., Coe, B. P., Lam, S. L. et al.: High-resolution arrayCGH increases heterogeneity tolerance in the analysis of clinical samples. *Genomics*, 2005, 85, s. 790-793.
24. Stoekert, CH. J., Causton, H. C., Ball, C. A.: Microarray databases: standards and ontologies. *Nat. Genet.*, 2002, 32 (Suppl.) s. 469-473.
25. Quackenbush, J.: Microarray data normalization and transformation. *Nat. Genet.*, 2002, 32 (Suppl.), s. 496-501.
26. Eisen, M. B., Spellman, P. T., Brown, P. O., Botstein, D.: Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95, s. 14863-14868.
27. Albertson, D. G., Ylstra B., Segreaves R. et al.: Quantitative mapping of amplicon structure by arrayCGH identifies CYP24 as a candidate oncogene. *Nat. Genet.*, 2000, 25, s. 144-146.
28. Schraml, P., Schwerdtfeger, G., Burkhalter, F. et al.: Combined array comparative genomic hybridization and tissue array analysis suggest PAK1 at 11q135-q14 as a critical oncogene target in ovarian carcinoma. *Am. J. Pathol.*, 2003, 163, s. 985-992.
29. Schwaenen, C., Nessling, M., Wessendorf, S. et al.: Automated array-based genomic profiling in chronic lymphocytic leukemia: Development of clinical tool and discovery of recurrent genomic alterations. *PNAS*, 2004, 101, s. 1039-1044.

30. **Sanchez-Izquierdo, D., Buchonnet, G., Siebert, R. et al.:** MALT1 is deregulated by both chromosomal translocation and amplification in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood*, 2003, 101, s. 4539-4546.
31. **Wessendorf, S., Schwaenen, C., Kohlhammer, H. et al.:** Hidden gene amplifications in aggressive B-cell non-Hodgkin lymphomas detected by microarray-based comparative genomic hybridization. *Oncogene*, 2003, 22, s. 1425-1429.
32. **Kohlhammer, H., Schwaenen, C., Wessendorf, S. et al.:** Genomic DNA-chip hybridization in t(11;14)-positive mantle cell lymphomas shows a high frequency of aberrations and allows a refined characterization of consensus regions. *Blood*, 2004, 104, s. 795-801.
33. **Rubio-Moscardo, F., Climent, J., Siebert, R. et al.:** Mantle-cell lymphoma genotypes identified with CGH to BAC microarrays define a leukemic subgroup of disease and predict patient outcome. *Blood*, 2005, 105, s. 4445-4454.
34. **Groux, C., Cools, J., Melotte, C. et al.:** Fusion of NUP214 to ABL1 on amplified episomes in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat. Genet.*, 2004, 36, s. 1084-1089.
35. **Martínez-Ramírez, A., Urioste, M., Melchor, L. et al.:** Analysis of Myelodysplastic Syndromes with complex karyotypes by High-resolution comparative genomic hybridization and subtelomeric CGH array. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 2005, 42, s. 287-298.
36. **Jarošová, M., Pospíšilová, H., Divoká, M. et al.:** ArrayCGH study in acute leukemia patients with normal karyotype. *Chromosome Research*, 2005, 13 (Suppl. 1), s. 183.

*Práce je podporována grantem IGA NE 7644 a MSM 619895205.*

## KNIHY

### Spiro, H.: PLACEBO

*Bern, Verlag Hans Huber, Hogrefe AG, 2005, 320 s., cena 28,95 euro. ISBN 3-456-84234-1.*

Kniha zkušeného amerického gastroenterologa vyšla prvně v roce 1998 pod názvem *The Power of Hope: A Doctor's Perspective* (Síla naděje: perspektiva lékaře) na yalské univerzitě. Nyní ji vydalo v překladu renomované německé nakladatelství.

Howard Spiro je v odborném světě znám publikacemi zaměřenými na oblast lékařské psychologie a etiky – zejména tyto oblasti zpracovává v souvislosti s interní medicínou. Z mnohých jeho témat jmenujme vztah pacient – lékař, empatie, umírání a smrt, touha lékařů po penězích ...

V souvislosti s placebem (v původním významu neaktivní látka, jež způsobuje u pacienta reakci a změny jdoucí v pozitivním a někdy i v negativním směru) autor rozlišuje péči (care, Betreuung) a léčbu (cure, Behandlung), přičemž péče je pojem obecnější a zahrnuje také subjektivní stránku pacienta, proto je problematika působení a užívání placebo situována zejména do oblastí péče. Placebo se využívá jako zdánlivý lék v klinických studiích a jako terapeutické opatření v klinické praxi. V prvním případě je tendence od něho ustupovat z důvodů etických i právních, bývá nahrazováno standardní léčbou. Ve druhém případě nalézá široké uplatnění zejména ve formě tzv. „nečistého“ placebo, kdy ordinujeme lék neracionálním způsobem, přičemž si to ani nemusíme uvědomovat. Jako příklad autor uvádí neindikované předepisování antibiotik a spasmolytik. Placebo zřetelně působí přibližně na 30 % dospělé populace a v knize je podrobněji zmíněný fenomén analyzován.

Tato zajímavá publikace sestává z úvodu a patnácti následujících kapitol, závěrem nalezneme literaturu a věcný rejstřík.

Úvod (přírodní vědy a medicína: péče místo léčby, hranice přírodovědné medicíny, psychosomatická medicína, proměna moderního lékařství, zdraví a chorobnost, věda jako základ medicíny, kdo by měl číst tuto knihu).

Placeba ve výzkumu a terapii (klinické studie, placebo jako léčba, věda a intuice).

Lékař (užívání placeb v minulosti, kdy lékaři nasazují placebo, lékař: přímo léčí či zprostředkovává uzdravu?, osobní kvality lékařů, lékař jako lék).

Tablety a jiné postupy (čistá a nečistá placebo, léčebné postupy jako placebo – operace, injekce atd.).

Pacient a jeho choroba (pacientství, bolest, choroba a nemoc, z lékařských případů – dráždivý tračník atd., psychika nebo mozek, pacient v celostním pojetí, metaforická vyjádření chorob, vnímání nemocných, naslouchání nemocným, co znamená pečovat).

Co mohou způsobit placebo (názory na placebo, fyziologické změny, působit na nemocného člověka a nikoliv jen na chorobu, kdo reaguje na placebo?).

Placeba při bolestech (co je bolest, pacient s bolestí, bolest a kultura, přirozené prostředky mírnící bolest, tšení bolesti placebem).

Autonomie a odpovědnost (Norman Cousins: píšící pacient, Franz Ingelfinger: lékař jako pacient, neznámý pacient).

Námítky proti placebo (pravda a lež, poručníkování, ekonomické námítky, diagnostické námítky, právní problémy).

Placeba a postupy alternativní medicíny (definice, zdraví – všestranná pohoda – vyléčení, rozkvět alternativní medicíny, účinnost alternativních metod, jaké jsou opravdové alternativy, působení placeb a alternativní medicíny, názory alternativní medicíny, názory akademické medicíny, partnerství místo nepřátelství).

Alternativní formy uzdravování (etnomedicína, psychosomatická medicína, personální a přírodní léčebné systémy, personální systémy – šamanství atd., tradiční čínská medicína, alternativní medicína – některé jiné případy).

Proč nemají lékaři rádi placebo (lékařské vzdělávání: rozum místo intuice, údajná objektivita faktů, etnické a kulturní rozdíly, indukce a dedukce, co může být ještě účinné).

Možné způsoby působení placeb (tšení bolesti a utrpení, mechanismy chování, psychické mechanismy, sugesce jako terapie, terapeutická aliance mezi léčbou placebem a psychoterapií).

Loajalita ve vztahu mezi lékařem a nemocným (loajalita vůči pacientům, závazek loajalitty).

Příslib placebo (působení slova, útěcha a sugesce, medicína – „němé umění“, placebo jako symbol, placebo jako součást léčebného systému, kdy nasazujeme placebo).

Již ze samotného obsahu knihy vyplývá, že záběr gastroenterologa Howarda Spira je opravdu široký a nemůže tomu být ani jinak, protože problematika působení placebo není dosud řádně probádána. Autor je především kliník a právě o klinickou praxi se opírající části práce jsou nejpřesvědčivější a také nejčtivější. Našeho čtenáře může překvapit, jak velký důraz klade na zkušenosti alternativních postupů, ovšem autor vychází ze severoamerických poměrů, kde je tzv. alternativní medicína značně rozšířená a dostává se jen zvolna pod lupu vědeckého bádání. Konstatujeme, že i zde jsou zdroje pomoci nemocným lidem. Vědecké zkoumání působení a účinku placeb je dnes komplikováno hledisky etickými a právními. Přesto lze doufat a očekávat, že i tato nejen zajímavá, ale i důležitá oblast medicíny bude dříve či později probádána pohledem teoretické psychologie a neurobiologie. Zatím uzavíráme, že placebo působí a může znamenat účinnou pomoc nemocným lidem. Howard Spiro v této souvislosti zdůrazňuje zejména určité kvality vztahu mezi lékařem a pacientem, mechanismy sugesce, učení a relaxace. Jeho přístup k nemocnému člověku je důsledně biopsychosociální, lékař je „mediem placebo.“ Upozorňuje, že i diagnostická vyšetření, kterých si lékař váží (např. zobrazovací metody), mají v sobě sílu placebo.

**Recenzovaná kniha je čtivá a lze ji doporučit zejména lékařům pracujícím v klinické praxi. Bohatě zkušenosti gastroenterologa přináší inspiraci i lékařům jiných specializací a oborů, stejně tak zde nalezneme cenné podněty k zamyšlení nad psychologicky vhodnými přístupy k nemocným a jejich rodinám.**

*Jan Vymětal*

*128 00 Praha 2, Karlovo náměstí 40*

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

## Acylaci stimulující protein – úloha v regulaci metabolismu tukové tkáně

Hlavatý P., Kunešová M.

Endokrinologický ústav – Centrum pro diagnostiku a léčbu obezity, Praha

### SOUHRN

Při hledání nových cest k pochopení mechanismu regulace ukládání lipidů do tukové tkáně se sleduje vliv nejrůznějších hormonů. Jedním z nich je i acylaci stimulující protein. Je produkován zejména adipocyty. Acylaci stimulující protein po navázání na specifický receptor na povrchu adipocytu způsobuje prostřednictvím aktivace proteinkinázy C zvýšení syntézy triacylglycerolů. Současně dochází k přesunu glukózových transportérů z cytoplazmy na povrch adipocytu. Tím je umožněn rychlejší vstup glukózy do buňky a zajištěn dostatek substrátu pro tvorbu triacylglyceridů. Tyto děje vedou k větší tvorbě tukové tkáně. Dalším efektem acylaci stimulujícího proteinu je stimulace pankreatické sekrece inzulínu. Celková hladina acylaci stimulujícího proteinu v plazmě je úměrná množství tukové tkáně a pozitivně koreluje s řadou antropometrických ukazatelů a s hladinou inzulínu. U acylaci stimulujícího proteinu deficientních myši studie prokázaly větší schopnost redukovat tukovou tkáň. Při dietě s vysokým obsahem lipidů byly tyto acylaci stimulující protein deficientní myši rezistentní proti rozvoji obezity a množství tukové tkáně bylo u nich trvale nižší než u skupiny myši s normální tvorbou acylaci stimulujícího proteinu. Zároveň byla pozorována i vyšší senzitivita k působení inzulínu. Acylaci stimulující protein je jedním z faktorů, který se může podílet na vzniku obezity. **Klíčová slova:** obezita, acylaci stimulující protein, metabolismus lipidů.

### SUMMARY

*Hlavatý P., Kunešová M.: Acylation Stimulating Protein – Its Role in Control of Metabolism in the Adipose Tissue*  
Multiple hormones and enzymes participate in the lipid storage. One of them is acylation stimulating protein. Acylation stimulating protein is produced predominantly by adipocytes. After the binding on specific receptor at the surface of adipocytes, acylation stimulating protein leads to enhancement of triglyceride synthesis. This process is mediated by protein-kinase C. Concurrently, glucose transporters move from the cytoplasm to the adipocyte surface. Higher glucose disposal leads to a sufficient substrate availability for triglyceride synthesis. Acylation stimulating protein also stimulates pancreatic insulin secretion. Total acylation stimulating protein level in plasma is related to the adipose tissue mass and it positively correlates with many anthropometric parameters and with serum insulin level. In acylation stimulating protein deficient mice, resistance to the obesity development after a high fat diet was observed. Adipose tissue mass is lower in the acylation stimulating protein deficient mice and higher insulin sensitivity was shown in acylation stimulating protein deficient mice compared to a wild type mice. Acylation stimulating protein pathway may have an important role in the obesity development.

**Key words:** obesity, acylation stimulating protein, lipid metabolism.

HL

Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 14–18.

Podle údajů Světové zdravotnické organizace (WHO) trpí na celém světě obezitou a nadváhou více než miliarda dospělá populace. Ani Česká republika není výjimkou. Nadváha se týká asi 2/3 mužů a asi poloviny žen (1). Alarmující je stále stoupající trend v prevalenci nadváhy a obezity. Pro komplikace obezity není rozhodující pouze celkové množství tukové tkáně (TT), ale zejména její distribuce (2). Faktory, které vedou k rozdílné distribuci TT, nejsou zatím zcela objasněny.

Podle rozložení TT lze rozlišit 2 typy obezity – gynoïdní s akumulací tukové tkáně v periferních oblastech (zejména gluteofemorální) s menším rizikem zdravotních komplikací a androïdní typ s akumulací tuku ve viscerální oblasti (3). Viscerální typ obezity je spojen s významnými metabolickými komplikacemi – hypertenzí, kardiovaskulárními onemocněními, dyslipidemií, porušenou glukózovou tolerancí, diabetes mellitus 2. typu, hyperinzulinémií, inzulinorezistencí (4–9). Všechna tato onemocnění tvoří komplex označovaný jako metabolický syndrom, přičemž právě viscerální typ obezity je jejím nejdůležitějším projevem. Vzhledem k závažnosti zdravotních rizik je nutností včasná diagnostika. Jednoduchým dia-

gnostickým kritériem pro zhodnocení rizika metabolického syndromu je obvod pasu. Podle nejnovějších doporučení International Diabetic Federation (IDF) by obvod pasu u žen neměl být větší než 80 cm a u mužů 94 cm.

### ÚLOHA TUKOVÉ TKÁNĚ

Tuková tkáň není pouze pasivním příjemcem a výdejcem tukových zásob, ale je velmi důležitým endokrinním orgánem, který aktivně reaguje na specifické podněty a změny stavu metabolismu a významně se podílí na regulaci metabolických procesů. Metabolismus TT je ovlivňován řadou hormonů – inzulínem, katecholaminy, kortikoidy, pohlavními hormony, leptinem a mnoha dalšími. Odpověď adipocytů na tuto regulaci se liší podle jejich receptorové výbavy, která mimo jiné závisí na lokalizaci TT (1).

Hlavními lipidy tukových zásob organismu jsou triacylglyceroly (TG). Zásoby TG v TT neustále podléhají lipolýze nebo reesterifikaci. Výsledek těchto dvou pochodů určuje velikost poolu volných

mastných kyselin (VMK) v TT, a ty jsou pak zdrojem a určujícím faktorem hladiny VMK cirkulujících v plazmě. Vzhledem k tomu, že hladina VMK v plazmě významně ovlivňuje metabolismus jiných tkání, mají faktory působící v TT účinky ovlivňující funkci celého organismu. Vyšší přísun VMK do svalů a jater je například asociován s lipotoxicitou a rozvojem inzulínové rezistence, jak bylo prokázáno v mnoha studiích na zvířecích modelech i na lidech (10–13).

### METABOLIZMUS VMK – LIPOLÝZA

Proces lipolýzy je regulován aktivitou hormon senzitivní lipázy (HSL), která hydrolyzuje TG za vzniku VMK a glycerolu (14). HSL je aktivována účinkem katecholaminů, které jsou schopny vyvolat rychlé zahájení lipolýzy. Interakce lipolytických enzymů s buněčným povrchem adipocytů vede k aktivaci adenylátcyklázy, enzymu, který mění ATP na cAMP (cAMP zprostředkovává metabolické účinky mnoha hormonů). cAMP stimuluje proteinkinázu A, jež zprostředkovává fosforylaci neaktivní HSL na její aktivní formu (15). Opačný účinek než katecholaminy má inzulín, který stimulací fosfodiesterázy snižuje množství cAMP v buňce, a tím inhibuje lipolýzu (16, 17). Na snížení aktivity HSL se mimo inzulínu podílí také acylaci stimuluující protein (ASP), který tlumí její aktivitu zejména postprandiálně (18).

### REGULACE CLEARANCE VMK

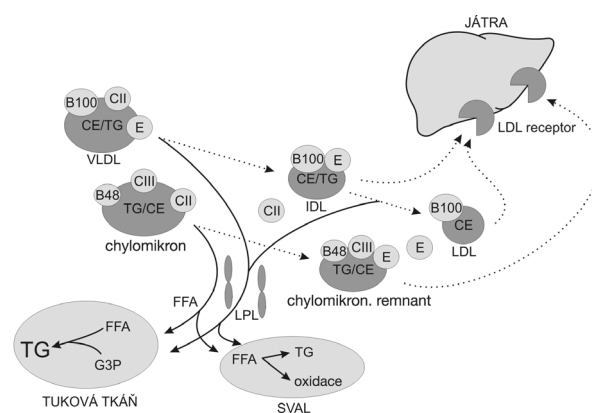
VMK se do plazmy dostávají několika cestami; po lipolýze TG v TT nebo díky působení lipoproteinové lipázy (LPL), která katalyzuje hydrolyzu TG přítomných v cirkulujících lipoproteinech, zejména v chylomikronech a v lipoproteinech o velmi nízké denzitě (VLDL). V krevním řečišti je za normálních okolností množství volné LPL velmi nízké. Většina enzymu je ukotvena pomocí proteoglykanového řetězce k lumenální stěně arterií a krevních kapilár (19, 20).

Vlastní hydrolyza TG je zahájena navázáním substrátu pomocí komplexu ApoC-II a ApoE k LPL (21). Volné mastné kyseliny vzniklé hydrolyzou TG jsou transportovány přes cévní stěnu do tkání; malá část VMK zůstává v krevním oběhu vázaná na albumin. LPL je schopna hydrolyzovat až 90 % TG obsažených v chylomikronech a VLDL; tím dochází ke konverzi těchto částic na remnanta chylomiker a intermediární částice (IDL – intermediate density lipoproteins), ve kterých je relativně vyšší zastoupení cholesterolu a jeho esterů. Remnanta chylomiker jsou následně vychytávána receptory hepatocytů a metabolizována. IDL částice, prekurzory LDL (low density lipoproteins) částic, jsou přímo vychytávány pomocí B,E receptoru v játrech ještě před jejich metabolickou přeměnou na LDL.

Endoteliální LPL v TT je klíčovým enzymem odpovědným za clearance TG. Aktivita LPL je ovlivňována příjmem potravy (22–24). Postprandiálně dochází účinkem inzulínu k vzestupu její aktivity v TT, což má za následek vzestup VMK z hydrolyzovaných TG; v kosterním svalu je její aktivita postprandiálně snížena (25, 26). Při hladovění je stav opačný. Tímto mechanismem je v období nedostatku energetických substrátů zajištěno jejich maximální uložení ve formě TG v TT; ve fázi katabolismu je zajištěna dostupnost energie pro činnost kosterního svalstva (27) (obr. 1).

### METABOLIZMUS VMK – LIPOGENEZE

Lipogeneze, vlastní syntéza TG, je vzájemně spjata s procesem lipolýzy. Molekuly TG jsou v tukové tkáni formovány sekvencí



Obr. 1. Schéma metabolismu lipoproteinů a VMK

enzymatických reakcí, při kterých jsou molekuly VMK esterifikovány s glycerol-3-fosfátem.

Na rychlosti syntézy TG v adipocytech a na množství dostupných VMK pro tuto syntézu závisí rychlost ukládání VMK do tukových buněk. Rychlost tvorby TG je dále limitována dvěma hlavními enzymy – fosfatidátfosfohydrolázou tvořící defosforylační fosfatidátu diacylglycerol a diacylglycerolacyltransferázou (DGAT), která katalyzuje finální esterifikaci diacylglycerolu na TG.

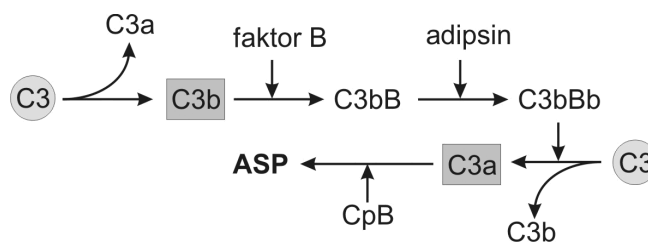
Ve vztahu k hormonální regulaci rychlosti syntézy TG byl dlouhou dobu pokládán za nejdůležitější regulační faktor inzulín. Efekt inzulínu spočívá ve zvýšeném transportu glukózy do adipocytů a inhibici lipolýzy snížením aktivity HSL (18). Bylo však prokázáno, že na vlastní proces esterifikace TG má pouze malý vliv.

### ACYLACI STIMULUJÍCÍ PROTEIN

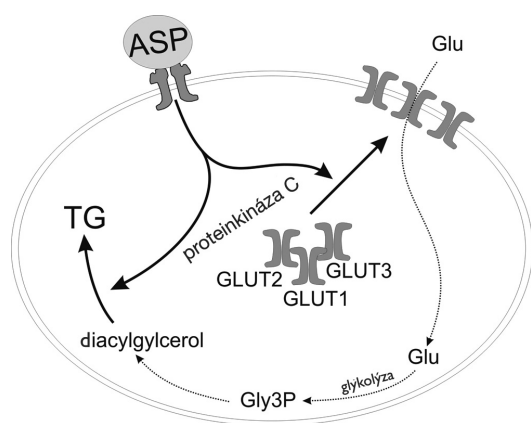
Dalším faktorem, který se významně účastní v procesu regulace ukládání VMK do adipocytů tukové tkáně, je ASP. Struktura ASP je velmi podobná C3 složce komplementu (28).

Protein C3 je interakcí s faktorem B a adipsinem v rámci alternativní cesty aktivace komplementu štěpen na větší fragment C3b a menší fragment C3a o délce 77 aminokyselin (AMK). ASP, protein o délce 76 AMK vzniká z fragmentu C3a odštěpením C-terminálního argininu aktivitou karboxypeptidázy B (28, 29) (obr. 2).

Adipocyty jsou jedny z buněk (vedle hepatocytů a makrofágů), které jsou schopny produkovat všechny 3 faktory potřebné pro tvorbu ASP (30). Schopnost adipocytů produkovat ASP stoupá se stupněm jejich diferenciací a se stoupající akumulací TG (31, 32). Plazmatická hladina ASP je tedy úměrná celkovému množství TT (33, 34). U lidí bylo prokázáno, že v postprandiálním stavu se lokálně zvyšuje tvorba ASP v subkutánní TT (35, 36). Toto zvýšení hladiny ASP je specifické pouze pro TT. V systémové cirkulaci nebylo v postprandiálním stavu zvýšení hladiny ASP zaznamenáno (37, 38).



Obr. 2. Schéma vzniku ASP



Obr. 3. Mechanismus působení ASP

### MECHANIZMUS PŮSOBENÍ ASP

ASP hraje jako autokrinní faktor centrální úlohu v metabolismu TT. Účinek ASP na vzestup syntézy TG v adipocytech (29, 39) vede v postprandiálním stavu k rychlejší clearanci VMK z plazmy (36, 40). Tento efekt je zprostředkován pomocí systému druhého posla: Navázáním ASP na membránový receptor C5L2 na povrchu adipocytu dochází prostřednictvím proteinkinázy C k aktivaci DGAT (41, 42). Tento enzym je zodpovědný za vlastní zvýšení tvorby TG. Dalším efektem, ke kterému dochází po navázání ASP na membránový receptor, je zvýšené vychytávání glukózy v TT prostřednictvím translokace přenašečů glukózy (GLUT1, GLUT3 a GLUT4) z intracelulárního poolu do cytoplasmatické membrány adipocytů (43–45). Vychytaná glukóza je v adipocytech dále využita pro tvorbu glycerol-3-fosfátu, který tvoří kostru TG (obr. 3).

Recentní studie prokazují, že receptor C5L2, který s vysokou afinitou váže ASP (46, 47), je exprimován v adipocytech subkutánní i viscerální TT a dále v 3L3-L1 preadipocytech a ve fibroblastech (48). V předchozích studiích již byla prokázána exprese tohoto receptoru i v řadě dalších buněk (49, 50). Receptor C5L2 může být vedle ASP také aktivován C3a složkou komplementu (51). ASP a C3a složka komplementu mají sice odlišné primární funkce, ale oba mají schopnost zvýšit syntézu TG (52). Vedle toho jsou schopny zvýšit sekreci zánětlivých faktorů – IL6 a TNF $\alpha$  (53, 54). V buňkách hypofýzy vede jejich vazba na C5L2 receptor ke zvýšené sekreci prolaktinu, růstového hormonu a adrenokortikotropinu (55).

V TT působí ASP jako faktor ovlivňující diferenciaci adipocytů. V 3T3-L1 a v 3T3-F442A buňkách ASP zvyšuje rychlost dělení a diferenciaci těchto buněk. Tím může být nahrazen obdobný vliv inzulínu. ASP zvyšuje expresi PPAR gama a pozdních markerů diferenciaci, kterými jsou adiposin a DGAT-1 (52).

Dalším výrazným efektem ASP je jeho proanabolické působení v TT, které je zprostředkováné inhibicí HSL prostřednictvím aktivity fosfodiesterázy (18, 50). Tento účinek ASP je obdobný účinku inzulínu, ale mechanismus působení je na inzulínu nezávislý (45, 48), ASP v TT účinkuje autokrinně na rozdíl od endokrinního účinku inzulínu. ASP současně stimuluje pankreatickou sekreci inzulínu (53).

### REGULACE TVORBY ASP

Tvorba ASP je výrazně stimulována v postprandiálním období zvýšenou hladinou chylomiker v krevním řečišti (31, 32). Vlivem ASP je zvýšena syntéza TG v TT a snížena lipogeneze v kosterním svalu (54). Mechanismus, kterým ASP reguluje vztah mezi lipolýzou a lipogenezí v kosterním svalu, není přesně znám.

Množství ASP je zvýšené při obezitě (33, 35, 55, 56), diabetu

(35) a hyperlipidémii (57, 58). Studie sledující závislost ASP na antropometrických ukazatelích prokázaly pozitivní korelaci s BMI (body mass index), s poměrem pas/boky a celkovým množstvím tělesného tuku (33, 55–58). V laboratorních parametrech je patrna pozitivní korelace s hladinou inzulínu (57).

### DYSREGULACE ASP

Práce prováděné na C3(-/-) myších, které nejsou schopny tvořit ASP, prokázaly u těchto myší vyšší schopnost redukovat TT ve srovnání s C3(+/-) myšmi. Při dietě s vysokým obsahem tuku byly ASP-deficientní myši rezistentní vůči dietou indukované obezitě a jejich hmotnost a hladina plazmatického leptinu jako ukazatele množství TT byla trvale nižší ve srovnání s C3(+/-) myšmi (59). Pozorované změny v množství tukové tkáně by mohly být způsobeny zmenšením velikosti tukových buněk nebo snížením jejich počtu (60). Ze studií rovněž vyplývá vyšší senzitivita k inzulínu u ASP-deficientních myší (59, 61).

U lidí vede ASP deficiencie k významným změnám v metabolismu lipidů a sacharidů. Snížená aktivita LPL v TT při deficienci ASP má za následek opožděnou postprandiální clearanci TG a VMK (59, 61). Při ASP deficienci dochází rovněž ke zvýšení inzulínové senzitivity (62). To vede k domněnce, že inzulín není jediným regulátorem aktivity LPL a clearance TG. Inzulínem zprostředkovaná zvýšená aktivita LPL postprandiálně může být zastíněna efektem deficiencie ASP na aktivitu LPL.

Při studiích na C3(-/-) myších byl zjištěn významně vyšší energetický příjem při normální absorpci tuků, jejich hmotnost však byla oproti C3(+/-) myším významně nižší (61, 62). Tento nepoměr mezi energetickým příjmem a menším nárůstem hmotnosti lze nejlépe vysvětlit tím, že došlo ke zvýšení úrovně bazálního metabolismu. Hodnoty RQ (respirační kvocient) zůstaly nezměněny, což je možné vysvětlit zvýšením úrovně oxidace tuků i sacharidů. Vzestup oxidace sacharidů může být vysvětlen zlepšením stávající inzulínové rezistence (62).

Obdobný efekt, který byl zaznamenán ve studiích na myších, je teoreticky možné očekávat i u lidí, kde tento účinek ASP může být způsoben buď chyběním, nebo sníženou tvorbou ASP (ASP deficiencie), nebo nedostatečnou odpovědí cílových buněk na působení ASP (ASP rezistence). ASP deficientní lidé by byli štíhlí, ale s potencionálním sklonem k opožděné syntéze TG (60).

Zvýšená hladina ASP v plazmě je pozorována u obézních a nemocných s diabetem mellitus 2. typu (35, 56), tedy u osob s porušeným metabolismem VMK a inzulínovou rezistencí (63).

Zvýšená hladina ASP v plazmě může být známkou buněčné rezistence k ASP. A naopak nízká hladina ASP indikuje zlepšenou senzitivitu TT k ASP (64). Tato hypotéza je podpořena studiemi *in vitro*, ve kterých bylo zjištěno, že buňky osob s vysokou plazmatickou hladinou ASP vykazovaly menší schopnost vázat ASP, a tedy nižší odpověď na stimulaci ASP (65, 66).

### VLIV FYZICKÉ AKTIVITY NA ÚČINKY ASP

Během akutní fyzické zátěže dochází k rychlému vzrůstu lipolytické aktivity v bílé TT a k uvolňování VMK do krevního řečiště. Cílem těchto dějů je zajištění energetického substrátu pro činnost kosterních svalů. Přestože stoupá využití VMK v periferních tkáních, je množství uvolněných VMK vyšší než tato potřeba, což v konečném důsledku způsobí výrazné zvýšení VMK v krvi (67). U trénovaných jedinců není toto zvýšení tak výrazné; příčinou může být oslabení vlivu sympato-adrenergní stimulace lipolýzy (68–71) a rychlejší reesterifikace VMK (45, 46). Při reesterifikaci VMK v TT během a po cvičení sehrává



důležitou úlohu ASP svým vlivem na stimulaci vychytávání glukózy a aktivity DGAT (67).

V recentní studii zabývající se vlivem tělesné zátěže na hladinu ASP bylo zjištěno, že po dvoutýdenním vytrvalostním tréninku došlo ke zlepšení metabolismu VMK, což se projevilo snížením plazmatické hladiny ASP (67).

Na počátku studie byl během tříhodinového cvičení pozorován signifikantní pokles hladiny ASP. Po dvoutýdenním tréninku však došlo během cvičení k překvapivému vzestupu hladiny ASP. Tento vzestup souhlasí s pozorovanou nižší plazmatickou hladinou VMK u trénovaných osob.

### ZÁVĚR

Faktory, které ovlivňují nárůst TT a její distribuci, nejsou ani přes množství provedených studií zcela objasněny. Typickým příkladem je rozvoj již zmíněné inzulinorezistence, hlavního faktoru, který se podílí na vzniku metabolického syndromu a s ním spojených komplikací. Postupným odhalováním zákonitostí regulace metabolismu se objevují stále nové prvky. V současné době se pozornost směřuje k ASP, který je podle studií schopen přímo ovlivňovat vstup VMK a glukózy do adipocytů, a tím vést k nárůstu tukových zásob organismu.

#### Zkratky

AMK	– aminokyselina
Apo	– apolipoprotein
ASP	– acylaci stimulující protein
ATP	– adenosin trifosfát
BMI	– body mass index
cAMP	– cyklický adenosin monofosfát
DGAT	– diacylglycerolacyltransferáza
GLUT	– glukózový přenašeč (glucose transporter)
HSL	– hormon senzitivní lipáza
IDF	– International Diabetic Federation
IDL	– intermediární částice (intermediate density lipoproteins)
IL6	– interleukin 6
LDL	– lipoproteiny o nízké denzitě (low density lipoproteins)
LPL	– lipoproteinová lipáza
PPAR	– peroxisome proliferator activated receptor
RQ	– respirační kvocient
TG	– triacylglyceridy
TNF $\alpha$	– tumor necrosis faktor
TT	– tuková tkáň
VLDL	– lipoproteiny o velmi nízké denzitě (very low density lipoproteins)
VMK	– volné mastné kyseliny
WHO	– Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

### LITERATURA

1. Světové šetření o zdraví v České republice, Ústav zdravotnických informací a statistiky, Praha, 2004
2. **Wajchenberg, B. L.:** Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. *Endocr. Rev.*, 21, s. 697-738.
3. **Vague, J.:** La différenciation sexuelle, facteur determinant des formes de l'obésité. *Presse méd.*, 1947, 55, s. 339-340.
4. **Bjorntorp, P.:** „Portal“ adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis*, 1990, 10, s. 493-946.
5. **Colberg, S. R., Simoneau, J. A., Thalet, F. L. et al.:** Skeletal muscle utilization of free fatty acids in women with visceral obesity. *J. Clin. Invest.*, 1995, 95, s. 1846-1853.
6. **Despres, J. P.:** Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition*, 1993, 9, s. 452-459.
7. **Despres, J. P., Nadeau, A., Tremblay, A. et al.:** Role of deep abdominal fat in the association between regional adipose tissue distribution and glucose tolerance in obese women. *Diabetes*, 1989, 38, s. 304-309.
8. **Ross, R., Fortier, L., Hudson, R.:** Separate associations between visceral and subcutaneous adipose tissue distribution, insulin and glucose levels in obese women. *Diabetes Care*, 1996, 19, s. 1404-1411
9. **Seidell, J. C., Bouchard, C.:** Visceral fat in relation to health: is it a major culprit or simply an innocent bystander? *Int. J. Obes.*, 1997, 21, s. 626-631.
10. **Boden, G.:** Interaction between free fatty acids and glucose metabolism. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2002, 5, s. 545-549.
11. **Boden, G., Cheung, P., Stein, T. P. et al.:** FFA cause hepatic insulin resistance by inhibiting insulin suppression of glycogenolysis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2002, 283, s. E12-E19.
12. **Koyama, K., Chen, G., Lee, Y. et al.:** Tissue triglycerides, insulin resistance, and insulin production: implications for hyperinsulinemia of obesity. *Am. J. Physiol.*, 1997, 273, s. E708-E713.
13. **Storlien, L. H., Jenkins, A. B., Chisholm, D. J. et al.:** Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes*, 1991, 40 s. 280-289.
14. **Fredrikson, G., Tornqvist, H., Belfrage, P.:** Hormone-sensitive lipase and monoacylglycerol lipase are both required for complete degradation of adipocyte triacylglycerol. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1986, 876, s. 288-293.
15. **Stralfors, P., Belfrage, P.:** Phosphorylation of hormone-sensitive lipase by cyclic AMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 1983, 258, s. 15146-15152.
16. **Kono, T., Robinson, F. W., Sarver, J. A.:** Insulin-sensitive phosphodiesterase. Its localization, hormonal stimulation, and oxidative stabilization. *J. Biol. Chem.*, 1975, 250, s. 7826-7835.
17. **Solomon, S. S.:** Effect of insulin and lipolytic hormones on cyclic AMP phosphodiesterase activity in normal and diabetic rat adipose tissue. *Endocrinology*, 1975, 96, s. 1366-1373.
18. **Van Harmelen, V., Reynisdottir, S., Cianflone, K. et al.:** Mechanisms involved in the regulation of free fatty acid release from isolated human fat cells by acylation stimulating protein and insulin. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, s. 18243-18251.
19. **Cryer, A., Jones, H. M.:** A comparison of tissue lipoprotein lipase activities determined in either fresh or defatted tissue preparations. *Int. J. Biochem.*, 1981, 13, s. 109-111.
20. **Wang, C. S., Hartsuck, J., McConathy, W. J.:** Structure and functional properties of lipoprotein lipase. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1992, 1123, s. 1-17.
21. **Miller, A. L., Smith, L. C.:** Activation of lipoprotein lipase by apolipoprotein glutamic acid. Formation of a stable surface film. *J. Biol. Chem.*, 1973, 248, s. 3359-3362.
22. **Eckel, R. H.:** Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N. Engl. J. Med.*, 1989, 320, s. 1060-1068.
23. **Zechner, R.:** The tissue-specific expression of lipoprotein lipase: implications for energy and lipoprotein metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.*, 1997, 8, s. 77-88.
24. **Fielding, B. A., Frayn, K. N.:** Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *Br. J. Nutr.*, 1998, 80, s. 495-502.
25. **Boivin, A., Montplaisir, I., Deshaies, Y.:** Postprandial modulation of lipoprotein lipase in rats with insulin resistance. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 1994, 267, s. E620-E627.
26. **Fielding, B. A., Frayn, K. N.:** Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *Br. J. Nutr.*, 1998, 80, s. 495-502.
27. **Mead, J. R., Irvine, S. A., Ramji, D. P.:** Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J. Mol. Med.*, 2002, 80, s. 753-769.
28. **Hugli, T. E.:** Structure and function of C3a anaphylatoxin. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1990, 153, s. 181-208.
29. **Baldo, A., Sniderman, A. D., St-Luce, S. et al.:** The adipin-acylation stimulating protein system and regulation of intracellular triglyceride synthesis. *J. Clin. Invest.*, 1993, 92, s. 1543-1547.
30. **Cianflone, K., Roncari, D. A. K., Maslowska, M. et al.:** Adipin/acylation stimulating protein system in human adipocytes: regulation of triacylglycerol synthesis. *Biochemistry*, 1994, 33, s. 9489-9495.

31. **Maslowska, M., Scantlebury, T., Germinario, R. et al.:** Acute *in vitro* production of acylation stimulating protein in differentiated human adipocytes. *J. Lipid. Res.*, 1997, 38, s. 1-11.
32. **Scantlebury, T., Maslowska, M., Cianflone, K.:** Chylomicron-specific enhancement of acylation stimulating protein and precursor protein C3 production in differentiated human adipocytes. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, s. 20903-20909.
33. **Maslowska, M., Vu, H., Phelis, S. et al.:** Plasma acylation stimulating protein, adipin and lipids in non-obese and obese populations. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1999, 29, s. 679-686.
34. **Cianflone, K., Maslowska, M., Sniderman, A.:** The acylation stimulating protein-adipin system. *Int. J. Obes.*, 1995 (Suppl. 1), s. S34-S38.
35. **Koistinen, H. A., Vidal, H., Karonen, S. L. et al.:** Plasma acylation stimulating protein concentration and subcutaneous adipose tissue C3 mRNA expression in nondiabetic and type 2 diabetic men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, 21, s. 1034-1039.
36. **Cianflone, K., Vu, H., Walsh, M. et al.:** Metabolic response of Acylation Stimulating Protein to an oral fat load. *J. Lipid. Res.*, 1989, 30, s. 1727-33.
37. **Saleh, J., Summers, L. K. M., Cianflone, K. et al.:** Coordinated release of acylation stimulating protein (ASP) and triacylglycerol clearance by human adipose tissue *in vivo* in the postprandial period. *J. Lipid. Res.*, 1998, 39, s. 884-891.
38. **Charlesworth, J. A., Peake, P. W., Campbell, L. V. et al.:** The influence of oral lipid loads on acylation stimulating protein (ASP) in healthy volunteers. *Int. J. Obes.*, 1998, 22, s. 1096-1102.
39. **Cianflone, K., Roncari, D. A., Maslowska, M. et al.:** Adipin/acylation stimulating protein system in human adipocytes: regulation of triacylglycerol synthesis. *Biochemistry*, 1994, 33, s. 9489-9495.
40. **Cianflone, K.:** Acylation stimulating protein and the adipocyte. *J. Endocrinol.*, 1997, 155, s. 203-206.
41. **Yasruel, Z., Cianflone, K., Sniderman, A. D. et al.:** Effect of acylation stimulating protein on the triacylglycerol synthetic pathway of human adipose tissue. *Lipids.*, 1991, 26, s. 495-499.
42. **Baldo, A., Sniderman, A. D., St-Luce, S. et al.:** Signal transduction pathway of acylation stimulating protein: involvement of protein kinase C. *J. Lipid. Res.*, 1995, 36, s. 1415-1426.
43. **Maslowska, M., Sniderman, A. D., Germinario, R. et al.:** ASP stimulates glucose transport in cultured human adipocytes. *Int. J. Obes.*, 1997, 21, s. 261-266.
44. **Tao, Y., Cianflone, K., Sniderman, A. D. et al.:** Acylation-stimulating protein (ASP) regulates glucose transport in the rat L6 muscle cell line. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1997, 1344, s. 221-229.
45. **Germinario, R., Sniderman, A. D., Manuel, S. et al.:** Coordinate regulation of triacylglycerol synthesis and glucose transport by acylation-stimulating protein. *Metabolism.*, 1993, 42, s. 574-580.
46. **Kalant, D., Cain, S. A., Maslowska, M. et al.:** The chemoattractant receptor-like protein C5L2 binds the C3a des-Arg77/acylation-stimulating protein. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, s. 11123-11129.
47. **Kalant, D., MacLaren, R., Cui, W. et al.:** C5L2 is a functional receptor for acylation stimulating protein. *J. Biol. Chem.*, 2005, 280, s. 23936-23944.
48. **Cianflone, K., Maslowska, M., Sniderman, A. D.:** Acylation stimulating protein (ASP), an adipocyte autocrine: new directions. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 1999, 10, s. 31-41.
49. **Ohno, M., Hirata, T., Enomoto, M. et al.:** A putative chemoattractant receptor, C5L2, is expressed in granulocyte and immature dendritic cells, but not in mature dendritic cells. *Mol. Immunol.*, 2000, 37, s. 407-412.
50. **Okinaga, S., Slattery, D., Humbles, A. et al.:** C5L2, a nonsignaling C5A binding protein. *Biochemistry*, 2003, 42, s. 9406-9415.
51. **Murray, I., Parker, R., Kirchgessner, T. G. et al.:** Functional bioactive recombinant acylation stimulating protein is distinct from C3a anaphylatoxin. *J. Lipid. Res.*, 1997, 38, s. 2492-2501.
52. **Maslowska, M., Wang, H. W., Cianflone, K.:** Novel roles for acylation stimulating protein/C3sdesArg: a review of recent *in vitro* and *in vivo* evidence. *Vitam. Horm.*, 2005, 70, s. 309-332.
53. **Ahren, B., Havel, P. J., Pacini, G. et al.:** Acylation stimulating protein stimulates insulin secretion. *Int. J. Obes.*, 2003, 27, s. 1037-1043.
53. **Fischer, W. H., Jagels, M. A., Hugli, T. E.:** Regulation of IL-6 synthesis in human peripheral blood mononuclear cells by C3a and C3a(desArg). *J. Immunol.*, 1999, 162, s. 453-459.
54. **Faraj, M., Cianflone, K.:** Differential regulation of fatty acid trapping in mouse adipose tissue and muscle by ASP. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2004, 287, s. E150-E159.
54. **Fischer, W. H., Hugli, T. E.:** Regulation of B cell functions by C3a and C3a(desArg): suppression of TNF-alpha, IL-6, and the polyclonal immune response. *J. Immunol.*, 1997, 159, s. 4279-4286.
55. **Cianflone, K., Sniderman, A. D., Kalant, D. et al.:** Response of plasma ASP to a prolonged fast. *Int. J. Obes.*, 1995, 19, s. 604-609.
55. **Francis, K., Lewis, B. M., Akatsu, H. et al.:** Complement C3a receptors in the pituitary gland: a novel pathway by which an innate immune molecule releases hormones involved in the control of inflammation. *FASEB J.*, 2003, 17, s. 2266-2268.
56. **Weyer, C., Pratley, R. E.:** Fasting and postprandial plasma concentrations of acylation-stimulation protein (ASP) in lean and obese Pima Indians compared to Caucasians. *Obes. Res.*, 1999, 7, s. 444-452.
57. **Ylitalo, K., Pajukanta, P., Meri, S. et al.:** Serum C3 but not plasma acylation-stimulating protein is elevated in Finnish patients with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, 21, s. 838-843.
58. **Cianflone, K., Zhang, X. J., Genest, J. Jr. et al.:** Plasma acylation stimulating protein in coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999, 17, s. 1239-1244.
59. **Murray, I., Havel, P. J., Sniderman, A. D. et al.:** Reduced body weight, adipose tissue, and leptin levels despite increased energy intake in female mice lacking acylation-stimulating protein. *Endocrinology*, 2000, 141, s. 1041-1049.
60. **Cianflone, K., Xia, Z., Chen, L. Y.:** Critical review of acylation-stimulating protein physiology in humans and rodents. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2003, 1609, s. 127-143.
61. **Murray, I., Sniderman, A. D., Havel, P. J. et al.:** Acylation stimulating protein (ASP) deficiency alters postprandial and adipose tissue metabolism in male mice. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, s. 36219-36225.
62. **Xia, Z., Sniderman, A. D., Cianflone, K.:** Acylation-stimulating protein (ASP) deficiency induces obesity resistance and increased energy expenditure in ob/ob mice. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, s. 45874-45879.
63. **McGarry, J. D.:** Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2002, 51, s. 7-18.
64. **Cianflone, K., Zakarian, R., Couillard, C. et al.:** Fasting acylation stimulating protein is predictive of postprandial triglyceride clearance. *J. Lipid. Res.*, 2004, 1, s. 124-131.
65. **Cianflone, K., Maslowska, M. H., Sniderman, A. D. et al.:** Impaired response of fibroblasts from patients with hyperapobetalipoproteinemia to acylation-stimulating protein. *J. Clin. Invest.*, 1990, 85, s. 722-730.
66. **Zhang, X. J., Cianflone, K., Genest, J. et al.:** Plasma acylation stimulating protein (ASP) as a predictor of impaired cellular biological response to ASP in patients with hyperapoB. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1998, 28, s. 730-739.
67. **Schrauwen, P., Hesselink, M. K. C., Jain, M. et al.:** Acylation-stimulating protein: effect of acute exercise and endurance training. *Int. J. Obes.*, 2005, 29, s. 632-638.
68. **Winder, W. W., Hickson, R. C., Hagberg, J. M. et al.:** Training-induced changes in hormonal and metabolic response to submaximal exercise. *J. Appl. Physiol.*, 1979, 46, s. 766-771.
69. **Loy, S. F., Conlee, R. K., Winder, W. W. et al.:** Effects of 24-hour fast on cycling endurance time at two different intensities. *J. Appl. Physiol.*, 1986, 61, s. 654-659.
70. **Knapik, J. J., Meredith, C. N., Jones, B. H. et al.:** Influence of fasting on carbohydrate and fat metabolism during rest and exercise in men. *J. Appl. Physiol.*, 1988, 64, s. 1923-1929.
71. **Coggan, A. R., Kohrt, W. M., Spina, R. J. et al.:** Endurance training decreases plasma glucose turnover and oxidation during moderate-intensity exercise in men. *J. Appl. Physiol.*, 1990, 68, s. 990-996.
72. **Romijn, J. A., Klein, S., Coyle, E. F. et al.:** Strenuous endurance training increases lipolysis and triglyceride-fatty acid cycling at rest. *J. Appl. Physiol.*, 1993, 75, s. 108-113.
73. **Wolfe, R. R., Klein, S., Carraro, F. et al.:** Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *Am. J. Physiol.*, 1990, 258, s. E382-E389.

Práce byla podpořena grantem NB 7782-4 IGA MZ ČR.

PŮVODNÍ PRÁCE

# Vysokodávkovaná terapie s autologní transplantací krvetočivých buněk u nemocných s Hodgkinovým lymfomem: dlouhodobé sledování nemocných léčených v jednom centru

<sup>1</sup>Trněný M., <sup>1</sup>Vacková B., <sup>1</sup>Pytlík R., <sup>1</sup>Cieslar P., <sup>1,2</sup>Válková V., <sup>2</sup>Gašová Z.,  
<sup>2</sup>Kobylka P., <sup>1</sup>Trnková M., <sup>1</sup>Krejčová H., <sup>1,2</sup>Klener P.

<sup>1</sup>I. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha  
<sup>2</sup>Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

## ABSTRAKT

**Východisko.** Hodgkinův lymfom patří mezi kurabilní onemocnění s vysokým procentem úspěšnosti. U nemocných, u nichž dojde k selhání léčby, je možné použít záchrannou terapii s vysokodávkovanou terapií (HDT) s autologní transplantací krvetočivých buněk (ASCT).

**Metody a výsledky.** Na I. interní klinice VFN bylo tímto způsobem léčeno od roku 1994 do roku 2005 84 nemocných s věkovým mediánem 30,5 roku, u nichž bylo provedeno celkem 105 HDT s ASCT. Nemocní byli indikováni z důvodu nedosažení kompletní remise po první linii terapie (n 16) nebo pro relaps a progresi v následném průběhu choroby (n 68). Po záchranné léčbě bylo v době transplantace onemocnění hodnoceno jako chemosenzitivní u 65 nemocných a jako chemorezistentní u 19. Nejčastějším režimem použitým v léčbě byla chemoterapie BEAM v 82 případech, 22 nemocných bylo léčeno v programu tandemové transplantace. Jako zdroj krvetočivých buněk byla použita kostní dřev u 4 ASCT, samotné periferní progenitorové buňky u 85 ASCT a kombinace kostní dřevě a periferních progenitorových buněk u 16 ASCT. Ze 77 hodnotitelných nemocných byl stav po transplantaci hodnocen jako kompletní remise u 39 nemocných (50,6 %), partiální remise u 31 nemocných (40,3 %) a jako stabilní onemocnění nebo progresi u 7 nemocných (9,1 %). Peritransplantační mortalita byla u nemocných transplantovaných pomocí periferních krvetočivých buněk 3,9 %. Při mediánu sledování 5,3 roku byla pravděpodobnost pětiletého přežití bez významné události (EFS) 43,1 % a celkového přežití (OS) 53,2 %. Ve skupině chemosenzitivních nemocných byla pravděpodobnost EFS 48,6 % a OS 62,9 %. Stav při transplantaci a dosažený výsledek měly signifikantní prognostický význam. Z 39 pozorovaných úmrtí jich bylo 26 zapříčiněno progresí HL, u 5 nemocných byl zjištěn sekundární nádor. **Závěry.** Vysokodávkovaná terapie s autologní transplantací krvetočivých buněk u HL je metodou umožňující dlouhodobé přežití bez další progresi onemocnění téměř u poloviny indikovaných nemocných. Nejlepší výsledky jsou dosaženy u nemocných s chemosenzitivním onemocněním.

**Klíčová slova:** hodgkinův lymfom, transplantace, vysokodávkovaná terapie.

## ABSTRACT

*Trněný M., Vacková B., Pytlík R. et al.: High Dose Therapy with Autologous Stem Cell Transplantation in Patients with Hodgkin's Lymphoma: Long Term Follow-up in Patients Treated in One Center*

**Background.** Majority of patients with Hodgkin's Lymphoma (HL) can be cured by first line therapy. The high dose therapy (HDT) with autologous stem cell transplantation (ASCT) is the option which can be used in the situation when the conventional therapy failed.

**Methods and Results.** Beginning 1994 till 2005 84 pts with HL who did not respond the conventional chemotherapy underwent 105 HDT procedures with ASCT. The median age at the time of HDT was 30.5 years. The reason for salvage therapy followed by HDT with ASCT was the failure to achieve 1st complete remission - CR (n 16) or the subsequent relapse or progression (n 68). The disease status at the time of HDT after conventional salvage chemotherapy was assessed as chemosensitive in 65 pts (77.4 %) and chemoresistant in 19 pts (22.6 %). The most frequent HDT regimen used was BEAM (82 HDT), 22 pts entered into the tandem HDT program. Bone marrow only was used as the source of progenitor cells in 4 ASCT, peripheral blood progenitor cells (PBPC) only were used in 85 ASCT and the combination of both in 16 ASCT. The disease status after the HDT with ASCT was assessed (77 pts were evaluable) as CR in 39 pts (50.6 %), PR in 31 (40.3%) and as stable disease or progression in 7 pts (9.1 %). Treatment related mortality in HDT with PBPC was 3.9 %. The median follow up is 5.3 years. The five year probability of event free survival (EFS) is 43.1 % and overall survival 53.2 %. The EFS and OS probability respectively for the chemosensitive patients was 48.6 % and 62.9 % respectively. The status at HDT and the results after it have prognostic significance. There were observed 39 deaths and 26 of them were caused by disease progression. Secondary tumor was observed in 5 pts and in all of them it caused the death.

**Conclusions.** The HDT with ASCT allows the long term survival without disease progression in about a half of the patients with reasonable toxicity.

**Key words:** Hodgkin's Lymphoma, transplantation, high dose therapy.

*Tr:*

*Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 19-24.*

**H**odgkinův lymfom (HL) patří mezi nádorová onemocnění, která mohou sloužit jako příklad velmi úspěšné protinádorové léčby. Po zavedení kombinované chemoterapie bylo dosaženo signifikantního zlepšení přežití a poklesu úmrtí na toto onemocnění s pravděpodobností dlouhodobého přežití bez známek choroby u 60 až 90 % podle rozsahu onemocnění eventuálně dalších prognostických kritérií (1–3). V posledních deseti až dvaceti letech bylo učiněno několik pokusů o zlepšení terapeutických výsledků pomocí zavedení nových léčebných režimů u nemocných s pokročilým onemocněním a v současné době se používají zejména ABVD (adriamycin, bleomycin, vinblastin, DTIC) (4), BEACOPP (bleomycin, etoposid, adriamycin, cyklofosfamid, vincristin, prokarbazin, prednison) (5), Stanford V (6, 7).

Přes poměrně úspěšné výsledky zůstává zhruba 30 % nemocných, kteří neodpoví dobře na léčbu nebo u nichž se choroba vrací. U těchto nemocných je zapotřebí volit léčbu další linie a na základě v tuto chvíli již dvacetiletých zkušeností je u řady z nich doporučována vysokodávkovaná terapie (HDT – high dose therapy) s autologní transplantací krvinek (ASCT – autologous stem cell transplantation). Sdělení shrnuje zkušenosti z více než deseti let transplantčního programu na I. interní klinice I. LF UK a VFN v Praze, v jehož rámci bylo provedeno 105 HDT s ASCT u 84 nemocných.

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Do analýzy byli zařazeni všichni konsektivní pacienti s HL, u nichž bylo zahájeno podávání HDT. Všichni nemocní podepsali informovaný souhlas s provedením vysokodávkované terapie s ASCT platný pro VFN. Jedná se o retrospektivní analýzu a na základě platných pravidel v rámci EBMT (Evropská skupina pro transplantaci kostní dřeně a krve) byl od roku 2003 získán zpětně souhlas nemocných se zpracováním dat u nemocných, kteří byli v této době schopni souhlas poskytnout.

Celkem bylo hodnoceno 84 nemocných, u nichž bylo provedeno 105 HDT s ASCT od roku 1994 do 2005. Nemocní byli indikováni k provedení HDT v následujících případech:

1. při nedosažení kompletní remise po indukční terapii,
2. při progresi nebo relapsu onemocnění takového rozsahu, že byla indikována systémová záchranná terapie (lokalizované relapsy nebo relapsy bez použití antracyklinového kombinovaného režimu v rámci indukce nebyly indikovány k HDT s ASCT). Předchozí použití HDT s ASCT nebylo kontraindikací v případě, že se nejednalo o progresivní chorobu.

Cílem bylo provést HDT s ASCT u nemocných s chemosenzitivním relapsem (dosažení alespoň parciální remise (PR) po záchranné terapii). U nemocných s chemorezistentním relapsem nebo s vysokým rizikem (nedostatečná odpověď po intenzifikovaném indukčním režimu, časný relaps či progresse, klinicky vysoce agresivní chování) byla snaha použít tandemovou vysokodávkovanou terapii (dvě po sobě jdoucí HDT s ASCT).

Jako záchranná terapie byly nejčastěji použity režimy ESHAP (8), IVE (9) a v posledních 3 letech ICE (10), které byly zároveň použity spolu s G-CSF (granulocytové kolonie stimulující faktor – Neupogen) jako mobilizační režimy ke sběru periferních progenitorových buněk (PBPC).

U nemocných, kde mobilizace selhala, nebo bylo rozhodnuto o kombinovaném podání kostní dřeně a krvinek (SCT) z periferní krve, byl proveden odběr krvinek z kostní dřeně. Nemocní byli indikováni k podání PBPC a kostní dřeně v počátku transplantčního programu, kdy se začínal program transplantací pomocí PBPC rozvíjet zejména z důvodu nedostatečného sběru CD34+ buněk v PBPC. Poslední pacient, u kterého byla použita kostní dřeň jako zdroj SCT, byl transplantován v roce 1997. PBPC se odebíraly u všech nemocných z centrálně zavedeného dialyzačního katetru podle zavedené metodiky (11). Cílovým množstvím SCT v produktu byla hodnota CD34+ buněk  $3,0 \times 10^6$ /kg váhy pacienta. Kostní dřeň se odebírala v celkové anestezii z lopat kostí kyčelních standardním postupem (12). Cílovým množstvím byla hodnota jaderných buněk větší než  $1 \times 10^8$ /kg váhy pacienta.

Stanovení počtu CD34+ buněk bylo prováděno standardní metodou průtokové cytometrie na přístroji Coulter Epics XL s využitím protilátky anti-HPCA-2 (CD34) PE (Beckton-Dickinson) popsané nordickou skupinou (13).

Jako vysokodávkovaný režim byla nejčastěji použita chemoterapie BEAM skládající se z BCNU 300 mg/m<sup>2</sup>, etoposidu 800 nebo 1600 mg/m<sup>2</sup>, Ara-C 1600 mg/m<sup>2</sup>, melfalanu 140 mg/m<sup>2</sup> (14), v případě tandemové transplantace byla jako první HDT použit samotný melfalan 200 mg/m<sup>2</sup> nebo kombinace mitoxantron 40 mg/m<sup>2</sup> spolu s melfalanem 140 mg/m<sup>2</sup> (15).

Po transplantaci byl standardně podáván růstový faktor G-CSF (Neupogen) v dávce 5 µg/kg ode dne +7 po převodu SCT, v některých případech byl podáván již ode dne 1, resp. 10, v závislosti na účasti nemocných v klinické studii. Nemocní dostávali profylakticky ciprofloxacín v dávce 2x500 mg/den, do roku 1998 rovněž standardně aciclovir, do roku 2000 flucanazol, který byl podáván později v případě febrilní neutropenie. Krevní převody byly indikovány v situaci, že u nemocného bez dalších komplikací klesal hemoglobin pod 80–85 g/l, trombocyty pod 20 a od roku 2000 pod  $10 \times 10^9$ /l. Byly podávány s filtrem a bylo provedeno jejich ozáření.

Příhoni bylo definováno jako dosažení hodnoty neutrofilů  $>0,5 \times 10^9$ /l bez následného poklesu pod tuto hodnotu a dosažení hodnoty trombocytů  $>20 \times 10^9$ /l po tři dny po sobě bez substituce, resp. jako dosažení hodnoty  $>50 \times 10^9$ /l.

Toxicita byla hodnocena podle WHO škály toxicity.

Odpověď na záchrannou léčbu byla hodnocena podle standardních kritérií – kompletní remise (CR): vymizení všech známek nemoci, PR: ústup měřitelných lézí o více než 50 %, progresivní onemocnění (PD): progresse v jakékoli lokalizaci v průběhu terapie nebo do 1 měsíce po jejím ukončení, stabilní onemocnění = chemorezistentní onemocnění (SD): onemocnění, kdy nebylo dosaženo PR, ale ani nebylo zaznamenáno PD. Od roku 1998 byla používána mezinárodní kritéria (16). Hodnocení odpovědi po transplantaci bylo provedeno do 3 měsíců po jejím uskutečnění a nemocní byli hodnoceni v kategoriích CR, PR, SD, PD, když za PR byla považována i situace, kdy nemocný byl v PR před i po transplantaci a nedošlo již k další regresi. Z vyšetřovacích metod bylo standardně používáno CT, trepanobiopsie. Pozitronová emisní tomografie (PET) byla používána jen jako doplňková metoda u části nemocných od roku 2000. Pro hodnocení dlouhodobých výsledků bylo použito celkové přežití (OS) (od data převodu krvinek do data posledního sledování nebo úmrtí), přežití bez významné události (EFS) (za událost byla považována progresse/relaps nebo úmrtí z jakékoli příčiny, hodnoceno bylo období od data převodu krvinek do data události nebo posledního sledování v případě, že k události nedošlo).

Ke statistickému hodnocení byly použity Studentův t-test, parametrický Pearsonův a neparametrický Spearmanův korelační koeficient. Skupiny byly srovnávány pomocí testu variance ANOVA. Přežití bez jednotlivých událostí a srovnání skupin nemocných bylo hodnoceno Kaplan Maierovou metodou a log-rank testem (17).

## VÝSLEDKY

Charakteristika souboru (tab. 1 a 2): Věkový medián v období transplantace byl 30,5 roku (19–61 let). Skupinu tvořilo 41 žen (48,8 %) a 43 mužů (51,2 %). Medián doby od diagnózy k transplantaci byl 2,6 roku (0,4–17,5 roku). Předléčení bylo možno vyjádřit mediánem 2 předchozích linií (2–9), 39 nemocných (46,4 %) bylo léčeno 3 a více liniemi. Medián cyklů chemoterapie podaných před HDT s ASCT byl 11 (9–46). Celkem u 3 nemocných byla provedena HDT s ASCT pro relaps po předchozí ASCT (2 byli poprvé transplantováni na jiném pracovišti). Radioterapií bylo léčeno 56 nemocných (66,7 %). V rámci první linie z důvodu nedosažení kompletní remise bylo indikováno 16 pacientů (19 %), z toho se u 7 jednalo o chemorezistentní onemocnění. Ze zbylých devíti jeden dosáhl po salvage terapii kompletní remise a osm zůstalo v PR. Pro relaps bylo indikováno 68 nemocných, z toho po salvage terapii bylo hodnoceno 56 jako chemosenzitivních (23 dosáhlo CR a 33 PR). Jako chemorezistentní relaps v době transplantace bylo hodnoceno 12 nemocných. Celkově se tedy jednalo o skupinu, která byla tvořena 65 nemocnými s chemosenzitivním onemocněním (24 v CR a 41 v PR) a 19 s chemorezistentním onemocněním (7 primárně refrakterním a 12 s chemorezistentním relapsem). Z 84 nemocných bylo indikováno 62 k jedné HDT a 22 k tandemové HDT s ASCT, z nich však absolvovalo tandemovou transplantaci 19 nemocných (jeden pacient byl transplantován 3x) a jedna pacientka

**Tab. 1.** Charakteristika souboru (n=84)

Pohlaví	muži/ženy	43/41	(51,2/48,8 %)
věk	medián	30,5	(19–61)
interval mezi diagnózou a SCT		2,6	(0,4–17,5)
Předléčení:			
počet předchozích linií terapie	medián	2	(2–9)
	1–2	45	(53,6 %)
	3–4	31	(36,9 %)
	5 a více	8	(9,5 %)
počet předchozích cyklů terapie	medián	11	(9–46)
radioterapie		56	(66,7 %)
Indikace k HDT s ASCT			
nedosazení 1. CR		16	(19,0 %)
relaps nebo progresse		68	(81,0 %)
Stav při transplantaci po podání záchranné terapie:			
chemosenzitivní onemocnění		65	(77,4 %)
chemorezistentní onemocnění		19	(22,6 %)

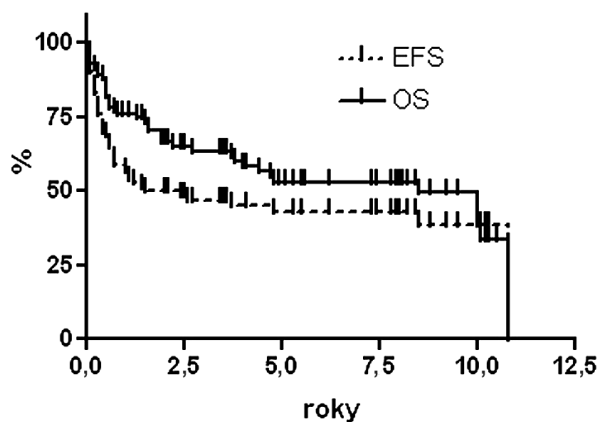
byla v rámci našeho pracoviště retransplantována pro relaps. Celkem se tedy jednalo o 105 HDT s ASCT. Z HDT režimů byl nejčastěji použit BEAM ve standardní dávce etoposidu (800 mg/m<sup>2</sup>) v 56 případech (53,3 %), následovaný intenzifikovaným BEAM400 (s dávkou etoposidu 1600 mg/m<sup>2</sup>) ve 26 případech (24,8 %), melfalanem s mitoxantronem ve 12 (11,4 %) případech a melfalanem v 10 (9,6 %) případech.

Osmdesát nemocných bylo transplantováno (101 transplantací) s použitím PBPC a pouze 4 nemocní (4 transplantace) s použitím pouze kostní dřeně (BM). Ze 101 transplantací byla v 16 případech použita kombinace PBPC a BM.

Množství převedených CD34+ buněk v PBPC bylo ve skupině s použitím PBPC a BM 3,1x10<sup>6</sup>/kg (0,6–18,9), ve skupině transplantovaných pouze s PBPC to bylo 6,7x10<sup>6</sup>/kg (2,3–22,0).

### PŘIHOJENÍ, TOXICITA A PODPŮRNÁ LÉČBA (TAB. 2 A 3)

Příhojení v neutrofilech bylo zaznamenáno u 100 transplantací s mediánem dne po převodu +11 (8–29), v trombocytech nad hod-



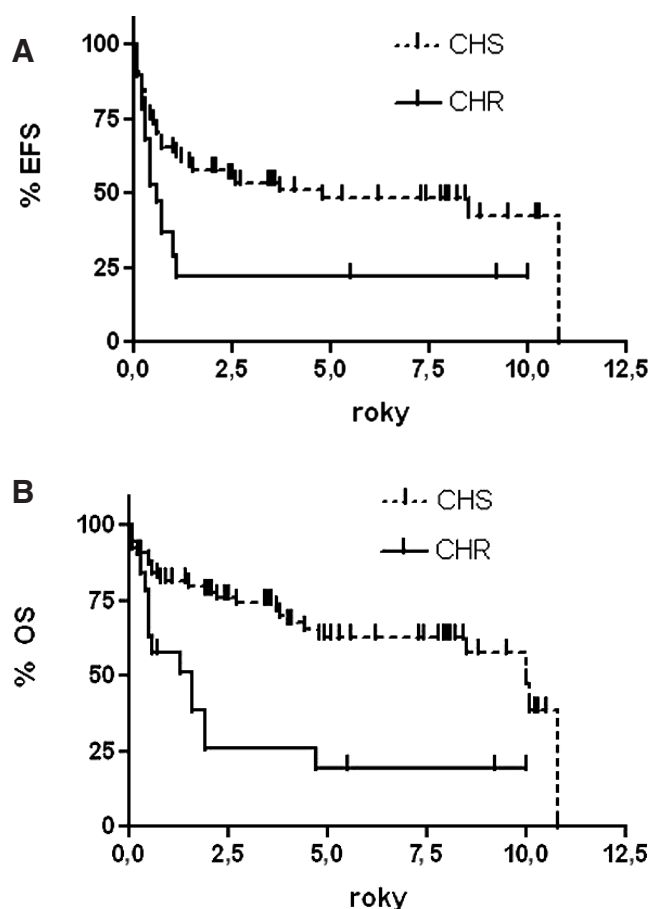
**Graf 1.** Pravděpodobnost doby přežití bez významné události (EFS) a celkového přežití (OS)

**Tab. 2.** Charakteristika transplantční léčby a výsledek

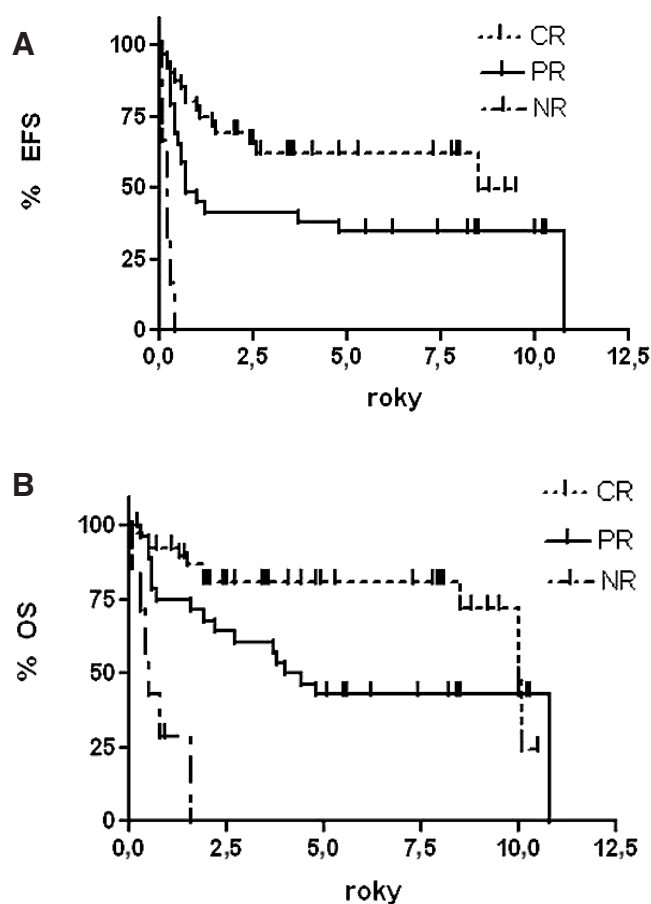
<b>Transplantační program (n=84 pac.):</b>			
transplantace jednoduchá		62	(74,8 %)
tandemová transplantace		22	(26,2 %)
<b>Zdroj krvetočných buněk na pacienta (n=84 pac.):</b>			
PBPC	ano	80	(95,2 %)
	ne	4	(4,8 %)
BM	ano	19	(22,6 %)
	ne	65	(77,4 %)
<b>Typ vysokodávkované terapie (n=105 ASCT)</b>			
BEAM		56	(53,3 %)
BEAM 400		26	(24,8 %)
Melfalan 200		10	(9,6 %)
Melfalan/mitox		12	(11,4 %)
BuMeIT		1	(1,0 %)
<b>Zdroj krvetočných buněk na transplantaci (n=105 ASCT)</b>			
PBPC	ano	101	(96,2 %)
	ne	4	(3,8 %)
BM	ano	20	(19,0 %)
	ne	85	(81,0 %)
<b>Množství CD34+ buněk v PBPC</b>			
při transplantaci pouze PBPC	6,7x10 <sup>6</sup> /kg		(2,3–22,0)
při transplantaci PBPC + BM	3,1 x10 <sup>6</sup> /kg		(0,6-18,9)
<b>Příhojení</b>			
v neutrofilech (>0,5x10 <sup>9</sup> /l)	+11		(8–29)
v trombocytech (>20x10 <sup>9</sup> /l)	+11		(4–43)
v trombocytech (>50x10 <sup>9</sup> /l)	+16		(8–90)
<b>Podpůrná léčba</b>			
substituce EM	ano	99	(94,3 %)
	medián	4	(1–43)
substituce TK	ano	103	(98,1 %)
	medián	3	(1–77)
počet febrilních dní	ano	83	(79,0 %)
	medián	4	(1–52)
počet dní na parenterálních ATB	ano	91	(86,7 %)
	medián	10	(1–61)
<b>Nejlepší výsledek léčby do dne +100</b> (hodnotitelných 77 nemocných)			
kompletní remise		39	(60,6 %)
parciální remise		31	(40,3 %)
bez odpovědi nebo progresse		7	(9,1 %)

**Tab. 3.** Procentuální zastoupení toxicity dle WHO

Toxicita	WHO st.0	WHO st. I-II	WHO st. III-IV
krvácení	63,8	34,3	2,0
mukositis	1,0	50,5	48,6
bilirubin	72,4	25,7	1,9
transaminázy	65,7	29,6	4,8
renální	65,7	33,3	1,0
kardiální	67,6	30,5	2,0
plicní	88,6	5,8	5,7
neurotoxicita	93,3	4,8	1,9



**Graf 2.** Srovnání nemocných transplantovaných pro chemosenzitivní (CHS) a chemorezistentní (CHR) onemocnění  
**A:** Pravděpodobnost doby přežití bez významné události (EFS) ( $p=0,022$ )  
**B:** Pravděpodobnost celkového přežití (OS) ( $p=0,0005$ )



**Graf 3.** Srovnání nemocných podle dosaženého výsledku po transplantaci: kompletní remise (CR) vs parciální remise (PR) vs nemocní bez odpovědi nebo v progresi (NR)  
**A:** Pravděpodobnost doby přežití bez významné události (EFS) ( $p<0,0001$ )  
**B:** Pravděpodobnost celkového přežití (OS) ( $p<0,0001$ )

notu  $20 \times 10^9/l$  resp  $50 \times 10^9/l$  v 97 případech ve dnech +11 (4–43), resp. +16 (8–90).

U všech nemocných došlo k neutropenii a trombocytopenii st. IV dle WHO. Substitute erytrocytárními koncentráty byla nutná u 99 (94,5 %) transplantací s mediánem 4 jednotky (1–43) na transplantaci, a trombocytárními koncentráty u 103 (98,1 %) transplantací s mediánem 3 (1–77). Febrilní neutropenie byla pozorována u 83 (81,4 %) transplantací s mediánem trvání 4 dny (1–52) a nutnost podání parenterálních antibiotik nastala u 91 transplantace (87,5 %) s mediánem doby aplikace 10 dní (1–61).

Nehematologická toxicita je shrnuta v tabulce 2 a grafu 1. Nejčastější nehematologickou toxicitou je mukositis, která byla ve stupni III a IV dle WHO pozorována u 48,6 % nemocných. Žádná další nehematologická toxicita nebyla ve stupni III a IV dle WHO pozorována ve frekvenci vyšší než 6 %.

Komplikace vedoucí k multiorgánovému selhání a peritransplantační mortalitě (TRM) vyústily v exitus u 7 nemocných do dne +100 po transplantaci. Ze sedmi pozorovaných úmrtí byly 3 pozorovány ve skupině čtyř nemocných s rezistentním onemocněním, u nichž se nezdařil sběr PBPC a byli transplantováni pouze BM. Při hodnocení TRM u nemocných transplantovaných s PBPC byla tedy pozorována 4 úmrtí (3,9 %).

#### LÉČEBNÝ EFEKT

Při hodnocení léčebného efektu do 3 měsíců po transplantaci bylo celkem hodnotitelných 77 nemocných, z nich bylo CR dosa-

žena nebo potvrzena u 39 nemocných (50,6 %), PR u 31 nemocných (40,3 %) a stabilní onemocnění nebo progresse u 7 nemocných (9,1 %) (tab. 2).

#### DLOUHODOBÉ SLEDOVÁNÍ

Medián sledování žijících nemocných je 5,3 roku (0,4–10,5). S tímto mediánem sledování byla pravděpodobnost celkového přežití v pěti letech 53,2 % (CI 95%, 41,5–64,9 %) a pravděpodobnost přežití bez významné události (EFS) 43,1 % (CI 95%, 31,7–54,5 %) (graf 1). Při analýze, které faktory ovlivňují EFS nebo OS, byly sledovány následující: interval mezi diagnózou a transplantací, pohlaví, věk, stav při transplantaci (chemosenzitivní onemocnění vs. chemorezistentní, dosažení CR vs. PR vs. chemorezistentní onemocnění), 1 relaps vs. následující, míra předlčení (počet cyklů, linií, radioterapie), množství převedených CD34+ buněk. Pro EFS, resp. OS se ukázaly jako významné stavy při transplantaci ( $p=0,022$ , resp. 0,0005). Pravděpodobnost EFS v 5 letech byla u chemosenzitivních nemocných 48,6 % (CI 95%, 35,5–61,2 %) u chemorezistentních 22,1 % (CI 95%, 1,8–42,4 %), pravděpodobnost OS byla v obou skupinách 62,9 % (CI 95%, 50,0–75,8 %), resp. 19,3 % (CI 95%, 0,1–38,5 %). Významným faktorem bylo i množství převedených CD34+ buněk ( $<5 \times 10^6/kg$  vs.  $\geq 5 \times 10^6/kg$ ,  $p=0,05$ ) (graf 2). Jako faktor neobsažený v předtransplantačních charakteristikách jsme hodnotili i dosaženou odpověď po HDT – srovnání kompletní remise parciální proti rezistentnímu onemocně-

ni. Rozdíl mezi nemocnými, kteří byli po HDT v CR, proti nemocným v PR, resp. v progresi byl pro EFS 62,1 % (CI 95%, 46,0–78,2 %) proti 34,6 % (CI 95%, 17,4–51,6 %), pro OS to bylo 81,1 % (CI 95%, 68,6 až 93,6 %) proti 42,9 % (CI 95%, 24,7–61,1 %), všichni nemocní bez odpovědi, resp. v progresi (kromě jednoho) zemřeli do dvou let po HDT ( $p < 0,0001$ ) (viz graf 3). Při multivariační analýze vymizel vliv množství CD34+ buněk.

Pro relaps po ASCT byla u dvou nemocných použita po dosažení další remise záchrannou terapií alogenní transplantace s redukovaným přípravným režimem. Oba pacienti dosáhli kompletní remise, v níž jsou nyní +16 a +3 měsíce po alogenní transplantaci. Ze tří nemocných, kteří byli transplantováni pro relaps opakovaně, je jedna pacientka v kompletní remisi, u jedné došlo k relapsu a byla úspěšně alogenně transplantována a jedna zemřela do dne +100 z důvodu embolizace po extrakci centrálního žilního katetru v referujícím zdravotnickém zařízení.

Za dobu sledování bylo pozorováno celkem 39 úmrtí, z nichž bylo 26 způsobeno Hodgkinovým lymfomem, 8 bylo důsledkem transplantačních komplikací (jedno oddálené úmrtí na septický stav, v pěti případech jsme pozorovali sekundární malignitu – ve dvou případech se jednalo o myelodysplastický syndrom, který přešel do akutní leukémie, v jednom se jednalo o non-hodgkinský lymfom a ve dvou o solidní tumor.

## DISKUZE

Nemocní s HL mají velkou šanci na vyléčení již při úvodní linii léčby. Nicméně část z nich, zejména ze skupiny nemocných s pokročilým onemocněním, neodpoví dostatečně na léčbu a u části dojde k relapsu. Volba terapie potom záleží na několika faktorech, mezi které počítáme typ primární léčby, rychlost relapsu, jeho rozsah, ale také celkový stav nemocného. U nemocných, kteří neabsolvovali první linii v plném rozsahu (např. ABVD, BEACOPP), lze použít tuto léčbu. U nemocných, u nichž došlo k relapsu s velkým odpustem od primární léčby, lze původní režim opakovat, pakliže to dovolí kumulativní toxicita a další faktory. Na základě poměrně rozsáhlých unicentrických nebo multicentrických studií (18–20) se jako významný prostředek pro nemocné s relapsem ukázala HDT s ASCT. V současné době však existují pouze dvě randomizované studie (21, 22), které se zaměřily na srovnání významu HDT s ASCT a záchranné léčby pouze chemoterapií bez HDT. V obou z nich bylo dosaženo v rameni s HDT lepšího přežití bez progresu, resp. bez selhání léčby, ale celkové přežití bylo identické. Jedním z možných vysvětlení je, že nemocní, kteří byli pro relaps primárně léčeni pouze chemoterapií, mohou při další progresi být léčeni HDT s ASCT, a tím se stírá rozdíl v celkovém přežití. HDT s ASCT nicméně zůstává standardním postupem u nemocných, u nichž došlo k relapsu, i u nemocných, u nichž selhala primární léčba (23), přestože u těchto nemocných jsou léčebné výsledky horší s pravděpodobností EFS (doby do progresu) a OS 32 % a 36 %.

V naší sestavě byla při mediánu sledování pět let pravděpodobnost EFS a OS 43,1 % a 53,2 %. Tento výsledek odpovídá publikovaným studiím (18–20, 24, 25), kde se dlouhodobé přežití bez selhání léčby pohybuje v rozmezí 25–45 % a OS v pěti letech kolem 50 %. V současné době byla publikována studie s mediánem sledování 11 let, kde pravděpodobnost přežití v 15 letech bylo 54 % (26). Z pohledu faktorů, které mohou predikovat dlouhodobý výsledek, se potvrdil jako nejvýznamnější stav při transplantaci, kdy nemocní s chemosenzitivním onemocněním mají signifikantně lepší výsledky než nemocí s chemorezistentním onemocněním. Stejně tak vlastní efekt HDT s ASCT je významným prediktivním faktorem.

Relaps či progresu HL byla nejvýznamnější příčinou úmrtí (26

z 39 pozorovaných). Riziko relapsu je nejvyšší do dvou let od transplantace, i když jsme pozorovali i některé pozdní relapsy. Nemocní s relapsem jsou léčeni podle rozsahu relapsu, jeho rychlosti a dalších faktorů. Jednou z možností je opakování HDT s ASCT, což jsme v naší sestavě provedli u 3 nemocných. Jinou možností, která se v současnosti zkoumá, je využití potenciálního GVL (graft versus lymphoma) efektu při aplikaci alogenní transplantace s přípravným režimem s redukovanou intenzitou (RIC) (27, 28). V naší sestavě jsem tuto metodu použil u dvou nemocných, oba byli indikováni s chemosenzitivním onemocněním a oba jsou v současné době v kompletní remisi.

Zlepšení výsledků transplantační léčby se zkouší pomocí intenzifikace HDT s ASCT, která může probíhat jednak zvyšováním dávky některých cytostatik, jako je například etoposid v režimu BEAM (14, 29), v současné době se však nezdá, že by tato intenzifikace přinášela zlepšení výsledků (30). Jinou možností je použití tandemové vysokodávkované terapie s ASCT (15, 31, 32). V poslední době probíhá randomizovaná studie mající za cíl srovnat sekvenční vysokodávkovanou terapii (33) s klasickou jednoduchou HDT s ASCT.

Komplikace léčby včetně úmrtí na vlastní transplantační režim se pohybují v současné době pod hranicí 5 %. V naší sestavě jsme zaznamenali 3 úmrtí ve skupině 4 nemocných, kteří byli významně předléčení a léčeni pro vysoce rizikovou nebo rezistentní formu onemocnění a nebyli schopni mobilizovat dostatečné množství CD34+ buněk do obvodové krve. Proto byli transplantováni pouze s podáním odebrané kostní dřeně. TRM byla u nemocných transplantovaných s pomocí PBPC 3,9 %. Vzhledem k těmto výsledkům jsme upustili od používání kostní dřeně u nemocných, u nichž selhala mobilizace. Obecně však při srovnání výsledků s použitím PBPC a BM nebyly nalezeny rozdíly při dlouhodobém sledování (34). Významným prvkem, který je sledován, je rovněž výskyt dlouhodobých komplikací, zejména sekundárních malignit. V naší sestavě se vyskytl sekundární nádor u pěti nemocných (incidence 6,0 %), dvakrát se jednalo o akutní leukémii, jedenkrát o NHL a dvakrát o solidní tumor. Přes původní zprávy mající za to, že výskyt sekundárních malignit je jednoznačně spojen s provedením HDT s ASCT, se ukázalo, že výskyt zejména sekundárních leukémií nebude pravděpodobně vyšší ve srovnání se standardně léčenou populací (35, 36), a pokud hraje nějaký faktor roli při zvyšování rizika jejich vzniku, je to s velkou pravděpodobností celotělové ozáření (37).

### Zkratky

ABVD	– (adriamycin, bleomycin, vinblastin, DTIC)
ANOVA	– analýza rozptylu (ANalysis Of VAriation)
ASCT	– autologní transplantace krevetvorných buněk (autologous stem cell transplantation)
BEACOPP	– bleomycin, etoposid, adriamycin, cyklofosfamid, vincristin, prokarbazin, prednison)
BEAM	– (BCNU, etoposid, Ara-C, melfalan)
CR	– kompletní remise
CT	– výpočetní tografie
EBMT	– Evropská skupina pro transplantaci kostní dřeně a krve
EFS	– pravděpodobnost přežití bez významné události
G-CSF	– granulocytové kolonie stimulující faktor – Neupogen
HDT	– vysokodávkovaná terapie (high dose therapy)
HL	– Hodgkinův lymfom
OS	– celkové přežití
PBPC	– periferní progenitorové buňky
PD	– progresivní onemocnění
PET	– pozitronová emisní tomografie
PR	– parciální remise
TRM	– peritransplantační mortalitě
SCT	– transplantace krevetvorných buněk (stem cell transplantation)
SD	– chemorezistentní onemocnění

LITERATURA

1. **DeVita, V. T. Jr.:** Hodgkin's disease - clinical trials and travails. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348, s. 2375-2376.
2. **Hasenclever, D., Diehl, V.:** A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 339, s. 1506-1514.
3. **Marková, J.:** Současné strategie léčby Hodgkinovy choroby. *Klin. Onkol.*, 2000, 13, s. 74-78.
4. **Canellos, G. P., Anderson, J. R., Propert, K. J. et al.:** Chemotherapy of advanced Hodgkin's disease with MOPP, ABVD, or MOPP alternating with ABVD. *N. Engl. J. Med.*, 1992, 327, s. 1478-1484.
5. **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.
6. **Gobbi, P. G., Levis, A., Chisesi, T. et al.:** ABVD Versus Modified Stanford V Versus MOPPEBVCAD With Optional and Limited Radiotherapy in Intermediate- and Advanced-Stage Hodgkin's Lymphoma: Final Results of a Multicenter Randomized Trial by the Intergruppo Italiano Linfomi. *J. Clin. Oncol.*, 2005, ROČNÍK, STRANY.
7. **Horning, S. J., Hoppe, R. T., Breslin, S. et al.:** Stanford V and radiotherapy for locally extensive and advanced Hodgkin's disease: mature results of a prospective clinical trial. *J. Clin. Oncol.*, 2002, 20, s. 630-637.
8. **Velasquez, W. S., McLaughlin, P., Tucker, S. et al.:** ESHAP - An effective chemotherapy regimen in refractory and relapsing lymphoma: A 4-year follow-up study. *J. Clin. Oncol.*, 1994, 12, s. 1169-1176.
9. **Trněný, M., Slabý, J., Marinov, I. et al.:** Ifosfamide, VP-16 and epirubicin (IVE) plus G-CSF is an effective peripheral blood progenitor cells (PBPC) mobilization regimen in lymphoma patients. *Blood*, 1996, 88 (Suppl. 1), s. 243b.
10. **Moskovitz, C. H., Bertino, J. R., Glassman, J. R. et al.:** Ifosfamide, carboplatin, and etoposide: a highly effective cytoreduction and peripheral-blood progenitor-cell mobilization regimen for transplant-eligible patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 1999, 17, s. 3776-3385.
11. **Gasová, Z., Ludvíková, Z., Kučerová, I. et al.:** Separation of hematopoietic progenitor cells from peripheral blood in patients with hemato-oncologic malignancy. *Čas. Lék. čes.*, 1999, 138, s. 369-373.
12. **Lukášová, M., Hrabánek, J., Chudomel, V. et al.:** Results of bone marrow transplantation at the Institute of Hematology and Blood Transfusion in Prague. *Čas. Lék. čes.*, 1992, 131, s. 764-769.
13. **Johnsen, H. E., Knudsen, L. M.:** Nordic flow cytometry standards for CD34+ cell enumeration in blood and leukapheresis products: report from the second Nordic Workshop. Nordic Stem Cell Laboratory Group (NSCL-G). *J. Hematother.*, 1996, 5, s. 237-245.
14. **Mills, W., Strang, J., Goldstone, A. H., Linch, D. C.:** Dose intensification of etoposide in the BEAM ABMT protocol for malignant lymphoma. *Leuk. Lymphoma*, 1995, 17, s. 263-270.
15. **Trněný, M., Slabý, J., Benešová, K. et al.:** The tandem high-dose therapy (HDT) with autologous stem cell transplantation (ASCT) for resistant and poor risk lymphoma patients. *Bone Marrow Transplant.*, 2000, 25, s. S141.
16. **Cheson, B. D., Horning, S. J., Coiffier, B. et al.:** Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J. Clin. Oncol.*, 1999, 17, s. 1244.
17. **Kaplan, E., Maier, P.:** Nonparametric estimation from incomplete observation. *J. Am. Stat. Assoc.*, 1958, 53, s. 457.
18. **Bierman, P. J., Anderson, J. R., Freeman, M. B. et al.:** High-dose chemotherapy followed by autologous hematopoietic rescue for Hodgkin's disease patients following first relapse after chemotherapy. *Ann. Oncol.*, 1996, 7, s. 151-156.
19. **Chopra, R., Mcmillan, A. K., Linch, D. C. et al.:** The place of high-dose BEAM therapy and autologous bone marrow transplantation in poor-risk Hodgkin's disease. A single-center eight-year study of 155 patients. *Blood*, 1993, 81, s. 1137-1145.
20. **Sweetenham, J. W., Taghipour, G., Milligan, D. et al.:** High-dose therapy and autologous stem cell rescue for patients with Hodgkin's disease in first relapse after chemotherapy: results from the EBMT. Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 1997, 20, s. 745-752.
21. **Linch, D. C., Winfield, D., Goldstone, A. H. et al.:** Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet*, 1993, 341, s. 1051-1054.
22. **Schmitz, N., Pfistner, B., Sextro, M. et al.:** Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet*, 2002, 359, s. 2065-2071.
23. **Sweetenham, J. W., Carella, A. M., Taghipour, G. et al.:** High-dose therapy and autologous stem-cell transplantation for adult patients with Hodgkin's disease who do not enter remission after induction chemotherapy: results in 175 patients reported to the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Lymphoma Working Party. *J. Clin. Oncol.*, 1999, 17, s. 3101-3109.
24. **Bierman, P. J., Bagin, R. G., Jagannath, S. et al.:** High dose chemotherapy followed by autologous hematopoietic rescue in Hodgkin's disease: long-term follow-up in 128 patients. *Ann. Oncol.*, 1993, 4, s. 767-773.
25. **Sureda, A., Arranz, R., Iriando, A. et al.:** Autologous stem-cell transplantation for Hodgkin's disease: results and prognostic factors in 494 patients from the Grupo Español de Linfomas/Transplante Autologo de Medula Osea Spanish Cooperative Group. *J. Clin. Oncol.*, 2001, 19, s. 1395-404.
26. **Lavoie, J. C., Connors, J. M., Phillips, G. L. et al.:** High-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation for primary refractory or relapsed Hodgkin lymphoma: long-term outcome in the first 100 patients treated in Vancouver. *Blood*, 2005, 106, s. 1473-1478.
27. **Peggs, K. S., Hunter, A., Chopra, R. et al.:** Clinical evidence of a graft-versus-Hodgkin's-lymphoma effect after reduced-intensity allogeneic transplantation. *Lancet*, 2005, 365, s. 1934-1941.
28. **Schmitz, N., Sureda, A., Robinson, S.:** Allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells after nonmyeloablative conditioning for Hodgkin's disease: indications and results. *Semin. Oncol.*, 2004, 31, s. 27-32.
29. **Trněný, M., Benešová, K., Slabý, J. et al.:** BEAM 400 with etoposide escalation is save and tolerable conditioning regimen. *Bone Marrow Transplant.*, 1996, 16 (Suppl.1), s. 363.
30. **Martin, A., Caballero, M. D., Perez-Simon, J. A. et al.:** Results of autologous transplantation in lymphoma are not improved by increasing the dose of etoposide in the BEAM regimen: a single-centre sequential-cohort study. *Bone Marrow Transplant.*, 2004, 34, s. 675-682.
31. **Brice, P., Divine, M., Simon, D. et al.:** Feasibility of tandem autologous stem-cell transplantation (ASCT) in induction failure or very unfavorable (UF) relapse from Hodgkin's disease (HD). SFGM/GELA Study Group. *Ann. Oncol.*, 1999, 10, s. 1485-1488.
32. **Fitoussi, O., Simon, D., Brice, P. et al.:** Tandem transplant of peripheral blood stem cells for patients with poor-prognosis Hodgkin's disease or non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.*, 1999, 24, s. 747-755.
33. **Josting, A., Rudolph, C., Mapara, M. et al.:** Cologne high-dose sequential chemotherapy in relapsed and refractory Hodgkin lymphoma - Results of a large multicenter study for the prospective randomized HDR-2 trial of the German Hodgkin Lymphoma Study Group (GHSG). *Blood*, 2002, 100, s. 216A-217A.
34. **Perry, A. R., Peniket, A. J., Watts, M. J. et al.:** Peripheral blood stem cell versus autologous bone marrow transplantation for Hodgkin's disease: equivalent survival outcome in a single-centre matched-pair analysis. *Br. J. Haematol.*, 1999, 105, s. 280-287.
35. **Harrison, C. N., Gregory, W., Hudson, G. V. et al.:** High-dose BEAM chemotherapy with autologous haemopoietic stem cell transplantation for Hodgkin's disease is unlikely to be associated with a major increased risk of secondary MDS/AML. *Br. J. Cancer*, 1999, 81, s. 476-483.
36. **Milligan, D. W., Ruiz De Elvira, M. C., Kolb, H. J. et al.:** Secondary leukaemia and myelodysplasia after autografting for lymphoma: results from the EBMT. EBMT Lymphoma and Late Effects Working Parties. European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br. J. Haematol.*, 1999, 106, s. 1020-1106.
37. **Wheeler, C., Khurshid, A., Ibrahim, J. et al.:** Incidence of post transplant myelodysplasia/acute leukemia in non-Hodgkin's lymphoma patients compared with Hodgkin's disease patients undergoing autologous transplantation following cyclophosphamide, carmustine, and etoposide (CBV). *Leuk. Lymphoma*, 2001, 40, s. 499-509.

Práce byla umožněna díky podpoře VZ MSM 0021620808.



## PŮVODNÍ PRÁCE

# Význam kvantitativního hodnocení transkriptů BCR-ABL pomocí real-time PCR pro efektivní léčbu chronické myeloidní leukémie

Beránek M., <sup>1</sup>Voglová J., <sup>1</sup>Sýkorová A., <sup>1</sup>Belada D., <sup>1</sup>Bláha M.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN, Hradec Králové

<sup>1</sup>II. interní klinika, oddělení klinické hematologie LF a FN, Hradec Králové

## ABSTRAKT

**Východisko.** Molekulárně biologické metody založené na reverzní transkripci a následné polymerázové řetězové reakci (RT-PCR) jsou schopny detekovat přítomnost transkriptu BCR-ABL u chronické myeloidní leukémie (CML). V tomto sdělení prezentujeme naše zkušenosti se sledováním reziduální leukémie metodou real-time PCR s detekcí hybridizačními sondami u nemocných s CML léčených imatinibem a při sběru periferních krvetvorných buněk (PKB).

**Metody a výsledky.** Stanovení hladin transkriptu BCR-ABL v periferní krvi bylo provedeno u 27 osob před nasazením a v průběhu léčby imatinibem mesylátem. Medián relativního množství BCR-ABL v periferní krvi před nasazením imatinibu byl 2,55 %. Množství transkriptu u 23 osob bez rezistence vůči imatinibu pokleslo během prvních šesti měsíců léčby na hodnotu 0,02 %. Po dvanáctiměsíční léčbě poklesl medián množství transkriptu na 0,005 %. V dalším průběhu léčby hladiny BCR-ABL kolísaly mezi hodnotami pod detekčním limitem metody (0,001 %) a 0,005 %. Tři pacienti byli vůči imatinibu primárně rezistentní s rozsahem hodnot od 0,13 % do 11,7 %. Jeden pacient vykazoval po 18 měsících léčby známky molekulárního relapsu. Z 16 pacientů po stimulaci PKB filgrastimem měly pouze dvě vyšetřované osoby hodnoty BCR-ABL v periferní krvi i v PKB pod detekčním limitem použité metody. U ostatních osob se koncentrace fúzního transkriptu pohybovala v koncentracích spolehlivě stanovitelných metodou RT-PCR.

**Závěry.** Vzhledem k svému prognostickému významu je vyšetření BCR-ABL vhodné pro monitorování kinetiky reziduální choroby. Stanovení provedené v koncentráte PKB jako potenciálním autotransplantátu může kompletovat informace o kvalitě těchto buněk z hlediska proporce BCR-ABL transkriptu a nastínit další možné terapeutické postupy a prognózu pacienta.

**Klíčová slova:** BCR-ABL, RT-PCR, imatinib, minimální reziduální choroba, leukémie.

## ABSTRACT

*Beránek M., Voglová J., Sýkorová A. et al.: Importance of Quantitative Evaluation of BCR-ABL Transcripts Using Real-time PCR for Effective Treatment of Chronic Myeloid Leukemia*

**Background.** Molecular biology methods based on reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR) are able to detect the presence of BCR-ABL transcripts in chronic myeloid leukemia (CML). In this study we present our experience with monitoring of residual disease using real-time PCR with hybridization probes detection in patients treated with imatinib mesylate and in collected peripheral blood progenitor cells (PBPC).

**Methods and Results.** We measured the level of BCR-ABL transcripts in peripheral blood cells of 27 subjects before and in the course of the imatinib treatment. The median of relative quantity of BCR-ABL in the blood before imatinib therapy was 2.55%. The number of the transcripts in 23 imatinib-sensitive subjects decreased to 0.02% in 6 months. After 12 months of the treatment the BCR-ABL median was 0.005%. Subsequent levels fluctuated between values below the detection limit (DL, 0.001%) and 0.005%. Three patients were primarily resistant to imatinib with the BCR-ABL range of 0.13%-11.7% during the treatment. One subject showed marks of molecular relapse after 18 months of the treatment. Only two of 16 filgrastim-stimulated patients had BCR-ABL levels in the blood and in collected PBPC below DL. In other subjects BCR-ABL transcripts were determined within the measurable range of RT-PCR.

**Conclusions.** Taking into account prognostic importance, the measurement of BCR-ABL transcripts is an effective approach to monitoring of residual CML kinetics. Evaluation of BCR-ABL levels in collected PBPC can complete information on quality of the cells in potential autotransplants, and choose subsequent therapeutic protocols and patient prognosis.

**Key words:** BCR-ABL, RT-PCR, imatinib, minimal residual disease, leukemia.

Be.

Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 25–29.

**D**ůsledkem reciproční translokace t(9;22) (q34; q11) přítomné v krvetvorných krevních buňkách 90–95 % osob s chronickou myeloidní leukémií (CML) je tvorba fúzního transkriptu BCR-ABL (1, 2). Při klasické CML vznikají tyto transkripty spojením exonu b2 nebo b3 z BCR oblasti (breakpoint cluster region) chromozómu 22 s exonem a2 abl genu lokalizovaném na chromozómu 9. Translací obou typů transkriptů b2a2 nebo b3a2 se formuje tentýž chimerní protein p210 s tyrozinkinázovou aktivitou, jehož nekontrolovaná exprese je významná pro maligní expanzi myeloidních buněk (3, 4).

Imatinib mesylát (Glivec®, Novartis Pharma AG, Basilej, Švýcarsko) blokuje fosforylační funkci tyrozinkináz včetně ABL kinázy. Mechanismem účinku je kompetitivní inhibice vazebného místa enzymu pro ATP a přerušení následně kaskády intracelulárních signálních drah vedoucích při nekontrolované expresi abl genu k maligní transformaci buňky (5). U nemocných v chronické fázi CML imatinib indukuje signifikantně vyšší procento hematologických a kompletních cytogenetických odpovědí (CCR) než interferon alfa (6, 7). Z tohoto důvodu se imatinib stal lékem první volby u většiny nově diagnostikovaných CML.

I během léčby imatinibem však část leukemických buněk přetrvává v organismu jako tzv. minimální reziduální choroba (MRD), která je schopna vyvolat relaps původního onemocnění. Jsou známy také případy primární (nedosažení hematologické nebo cytogenetické odpovědi) i sekundární – získané rezistence na imatinib (relaps, ztráta účinnosti po předchozí příznivé odpovědi) (5). Časně zjištěná rezistence nebo relaps CML a změna léčebné strategie dávají nemocnému naději na lepší výsledek léčby.

Metodou nejčastěji používanou pro sledování MRD je fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) umožňující hodnocení cytogenetické odpovědi s citlivostí 1/10<sup>3</sup> buněk. Molekulárně biologické metody založené na reverzní transkripci mRNA BCR-ABL genu a následné polymerázové řetězové reakci (RT-PCR) jsou schopny detekovat přítomnost BCR-ABL transkriptů i v koncentracích o dva řády nižších. Jedná se většinou o semikvantitativní a kvantitativní přístupy využívající kompetitivní PCR nebo real-time PCR (9–11).

Monitorování MRD při léčbě imatinibem nebo po alogenní transplantaci periferních krvetvorných buněk (PKB) umožňuje též stanovení nejvhodnější doby sběru PKB jako určité „zálohy“ pro léčbu rezistence či relapsu autologní transplantací u těch nemocných, kteří nemají vhodného dárce pro alogenní transplantaci.

Sdělení prezentuje naše zkušenosti se sledováním reziduální leukémie metodou real-time PCR u nemocných s CML léčených imatinibem a při sběru PKB.

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

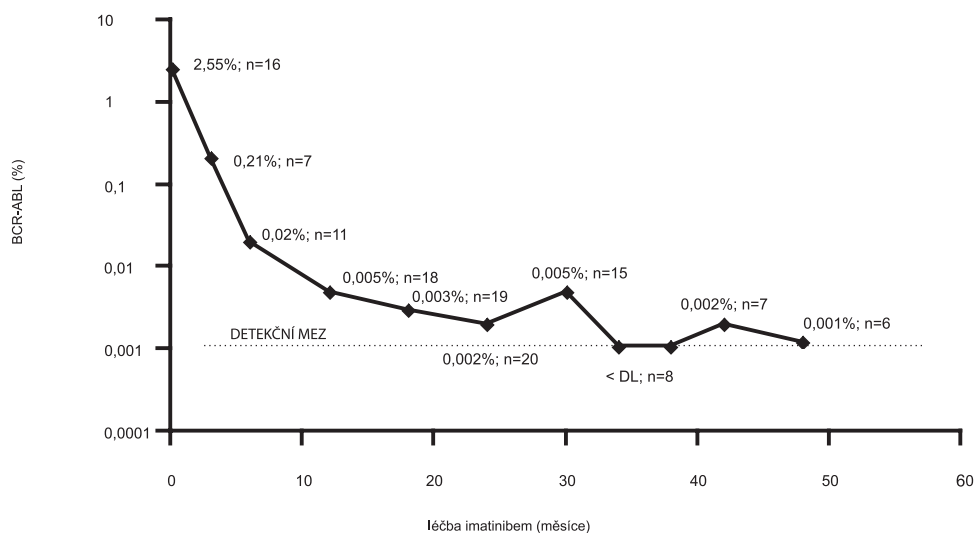
Od října 2001 bylo na našem pracovišti vyšetřeno celkem 70 osob s diagnózou CML. RT-PCR prokázala přítomnost BCR-ABL transkriptu v 68 případech (97 %). Účinnost terapie imatinibem stanovená na základě hladin transkriptu BCR-ABL v periferní krvi byla hodnocena u 15 žen a 12 mužů s mediánem věku 57 let; rozsah 27–73 let. Předpokladem pro zařazení do této studie byly minimálně tři vyšetřené vzorky periferní krve odebrané v průběhu léčby.

Většina pacientů byla před aplikací imatinibu léčena interferonem alfa nebo hydroxyureou. Perorální léčba imatinibem byla zahájena v dávce 400 mg denně. Při hematologické rezistenci nebo relapsu a cytogenetické rezistenci byla dávka zvýšena na 600–800 mg denně. Za kompletní hematologickou odpověď byla považována úprava hodnot krevního obrazu (leukocyty <10x10<sup>9</sup>/l, trombocyty <400x10<sup>9</sup>/l, hemoglobin >100 g/l), vymizení nezralých granulocytů z diferenciálního rozpočtu a ústup hepatosplenomegalie. Cytogenetická odpověď byla hodnocena po 6 a 12 měsících léčby, a poté vždy v ročních intervalech analýzou karyotypu. V nejasných případech bylo provedeno i vyšetření metodou interfázové FISH (obě vyšetření na OLG FN, Hradec Králové). Po 3 a 6 měsících léčby a dále vždy v půlročních intervalech bylo odebíráno 5–10 ml nesrážlivé periferní krve pro analýzu BCR-ABL transkriptu.

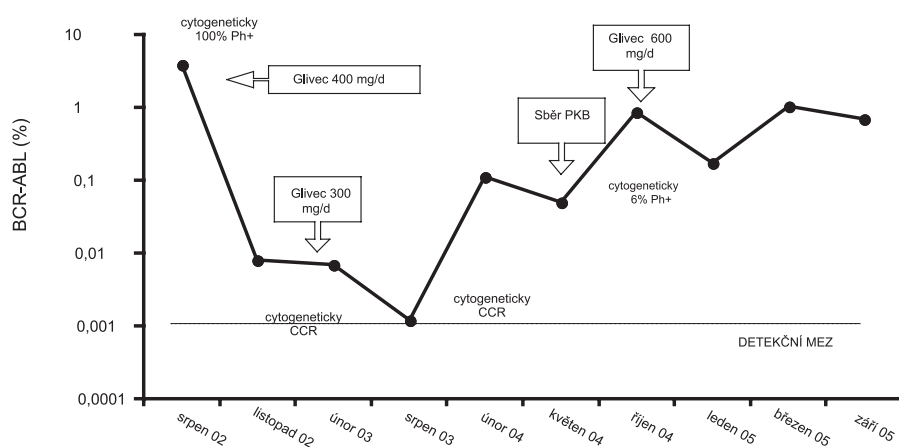
Leukocyty byly separovány pomocí hypotonické lýzy erytrocytů. Celkovou RNA jsme extrahovali z 0,5–1x10<sup>7</sup> buněk modifikací metody dle Chomczynski a Sacchi (12). Syntéza cDNA pomocí náhodných hexamerů byla provedena soupravou LightCycler t(9;22) Quantification Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, SRN). Jedna reakce obsahovala 250 ng RNA. Vzorky cDNA byly poté využity jednak pro typizaci BCR-ABL transkriptu, a jednak pro relativní kvantifikaci BCR-ABL výše uvedenou soupravou založenou na detekci hybridizačními sondami. Metoda je schopna zachytit transkripty b2a2, b3a2, b2a3, b3a3 a e1a2. Výsledek analýzy je normalizován vůči expresi kontrolního genu G6PDH a vyjádřen v procentech. Soupravu jsme před její klinickou aplikací analyticky verifikovali (13). Ověřený detekční limit (DL) metody s variačním koeficientem menším než 30 % byl 0,001 %.

U 16 pacientů s CML byla po dosažení CCR provedena mobilizace PKB stimulací filgrastimem (G-CSF) v dávce 10–15 ug/kg/den s.c. Sběr PKB na separátoru krevních buněk Cobe Spectra (Denver, Colorado, USA) byl zahájen 3.–4. den stimulace a pokračoval denně do dosažení cílové hodnoty CD34+ buněk ve vaku (>2x10<sup>6</sup>/kg, maximálně 5 aferéz). Pro získání koncentráту o objemu 150 ml bylo při rychlosti sběru 0,7 ml/min promyto okolo 15–16 litrů krve. Reziduální leukémie byla hodnocena stanovením kvantitativní transkriptu BCR-ABL jednak v periferní krvi před mobilizací PKB a dále ve sběrných vacích a v periferní krvi 3–6 měsíců po skončení sběru.

Vzhledem k nenormalitě rozložení dat v souborech byl pro statistická hodnocení zvolen Wilcoxon-Whiteův test dvou nezávislých výběrů.



**Graf 1.** Pokles množství BCR-ABL dosažený při několikaleté léčbě imatinibem  
Hodnoty vyneseny v grafu v logaritmickém znázornění představují vypočítané mediány, n je počet osob hodnocených k danému časovému období.



**Graf 2.** Kolísání hladin BCR-ABL během tříletého léčení pacienta s molekulárním a cytogenetickým relapsem  
V grafu jsou zaznamenány též změny dávkování imatinibu a termín sběru periferních krvevorných buněk. Veškeré výsledky měření byly nad detekčním limitem vyšetřovací metody.

**Tab. 1.** Průběžné hodnoty BCR-ABL (vyjádřené v procentech) u primárně a sekundárně rezistentních pacientů zjištěné při kontrolních vyšetřeních během léčby imatinibem

Identifikace	doba léčení glivecem (měsíce)							
	0	6	12	18	24	30	36	48
rezistence č. 1	-	-	6,3	6	2,44	0,77	1,2	11,7
rezistence č. 2	1,66	3,6	1,19	11,3				
rezistence č. 3	1,33	0,13	3,6					
relaps č. 1	3,8	0,07	0,001	0,11	0,85	1,04	0,69	

## VÝSLEDKY

U všech 27 osob zahrnutých do studie byla před zahájením léčby potvrzena přítomnost transkriptu BCR-ABL v periferních krevních buňkách. U 9 pacientů byl zachycen transkript b2a2 a v osmnácti případech transkript b3a2. Medián relativního množství BCR-ABL v periferní krvi před nasazením imatinibu byl 2,55 % (rozsah 0,07–15,1%).

Po šestiměsíční léčbě imatinibem došlo u 10 z 11 vyšetřených osob (92 %) bez rezistence ke klinicky významnému poklesu transkriptu BCR-ABL. Medián množství transkriptu dosáhl hodnoty 0,02 % (rozsah <DL – 2,0 %). Po dvanáctiměsíční léčbě došlo k snížení mediánu množství transkriptu na 0,005 % (rozsah <DL – 0,27 %; n=18). Tyto změny byly vůči sobě statisticky významné (p<0,001). Další průběh léčby ukazuje graf 1 s vyneseními mediány v čase. Kvantita BCR-ABL je zde vyjádřena v logaritmickém měřítku. Od 12. měsíce terapie Glivecem fluktuují hodnoty BCR-ABL okolo detekční meze metody, nicméně údaje po 36, 42 a 48 měsících léčby jsou zatím ovlivněny malými počty vyšetřených osob.

Tři pacienti byli vůči imatinibu primárně rezistentní. Jejich hladiny BCR-ABL v periferních buňkách kolísaly během léčby individuálně od 0,13 % do 11,7 %. Jeden pacient vykazoval známky sekundární rezistence, resp. molekulárního relapsu. Vývoj koncentrace BCR-ABL u těchto čtyř rezistentních osob je znázorněn v tabulce 1. Detailnější informace o průběhu více než tříleté léčby imatinibem pacienta v relapsu ukazuje graf 2.

Výsledky stanovení BCR-ABL u 16 pacientů po stimulaci periferních kmenových buněk filgrastimem ukazuje tabulka 2. Jsou zde zaznamenána množství transkriptu BCR-ABL ve sběrných vracích

**Tab. 2.** Množství BCR-ABL transkriptu u 16 pacientů s CML stimulovaných filgrastimem v období sběru periferních krvevorných buněk (PKB)

Biologický materiál	medián (%)	rozmezí (%)
krev před odběrem PKB	0,001	<DL - 0,12
PKB ve sběrném vaku	0,002	<DL - 0,10
krev 3–6 měsíců po sběru PKB	<DL	<DL - 0,85

a v periferní krvi. Pouze dvě vyšetřované osoby měly hodnoty BCR-ABL v periferní krvi i PKB pod detekčním limitem použité metody. U ostatních osob se koncentrace fúzního transkriptu pohybovala v hladinách spolehlivě stanovitelných metodou RT-PCR.

## DISKUZE

Kompetitivní PCR ve dvoustupňové podobě a jedноступňová real-time PCR založená buď na 5' nukleázové aktivitě Taq polymerázy (TaqMan™ technologie), nebo na hybridizačních sondách jsou citlivé metody schopné zachytit až jednu molekulu fúzního transkriptu BCR-ABL mezi 10<sup>5</sup>–10<sup>6</sup> normálními transkripty (9–11, 14, 15). Náš detekční limit pro relativní kvantifikaci pomocí real-time PCR (0,001 %; 10<sup>-5</sup>) byl odvozen nejen z nejnižší odezvy detektoru k rostoucí fluorescenci PCR produktů, ale též z hodnot reprodukovatelnosti dosažených ve vzorcích s nízkými koncentracemi transkriptu (13). Při hodnotě detekčního limitu jsou analytické

charakteristiky metody přijatelné a výsledek lze jednoznačně klinicky interpretovat.

Vzhledem k nestabilitě RNA molekul ve vyšetřovaném biologickém materiálu je v současnosti preferována relativní kvantifikace transkriptu umožňující vztáhnout (normalizovat) zjištěný počet BCR-ABL molekul vůči transkriptům house-keepingových genů, jejichž aktuální množství odráží stupeň rozkladu RNA. Hodnocení relativního množství BCR-ABL je závislé na výběru těchto konstitutivně exprimovaných referenčních genů. K normalizaci hladin se jich používá celá řada (ABL, GAPDH, G6PDH, BCR, β-aktin, β2-mikroglobulin atd.). Vzájemný poměr množství transkriptů jednotlivých house-keepingových genů se může významně lišit (11), zvláště v případech, kdy hodnotíme transkripci v transformovaných buněčných liniích nebo v různých tkáních. Díky této variabilitě exprese konstitutivních genů nemusí být mezilaboratorní porovnávání výsledků relativní kvantifikace dosažených odlišnými analytickými metodami vždy zcela objektivní.

Geny BCR-ABL a G6PDH byly amplifikovány separátně ve dvou kapilárách. Tento přístup je nezbytný kvůli koncentračnímu rozdílu mezi oběma transkripty, který může během úspěšné léčby dosáhnout až hranice šesti řádů. Tato diference by při koamplifikaci obou PCR produktů v jedné kapiláře mohla vést k falešně nižším hodnotám.

Z dosavadních výsledků je patrné, že u neléčené CML v chronické fázi lze očekávat množství BCR-ABL v periferní krvi v jednotkách až desítkách procent. Pacienti v našem souboru byli v minulosti většinou léčeni interferonem alfa nebo hydroxyureou. Proto hodnoty BCR-ABL před nasazením imatinibu kolísaly od 0,07 % k 15 %.

Po roční léčbě imatinibem dosáhl medián množství BCR-ABL hladin blízkých detekčnímu limitu naší vyšetřovací metody. V dalším průběhu léčby mediány hodnot BCR-ABL kolísaly mezi <DL a 0,005 %. Kompletní molekulární remise (pokles o tři řády, transkript BCR-ABL pod detekčním limitem) byla při léčbě imatinibem pozorována jen u třetiny případů CML (8). Nemocní, kteří nedosáhli po 6 měsících léčby snížení koncentrace transkriptu minimálně o dva řády, jsou více ohroženi relapsem (7).

Rezistence na imatinib může být primární, nebo vzniknout kdykoliv během léčby. U všech tří našich primárně rezistentních pacientů byl tento jev zjištěn v průběhu prvního roku léčby. V případě rezistentního pacienta 1 v tabulce 2 byla léčba imatinibem zahájena v listopadu roku 2000 a biologický materiál z období prvních šesti měsíců léčby není k dispozici. Tento pacient však při vyšetření metodou FISH po 3 měsících a po 6 měsících léčby imatinibem nedosáhl pozitivní cytogenetické odpovědi. Kromě informace o primární rezistenci, která má pro lékaře díky klinickému a hematologickému vyšetření pouze doplňující informaci, umožňuje stanovení množství BCR-ABL transkriptu včasné odhalení vznikajícího relapsu. Molekulární relaps CML může předcházet relaps klinický až o několik měsíců. Proto se doporučuje monitorovat MRD každé 3 měsíce po dosažení kompletní cytogenetické odpovědi (16).

Metoda real-time RT-PCR je schopna detekovat minimální koncentrace BCR-ABL nejen v periferní krvi, ale též ve sběrných vacích většiny léčených osob po mobilizaci periferních kmenových buněk filgrastimem. Získané výsledky mohou kompletovat informace o kvalitě těchto buněk z hlediska proporce BCR-ABL transkriptu v potenciálním autotransplantátu a nastínit další terapeutické postupy a prognosu pacienta.

## ZÁVĚR

Aplikace real-time PCR umožňuje jednostupňové vyšetřování relativního množství BCR-ABL v periferní krvi nebo v kostní

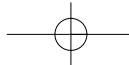
dřeni leukemických pacientů. Množství BCR-ABL transkriptu, klíčový patogenetický ukazatel CML, tak lze stanovit velmi citlivě a velmi specificky, což umožňuje monitorovat úspěšnost léčby imatinibem a včasné odhalit vznikající lékovou rezistenci. Stanovení kvantity transkriptu BCR-ABL nenahrazuje hematologické a cytogenetické analýzy, ale je součástí komplexu vyšetřovacích metod při léčbě nemocných s CML. Vzhledem ke svému prognostickému významu by mělo být rutinně používáno především při monitorování kinetiky reziduální choroby a při sběru PKB.

## Zkratky

ABL	– Abelson (gene)
CML	– chronická myeloidní leukémie
BCR	– breakpoint cluster region
CCR	– kompletní cytogenetická odpověď
DL	– detekční limit
FISH	– fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
GAPDH	– glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
G-CSF	– granulocyte colony-stimulating factor
G6PDH	– glucose-6-phosphate dehydrogenase
MRD	– minimální reziduální choroba
RT-PCR	– polymerázová řetězová reakce
PKB	– periferní krvetvorné buňky

## LITERATURA

1. **Melo, J. V.:** The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. *Blood*, 1996, 88, s. 2375-2384.
2. **Tchirkov, A., Bons, J. M., Chassagne, J. et al.:** Molecular detection of a late-appearing BCR-ABL gene in a child with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Ann. Hematol.*, 1998, 77, s. 55-59.
3. **Heisterkamp, N., Jenster, G., Ten Hoeve, J. et al.:** Acute leukaemia in bcr/abl transgenic mice. *Nature*, 1990, 344, s. 251-253.
4. **Warmuth, M., Danhauser-Riedl, S., Hallek, M.:** Molecular pathogenesis of chronic myeloid leukemia: implications for new therapeutic strategies. *Ann. Hematol.*, 1999, 78, s. 49-64.
5. **Goldman, J. M., Melo, J. V.:** Targeting the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2001, 344, s. 1084-1086.
6. **Kantarjian, H. M., Saywyers, C. L., Hochhaus, A. et al.:** Gleevec (imatinib mesylate) induced hematologic and cytogenetic responses confirmed and expanded in patients with chronic myeloid leukemia (CML): A phase II study update. *Blood*, 2001, 98, s. 845.
7. **O'Brien, S. G., Guilhot, F., Larson, R. A. et al.:** Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348, s. 994-1004.
8. **Hughes, T. P., Kaeda, J., Branford, S. et al.:** Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 349, s. 1423-1432.
9. **Moravcová, J., Lukášová, M., Starý, J., Haškovec, C.:** Simple competitive two-step RT-PCR assay to monitor minimal residual disease in CML patients after bone marrow transplantation. *Leukemia*, 1998, 12, s. 1303-1312.
10. **Holland, P. M., Abramson, R. D., Watson, R., Gelfand, D. H.:** Detection of specific polymerase chain reaction product utilizing the 5' to 3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, s. 7276-7280.
11. **Emig, M., Saussele, S., Wittor, H. et al.:** Accurate and rapid analysis of residual disease in patients with CML using specific fluorescent hybridization probes for real time quantitative RT-PCR. *Leukemia*, 1999, 13, s. 1825-1832.
12. **Chomczynski, P., Sacchi, N.:** Single-step method of RNA isolation by guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.*, 1987, 162, s. 156-159.
13. **Beránek, M., Voglová, J., Žák, P., Palička, V.:** Quantification of BCR-ABL transcripts by real-time PCR in leukemia samples. *Klin. Biochem. Metab.*, 2004, 12, s. 147-151.



14. **Kreutzer, K. A., Lass, U., Bohn, A. et al.:** LightCycler technology for the quantification of bcr/abl fusion transcripts. *Cancer Res.*, 1999, 59, s. 3171-3174.
15. **Hochhaus, A., Lin, F., Reiter, A. et al.:** Quantification of residual disease in chronic myelogenous leukemia patients on interferon- therapy by competitive polymerase chain reaction. *Blood*, 1996, 87, s. 1549-1555.
16. **Faderl, S., Hochhaus, A., Hughes, T.:** Monitoring of minimal residual disease in chronic myeloid leukemia. *Hematol. Oncol. Clin. N. Am.*, 2004, 18, s. 657-670.

KOMENTÁŘ

## Komentář k článku autorů Beránek M. et al. „Význam kvantitativního hodnocení transkriptů BCR-ABL pomocí real-time PCR pro efektivní léčbu chronické myeloidní leukémie“

Chronická myeloidní leukémie (CML) by mohla být příkladem nemoci, na které jsou výborně prokazatelné pokroky medicíny minulého a tohoto století.

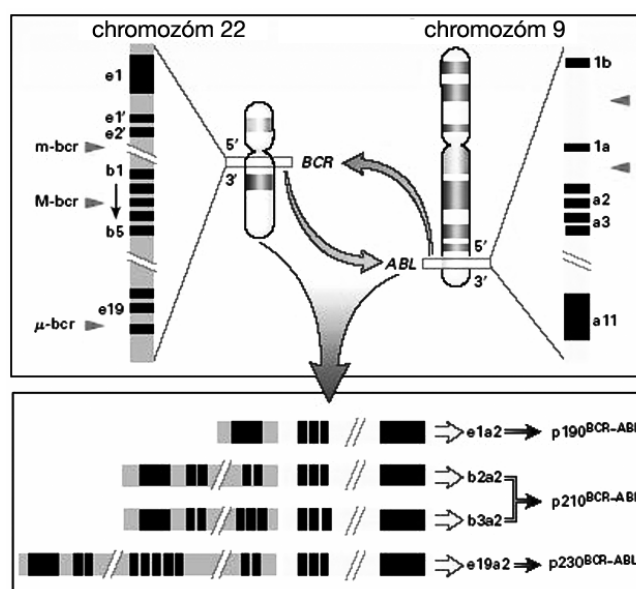
CML je maligní klonální myeloproliferativní expanze transformovaných primitivních hematopoetických progenitorových buněk. Přírozený průběh nemoci je charakterizován třemi fázemi – z relativně benigní (mnohdy léta trvající) chronické fáze přes fázi akcelerace do blastické krize.

Jedná se o onemocnění, které bylo v polovině 19. století zřejmě prvním popsáným případem leukémie a u kterého byl poprvé Virchowem termín leukémie použit (1, 3). Prvním lékem účinným u tohoto onemocnění byl arzén v roce 1865; zajímavou v této souvislosti může být skutečnost, že v současné době se možná tento lék navrácí do používání u CML v kombinaci s imatinibem ve druhé linii léčby (3). V 80. letech minulého století byl do léčby CML uveden interferon, který zpočátku vzbudil velké naděje, neboť při jeho použití bylo poprvé popisováno vymizení Ph<sup>1</sup> chromozómu; jak se později ukázalo, bylo jen přechodné a interferon vede jen k prodloužení chronické fáze CML.

Ph<sup>1</sup> chromozóm byl poprvé popsán v roce 1960 ve Philadelphii, Ph<sup>1</sup> byl označen, protože se předpokládalo, že je prvním ze série chromozomálních markerů specifických pro určité typy leukémií. V roce 1973 bylo prokázáno, že jde o reciprokovou translokaci mezi chromozómy 9 a 22, t(9;22)(q34;q11). Dnes je známo, že výsledkem této translokace je vznik dvou hybridních genů – BCR-ABL na 22 chromozómu a ABL-BCR na 9q+. Je více možností, kde dojde ke spojení obou genů, nejčastější jsou varianty b2a2 nebo b3a2 (obr. 1), které vedou ke vzniku chimérického proteinu o hmotnosti 210 kd (p210<sup>BCR-ABL</sup>), který má výraznou tyrozinkinázovou aktivitu, jež hraje zásadní roli v patogenezi CML – aktivuje řadu signálních drah (Ras, MAPK, Pf3K atd.) (6). U více než 95 % pacientů s CML je v leukemických buňkách prokazatelný gen BCR-ABL. Tento gen však není přítomen pouze u pacientů s CML, ale i u 10–20 % dospělých a 2–5 % dětí s akutní lymfoblastickou leukémií, vzácně u pacientů s akutní myeloidní leukémií, lymfomem či myelomem.

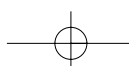
Zavedení STI571 (Signal Transduction Inhibitor) čili Imatinibu (IM) do léčby CML koncem 90. let minulého století znamenalo výrazný pokrok jak vzhledem k účinnosti léčby, tak malému množství vedlejších účinků. Mechanismus účinku IM spočívá v přímé inhibici fosforylace BCR-ABL tyrozinkinázy vazbou na místo vazby ATP – na povrchu molekuly BCR-ABL proteinu obsadí „kapsu“ tvořenou kinázou, a tím znemožní, aby došlo k navázání a fosforylaci substrátu (2).

IM je účinný i u pacientů, u kterých přestal působiti interferon. Účinnost IM byla prokázána ve všech fázích CML. Po dosažení kompletní hematologické a cytogenetické remise následuje u většiny nemocných postupný pokles hladiny transkriptu BCR-ABL. Ve srovnání s interferonem je při léčbě IM dosahováno větší procento odpovědí, delší doba *přežívání bez horšení nemoci* (progression-free survival) a menší množství vedlejších účinků.



Obr. 1. Spojení genů, nejčastější jsou varianty b2a2 nebo b3a2

MUDr. Eduard Cmunt, CSc.  
I. interní klinika 1. LF UK a VFN  
128 00 Praha 2, U Nemocnice 2  
fax: +420 224 966 318, e-mail: cmunt@vfn.cz



Zatím neexistují jednoznačná data týkající se celkové doby přežití a dlouhodobé toxicity, ale předpokládá se, že IM přežívání prodlouží.

Monitorace hladiny transkriptu BCR-ABL a detekce minimální residuální nemoci u pacientů v kompletní cytogenetické remisi každé 3 měsíce se stává nezbytnou součástí sledování pacienta (3), významným přínosem z dlouhodobého hlediska léčby a má svojí úlohu při studiu nových možností léčby (5). Nezanedbatelný význam pro pacienty má i fakt, že real-time PCR lze vyšetřovati z periferní krve, není nutné provádět opakovaná vyšetření kostní dřeně.

Časný pokles hladiny transkriptu svědčí pro možnost dosažení cytogenetické remise a příznivý průběh. Pacienti, kteří dosáhli kompletní cytogenetické remise s  $>3$  log poklesem BCR-ABL transkriptu během 12 měsíců, mají prakticky 100% naději zůstat bez další progresse (6).

Na druhou stranu, bohužel, i u pacientů s nedetekovatelným BCR-ABL mohou přetrvávat primitivní leukemické progenitory se schopností repopulace dřeně a relapsu. Přetrvávání transkriptů BCR-ABL při dlouhodobé léčbě IM pak svědčí proti možnosti vyléčení bez kombinace s jiným preparátem eventuálně nebezpečí časně blastické transformace. Podobné výsledky byly pozorovány i u pacientů allogenně transplantovaných – transplantovaní s úplným vymizením BCR-ABL transkriptů během 6–12 měsíců mají výbornou prognózu, naopak u pacientů s přetrváváním či znovuobjevením se transkriptu je vyšší riziko relapsu.

Sledování hladiny transkriptu BCR-ABL je rovněž důležité i z hlediska vývoje rezistence na IM. Frekvence rezistence stoupá s pokračováním choroby. Na lékovou rezistenci je nutné pomyslet při ztrátě nebo nedosažení hematologické či kompletní remise nebo při zvýšení BCR-ABL transkriptu  $>2$  log. Při rozvoji rezistence na IM se mohou uplatnit různé mechanismy (3, 4, 7, 8):

- mutace tyrozinkinázové domény – bylo již popsáno více než 30 různých mutací BCR-ABL tyrozinkinázy – nejzávažnější se jeví tzv. P-loop doména, jejíž mutace bývají spojeny s obzvláště špatnou prognózou. Biochemický a buněčný význam různých mutací je rozdílný, aktivace multidrug rezistence mohou působiti rozdíly v individuální intracelulární koncentraci IM, která může vést k vývoji rezistence. Pacienti, u kterých byla zahájena léčba IM po delším čase od stanovení diagnózy (déle než 2 roky), mají signifikantně vyšší výskyt mutací ve srovnání s těmi, u kterých byla léčba zahájena záhy po stanovení dg;
- amplifikace/overexprese BCR-ABL – u některých pacientů rezistentních na IM byly pomocí FISH v interfázických nukleolech zjištěny mnohočetné kopie BCR-ABL;
- klonální vývoj – u pacientů rezistentních na IM byly prokázány další chromozómové aberace.

Dnes jsou k dispozici nové možnosti zjištění malých klonů mutovaných leukemických buněk.

Význam monitorace transkriptu BCR-ABL má v současnosti pro pacienta velký význam, který se jistě do budoucna ještě zvýší. Při zjištění přetrvávání transkriptu jsou některé možnosti předcházení či překonávání rezistence na IM (4, 8):

- zvýšení dávky na 600–800 mg/den;
- kombinace IM s jinými léky (například interferonem, cytosin-arabinosidem);
- další léky – inhibitory farnesyltransferázy, hypometylační látky a inhibitory histondeacetylázy, homoharrington, decitabin;
- nejnověji alternativní (účinnější) inhibitory tyrozinkinázy (AM7107 nebo BMS-354825), které jsou schopny překonat některé BCR-ABL mutace způsobující rezistenci k IM.

#### LITERATURA

1. Mayer, J.: Chronická myeloidní leukémie jako model moderní necytostatické léčby maligních chorob. Od Virchowa po STI571, Vnitř. Lék., 2002, 48, s. 45-49.
2. Savage, D. G., Antman, K. H.: Imatinib Mesylate — A New Oral Targeted Therapy. N. Engl. J. Med., 2002, 346, s. 683-693.
3. Hochhaus, A., Berger, U., Hehlmann, R.: Treatment optimization in chronic myeloid leukemia. Hematology (EHA Educ Program), 2005, 1, s. 95-99.
4. Cortes, J., Kantarjian, H.: New targeted approaches in chronic myeloid leukemia. J. Clin. Oncol., 2005, 23, s. 6316-6324.
5. Jabbour, E., Kantarjian, H., O'Brien, S. et al.: Sudden blastic transformation in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate, Blood, 2005, 29 (Epub ahead of print).
6. Crossman, L. C., O'Brien, S. G.: Imatinib therapy in chronic myeloid leukemia. Hematol. Oncol. Clin. N. Am., 2004, 18, s. 605-617.
7. Hochhaus, A., Hughes, T.: Clinical resistance to imatinib: mechanisms and implications. Hematol. Oncol. Clin. N. Am., 2004, 18, s. 641-656.
8. Indrák, K., Jarošová, M., Divoký, V. et al.: Chronická myeloidní leukémie. Trans. Hemat. dnes, 2005, 11 (Suppl. 2), s. 35-38.

PŮVODNÍ PRÁCE

# Význam konfirmačních testů HLA systému nepříbuzných dárců hematopoetických kmenových buněk

Dobrovolná M., Vraná M., Brdička R., Loudová M.

Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku Ústavu hematologie a krevní transfuze, Praha

## ABSTRAKT

**Východisko.** Transplantace kostní dřeně nebo periferních kmenových buněk je dnes již součástí standardních protokolů v léčbě hematologických malignit, některých metabolických poruch a imunodeficiencí. Pro pacientův organizmus představuje proces adopce imunitního systému dárce. Z hlediska kompatibility dárce a příjemce HSC je rozhodující shoda v pěti lokusech hlavního histokompatibilitního systému člověka (human leukocyte antigens): HLA-A,-B,-C,-DRB1,-DQB1.

**Metody a výsledky.** Míra shody mezi pacientem a dárcem v tomto systému, který je nejpolymorfnejším genetickým systémem člověka, je spolehlivě detegovatelná pouze analýzou DNA. V letech 2001–2004 jsme provedli konfirmační vyšetření 366 českých i zahraničních nepříbuzných dárců pro 256 pacientů. Pouze 16 % dárců bylo s pacientem HLA shodných ve všech testovaných znacích, 81 % dárců bylo oproti pacientům neshodných, ale tyto výsledky nebyly v rozporu s předběžnými údaji z registrů. U 3 % dárců konfirmační testování odhalilo diskrepanci s údaji z registrů.

**Závěry.** Přes zvyšující se počty nepříbuzných dárců a prototypizovanost v registrech je kompletně HLA shodný dárcé stále dostupný pouze pro omezený počet pacientů.

**Klíčová slova:** transplantace hematopoetických kmenových buněk, hlavní histokompatibilitní systém, polymorfismus, genotypizace, HLA I. třídy, HLA II. třídy.

## ABSTRACT

*Dobrovolná M., Vraná M., Brdička R., Loudová M.: Significance of Confirmatory Testing of HLA System in Unrelated Haematopoietic Stem Cell Donors*

**Background.** Haematopoietic stem cell transplantation is a standard curative therapy for some acquired haematological diseases and inherited metabolic and immunological disorders. The HLA compatibility in five loci (HLA class I -A, -B and -C and HLA class II -DRB1 and -DQB1) of the donor/recipient pair is a prerequisite for the success of haematopoietic stem cell transplantation which represents a process of adoption donors immunity.

**Methods and Results.** HLA is the most polymorphic system in the human genome and this polymorphism is exactly detected by molecular genetics methods on DNA level only. In period of 2001–2004 we performed confirmatory testing of 366 unrelated haematopoietic stem cells donors from Czech and foreign registers for 256 patients. Only 16 % of the donors completely matched the patients in all HLA loci. We detected HLA mismatches in the samples of 81 % patient/donor pairs but these results were consonant with previous results from registers. 3 % of confirmatory samples were discrepant with previous registry data.

**Conclusions.** Despite of increasing number of available unrelated haematopoietic stem cell donors and the quality of registry HLA typing the possibility of finding the completely match donor is still limited.

**Key words:** haematopoietic stem cells transplantation, human leukocyte antigens, polymorphism, genotyping, HLA class I, HLA class II.

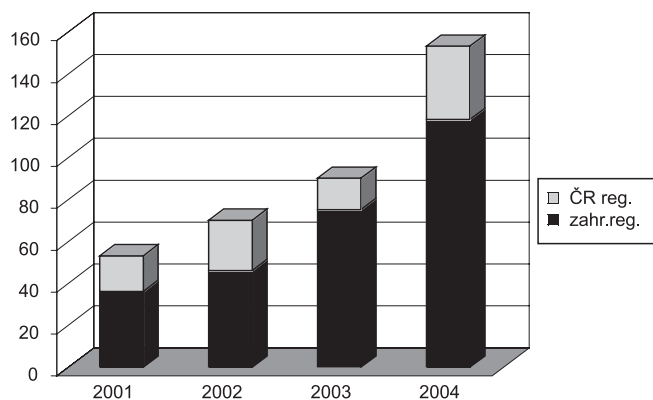
Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 32–35.

**H**LA (human leukocyte antigens) představuje u člověka hlavní histokompatibilitní systém. HLA se dělí na několik oblastí. Pro úspěšnost transplantace hematopoetických kmenových buněk (HSCT) jsou podstatné znaky HLA I.třídy (především lokusy -A, -B, -C), jejichž geny se exprimují na všech jaderných buňkách organismu, a HLA II. třídy (představované D oblastí s transplantačně důležitými lokusy -DRB1, -DQB1, příp. -DPB1), jejichž geny se exprimují na B-lymfocytech, aktivovaných T-buňkách, monocyttech, makrofázích a dendritických buňkách.

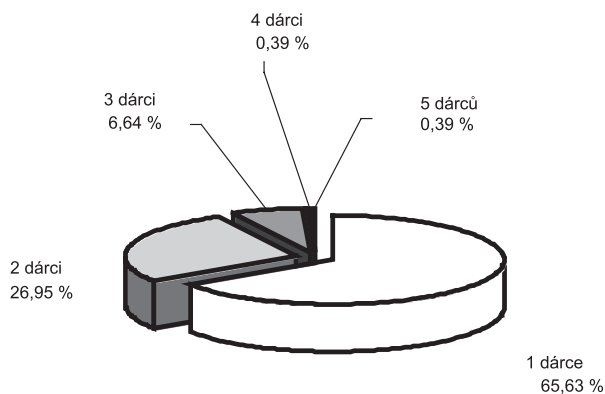
Geny HLA systému kódují povrchové glykoproteiny, jejichž základní funkcí je vázat peptidové fragmenty proteinů produkova-

ných buňkou (I. třída), resp. pohlcených buňkou (II. třída) a následně je prezentovat na povrchu buněk tak, aby byly rozeznatelné pro T-lymfocyty. Většina těchto glykoproteinů se vyznačuje extrémní variabilitou, která je odrazem vysoké polymorfnosti HLA genů. Ta je spolehlivě detegovatelná pouze na úrovni DNA. V populaci existují v rámci daného lokusu desítky až stovky různých alelických forem, které vykazují kodominantní způsob dědičnosti a dědí se jako celé haplotypy (heterozygot zdědí dva rozdílné znaky – alely, homozygot jeden). Vysoký stupeň variability HLA znaků má ochranný význam na úrovni jedince a zvyšuje pravděpodobnost úspěšné imunitní odpovědi a přežití i na úrovni populace.

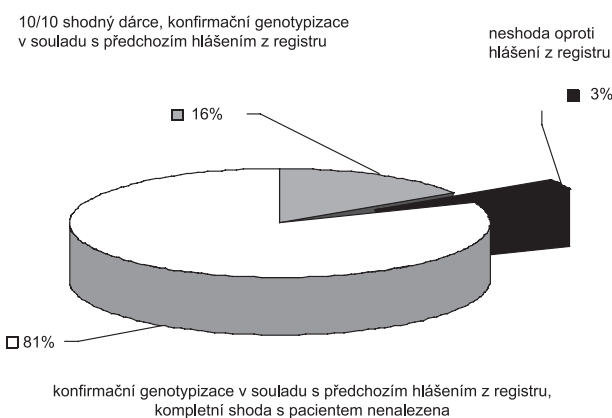
RNDr. Marie Dobrovolná  
128 20 Praha 2, U Nemocnice 1  
fax: +420 221 977 307, e-mail: marie.dobrovolna@uhkt.cz



Graf 1. Počty typizovaných nepřibuzných dárců v ÚHKT



Graf 2. Rozdělení pacientů podle počtu pro ně typizovaných dárců



Graf 3. Nalezená shoda mezi pacientem a vybranými dárci

Hematopoetické kmenové buňky jsou prekursorů imunokompetentních buněk odpovědných za spuštění imunologické odpovědi organismu. HSCT nastoluje proces přihojení imunitního systému dárce. Neshoda v povrchových antigenních strukturách kódovaných alelami HLA I. a II. třídy může vést k nepřihojení či odhojení štěpu (HvGR – host versus graft reaction) nebo naopak ke vzniku reakce štěpu proti hostiteli (GvHR – graft versus host reaction), která je vážnou, popřípadě fatální komplikací provedeného zákroku.

Z hlediska kompatibility dárce a příjemce hematopoetické kmenové buňky (HSC) je rozhodující shoda v pěti HLA lokusech: HLA-A,-B,-C,-DRB1,-DQB1, u heterozygotů je tedy optimální shoda 10/10 HLA alel.

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

### Strategie hledání vhodného dárce

Při výběru vhodného dárce pro pacienta indikovaného k HSCT se provádí nejdříve hledání v rodině. Největší pravděpodobnost nalezení HLA identického jedince je u sourozenců, kde pravděpodobnost nalezení HLA identického sourozence je přibližně určena vzorcem  $(1-0,75)^n$ , kde n je počet sourozenců. U biologických rodičů je jistá pouze HLA haploidita. V případě detekce málo frekventovaného znaku je toto hledání rozšířeno na širší rodinu, do větve nesoucí tento znak. Není-li nalezen vhodný dárce mezi příbuznými, je zahájeno hledání dárce v registrech dobrovolných nepřibuzných dárců kostní dřeně (MUD), nejdříve v českých registrech v Praze (1) a Plzni (2), poté i v síti zahraničních registrů (vyhledávání organizováno národními registry přes síť EMDIS) (3).

### Vyhledání a stanovení HLA shody potenciálních nepřibuzných dárců HSC

Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku Ústavu hematologie a krevní transfuze, Praha – laboratorní úsek HLA genotypizace provádí určování HLA kompatibility pacientů a jejich nepřibuzných dárců pro potřeby dospělých pacientů Ústavu hematologie a krevní transfuze a dětských pacientů Kliniky dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol. Tato vyšetření jsou akreditována u Českého institutu pro akreditaci (ČIA) podle ČSN EN ISO/IEC 17025 a ČSN EN ISO 15189.

Stupeň typizace HLA systému dárců v registrech je různá a její úroveň se za poslední roky posunula od serotypizace ke genotypizaci. Standardně jsou dárci otypizováni v HLA -A,-B lokusech serologicky nebo genotypizací na úrovni alelických skupin (low-resolution=LR, např. HLA-A\*02), případně bývá určena konkrétní alela (high-resolution = HR, např. HLA-A\*0201). HLA-DRB1 lokus je genotypizován vždy nejméně na LR úrovni, často medium-resolution (užitím mezinárodního písmenného kódu ambiguit, tj. nejednoznačných výsledků), ale v mnoha případech vysokého rozlišení (HR). Údaje o alelách HLA-C a -DQB1 lokusu nejsou vždy známy.

Po vyhledání, vyžádání a následném zaslání vzorku periferní krve od nepřibuzného dárce je prováděna jeho konfirmační HLA genotypizace a souběžně je dokončena genotypizace pacienta (zpravidla HR HLA-C lokusu). Konfirmační testování vzorků nepřibuzných dárců je prováděno v několika krocích na základě zvážení výsledků z registru. Přednostně je ověřována homozygotita v jednotlivých lokusech, přítomnost konkrétní alelické formy, tj. HR, v případě předchozích údajů na nižší rozlišovací úrovni (LR). Neustále je prováděno hodnocení kompatibility testovaných HLA znaků pacienta a jeho potenciálního dárce. Zjištěné rozdíly jsou průběžně oznamovány lékaři, který indikuje HSCT a je s ním konzultována akceptovatelnost detekovaných neshod.

### Používané metody HLA genotypizace

Při genotypizaci pacienta a jeho dárce HSC vycházíme zpravidla z periferní krve, ze které izolujeme DNA automaticky Genom-6 (GenoVision). V současnosti je pro rutinní genotypizaci HLA používána metoda řetězové polymerázové reakce se sekvenčně specifickými primery (PCR-SSP) pomocí komerčně vyráběných kitů firmy GenoVision, které reflektují neustále se zvyšující poznání HLA polymorfizmu. Tato metoda představuje v závislosti na genetické situaci konkrétního jedince reakci se 150 až 270 páry primerů. Po amplifikaci je prováděna elektroforetická detekce PCR produktu v agarózovém gelu a následná fotodokumentace výsledku. Určení konkrétního výsledku je provedeno počítačovým softwarem SCORE™ na základě porovnání sekvencí primerů obsažených v jednotlivých kitech s kompletní databází známých HLA alel IMGT/HLA databáze (4). Kromě této metody je používána metoda přímého sekvenování (SBT) s využitím kitů firmy Abbott a následné analýzy sekvencí softwarem Assign SBT™.

### Genetická analýza výsledků

Rozhodující částí genotypizace je formálně genetická analýza, tj. obecné posouzení výsledku HLA genotypizace obsahující posouzení rodinné studie, pokud byla provedena, posouzení vazebné nerovnováhy alel lokusů HLA-DRB1 a HLA-DQB1, posouzení vazebné nerovnováhy alel -DRB1 lokusu s alelami lokusů HLA-DRB3-5, posouzení asociace alel HLA-B lokusu s Bw4, respektive Bw6 epitopy, korelace výsledku provedené HLA genotypizace s předcházejícími výsledky hlášenými z jiných laboratoř, vyloučení přítomnosti nulových alel na základě korelace s hlášenou sérotypizací, posouzení nomenklaturních ekvivalentů sérotypizace a genotypizace a písmenných kódů ambiguitních výsledků.



**Tab. 1.** Příklad vyhledání dárce se shodou 10/10

Pacient					r. č.				
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1					
*0101 *0205	*3501/41/42 *5001	*0401/08 *0602/09	*0701 *1101	*0202 *0301					
<b>nepříbuzní dárce:</b>									
dárce 1					sex: M				
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1					
*0101 *0205	*3503 *5001	*0401 *0602/09	*0701 *1112	*02 *0301					
komentář: v -DRB1 lokusu rozdíl proti hlášení z registru shoda mezi pacientem a dárce 8/10									
dárce 2					sex: F				
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1					
*0101 *0205	*3502/04 *5001	*0602	*0701 *1104	*0202 *0301					
komentář: shoda mezi pacientem a tímto dárce 7/10									
dárce 3					sex: M				
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1					
*0101 *0205	*3502/04 *5001	*0602	*0701 *1104	*0202 *0301					
komentář: shoda mezi pacientem a tímto dárce 7/10									
dárce 4					sex: F				
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1					
*0201	*3502/03/04/06/13/34	*04 *06							
komentář: Typizace zastavena pro vícečetné neshody.									
dárce 5					sex: M				
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1					
*0101 *0205	*3501/41/42 *5001	*0401/08 *0602	*0701 *1101	*0202 *0301					
komentář: shoda mezi pacientem a tímto dárce 10/10									

### VÝSLEDKY

V letech 2001–2004 jsme provedli konfirmační vyšetření 366 českých i zahraničních nepříbuzných dárce (graf 1) pro 256 pacientů. Tito dárce byli vybráni na základě naší typizace pacientů a předběžných výsledků hlášených z registrů. Graf 2 uvádí rozdělení pacientů podle počtu pro ně typizovaných nepříbuzných dárce.

V grafu 3 je uveden souhrn výsledků hledání shody mezi pacientem a dárce u výše definovaného souboru. Z celkového počtu 366 potenciálně vhodných nepříbuzných dárce bylo pouze 57 (tj. 16 %) dárce HLA kompletně shodných s pacientem, tj. byla nalezena alelická shoda ve všech testovaných lokusech. (Příklad typizace několika dárce pro jednoho pacienta, kdy byla u posledního z nich nalezena shoda 10/10, je uveden v tabulce 1.) U 297 dárce (tj. 81 %) byla nalezena jedna či více neshod oproti pacientovi, pro

něhož byl dárce vybrán, v alelách či dokonce alelických skupinách. V této skupině ale konfirmační genotypizace nebyla v rozporu s předběžnými výsledky hlášenými z registru. U 12 dárce (tj. 3 %) byla při konfirmačním testování nalezena diskrepance oproti výsledkům hlášeným z registru. Specifikace nalezených diskrepancí je uvedena v tabulce 2.

### DISKUZE

Důvody nízkého počtu nalezení kompletně shodného dárce (pouze 16 % v testované skupině) je možné rozdělit do několika základních skupin:

Polymorfismus HLA je extrémní. V současné době je popsáno 2088 alel (k 31. 8. 2005) a jejich počet se neustále zvyšuje (4).

**Tab. 2.** Specifikace diskrepancí mezi konfirmačními vyšetřeními a výsledky hlášenými z registrů nepříbuzných dárce HSC

Hlášení	naše výsledky	diskrepance
B*07	B*07,*56	falešná homozygotita
B49	B*13,*49	falešná homozygotita
B7	B*07,*13	falešná homozygotita
B*44	B*15,*44	falešná homozygotita
B*51	B*51,*52	falešná homozygotita
B70	B*1501(B62)	chybná serotypizace
A1,25	A*01,*26	chybná serotypizace
A3,11	A*03,*32	chybná serotypizace
DRB1*04,*16	DRB1*04,*15	chybně urč. alelická sk
A*31,*68	A*30,*68	chybně urč. alelická sk
DRB1*1101	*1112	chybně určená alela
DRB1*12XX,*15XX	DRB1*0401	záměna výsledků

Předběžná typizace prováděná v registrech dárců HSC není dosud dostatečná, většinou se jedná pouze o typizaci na úrovni určení alelických skupin případně sérologické určení HLA-A, -B a DRB1. Často zcela chybí typizace lokusů HLA-C a -DQB1.

Typizace v registrech mohou být chybné (v našem souboru 3 % diskrepantních výsledků). Příčiny těchto diskrepancí lze rozdělit do několika skupin:

1. Falešná homozygotita (v našem souboru pět případů v HLA-B lokusu).
2. Chybná sérotypizace (většinou se jedná o záměnu podobných fenotypů, v našem souboru 3 případy).
3. Chybná typizace v alelické skupině (dva případy) nebo v alele v rámci téže alelické skupiny (jeden případ).
4. Administrativní chyba či selhání lidského faktoru v případě, že hlášení neodpovídá nalezenému genotypu testovaného vzorku. Jedná se zřejmě o přepis při uvádění výsledků nebo o záměnu vzorků při typizaci v registru, případně při odběru pro konfirmační vyšetření (jeden případ).

U pacientů, kterým se nepodařilo nalézt kompletně HLA shodného nepříbuzného dárce, je třeba zvažovat non-HLA faktory a eventuálně akceptovat dárce HLA ne zcela shodného. Toto rozhodování je v kompetenci lékařů odpovědných za provedení HSCT. Soubory jednotlivých pracovišť jsou zpravidla malé, heterogenní, a proto statisticky těžko hodnotitelné. Celosvětově jsou informace o detailní shodě HLA u transplantovaných pacientů včetně potransplantačního průběhu soustředěny v rámci projektu International Histocompatibility Working Group – Hematopoietic Cell Transplantation v databázi NCBI dbMHC HCT (5).

### ZÁVĚR

HSCT je dnes již součástí standardních protokolů v léčení hematologických malignit, některých metabolických poruch a imunodeficiencí. Poznání extrémního polymorfizmu HLA systému kontinuálně roste díky zvětšujícímu se počtu celosvětově vyšetřených jedinců (5) a díky zdokonalujícím se metodickým postupům jeho detekce. I když s tímto rozvojem se také zvyšuje kvalita údajů o nepříbuzných dárcích v registrech, je kompletně HLA shodný dárce stále dostupný pouze pro omezený počet pacientů.

### Zkratky

ČIA	– Český institut pro akreditaci, ops.
EMDIS	– European Marrow Donor Information System
GvHR	– reakce štěpu proti hostiteli (graft versus host reaction)
HLA	– hlavní histokompatibilní systém člověka (human leukocyte antigens)
HR	– vysoké rozlišení (detekce na úrovni alel) (high-resolution)
HSC	– hematopoetické kmenové buňky (hematopoietic stem cells)
HSCT	– transplantace hematopoetických kmenových buněk (hematopoietic stem cells transplantation)
HvGR	– reakce hostitele proti štěpu (host versus graft reaction)
IMGT	– International Histocompatibility Working Group
LR	– nízké rozlišení (detekce na úrovni alelických skupin) (low-resolution)
MUD	– nepříbuzný dárce kostní dřeně (marrow unrelated donor)
PCR-SSP	– řetězová polymerázová reakce se sekvenčně specifickými primery (polymerase chain reaction - sequence specific primers)
SBT	– metoda přímého sekvenování (sequencing based typing)

### LITERATURA

1. **Kupková, L., Bendukidze, N., Slavcev, A., Ivasková, E.:** The Czech Bone Marrow Donor Registry. *Ann. Transplant.*, 2001, 6, s. 46-49.
2. **Koza, V., Bártová, A., Herynková, R. et al.:** The central registry of bone marrow donors and the program for bone marrow transplantation from unrelated donors – 20 months' experience. *Vnitř. Lék.*, 1994, 40, s. 416-419.
3. **Muller, C. R.:** Computer applications in the search for unrelated stem cell donors. *Transpl. Immunol.*, 2002, 10, s. 227-240.
4. **Robinson, J., Waller, M. J., Parham, P. et al.:** IMGT/HLA and IMGT/MHC: sequence databases for the study of the major histocompatibility complex. *Nucleic. Acids Research*, 2003, 31, s. 311-314.
5. **Wheeler, D. L., Barrett, T., Benson, D. A. et al.:** Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res.*, 2005, 33, s. D39-D45.

*Poděkování patří Klinickému oddělení Ústavu hematologie a krevní transfuze Praha s hlavním transplantologem MUDr. Antonínem Vitkem a Klinice dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Praha – Motol s hlavním transplantologem doc. MUDr. Petrem Sedláčkem, CSc.*

*Studie byla podpořena výzkumným záměrem ÚHKT CEZ 237360001 a grantem Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví ČR IGA MZ, No.NH/7615-3.*

**Krajská hygienická stanice Moravsko-slezského kraje se sídlem v Ostravě  
a Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě  
pořádají 1.–3. února 2006 ve Společenském domě Lázní Darkov  
6. ročník celostátní konference s mezinárodní účastí Slezské dny preventivní medicíny.**

Jednotlivé bloky konference budou věnovány následujícím problematikám:

- sledování výskytu infekčních a neinfekčních onemocnění
- sledování pracovního a životního prostředí
- blok prezentací studentských prací
- setkání hlavních hygieniků sousedních států v panelové diskusi o nejaktuálnějších problémech v hygieně a epidemiologii

Prostor si získá i řada aktuálních témat z oblasti preventivní medicíny.

Konference je určena odborníkům z řad hygienické služby, zdravotních ústavů, státních i nestátních zdravotnických zařízení, organizací se zaměřením na prevenci onemocnění, pedagogům i studentům. Další informace na [www.sdpm.cz](http://www.sdpm.cz).

Konference je zařazena do registru akcí ČLK a je hodnocena kredity.

PŮVODNÍ PRÁCE

# Užití kvantitativního stanovení exprese genu Wilmsova tumoru 1 pro monitorování reziduální nemoci pacientů s akutní myeloidní leukémií

Polák J., Marková J., Schwarz J., Maaloufová J., Volková Z., Čermák J., Haškovec C.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

## ABSTRAKT

**Východisko.** U většiny pacientů s akutní myeloidní leukémií nebyl dosud nalezen vhodný specifický marker pro monitorování minimální reziduální nemoci (MRN). Výsledky publikované v některých pracích navrhují gen Wilmsova tumoru 1 (WT1) jako potencionální marker MRN. V naší studii jsme sledovali expresi genu WT1 při diagnóze a v průběhu léčby u pacientů s akutní myeloidní leukémií.

**Metody a výsledky.** Expresí genu WT1 byla měřena metodou kvantitativní RT-PCR v reálném čase v leukocytech periferní krve 56 pacientů s AML při diagnóze a 7 pacientů s AML transformovanou z myelodysplastických syndromů (MDS). Expresí genu WT1 byla u pacientů signifikantně zvýšena ve srovnání s hladinou jeho exprese v leukocytech periferní krve zdravých dárců ( $P < 0,0001$ ). Nejvyšší expresí genu WT1 jsme našli u pacientů s AML se subtypem M4, M1, M3 a u AML transformované z MDS. Naopak pacienti se subtypem M2 a s přítomností fúzního genu AML1/ETO při diagnóze vykazovali signifikantně nižší expresí genu WT1 než ostatní pacienti s AML. Dále jsme sledovali expresi genu WT1 v průběhu léčby u 12 pacientů AML souběžně s expresí specifických markerů minimální reziduální nemoci fúzních genů: AML1/ETO, PML/RAR a CBFβ/MYH11. Expresí genu WT1 a výše zmíněných specifických markerů MRN korelovala na vysoké hladině signifikance. Rovněž jsme sledovali expresi genu WT1 v průběhu onemocnění u 14 pacientů bez přítomnosti specifického markeru MRN. Hematologické relapsy u těchto pacientů byly spojeny s paralelním nárůstem exprese genu WT1 a příslušných specifických markerů MRN. U čtyřech dlouhodobě sledovaných pacientů jsme pozorovali nárůst exprese genu WT1 nad hladinu u zdravých dárců (molekulární relaps) s výrazným předstihem před hematologickým relapsem.

**Závěry.** Naše výsledky ve shodě s některými již publikovanými pracemi ukazují na možnost sledování exprese genu WT1 u AML jakožto vhodného markeru MRN.

**Klíčová slova:** leukémie, akutní myeloidní leukémie, Wilmsův tumor 1, minimální reziduální nemoc.

## ABSTRACT

*Polák J., Marková J., Schwarz J. et al.: The Use of Quantitative Assessment of Wilms Tumour Gene for Monitoring of Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia Patients*

**Background.** Despite a considerable effort, the majority of acute myeloid leukaemia (AML) patients do not have a suitable specific molecular marker for monitoring minimal residual disease (MRD). The results of some studies suggest the Wilms tumour gene (WT1) as a possible molecular marker of MRD.

**Methods and Results.** We measured the expression of WT1 at diagnosis and during treatment of the acute myeloid leukaemia (AML) patients. The expression of WT1 was measured by the quantitative real-time RT-PCR in peripheral leukocytes from 56 AML at diagnosis and 7 patients with AML transformed from myelodysplastic syndromes (MDS). The WT1 expression was significantly elevated (up to 3 orders of magnitude) in peripheral blood samples (PB) of AML patients at diagnosis compared to PB samples of healthy donors ( $P < 0,0001$ ). The level of WT1 expression depends particularly on FAB AML subtype, with the highest being found in AML patients with subtypes M4, M1, M3 and AML transformed from MDS. Conversely, AML patients with M2 and with the presence of AML1/ETO at presentation showed a significantly lower expression of the WT1 gene compared to the remaining AML patients at presentation ( $P = 0,005$ ). Further, sequence samples of 12 AML patients under long-term surveillance were tested for the WT1 expression in parallel with the expression of specific MRD markers - fusion genes: AML1/ETO, PML/RAR $\alpha$  and CBF $\beta$ /MYH11. The levels of WT1 gene expression and the above specific fusion genes significantly correlated. Moreover, 14 patients without the specific MRD marker were tested for the WT1 expression. The results show that haematological relapses were associated with the rise of expression of the specific fusion genes and with the WT1 gene expression. The rise of WT1 expression above the level seen in leucocytes from peripheral blood and/or bone marrow of healthy donors - in four patients under long-term surveillance the „molecular relapse” predicted ongoing haematological relapses as early as 2 months in advance.

**Conclusions.** Our results, in accordance with some of the previously published ones, show that WT1 expression seems to be a suitable marker of minimal residual disease in AML patients.

**Key words:** leukemia, acute myeloid leukaemia, Wilms tumor 1, minimal residual disease.

Po.

Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 36-42.

**D**etekce specifického molekulárního markeru hraje důležitou roli při určení diagnózy akutních leukémií. Pomocí monitorováním hladiny těchto specifických molekulárních markerů můžeme sledovat tzv. minimální reziduální nemoc (MRN) detekující přetrvávající leukemické buňky pod limitem morfologické detekce a umožňující s určitým předstihem určit nadcházející relaps onemocnění. MRN lze sledovat nejlépe pomocí velmi citlivé reverzní transkriptázové polymerázové řetězové reakce (RT-PCR). Zejména pak v řadě případů pomocí kvantitativní RT-PCR (RQ-RT-PCR). U AML lze pro detekci MRN využít sledování exprese specifických markerů, jimiž jsou zejména fúzní geny vzniklé translokacemi t(8,21) – fúzní gen AML1/ETO, t(15,17) – fúzní gen PML/RAR $\alpha$ , inv16 a t(16,16) – fúzní gen CBF/MYH11 a některé další. Tyto specifické markery můžeme ale nalézt pouze u přibližně 40 % pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML) a pro zbývající pacienty s AML takovýto marker chybí. Pro účely sledování MRN se testuje využití kvantitativního sledování exprese genu Wilmsova tumoru (WT1), který je zvýšeně exprimován zejména u pacientů s AML při diagnóze.

Gen WT1 kódující transkripční faktor s motivem zinkového prstu byl poprvé identifikován a lokalizován jako tumor supresorový gen na 11 chromozómu 11p13 v roce 1990 (1). Inaktivace obou alel WT1 genu hraje zásadní roli v patogenezi dětského nádoru ledvin – Wilmsova tumoru (1). WT1 je normálně exprimován v průběhu embryogeneze a hraje klíčovou roli během vývoje močopohlavního ústrojí a v dospělosti je jeho exprese (na nízké hladině) omezena na např. Sertolliho buňky varlat, specializované buňky děložní sliznice, slezinu a na normální hematopoietické progenitorové buňky (2, 3). Produkt genu WT1 působí jako transkripční faktor regulující expresi řady genů, mezi něž patří geny podílející se na procesech regulace buněčné proliferace, diferenciace a apoptózy (4). Zvýšená hladina exprese WT1 je nalézána u řady solidních nádorů, jakou jsou rakoviny prsu, vaječníků, tlustého střeva, melanomu. Zvýšená exprese WT1 byla též objevena v buňkách leukemických pacientů (5). Gen WT1 je exprimován v kmenových buňkách kostní dřeně, ale není exprimován v normálních zralých krevních buňkách. V souvislosti s objevem poklesu hladiny proteinu WT1 v průběhu diferenciace leukemických buněčných linií HL60 a K562 (6) byla vyslovena domněnka, že WT1 může hrát důležitou roli v procesu leukemogeneze. Jednotlivé subtypy AML (podle klasifikace FAB) exprimují WT1 na různé hladině. Nejvyšší exprese byla nalezena u méně diferencovaných subtypů AML M1-3 a nižší u subtypů M4 a M5 (7-9). Ovšem v práci (10) nebyl nalezen vztah mezi expresí WT1 a jednotlivými FAB subtypy s výjimkou signifikantně nižší exprese u AML M5. Expresí WT1 u pacientů ALL je rovněž zvýšena, ale přibližně o 1 řád méně, než jak je tomu v případě AML (11, 12). Jelikož je významně zvýšená hladina exprese genu WT1 omezena na leukemické blasty, lze její sledování využít pro účely zjištění minimální reziduální nemoci detekované nejlépe metodou RQ-RT-PCR. Především v případě akutních myeloidních leukémií je možné detekovat gen WT1 výše zmíněnou metodou RQ-RT-PCR na vysoké hladině senzitivity (zjištění 1 leukemické buňky mezi 10<sup>5</sup> až 10<sup>6</sup> normálními buňkami z periferní krve). V práci (7) autoři začali jako první systematicky sledovat hladinu MRN pomocí markeru WT1 a byla naznačena jeho vhodnost pro sledování MRN. Přestože v práci (13) bylo zpochybněno využití WT1 jako spolehlivého markeru MRN, převážná většina dalších studií, a to zejména těch využívajících vysoce senzitivní, spolehlivou a standardizovanou metodu PCR v reálném čase (8, 11, 12) potvrdila výsledky publikované v (7). Z klinického hlediska je důležité zmínit, že metody RQ-PCR detekce transkriptu WT1 umožňují předpovědět nadcházející relaps onemocnění až 3 měsíce předem (11, 12). Míra exprese genu WT1 u pacientů AML při diagnóze má prognostický význam – pacienti s vysokou expresí genu WT1 při diagnóze mají kratší přežití „overall survival“ a kratší „disease-free survival“ (7,

10). Nezanedbatelným faktem je větší dynamické rozmezí sledování hladiny transkriptu WT1 v buňkách periferní krve oproti buňkám kostní dřeně, jejíž odběr je též méně zatěžující pro pacienta (11, 14). Dále je zvýšená exprese WT1 spojena s transformací chronické myeloidní leukémie (CML) do blastické fáze (11, 15).

Cílem studie bylo ověření některých předběžných výsledků na skupině našich pacientů AML s jasně definovanými molekulárními markery: fúzními geny AML1/ETO, CBF/MYH11 a PML/RAR $\alpha$ .

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

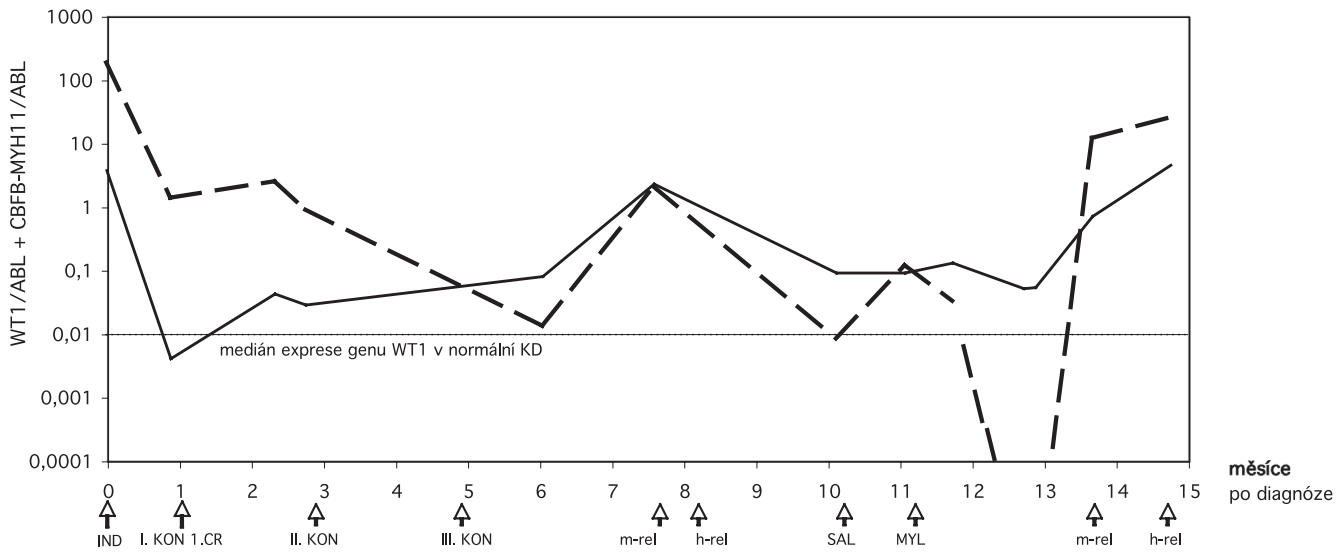
V této studii bylo sledováno 57 pacientů AML při diagnóze a 26 pacientů v průběhu léčby (medián sledování = 11,51 měsíce). Pacienti sledování v průběhu onemocnění byly rozděleny podle FAB subtypu: 6 AML M1, 9 AML M2 (4 z nich s přítomností fúzního genu AML1/ETO), 7 AML M3 s přítomností fúzního genu PML/RAR a 4 AML M4 (3 z nich s přítomností fúzního genu CBF/MYH11). Výchozím materiálem byly leukocyty od pacientů v době diagnózy nebo v průběhu onemocnění izolované, převážně z periferní krve, nebo u retrospektivních vzorků z kostní dřeně. Leukocyty byly připraveny standardními metodami izolace leukocytů – selektivní osmotickou lýzou. Standardní počet leukocytů (10 milionů) byl lýzován v roztoku ITG (16), ve kterém byl i uchovávan při -20 °C. Z lýzátu byla izolována celková RNA, která byla reverzně transkribována do cDNA metodou popsanou v naší předchozí práci (17). Úseky cDNA sledovaných genů byly amplifikovány kvantitativní řetězovou polymerázovou reakcí pomocí páru specifických startovacích oligonukleotidů (primerů) a specifické fluorescenčně značené TaqMan sondy pro cDNA genu WT1 podle (11) s použitím „Hot Start“ polymerázy FasStart (Roche, Mannheim, SRN). Kvantifikace byla provedena na termálním cyklu RotorGene 2000 anebo 3000 (Corbett Research, Sydney, Austrálie) umožňujícím provedení a vyhodnocení PCR v reálném čase. Pro účely kvantifikace byla současně kvantifikována ředící řada standardu s inkorporovaným produktem PCR genu WT1 o známé koncentraci. Tento standard byl připraven zaklonováním purifikovaného produktu PCR z cDNA linie K562 do plasmidu pCR<sup>2.1</sup>-TOPO<sup>®</sup> metodou TOPO TA klonování (Invitrogen Corporation, Carlsbad, USA). Po zaklonování byl plasmid vyizolován, vyčištěn a byla určena jeho koncentrace a následně byla připravena ředící řada pracovních ředění v TE pufru pH 8 s přidávkou Herring Sperm DNA o výsledné koncentraci 100 ng/ $\mu$ l (Promega, Madison, USA). Paralelně byl kvantifikován referenční gen ABL, který byl amplifikován metodou RQ-RT-PCR s použitím specifické TaqMan sondy podle (18). S obdobnou metodou klonování, izolace a purifikace byl připraven standard pro kvantifikaci referenčního genu ABL. Výsledky kvantifikace byly vyjádřeny jako relativní hodnoty poměrem hodnot WT1 ku ABL, ke kterým jsme dospěli výpočtem podle vzorce:  $2^{(Ct_{ABL} - Ct_{WT1})}$ , kde hodnoty Ct znamenají amplifikační cyklus, kdy fluorescence vzorku dosáhla určené prahové hodnoty („threshold“) shodně pro všechny amplifikované vzorky daného běhu. Fúzní geny PML/RAR $\alpha$ , CBF/MYH11 a AML1/ETO byly kvantifikovány podle (24-26).

Pro statistické vyhodnocení výsledků, tj. mediánů a výpočtu signifikance jejich rozdílů a korelace, jsme použili program GraphPad Prism s použitím testu Mann Whitney a lineární regrese.

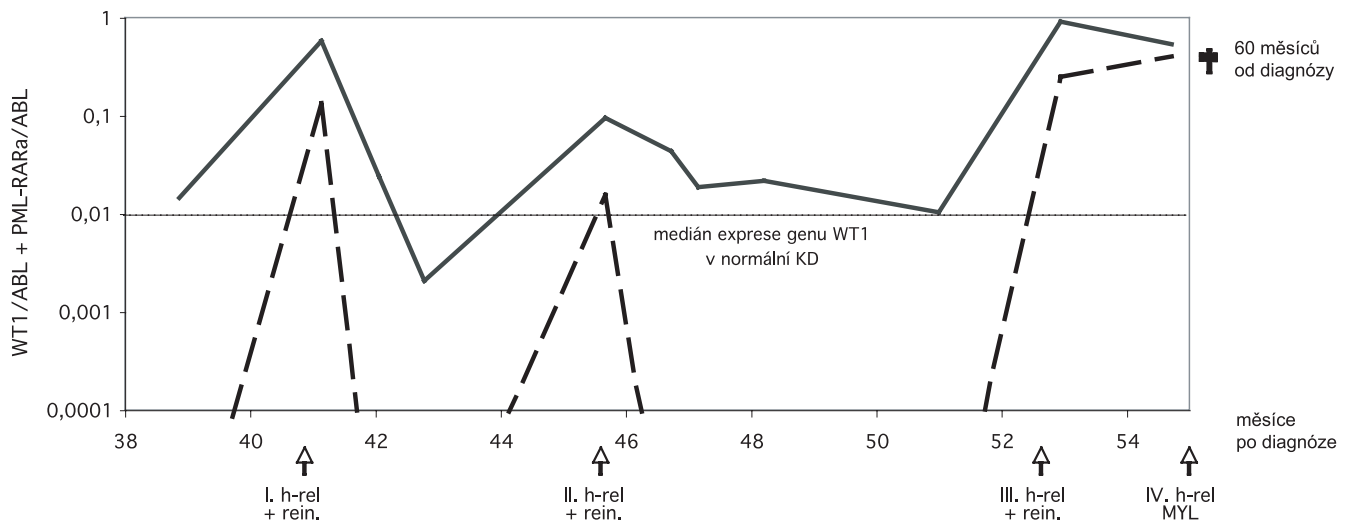
## VÝSLEDKY

### Pacienti při diagnóze

Expresí genu WT1 byla v periferní krvi pacientů AML při diagnóze signifikantně zvýšená o tři řády (medián exprese WT1=1,211, počet = 57) ve srovnání s expresí v periferní krvi 26 zdravých dárců (medián exprese WT1 = 0,002, P<0,0001). Po rozdělení pacientů s AML podle FAB klasifikace jsme při diagnóze našli nejvyšší expresi u 14 pacientů AML M1 (medián exprese WT1 = 2,112) a u 14 pacientů AML M4 (medián exprese WT1 = 2,84) a nejnižší u 4 pacientů AML M5 (medián exprese WT1 = 0,577) a u 19 pacientů AML M2 (medián exprese WT1 = 0,276). Pacienti s AML M3 při diagnóze měli expresi genu WT1 relativně vysokou (medián exprese WT1 = 1,199). Nejvyšší hodnotu exprese WT1 při diag-



**Graf 1.** Expres genu WT1 (—) a CBFβ/MYH11 (-----) v kostní dřeni pacienta s AML M4Eo  
Léčba onemocnění šipkou – IND – indukční terapie (protokol 3+7), KON – 3 konsolidační terapie (protokol HiDAC),  
CR – 1. kompletní remise, m-rel – molekulární relaps, h-rel – hematologický relaps, SAL – terapie SALVAGE (protokol FLAG-IDA),  
MYL – terapie Mylotargem



**Graf 2.** Expres genu WT1 (—) a PML/RARα (-----) v kostní dřeni pacienta s APL  
h-rel – hematologický relaps, rein – 1. a 2. reindukce, MYL – (protokol IDA + ATRA), 3. reindukce (protokol AIDA)  
a 4. relaps – 2 kúry podáním přípravku Mylotargem

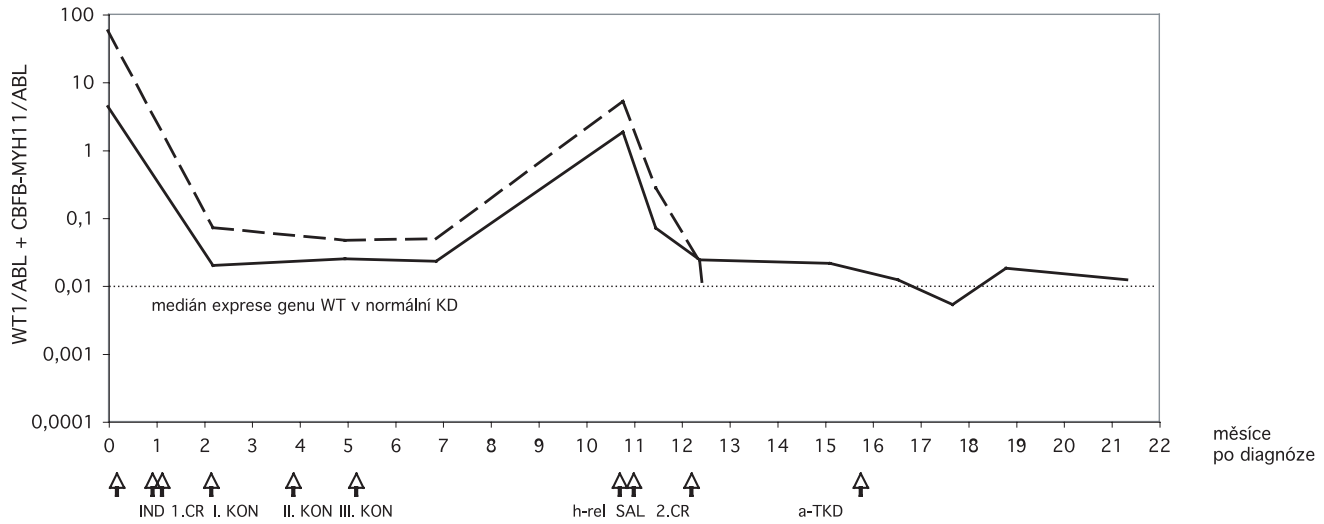
nóze jsme našli u pacientky s AML M4 (WT1 = 24) a nejnižší hodnota exprese genu WT1 byla naměřena u pacienta s AML M5 (WT1=0,0004). Po vyčlenění skupiny pacientů s AML M2 a s přítomností fúzního genu AML1/ETO bylo zjištěno, že tato skupina vykazuje signifikantně nižší expresi genu WT1 při diagnóze než ostatní pacienti AML při diagnóze (P=0,005). Rovněž byla nalezena i vysoká hodnota exprese genu WT1 u 8 pacientů s MDS transformovanou do AML (medián exprese genu WT1 = 2,595. U 6 pacientů s ALL při diagnóze byla nalezena zvýšená exprese genu WT1 (medián exprese genu WT1=0,088).

**Sledování MRN**

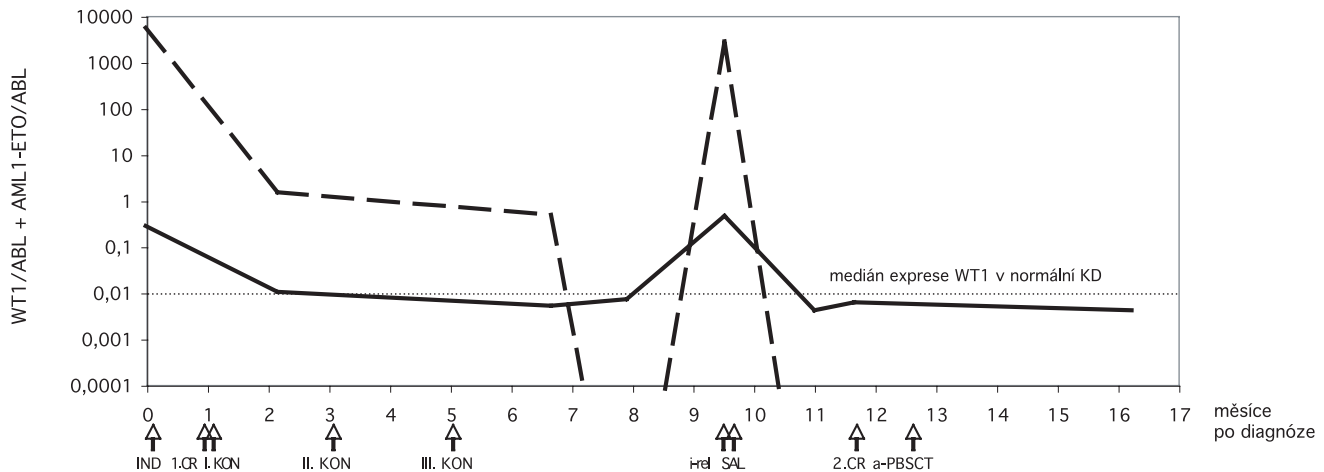
U 102 retrospektivních vzorků převážně z kostní dřene 12 pacientů AML s přítomností specifického markeru MRN (fúzního genu) byla provedena korelace s expresí genu WT1 v průběhu one-

mocnění od diagnózy. Byla nalezena vysoce signifikantní korelace průběhu exprese genu WT1 s expresí jednotlivých specifických markerů fúzních genů (tab. 1). Vzhledem k tomu, že exprese v kostní dřeni 31 zdravých dárců (medián exprese WT1=0,01) byla signifikantně zvýšená oproti expresi WT1 v periferní krvi 26 zdravých dárců (medián exprese WT1=0,002, P<0,0001), je proto výhodnější sledovat expresi WT1 v leukocytech periferní krve.

U většiny pacientů došlo po úspěšné terapii k poklesu exprese WT1 až o 3 řády na hodnoty zdravých dárců a k dosažení kompletní remise, ale u některých následně docházelo k návratu onemocnění – relapsu. Souběžně byl relaps doprovázen nárůstem exprese genu WT1 a u některých pacientů i s předstihem před hematologickým relapsem. Například v případě pacientky s AML M4Eo začala exprese WT1 narůstat cca 2 měsíce před hematologickým relapsem a následně došlo k léčebnému zvládnutí relapsu onemocnění spoje-



**Graf 3.** Expresie genu WT1 (—) a CBFβ/MYH11 (-----) v kostní dřeni pacienta s AML M4Eo  
 IND – indukční terapie (protokol AIE), SAL – terapie Salvage (protokol HAM), 1.CR – kompletní remise, KON – 3. konsolidační terapie (protokol HAV),  
 h-rel – hematologický relaps, rein – léčený reindukcí (protokol FLAG), 2. CR – 2 kompletní remise, a-TKD – allogenní transplantace kostní dřeně

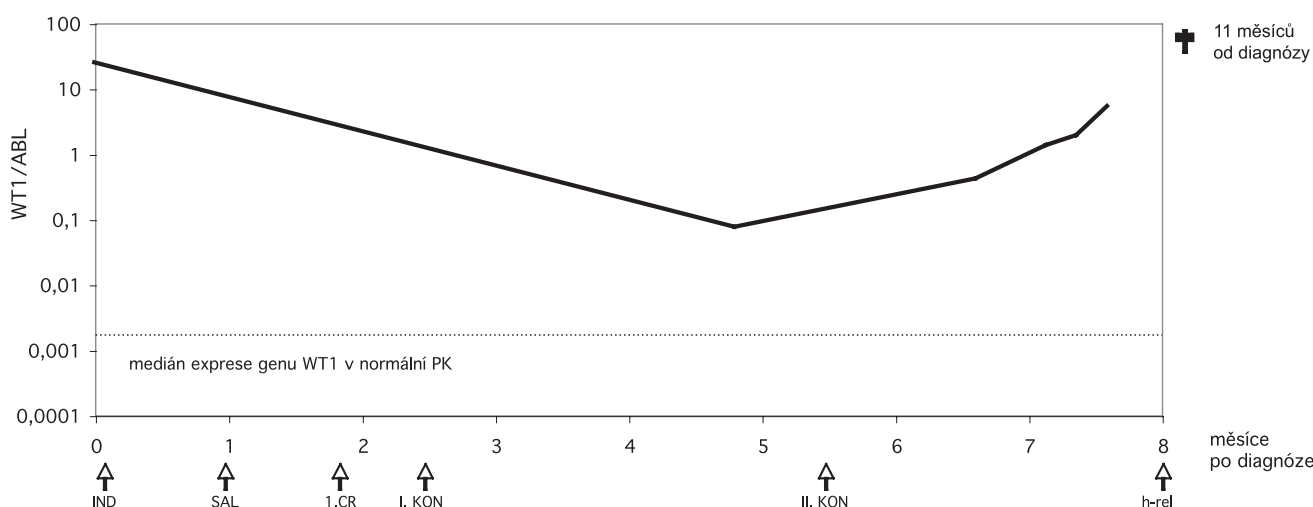


**Graf 4.** Expresie genu WT1 (—) a AML1/ETO (-----) v kostní dřeni pacienta s AML M2  
 IND – indukční terapie (protokol 3+7), KON – 3 konsolidační terapie (protokol HiDAC), CR – 1. kompletní remise, i-rel – incipientní relaps, SAL –  
 terapie Salvage (protokol FLAG-IDA), 2. CR – 2. kompletní remise, a-PBSCT – provedení allogenního převodu periferních kmenových buněk

ného též s poklesem hladiny exprese genu WT1 na hodnoty přibližně o řád vyšší, než je medián exprese WT1 v normální kostní dřeni (graf 1). Následně tato pacientka opět relabovala s nárůstem exprese genu WT1 o 1 řád (molekulární relaps) předcházejícím 32 dní hematologický relaps. Expresie genu WT1 signifikantně korelovala s expresí genu CBFβ/MYH11 ( $r^2=0,63$ ,  $P=0,019$ ). U jiného pacienta (graf 2) docházelo opakovaně (3x) k výraznému nárůstu exprese WT1 paralelně se vzrůstem exprese specifického markeru MRN – fúzního genu PML/RAR $\alpha$  a s následným relapsem onemocnění. Expresie obou markerů MRN signifikantně korelovala ( $r^2=0,67$ ,  $P=0,011$ ). Analogicky u dalšího pacienta (graf 3) došlo s dosažením remise k poklesu exprese genu WT1 ve vzorcích z kostní dřeně o téměř tři řády, zároveň s poklesem exprese genu CBFβ/MYH11 též o tři řády. Po přibližně 10 měsících trvání remise tento pacient relaboval a současně došlo opět k prudkému nárůstu exprese obou markerů MRN. Po úspěšném zvládnutí relapsu –

dosažení kompletní remise (CR) exprese genu WT1 a fúzního genu CBFβ/MYH11 opět poklesla na hodnoty rovné hodnotám nalezeným v normální kostní dřeni a pacient dosáhl 2. kompletní remise. Rovněž u tohoto pacienta exprese obou výše zmíněných markerů MRN vykazovala vysokou míru korelace ( $r^2=0,90$ ,  $P<0,0001$ ). Jak již bylo výše uvedeno, u pacientů s AML M2 a přítomností genu AML1/ETO pozorujeme nižší hodnoty exprese genu WT1 při diagnóze a následně při dosažení remise, a tedy dochází k relativně nižšímu poklesu exprese tohoto markeru ve srovnání s výraznějším poklesem exprese genu AML1/ETO. Při relapsu onemocnění dochází rovněž k většímu nárůstu exprese genu AML1/ETO než genu WT1 (graf 4). V tomto ohledu lze hovořit o větším dynamickém rozmezí exprese genu AML1/ETO ve srovnání s genem WT1. Opačnou tendenci – tj. větší dynamické rozmezí exprese genu WT1 než genu PML/RAR $\alpha$  lze pozorovat u pacientů s AML M3.

U výše uvedených pacientů a některých dalších bylo možné sle-



**Graf 5.** Expresie genu WT1 (—) v periferní krvi pacienta s AML M4  
 IND – indukční terapie (protokol 3+7), SAL – terapie Salvage (protokol FLAG-IDA), 1. CR – 1. kompletní remise, KON – 1. a 2. konsolidační terapie (protokol HiDAC), h-rel – hematologický relaps (protokol HAM)

**Tab. 1.** Korelace exprese genu WT1 s jednotlivými fúzními geny

Pacient	počet retrospektivních vzorků	specifický marker	hladina signifikance	r <sup>2</sup>
pacient 1	8	AML1/ETO	P<0,0001	0,98
pacient. 2	7	AML1/ETO	P=0,0003	0,85
pacient 3	6	AML1/ETO	P<0,0001	0,99
pacient 4	5	AML1/ETO	P=0,0002	0,99
pacient 5	5	AML1/ETO	nekoreluje	0,46
pacient 6	6	PML/RARα	P<0,0001	0,998
pacient 7	12	PML/RARα	P=0,011	0,67
pacient 8	6	PML/RARα	P=0,0004	0,968
pacient 9	13	CBFB/MYH11	P=0,019	0,63
pacient 10	12	CBFB/MYH11	P<0,0001	0,901
pacient 11	5	CBFB/MYH11	P=0,0001	0,99
pacient 12	8	CBFB/MYH11	P<0,0001	0,99

doovat jak hladiny exprese genu WT1, tak i hladiny exprese specifických markerů MRN – fúzních genů. U většiny pacientů s AML – cca 60 % nejsou ale takovéto markery přítomny; monitorování hladiny exprese genu WT1 by je mohlo nahradit. U dalších 14 pacientů bez přítomnosti specifického markeru byla tedy sledována MRN pouze pomocí detekce exprese genu WT1 v periferní krvi ve srovnání s morfologicko klinickými parametry. Podobně jako u skupiny pacientů AML se specifickým markerem MRN nacházíme mezi těmito pacienty ty, kteří po úspěšné terapii dosáhli CR se současným poklesem exprese genu WT1 na hodnoty srovnatelné s těmi detekovanými v leukocytech periferní krve zdravých dárců. Vedle těchto úspěšně léčených pacientů je do naší studie zahrnuta rovněž skupina pacientů, kteří buď nedosáhli CR vůbec (pacienti rezistentní na léčbu), anebo jí dosáhli a následně relabovali. I u této skupiny je nalézán soulad exprese genu WT1 s morfologicko-klinickými parametry. Názorným příkladem je pacientka s AML se subtypem M4 s velmi vysokou expresí genu WT1 při diagnóze (WT1 = 24), u které došlo k poklesu exprese genu WT1 na hodnotu WT1 = 0,075, tj. pokles o 3 řády ale nikoliv na hodnoty zdravých jedinců (pozn.: pacient byl rovněž refrakterní na indukční léčbu). Tento pacient následně relaboval s předchozím nárůstem exprese genu WT1 předcházejícím hematologický relaps o 46 dní (graf 5).

Lze tedy konstatovat, že u monitorovaných pacientů byla nalezena vysoce signifikantní korelace exprese genu WT1 se specifickými markery fúzními geny AML1/ETO, CBFB/MYH11 a PML/RARα a korelace nárůstu hladiny exprese genu WT1 před hematologickým relapsem. Tyto výsledky tedy potvrzují vhodnost sledování exprese genu WT1 jakožto markeru minimální reziduální nemoci, a to zejména u těch pacientů bez přítomnosti specifických markerů.

### DISKUZE

Výsledky testování hladiny exprese genu WT1 u pacientů s AML ukazují, že nejvyšší hodnoty byly nalezeny u pacientů se subtypem M4 a nejnižší u pacientů se subtypem M2 a M5. U pacientů AML M2 bylo zároveň zjištěno největší rozpětí naměřených hodnot exprese genu WT1. U pacientů s AML M2 je medián exprese genu WT1 relativně nízký ve srovnání s mediánem exprese genu WT1 pacientů s subtypy AML M1 a M3, což je v rozporu s výsledky publikovanými v (8, 11), kdy byla naopak u pacientů AML M2 zjištěna relativně vysoká exprese genu WT1. Pacienti s AML M2 s přítomností fúzního genu AML1/ETO vykazují signifikantně nižší

expresi genu WT1 při diagnóze než ostatní pacienti AML při diagnóze, což je v souladu s výsledky publikovanými v práci (19). Z tohoto hlediska lze vysvětlit i námi pozorovaný výše uvedený relativně nižší medián exprese genu WT1 u všech pacientů AML M2 při diagnóze. Navíc 2 pacienti s AML M2 (bez přítomnosti fúzního genu AML1/ETO) vykazovali při diagnóze velmi nízkou expresi genu WT1 a průběh jejich onemocnění byl přesto nepříznivý, což je v protikladu s výsledky publikovanými (7, 8). Jeden z těchto pacientů byl zřejmě pacient s myeloproliferací s přítomností translokace t(5;12), který transformoval do AML. Hledání souvislosti mezi mírou exprese genu WT1 při diagnóze a prognózou nebylo ale cílem této studie.

Ve shodě s publikovanými pracemi (8, 9, 11) byla nalezena velmi vysoká expresi genu WT1 při diagnóze u pacientů s AML M1, AML M3 a u pacientů s AML transformovanou z MDS. Přestože počet pacientů s AML M5 subtypem byl velmi malý (4 pacienti), medián exprese genu WT1 vykazoval rovněž relativně nízkou hodnotu a velký rozptyl hodnot podobně jako výsledky publikované v práci (8).

Být na omezeném počtu pacientů s ALL jsme ve shodě s publikovanými údaji (8, 11) detekovali signifikantně nižší expresi genu WT1 u 6 ALL pacientů při diagnóze v porovnání s expresí genu WT1 u pacientů s AML při diagnóze. Sledování exprese genu WT1 v periferní krvi a v kostní dřeni zdravých dárců ukázalo, že expresi genu WT1 v kostní dřeni je signifikantně vyšší než jejich expresi v periferní krvi. Rozdíl v expresi genu WT1 při diagnóze a při remisi onemocnění je větší ve vzorcích z periferní krve než ve vzorcích z kostní dřeni. Toto pozorování je v souladu se závěry publikovanými v práci (14). Rovněž procedura odběru periferní krve je mnohem méně zatěžující pro pacienta než biopsie kostní dřeni. I proto je sledování exprese genu WT1 jakožto markeru MRN vhodnější v periferní krvi.

Naše výsledky monitorování MRN pomocí sledování hladiny exprese genu WT1 ukázaly vysoce signifikantní korelace exprese genu WT1 v kostní dřeni nebo v periferní krvi s příslušnými specifickými markery MRN – fúzními geny AML1/ETO, CBFβ/MYH11 a PML/RARα u všech sledovaných pacientů při diagnóze a v průběhu onemocnění. To sice není ve shodě se závěry publikovaných v práci (13), ale je v souladu s výsledky publikovanými v (12, 20), kde byla rovněž nalezena vysoce signifikantní korelace exprese genu WT1 s výše uvedenými specifickými markery MRN. U čtyřech dlouhodobě sledovaných pacientů byl v naší práci s předstihem až 2 měsíce před hematologickým relapsem 5x detekován molekulární relaps (tj. nárůst exprese genu WT1 o 1 řád nad medián exprese u zdravých dárců).

V případě dětských AML je z prognostického hlediska důležitý stav exprese příslušného markeru MRN 5 týdnů po diagnóze (21). Ale u dospělých s akutních leukémií, dle tvrzení publikovaném v (22), nelze prokázat korelaci mezi stavem MRN po první a druhé indukční terapii a další prognózou onemocnění. Na druhé straně v práci (23) byla prokázána korelace mezi prognózou vyjádřenou parametry DFS (disease free survival) a OS (overall survival) a hladinou exprese genu WT1 po indukční a druhé konsolidační terapii. Autoři prokázali signifikantně lepší DFS a OS u pacientů s expresí genu WT1 nižší, než byla daná mezní expresi rovná  $10^3$  kopií genu WT1/ $10^5$  kopií genu ABL. Vzhledem k častému rychlému nárůstu relapsu u AML by bylo proto vhodné nalézt takový parametr, který by v dostatečném časovém předstihu spolehlivě indikoval relaps onemocnění. Dosažení výše zmíněné hraniční exprese genu WT1 by mohlo být vhodným parametrem, nicméně počet hodnotitelných pacientů v naší studii je příliš malý k vyvození spolehlivého závěru. Přesto výsledky sledování MRN u leukemických pacientů pomocí kvantitativního sledování exprese genu WT1 dávají dobrý předpoklad pro předpověď relapsu.

#### Zkratky

ALL	– akutní lymfoidní leukémie
AML	– akutní myeloidní leukémie
CML	– chronická myeloidní leukémie
CR	– kompletní remise
DFS	– bez události (disease free survival)
MRN	– minimální reziduální nemoc
M 1-5	– subtyp AML
OS	– overall survival
PCR	– řetězová polymerázová reakce
RQ-RT-PCR	– kvantitativní RT-PCR
RT-PCR	– reverzní transkriptázová polymerázová řetězová reakce
WT1	– Wilmsův tumor 1

#### LITERATURA

1. Call, K. M., Glaser, T., Ito, C. Y. et al.: Isolation and Characterization of A Zinc Finger Polypeptide Gene at the Human Chromosome-11 Wilms Tumor Locus. *Cell*, 1990, 60, s. 509-520.
2. Fraizer, G. C., Patmasiriwat, P., Zhang, X. H., Saunders, G. F.: Expression of the Tumor-Suppressor Gene Wt1 in Both Human and Mouse Bone-Marrow. *Blood*, 1995, 86, s. 4704-4706.
3. Hosen, N., Sonoda, Y., Oji, Y. et al.: Very low frequencies of human normal CD34(+) haematopoietic progenitor cells express the Wilms' tumour gene WT1 at levels similar to those in leukaemia cells. *Br. J. Haematol*, 2002, 116, s. 409-420.
4. Algar, E.: A review of the Wilms' tumor 1 gene (WT1) and its role in hematopoiesis and leukemia. *J. Hematotherapy & Stem Cell Research*, 2002, 11, s. 589-599.
5. Miwa, H., Beran, M., Saunders, G. F.: Expression of the Wilms-Tumor Gene (Wt1) in Human Leukemias. *Leukemia*, 1992, 6, s. 405 až 409.
6. Phelan, S. A., Lindberg, C., Call, K. M.: Wilms-Tumor Gene, Wt1, Messenger-Rna Is Down-Regulated During Induction of Erythroid and Megakaryocytic Differentiation of K562 Cells. *Cell Growth & Differentiation*, 1994, 5, s. 677-686.
7. Inoue, K., Sugiyama, H., Ogawa, H. et al.: Wt1 As A New Prognostic Factor and A New Marker for the Detection of Minimal Residual Disease in Acute-Leukemia. *Blood*, 1994, 84, s. 3071-3079.
8. Trka, J., Kalinová, M., Hrušák, O. et al.: Real-time quantitative PCR detection of WT1 gene expression in children with AML: prognostic significance, correlation with disease status and residual disease detection by flow cytometry. *Leukemia*, 2002, 16, s. 1381-1389.
9. Patmasiriwat, P., Fraizer, G., Kantarjian, H., Saunders, G. F.: WT1 and GATA1 expression in myelodysplastic syndrome and acute leukemia. *Leukemia*, 1999, 13, s. 891-900.
10. Bergmann, L., Miething, C., Maurer, U. et al.: High levels of Wilms' tumor gene (wt1) mRNA in acute myeloid leukemias are associated with a worse long-term outcome. *Blood*, 1997, 90, s. 1217-1225.
11. Kreuzer, K. A., Saborowski, A., Lupberger, J. et al.: Fluorescent 5'-exonuclease assay for the absolute quantification of Wilms' tumour gene (WT1) mRNA: implications for monitoring human leukaemias. *Br. J. Haematol.*, 2001, 114, s. 313-318.
12. Cilloni, D., Gottardi, E., De Micheli, D. et al.: Quantitative assessment of WT1 expression by real time quantitative PCR may be a useful tool for monitoring minimal residual disease in acute leukemia patients. *Leukemia*, 2002, 16, s. 2115-2121.
13. Elmaagacli, A. H., Beelen, D. W., Trenschel, R., Schaefer, U. W.: The detection of wt-1 transcripts is not associated with an increased leukemic relapse rate in patients with acute leukemia after allogeneic bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 2000, 25, s. 91-96.
14. Inoue, K., Ogawa, H., Yamagami, T. et al.: Long-term follow-up of minimal residual disease in leukemia patients by monitoring WT1 (Wilms tumor gene) expression levels. *Blood*, 1996, 88, s. 2267-2278.
15. Menssen, H. D., Renkl, H. J., Rodeck, U. et al.: Presence of Wilms' tumor gene (wt1) transcripts and the WT1 nuclear protein in the majority of human acute leukemias. *Leukemia*, 1995, 9, s. 1060-1067.
16. Chomczynski, P., Sacchi, N.: Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.*, 1987, 162, s. 156-159.



17. **Haškovec, C., Ponzetto, C., Polák, J. et al.:** P230 BCR/ABL protein may be associated with an acute leukaemia phenotype. *Br. J. Haematol.*, 1998, 103, s. 1104-1108.
18. **Visani, G., Buonamici, S., Malagola, M. et al.:** Pulsed ATRA as single therapy restores long-term remission in PML-RAR alpha-positive acute promyelocytic leukemia patients: real time quantification of minimal residual disease. A pilot study. *Leukemia*, 2001, 15, s. 1696 až 1700.
19. **Ostergaard, M., Olesen, L. H., Hasle, H. et al.:** WT1 gene expression: an excellent tool for monitoring minimal residual disease in 70 % of acute myeloid leukaemia patients - results from a single-centre study. *Br. J. Haematol.*, 2004, 125, s. 590-600.
20. **Ogawa, H., Tamaki, H., Ikegame, K. et al.:** The usefulness of monitoring WT1 gene transcripts for the prediction and management of relapse following allogeneic stem cell transplantation in acute type leukemia. *Blood*, 2003, 101, s. 1698-1704.
21. **Brisco, M. J., Condon, J., Hughes, E. et al.:** Outcome Prediction in Childhood Acute Lymphoblastic-Leukemia by Molecular Quantification of Residual Disease at the End of Induction. *Lancet*, 1994, 343, s. 196-200.
22. **Schnittger, S., Weisser, M., Schoch, C. et al.:** New score predicting for prognosis in PML-RARA(+), AML1-ETO+, or CBFβ-MYH11(+) acute myeloid leukemia based on quantification of fusion transcripts. *Blood*, 2003, 102, s. 2746-2755.
23. **Garg, M., Moore, H., Tobal, K., Yin, J. A. L.:** Prognostic significance of quantitative analysis of WT1 gene transcripts by competitive reverse transcription polymerase chain reaction in acute leukaemia. *Br. J. Haematol.*, 2003, 123, s. 49-59.
24. **Schwarz, J., Marková, J., Peková, S. et al.:** A single administration of gemtuzumab ozogamicin for molecular relapse of acute promyelocytic leukemia. *Hematology Journal*. 2004, 5, s. 279-280.
25. **Marcucci, G., Caligiuri, M. A., Dohner, H. et al.:** Quantification of CBF beta/MYH11 fusion transcript by Real Time RT-PCR in patients with INV(16) acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2001, 15, s. 1072-1080.
26. **Wattjes, M. P., Krauter, J., Nagel, S. et al.:** Comparison of nested competitive RT-PCR and real-time RT-PCR for the detection and quantification of AML1/MTG8 fusion transcripts in t(8;21) positive acute myelogenous leukemia. *Leukemia*, 2000, 14, s. 329-335.

*Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ ČR č. NC/7560-3.*

*Autoři děkují paní E. Kohoutové za technickou pomoc při této studii.*

## **Naše budoucnost na hypotéku – cena medicínského vzdělání**

Náklady na medicínské vzdělávání rostou v posledních 20 letech formou spirály. V USA v akademickém roce 2003–2004 náklady na výuku ve veřejných školách činily 16153 US dolarů, v soukromých školách to bylo 32588 US dolarů. Přičteme-li životní náklady, nákupy odborné literatury, počítačů apod. odhaduje se, že za 4 roky studia zaplatí každý student medicíny 140 000 US dolarů ve veřejných školách a 225 000 US dolarů v soukromých školách. Studium medicíny je proto méně dostupné, než bylo před 20 lety. Během tohoto období vzrostly náklady ve veřejných školách o 317 % a v soukromých o 151 %, a to i navzdory skutečnosti, že inflace byla v posledních letech nízká. Krácení státních dotací zesiluje rozpočtovou krizi ve veřejném školství. V důsledku eskalace finančních nákladů se v enormním rozsahu zvy-

šuje průměrná zadluženost studentů. Průměrný dluh v roce 1984 byl u promujících studentů 22 000 US dolarů ve veřejných školách a 26 500 v soukromých školách, v roce 2004 tento dluh vzrostl na 105 000 US dolarů ve veřejných školách a na 140 000 amerických dolarů v soukromých školách. Pouze 20 % studentů není zadlužených. I když index spotřebitelských cen vzrostl za 20 let méně než dvakrát, zadlužení studentů vzrostlo 4,5x. Výuka v privátních školách převýšila 2,7x index spotřebitelských cen, ale 3,8x ve veřejných školách. Na rozdíl od právníků, kteří jsou schopni splácet své dluhy ihned po promoci, u mediků je zapotřebí 3–6 let od promoce, nežli ekonomicky zesílí natolik, aby mohli umořovat dluhy. Zmíněný ekonomický tlak formuje i demografické a sociální složení studentů medicíny, neboť procento Afroameričanů a Hispánů je na lékařských fakultách nižší, než odpovídá procentuálnímu zastoupení v populaci. Dalším důsledkem těchto ekono-

mických tlaků je pokles počtu uchazečů o medicínská studia ze 47 000 v roce 1996 na 35 700 v roce 2004, stále je však počet uchazečů dostatečný. Dalším důsledkem je výběr medicínských specializací po promoci, neboť nově graduovaní lékaři jeví menší zájem o finančně méně lukrativní posty v primární péči a preferují výběr míst, která umožňují v brzké perspektivě vyšší výdělků, např. v ortopedii, oftalmologii či radiologii. Lékařské fakulty zatím stále hledají cesty, jakým způsobem limitovat zadlužování studentů medicíny, které je zřetelně vyšší nežli u jejich vrstevníků v jiných studijních odvětvích.

### **Literatura:**

**Morrison, G.:** Mortgaging Our Future – The Cost of Medical Education. *N. Engl. J. Med.*, 2005, 352, s. 117-119.

*O. Louthan*

## **Nejen UV radiace, také IR je nebezpečná**

O UV efektech je napsáno mnoho, ne tak o infračervené radiaci ve spojení se UV stárnutím. Tam vedle fotonů působí také horko s následným tepelným šokem. Ve fibroblastové kultuře stoupne po HSP exprese MMP -1,-3, nikoliv MMP-2, a to na úrovni mRNA v závis-

losti na teplotě. Tím jsou rychle aktivovány 3 odlišné mitogen-activated-protein-kinázy (MAPK): extracelulárním signálem regulovaná kináza (ERK), c-Jun N-terminální kináza (JNK), a p38 MAPK. Heat-šokem indukovaná exprese MMP-1 a -3 je potlačena inhibicí ERK a JNK, nikoliv však p38MAPK. Zároveň stoupá syntéza i uvolnění IL-6 do kultivačního média ERK i JNK jsou důležité při indukci MMP1 a 3 při heat šoku a heat-šokem indukovan

vaná exprese MMP jde cestou IL-6 dependentního autokrinního mechanismu.

### **Literatura:**

**Chi-Hyun Park et al.:** Heat-shock induced matrix metalloproteinase-1 and MMP-3 are mediated through ERK and JNK activation and via an autocrine Interleukin-6 loop. *J. invest. Dermatol.*, 2004, 123, s. 1012-1019.

*P. Barták*

PŮVODNÍ PRÁCE

# Akutní nežádoucí účinky brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem v kombinaci se zevní radioterapií u lokalizovaného karcinomu prostaty

Soumarová R., Homola L., <sup>1</sup>Štursa M., Perková H.

*Onkologické centrum J.G. Mendela, Nový Jičín*

<sup>1</sup>*Urologické oddělení nemocnice Nový Jičín*

## ABSTRAKT

**Východisko.** V posledních letech se v léčbě karcinomu prostaty stále více využívá brachyterapie. Podíl brachyterapie na léčbě lokalizovaných karcinomů prostaty roste díky nízkým akutním i pozdním nežádoucím účinkům. Na druhé straně brachyterapie umožňuje zvyšování dávky záření výrazně zlepšující léčebné výsledky.

**Metody a výsledky.** Kombinace zevní radioterapie a brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem byla použita u 40 pacientů s lokalizovaným karcinomem prostaty T1c-T3a od srpna 2004 do června 2005. Všichni pacienti podstoupili transperinální konformní HDR brachyterapii (2 frakce, 8 Gy na frakci) a zevní radioterapii na oblast pánve nebo prostaty a semenných váčků v dávce 45–50,4 Gy. Pacienti byli rozděleni do tří skupin dle vstupního PSA, Gleason skóre a T klasifikace: skupina nízkého rizika (11 pacientů – 27,5 %), středního rizika (14 pacientů – 35 %) a vysokého rizika rekurence (15 pacientů – 37,5 %).

Průměrný věk byl 68,7 let (55–77). Hormonální manipulace byla provedena u 17 pacientů – 42,5 %. U všech pacientů jsme hodnotili akutní toxicitu léčby dle RTOG kritérií. Všichni pacienti před a po léčbě vyplňovali IPSS dotazník mezinárodního skóre prostatických symptomů. Akutní genitourinární toxicita stupně 1 byla zaznamenána u 37,5 %, stupně 2 u 15 % pacientů. Stupně 3–4 u jednoho pacienta (2,5 %). K úpravě symptomů spojených s léčbou došlo dle IPSS dotazníku u většiny pacientů (90 %) do jednoho měsíce od skončení léčby. Akutní gastrointestinální toxicita byla zaznamenána pouze stupně 1 u 40 % pacientů.

**Závěry.** V našem souboru jsme prokázali velmi dobrou toleranci kombinované zevní radioterapie a HDR brachyterapie v léčbě karcinomu prostaty. Akutní toxicita byla nízkého stupně. Jako rizikové faktory pro akutní genitourinární toxicitu jsme vyhodnotili objem prostaty a pro gastrointestinální toxicitu především kombinaci s ozářením pánve a hormonální léčbou.

**Klíčová slova:** brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem, brachyterapie, lokalizovaný karcinom prostaty, akutní nežádoucí účinky.

## ABSTRACT

*Soumarová R., Homola L., Štursa M., Perková H.: Acute Toxicity of High Dose Interstitial Brachytherapy Boost in Prostate Cancer*

**Background.** Over the past few years, brachytherapy has become more and more common in the treatment of prostate cancer. Part of the reason behind this growth in the use of brachytherapy for the treatment of organ-confined prostate cancer is the reduced amount of acute and chronic side effects. On the other hand, brachytherapy allows for dose escalation, resulting in significant improvements in the treatment results.

**Method and Results.** From August 2004 to June 2005, we irradiated 40 patients with T1c-T3a prostate cancer. All of the patients underwent transperineal transrectal guided high dose rate (HDR) brachytherapy (two fractions, 8 Gy per fraction) and course of external beam radiotherapy with a median dose of 45–50.4 Gy. The patients were classified into three groups: low risk of recurrence (11 patients – 27.5 %), medium risk (14 patients – 35 %) and high risk (15 patients – 37.5 %). The median age of the patients was 68.7 years (range of between 55 and 77). Hormonal treatment was carried out with 17 of the patients (42.5 %). We evaluated the quality of each implantation, including the maximum urethral and rectal dose. The calculated doses were compared with measurements by in vivo dosimetry. Acute toxicity was evaluated in all of the patients according to the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) scale. Each of the patients completed an International Prostatic Symptom Score (IPSS) questionnaire. Acute genitourinary morbidity grade 1 was recorded in 37.5 % of patients, and grade 2 in 15 % of patients. Urine retention in one of the patients resulted in the need to perform an epicystostomy. According to the IPSS score, the majority of patients (90 %) experienced an improvement in symptoms related to quality of life. Grade 1 acute gastrointestinal toxicity was recorded in 40 % of the patients. Grades 2-4 were not recorded.

**Conclusions.** We showed that the combination of external beam radiotherapy and HDR brachytherapy in the treatment of early prostate cancer to be feasible and well tolerated. Acute toxicity was low and scarcely influenced the quality of life. Among the risk factors of genitourinary toxicity was the volume of the prostate. For gastrointestinal toxicity, risk factors included a combination of HDR brachytherapy and external beam radiotherapy to the pelvis, as well as hormonal treatment.

**Key words:** high dose rate brachytherapy, organ-confined prostate cancer, acute toxicity.

So.

*Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 43–49.*

**N**ádory prostaty postihují stále více mužů a představují proto vážný celospolečenský problém.

Terapeutickou metodou volby u většiny nemocných s lokalizovaným karcinomem je radikální prostatektomie nebo radikální ozáření prostaty. Martinez na konferenci ASTRO 1999 (American Society for Therapeutic Radiology and Oncology) uvedl podíl jednotlivých léčebných modalit na terapii lokalizovaného karcinomu prostaty v USA. Počet pacientů léčených v roce 1996 pro lokalizovaný nádor prostaty byl 10 000, z toho 65 % pacientů podstoupilo radikální prostatektomii, 30 % zevní radioterapii (TRT) a pouze 5 % brachyterapii (BRT). Na základě léčebných trendů byl předpokládán nárůst v roce 2005 na 120 000 léčených pacientů, z toho 33 % by mělo být léčeno chirurgickým výkonem, 31 % zevní radioterapií a 36 % brachyterapií (1). Důvodem pro rostoucí podíl brachyterapie jsou nízké akutní, ale i pozdní nežádoucí účinky léčby při srovnatelných léčebných výsledcích (2, 3). Řada pacientů právě z důvodu možné impotence a inkontinence po radikální prostatektomii preferuje nechirurgický přístup.

Předpokladem úspěšné léčby zářením karcinomu prostaty je dodání dostatečně vysoké dávky (4). Výhodou brachyterapie je možnost aplikace vysokých dávek záření v oblasti cílového objemu (nádoru) s prudkým poklesem dávky do okolí. Zejména zatížení stěny rekta je relativně nízké. Přínos vyšších dávek záření na biochemickou kontrolu onemocnění a specifické přežití byl již prokázán i ve studiích s delší dobou sledování (5). V brachyterapii karcinomu prostaty je možné využít permanentní implantaci jódu I<sup>125</sup> nebo palladia Pd<sup>103</sup> (brachyterapii s nízkým dávkovým příkonem – LDR implantaci) nebo intersticiální dočasnou implantaci (brachyterapii s vysokým dávkovým příkonem – HDR brachyterapii) s iridiem Ir<sup>192</sup>. Srovnání samostatné LDR a HDR implantace uveřejnil Grills (6). Nežádoucí účinky byly nižší u pacientů s HDR brachyterapií.

Brachyterapii je možné použít samostatně nebo v kombinaci se zevní radioterapií (7, 8). Kombinace HDR brachyterapie a zevní radioterapie ve srovnání se samostatnou HDR brachyterapií umožňuje větší homogenitu dávkového rozložení a zabezpečení větších bezpečnostních okrajů (9, 10).

Pro kombinaci zevní radioterapie a brachyterapie hovoří i radiobiologické důvody. Prostata a jí obklopující pozdně reagující zdravé tkáně mají podobný  $\alpha/\beta$  poměr (11). To znamená, že tumor a zdravé tkáně mají podobnou citlivost ke změnám ve frakcionaci (rozložení dávky v čase) a že terapeutický poměr mezi lokální kontrolou a pozdními změnami nemůže být významně ovlivněn frakcionací. Samostatná zevní radioterapie včetně konformní techniky i intenzitně modulované radioterapie musí vzhledem k vnitřním pohybům orgánů a nepřesnostem v nastavení počítat s větším bezpečnostním lemem a větším zatížením zejména přední stěny rekta (12). Na druhé straně potenciální nevýhodou brachyterapie je možnost podzáření v oblasti předpokládaného mikroskopického šíření nádoru mimo implantovaný objem. Kombinace se zevní radioterapií zejména u pacientů středního a vysokého rizika tuto nevýhodu odstraňuje.

Potřebu zvyšování dávky v tumoru bez zatížení okolních zdravých tkání může řešit kombinace HDR brachyterapie s novými technikami zevní radioterapie, např. s technikou intenzitně modulované radioterapie (IMRT) (13).

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

### Charakteristika souboru pacientů

Na našem pracovišti používáme intersticiální dočasnou implantaci s vysokým dávkovým příkonem (HDR), zdrojem záření je iridium Ir<sup>192</sup>. Brachyterapie je kombinována se zevní radioterapií. *Indikační kritéria* pro intersticiální brachyterapii jsou: pacienti s histologicky ověřeným karcinomem prostaty T1b–T3b, jakéhokoliv Gleason skóre (GS), PSA < 100 ng/ml,

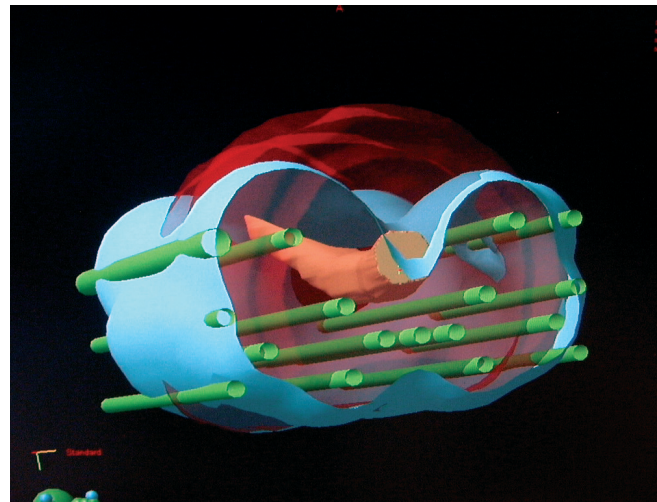
**Tab. 1.** Protokol léčby - kombinace zevní radioterapie (TRT) a brachyterapie (BRT)

Riziko rekurence		TRT	BRT
<b>skupina s nízkým rizikem</b> T1a – T2a + GS ≤ 6 + PSA ≤ 10	PTV	prostata + báze semenných váčků + bezpečnostní lem	prostata + báze semenných váčků + lem 3 mm
	technika	6 izocentrických polí/konformní RT	intersticiální dočasná implantace
	dávka	45 Gy v 25 frakcích 5 frakcí/ týden	2 x 8 Gy (ve 3. a 5. týdnu TRT)
<b>skupina se středním rizikem</b> T 2b nebo GS = 7 nebo PSA 10 -20	PTV	prostata + semenné váčky + bezpečnostní lem	prostata + báze semenných váčků + lem 3mm
	technika	6 izocentrických polí/konformní RT	intersticiální dočasná implantace
	dávka	50.4 Gy v 28 frakcích 5 frakcí/ týden	2 x 8 Gy (ve 3. a 5. týdnu TRT)
<b>skupina s vysokým rizikem</b> GS > 7 nebo PSA > 20 nebo T2c	PTV	pánev	prostata + báze semenných váčků + lem 3mm
	technika	box	intersticiální dočasná implantace
	dávka	50.4 Gy v 28 frakcích 5 frakcí/ týden	2 x 8 Gy (ve 3. a 5. týdnu TRT)
		+ hormonální manipulace	

TRT – zevní radioterapie, BRT – brachyterapie, RT – radioterapie, PTV – plánovací cílový objem



Obr. 1. Transperineální zavedení jehel do prostaty pod UZ kontrolou



Obr. 3. Trojrozměrné znázornění 125% izodózy (modře), uretra žlutě

Tab. 2. Charakteristika souboru pacientů

		n	%
věk	≤60	2	5,00
	61-70	20	50,00
	>70	18	45,00
PSA	≤10	14	35,00
	10-20	13	32,5
	>20	13	32,5
gleason score	<4	10	25,00
	4-6	26	65,00
	≥7	4	10,00
T stadium	T1c	11	27,5
	T2a-b	27	67,5
	T3a	2	5,00
IPSS skóre před RT	<15	38	95,00
	≥15	2	5,00
IPSS skóre po RT	<15	31	77,5
	≥15	9	22,5

PSA – prostatický specifický antigen, RT – radioterapie

bez postižení lymfatických uzlin a vzdálených metastáz. Mezi kontraindi-

kace brachyterapie patří objem prostaty >60 cm<sup>3</sup>, provedení transuretrální resekce prostaty (TURP) před méně než 6 měsíci, obstrukční symptomy, vzdálenost rektum – prostata <5 mm v transverzálním řezu, nemožnost litotomické polohy a kontraindikace anestezie.

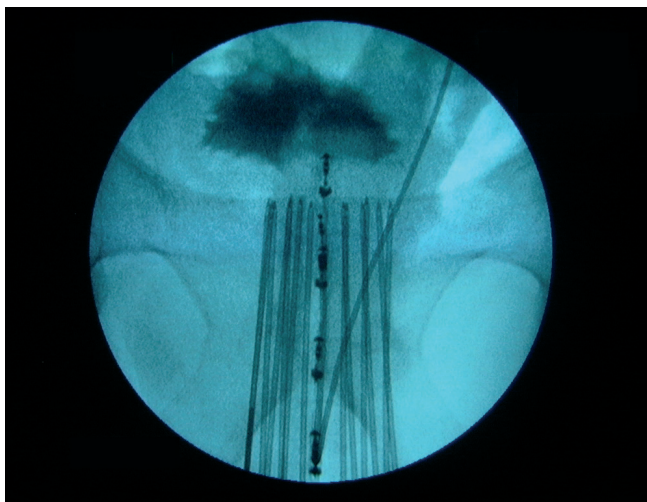
Od srpna 2004 do června 2005 bylo dle našeho léčebného protokolu ozářeno 40 pacientů s histologicky verifikovaným adenokarcinomem prostaty (tab. 1). Všichni pacienti měli provedená vstupní vyšetření (anamnéza, fyzikální vyšetření, PSA, Gleason skóre, transrektální sonografie, CT pánve, RTG plic, scintigrafie skeletu v případě PSA >10 ng/ml, IPSS dotazník). Na základě těchto vyšetření byli zařazeni do skupin nízkého (11 pacientů – 27,5 %), středního (14 pacientů – 35 %) a vysokého rizika recidivy (15 pacientů – 37,5 %). Rozdělení do skupin vychází z pravděpodobnosti vzniku recidivy (biochemického selhání) po definitivní lokální léčbě (14). Průměrný věk v souboru pacientů byl 68,7 let (55–77). Hormonální manipulace byla provedena u 17 pacientů – 42,5 % (u 15 ve skupině vysokého rizika a u 2 mužů ze skupiny středního rizika).

Charakteristika souboru pacientů je uvedena v tabulce 2.

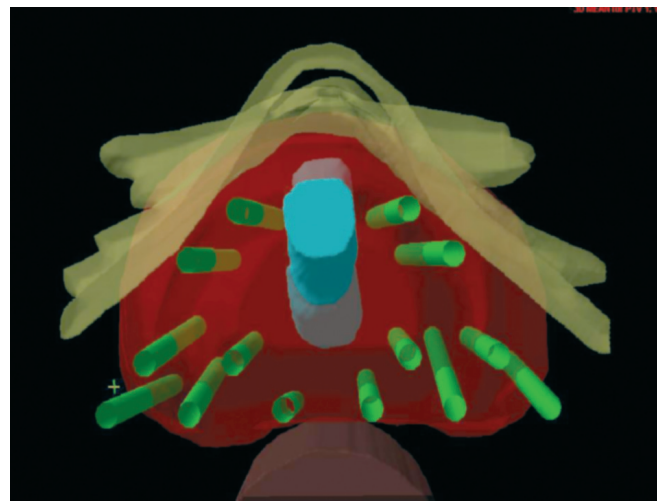
Všichni pacienti podstoupili kombinaci zevní radioterapie a transperineální HDR brachyterapie ve spinální anestezii. Počet aplikovaných jehel byl v průměru 12 (6–18).

**Technika dočasné intersticiální brachyterapie**

- provedení transrektální sonografie (TRUS) se zavedeným permanentním močovým katetrem v litotomické poloze – jeden den před výkonem. Vzdálenost transverzálních ultrazvukových řezů provedených od báze po apex prostaty byla 5 mm;
- zakreslení cílového objemu – prostata s 3 mm bezpečnostním lemem +



Obr. 2. Polovodičový dozimetr umístěný v močové trubici a v rektu



Obr. 4. Umístění jehel (zeleně) ve vztahu k cílovému objemu (červeně), kostem (žlutě) a rektu (hnědě)

Tab. 3. Akutní toxicita dle RTOG

G1	G2	G3	G4
<b>GI</b> zvýšená frekvence nebo změna v konzistenci stolice nevyžadující medikaci nebo rektální dyskomfort nevyžadující analgetika	průjem vyžadující parasympatolytika, bolest vyžadující analgetika, hlenovitá sekrece nevyžadující vložky	průjem vyžadující parenterální podporu, těžká hlenovitá sekrece nebo krvácení vyžadující vložky, napětí břicha, na RTG rozšířené střevní klíčky	
<b>GU</b> častější močení nebo nykturie dvojnásobná ve srovnání s předléčebným stavem, dysurie, urgence nevyžadující medikaci	frekvence močení nebo nykturie, která je méně častá než jednou za hodinu, dysurie, frekvence močení vyžadující lokální anestetika	frekvence močení nebo nykturie, která je častější než jednou za hodinu, dysurie, bolest v pánvi vyžadující pravidelné podávání analgetik, větší hematurie	hematurie vyžadující transfuze, akutní močová obstrukce, ulcerace nebo nekróza

Grade 5 – fatální komplikace v důsledku léčby

- báze semenných váčků, kritických orgánů – uretry, rekta;
- zakreslení kostěných struktur – zejména hrbolů kostí sedací;
- předoperační plánování (tzv. preplanning) – naplánování rozložení dávkové distribuce dle tvaru a velikosti cílového objemu – rozmístění jehel a úprava polohy a časů zdroje;
- spinální anestezie – v den aplikace na aplikačním sálku;
- provedení TRUS v litotomické poloze;
- intraoperační plánování – zakreslení cílového objemu, uretry, rekta, trojrozměrná rekonstrukce kreslených struktur;
- přenos připraveného plánu na reálný cílový objem, geometrická optimalizace, korekce polohy jehel, zdrojů a časů – konformní brachyterapie,
- transperineální umístění jehel pomocí mřížky (templatu) pod kontrolou TRUS (obr. 1);
- kontrola umístění jehel pod C ramenem s kontrastní náplní močového měchýře;
- korekce polohy jehel dle reálné pozice podle transverzálních řezů UZ;
- vlastní ozáření s pomocí radioizotopu Iridia 192 + *in vivo* dozimetrie – měření dávky v uretře a rektu;
- odstranění jehel.

K prevenci trombembolické nemoci byly u všech pacientů podány nízkomolekulární hepariny.

U každé aplikace jsme vyhodnocovali *parametry kvality* – dávku v uretře, dávku na přední stěnu rekta, D90 – dávku, kterou obdrží 90 % objemu prostaty (je důležité sledovat, ve které části prostaty je dávka nižší). V100 – objem, který je pokryt 100 % izodózou, V150 – objem, který je pokryt 150 % izodózou. U každé implantace byl proveden graf závoslosti dávky a objemu tzv. dose volume histogram (DVH).

Hodnoty vypočtené plánovací konzolou byly v uretře a rektu ověřovány *in vivo* dozimetrií (obr. 2). Pro močovou trubici jsme stanovili maximální dávku 125 % předepsané dávky na referenční izodóze, pro přední stěnu rekta dávku do 85 % referenční dávky. Trojrozměrné zobrazení 125% izodózy je znázorněno na obrázku 3.

Protokol léčby zahrnoval u pacientů skupiny vysokého rizika ozáření pánve v dávce 50,4 Gy (1,8 Gy na frakci) technikou box na lineárním urychlovači s energií fotonového svazku 18 MeV. U pacientů ve skupině středního nebo nízkého rizika byla ozářena prostata a báze semenných váčků dávkou 45, resp. 50,4 Gy konformní technikou 6 polí. Brachyterapie byla aplikovaná ve dvou frakcích ve 3. a 5. týdnu zevní radioterapie v dávce 8 Gy. Tato dávka byla plánována na cílový objem, který zahrnoval prostatu a bázi semenných váčků s lemem 3 mm. Umístění jehel ve vztahu k cílovému objemu je zobrazeno na obrázku 4. Interval mezi frakcemi brachyterapie byl 14 dní. Biologicky ekvivalentní dávka (BED) pro nádor, pokud počítáme poměr  $\alpha/\beta$  1,5, byla 89,5 Gy, pro pozdní změny při  $\alpha/\beta$  3 byla 65,6 Gy. V oblasti periferních laloků prostaty, kde se nádor vyskytuje až v 75% případů, byla dávka v rozmezí 150–200 %, čili BED pro tumor byla přes 200 Gy.

Pacienti ve skupině s vysokým rizikem rekurence absolvovali neoadju-

vantní a konkomitantní hormonální léčbu s goserelinem a flutamidem.

Každý pacient byl po skončení léčby pravidelně sledován urologem a onkologem v jednoměsíčních až tříměsíčních intervalech. Akutní genitourinární (GU) a gastrointestinální (GI) toxicita byla hodnocena pomocí RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) kritérií (tab. 3) (15) a na základě mezinárodního skóre prostatických symptomů (IPSS dotazník). Za akutní nežádoucí účinky jsme považovali symptomy, které se objevily v průběhu léčby zářením nebo do 6 měsíců od skončení léčby.

V případě objevení se příznaků z oblasti dolních močových cest bylo doplněno ultrazvukové vyšetření (UZ) močového měchýře. Další postup po zjištění močového rezidua je zobrazen na obrázku 5.

## VÝSLEDKY

### Parametry kvality

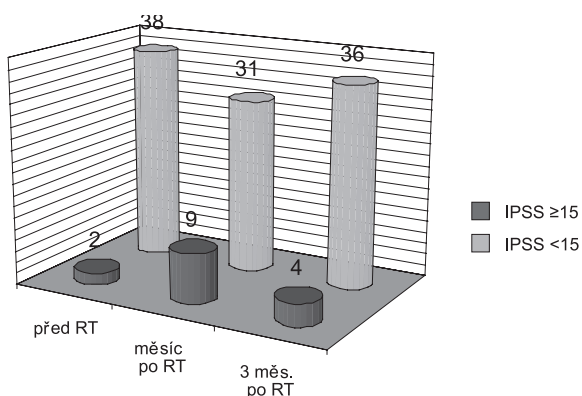
U všech pacientů jsme vyhodnocovali dávku, kterou obdrží 90 % objemu prostaty (D90). V našem souboru byla D90 v průměru 7,24 Gy (medián 7,22). Průměrný objem plánovacího cílového objemu (PTV – prostata + 3 mm lem) byl 38,3 cm<sup>3</sup> (medián 34,7 cm<sup>3</sup>). Průměrný objem, který byl ozářen 100 % izodózou, byl 32,0 cm<sup>3</sup> (medián 29,4 cm<sup>3</sup>). Objem, který byl ozářen 150 % izodózou, byl v průměru 15,6 cm<sup>3</sup> (medián 14,3 cm<sup>3</sup>).

Maximální dávka v uretře vypočtená plánovacím systémem byla v průměru 9,8 Gy (medián 9,9 Gy) – 122,5 %. Průměrná dávka na uretru změřená pomocí *in vivo* dozimetrie byla 9,1 Gy (medián 9,4 Gy) – 113,7 %.

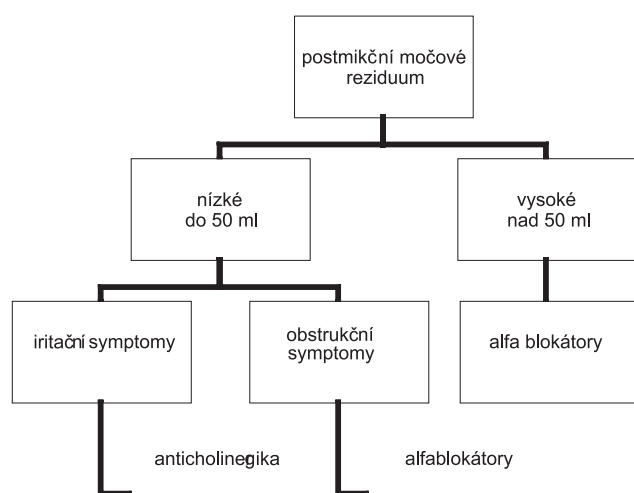
Maximální dávka na rektum podle plánovacího systému – prů-

Tab. 4. Parametry kvality

	Průměr	medián	% z D <sub>ref</sub>
objem PTV	38,34 cm <sup>3</sup>	34,70 cm <sup>3</sup>	
D 90	7,24 Gy	7,22 Gy	
V 100	32,00 cm <sup>3</sup>	29,40 cm <sup>3</sup>	
V 150	15,64 cm <sup>3</sup>	14,34 cm <sup>3</sup>	
D <sub>max</sub> uretra – plánovací systém	9,81 Gy	9,90 Gy	122,5
D <sub>max</sub> uretra – <i>in vivo</i>	9,13 Gy	9,42 Gy	113,7
D <sub>max</sub> rektum – plánovací systém	6,18 Gy	6,30 Gy	78,7



Graf 1. Vyhodnocení IPSS dotazníku před radioterapií, jeden a tři měsíce po skončení radioterapie



Obr. 5. Postup léčby močového rezidua po UZ vyšetření močového měchýře

měr 6,2 Gy (medián 6,3 Gy) – 78,7 %. Parametry kvality jsou uvedené v tabulce 4.

Doba výkonu byla v průměru 128 minut (70–270 min).

**Toxicita léčby**

Nežádoucí účinky a komplikace můžeme rozdělit na perioperační, akutní a pozdní. Ve velké míře závisí na správném výběru pacientů pro brachyterapii.

Před zahájením léčby pacienti vyplnili dotazník mezinárodního skóre prostatických symptomů (IPSS dotazník). Devadesát pět procent pacientů z celého souboru mělo skóre menší než 15 (38 mužů). Jeden měsíc po skončení léčby mělo 31 pacientů skóre IPSS menší než 15–77,5 %. Za další dva měsíce došlo k úpravě u 5 mužů. Vyhodnocení IPSS skóre před léčbou a po ní je zobrazen v grafu 1.

Akutní gastrointestinální a genitourinární nežádoucí účinky jsme hodnotili podle RTOG kritérií.

Genitourinární toxicita 1. stupně byla zaznamenána u 15 pacientů (37,5 %), 2. stupně převážně v podobě nykturie u 6 pacientů (15 %). U jednoho muže bylo nutné 2 dny po 1. frakci brachyterapie provedení epicystostomie pro močovou retenci a nemožnost zavedení permanentního katetru (hodnoceno jako toxicita stupně 3–4). Epicystostomie byla po dvou týdnech zrušena a pacient močí per vias naturales. U 45 % pacientů (18) nebyly popsány žádné nežádoucí účinky z oblasti genitourinárního traktu.

Tab. 5. Frekvence akutní toxicity v souboru 40 pacientů

	Grade 1 počet pacientů (%)	Grade 2	Grade 3	Grade 4
<b>GU toxicita</b>	15/37,5	6/15		1/2,5
dysurie	7	2		0
nykturie	4	6		0
inkontinence	0	0		0
retence	5	1		1
hematurie	7	2		0
<b>GI toxicita</b>	16/40			
nauzea	0			
zvracení	0			
průjem	16			
tenezmy	10			
bolest	0			
<b>jiné</b>				
trombóza	1/2,5			

Po výkonu se močový katetr extrahoval v průměru za 24–48 hodin, pouze u 2 pacientů bylo nutné opětovné provedení katetrizace. Příčinou byla právě objemnější prostata: 60, 48,5 cm<sup>3</sup> dle plánovacího systému. Průměrný objem plánovacího cílového objemu (PTV) u pacientů s genitourinární toxicitou dvě a více byl 48,03 cm<sup>3</sup> ve srovnání s 34 cm<sup>3</sup> u pacientů s genitourinární toxicitou 1 nebo 0.

Gastrointestinální nežádoucí účinky nejčastěji ve formě častějších stolic byly stupně 1 u 16 mužů (40 %), stupně 2–4 u žádného pacienta z celého souboru. 24 pacientů (60 %) nemělo v průběhu radioterapie ani po jejím skončení žádné gastrointestinální potíže. Ke snížení gastrointestinální toxicity slouží vodní náplň mezi konečníkem a prostatou, která se po zavedení jehel odstraní. Jehly po té zafixují prostatu ve větší vzdálenosti od rekta.

Jeden pacient po první frakci brachyterapie prodělal hlubokou žilní trombózu a od druhé frakce brachyterapie bylo ustoupeno, dávka byla doplněna ze zevní radioterapie.

Akutní nežádoucí účinky jsou uvedeny v tabulce 5.

**DISKUZE**

Léčba lokalizovaného karcinomu prostaty je stále třetí plochou mezi urologi a radioterapeuty. Ještě v nedávné době technické vybavení radioterapeutických pracovišť nedovolovalo aplikaci dostatečně vysoké dávky záření, což často vedlo k selhání radioterapie v léčbě karcinomu prostaty. Konvenční radioterapií je možno bez zvýšení nežádoucích účinků dodat maximální dávku kolem 69 Gy, což je dávka pro léčbu nádoru prostaty nedostačná (16).

Druhým důvodem pro spíše negativní pohled na konvenční radioterapii byla značná akutní i pozdní zejména gastrointestinální toxicita. Příčinou byly omezené možnosti radioterapie, která se prováděla především na radiokobaltových ozařovačích s relativně nízkou energií záření. Používaly se jednoduché techniky záření – převážně dvě protilehlá pole (AP/PA), což vedlo k velkému ozáření okolních zdravých tkání (močového měchýře, rekta). Ani u techniky čtyř polí (BOX technika) se nepoužívaly vykrývací bloky. Nežádoucí účinky – proktitida, cystitida, fibróza – byly proto velmi časté. Na druhé straně nebylo možné aplikovat dostatečně vysokou dávku záření do cílového objemu.

Výsledky řady studií prokázaly, že existuje statisticky významný rozdíl v pětileté lokální kontrole onemocnění mezi nádory ozářenými dávkou menší a větší než 70 Gy (17–21).

Během posledních dvou desetiletí došlo k výraznému pokroku v technologii léčby zářením – od konvenční radioterapie ke konformní nebo intenzivně modulované radioterapii (IMRT). Tato změna umožnila dávkovou eskalaci na 80 Gy bez zvýšení toxicity (22, 23). Nicméně při těchto dávkách je nutné dodržovat přísné limity pro ozáření rektu, což může být v některých případech obtížné až neproveditelné. Doporučené limity pro zevní radioterapii používané na našem pracovišti jsou uvedené v tabulce 6.

Pokroky zaznamenala i brachyterapie. Proces plánování a zobrazení je stále preciznější a konformnější. S pomocí brachyterapie je možné dosáhnout dalšího zvýšení dávky až přes 100 Gy. Pro brachyterapii hovoří i radiobiologická data. U karcinomu prostaty se udává nízký poměr  $\alpha/\beta$  (1,5 Gy), což by ospravedlňovalo předpoklad vyšší účinnosti vyšší dávky na frakci (23).

V našem souboru bylo 72,5 % pacientů skupiny středního a vysokého rizika recurence. Právě u této skupiny by dávková eskalace měla mít největší přínos (18). Na léčebné výsledky ovšem musíme počkat.

Jeden z nejčastějších vedlejších účinků brachyterapie karcinomu prostaty je uretrální toxicita. Rubin analyzoval 1220 vzorků z radikální prostatektomie a zkoumal šíření nádoru do periprostatické tkáně. U 20 % pacientů byla postižena nádorem i tkáň v těsné blízkosti uretry. Proto je nutné dodat dávku záření i do této oblasti (24). Dávka 100–140 % aplikované dávky by měla být dobře tolerovatelná všemi segmenty prostatické uretry (25). Naše technika intersticiální brachyterapie zahrnuje zavedení močového katetru den před výkonem, kdy se provádí příprava ozařovacího plánu (preplanning). Močový katetr umožňuje zobrazení uretry s pomocí transrektálního ultrazvuku a přesné stanovení dávky v této oblasti, která byla i během ozáření *in vivo* ověřena. Pro naše pacienty byla stanovena maximální uretrální dávka 125 %. Po výkonu se močový katetr extrahoval v průměru za 24–48 hodin, pouze u 2 pacientů, jak již bylo uvedeno, bylo nutné opětovně provedení katetrizace. Příčinou byla objemnější prostata: 60, 48,5 cm<sup>3</sup> dle plánovacího systému. K rizikovým faktorům pro vznik akutní močové retence patří velká prostata, předimplantační obstrukční symptomy, vyšší uretrální dávka (26, 27). Močová retence se obvykle rozvíjí v průběhu 24–48 hodin. U LDR implantací je popisována u 4–14 % pacientů (28). Data z HDR implantací jsou omezená a často jsou zkreslena rozdílnými soubory pacientů.

Akutní močová retence musela být v našem souboru řešena u dvou pacientů znovu zavedení permanentního katetru a u jednoho pro nemožnost zavedení katetru i provedení epicystostomie (7,5 %).

Různě velké postmikční reziduum spojené s obtížným močením mělo 17,5 % pacientů, ale u většiny z nich ihned po nasazení alfablokátorů došlo k úpravě. Některá pracoviště podávají alfablokátory profylakticky (29).

K dalším akutním nežádoucím účinkům patří dysurie, nykturie a polakisurie. Nykturie byla v našem souboru nejčastější příčinou ke zařazení genitourinární toxicity do stupně dvě.

Gastrointestinální nežádoucí účinky jsou poměrně dobře zdokumentované u zevní radioterapie, ale existuje málo prací, které ji hodnotí u brachyterapie (30). Výskyt nežádoucích účinků ze strany zažívacího traktu se pohybuje od 17 do 30 %. Mezi rizikové faktory patří kombinace brachyterapie se zevní radioterapií a vyšší věk. Nejčastěji se vyskytuje stupeň jedna a dvě (31). V našem souboru se vyskytla gastrointestinální toxicita pouze prvního stupně, a to u 40 % pacientů (16 mužů). Mezi rizikové faktory ale určitě počítáme kombinaci s hormonální léčbou (flutamidem), což měla v našem souboru téměř polovina pacientů (17 pacientů – 42,5 %). Přínos kombinace hormonální léčby a léčby zářením u lokálně pokročilého onemocnění prokázala randomizovaná studie (32). Neoadjuvantní hormonální léčba by

**Tab. 6.** Doporučení pro přípustné hodnoty ozáření rektu ze zevní radioterapie

- |   |
|---|
| 1. Kontura zevní stěny rektu v řezech 1 cm nad a 1 cm pod úrovní PVT                        |
| 2. Hodnocení DVH  |
| 75 Gy < 15 % objemu rektu – V15   |
| 70 Gy < 25 % objemu rektu – V25!  |
| 65 Gy < 35 % objemu rektu – V35   |
| 60 Gy < 50 % objemu rektu – V50   |
| Pro rozvoj pozdních (late) efektů je rozhodující objem ozářený vysokou dávkou – 75 a 70 Gy. |
| 3. Nutno provést také kontrolu ve dvourozměrném (2D) zobrazení                              |
| – maximum dávky musí být mimo oblast rektu  |
| – v žádném řezu by neměla být dávkou 70 Gy ozářena více jak 1/3 obvodu stěny rektu          |

měla i pomoci redukovat objem prostaty, a tím i objem ozářených zdravých tkání (33).

Dle již publikovaných dat by dávková eskalace v kombinaci s hormonální léčbou měla u pacientů ve skupině vysokého rizika recurence dále zlepšit výsledky léčby (19). Dle našeho protokolu pacienti s vysokým rizikem relapsu onemocnění absolvují neoadjuvantní a konkomitanti hormonální léčbu.

K dalším rizikovým faktorům pro vznik gastrointestinální toxicity patří ozářený objem v průběhu zevní radioterapie. U pacientů s vysokým rizikem recurence jsem ozařovali celou pánev (viz léčebný protokol).

Nízké akutní a pozdní nežádoucí účinky patří mezi největší výhody kombinované radioterapie karcinomu prostaty (34).

## ZÁVĚR

Každá z metod léčby lokalizovaného karcinomu prostaty má své výhody a nevýhody.

Kombinace zevní radioterapie a HDR brachyterapie umožňuje optimální konformitu a dávkovou eskalaci s nízkými akutními a pozdními nežádoucími účinky. Kombinace se zevní radioterapií má výhodu ve větší homogenitě dávky, jsou možné větší bezpečnostní okraje ve srovnání se samostatnou brachyterapií. Nevýhodou je delší léčba a větší nežádoucí účinky ze strany zažívacího traktu, zejména výskyt proktitid.

Naše práce dokazuje velmi dobrou toleranci této léčebné metody.

Akutní genitourinární nežádoucí účinky stupně 1 a 2 (dle RTOG kritérií) byly zaznamenány u 52,5 % pacientů, stupně 4 u jednoho pacienta. Akutní gastrointestinální nežádoucí účinky byly zaznamenány pouze 1. stupně, a to u 40 % pacientů.

Pro maximálně možné snížení nežádoucích účinků je nutné dodržovat výše uvedené kontraindikace brachyterapie a určité omezení dávek na uretru a rektum s *in vivo* ověřováním vypočtené dávky.

Intersticiální brachyterapie karcinomu prostaty je další možností, která rozšiřuje spektrum léčebných metod karcinomu prostaty. Také díky ní můžeme nabídnout optimální léčbu vhodnou pro konkrétního pacienta, tzv. léčbu šitou na míru.

### Zkratky

- |       |   |
|-------|---|
| ASTRO | – American Society for Therapeutic Radiology and Oncology |
| BED   | – biologicky ekvivalentní dávka                           |
| BRT   | – brachyterapie   |
| D90   | – dávka, kterou obdrží 90 % objemu prostaty               |

DVH	– dose volume histogram
GI	– akutní gastrointestinální toxicita
GS	– gleason skóre
GU	– akutní genitourinární toxicita
Gy	– gray
HDR brachyterapie	– brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem (high dose rate)
IMRT	– intenzitně modulovaná radioterapie
IPSS	– mezinárodní skóre prostatických symptomů
LDR brachyterapie	– brachyterapie s nízkým dávkovým příkonem
MeV	– mega elektron volty
PSA	– prostatický specifický antigen
PTV	– plánovací cílový objem
RT	– radioterapie
RTOG kritéria	– Radiation Therapy Oncology Group kritéria toxicity
TRT	– zevní radioterapie
TRUS	– transrektální sonografie
TURP	– transuretrální resekce prostaty
UZ	– ultrazvukové vyšetření
V100	– objem, který je pokryt 100% izodózou
V150	– objem, který je pokryt 150% izodózou

### LITERATURA

1. **Martinez, A. A.:** ASTRO teaching course, 1999 (abstr.).
2. **Vicini, F. A., Martinez, A. A., Hanks, G. et al.:** An interinstitutional and interspeciality comparison of prostate cancer treatment outcome data based upon predefined prognostic categories and minimum follow-up. *Cancer*, 2002, 95, s. 2126-2135.
3. **Hudson, R.:** Brachytherapy treatments increasing aminy Medicare population. Health policy Brief of the American Urologic Association, Inc., 1999, 9, s. 1-8.
4. **Hanks, G. E., Martz, K. L., Diamond, J. J.:** The effect of dose on local control of the prostatic cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1988, 15, s. 1299-1305.
5. **Martinez, A. A., Gustafson, G., Gonzalez, J. et al.:** Dose escalation using conformal high dose rate brachytherapy improves outcome in unfavorable prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2002, 53, s. 316-327.
6. **Grills, I. S., Martinez, A. A., Hollander, M. et al.:** High dose rate brachytherapy as prostate cancer monotherapy reduces toxicity compared to low dose rate palladium seeds. *J. Urol.*, 2004, 171, s. 1098 až 1104.
7. **Critz, F. A., Williams, K., Sorace, R. et al.:** Simultaneous irradiation for prostate cancer: Intermediate results with modern techniques. *Urology*, 2000, 164, s. 738-743.
8. **Ghaly, M., Wallner, K., Merrick, G. et al.:** Brachytherapy versus brachytherapy and external beam radiation for prostate cancer: morbidity outcomes from two prospective randomized multicenter trials. Program and abstracts of the American Society for Therapeutic Radiology and Oncology 44th Annual Meeting 2002, (abstr. 6).
9. **Kovács, G., Wirth, B., Bertermann, H. et al.:** Prostate preservation by combined external beam and HDR brachytherapy of nodal negative prostate cancer patients: An intermediate analysis after 10 years experience (Abstr). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1996, 36 (Suppl.1), s. 198.
10. **Borghede, G., Nefelin, H., Holmang, S. et al.:** Combined treatment with temporary short-term high dose rate iridium-192 brachytherapy and external beam radiotherapy for irradiation of localized prostatic carcinoma. *Radiother. Oncol.*, 1997, 44, s. 237-244.
11. **Brenner, D. J., Hall, E. J.:** Fractionation and protraction for radiotherapy of prostate carcinoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1999, 43, s. 1095-1101.
12. **Emami, B., Lyman, J., Brown, A. et al.:** Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1991, 21, s. 109-112.
13. **Lachance, B., Béliveau-Nadeau, D., Lessard, É. et al.:** Early clinical experience with anatomy-based inverse planning dose optimization for high-dose-rate boost of the prostate. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2002, 54, s. 86-100.
14. **D'Amico, A. V., Whittington, R., Malkowicz, S. B. et al.:** Pretreatment nomogram for prostate-specific antigen recurrence after radical prostatectomy or external-beam radiotherapy for clinically localized prostate cancer. *J. Clin. Oncol.*, 1999, 17, s. 168-172.
15. **Cox, J. D., Stetz, J., Pajak, T. F.:** Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1995, 31, s. 1341-1346.
16. **Pollack, A., Smith, L. G., von Eschenbach, A. C.:** External beam radiotherapy dose response characteristics of 1127 men with prostate cancer treated in the PSA era. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2000, 48, s. 507-512.
17. **Fiveash, J. B., Hanks, G., Roach, M. et al.:** 3D conformal radiation therapy for high-grade prostate cancer: a multi-institutional review. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2000, 47, s. 335-342.
18. **Pollack, A., Zagars, G. K., Starschall, G. et al.:** Prostate cancer radiation dose response: results of the M.D. Anderson phase III randomized trial. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2002, 53, s. 1097-1105.
19. **Kupelian, P. A., Mohan, D. S., Lyons, J. et al.:** Higher than standard radiation dose ( $\geq 72$  Gy) with or without androgen deprivation in the treatment of localized prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2000, 46, s. 567-574.
20. **Zelevsky, M. J., Leibel, S. A., Gaudin, P. B. et al.:** Dose escalation with three dimensional conformal radiation therapy affects the outcome in prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1998, 41, s. 491-500.
21. **Kuban, D., Pollack, A., Huang, E. et al.:** Hazards of dose escalation in prostate cancer radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2003, 57, s. 1260-1268.
22. **Hanks, G. E., Schultheiss, T. E., Halon, A. L. et al.:** Optimization of conformal radiation treatment of prostate cancer: report of a dose escalation study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1997, 37, s. 543-550.
23. **Fowler, J., Chappell R, Ritter M. Is  $\alpha/\beta$  for prostate tumors really low?** *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001,50:1021-1031.
24. **Rubin, M. A., Bagiella, E., Ennis, R. D.:** Urethral sparing techniques in prostate brachytherapy and cryosurgery: is cancer also beány spared. Program and abstracts of the American Society for Therapeutic Radiology and Oncology 44th Annual Meeting 2002 (abstr.).
25. **Allen, Z. A., Merrick, G. S., Hitler, W. M. et al.:** Detailed urethral dosimetry in the evaluation of prostate brachytherapy-related urinary morbidity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2005, 62, s. 981-987.
26. **Schwarz, D. J., Scild, S. E., Wong, W. W. et al.:** Factors associated with the frequency of self-intermittent catheterization after prostate brachytherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2005, 61, s. 60-63.
27. **Locke, J., Ellis, W., Wallner, K. et al.:** Risk factors for acute urinary retention requiring temporary intermittent catheterization after prostate brachytherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2002, 52, s. 712-719.
28. **Desai, J., Stock, R. G., Stone, N. N. et al.:** Acute urinary morbidity following I-125 interstitial implantation of the prostate gland. *Radiat. Oncol. Investig.*, 1998, 6, s. 135-141.
29. **Schwarz, D. J., Scild, S. E., Wong, W. W. et al.:** Factors associated with the frequency of self-intermittent catheterization after prostate brachytherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2005, 61, s. 60-63.
30. **Gelblum, D. Y., Potters, L.:** Rectal complications associated with transperineal interstitial brachytherapy for prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2000, 48, s. 119-124.
31. **Kang, S. K., Chou, R. H., Dodge, R. K. et al.:** Gastrointestinal toxicity of transperineal interstitial prostate brachytherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2002, 53, s. 99-103.
32. **Bolla, M., Gonzalez, D., Warde, P. et al.:** Improved survival in patients with locally advanced prostate cancer treated with radiotherapy and goserelin. *N. Engl. J. Med.*, 1997, 337, s. 295-300.
33. **Yoshioka, Y., Nose, T., Yoshida, K. et al.:** High-dose-rate brachytherapy as monotherapy for localized prostate cancer: A retrospective analysis with special focus on tolerance and chronic toxicity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2003, 56, s. 213-220.
34. **Pellizzon, A. C. A., Nadali, W., Salvajoli J. V. et al.:** Results of high dose rate afterloading brachytherapy boost to conventional external beam radiation therapy for initial and locally advanced prostate cancer. *Radiotherapy and Oncology*, 2003, 66, s. 167-172.



KAZUISTIKA

## Familiární hemofagocytující lymfohistiocytóza na podkladě deficitu perforinu úspěšně léčená transplantací hematopoetických kmenových buněk – první diagnostikovaný případ v České republice

Špišek R., Mejstříková E., <sup>1</sup>Formánková R., <sup>2</sup>Žižková H., <sup>1</sup>Vávra V., Hrušák O., Šedivá A., <sup>1</sup>Sedláček P. <sup>1</sup>Starý J.

Ústav imunologie 2. LF UK, Praha

<sup>1</sup>Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FNM, Praha

<sup>2</sup>Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

### SOUHRN

Familiární hemofagocytující lymfohistiocytóza (FHL) je geneticky podmíněné heterogenní onemocnění, charakterizované porušenou cytotoxickou funkcí T lymfocytů a NK buněk, které se typicky projevuje během prvních měsíců po narození. Není-li adekvátně léčeno, je během několika měsíců bez výjimky fatální. FHL se v kavkazské rase vyskytuje s incidencí přibližně 1 případ na 50 000 porodů. Jedinou kauzální léčbou je transplantace hematopoetických kmenových buněk. V posledních letech byl objasněn genetický podklad několika podskupin FHL. Přibližně u 30 % pacientů je FHL způsobeno mutací v genu, který kóduje perforin. U další třetiny pacientů je podkladem FHL mutace genu *UNC13D*, který kóduje protein hMunc13-4. Zcela nedávno byl identifikován další gen *STX11*, který je lokalizován na 6. chromozómu a který kóduje bílkovinu syntaxin 11. Absence všech třech identifikovaných proteinů narušuje proces exocytózy cytotoxických granul. V této práci popisujeme pacientku s klinickým obrazem FHL. Soubor experimentálních metod buněčné imunologie a molekulární biologie vedl k rychlé identifikaci deficitu perforinu jako příčiny onemocnění a ověření diagnózy. Pacientka podstoupila transplantaci hematopoetických kmenových buněk od nepříbuzného HLA shodného dárce, po které došlo k úpravě klinických i laboratorních projevů onemocnění a k normalizaci cytotoxické aktivity T lymfocytů a NK buněk. U pacientky se FHL projevila typickými příznaky klinickými i laboratorními. Při adekvátní léčbě s následnou transplantací kmenových hematopoetických buněk se podařilo dostat onemocnění pod kontrolu a v současné době je dívka bez příznaků nemoci a normálně prospívá. Jde to první případ FHL v České republice, kde byl jako příčina potvrzen deficit perforinu jak na buněčné, tak na molekulární úrovni.

**Klíčová slova:** familiární hemofagocytující lymfohistiocytóza, perforin, cytotoxické testy, transplantace kostní dřeň, smíšený chimerismus.

### SUMMARY

Špišek R., Mejstříková E., Formánková R. et al.: Familial Haemophagocytic Lymphohistiocytosis Caused by Perforin Deficit Can Be Successfully Treated by Haematopoietic Stem Cell Transplantation – The First Diagnosed Case in the Czech Republic

Familial haemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL) is an inherited disorder characterized by an impaired cytotoxicity of T lymphocytes and NK cells typically manifesting within first few months after birth. If not treated adequately, it is inevitably fatal within several months. The incidence in Caucasians has been estimated to 1: 50 000 births. Haematopoietic stem cell transplantation represents the only curative treatment for FHL. Recently, several genetic defects underlying molecular defects in FHL have been identified. In approximately 30% of patients FHL is caused by mutations in *PRF1* gene coding for perforin. Further 30% of patients were found to have mutations in *UNC13D* coding for hMunc13-4 protein. Very recent report has identified another cause of FHL, mutations in *STX11* gene on chromosome 6, coding for syntaxin 11. Absence of any of those proteins severely impairs the process of exocytosis of cytotoxic granules. We describe patient with clinical symptoms of FHL. Immunological and molecular biology methods led to the identification of perforin mutation as a cause of the disease. Patient received an allogeneic SCT from HLA-matched unrelated donor. SCT was followed by rapid normalization of clinical symptoms and laboratory findings. In patient described in this study, FHL manifested with typical clinical and laboratory symptoms. Adequate immunosuppressive treatment and subsequent SCT led to the sustained remission of FHL and correction of molecular defect. This is the first case of FHL in Czech Republic where perforin mutation was identified as a molecular cause both at cellular and molecular level.

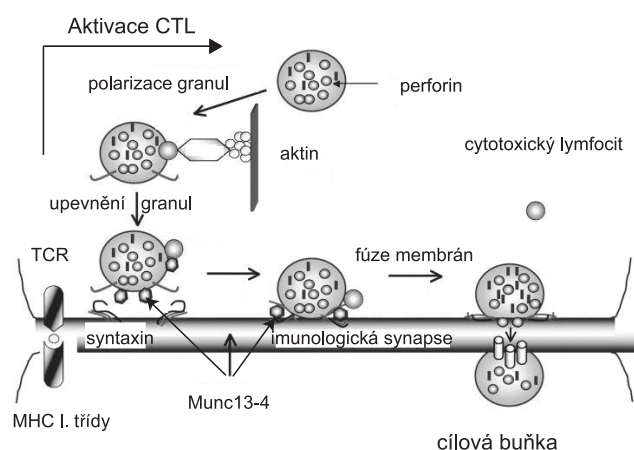
**Key words:** familial haemophagocytic lymphohistiocytosis, perforin, test of cytotoxicity, bone marrow transplantation, mixed chimerism.

Šp.

Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 50–54.

**F**amiliární hemofagocytyující lymfohistiocytóza (FHL, někdy také označovaná jako primární hemofagocytyující lymfohistiocytóza (HLH)) je geneticky podmíněně heterogenní onemocnění, které se typicky projevuje během prvních měsíců po narození (1). Není-li adekvátně léčeno, je během několika měsíců bez výjimky fatální. FHL se v kavkazské rase vyskytuje s incidencí přibližně 1 případ na 50 000 porodů. Před klinickou manifestací onemocnění nejvíce pacienti žádné odchylky v laboratorních vyšetřeních. Jedinou kauzální léčbou je transplantace hematopoetických kmenových buněk (SCT). Manifestace onemocnění je pravděpodobně spouštěna infekcí. Imunitní systém pacientů reaguje na infekci nepřiměřeně a není schopen vytvořit efektivní imunitní odpověď. FHL se klinicky nejčastěji projevuje horečkou, výraznou hepatosplenomegalií, koagulopatií a často i neurologickými příznaky z postižení CNS. Laboratorní vyšetření prokazují různý stupeň cytopenie, postižení jaterního parenchymu, hypertriglyceridémii, hypofibrinogémií a výrazně zvýšený feritin. Patogenetickým podkladem těchto změn je nekontrolovaná proliferace aktivovaných T lymfocytů a aktivace makrofágů, které fagocytyují krevní elementy (hemofagocytóza). Důležitým

ní a sekundární formou HLH má zásadní význam pro volbu léčebné strategie, není ale zejména na počátku onemocnění často možné. Pacienty s primární HLH je nutné indikovat k transplantaci kostní dřeně časné v průběhu nemoci, což znamená neodkladně zahájit hledání vhodného dárce. U pacientů se sekundární HLH naopak není transplantace indikována. Identifikace genů zodpovědných za FHL a následná možnost genetického vyšetření je tedy velmi důležitá pro rychlou diagnostiku onemocnění u pacientů s FHL především tam, kde chybí rodinná anamnéza onemocnění. V posledních letech byl objasněn genetický podklad několika podskupin FHL. Geny, jejichž mutace vedou k rozvoji FHL, kódují proteiny, které se podílejí na správné funkci cytotoxických mechanismů zajišťovaných systémem perforin/granzym. Přibližně u 30 % pacientů je FHL způsobeno mutací v genu, který kóduje perforin (PRF1 na 10. chromozómu) (7). Perforin a granzym jsou skladovány v intracelulárních granulech, které po rozpoznání, aktivaci a vazbě T lymfocytů nebo NK buněk na cílovou buňku polarizují do místa imunologické synapse a jejich obsah je uvolněn do mezibuněčného prostoru. Perforin poté zprostředkovává vstup serinové proteázy granzymu B do cílové buňky. Granzym B štěpí v cílové buňce prokaspázu 3 na její aktivní formu kaspázu 3 a zahajuje tak kaskádu proteolytických štěpení, kterého se účastní další enzymy ze skupiny kaspáz. Důsledkem je apoptóza buňky s poškozením intracelulárních patogenů, bránící dalšímu šíření infekce. U FHL způsobené mutací v genu kódujícím perforin tato imunologická reakce selhává a je tak vysvětlením chybějící cytotoxické funkce T lymfocytů a NK buněk in vitro a neschopnosti zvládnout infekci in vivo. V roce 2003 byla popsána skupina dětí, u kterých je podkladem FHL mutace genu UNC13D na 17. chromozómu. Tento gen kóduje protein hMunc13-4. Tato bílkovina hraje důležitou roli v procesu splnutí membrány cytotoxických granul s plazmatickou membránou CTL nebo NK buňky. I když přesný podíl mutací UNC13D na incidenci FHL není dosud znám, zdá se, že defekty tohoto genu lze nalézt u cca 1/3 pacientů s FHL (8). Zcela nedávno byl identifikován další gen, jehož mutace vede k FHL. Jde o gen STX11, který je lokalizován na 6. chromozómu a který kóduje bílkovinu syntaxin 11 (9). I když přesná funkce této bílkoviny není známa, další zástupci rodiny syntaxinů se v kooperaci s hMunc13-4 podílí na upevnění cytotoxických granul na plazmatickou membránu v místě imunologické synapse. Absence všech třech identifikovaných proteinů tedy významným způsobem narušuje proces exocytózy cytotoxických granul a vysvětluje poruchu cytotoxické funkce T lymfocytů a NK buněk (obr. 1). Objasnění příčin FHL zároveň ilustruje klíčovou roli cytotoxických mechanismů závislých na systému granzym-perforin pro homeostázu imunitní reakce. Klinický a laboratorní obraz primárních i sekundárních hemofagocytárních syndromů byl v české literatuře nedávno podrobně popsán (2). V této práci popisujeme pacientku, u které byl jako příčina FHL identifikován defekt v genu pro perforin. Pacientka podstoupila transplantaci hematopoetických kmenových buněk od nepříbuzného HLA shodného dárce, po které došlo k úpravě klinických i laboratorních projevů onemocnění.



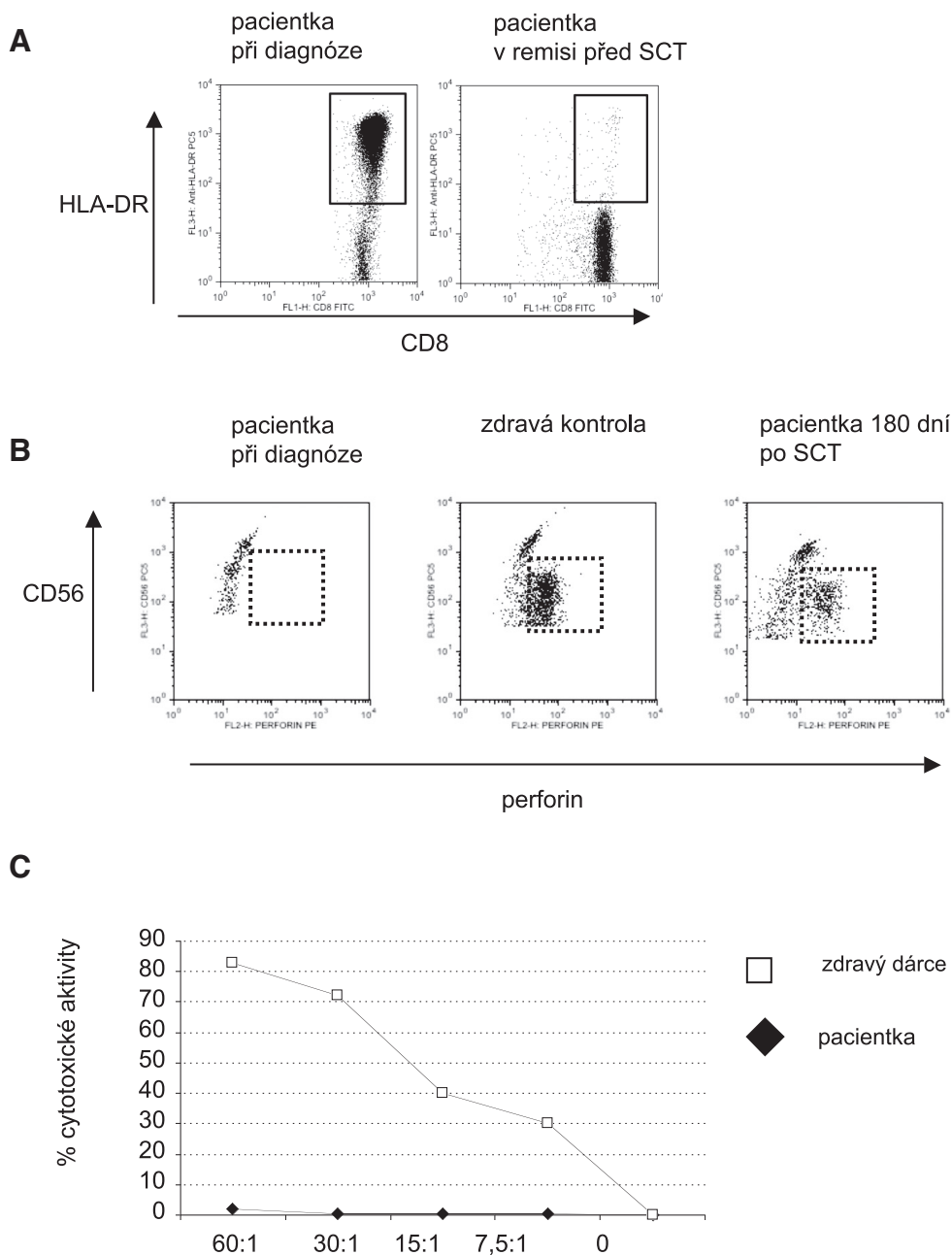
**Obr. 1.** Schematické znázornění dosud známých příčin FHL (se souhlasem autorů upraveno podle (13))

znakem aktivovaných T lymfocytů je exprese HLA II. třídy. Speciálním vyšetřením lze prokázat defekt v cytotoxické aktivitě T lymfocytů a NK buněk (3, 4). Aktivované buňky infiltrují různé orgány, především kostní dřeň, jaterní parenchym, slezinu a lymfatické uzliny. Infiltrace buňkami imunitního systému má za následek nekrózu tkání, orgánové selhání a smrt, pokud se onemocnění neléčí imunosupresivou. Klinický obraz i laboratorní nálezy je možné do značné míry vysvětlit jako následek vysoké a dlouhodobé produkce cytokinů aktivovanými buňkami. Aktivované T lymfocyty produkují zejména IFN $\alpha$ , který aktivuje makrofágy. Aktivované makrofágy produkují IL-1, IL-6 a TNF, které způsobují horečku, hyperlipidémii (inhibiči lipoproteinové lipázy) a koagulopatii. Aktivované makrofágy a buňky prezentující antigen účinněji zpracovávají a předkládají antigeny, které pochází z infekčního agens, a tím ještě zesilují aktivaci T lymfocytů. Léčba imunosupresivou a cytostatiky založená na kombinaci glukokortikoidů, etoposidu a cyklosporinu A může vést k dočasné kontrole onemocnění. Remise jsou ale pouze dočasné a všichni pacienti postupně zrelabují a umírají, jestliže nejsou léčeni SCT (5). Klinický obraz hemofagocytárních syndromů se může rozvinout i sekundárně v asociaci se systémovou infekcí, nádorovým onemocněním nebo onemocněním autoimunitním (tzv. sekundární HLH). Neléčená primární FHL vede vždy ke smrti, sekundární HLH může spontánně odeznít, častěji příznivě zareagovat na imunosupresivní léčbu (nebo léčbu cílenou na etiologické agens, např. leishmáníozu (6)), ale může rovněž probíhat fatálně. Rozlišení mezi primár-

## POUŽITÉ METODY

### Průtoková cytometrie

100  $\mu$ l periferní krve bylo označeno směsí protilátek proti povrchovým molekulám CD3 (Caltag, klon S4.1), CD8 (BD, klon SK.1) a CD56 (Immunotech, klon N901). Po inkubaci 15 minut při pokojové teplotě byly buňky fixovány, permeabilizovány a inkubovány s protilátkou proti perforinu (BD, klon delta G9). Vzorky byly měřeny na přístroji FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, USA) a následně analyzovány pomocí softwaru FlowJo (TreeStar, USA).



Obr. 2.

**A. Aktivace CD8 T lymfocytů**

Obrázky ukazují expresi CD8 a HLADR na CD3<sup>pos</sup> buňkách (dot plot, gate CD3, HLA DR pozitivních bylo při diagnóze 92 %, v remisi před SCT 3 % buněk).

**B. Expresce perforinu v NK buňkách**

Obrázky ukazují expresi perforinu a CD56 v CD56<sup>pos</sup> buňkách (dot plot, gate CD56+CD3<sup>neg</sup>, 0 % u pacientky při diagnóze, 75 % u kontrolní pacientky a 44 % u pacientky den 180 po SCT).

**C. Cytotoxická aktivita lymfoblastů při diagnóze onemocnění**

**Cytotoxické testy**

Periferní mononukleární buňky byly stimulovány fytohemaglutininem (1 µg/ml) a IL-2 (20 UI/ml) po dobu 24 hodin. Následně byly aktivované lymfoblasty stimulovány po dobu 1–2 týdnů v přítomnosti 40 UI/ml IL-2. Po dostatečném namnožení byly lymfoblasty aktivovány monoklonální protilátkou proti molekule CD3 (laskavě zapůjčena prof. V. Hořejším, LMG, AV ČR) a jejich cytotoxická aktivita byla hodnocena standardním 6 hodinovým testem založeným na uvolňování radioaktivního chromu<sup>51</sup> (Cr<sup>51</sup>). Jako cílové buňky byly použity Fas-deficitní L1210 buňky (10<sup>4</sup> buněk, označených Cr<sup>51</sup>). Absence molekuly Fas způsobuje, že tato linie je citlivá pouze k cytotoxicitě zprostředkované systémem granzym/perforin. Cytotoxické buňky byly přidány v různých poměrech a procento

cytotoxické aktivity vypočteno podle vzorce: 100x (uvolnění Cr<sup>51</sup> při inkubaci s lymfoblasty-spontánní uvolnění Cr<sup>51</sup> cílovými buňkami)/(maximální uvolnění Cr<sup>51</sup> při lýze cílových buněk detergentem-spontánní uvolnění Cr<sup>51</sup> cílovými buňkami).

**Analýza genu kódujícího perforin**

DNA byla izolována z mononukleárních buněk periferní krve. Exony 2 a 3 genu PRF1 byly amplifikovány pomocí polymerázové řetězcové reakce (PCR) se specifickými primery v Karolinska Institutet, Švédsko, tak jak bylo dříve publikováno (10). Sekvence amplifikovaných exonů prokázala homozygotní mutaci G>C v exonu 2 na pozici 658. Mutace vede k záměně glycinu za arginin v pozici 220.

## KAZUISTIKA

Dívka, věk při manifestaci základního onemocnění: 1 měsíc. Rodinná anamnéza: sestra, 4 roky, adnatní infekce, jinak zdravá.

Nynější onemocnění: porod v 38+5 týdnu, bez komplikací, porodní hmotnost 2750 g, porodní délka 47 cm, AS 9-10-10, 3 dny fototerapie pro ikterus. Z porodnice propuštěna 4. den, normální hodnoty krevního obrazu. Od třetího týdne po propuštění z porodnice nápadně bledá, 25. den života febrilie kolem 39 st., přijata na dětské oddělení, neklidná, přetrvávají febrilie, při fyzikálním vyšetření zachycena hepatosplenomegalie, játra +5 cm, slezina +4 cm pod oblouk žeberní, vysloveno podezření na akutní leukemii a pacientka přeložena na Kliniku dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol. Krevní obraz: hemoglobin 97 g/l, leukocyty  $14 \times 10^9/l$ , neutrofilů 35 %, monocytů 9 %, lymfocytů 56 %, trombocytů  $31 \times 10^9/l$ . Biochemie při přijetí: ferritin 40640 (N 145 až 458  $\mu g/l$ ). Vyšetření koagulací: APTT: 72,0 (N 30,90), quick: 25%, INR: 3,58, trombinový čas: 20,80 (N 18,80), fibrinogen: 0,58 g/l (N 1,5–4 g/l), antitrombin III: 32%, D dimer: nad 1000 ng/ml, protein C: 2%, protein S: 24%.

Byla provedena punkce kostní dřeně s nálezem zmnožených makrofágů pohlcujících ostatní krevní elementy. V periferní krvi bylo výrazné zmnožení aktivovaných CD8+ T lymfocytů (92% CD8+ T lymfo bylo HLA DR pozitivních, normální hodnota <15 %) (obr. 2A). Test cytotoxické aktivity prokázal zcela chybějící schopnost T lymfocytů zabít cílové buňky (obr. 2C). V NK buňkách jsme prokázali deficit perforinu (normálně v nestimulované periferní krvi je většina NK buněk pozitivních). Klinický obraz onemocnění i laboratorní vyšetření byla v souladu s diagnózou FHL. DNA izolovaná z mononukleárních buněk periferní krve byla odeslána na zahraniční pracoviště k sekvenaci genu pro perforin, s následným potvrzením mutace.

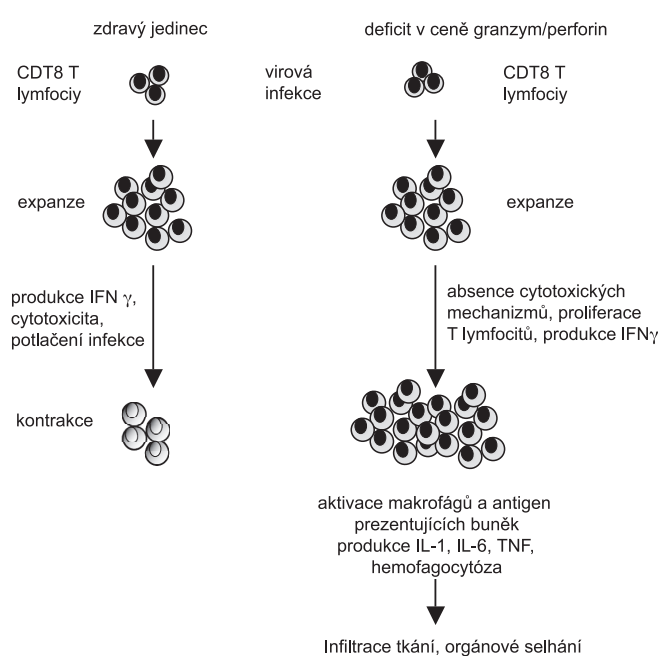
Druhý den po přijetí byla zahájena terapie podle protokolu HLH-2004. Přes léčbu dochází k rychlému zvětšování břišních orgánů, progresi tachypnoe a hyposaturace, proto byla pacientka 4. den hospitalizace přeložena na ARK k umělé plicní ventilaci. Na ARK pokračovala léčba dle protokolu, rychlá úprava klinického stavu, hepatosplenomegalie a hodnot krevního obrazu, 8. den extubována. Provedena NMR CNS s normálním nálezem; 14. den hospitalizace stav komplikován sepsí (*Pseudomonas aeruginosa*), která byla zvládnuta kombinovanou antibiotickou terapií. Dva měsíce po začátku onemocnění byla dívka v remisi FHL přeložena na jednotku transplantace kostní dřeně k plánované transplantaci kmenových buněk krvetvorby od HLA-shodného nepřibuzného dárce po přípravném režimu busulfan, vepesid, cyclofosamid, anti-thymocytární globulin. Potransplantační průběh byl bez závažnějších komplikací do ambulantního sledování propuštěna den + 85 po transplantaci. Pro narůstající podíl původní krvetvorby bylo den + 84 ukončeno podávání cyklosporinu A a den + 125 byla dívka podána infuze dárcovských CD3 lymfocytů. V kontrolních imunologických vyšetřeních provedených 180 dní po transplantaci bylo detekováno jen 3 % HLA-DR pozitivních CD8 T lymfocytů (normální hodnota) a potvrzena exprese perforinu v NK buňkách. V dalším sledování (nyní 8 měsíců po transplantaci) je dívka v dobrém stavu, trvale bez známek reakce štěpu proti hostiteli, prospívá, přibližně 60 % NK buněk a T lymfocytů má dárcovský genotyp.

## DISKUZE

Exocytóza granul, která obsahují granzym a perforin, je hlavním efektorovým mechanismem v obraně proti virovým infekcím, bakteriálním intracelulárním infekcím a v prevenci vzniku nádorů. Na obraně proti infekcím se koordinovaně podílí systémy přirozené a specifické imunity. Cílem imunitní reakce je efektivní eliminace

patogenu bez poškození vlastních tkání a vznik paměťových buněk, které umožňují účinnější a rychlejší rozvoj imunitní odpovědi při dalších setkáních se specifickým antigenem. Virové infekce indukují masivní expanzi antigen-specifických cytotoxických CD8 T lymfocytů, které produkují celou řadu cytokinů, např. IFN $\alpha$  a zabíjejí infikované buňky. Jednou z důležitých rolí IFN je aktivace buněk prezentujících antigen, které následně předkládají antigeny pocházející z infekčního agens s vyšší účinností a snadněji aktivují další antigen-specifické T lymfocyty (11). Po eliminaci infekčního agens následuje ukončení imunitní reakce, při které vymizí efektorové buňky a v organizmu přetrvávají paměťové T a B lymfocyty. Pro efektivní imunitní odpověď je tedy důležitá rovnováha mezi patogenem a jím vyvolanou reakcí. Nedostatečná imunitní odpověď ohrožuje hostitele nekontrolovanou nebo perzistující infekcí. Nadměrná, nepřiměřená imunitní reakce může svým rozsahem vést k poškození vlastních buněk a tkání hostitele. Typickým příkladem narušení fyziologického průběhu imunitní reakce je FHL, při níž probíhá nekontrolovaná a fatální expanze T lymfocytů specifických pro antigen. Podíl exogenního stimulu, zřejmě virové infekce, na spuštění FHL je velmi pravděpodobný. Perforin deficientní myši vyvinou hemofagocytární syndrom pouze po infekci virem lymfocytární choriomeningitidy (12). U člověka se za pravděpodobné „spouštěče“ FHL považují virus Epstein-Barrové (EBV), herpetické viry, některé intracelulární bakterie a parazité. Jak bylo zmíněno v úvodu, podkladem klinického i laboratorního obrazu FHL je obrovská expanze T lymfocytů, především CD8 cytotoxických T lymfocytů, které si přes porušenou cytotoxickou aktivitu zachovávají schopnost produkovat cytokiny, především IFN $\alpha$ -aktivátor makrofágů a buněk prezentujících antigen. Při nenarušeném průběhu imunitní reakce dojde po eliminaci patogenu k retrakci kompartmentu efektorových T lymfocytů. Fatální důsledky defektů v cestě perforin/granzym ukazují, že tento cytotoxický mechanismus je pro eliminaci efektorových buněk klíčový (13). Efektorové cytotoxické T lymfocyty za normálních okolností rozpoznávají kromě virem infikovaných buněk i vlastní antigen-prezentující buňky, které mají na svém povrchu molekuly MHC I. třídy a virové antigeny a zabíjejí je. Tím je zajištěna limitace množství prezentovaných antigenů a je zamezeno aktivací a expanzí dalších T lymfocytů v okamžiku, kdy je infekce eliminována. Při kontaktu cytotoxických T lymfocytů s cílovou buňkou také dochází k přenosu malého množství MHC molekul s navázanými antigeny. Cytotoxický T lymfocyt se tak sám stává cílem pro okolní T lymfocyty (14, 15). Tím je především zajištěna retrakce poolu T lymfocytů (obr. 3). Identifikace molekulárního podkladu FHL tedy zcela zásadním způsobem přispěla k pochopení procesu exocytózy cytotoxických granul a k objasnění významu tohoto mechanismu pro homeostázu imunitní reakce. Důležitost systému perforin/granzym pro eliminaci patologické aktivity T lymfocytů je možno dokumentovat i na naší popisovaném případě. U naší pacientky se po provedení SCT postupně zvyšoval podíl autologní krvetvorby, pro který byla podána infuze dárcovských lymfocytů. V současné době přetrvává stabilní smíšený chimerismus v T lymfocytech a NK buňkách. Přetrvávání původní krvetvorby po SCT pro FHL není výjimečným jevem. Přítomnost dárcovských T lymfocytů je ovšem dostatečná k tomu, aby zabránila novému relapsu patologické reakce, kterou by zapříčinily perforin-deficitní T lymfocyty příjemce (16). Důvodem je zřejmě to, že dárcovské T lymfocyty úspěšně eliminují jak virem infikované buňky, tak aktivované T lymfocyty hostitele, a tím brání přetrvávající aktivaci CD8 T lymfocytů a nadměrné produkci IFN $\alpha$ .

Jedinou léčebnou modalitou, vedoucí k vyléčení pacientů, je transplantace krvetvorných buněk, po níž následuje normalizace defektní cytotoxické funkce T lymfocytů a NK buněk. V případě HLA-identického sourozence jako možného dárce existuje riziko, že dítě rovněž trpí FHL, která se dosud neprojevila, protože věk



Obr. 3. Schematické znázornění homeostázy cytotoxických CD8 T lymfocytů

manifestace v postižených rodinách nemusí být (i když většinou je) totožný. „Relaps“ nemoci po úspěšné transplantaci s následným onemocněním „zdravého“ dárcce byl popsán. V ideálním případě je možno potvrdit vhodnost sourozence jako dárcce kmenových buněk genetickým vyšetřením. Není-li genetická podstata identifikována, je možno provést vyšetření cytotoxické aktivity lymfocytů a NK buněk. Od roku 1994 byla zahájena mezinárodní studie léčby dětí s FHL kombinací dexametazonu, etoposidu a cyklosporinu A s následnou transplantací krvetvorných buněk od příbuzných i nepříbuzných dárců provedenou časně v průběhu nemoci, jejíž výsledky byly v roce 2002 publikovány (17). Soubor 113 dětí absolvoval léčbu protokolem HLH 94 a 65 z nich podstoupilo transplantaci. Imunosupresivní léčbou bylo dosaženo remise u 53 % dětí, 32 % pacientů zaznamenalo zlepšení nemoci, nikoliv ale remise, 4 % dětí byly non-respondery a 11 % dětí zemřelo před provedením transplantace. Při mediánu sledování 3,1 roku je 3leté přežití pro celý soubor pacientů 55 %. Z 65 dětí, které podstoupily transplantaci (většinou od nepříbuzného dárcce), žije 62 %. Nejčastější příčinou úmrtí po transplantaci byly potransplantační komplikace, 4 děti ale zemřely na aktivní FHL, kterou se nepodařilo transplantací dostat pod kontrolu.

U našich pacientky se FHL projevila typickými příznaky klinickými i laboratorními. Při adekvátní léčbě s následnou transplantací kmenových hematopoetických buněk se podařilo dostat onemocnění pod kontrolu a v současné době je dívka bez příznaků nemoci a normálně prospívá. Jde to první případ FHL v České republice, kde byl jako příčina potvrzen deficit perforinu jak na buněčné, tak na molekulární úrovni.

**Zkratky**

- ARK – anesteziologicko-resuscitační klinika
- CNS – centrální nervová soustava
- CTL – cytotoxický lymfocyt
- Ci<sup>51</sup> – radioaktivní chrom<sup>51</sup>
- DNA – kyselina deoxyribonukleová
- EBV – virus Epstein-Barrové
- FHL – familiární hemofagocytující lymfohistiocytóza
- HLH – primární hemofagocytující lymfohistiocytóza
- MHC – major histocompatibility complex

- NK buňky – přirození zabijáci (natural killers)
- PCR – polymerázová řetězcová reakce
- NMR CNS – nukleární magnetická rezonance centrálního nervového systému
- SCT – transplantace hematopoetických kmenových buněk

**LITERATURA**

1. Allen, M., De Fusco, C., Legrand, F. et al.: Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: how late can the onset be?, *Haematologica*, 2001, 86, s. 499-503.
2. Starý, J., Housková, J., Špíšek, R. et al.: Hemofagocytující lymfohistiocytóza- diagnostické a léčebné dilema. *Čs. Pediatrie*, 2004, 59, s. 71-82.
3. Horne, A., Zheng, C., Lorenz, I. et al.: Subtyping of natural killer cell cytotoxicity deficiencies in haemophagocytic lymphohistiocytosis provides therapeutic guidance. *Br. J. Haematol.*, 2005, 129, s. 658-666.
4. Feldmann, J., Le Deist, F., Ouachee-Chardin, M. et al.: Functional consequences of perforin gene mutations in 22 patients with familial haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br. J. Haematol.*, 2002, 117, s. 965-972.
5. Janka, G. E., Schneider, E. M.: Modern management of children with haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br. J. Haematol.*, 2004, 124, s. 4-14.
6. Suková, M., Starý, J., Housková, J., Nohýnková, E.: Hemofagocytující lymfohistiocytóza jako manifestace viscerální leishmáníózy. *Čas. Lék. čes.*, 2002, 141, s. 581-584.
7. Stepp, S. E., Dufourcq-Lagelouse, R., Le Deist, F. et al.: Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Science*, 1999, 286, s. 1957-1959.
8. Feldmann, J., Callebaut, I., Raposo, G. et al.: Munc13-4 is essential for cytolytic granules fusion and is mutated in a form of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL3). *Cell*, 2003, 115, s. 461-473.
9. zur Stadt, U., Schmidt, S., Kasper, B. et al.: Linkage of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL) type-4 to chromosome 6q24 and identification of mutations in syntaxin 11. *Hum. Mol. Genet.*, 2005, 14, s. 827-834.
10. Goransdotter Ericson, K., Fadeel, B., Nilsson-Ardnor, S. et al.: Spectrum of perforin gene mutations in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001, 68, s. 590-597.
11. Špíšek, R., Bougras, G., Ebstein, F. et al.: Transient exposure of dendritic cells to maturation stimuli is sufficient to induce complete phenotypic maturation while preserving their capacity to respond to subsequent restimulation. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2003, 52, s. 445-454.
12. Kagi, D., Odermatt, B., Mak, T. W.: Homeostatic regulation of CD8+ T cells by perforin. *Eur. J. Immunol.*, 1999, 29, s. 3262-3272.
13. Menasche, G., Feldmann, J., Fischer, A., de Saint Basile, G.: Primary hemophagocytic syndromes point to a direct link between lymphocyte cytotoxicity and homeostasis. *Immunol. Rev.*, 2005, 203, s. 165-179.
14. Stinchcombe, J. C., Bossi, G., Booth, S., Griffiths, G. M.: The immunological synapse of CTL contains a secretory domain and membrane bridges. *Immunity*, 2001, 15, s. 751-761.
15. Stinchcombe, J., Bossi, G., Griffiths, G. M.: Linking albinism and immunity: the secrets of secretory lysosomes. *Science*, 2004, 305, s. 55-59.
16. Almousa, H., Ouachee-Chardin, M., Picard, C. et al.: Transient familial haemophagocytic lymphohistiocytosis reactivation post-CD34 haematopoietic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.*, 2005, 130, s. 404-408.
17. Henter, J. I., Samuelsson-Horne, A., Arico, M. et al.: Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 immunochemotherapy and bone marrow transplantation. *Blood*, 2002, 100, s. 2367-2373.

Tato práce byla podpořena Výzkumnými záměry Ministerstva školství MSM 0021620812, MSM 0021620813 a 6. rámcovým projektem EU Allostem LSHB-CT-2004-503319.

KAZUISTIKA

## Echinokoková nákaza – *echinococcosis*

Šváb J., <sup>1</sup>Feyereisl J., Růžička P., Burget F., <sup>2</sup>Hořejší J., <sup>3</sup>Kolářová L., <sup>4</sup>Stejskal F.

<sup>1</sup>I. chirurgická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

<sup>1</sup>Ústav pro péči o matku a dítě v Podolí, Praha

<sup>2</sup>Radiodiagnostická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

<sup>3</sup>Katedra mikrobiologie, NRL pro tkáňové helmintózy, IPVZ, Praha

<sup>4</sup>Oddělení tropické medicíny 1. LF UK a FN Na Bulovce, Praha

### SOUHRN

V článku je popsán případ diagnostiky a léčby echinokokové cysty v pravém a levém laloku jater u 28leté těhotné ženy.

**Klíčová slova:** nádory jater, cysty jater, echinococcus, měchožil.

### SUMMARY

Šváb J., Feyereisl J., Růžička P. et al.: Hydatid Cysts – Echinococcosis

The case diagnosis and treatment of hydatid cyst in the right and left lobe of the liver in a 28 year old pregnant woman is described in the article.

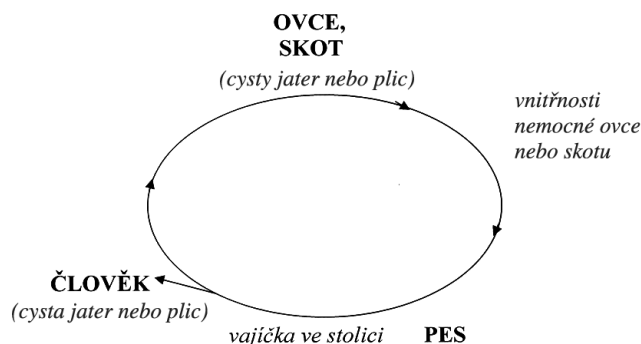
**Key words:** tumours of the liver, cysts of the liver, echinococcus, hydatid cysts.

Šv.

Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 55–58.

**H**ydatická (echinococcosis) je vyvolána larválními stadii tasemnic rodu *Echinococcus*. Dospělé tasemnice se vyvíjí ve střevech psovitých šelem a přirozenými mezipřenositeli jsou různí býložravci. Infekce je rozšířena po celém světě s maximem výskytu v tzv. endemických oblastech, kde dochází k častějšímu přenosu na člověka – především blízkým kontaktem s infikovanými psy.

Nejstarší zmínka o hydatidóze pochází od Hippokrata, který mluvil o „vodnatých játrech“. První patologicko-anatomický popis pochází z roku 1801 od Rudolphuse. Mezi endemické oblasti výskytu echinokokózy patří Středozemí (v Evropě země bývalé Jugoslávie, Bulharsko, Řecko, Itálie), Turecko, Irák, Írán, Čína, řada oblastí Afriky a Latinské Ameriky, Austrálie, Nový Zéland. Incidence ve Středomoří je uváděna 1 až 200 případů na 100 000 obyvatel (1, 2). Ideálním prostředím přenosu echinokokózy jsou stáda skotu a ovcí hlídaná psy. Mimo endemická území se s infekcí setkáváme u imigrantů nebo osob, které v endemických oblastech dlouhodobě pobývaly. K nám nejčastěji přichází pacienti s hydatidózou ze severní Afriky, Bulharska, Rumunska, Itálie nebo Řecka.



Obr. 1. Cyklus *Echinococcus granulosus* v přírodě



Obr. 2. CT obraz cyst v lalocích jater – vlevo typický obraz rozety

doc. MUDr. Jan Šváb, CSc.  
128 08 Praha 2, U Nemocnice 2  
fax: +420 224 918 642, e-mail: jan.svab@lf1.cuni.cz

## ŽIVOTNÍ CYKLUS ECHINOKOKA V PŘÍRODĚ

Lidskou echinokokózu působí *Echinococcus granulosus* (unilokulární hydatidóza) a *Echinococcus (Alveococcus) multilocularis* (multilokulární hydatidóza). Dospělé tasemnice žijí ve střevích psů, lišek a dalších psovitých šelem. Jsou 3–8 mm dlouhé, tvořené malou hlavičkou (skolexem) se čtyřmi přísavkami a dvěma věnci háčků. Za hlavičkou je 3–5 článků, z nichž pouze poslední, pohlavně zralý článek obsahuje 300 až 500 vajíček, která se uvolňují a odchází z těla definitivního hostitele s výkaly. Vajíčka jsou sférická, velikosti 20–30 x 30–40 μm. Jsou odolná vůči vyschnutí a v prostředí mohou přežívat řadu týdnů. Mezihostitelem *E. granulosus* jsou býložravci – ovce, hovězí dobytek, vepř, koně, velbloudi, jež se nakazí potravou kontaminovanou psími výkaly. U *E. multilocularis* jsou definitivními hostiteli lišky a mezihostiteli drobní hlodavci, hraboš polní apod. K infekci člověka dochází vzácně perorálně vajíčky pozřeny s kontaminovanou potravou či vodou. Po požití vajíček mezihostitelem je v zažívacím traktu natrávena jejich zevní vrstva a v tenkém střevě se uvolní larvička (onkosféra), jež proniká střevní stěnou do krevních kapilár a portálním oběhem je zanesena do jater, jež jsou nejčastěji postiženým orgánem. Méně často larvičky putují do plic a dalších orgánů cestou lymfatických cév a cysterna chylí (slezina, srdce, mozek, ledviny, svaly, kosti apod.). Vývojový cyklus (obr. 1) je dokončen, když vyvržené vnitřnosti a tkáně ovcí či skotu pozře pes. Echinokoková (hydatidová) cysta (měchožil) vyroste za půl roku v játrech do velikosti asi 1 cm. Může spontánně regredovat a kalcifikovat, nebo roste pomalu dále několik mm až cm za rok a může dosáhnout velikosti dětské hlavy. Cysta je obklopena bělavou blanou o tloušťce asi 1 mm složenou z koncentrických hyalinních lamel. Ta je produkována parazitem, stejně jako vnitřní zárodečná (germinální) parenchymová vrstvou tloušťky asi 30 μm. Z té vyrůstají hlavičky – skolexy. Zevně pak je vazivová blána adventicie, tvořená hostitelem. Váček o obsahu 300–500 ml je pod tlakem naplněn tekutinou alkalického pH obsahující různé bílkoviny a soli. V ní plavou dceřiné váčky (hydatidový písek) průměru 0,2–0,5 mm, nesoucí na svém povrchu až 30 hlaviček. Skolexy pučící ze zárodečné blány se odtrhují a rovněž plavou v tekutině. Jsou oválné a mají dovnitř vchlípené hlavičky s přísavkami a věncem háčků. Popsané váčky jsou po pozření šelmou zárodkem pro vznik shora popsaných tasemnic a vývoj parazita pokračuje v zažívacím traktu definitivního hostitele.

## CYSTY

Patologicko-anatomicky jsou nejčastější unilokulární hydatidové cysty způsobené *Echinococcus granulosus*, multilokulární (alveolární) cysty jsou nejčastěji způsobeny *Echinococcus multilocularis*. Asi 70 % cyst je uloženo v játrech a asi ve třetině případů jsou cysty mnohočetné. Asi z 80 % je postižen pravý lalok jater (2). Cysty jsou tvořeny ze dvou vrstev, zevní vazivou tvořené adventicie a vnitřní germinální membrány. Uvnitř cysty je opalescentní bezbarvá tekutina obsahující další zárodečná stadia, dceřiné hydatidové cysty. Cysta může prorůstat až pod jaterní pouzdro (2, 3). Někdy cysty prominují do dutiny břišní. Unilokulární cysty mají dobře vyvinuté fibrózní pouzdro oddělující parazita od hostitelské tkáně, naproti tomu multilokulární alveolární hydatidové cysty rostou infiltrativně do hostitelské tkáně a mohou připomínat nádorové bujení. Multilokulární cysty často splývají a díky nekróze okolní jaterní tkáně pronikají do cév a lymfatických. Multilokulární hydatidóza se vyskytuje na severní polokouli a je častější v chladných oblastech (Aljaška, Alpy, Island, Sibiř) (1).

Cysty jater se mohou v 5–10 % případů provalit do žlučovýchodů a sekundární infekcí může dojít ke vzniku jaterních abscesů. Obsah cyst může propadnout v důsledku infekce nekróze, být diagnostikován

a léčen jako purulentní absces, aniž byl rozpoznán jeho parazitární původ. Spontánní intraperitoneální provalení cysty je provázeno často přechodným, nepoznaným drážděním pobřišnice. Vyplavené zárodky jsou příčinou vzniku sekundárních echinokokových cyst na peritoneu. Cysty mající tendenci růstu ke konvexitě jater mohou následně prorůst bránicí a vytvořit dceřiné cysty v pleurální nebo nitrohruďní lokalizaci. Oproti cystám vrozeným mají příměs žlučových barviv a mohou být příčinou empyému a bronchopleuerálních píštělí (1–4).

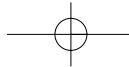
## KLINICKÉ PROJEVY

Klinické projevy jsou většinou minimální, proto jsou hydatidové cysty často náhodným nálezem například při sonografickém vyšetření jater. Inkubační doba je obvykle dlouhá, i několik desítek let. Rostoucí cysty se někdy projeví tlakem na okolní orgány, ale bolesti nebo pocitem tlaku jsou provázeny až velké cysty. Ty mohou být asi ve dvou třetinách hmatné jako nádor v nadbřišku. Hmatná rezistence a zvětšení jater v endemických oblastech je vždy podezřelá na hydatidózu. Obstrukční žloutenka a ascites jsou vzácné. Obstrukční ikterus a septické teploty provázené třesavkou jsou popisovány u infikovaných cyst. Chirurgy je obávaný anafylaktický šok vzniklý rupturou či při otevření cysty a vytlití jejího obsahu na pobřišnici. V běžném klinickém obrazu se nepopisují urtika ani erytém jako projev alergické reakce z přítomnosti cyst v těle. Při provalení hydatidové cysty do žlučových cest je popisována trias biliární kolikovitě bolesti, žloutenky a výsevu urtiky. Při provalení cysty do zažívacího traktu mohou obaly hydatidových cyst odejít zvratkou – tzv. *hydatidemesia*, nebo stolicí tzv. *hydatidenteria*. Intraabdominální provalení cysty může být provázeno anafylaktickým šokem, provalení do hrudníku bývá provázeno bolestí vyzařující do ramene, provalení do plic vykašláváním narůžovělé tekutiny někdy s příměsí žluči a vzácně vykašláním hydatidové membrány (2).

Na nativním snímku hrudníku se cysty zobrazují jako okrouhlý, retikulovaný stín s kontrastními kalcifikacemi. Sekundárně infikované cysty obsahují hladinu a nad ní plyn. Nejprůnosnější jsou vyšetření výpočetní tomografií (CT) a vyšetření nukleární magnetickou rezonancí (NMR). V laboratorním vyšetření je eozinofilie přítomna asi v 25 % jaterních cyst. Aglutinační sérologický test je pozitivní v 85 %. Kožní Casoniho test je pozitivní v 90 % a pozitivita může přetrvávat i po letech po odumrtí cysty nebo po jejím chirurgickém odstranění.

## LÉČBA

Léčba cyst je medikamentózní u malých kalcifikovaných cyst. Větší cysty jsou léčeny chirurgicky v kombinaci s medikamentózní terapií podávanou předoperačně a pooperačně. Princip chirurgické léčby spočívá v odstranění cysty resekcí nebo odstraněním jejího obsahu s následným uzávěrem, zevní drenáží nebo vyplněním cysty plombou z omenta. Peritoneální dutina nesmí být kontaminována obsahem cysty jednak z obavy z těžké alergické reakce a z rozsevu dceřiných cyst na peritoneum. Proto před manipulací s cystou je obsah odsát a ke sterilizaci obsahu aplikován skolicidní roztok (koncentrovaný alkohol nebo hypertonický 10 % solný roztok). Dnes tyto postupy lze provést i za kontroly laparoskopem (5). Při tomto postupu je odsátí a aplikace alkoholu nebo hypertonického solného roztoku i odsátí prováděno silným trokarem za kontroly laparoskopem. Exhausce obsahu cysty se provádí spolu s odsátím parazita i membrány. Před další manipulací se doporučuje dutinu po jejím otevření znovu vypláchnout hypertonickým solným roztokem. Hepatektomie a lobektomie se používají u velkých a multilokulárních cyst. Prognóza závisí většinou na primární nebo sekundární infekci, proto se doporučuje infikované cysty resekovat. Marzipalizace a drenáž cyst mívá větší morbiditu. Mortalita operačního řešení je nižší než 5 %.

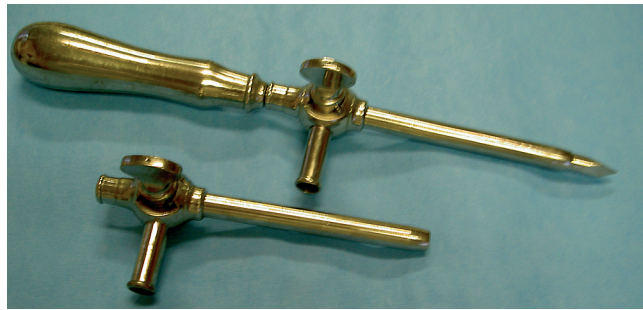


Obr. 3. Peroperační sonografický obraz obsahu cysty

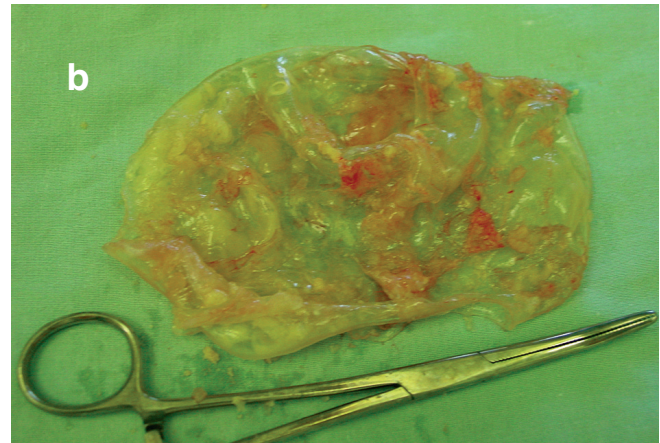
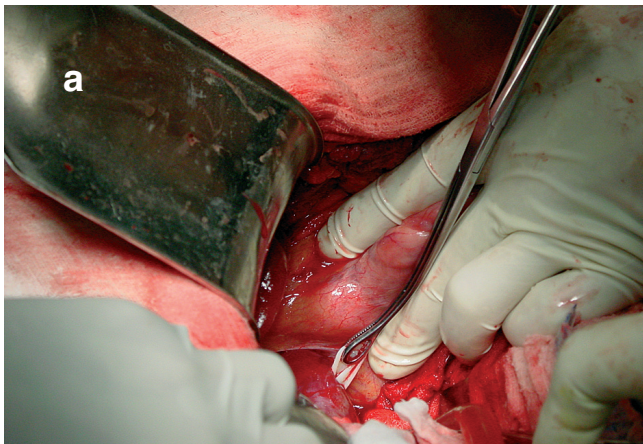
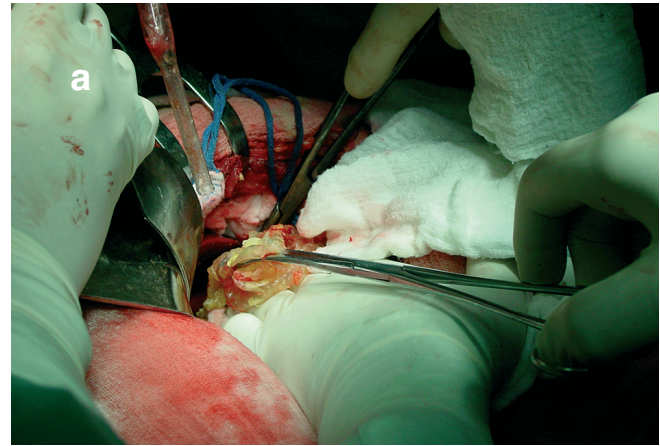
Intraperitoneální ruptura nutí k revizi a výplachu břicha s ošetřením cysty. Intrathorakální progresse se hojí většinou ošetřením primární cysty. Alveolární hydatidóza má větší komplikace i úmrtnost (2). Je jí třeba častěji řešit za cenu velkých resekcí jater.

### VLASTNÍ KAZUISTIKA

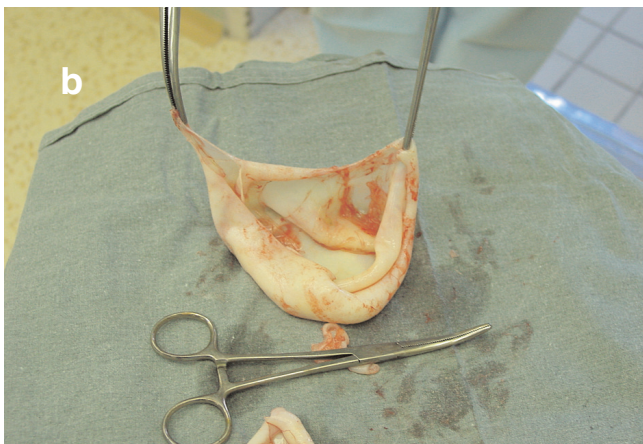
Na I. chirurgické klinice 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze byla provedena resekce pravého laloku jater pro echinokovou cystu naposledy před 12 lety.



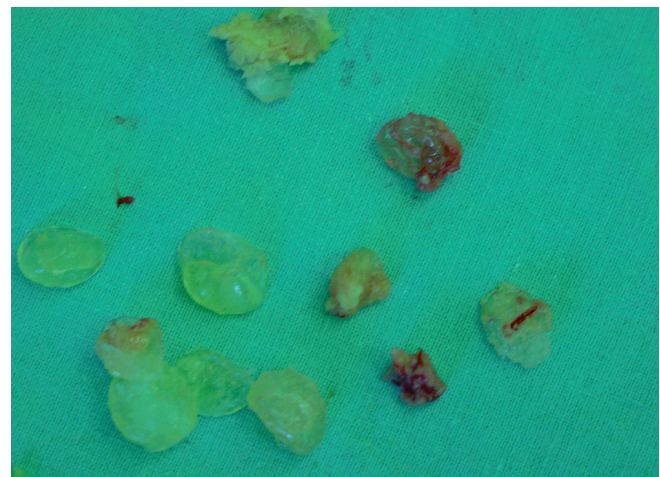
Obr. 4. Trokar použitý k odsátí cyst



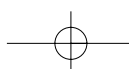
Obr. 6. Obsah cysty v levém laloku jater



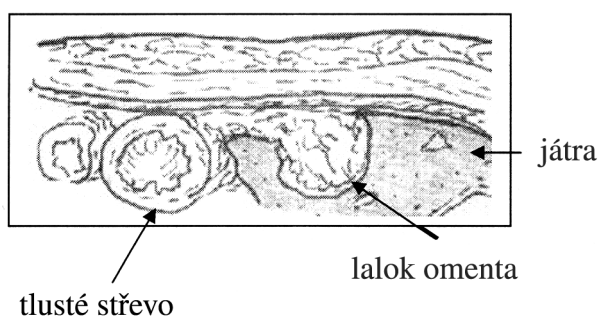
Obr. 5. Obraz germinální membrány



Obr. 7. Dceřiné cysty







Obr. 8. Vyplnění dutiny cysty lalokem z velké předstěry

Zkušenosti v našich krajích s řešením onemocnění způsobených echinokokem jsou malé. Dovolujeme si předložit přehled diagnostiky a léčby 28leté těhotné ženy. Ta se provdala do České republiky z Bulharské republiky. Při běžném vyšetření v těhotenské poradně bylo v lednu 2005 v 5. měsíci těhotenství na základě sonografického vyšetření vysloveno podezření na cysty v obou lalocích jater. V březnu 2005 byla již diagnóza jistá, a proto indikováno vyšetření NMR. Vyšetřením provedeným na Radiologické klinice VFN bylo popsáno ohraničené ložisko cystické povahy v pravém laloku jater v 7. a 8. segmentu 11x10x8 cm velké. V levém laloku multilokulární ložisko 9x7 cm s výraznými septy. CT vyšetření provedené těsně před plánovanou operací půl roku po porodu předešlý nález potvrdilo (obr. 2). Sérologická vyšetření opakovaně prokázala pozitivní titry proti echinokokóze. Další vyšetření prokázala rovněž anamnestické titry virové hepatitidy B (VHB), cytomegaloviru (CMB) a virus Epstein-Barrové (EBV). HbsAgm anti HCV a sérologie leptospirosy byly negativní. V polovině března se objevilo svědění celého těla bez exantému, které spontánně ustoupilo. Nebyla dušná, problémy s dýcháním neměla, neměla bolesti ani pocity tlaku v nadbřišku. Porodila zdravého syna sekci 18. dubna 2005 bez komplikací. Dítě kojila. Od 20. dubna užívala do operace i peroperačně albendazol (Zentel) v dávce 400 mg po 12 hodinách ve 28denních cyklech se 14denní přestávkou. Na rtg plic a srdce byly normální nálezy, normální nález na očním pozadí, lehce zvýšená hladina alaninaminotransferázy (ALT). Po nasazení Zentelu se v krevním obrazu (KO) objevila mírná eozinofilie a zvýšení IgE.

Při plánovaném operačním výkonu byla z příčného řezu v nadbřišku operačně ohledána dutina břišní. Barva jater a konzistence jater byly shledány normálními, kopule pravého laloku jater byla slepená s bránicí, na spodině I. laloku jater vzadu před malým omentem nalezen fluktuující útvar průměru 6 cm nad popisovanou cystou. Peroperační US vyšetření potvrdilo přítomnost cyst s typickým obsahem pro hydatidové cysty (obr. 3). Byly připraveny laloky omenta jeho rozpolcením a uvolněním od příčného tračníku na cévní stopce. Poté silným trokarem průměru 12 mm s bočním odsáváním (obr. 4) byla napíchnuta cysta v místě nejbližše uloženého dolního polu na spodině pravého laloku jater, vypuštěno 250 ml sérozního, lehce zkaleného obsahu a do cysty aplikován hypertonický salinický roztok a alkohol. Místo plánované incize odrouškováno.

Cysta elektrožem otevřena, vypláchnuta a kleštěmi odstraněna germinální membrána (obr. 5). Dutina v játrech revidována zrakem a vypláchnuta salinickým hypertonickým roztokem. Poté bylo stejným způsobem naloženo s cystou v levém laloku. Odstraněny byly hydy rosolovitého tvaru průměru 10–25 mm (obr. 6 a 7). Po výplachu dutin pak do obou zavedeny laloky omenta a paralelně s nimi silastikové dreny (obr. 8). Byl proveden výplach podjaterní krajiny hypertonickým roztokem a založeny pod oba laloky Redonovy dreny. Během výkonu byla nemocná oběhově stabilní. Z obav z anafylaxe peroperačně byl výkon kryt kortikoidy. Pooperační stonání zcela klidné. Redonovy dreny odstraněny druhý den a dreny do cyst odstraněny 5. pooperační den. Dále podáván Zentel a pacientka byla předána k dlouhodobému sledování infekcionistovi.

## ZÁVĚR

V uvedené kazuistice jsme popsali případ importované, chirurgicky léčené echinokokózy u mladé ženy z Bulharska. Protože výskyt onemocnění echinokokem je u nás vzácné, podali jsme v úvodu článku přehled epidemiologie, přiblížili životní cyklus parazita v přírodě, patologii, patofyziologii a možnost léčby onemocnění měchožilem u člověka.

## Zkratky

ALT	– alaninaminotransferáza
CMB	– cytomegalovirus
CT	– výpočetní tomografie
EBV	– virus Epstein-Barrové
HbsAgm anti HCV	– protilátky proti hepatitidě C
IgE	– imunoglobulin E
KO	– krevní obraz
NMR	– nukleární magnetická rezonance
VHB	– virová hepatitida B

## LITERATURA

1. Little, J. M.: Hydatid disease, In: Morris, B. J., Malt, R. A.: Oxford Textbook of Surgery, Typeset by Create Publishing, services Ltd., Bath., 1994, s. 2507-2511.
2. Schwartz, S. I.: Liver – Hydatid Cysts. In: Schwartz, S. I., Shires, G. T., Spencer, F. C.: Principles of Surgery. New York, McGraw-Hill, Inc., 1989, s. 1340-1343.
3. Thomas, H. K., Miller, R. V.: Záněty, infekce a antibiotika. Echinokoková nákaza (hydatidová nemoc). In: Way, L. W. a kol.: Současná chirurgická diagnostika a léčba. Praha, Grada Publishing, 1998, s. 164-165.
4. Papadimitriou, J., Mandrekas, A.: The surgical treatment of hydatid disease of the liver cysts. Br. J. Surg., 1970, 57, s. 431-433.
5. Jones, D. B., Justn, S. W., Soper, N. J.: Laparoscopic Surgery-principles and procedures. Dereck, 2004, s. 595.

Barevnou obrazovou dokumentaci bylo možno otisknout s přispěním firmy MSM.

SPECIÁLNÍ SDĚLENÍ

# Zneužívání buprenorfinu se stává v České republice problémem

Nešpor K., <sup>1</sup>Csémy L.  
*Psychiatrická léčebna Bohnice, Praha*  
*1Psychiatrické centrum Praha*

## SOUHRN

Buprenorfin ve formě Subutexu je podle dostupných dat v České republice nitrožilně zneužíván a pro řadu uživatelů se stal základní drogou. Tento problém by pronikavě zlepšilo vzdělávání lékařů, kteří buprenorfin předepisují, a zejména nahrazení Subutexu Suboxonem (kombinace buprenorfinu a naloxonu, která se nitrožilně nezneužívá). Registrační řízení Suboxonu v České republice však výrobce zmíněných preparátů dosud neinicioval.

**Klíčová slova:** buprenorfin, zneužívání, subutex, suboxone.

## SUMMARY

*Nešpor K., Csémy L.: Abuse of Buprenorphine Becomes a Problem of the Czech Republic*

Buprenorphine (Subutex) is according to epidemiological data and clinical experience abused on a large scale in the Czech Republic and for some drug dependent persons it becomes a principal intravenously applied drug. This problem can be resolved by more appropriate training of physicians who prescribe the drug and especially by the introduction of the combination buprenorphine and naloxone (Suboxone) which is not abused intravenously. The registration of Suboxone in the Czech Republic was not initiated by the manufactures so far.

**Key words:** buprenorphine, abuse, subutex, suboxone.

*Ne.*

*Čas. Léč. čes, 2006, 145, pp. 59–60.*

## PROČ BUPRENORFIN?

Naše pracoviště bylo patrně první, které začalo v České republice používat buprenorfin v léčbě odvykacích stavů po opioidech (1). Výčet některých výhod buprenorfinu následuje:

- Pacienty lze obvykle převést s heroinu na buprenorfin, buprenorfin pak vyvolává po vysazení jen slabý odvykací stav. Odvykací stav po zejména vysokých dávkách buprenorfinu však může trvat déle než odvykací stav po heroinu.
- Při potřebě rychlé detoxifikace je možné vysadit buprenorfin i po krátké době (např. po 3–5 dnech podávání), i když existují daleko delší detoxifikační schémata.
- Buprenorfin v je porovnání s většinou opiátů mnohem bezpečnější a vzhledem k řádově miligramovým dávkám je u něj i nižší riziko předávkování nebo interakcí s jinými látkami.
- Buprenorfin lze použít i ke zvládnutí odvykacích stavů po heroinu u těhotných (v tom případě se ovšem vysazuje pomalu).
- Buprenorfin lze použít k substituční léčbě u závislých na opioidech, při dostatečně vysokém dávkování, dokáže jedna dávka pokrýt dva dny. Buprenorfin ovšem nemůže nahradit metadon u všech závislých a ne každý závislý na heroinu je ochoten přistoupit na buprenorfinovou substituci.
- Ambulantní detoxifikace za pomoci buprenorfinu představuje ekonomicky výhodnou modalitu. Při substituční léčbě je ovšem dlouhodobé podávání buprenorfinu dražší než metadon, takže buprenorfinová substituce se v USA týká spíše lidí z lépe situovaných vrstev.

## PROBLEMY

Od doby, kdy jsme s buprenorfinem začínali, je v České republice mnohé změnilo. Na trh byl uveden preparát Subutex (před jeho zavedením jsme používali Temgesic s nižším obsahem buprenorfinu) a předepisování buprenorfinu se značně rozšířilo. Bohužel se pronikavě zvýšila i jeho dostupnost na černém trhu. Časté a nebezpečné je nitrožilní aplikování tablet buprenorfinu určených k perorálnímu podávání, což s sebou nese známá infekční i jiná rizika. Nejedná se pouze o klinické zkušenosti, ale uvedené lze doložit daty Centrálního pracoviště drogové epidemiologie Hygienické stanice hl. m. Prahy (2). U všech klientů, kteří v roce 2004 požádali o léčbu, uvedlo Subutex jako základní drogu 145 osob. Za první pololetí roku 2005 bylo vykázáno již 138 žádostí o léčbu pro závislost na Subutexu jako základní droze. Pro pacienty, s nimiž pracujeme, je typické kombinování více látek včetně alkoholu. To, že skutečné kombinování buprenorfinu s jinými látkami je častější, než by odpovídalo epidemiologickým údajům, lze snadno vysvětlit tím, že pacient, který vyžaduje předpis buprenorfinu, se zpravidla nechce souběžným abúzem jiných látek. U akutních stavů se ale opakovaně setkáváme s kombinacemi více drog i s přechody od opiátů k alkoholu. Studničková et al. (2) konstatují, že v roce 2004 se oproti roku 2003 významně zvýšil počet léčených uživatelů buprenorfinu a že buprenorfin je zneužíván. Jak je patrné, tento negativní trend dále pokračuje. Uvedená data neumožňují zjistit, kolik uživatelů přešlo na Subutex z heroinu a pro kolik byl Subutex prv-

MUDr. Karel Nešpor, CSc.  
 181 02 Praha 8, Ústavní 91  
 fax: +420 284 016 279, e-mail: nespor.k@seznam.cz  
 internet: www.plbohnice.cz/nespor, www.mujweb.cz/veda/nespor

ním opiátem v jejich drogové kariéře. Výše uvedená čísla je třeba doplnit zásadní informací. Citovaní autoři (a patrně nikdo v České republice) nemá k dispozici údaje o tom, kolik osob závislých na buprenorfinu dostává tento preparát od praktických lékařů. Lze jen předpokládat, že se bude jednat o vyšší počty, než vykazují specializovaná zařízení.

### PERSPEKTIVY

O tom, že se nejedná o specifický český problém, svědčí podobné zkušenosti například z Austrálie (3). Situaci by zlepšilo vzdělávání lékařů, kteří s buprenorfinem pracují. Všichni lékaři, kteří předepisují závislým buprenorfin v USA, musí absolvovat minimálně 8 hodin trvající školení (4). V ideálním případě by léčba buprenorfinem měla být kombinována s psychoterapií (5). Problémem v souvislosti s buprenorfinem je jeho průnik na černý trh a zejména nitrožilní aplikace a další šíření u nás časté hepatitidy typu C a dalších infekcí. Tento problém by bylo možné z velké části odstranit nahrazením Subutexu přípravkem Suboxone (kombinace buprenorfinu a naloxonu), který vyrábí stejná firma jako přípravek Subutex. Suboxone se v současnosti běžně používá v USA a nejsou zprávy o tom, že by byl nitrožilně zneužíván (při nitrožilním podání vyvolává odvykací stav). Subutex (tj. čistý buprenorfin) se v USA používá pouze za výjimečných situací, jako je těhotenství nebo detoxi-

fikace za hospitalizace. Výrobce Subutexu a Suboxonu však v České republice nepožádal o registraci Suboxonu (informace ze září 2005). Přitom zpřístupnění tohoto preparátu by zkvalitnilo léčbu a snížilo nežádoucí rizika.

### LITERATURA

1. Nešpor, K.: Zkušenosti s buprenorfinem (Temgesic) při léčbě odvykacích syndromů po heroínu. Alkoholizmus a drogové závislosti (Bratislava), 1997, 32, s. 223-224.
2. Studničková, B., Klepetková, M., Šeblová J., Železná Z.: Výroční zpráva ČR 2004. Centrální pracoviště drogové epidemiologie, Hygienické stanice hl. m. Prahy, 2005. s. 176.
3. Jenkinson, R. A., Clark, N. C., Fry, C. L., Dobbin, M.: Buprenorphine diversion and injection in Melbourne, Australia: an emerging issue? Addiction, 2005, 100, s. 197-205.
4. Kuehn, B. M.: Office based treatment for opioid addiction achieving goals. JAMA, 2005, 294, s. 784-786.
5. Montoya, I. D., Schroeder, J. R., Preston, K. L. et al.: Influence of psychotherapy attendance on buprenorphine treatment outcome. J. Subst. Abuse Treat., 2005, 28, s. 247-254.

*Děkujeme prof. MUDr. Cyrilu Höschlovi, DrSc., FRCPsych za podnět k napsání této práce.*

*Vážení přátelé,*

dovolujeme si Vás pozvat na

## **XII. symposium časopisu Praktický lékař.**

Symposium se bude konat **25. března 2006 od 9 hod. v Lékařském domě, Sokolská 31, Praha 2.**  
Registrace účastníků proběhne od 8.30 hod.

Tématem bude

## **Metabolický syndrom a poruchy příjmu potravy.**

*Předběžný program:*

Metabolický syndrom – co o něm víme?  
Diferenciální diagnostika malnutričních stavů  
Extrémy ve výživě – jak s nimi bojujeme?  
Poruchy příjmu potravy (mentální anorexie a bulimie)  
Metabolický syndrom z hlediska výživy  
Léčba metabolického syndromu  
Léčba a prevence metabolického syndromu z hlediska kardiologa

Svou účast, prosíme, potvrďte na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP,  
Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz.  
Uvedte plné jméno a rodné číslo nebo adresu, abychom Vám mohli připravit certifikát.

Akce je hodnocena kredity v rámci celoživotního vzdělávání.

**Přihlášky zasílejte nejpozději do 15. 3. 2006.**

Těšíme se na Vaši účast.

Redakce časopisu Praktický lékař,  
NTS ČLS JEP.

SPECIÁLNÍ SDĚLENÍ

# Robotika v chirurgii

Šváb J.

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

## SOUHRN

Spuštění robotického systému DaVinci v Praze přineslo řadu otázek. Za posledních 150 let došlo k rychlému rozvoji chirurgie. To se potvrzuje ve vývoji v endoskopické chirurgii postihující všeobecnou, hrudní a kardiovaskulární chirurgii. V článku je podán přehled vývoje od laparoskopické k robotické chirurgii.

**Klíčová slova:** endoskopická chirurgie, robotická chirurgie, tele chirurgie

## SUMMARY

*Šváb J.: Robotic Surgery*

Installation first robotic system DaVinci in Prague in Czech Republic brought many questions. Surgery has rapidly changed during last 150 years. The progress in endoscopic surgery concerned namely the general surgery, thoracic and cardiovascular surgery. Present article gives an overview on the development of surgical techniques in the world from the laparoscopic to robotic surgery.

**Key words:** endoscopic surgery, robotic surgery, tele surgery.

*Po.*

*Čas. Lék. čes, 2006, 145, pp. 61–63.*

O robotice bylo v souvislosti s instalací operačního robota DaVinci v Praze v poslední době hodně napsáno a přístroj se stal předmětem zpráv ve všech médiích. Práce a poslání robota jsou často zkreslovány z neznalosti principu stroje, a proto jsem byl vyzván k sepsání tohoto informativního článku.

## ROBOT A ROBOTIKA

Robot je popisován v naučných encyklopediích jako stroj s činností podobnou činnosti člověka. Jiné výkladové hledisko mluví o robotu jako o stroji nahrazujícím práci člověka v životě nebezpečném prostředí. Tam kde hrozí poškození člověka radiačním zářením, výbuchem, vysokou teplotou, nebo je třeba pracovat v těžko dostupném prostředí. Například v podmínkách kosmu nebo pod vodní hladinou obecně (stavba metra pod Vltavou v Praze apod.). Označení robot pro nástroj nahrazující práci člověka vzniklo u brí Čapků ve 30. letech minulého století v dramatu RUR a odtud bylo označení převzato do jiných jazyků. Robot je označení pro stroje, kterými je možno nahradit práci ruky člověka a dále pro zařízení, která jsou schopna reagovat na podněty z jeho okolí a jsou schopna zpětné reakce.

Jde tedy o stroje, někdy nadané jistým stupněm kognitivní činnosti. Jsou vyvíjeny jako zařízení ulehčující práci člověka a snižující riziko z ní, až po systémy vnímající okolní prostředí, vytvářející si vnitřní počítačový model. Podle tohoto modelu jsou do jisté míry schopny dopředu plánovat svou činnost. Nicméně člověk zatím vždy zadává program, cíle a celkové podmínky. V 70. letech minulého století tak vznikl obor zabývající se základními problémy funkce a využití robotů ve výrobě, označovaný jako robotika.

## NOVÉ TECHNIKY A TECHNOLOGIE

Paralelně s rozvojem robotiky byly zaváděny do lékařství nové techniky a technologie, které zprvu nahrazovaly staré nástroje a zdokonalovaly práci chirurgových rukou. Na sklonku 70. let zdokonalené zobrazovací postupy (US, CT a endoskopie) dovolily zmenšovat rozměry laparotomické rány. V řadě operačních zákroků nemusel chirurg ohledávat operační pole zrakem a hmatem k upřesnění diagnózy z velké laparotomické rány a mohl zohlednit kosmetické požadavky kladené na vzhled výsledné kožní jizvy. Ve Francii vznikl směr vedoucí k provádění výkonů z malých laparotomií (prof. Perrisat a Dubois). Tento směr dovolil posléze prosadit laparoskopii. Ta na své uplatnění čekala od jejího vzniku na začátku 20. století (1). Přes gynekologické výkony v pánvi ze 70. a 80. let minulého století se po gynekologem Mouratem provedené první laparoskopické cholecystektomii v roce 1987 laparoskopie rozšířila na další výkony v břiše. Velmi rychle miniinvazivní technika postihla hrudník, štítnou žlázu a další oblasti. Dnes je laparoskopická cholecystektomie nejčastěji prováděným miniinvazivním zákrokem. Operační zákroky nejsou ničím jiným než modifikovanými výkony z doby klasické chirurgie a nově konstruované operační nástroje jsou miniaturizací nástrojů ze stejné doby, některé zdokonalené. Ty ale dovolily ve srovnání s laparotomií méně traumatizovat stěnu břišní a fyziologičtěji nakládat s tkáněmi v operačním poli. Pro nemocného to znamená snížení pooperační bolesti a rychlejší návrat funkcí orgánů, nemocnému rychlejší zařazení do práce a společnosti.

doc. MUDr. Jan Šváb, CSc.  
128 08 Praha 2, U Nemocnice 2  
fax: +420 224 918 642, e-mail: jan.svab@lf1.cuni.cz



**Obr. 1.** Robotický systém AESOP s ovladačem optiky řízené hlasem



**Obr. 2.** Systém ZEUS s rameny vodícími nástroj



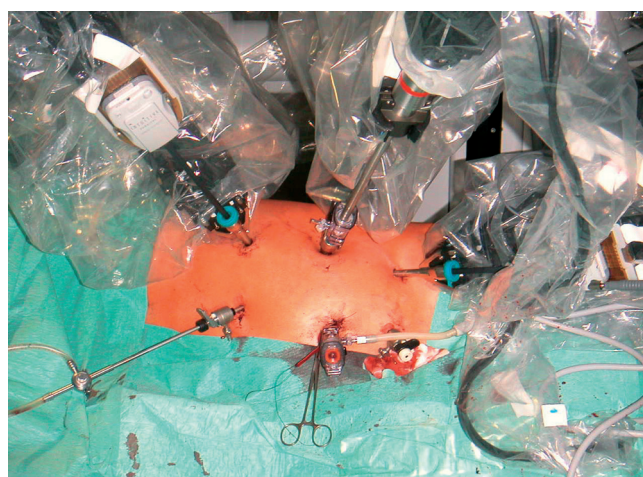
**Obr. 3.** Systém DaVinci – ovládací konzola s binokulárním trojrozměrným monitorovacím systémem a ovladačem pro operujícího

Od konstrukce nových nástrojů byl krok ke konstrukci nejprve fixních upínadel těch nástrojů, které vedly k zpřehlednění operačního pole a posléze i konstrukci manipulátorů řídících pohled do dutiny břišní laparoskopem. Tak vznikla první řada robotů vodících optiku na základě ovládání hlasem typu přístroje AESOP (obr. 1). Postupně byly vyvinuty další ovladače pro práci s laparoskopickými nástroji v tělních dutinách, ovládané servomotory, jimž je příkaz k pohybu vydáván prostřednictvím počítače u přístroje ZEUS (obr. 2). Roboty byly dále zdokonalovány až do podoby dnešního DaVinci (obr. 3, 4 a 5), který byl v tomto měsíci uveden v Praze. Práci počítače je již možno modulovat v různých směrech. Co do jemnosti pohybu a omezení, pokud by byl pohyb nepřiměřený. Nicméně kognitivní a příkazová stránka je stále v rukách operujícího. Oddělení funkce kognitivní a výkonné prostřednictvím počítače již dovolila vzdálit operátora z bezprostředního kontaktu s tělem operovaného. V první fázi dovolila propojit pohled do operačního pole pomocí TV kamery a ruce operátora s výkonnými nástroji pomocí svazků kabelů, posléze signálem přes satelit. Tak bylo možno provést 27. září 2001 operaci (cholecystektomii) nemocné ve Strasburgu, přičemž operující řídil ramena robota přenosem povelů přes satelit z New Yorku (2). Ve vývoji robotických systémů je počítáno s možností provádět operační zákroky v nepřístupných oblastech i mimozemských.

Technika však dosud nezastoupila rozhodovací podíl chirurga ve vedení výkonu, ani personálu, který musí připravit operační pole včetně zavedení operačních nástrojů. V neposlední řadě musí být operační tým připraven kdykoliv okamžitě nastoupit k řešení nastalé komplikace klasickým způsobem. Nový typ přístroje – robota, typu DaVinci, má přednost v miniinvasi, zpřesnění práce ruky chirurga vylučující být minimální třes ruky a v neposlední řadě ve fyzickém pohodlí pro operátora. Trojrozměrný a zvětšený obraz z operačního pole bezpochyby dovoluje lepší ovlivnění zdrojů krvácení, a tedy lepší přehled v operačním poli. Operátorovi dovoluje soustředit se na vlastní výkon ve vymezeném poli. Pro nemocného přináší výhody plynoucí z miniinvasi v rukách zkušeného a vzdělaného chirurga (snížení kolemoperační bolesti, rychlou obnovu funkcí orgánů a rychlé zařazení do společnosti) (3–5).



**Obr. 4.** Systém pracovní konzoly robota DaVinci propojený kabely s ovládací konzolou



**Obr. 5.** Nástroje zavedené vstupními porty do dutiny břišní

Dnes jsou prováděny zákroky podobně jako v miniinvasivní chirurgii na žlučníku, žaludku a střevěch, játrech a slinivce břišní, na gynekologických orgánech, nadledvinách, v urologii a v urogynékológii. V hrudníku na plicích a v kardiovaskulární chirurgii.

Za posledních sedm let se roboty postupně rozšířily na řadu pracovišť ve světě a chirurgové v současnosti pracují na 378 těchto zařízeních.

### ZÁVĚR

Závěrem lze říci, že robot se řadí do řady mezníků v posledních 150–160 letech tzv. velké chirurgie. Robot tak stojí jako nástroj zdokonalující schopnosti člověka – chirurga, vedle zavedení Listorovy asepse, Mortonem nastartované éry anestezie, zavedení krevní transfuze, antibiotik, endotracheální anestezie, mimotělního oběhu, transplantací orgánů a dnes nesporného zavedení laparoskopických a thoraskopických výkonů. Nelze nikdy opominout prioritní postavení zkušenosti a přístupu lékaře. Robot je v současné době nejdokonalejším nástrojem v jeho rukách.

### LITERATURA

1. **Jacobeus, H. C.:** Possibility of the use of a cystoskope for investigation of serous cavities. *Munch Med Wochjenschr*, 57, 1910, s. 2090-2092
2. **Marescaux, J., Smith, M. K., Folscher, D. et. al.:** Telerobotic laparoscopic cholecystectomy: initial clinical experience with 25 patients. *Ann. Surg.*, 2001, 234, s. 1-7.
3. **Akasu, T., Asamura, H.:** Robotic Surgery. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 2000, 30, s. 371-372.
4. **Hanly, E. J., Talamini, M. A.:** Robotic abdominal surgery. *Am. J. Surg.*, 2004, 188 (Suppl.), s. 19S-26S.
5. **Mack, M. J.:** Minimally Invasive and Robotic Surgery. *JAMA*, 2001, 7, s. 568-572.

*Barevnou obrazovou dokumentaci bylo možno otisknout s laskavostí firmy HOSPIMED.*

### KNIHY

#### **Kašák, V.:** **ASTHMA BRONCHIALE**

*Praha, Maxdorf, 2005, 148 s., cena neuvedena*  
*Kč. ISBN 80-7345-062-3.*

Tato malá monografie vyšla jako první svazek nové edice „Farmakoterapie pro praxi“, určené odborné lékařské veřejnosti.

Autor patří mezi přední české pneumology. Dlouhodobě se zabývá problematikou astmatu a chronické obstrukční plicní nemoci, je spoluzakladatelem České iniciativy pro astma (ČIPA), napsal řadu publikací i populárních článků o astmatu a je spoluautorem doporučených postupů, jak tuto chorobu diagnostikovat a léčit. Dá se tedy říci, že je ten pravý, kdo má napsat takovou monografii doškolovacího typu.

Kniha je rozdělena do čtyř oddílů: „Repetitorium“, „Vyšetření, diferenciální diagnostika“, „Farmakoterapie“, „Chyby a omyly“. Je třeba ocenit, že autor se nedal spoutat názvem edice „Farmakoterapie pro praxi“ a vedle farmakoterapie popsal také současný pohled na bronchiální astma, na jeho diagnostiku, klasifikaci a sledování.

Zvláště mě potěšily farmakoterapeutické kazuistiky, které ukazují složitost diagnostiky

a terapie této nemoci. Když máme doporučené postupy, hrozí totiž nebezpečí, že ji budeme rozpoznávat a léčit téměř mechanicky. Ale bronchiální astma je jen zdánlivě jednoduchá choroba. Možná, že kazuistik mohlo být i víc než uvedené dvě – jedna z dospělých a jedna z dětské medicíny. Možných chyb a omylů v přístupu k astmatu je totiž mnohem více, jak dokazuje závěrečný oddíl Kašákovy knihy.

Právě oddíl „Chyby a omyly“ je zvláštním autorovým přínosem, který z jeho knihy dělá vrchol všech podobných publikací z posledních let. Dr. Kašák ze své praxe odborníka, k němuž se utíkají pacienti, jimž jinde nepomohli, zná všechny možné chyby v diagnostice, sledování i léčbě astmatu. Škoda jen, že jim ve své knize nevěnoval větší prostor a že je uvedl pouze heslovitě. Chyb a omylů se může dopustit lékař – když odbude anamnézu, když špatně nemocného vyšetří nebo špatně zhodnotí výsledky vyšetření, když podá nevhodné léky (antihistaminikum jako lék první volby), nebo správné léky pozdě (stále přetrvávající strach z podání inhalačních kortikosteroidů), když nemocného špatně instruuje o léčbě nebo nedostatečně sleduje. Chyb se však často dopouští i pacient, zejména tím, že nechce připustit, že je chronicky nemocný, a dělá si „farmakologické prázdniny“;

tím svou nemoc zhoršuje a destabilizuje. Přitom u astmatu je možné dosáhnout stabilizovaného stavu, kdy nemoc pacienta téměř neomezuje. Troufám si říci, že takhle dobře stabilizovat astma je možno jen tehdy, když mezi lékařem – samozřejmě dobře erudovaným – a pacientem je dobrá komunikace. Tím odpadne většina příčin možných chyb a omylů. Dobrá komunikace lékaře a pacienta je ovšem základem dobré léčby u všech chronických nemocí, nejen u bronchiálního astmatu.

**Bronchiální astma patří mezi několik nemocí, pro které jsou již v češtině formulovány doporučené postupy diagnostiky a terapie. Protože po publikování doporučených postupů vyšlo už několik podobných monografií a současně nedošlo k žádným převratným objevům, které by měnily náš přístup k této nemoci, je obtížné napsat knihu, která by byla něčím vskutku novým. Dr. Kašákovi se to však podařilo. Jeho kniha přináší komplexní pohled na problematiku astmatu, v němž nezapomíná ani na organizaci péče o astma a farmakoeconomiku.**

*Zdeněk Susa*  
*128 08 Praha 2, U Nemocnice 2*

DĚJINY LÉKAŘSTVÍ

# Historicko-medicínská výročí v roce 2006

Tomíček D.

Ústav dějin lékařství a cizích jazyků I. LF UK, Praha

## OSOBNOSTI

### 25 let (1981)

**Hloucal, Ludvík** (20. 3. 1912 – 26. 1. 1981) – profesor vnitřního lékařství LFH UK. Zabýval se endokrinologií a metabolizmem jaterních chorob. Psal o leptospirózách, skvrnivce, tetanu, malárii a klíšřové meningoencefalitidě. Je autorem monografie *Břišň tyf* (1947). Později se věnoval chorobám žlučníku, knižně *Nemoci žlučníku a žlučových cest* (1967). V posledních letech se zabýval ischemickou chorobou srdeční a infarktem myokardu.

**Hübschmann, Karel** (13. 8. 1890 – 22. 8. 1981) – profesor dermatovenerologie a všestranný vědec. Začal výzkumem TBC a pracemi o alergických mechanizmech v etiologii ekzému. Později se věnoval léčení příjice, monografie *Léčení syfilis* (1930). V nemocnici na Bulovce vybudoval moderní dermatovenerologický ústav. Po celý život se zabývat též historií a popularizací svého oboru.

**Karfík, Václav** (3. 3. 1904 – 6. 12. 1981) – profesor plastické chirurgie LFH UK. Spolu s prof. F. Burianem se zasloužil o prosazení plastické chirurgie jako samostatného oboru. S S. Holubcem a H. Peškou vydal práci *Léčení spálenin* (1949). Zasadil se o zdokonalení komplexní péče o jedince postižené vrozenými vadami, zejména rozštěpy. Zabýval se též léčením obličejových poranění a deformacemi obličeje získanými i vrozenými, knižně *Plastická chirurgie poraněného obličeje* (1961).

**Křečan, Jaromír** (8. 11. 1888 – 25. 10. 1981) – profesor zubního lékařství. Významně se podílel na rozvoji čs. stomatologie. Věnoval se zejména otázkám konzervační stomatologie a dětské stomatologie. Je zakladatelem dětského oddělení pražské I. zubní kliniky a budovatelem plzeňské zubní kliniky. Spolu s J. Tomanem a J. Komínkem je autorem prvních skript a učebnice dětské stomatologie.

**Mentl, Stanislav** (10. 11. 1894 – 12. 9. 1981) – profesor vnitřního lékařství. Publikoval vědecké práce z mnoha oblastí vnitřního lékařství, jeho nejvladnějším oborem se však stala kardiologie. Organizačně se podílel na vytvoření poraden pro kardiaky a zasloužil se o preventivní zaměření péče o kardiaky u nás. Věnoval se též balneologii.

**Skládal, Josef** (16. 3. 1898 – 31. 7. 1981) – profesor klinické fyziologie. Publikoval řadu prací v oboru biologie, fyziologie, pneumologie, ftizeologie a veřejného zdravotnictví. Zasloužil se o budování čs. ústavnictví v boji proti TBC. Jako jeden z prvních se věnoval patofyziologii dýchání v diagnostice a terapii respiračních nemocí. Je autorem anglické monografie o kortikopleurální zóně, jež vyšla za 2. světové války.

**Šváb, Václav** (4. 8. 1900 – 1. 7. 1981) – profesor rentgenologie a léčby záření. Patří k průkopníkům čs. radiologie; byl prvním profesorem tohoto oboru u nás a budovatelem první kliniky. Mezi jeho pracemi vynikají zejména studie o radiodiagnostice v gastroenterologii a zejména v osteologii, v nichž vytvořil vlastní školu. Vedle diagnostiky se věnoval také rentgenoterapii.

**Valentová, Olga** (1. 1. 1900 – 17. 2. 1981) – docentka dermatologie a venerologie. Největší pozornost věnovala vrozené lues, u které se nezabývala jenom léčbou, ale i sociální stránkou. Svě poznatky z oboru dermatologie shrnula v monografii *Kožní tuberkulóza* (1936). Jako organizátorka se zasloužila i o celostátní evidenci kožní a uzlinové TBC.

### 50 let (1956)

**Bažant, František** (1875–1956) – český stomatolog. Od roku 1921 profesorem v Brně, kde založil zubní kliniku.

**Bedrna, Jan** (1897–1956) – chirurg, roku 1931 se stal docentem v Brně, v roce 1945 profesorem v Hradci Králové, od roku 1954 akademikem ČSAV. Roku 1951 vykonal první úspěšnou operaci srdce v ČSR. Publikoval: *Zkušenosti s chirurgickou léčbou tepenné hypertenze* (1946), *Dětská urologie* (1951), *Onemocnění z uzávěru končetinových tepen* (1953).

**Herrnheiser, Gustav** (6. 8. 1890 – 13. 5. 1956) – profesor rentgenologie. Jako první byl na pražské DMF habilitován z oboru rentgenologie. Na II. lékařské klinice zřídil rentgenologické oddělení, jehož se stal přednostou. Na místo rezignoval 13. 3. 1939.

**Neumann, Václav** (24. 2. 1884 – 21. 3. 1956) – profesor patologické anatomie LF MU Brno. Je zakladatelem brněnské patologické školy. Publikoval práce o zhoubných nádorech, bakteriálních onemocněních, zrudnostech ve vývoji, vrozených srdečních vadách nebo patologii dětského věku. Jako první u nás popsal balantidiózu. Je autorem učebnice *Základy patologické anatomie* (1950).

**Springer, Karl Hermann Otto** (3. 8. 1872 – 29. 11. 1956) – profesor chirurgie a ortopedie. V letech 1918 až 1945 primář chirurgie Německé dětské nemocnice Na Moráni, roku 1924 byl jmenován mimořádným profesorem ortopedie se zvláštním zřetelem k dětské ortopedii. Autor přibližně padesáti prací, zejména v oboru dětské chirurgie a ortopedie.

**Vančura, Antonín** (18. 6. 1899 – 5. 3. 1956) – profesor vnitřního lékařství. Patří mezi zakladatele a čelné představitele čs. nefrologie. V roce 1955 instaloval a uvedl do provozu první umělou ledvinu v socialistických zemích. V roce 1942 publikoval monografii *Vysoký krevní tlak*, je autorem mezinárodně uznávané klasifikace hypertenzních nemocí a publikoval rovněž práce z klinické imunologie.

### 75 let (1931)

**Dexler, Hermann** (10. 5. 1866 – 9. 5. 1931) – profesor veterinárního lékařství a sociální policie. Mimořádným profesorem na DMF v Praze byl jmenován v roce 1898. Je spoluautorem bezmála všech soudobých veterinárních kompendií. Soustředil se především na otázky spojené s centrálním nervovým systémem domácích zvířat a psychologií zvířat.

**Chodounský, Karel** (18. 5. 1843 – 12. 5. 1931) – profesor farmakologie a farmakognozie, zakladatel české vědecké a experimentální farmakologie. Sepsal první učebnici tohoto oboru *Farmakologie* (1905). Přínosné byly jeho práce o izolování klobásového jedu, o toxickém účinku nitridů, o štěpení chloralu a další. Koncem století patřil mezi významné organizátory spolkového života českých lékařů. V letech 1878–1888 byl spoluredaktorem ČLČ. V roce 1919 vybudoval farmakologický ústav v nově založené MU v Brně.

**Korbelius, Vincenc** (16. 2. 1849 – 19. 6. 1931) – docent hygieny hornické vysoké školy v Příbrami. Od roku 1886 působil jako báňský lékař v Březových Horách, docentem hygieny na příbramské montanistické hornické vysoké škole se stal v roce 1900. Publikoval časopisecky, zejména v ČLČ, z oblasti pracovního lékařství a hygieny.

**Tobiášek, Stanislav** (15. 8. 1874 – 27. 11. 1931) – profesor ortopedie. Jako vědecký pracovník řešil různé otázky z vývoje, anatomie a chirurgie končetin a kostry. Je autorem několika chirurgických modifikací operací. Zabýval se též konstrukcí ortopedických pomůcek. Mimořádné zásluhy o obor si získal založením a vybudováním samostatné ortopedické kliniky.





Max Knoll a Ernst Ruska zkonstruovali **první elektronový mikroskop**. Experimenty amerického sociologa Eltona Maye a jeho spolupracovníků poskytl moderní poznatky o psychologii výkonu továrních dělníků, které byly významné pro **pracovní lékařství**.

Jiří Diviš, zakladatel české hrudní chirurgie, provedl jako první v Československu **lobektomii pro rakovinový nádor plic**.

Antonín Hamsík publikoval první vydání pětidílné učebnice **Lékařská chemie**.

**100 let (1906)**

Santiago Ramón y Cajal a Camillo Golgi se stali nositeli **Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu** za zjištění nových složek ve struktuře nervového systému.

Bakteriolog August von Wasserman, dermatolog Albert Neisser a jeho žák Carl Bruck publikovali epochální metodu sérologické diagnózy syfilidy – **Wassermanovu reakci**.

Britský fyziolog Charles Scott Sherrington vytvořil svým stěžejním dílem o nervových reflexech **základy moderní neurologie**.

V Berlíně byla otevřena **nemocnice Rudolfa Virchowa**, jedna z prvních, které byly již od svého počátku vybaveny rentgenologickým přístroji.

**Ladislav Haškovec** (1866–1944) byl jmenován **profesorem neurologie** na české lékařské fakultě v Praze. Byl prvním profesorem tohoto oboru v celé tehdejší rakousko-uherské monarchii.

Pod vedením Karla Sudhoffa zahájil v **Lipsku** činnost **Ústav dějin lékařství**, první svého druhu na světě.

**150 let (1856)**

Německý plicní lékař Hermann Brehmer prohlásil poprvé **tuberkulózu** za vyléčitelnou.

Claude Bernard publikoval výsledky svých výzkumů o **pankreatu** a jeho úloze při trávicích úkonech.

Hermann Welcker zavedl do mikroskopické techniky zdokonalenou formu **mikrotomu**.

Alois Bednář vydal **Lehrbuch der Kinderkrankheiten** (Učebnice dětských nemocí). Bednář zde mj. přesně popsal nemoc, která byla později označena jako **Parrotova obrna**.

**200 let (1806)**

Vyšla kniha Jeana Nicolase Corvisarta **Essai sur les maladies et les lésions organiques du coeur et des gros vaisseaux** (Úvahy o chorobách a organických poruchách srdce a velkých cév). Jedná se o zásadní spis v této době vznikající kardiologie, který obsahoval systematický popis nemocí srdce a cév, způsob jejich diagnostiky a terapie.

Jean Louis Alibert obohatil dermatologické názvosloví o nové pojmy, jako např. **dermatóza** nebo **dermatolýza**.

**250 let (1756)**

Philip Pfaff, královský zubař pruského panovnického rodu a privilegovaný chirurg, uveřejnil **Abhandlung von den Zähnen** (Pojednání o zubech), první německou učebnicí zubního lékařství.

**300 let (1706)**

Giovanni Battista Morgagni publikoval práci **Adversaria anatomica prima** (Anatomický zápisník), uvedl v ní důležité poznatky o anatomii laryngu.

V Manile zemřel jezuitský lékárník **Jiří Josef Kamel** (Camelius), rodák z Brna. Během svého působení na Filipínách od roku 1688 prostudoval a důkladně popsal tamní květenu. Byl po něm pojmenován rod **Camelia**.

**350 let (1656)**

V Paříži byla pro chudé otevřena **Hôpital Général** (Všeobecná nemocnice), rozdělená do více městských objektů.

Giovanni Alfonso Borelli, zakladatel iatromatematiky, pozoroval v chylu a séru bílé krvinky – **lymfocyty**.

**400 let (1606)**

Německý ranhojčí Wilhelm Fabricius Hildanus uveřejnil v Basileji spis **Opera observationum et curationum**, v němž pojednává též a poznání a léčení nádorů.

**450 let (1556)**

Vyšel spis Georga Agricoly **De re metallica libri XII.** (Dvanáct knih o hornictví). Kniha pojednává o hornictví a hutnictví a obsahuje i popis zdravotních rizik, které přinášel soudobý způsob těžení stříbra. Autor rovněž navrhol opatření jak předcházet nemocem horníků a důlním úrazům.

Zemřel **Ignác z Loyly**, zakladatel jezuitského řádu. Ignác je svými duchovními cvičeními zajímavý pro počátky psychoterapie, pozoruhodné zůstává i řádové lékařství.

**500 let (1506)**

V Litomyšli vyšla nákladem tiskaře Pavla z Meziříčí kniha Jana Černého **Spis o nemocech morních**. Je to první tištěný spis tohoto druhu sepsaný českým jazykem a byl určen nejenom lékařům a lékárníkům ale i laikům. Černého spis se dočkal řady reedicií. Naposledy byl vydán v roce 1633 v Olomouci.

**550 let (1456)**

V Mohuči byla s pomocí kovových liter původně použitých při tisku šestatřicetřádkové Bible vyrobená **první tištěná kniha s lékařským obsahem**, určující vhodnou a nevhodnou dobu pro pouštění žilou a podávání projímadel na měsíce roku 1457.

V Miláně byla založena nemocnice **Ospedale Maggiore**.

**700 let (1306)**

Toho roku poprvé provedl profesor medicíny Mondino dei Liucci v Bologni k výukovým a vědeckým účelům **pitvu** a v této činnosti pokračoval i v následujících letech. Na mrtvolách demonstroval zejména klasická anatomická díla. První historicky doložená soudní pitva však byla v Bologni provedena již v roce 1302.

**1300 let (756)**

Podle tvrzení klerika Theophana byl jistý zajatý kacíř předán k **pitvě** lékařům, kteří jej – ještě žijícího – rozřezali od stydké kosti až k hrudníkům, aby mohli studovat stavbu těla.

**1500 let (556)**

Sasánovský panovník Chusrau I. Anúšírván založil v Gundišápúru nedaleko Bagdádu filozoficko-teologickou **lékařskou školu**, na které přednášeli nestoriánští lékaři vyhnaní z Byzantské říše.

**Zkratky**

ČLČ	– Časopis lékařů českých
ČSAV	– Československá akademie věd
DMF	– Deutsche medizinische Fakultät in Prag
JEP	– Jan Evangelista Purkyně
KU	– Komenského univerzita v Bratislavě
LFH	– Lékařská fakulta hygienická
LF	– lékařská fakulta
Med. Dr.	– Medicinae doctor
MU	– Masarykova univerzita
NLF	– německá lékařská fakulta v Praze
Phil. et Med. Dr.	– Philosophiae et Medicinae doctor
PLF	– pražská lékařská fakulta
SAV	– Slovenská akademie věd
SNP	– Slovenské národní povstání
UK	– Univerzita Karlova

**LITERATURA**

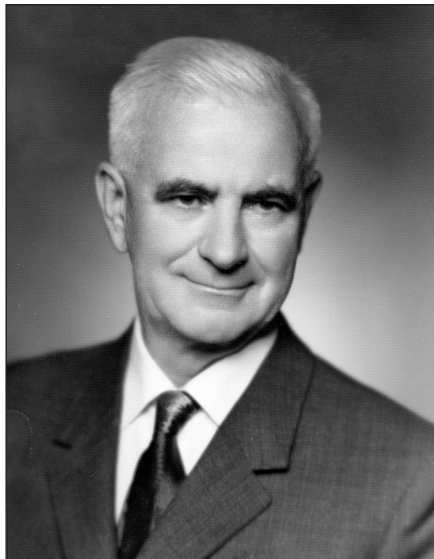
- Hlaváčková, L., Svobodný, P.:** Biografický slovník pražské lékařské fakulty 1348–1938, I–II. Praha, Karolinum, 1988, 1993.
- Hlaváčková, L., Svobodný, P.:** Biographisches Lexikon der Deutschen Medizinischen Fakultät in Prag 1883–1945. Praha, Karolinum, 1998.
- Matoušek, M.:** Malý biografický slovník československých lékařů. Praha, SPN, 1964.
- Nyklíček, L., Štein, K.:** Dějiny medicíny v datech a faktech. Praha, Avicenum, 1985.
- Schott, H.:** Kronika medicíny. Praha, Fortuna Print, 1994.

## Profesor Pavel Lukl a profesor Jan Brod – dva čeští internisté na mezinárodním fóru

Jerie P.

**Rok 2005 byl rokem mnoha významných výročí. Nelze jej uzavřít, aniž bychom připomněli jména dvou osobností, které významně přispěly k rozvoji české medicíny a reprezentovaly ji nezapomenutelně na mezinárodním fóru. Do paměti současníků se zapsali též jako znamenití učitelé a výjimečným postavením v české národní kultuře druhé poloviny 20. století.**

**Profesor PAVEL LUKL** se narodil 21. 4. 1905 v Praze. Medicínu vystudoval na pražské Lékařské fakultě a byl asistentem I. interní kliniky. Zde také podal habilitační práci, publikovanou roku 1940. Habilitace nebyla ale možná – české vysoké školy byly zavřeny. Pracoval dále ve Všeobecné nemocnici a po skončení války v roce 1945 byl povolán na nově zřízenou lékařskou fakultu do Hradce Králové. Zde byl jmenován profesorem vnitřního lékařství a zůstal přednostou kliniky až do roku 1953, kdy se hradecká fakulta stala Vojenskou lékařskou akademií. Lukl odmítl sloužit jako voják a přešel do Olomouce. Přednostou tamější kliniky byl až do penzionování v roce 1970. Poté pokračoval jako konsiliář v Teplicích nad Bečvou, ale roku 1990 se vrátil do Olomouce, kde působil až do roku 1993 jako vedoucí spojených kateder vnitřního lékařství.



Do české lékařské historie vešel profesor Lukl především svou knižnicí **učebnicí vnitřního lékařství**, jejíž 4. vydání vyšlo v roce 1971; poté byla na indexu. Jako asistent na klinice pokračoval ve stopách prof. Vrat. Jonáše i Kl. Webera. Členem Československé kardiologické společnosti byl prakticky od jejího založení v roce 1929, od roku 1935 byl členem výboru a od roku 1959 do roku 1971 jejím předsedou. A tak v roce 1964 mohl zahájit IV. evropský kardiologický sjezd, který se poprvé konal v Praze. Osudného roku 1968 se stal prezidentem Evropské kardiologické společnosti; setrval v této funkci až do roku 1972. Velkou pozornost vzbudila jeho řeč při zahájení VI. evropského kardiologického kongresu v roce 1972 v Madridu a v paměti účastníků Světového kardiologického kongresu v Londýně zůsta-

la především skutečnost, že za předsednickým stolem stála prázdná židle, protože mu nebyl povolen výjezd z ČSSR.

Profesor Lukl byl členem mnoha vědeckých zahraničních společností a byl dobře znám na mezinárodním kardiologickém fóru. Ovládal dobře cizí jazyky a dovedl srozumitelně hovořit k současným událostem v medicíně i k věcem veřejným. Známal byl jeho nesmlouvavý kritický postoj, který nikdy nezměnil ani pod břemenem osobní újm. Neodvolal také svůj podpis „2000 slov“ a odchází proto předčasně do důchodu, který ho zastihl na vrcholu tvůrčích sil. Neztratil však zájem o medicínu a vědecký život, a tak jsme jej vídali – už jako penzistu – opět na mezinárodních setkáních, kam byl jako čestný prezident Evropské kardiologické společnosti dále zván, například v Düsseldorfu, kde neváhal zasednout ke stolu spolu s námi, kardiology v exilu.

Profesor Lukl, který se už na počátku svého působení jako vysokoškolský profesor zabýval otázkami specializace, poměrem výuky a výchovy, vztahem vědecké činnosti a vyučování, zaměřil pochopitelně záhy svou pozornost na vliv rozvíjející se techniky v diagnostice na medicínu ve vědě i v praxi. Už roku 1957 to formuloval jako „*tendenci vyjádřit člověka a jeho nemoc čísly (a proto se přečeňuje laboratorní vyšetření)*“. A jakkoliv nikdy nezapomněl na zkušenosti ze svého prvního amerického pobytu v roce 1948, byl velmi zneklidněn vývojem zdravotnictví a odlidštěním medicíny na sklonku minulého století. Luklův žák, dr. Josef Švejda a nejstarší syn prof. Jan Pavel Lukl sebrali a roku 1998 vydali jeho úvahy o etice, vnitřním lékařství a kardiologii pod názvem „*Dvojitá tvář lékařství dnes*“. Je to odkaz i memento. S postupujícími léty se technický rozvoj zrychluje, nepoměr mezi tzv. špičkovou medicínou a péčí o pacienta v terénu dále zvětšuje a diskutovaná problematika se progresivně aktualizuje. To je důvod, abychom se vraceli k základům medicíny a zásadám, k nimž nás vedli naši učitelé. Přes přechod do nového tisíciletí to není tak daleko! Profesor Pavel Lukl zemřel 5. prosince 1995.

**Profesor JAN BROD** se narodil 19. 5. 1912 v Novém Jičíně. Po ukončení studií na Lékařské fakultě v Praze nastoupil – stejně jako prof. Lukl – na I. interní kliniku fakultní nemocnice. V osudném roce 1938 byl ve Vídni na stáží u prof. H. Eppingera; odešel proto přes Paříž do Londýna, kde jako člen britské armády sloužil pod vedením dr. Paula Wooda, významného britského kardiologa. A tak, když se vrátil po válce do Prahy, přinesl s sebou nejen nové vyšetřovací metody nefrologické, ale i Woodův koncept klinické kardiologie založené na fyziologické bázi. Po dalším ročním pobytu v USA u tehdy největšího nefrologa Homera Smithe se vrátil zpět na I. interní kliniku, kde začal soustavně pěstovat nefrologii. Odtud jeho první žáci a spolupracovníci, a zde se též roku 1949 habilitoval. V roce 1951 přešel do nově zřízeného Ústavu pro choroby oběhu krevního (ÚCHOK) v Krči, zprvu jako zástupce prof. Klementa Webera, ředitele ústavu. Profesorem byl jmenován v roce 1961 a téhož roku se stal i ředitelem ÚCHOK. Věnoval se jednak fyziologii ledvin, otázkám srdeční insuficience a problematice hypertenze, které věnoval stále větší pozornost (strávil v roce 1946 v rámci Rockefellerovy nadace nějaký čas i v Londýně u G. Pickeringa). Už první Brodova knížka „*Klinická fyziologie a patologie ledvin*“ s ruským a anglickým souhrnem vzbudila velký zájem. Jeho experimentální i klinické práce spolu s Vl. Fenclem, J. Jirkou, Zd. Hejlem, Vl. Prátem a M. Ulrychem jsou dosud citovány v současné literatuře a jeho monografie „*The Kidney*“, vydaná anglicky roku 1973 v Londýně (Buttersworth), je dodnes unikátním dílem v tomto oboru. Na 700 stránkách shrnuje autor základní vědomosti o vnitř-

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



ním prostředí, o fylogenezi vylučovacího systému, resp. homeostázy, o morfolonii a patologii ledvin, renální cirkulaci a fyziologii, přičemž se opírá především o vlastní experimentální práce i data četných českých odborníků. Je tu rozsáhlá klinika a patologie onemocnění ledvin, problematika etiopatogeneze i kliniky hypertenze a rozsáhlé oddíly věnované farmakoterapii i dietní léčbě hypertenze a ledvinových chorob. Rejstřík obsahuje prakticky vše, co bylo do roku 1972 v oboru publikováno. V úvodu Brod vysvětluje, že úmyslně zpracoval látku sám, aby zachoval uniformitu pojetí, vyloučil disproporce rozsahu jednotlivých oddílů a zdůraznil fyziologický přístup ke klinice, tj. diagnostice i terapii. Tato kniha, stejně jako jeho publikace v periodických, profesora Broda proslavily mezinárodně. Byl vyhledávaným řečníkem a předsedajícím při sjezdech, konferencích a sympoziích, a jeho referáty i diskuzní příspěvky svědčily o šířce i hloubce jeho vědomostí a neobyčejné paměti. Na dotaz mohl citovat nejen přesné údaje o publikaci, ale i přesná data ze souhrnu a rozhodující údaje z tabulek, přičemž hned

uvedl, v čem se práce liší od jiných a co je metodicky chybné. Proto byly tak ceněny i jeho přednášky a semináře na fakultě a byl ovšem i obávaný examinátor. Byl natolik zneklidněn nedostatkem základních vědomostí při zkouškách na univerzitě v Hannoveru, že napsal velmi obsažnou zhuštěnou učebnici **interní medicíny** (kapesní „zelené vydání“, Urban und Schwarzenberg), která se dočkala dalších vydání a překladu do italštiny.

Profesor Brod se zajímal o historii a kulturu i politické dění. Byl jedním z iniciátorů manifestu 2000 slov, který sepsal Ludvík Vaculík, pro který také odešel roku 1968 do exilu. Vedle již zmíněné odborné činnosti přispíval i odtud k objasnění historie Karlovy univerzity a významu české kultury v Evropě. Byl to on, kdo podnítil v Německu zájem především o Leoše Janáčka a českou hudbu vůbec. S kulturou německou nesplynul a udržoval vědomě styky s českými lékaři v exilu, s trvalým zájmem o to, co se děje doma. (Myslím, že právě nefrologové a kardiologové rozptýlení ve světě a ti, kteří zůstali doma, o sobě nejvíce věděli.)

Profesor Brod zemřel nečekaně, náhle, 10. února 1985. Nevíme přesně proč; šlo snad o komplikaci v průběhu infektu dýchacích cest. Nikdy si na nic nestěžoval a jeho odchod v nedožitém třiasedmdesátém roce byl pro nás šokem. Zbyli jeho žáci.

Po podzimu roku 1989 byly v Praze uspořádány **Brodovy dny – Jan Brod Memorial Meeting** – za bohaté účasti domácích nefrologů i hostů ze zahraničí. Z iniciativy doc. Jiřího Jirky a prof. Fejřara byla zřizena **Nadace Jana Broda**, jejímž prezidentem je nyní prof. Karel Matoušovic. Poslední Brodův den proběhl na jaře roku 2005. Nefrologové tedy nezapomněli. Zcela jistě ne ani jeho současníci – kardiologové. Možná, že nepamětníci se jednou budou ptát, v čem byl jeho význam pro kardiologii. Připomeňme tedy, že to byl on, kdo v Krči spolu s prof. Fejřarem pod záštitou prof. Webera položil základ experimentálnímu a klinickému kardiologickému výzkumu. Jeho žáci se po únoru 1968 částečně rozptýlili po světě a dobře si vedli ke slávě svého učitele. Kromě toho se ovšem pod Brodovým vedením vytvořila v ÚCHOK školící základna, kterou dnešní kardiologové buď prošli, nebo kterou byli nepřímo ovlivněni. Tak prof. Brod přispěl podstatnou měrou – ne-li rozhodujícím způsobem – ke zformování klinické kardiologie v českých zemích a na Slovensku.

**Prof. Pavel Lukl a prof. Jan Brod nás učili, že diagnóza předpokládá znalost fyziologie a stojí na dobré anamnéze a pečlivém fyzikálním vyšetření. Platí to i dnes v moderní kardiologii na světové úrovni!**

### Nitroso-redoxní rovnováha v kardiovaskulárním systému

Článek komentuje studii A-HeFT (Afro-American Heart Failure Tra), dvojitě slepou, randomizovanou studii, která hodnotila vliv přidání izosorbitdinitrátu (ISD) a hydralazinu k nejlepší konvenční terapii u Afroamerických pacientů se symptomatickou, městnavou srdeční slabostí. Výsledky kombinované léčby v rámci studie byly velmi pozitivní. V hodnocení byly využita kompozitní skóre složená z vážených hodnot úmrtí jakékoliv příčiny, první hospitalizace pro srdeční selhání a měření kvality života. Došlo k působivému snížení úmrtnosti z jakékoliv příčiny, což vedlo k předčasnému ukončení studie. Tato studie ukazuje na velmi zajímavé aspekty, týkající se léčby srdečního selhání a proměn vnímavosti léků mezi populacemi.

Již dřívější data naznačovala, že afroamerická populace vykazuje zvýšenou vnímavost na kombinaci izosorbitdinitrát a hydralazin s konvenční terapií. Kombinace ISD + hydralazin byla ve studii použita proto pro svůj vyvážený efekt na dilataci arterií a žil. ISD vykonává svůj vazodilatační vliv formou donace oxidu dusného nebo formací příbuzných sloučenin. Hydralazin je účinný antioxidant, který inhibuje enzymatickou formaci reaktivních kyslíkatých sloučenin, jako je superoxid ( $O_2^-$ ) prostřednictvím inhibice NADH a NADPH oxidáz. Nadbytek superoxidového radikálu reaguje přímo s oxidem dusnatým, což může mj. vést k porušení jeho fyziologické signalizace a potenciálně vést k produkci dalších toxických látek, zejména peroxynitritu. Hlavním patofyziologickým důsledkem tohoto oxidativního stresu je prolomení signalizace oxidu dusnatého. Je logické se snažit docílit buněčnou

redoxní rovnováhu, v tomto kontextu nitroso-redoxní rovnováhu. Hydralazin redukuje oxidativní stres a může tedy zesílit vliv exogenního i endogenního nitrid oxidu.

Studie je zajímavá i tím, že opouští tradiční design kardiologických studií. Namísto studia velkých heterogenních populací se zaměřuje na specifickou skupinu, u níž lze očekávat vyšší efektivitu zkoumané léčby. Heterogenní populace může vykazovat značné odchylky v genetických a environmentálních faktorech, které ovlivňují vývoj onemocnění a responsi na léčbu.

#### Literatura:

**Hare, J. M.:** Nitroso-Redox Balance in the Cardiovascular System. N. Engl. J. Med., 2004, 351, s. 2112-2117.

O. Louthan

**DISKUZNÍ PŘÍSPĚVEK**

## Impakt faktor – dobrý sluha, ale špatný pán

Špála M.

1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

**SOUHRN**

Cílem sdělení je s maximální objektivitou, opírající se o publikované konkrétní studie, podat přehled a posoudit, jaká je role impakt faktoru (IF) v hodnocení vědy, jaké jsou v tomto směru perspektivy a jakým způsobem se na zlepšení situace může podílet i odborný lékařský časopis, jako je Časopis lékařů českých. Při hodnocení úlohy IF by se mělo vycházet z jeho úplného označení „journal impact factor“, protože vyjadřuje bibliometrické vlastnosti daného časopisu bez možnosti tuto hodnotu přímo přenášet na jednotlivé články v něm uveřejněné nebo dokonce na jejich autorů. IF časopisu stanovený na základě údajů z citačních rejstříků vypovídá o tom, s jakou pravděpodobností lze očekávat, že články v časopisu uveřejněné by mohly být citovány. Dnes je zřejmé, že tento prospěšný ukazatel v rukou nezkušeného nebo nezodpovědného hodnotitele může vést k nepřesným nebo nesprávným závěrům hodnocení nebo být i zneužit. Nehodí se vůbec k hodnocení publikačního či vědeckého výkonu jednotlivce, ani ke srovnávacímu hodnocení mezi časopisy z rozdílných vědních disciplín. Vzhledem k odvození IF z míry citovanosti článků, obráží IF svým způsobem prostřednictvím počtu citací také vlastnosti (kvalitu) článku, jež vedly k jeho citování. Na IF se tedy podílejí i vědečtí redaktoři (editoři) a recenzenti. IF se proto stává součástí všeho, co s publikováním vědeckých výsledků souvisí a je proto také náplní journalologie. Odtud pramení i záslužný záměr redakce Čas. Léč. čes. se fenoménu IF věnovat.

**Klíčová slova:** impakt faktor, citační rejstříky, bibliometrické indikátory, hodnocení publikační činnosti, hodnocení vědy, hodnocení výzkumu, E. Garfield.

**SUMMARY**

*Špála M.: Impact Factor – Good Servant, but a Bad Master*

Our paper presents an overview on the role of impact factor (IF) in the valuation of the scientific activity. With maximal objectivity based on published articles the perspectives are outlined and the role of specialized medical journals like Journal of Czech Physicians is shown. When IF is used for evaluation, the full English term should be first considered “journal impact factor”. It expresses the bibliometric features of the given journal, without possibility to transfer this assessment to individual articles or even authors. IF determined on the basis of information from citation indexes represents for an article presented in the journal the probability to be cited. It appears to be evident that this valuable parameter can lead in hands of inexperienced or irresponsible evaluator to incorrect and erroneous conclusions or to be misused. It is useful neither for evaluation of publication or scientific activity of an individual nor for the comparison of journals in different scientific disciplines. Owing to the relation of IF to the probability of an article to be cited, IF reflects the features (quality) of an article which brought the citation. IF is therefore determined also by the activity of scientific editors and referees. IF becomes part of everything what is related to the publication of scientific results and therefore it becomes object of journalology. It is the source of meritorious intentions of the editorial board of Journal of Czech Physicians to deal with this phenomenon.

**Key words:** impact factor, citation registers, bibliometric indicators, evaluation of publication activity, evaluation of the research, E. Garfield. Po.

*Čas. Léč. čes., 2006, 145, pp. 69–78.*

**PROLOG**

Před téměř dvaceti lety jsem napsal úvahu o citačních indexech pod obdobným názvem, jako je ten dnešní, v němž se rovněž uvažuje, zda v daném případě jde o sluha nebo pána (1). Když se v současnosti zabývám významem impakt faktoru (IF), zvláště v souvislosti s hodnocením vědy, vidím, že se situace příliš nezměnila. Fenomén IF je dnes stejně rozporuplný, jako byl v roce 1988 fenomén citačních indexů. Proto jsem volil pro tuto současnou úvahu obdobný název. Při přípravě literatury k tomuto textu jsem mimochodem, a k milému překvapení zjistil, že obdobným způsobem, tedy použitím stejného názvu pro příbuzná témata ve více článcích, postupoval v rozmezí let 1995 až 2005 ve svých čtyřech publika-

cích i Eugene Garfield (2–5), jehož celoživotní dílo se bytostně váže k IF. Oscilování E. Garfielda mezi nečinností a nadšením („*agony and ecstasy*“) patřilo postupně citační analýze, internetu, publikování vlastní knihy, ale nakonec i IF. Proto se v textu této úvahy také setkáme několikrát s odkazy na zásadní problematiku tohoto jeho posledního článku z roku 2005. Tato poslední Garfieldova esej svým názvem vlastně rovněž připomíná desáté výročí pobytu E. Garfielda na Univerzitě Karlově v roce 1995 u příležitosti udělení čestného doktorátu (2).

Cílem dnešního sdělení je s maximální objektivitou, opírající se o publikované konkrétní studie, posoudit, jakou úlohu hraje IF v hodnocení vědy u nás i mezinárodně, jaké jsou v tomto směru perspektivy a jakým způsobem se na zlepšení situace může podílet

doc. MUDr. Milan Špála, CSc.  
128 00 Praha 2, U Nemocnice 4  
e-mail: spala@seznam.cz

i odborný lékařský časopis, jako je Časopis lékařů českých (ČLČ). Tento nejstarší český odborný lékařský časopis se již v roce 2002 zabýval problematikou současnosti a budoucnosti českých lékařských časopisů (6). V letošním roce 2006 pak se chce redakce věnovat diskuzi „o významu „instituce“ označované jako impact factor, resp. o nutnosti vytvoření aktuálního hodnotícího systému odborné publikační činnosti, který by se opíral o reálné možnosti i jednoznačná východiska, aniž by byly dotčeny zájmy domácích autorů“ (7). Zdá se, že toto dlouhodobé cílevědomé úsilí ČLČ plně odpovídá odpovědnosti editorů odborných časopisů, jejichž prvotní cíl musí směřovat k publikování dobré vědy a nových znalostí v rozumném čase pro své čtenáře. To vyžaduje kritičnost vůči autorům i recenzentům (8). Tato kritičnost pak navíc ukládá redakční radě další nezastupitelnou roli, jakou je důsledně „hlídat samotné hlídače“. Tedy včetně těch, kdo ze své funkce a pozice kdekoliv, třeba v rámci hodnocení vědy nebo jejího řízení, nějakým způsobem „hlídají“ a hodnotí kvalitu publikací, resp. publikační činnosti jednotlivců, třeba pomocí IF (8). To vše plně odpovídá novodobé úloze redakčních rad, pokud mají respektovat moderní principy journalologie (8, 9).

Následující oddíly této úvahy jsou uvedeny jednoduchým názvem charakterizujícím jejich hlavní obsah, ale pod nimi jsou ještě doplněny „klíčové myšlenky“. Jejich smyslem je poskytnout heslovitě představu eventuálně dalšího členění textu mezititulky, jakož i další možné dopady fenoménu „IF“ v této úvaze neprobírané, o nichž by však měl čtenář sám uvažovat. Jejich formulaci však mohou čtenáři považovat také za inspirativní, symbolickou až provokativní. I to bylo cílem autora.

Text tohoto sdělení odpovídá svou formou a zpracováním review, tedy přehledovému článku. Vzhledem k jeho obsahu, ale zvláště k jeho poslání, je možno následující text označit i za esej, úvahu. E. Garfield, zabývající se celý život až do dnešních dní zvláště citačními indexy, citační analýzou, bibliometrií a samozřejmě i impakt faktory, shrnul své úvahy na tato témata do impozantního monografického seriálu „Essays of an information scientist“ (10). Považujte proto, prosím, tuto mou esej také za projev úcty a obdivu k jeho celoživotnímu dílu.

## IMPACT FACTOR

**Častá otázka v životě, vědě i v medicíně: Jak to dopadne? aneb Hledá se „činitel dopadu“ resp. „impakt faktor“ (IF)**

Otázka „Jak to dopadne?“ je velmi častá. Klade si ji dítě naslouchající pohádce, čtenář románu a stejně i divák fotbalového přenosu v televizi. Proč by si ji neměl položit vědecký pracovník, a tím spíše i lékař. Pokud napsal nějaký článek, jistě jako autor bude zvědav „jaký ten článek bude mít dopad“. V oblasti vědy a výzkumu pak musela nastat situace, kdy vznikla snaha tento „dopad“ (angl. impact) nějak změřit, pokud možno kvantifikovaně, a tudíž snad i objektivně, a vyjádřit ho jednoduchým číslem, indexem či činitelem. Dnes je takový „činitel dopadu“ nejlépe znám pod označením „impakt faktor“ (IF), resp. „impact factor“. Předpokládá se, že se jím dá změřit dopad vědeckého článku (odtud „bibliometrie“) a posoudit tak z pohledu publikačního výkonu i vědecký výkon autora (odtud „scientometrie“) (11).

Takové „impakty“ nemusíme hledat jen ve vědě, ale nacházejí se dávno kolem nás v přírodě, kde na zemském povrchu vznikaly ve formě prohloubení při dopadech meteoritů (obr. 1). Pohled na takovou deformaci zemské kůry může snad názorně posloužit jako příklad k úvaze, jaký musí být náraz vědeckého článku nebo sdělení, aby ho věda, resp. vědecká komunita, na svém povrchu zaregistrovala. Zřejmě bude třeba vytvořit ve vědě jakési seismografické sta-



**Obr. 1.** Meteorický kráter Wolf Creek, západní Austrálie – průměr 0,86 km, stáří 3000 let.

nice, které by dopady článků registrovaly a měřily jejich intenzitu. Pokud půjde při sledování dopadu o bibliometrické nebo scientometrické postupy, bude třeba k tomu mít nějaký nástroj, jakým mohou být citační rejstříky (indexy).

Meteority a jejich dopady na zemský povrch jsou svou hmotností a impozantností asi nejprůkaznějším a zřetelně hmotným dokladem existence i dalších objektů ve vesmíru. Stejně tak ve vědě to jsou publikované články a jejich „impakty“ pocíťované v odborné komunitě. Z nich se dovídáme o existenci dalších vědeckých pracovníků v našem okolí či kdekoliv jinde ve světě. *Produkce odborných článků* se tak zdá být jedním, na první pohled jednoduchým kvantitativním kritériem průkazu vědeckého výkonu. Proto jsou také soupisy vědeckých článků (*osobní bibliografie*) nedílnou přílohou při žádostech do konkurzů. A proto v první polovině minulého století vzniklo i ono dosti kruté, ale vcelku reálné úsloví „Publish or Perish“.

Pokud dojde k nějaké odezvě na uveřejněný článek, může to být osobní poznámka nebo verbální diskuze, čímž to také v polovině případů končí. Tato pro autory ne zcela příjemná skutečnost byla opětovně a naprosto průkazně „změřena“ za léta 1945 až 1988, resp. až 2005, na 33, resp. 38 milionech článků (5, 12).

U druhé poloviny článků pak dochází, alespoň jednou, ke kvalitativně zcela jiné situaci. To tehdy, když nějaký čtenář odborného článku použije některé z jeho údajů k argumentaci ve svém vlastním právě připravovaném novém článku. K průkaznému „dopadu“ tedy dochází, pokud autor nového článku cituje článek jiného autora, již dříve publikovaný. Tento článek včetně jména jeho autora se objeví v soupisu literatury tohoto připravovaného článku, obvykle na konci textu, jako bibliografický záznam, či „reference“, která se odkazuje na něj v textu právě změni v „citaci“.

Metamorfóza reference v citaci je dokladem impaktu citovaného článku a představuje ve světle takového citačního dopadu daného článku do vědecké komunity kvalitativní posun hodnocení publikačního výkonu toho autora, který byl citován. Místo kvantitativního sledování pouhého počtu publikací jednotlivých autorů, můžeme sledovat, kolikrát jsou jejich články citovány, tj. použity jinými autory. Jejich přeměnou v citaci se projeví jejich „dopad“, či význam v tom, že jsou zmíněny jinými autory jako citace v jejich článcích a dostává se jim tak jistého ocenění. Citaci lze tedy také jistým způsobem považovat za výraz *poděkování citujícího autora*.

IF pro běžný rok (např. 2004) se stanovuje ze dvou položek: čitatele a jmenovatele. Čítatel uvádí počet citačních ohlasů v běžném roce (např. 2004) k jakémukoliv z článků, které daný časopis celkem uveřejnil v předchozích dvou letech (tedy 2002 a 2003). Jmenovatel uvádí celkový počet článků za ono dvouletí. IF by mohl být dokonce snadněji vypočten na základě článků a citací jen v jediném předchozím roce (v daném případě 2003),



mapy jsou již v některých bibliografických databázích přímo dostupné (např. ve Scopus).

SCI umožnil svým pojetím představit výzkum jako formalizovanou sít propojenou cestou slov a citací, čímž se splnil Garfieldův sen. Bylo jím vytvořit kombinací konceptu SCI, počítačů a literatury zcela nový svět, založený na semiotice citování. Garfield, původním vzděláním chemik, ve své snaze po získání kamene mudrců přeměnil olovo (reference) ve zlato (citace). Přitom on sám není ani chemik obrácený na dokumentátora, není ani informační vědec nebo IT vynálezce. Představuje bohaté a tvořivé tradice stejně tak staré, jako jsou citační rejstříky. E. Garfield je alchymista (21).

IF používaný k hodnocení časopisů se vyvíjel, zvláště v Evropě, a záhy byl používán také jako IF pro autory. Tato *dvoustrannost použít IF je však problematická*. Zatím, co v případě časopisů se jedná často i o desetitisícové počty článků a citací, u individuálních autorů dosahuje jejich publikační produkce výjimečně počtu 1000 nebo 2000 článků. Práce o významu a využití IF pro hodnocení časopisů, uveřejněná v roce 1972 (17), upoutala pozornost i editorů (šéfredaktorů) těchto časopisů. Ukazuje se, že SCI sehrál také významnou roli pro vznik a rozvoj „*journalologie*“, čili disciplíny zabývající se vším, co směřuje ke zdokonalení vydávání, redigování i psaní vědeckých časopisů včetně důsledné aplikace scientometrie na hodnocení časopisů (22).

Ukázalo se, že pro hodnocení vědeckých článků, mají na straně jedné jistý význam *bibliometrické indikátory*, jakým je IF. Na straně druhé, vedle IF, *nesou neméně velkou zodpovědnost i editoři* (redakční rady), a všichni, kdo stojí na začátku *evaluačního procesu rukopisů zadávaných k uveřejnění*. Vedle editorů a různých redaktorů, jsou to také, kromě autorů samých, hlavně recenzenti (peer reviewers) (23). Právě tato oblast hodnocení výzkumných výstupů má pro svůj dopad na konečnou kvalitu publikací i *rozměr etický*, počínaje důvěrností získaných informací až po konflikt zájmů.

Příkladem této hodnotící role budoucích publikací, jež se promítá i do IF, je vznik *vancouverské skupiny* šéfredaktorů významných lékařských časopisů (1978) a sepsání jednotných požadavků na mezinárodní úpravu rukopisů pro lékařské časopisy (24). Ostatně E. Garfield vždy vyhledával možnost kontaktů s editory, protože tak mohlo nejlépe docházet k *oboustrannému zdokonalování práce* jak na SCI, tak i při editořské činnosti v redakční radě (5, 12, 25). Rychlost redakčního projednání přijetí rukopisu, stejně tak jako pohotovost recenzentů, mohou svým důsledkem na oddálení publikace, a tím ztráty recentnosti, ovlivnit citovanost, a tím i IF. Stejně tak je nutné, aby redakce jednoznačně a zřetelně kategorizovaly jednotlivé články, což určuje jejich případné zavzetí do jmenovatele pro výpočet IF (26).

Nakonec je třeba připomenout, že hodnocení publikační výkonnosti, resp. kvality vědy, vedlo přirozeně k vytvoření samostatné disciplíny „*scientometrie*“, jež se zabývá kvantitativními aspekty vědy o vědě, komunikaci ve vědě a vědní politikou. Tento rozsah a obsah scientometrie zřejmě svou obsahovou specifikitou a metodikami přesahuje znalosti všech, kdo nějakým způsobem působí jako „*science policy makers*“. Tedy zkušení nebo špičkoví vědci z různých jiných vědních oborů, editoři vědeckých časopisů i s dlouhodobou praxí, nebo manažeři a administrátoři univerzit nebo výzkumných ústavů a konečně i vládní úředníci. Pro podporu a výzkum v této oblasti byla proto založena „*International Society of Scientometrics and Informetrics (ISSI)*“ (27) a v roce 1979 v rámci Maďarské akademie věd vznikl časopis „*Scientometrics*“ (28) určený těm, kdo se studiem scientometrie chtějí vážně zabývat.

*Možná, že dosud mezi vědeckými pracovníky ani mezi hodnotiteli vědy není dostatečně zdůrazněno a pochopeno, jak rozsáhlé spektrum oborů a činností může souviset s IF, resp. s kvalitou citačních rejstříků, výsledky následné citační analýzy a tedy i s evaluační vědecké výkonnosti.*

## ALTERNATIVY IF A SCI

### *Modifikace IF – Další ukazatele (E, H, aj.) – Indikátory výkonnosti ve vědě a technice – Je těžké vytvořit další SCI? – Scopus aneb konec monopolu SCI – IF a internet – citation, citation, webometrics*

Dosavadní „dvouleté“ IF mohou být přeměněny na „kumulativní IF“. Tím, že se doba sledování počtu citací a počtu příslušných časopisů mění, prodlužuje se tak „okénko“ sledování. Tím se mění i IF. Například pro Nature, resp. Science při jednoletém „okénku“ (1989) IF pro dané časopisy dosahovaly hodnot 70,86, resp. 80,16 a při pětiletém „okénku“ (1989–1993) hodnot 40,38, resp. 38,21 (29). Další možnost rozšíření palety indikátorů přinesly výsledky dánské studie (1993–1998), kdy bylo použito pět diachronických scientometrických indikátorů. Formou modifikovaných IF, jež představují robustní indikátory poskytující dobré a danému cíli odpovídající výsledky, byl sledován do budoucnosti vývoj publikačního chování a publikační výkonnosti (30). Výsledky zřejmě umožní zjišťovat okolnosti, jež vedou k docilení vysokého impaktu, pokud autor jednou uspěje publikovat ve vysoce impaktovaných časopisech. Zdrojem dat byly databáze ISI.

Existuje i celá řada dalších indikátorů měřících publikační rychlost a růst, jež různým způsobem vycházejí z počtu publikací a z období příslušných let, za něž je měření prováděno. Svým způsobem jsou některé z indikátorů v jistém vztahu se základním IF (31). Kromě toho firma Thomson produkuje Journal Performance Indicators (JPI), které z dat získaných z více než 10 000 vědeckých vysoce citovaných časopisů za období 24 let mohou poskytovat za různá období a pro různé časopisy a články různé citační a impaktfaktorové údaje (32). Indikátory JPI pokrývají nyní každoroční shrnutí pro období 1981–2004, a v porovnání s údaji v JCR poskytují pokud jde o IF přesnější hodnoty (5).

Mezi další užitečné produkty vycházející z WoS patří např. „*citační denzita*“ nebo „*referenční denzita*“ (11), udávající kolik připadá průměrně referencí na jeden článek. Stejně tak je třeba sledovat i „*citační poločas*“, který udává rok, v němž vycházejí retrospektivně z roku publikace toho článku, lež právě 50 % ze všech v něm citovaných článků (5). Pro tyto oba významné bibliometrické ukazatele je třeba hledat jejich obvyklé hodnoty, jež je třeba znát při interdisciplinárním porovnávání. Tyto indikátory právě svými rozdílnými hodnotami poukazují na rozdílnost daných časopisů, nebo jejich skupin, podle jednotlivých vědních oborů a podooborů (26). Oborovou příslušnost časopisu pomáhá stanovit „*koeficient příbuznosti*“, který je nově zaveden do JCR (5).

Nelze na tomto místě nezmínit, že *bibliometrickým indikátorům a analýze výzkumných systémů byla věnována samostatná publikace OECD* (33). Práce probírá problematiku pečlivě a detailně. Za zmínku stojí závěr 4. kapitoly s pasáží o budoucnosti bibliometrických indikátorů (p. 23): „*Každý indikátor má své přednosti a své omezení. Nesmí se na ně hledět jako na „absolutní“ ukazatele; mají komplementární roli. Různé bibliometrické postupy a metody musí být používány v kombinaci, přestože mohou někdy vést k protichůdným výsledkům, zvláště pokud poskytují užitečné informace a odpovídají vědeckým a odborným standardům. Přes svá omezení, bibliometrické ukazatele poskytují zásadní kvantitativní měřítka vědeckého výkonu.*“ O IF není v celé práci (70 s.) ani zmínka.

Není asi náhodou, že pomocí bibliometrických indikátorů byla hodnocena publikační výkonnost jednoho indického fyzika (34) a v Indii byla rovněž provedena rozsáhlá analýza výzkumu v oblasti „*life sciences*“ na základě databáze Biosis z let 1992–1994 (35). Jistěže naše poměry nejsou s těmito téměř kontinentálními rozměry vědy a výzkumu v Indii porovnatelné, ale v obou případech vstupoval do hry IF. Je třeba doufat, že česká decizní sféra o tom ví. Z nedaleké Austrálie jsou pak recentně referovány dva projekty z oblasti výzkumné a evaluační politiky v sociálních vědách. Jde o strategické indikátory hodnotící výkonnost ve výzkumu a ve druhém

projektu jde o testování kvantitativních indikátorů kvality a dopadu výzkumu v sociálních vědách s projekcí na ekonomiku (36, 37). Vzhledem k tomu, že v domácích poměrech jsou sociální vědy spíše mimo střed bibliometrického hodnocení, je i v tomto případě vhodné o existenci těchto prací vědět.

Mezi *alternativní ukazatele* sledující publikační výkonnost je možno zařadit *Erdősovo číslo* (E) a s ním spojené grafy spolupracovníků. Vychází z představy přiřazovat vědeckým pracovníkům E, představované celým číslem. Nejvyšší výchozí hodnota je 0 a patří maďarsko-americkému matematikovi Paulu Erdősovi (1913–1996). Další číslo je 1 a patří všem matematikům (více než 250), kdo byli spoluautory jeho publikací. Další, kdo publikovali s těmito držiteli E v hodnotě 1, mají číslo opět o jedničku větší, tedy 2 atd. P. Erdős byl velmi produktivní autor více než 1000 publikací (11). E je celkem zvláštní překvapivá míra výkonnosti, známá přes více než 25 let.

Číslo E je fenomén vlastní matematické vědecké komunitě ze druhé poloviny minulého století, kde panovala silná spolupráce s průvodním spoluautorstvím. Nositelé různých ocenění, např. Fieldsovy medaile, dosahovali koncem minulého století E nižší než 6 a více než 60 nositelů Nobelovy ceny za fyziku, chemii, ekonomiku a medicínu mají E nižší než 9 (38). Jsou sestaveny rozsáhlé seznamy hodnoty E u nositelů různých cen a medailí (např. „Fields“, „Nevalinna“, „Wolf“, „Steel“) jakožto početné graficky vyjádřené cesty počínající vždy Erdősem a sestupně se odvíjející podle následných spoluautorství. Pro medicínu E asi nemá význam, i když pro F. H. C. Cricka, genetik a biofyzika, spolunositele Nobelovy ceny za objev dvoušroubovice DNA, E dosáhlo hodnoty 7.

Dalším a zcela recentním *alternativním ukazatelem* ke sledování a hodnocení publikační výkonnosti je *index h*, jehož autorem je americký fyzik J. E. Hirsch (39). Index je definován jako číslo udávající počet článků (*h*) s počtem citací větším nebo stejným, jako je počet těchto článků (*h*). Tento číselný index vyjadřuje vědecký výstup výzkumného pracovníka a může sloužit pro hodnocení nebo srovnávání při přijímání na univerzity, povyšování v práci nebo žádostech o grant. Má-li někdo dosáhnout např.  $h = 110$ , musí být autorem 110 článků, jež mají počet citací právě 110 nebo výše. Výhodou je, že měří autorovu produktivitu, nevýhodou, že nehodnotí důležitost článků nebo jejich impakt. Protože se zde vyjadřují citace vztažené na článek umožňuje *h* srovnávat vědce různého věku (na rozdíl třeba od IF). Principem *h* je z autorových všech publikací vybrat jich jen *h*, jež mají však zároveň i stejně *h* vysoký počet citací, takže představují jen ty „významné články“. Index *h* poskytuje představu širokého a trvalého impaktu pro jednoho autora. Pokud mají dva vědečtí pracovníci stejné *h*, i když celkový počet jejich článků a citací se velmi liší, mají oba stejný vědecký impakt. Naopak u dvou vědců, stejného „vědeckého“ věku, se stejným celkovým počtem článků a citací, ale velmi odlišným *h*, ten s vyšším *h* představuje vědce uznávanějšího. Vzhledem k tomu, že výpočet je snadno možný podle databáze Thomson ISI Web of Science, stálo by za pokus provést v našich poměrech srovnání současného stavu hodnocení s tímto zcela novým systémem. Až na nevýhodu, stejnou jako u IF, že je totiž citlivý na vědní disciplínu, a tudíž výsledky jsou mezioborově těžko porovnatelné, je tu příležitost využít jeho výše uvedených předností (*porovnej* (73)!).

*Současnou alternativou SCI je databáze Scopus*, která poskytuje ke všem zpracovaným článkům i možnost přímo sledovat všechny jejich dosavadní citační odkazy. Neobsahuje ve své koncepci nástroje umožňující přímo výpočet IF. Má naopak oproti SCI, resp. WoS, některé výhody, jež jsou komentovány a porovnávány v oddíle „Má IF roli v hodnocení vědy ve světě a u nás?“ (viz s. 74).

Na otázku uvedenou v záhlaví tohoto oddílu, jež je možná na první pohled provokativní, totiž zda je možné sestavit další vlastní SCI, je možné odpovědět zcela uspokojivě na základě projektu

uskutečněného v Národní lékařské knihovně v Praze (40). Konceptním východiskem bylo počítačové zpracování národní lékařské bibliografie „*Bibliographia medica čechoslovaca*“. Pro modelovou demoverzi citační databáze byly použity tři časopisy: Vnitřní lékařství (za ne-chirurgické obory), Folia microbiologica (za molekulární biologii a genetiku) a Bratislavské lékařské listy (za klinickou a experimentální medicínu a všeobecné lékařství). K vypočtení dvou indikátorů, tj. IF a immediacy index za rok 2000, byly zpracovány tři ročníky výše zmíněných časopisů (1998, 1999 a 2000).

Pro tyto tři domácí pramenné časopisy, stejně jako pro dalších sedm domácích, jež v nich byly dostatečně zastoupeny, se podařilo na základě počtu všech článků zveřejněných v roce 1998 a 1999, a z nich pak citovaných v roce 2000, vypočítat jejich IF za rok 2000. Obdobným způsobem z počtu všech článků zveřejněných ve třech pramenných časopisech v roce 2000 a z nich ve stejném roce citovaných, byl pro 10 časopisů vypočítán i immediacy index. Kromě zjištění, že při dostatečné finanční podpoře lze takový rejstřík sestavit i pro větší počet časopisů, bylo zásadním poučením, že redakce zpracovávaných časopisů musí dbát o náležitě uvádění referencí v literatuře, kdy samozřejmě je nepřípustné uvádět poznámku „Literatura u autora“. Při snaze zpracovat u článku nejen plnou referenci a soupis v práci uvážené literatury, ale i abstrakt, a zpřístupnit vše na internetu, se ukázalo za bezpodmínečné přejít při redakčním zpracování na XML.

S ohledem na rostoucí počet článků dostupných na internetu, i když je to jen zhruba 20 % jejich celoroční produkce, se zdá, že „impakt faktor“ pro články s „open access“ stoupá (41). Budou tedy nepochybně existovat IF také pro elektronické časopisy dostupné na internetu a vedle „biblio-“ a „sciento-metrics“ vznikne i „webometrics“, byť dosud příliš nevyzkoušená (5, 42). Vedle dosud obvyklých „citations“, odrážejících skutečnost, kdy nějaký autor citoval e-článek ve svém novém vědeckém článku, vzniknou i „sitations“ k postižení počtu čtenářů, kteří si e-článek pouze stáhli (download).

Z ryze formálního hlediska, aby nebyl opomenut, je uveden i jeden při nejmenším jménem velmi sugestivní „Euro-Factor (EF)<sup>TM</sup>“ (43). Přes to, že je EF prezentován v monografii (52 stran, 21 referencí) s 9 mezinárodně autorskými příspěvky, nelze zodpovědně posoudit, o jaký „nový faktor analyzující kvalitu nejlepších evropských lékařských časopisů“ vlastně jde. Už i proto, že není zřejmé, jak byl odvozen základní vzorec. Pro naše poměry to bude slepá vývojová kolej, která přes vznešené formulace, nemůže, ani alternativně, řešit evropskou situaci v této oblasti.

## FENOMÉN IF V ČESKÉM POHLEDU

### *Z historie IF a SCI u nás – Možnost uplatňovat IF a SCI v disparátní společnosti – Současná stanoviska kritická i deklarační*

První česká práce o citování v odborné a vědecké literatuře pochází z roku 1943 a je z technické oblasti (44). První studie o frekvenci citování odborné metalurgické literatury vzniká až po dvaceti letech (45). Následující publikace, rovněž z pera dokumentátora, je již o citačním rejstříku (46) a chápe ho jako nástroj k vyhledávání pramenů, bez zmínky o citační analýze. Pak teprve přichází z řad vědeckých pracovníků první odezva na SCI, který začal být k dispozici v tištěné verzi i u nás (47, 48). Klíčovou osobou pro citační analýzu v československých zdravotnických časopisech je svými rozborovými i teoretickými studiemi s více než 25 záznamy přednášek a publikovaných sdělení MUDr. Jan Hlebich, CSc. z Národní lékařské knihovny z období 70. a 80. let, např. (49, 50). Ojedinelou prací o možnosti objektivního hodnocení úspěšnosti základního výzkumu je v 80. letech minulého století v naší literatuře studie L. Jánského sledující dynamiku citačních ohlasů vlastních prací o ter-



moregulaci (51). Mezitím se u nás citační analýze a všemu, co s tím souvisí, věnoval na světové úrovni ing. Jan Vlachý, jaderný fyzik a zároveň editor Czechoslovak Journal of Physics. Jeho práce zavzal E. Garfield trvale do metodické části SCI. Publikoval doma i v zahraničí přes 120 analytických prací, např. (52–54).

Pak až v 90. letech dochází mezi vědeckými pracovníky k řadě diskuzních vystoupení na stránkách různých bulletinů vědeckých institucí, zřejmě v souvislosti s jejich restrukturalizací a hlavně restrikcí. Cílem obvykle bývá prokázat přednost toho „svého“ nebo „našeho“ časopisu, jemuž hrozí zánik. Zřejmě proto také mají tyto příspěvky často polemický a konkrétními numerickými argumenty ne vždy dostatečně či racionálně podložený kritický charakter. Svědčí však alespoň o snaze „nenechat to jen tak být“. V titulu se vyskytuje zásadně „impact factor“, ale i „impaktový faktor“ (55–58). Další články ze stejného zdroje a na stejné téma, ale až z poslední doby, sice jen s limitovaným počtem argumentačních čísel přímo v textu, je již korektně kritickým rozbořením metodiky hodnocení výzkumu a vývoje a jejich výsledků v roce 2005, jak je navrhla RV pro VaV, a to včetně komentování úlohy IF (59).

V českém odborném lékařském tisku editoři pak rádi uvolní stránky knihovníků nebo rešeršérů, aby čtenářům jejich časopisů v popularizačním článku podali informace o impaktu faktoru a hodnocení vědecké práce (60), o citačním indexu a impaktu faktoru (61), nebo o využití citačních rejstříků a impaktu faktoru (62). Trochu v duchu journalologie a jejího zdůraznění role šéfredaktora při zvládání bibliometrických principů se v některých časopisech této úlohy úspěšně ujmají šéfredaktoři (63, 64), někdy s doplněním konkrétních výsledků i v mezinárodním srovnání podle SCI ze svého časopisu nebo z instituce, jež ho vydává (65). Vedle toho se v našich odborných lékařských časopisech objevují k tématu IF kritické komentáře z řad vědeckých eventuálně klinických pracovníků, které dosud na rozdíl od příspěvků v zahraničních časopisech nemají exaktně analytický charakter. Nejrozsáhlejší z nich (66) představuje kompilační esej z klinického pracoviště s dobrým informačním zabezpečením, v poněkud rétorickém stylu, zajímavý tým, že autoři uvádějí seriózní zahraniční opoziční názory na IF formulované např. T. Ophthofem nebo P. O. Seglenem, aby zakončili zajímavé vizionářské závěry.

Další dvě práce jsou zřejmě reakcí na článek hodnotící z hlediska SCI fakultní bibliografii a ukazující na možnosti publikovat i v časopisech s IF (65). V jedné z nich autor na základě dobrých znalostí bibliometrických principů i konkrétních hodnot z JCR připojuje i cenné zkušenosti ze zahraničních pobytů, aby závěrem racionálně uvedl podmínky, jež mohou vést i u nás k proniknutí do renomovaných časopisů (67). Druhý článek jen klasickou úvahou opírající se nejen o velké klinické ale i publikační zkušenosti. Čtenář, zvláště začínající publikovat, se seznámí třeba i s tím, že průlomový článek o objevu paradoxního spánku, přestože vyšel ve významném časopisu Science, čekal téměř pět let než vešel ve známost (68). Před časem se objevil v ČLČ „diskuzní příspěvek“ komentující internetový návrh na další nový faktor měřící publikační prestiž. Přitom čtenáře upozorní i na jiné problémy, než hodnocení vědy, jež jsou pro ni stejně tak významné. Autor příspěvku, zřejmě vědom si i zodpovědnosti za osud českého jazyka ve vědě, uvažuje, zda má vůbec cenu publikovat v češtině. Tedy v současné době, kdy komerční a showbiznisové trendy pronikající z kultury i do vědy vedou ve svých důsledcích k poklesu úcty k rodnému jazyku. Je nepochybné, že i takovéto drobné poznámky a glosy patří z hlediska moderní journalologie do odborných časopisů, protože nejen zpestřují spektrum příspěvků, ale i na závažné téma upozorní inteligentním způsobem (69).

Cílem této části úvahy o IF nebylo podat vyčerpávající bibliografii článků o IF v domácích zdravotnických časopisech. Z toho, co bylo uvedeno je přesto potěšující, že redakční rady a vedoucí redaktoři odborných lékařských časopisů tomuto fenoménu věnují pozornost, i když je třeba někdy centrálně koordinována, např. přes ČLS JEP (62).

V poslední době (12. 10. 2005) se v novinách zaměřených na ekonomiku objevil k tématu hodnocení vědy článek, který svými autory, obsahem, stylem i samotným nadpisem zasluhuje pozornost (70). Dva pracovníci Filozofického ústavu AV ČR napsali téměř otevřený dopis, uvedený nadpisem: „Vládá měří vědu. Zničí přitom humanitní obory“. Je možné, že se na výsledné podobě některých formulací podíleli i redaktoři. Přesto samy mezititulky mnohé napoví: „Zredukovat na jediné číslo“, čímž je míněn právě IF;

„A co když 'impakt' chybí?“, kde je komentována mimo jiné metodika pro hodnocení, jíž se již zabýval také jeden z výše uvedených článků (59); „Není Journal jako Journal“, kde je konkrétně s čísly argumentováno, jak se ve skutečnosti publikuje ve dvou zahraničních časopisech, které autoři znají; „Jste málo užiteční“, jasně popisující pocit nedocení humanitních oborů oproti v takových případech uváděné medicíně nebo chemii, jako oborů vždy a stále protežovaných. Svým obsahem je dopis věrohodný jak například kritizuje nastavení kritérií podle již jednou zmiňované „Metodiky“, kdy pod vlivem kritických reakcí mělo dojít k jistým posunům, nikoliv ale k omezení jejich diskriminačního charakteru.

Opatřením Rady vlády pro vědu a výzkum se některé domácí časopisy bez IF (podle SCI) zařadily pro hodnocení výstupu výzkumu do kategorie časopisů téměř identické s impaktfaktorovými časopisy. To postihlo i Časopis lékařů českých, který nebyl do této skupiny zařazen, zatímco Praktický lékař ano (7). Je to jeden z dokladů nesystematičnosti nebo netransparentnosti rozhodování RV pro VV při hodnocení vědy, což pochopitelně vyvolává negativní odezvy ve vědecké obci, tím spíše, když ji to postihuje. Musíme vzít na vědomí, že takové arbitrární rozhodování v podobných institucích není zřejmě zase tak vzácné.

E. Garfield uvádí příklad z Ruska, kde byly podivuhodně nastaveny IF, aby co nejvíce z 20 000 žadatelů mezi ruskými vědci mělo dobré citace a mohli dostat podporu od Sorosovy nadace. Obdobné politické manipulace se s IF staly také v Itálii (12). Dále je známo, že v sociálních vědách u řady vysoce hodnocených časopisů existuje nelinearita a těmto časopisům se dostává nepřiměřeně vysoké ocenění, zatímco časopisy nové a méně prestižní dostávají nižší kredit, než by jim podle IF náležel (71). A konečně pro naše pracovníky z humanitních oborů by bylo asi v jejich vlastním zájmu podstatné vědět, jaké se používají jinde při výzkumu v těchto vědách výkonostní indikátory (35, 36).

Je zřejmé, že vědeckí pracovníci by měli možná ještě častěji jednat s vládní administrativou provádějící hodnocení vědy. Aby však byli při nejmenším rovnocennými partnery, je třeba mít dobré znalosti z bibliometrie a scientometrie, aby jejich argumentace obstála. V této eseji uváděná literatura, která by řadě pracovníků mohla třeba pomoci, je dostatečným dokladem, že hodnocení vědy, scientometrie, potřebuje stejně kvalifikované a strukturované vzdělání ze svébytných disciplín, jako to svoje potřebují vědci, kteří se s úředními „scientometristy“ dostávají do sporu. Ztěžka lze očekávat, že by si vládní, a tedy politické orgány, zřídily poradenskou službu pro hodnocení vědy třeba právě na pomoc nešťastným, nespokojeným nebo neoceněným jednotlivcům. Vědci při rozdělování peněz, o což při tom v podstatě jde, jim nikdy nemohou být partnery, ale měly by se stát připravenými oponenty.

#### MÁ IF ROLI V HODNOCENÍ VĚDY VE SVĚTĚ A U NÁS?

*Co říká jeho autor E. G. – Zachovat jednotu a hledat další kritéria? – Pozor na známý následek vylévání vody z vaničky a osudu dítěte – Má konsenzuální kritické řešení nadějí na přijetí vládní administrativou? – Qui custodiet ipsos custodes (viz literatura (9))*

E. Garfield uzavřel jednu ze svých četných přednášek pro zasvěcené editory vědeckých časopisů (25) použitím citátu z jednoho „dopisu redakci“ časopisu „Allergy“, který má sloužit ke stručnému zhodnocení významu IF (72). Myslím, že ztěžka svým pozitivním obsahem může tento článek sloužit jako příklad četných kritických názorů na IF, jak ho E. G. označuje. Přesto, nebo právě proto, je jistě vhodné toto uznání tlumočené tvůrcem IF znát: „*Impakt faktor není dokonale nástroj k měření kvality článků, ale není nic lepšího a má výhodu, že již existuje, a právě proto má možnost dobrého technického použití k vědeckému hodnocení. Zkušenost ukázala, že v každé specializaci jsou nejlepší ty časopisy, v nichž je nejnesnad-*

nější docílit přijetí článku, a jsou to tyto časopisy, které mají vysoký impakt faktor. Tyto časopisy existovaly dlouho před tím než byl impakt faktor navržen.“

Takový názor je jistě možno přijmout a odpovídá současné domácí i zahraniční praxi, jakož i názoru řady vědeckých pracovníků. Já sám bych však ocitoval ze zmíněného článku (72) hlavně jeho poslední dvě věty, které vysvětlují předcházející citát převzatý Garfieldem v trochu jiném světle. Představují totiž místo Garfieldova „rozpačitého“ názoru, že „není nic lepšího“, jiný názor na vlastní roli IF trochu z praktického i filozofického pohledu, co je primární, zda hodnota samotného článku bez ohledu na IF časopisu, kam je zasílán, nebo naopak. Tedy autor svůj dopis redakci končí slovy: „*Na závěr, prestižní časopisy uveřejňují články vysoké úrovně. Proto je jejich impakt faktor vysoký, a nikoliv naopak.*“

Je třeba si uvědomit, že nejasnosti, kontroverze, neshody kolem IF vznikaly převážně z jeho nesprávného používání, a to z jakýchkoliv pohnutek nebo důvodů. E. Garfield se až do současnosti snažil podávat o tomto tématu vždy vyrovnaný obraz, právě pro jeho významnost (5). Jsou to právě spíše jednotlivci, vědecké instituce nebo hodnotitelská administrativa, které takový korektní postup příliš neplní.

Stojí za to na tomto místě uvést, že současný a až donedávna monopolní zdroj citačních ohlasů WoS (produkovaný americkou firmou Thomson), který představuje typicky výběrovou bibliografii, by v tomto směru mohl být nyní doplněn, zvláště vzhledem k naší evropské lokalizaci, novou databází Scopus (představená nizozemskou firmou Elsevier koncem roku 2004), která rovněž eviduje citační ohlasy. Zpracovává více časopisů (14 000 oproti 8000 u WoS), navíc zaměřených na evropské spektrum. Pro české prostředí je databáze zajímavá i tím, že respektuje českou diakritiku.

Mezi novinkami ze zcela poslední doby (29. 9. 2005) se objevil index *h* ke kvantifikaci individuálního vědeckého výkonu (39). Má výhodu, že měří výkonnost, umožňuje srovnání vědců různého věku a ze svého principu vybírá z celé autorovy produkce jen „významné“ články. Autor mimo jiné s mimořádnou korektností upozorňuje na nevýhodu najít skutečně všechny (!) citace.

Jako nevýhodu indexu *h* sám autor uvádí dále citlivou otázku přehledových článků (review), jež obvykle získávají více citací než původní články prezentující nové výzkumné výsledky. Svůdně na tomto novém faktoru hodnotícím dopad vědecké práce u jednotlivého vědce je, že dokonce umožňuje sestavit jakousi klasifikační stupnici. Pokud vědecký pracovník po 20 letech práce dosáhne *h* rovné 20, je ho možno označit za úspěšného. Pokud *h* bude rovné 40 je vynikající a při hodnotě 60 (nebo 90 po 30 letech) je skutečně výjimečným jedincem.

Možná, že by neměla ani u nás uniknout členům různých konkurzních, akreditačních a dalších rozhodovacích komisí další autorova (39) praktická „evaluační“ aplikace pro *h*. Hodnoty v rozmezí 10–12 by mohly být na velkých výzkumných univerzitách typické k udělení definitivy (tenure resp. assoc. prof.) a po dosažení hodnoty 18 i řádné profesury. Pro přijetí za fellow v American Physical Society *h* by mělo být 15 až 20 a členství v US National Academy of Science by mělo být spojováno s *h* vyšším než 45, kromě výjimečných okolností. Tato poslední poznámka ukazuje, jak obtížné je nastavovat jakékoliv rozhodovací mantinely, tím spíše v tak citlivých otázkách, jako je hodnocení vědeckého výkonu nebo rozhodování o celoživotní kariéře. Přesto je vhodné, o tom vědět a třeba i porovnávat, byť jsou podmínky tak rozdílné u nás či jinde. Zvláště ve Spojených státech amerických, jež často, podle výhodnosti, bývají i u nás vybírány jako standard.

Článek o indexu *h* (39) může posloužit jakékoliv diskusi o používání různých indikátorů, zvláště IF, k měření vědecké či publikační výkonnosti i tím, že jasně dokazuje intenzivní zájem o tuto otázku, jaký je jí v mezinárodním odborném tisku věnován. Navíc je tato otázka zřejmě řešena seriózním výzkumným způsobem, ne jen diskuzně komentována. Měsíc po zveřejnění bylo možno na zmí-

něném serveru již najít zásadní práci brazilských autorů z Filozofické fakulty univerzity v Sao Paulo (73), kteří ve svém indexu *h*, zohledňují i počet spoluautorů a prokazují, že v této podobě je index *h* vhodný i ke srovnání mezi odlišnými vědními oblastmi. Nutno podotknout, že základem jejich studie bylo 190 000 vědeckých článků z oblastí matematiky, fyziky, chemie a biologie/biomedicíny z let 1945 až 2004, které autoři získali z databáze Thomson ISI Web of Science. Pro dnešní úvahu je podstatné, že pokud je zájem hledat další postupy hodnocení vědecké výkonnosti i u nás, pak tedy „*nilhil obstat*“ pokusit se ověřit vhodnost této metody. Původní práce (39) vzbudila tiskovou odezvu v odborném časopise Nature (74) dokonce ještě před svým zveřejněním (18. 8. 2005), ale i u nás si mohli čtenáři denního tisku (a posluchači radia ČRo 2 Praha ve vysílání Meteor) přečíst již 5. 11. 2005 nejen o indexu *h*, ale i o Erdősově čísle *E* (75).

Otázka, jak přistupují vědečtí pracovníci nebo různé komise k jakémukoliv hodnocení, je kardinální, protože výsledek takového rozhodnutí má vždy závažné důsledky, jako je přidělení grantů, udělení cen a vyznamenání nebo kariéerní postup. V souvislosti s indexem *h* (74) se čtenáři mohli dočíst o názoru britských badatelů na hodnocení vědy, jaký v UK převládá po zkušenostech s hodnocením v roce 2001. Podle manažera komise UK Research Assessment Exercise, která hodnotí kvalitu univerzitních vědeckých pracovišť k jejich financování, komise se záměrně vyhýbá „*metrice*“ včetně výslovně uvedených impaktových a citačních ukazatelů, a dává přednost „*review panels*“, tedy názoru expertů. Mezi výzkumnými pracovníky jich dává přednost takovému „*peer review*“ (vyjádření experta) 96 %. Jistě je třeba pro naše poměry vážít srovnatelnost všech podmínek, avšak přehlížet tuto situaci by asi nebylo příliš vědecké, nehledě snad ani na to, že je to uveřejněno v odborném časopise Nature, který má pro rok 2004 impakt faktor 32,182.

Právě v případě takovýchto zásadních rozhodování mohou pro závažnost situace vstupovat do hry vedle racionality či vědeckosti i jiné faktory. Možná, že jsou to právě některé z dramatických prvků vědeckého života formulovaných až kánonicky J. Lederbergem v jeho úvodu ve svazku biografických medailonů významných vědců „*The Excitement and fascination of science: Reflections by eminent scientist*“ (76). Při hodnocení vědce jeho nadřazenou institucí se u něj může uplatnit zřejmě jeden z jeho *konfliktních postojů kolísajících mezi ikonoklasmem a respektem vůči ustáleným pravdám*. Do stejné kategorie patří i postoj vědce k řadě „*mýtů*“, tedy polopravd, které se ve vědě vyskytují i v oblasti používání IF při hodnocení vědy. Sám E. Garfield takovéto mýty, pokud jde o IF, komentuje a snaží se je uvést na pravou míru, a to opakovaně (12, 77). Uvádím názory J. Lederberga i E. Garfielda vedle sebe mimo jiné i proto, že oba stáli u vzniku SCI (78).

Další mýtus, který zasahuje do procesu hodnocení, a tedy i do hodnocení vědeckých publikačních výkonů, je dosud stále deklarovaná nutnost *održovat absolutní anonymitu při posuzování (peer review)*, tedy při recenzích či jiných oponenturách, k nimž ve vědecké sféře z mnoha důvodů, a proto i velmi často, dochází. Je naděje, že alespoň journalologie se takovému „*open peer review*“ již otevírá (od 1. 1. 1999 alespoň v BMJ – British Medical Journal, který má pro rok 2004 impakt faktor 7,038). Prokázalo se totiž, že otevření posuzovacího procesu nemá vliv na jeho kvalitu a ani počet recenzentů po zavedení tohoto režimu významně nepoklesl. Odstranění anonymity z posuzovacího procesu ve vědě již tedy nastoupilo realistickou cestu (79). Podceňovat nebo jakkoli přehlížet u nás při hodnocení vědy současnou situaci v oblasti „*peer review*“ by bylo asi nemoudré, přinejmenším z důvodu možnosti výskytu *nepatřičného chování ve vědě (scientific misconduct)*, kde se na tomto poli situace v posledních desetiletích dramaticky změnila (80).

Asi by se neměl podceňovat názor čelného fyzika působícího po více než třicet let jako profesor na California Institute of Technolo-

gy, jak ho uveřejnil v časopise vydávaném American Association of University Professors, jež má v podtitulu motto „Academic freedom for a free society“ (80). Autor celou podstatu problému shrnuje do dvou úvodních vět: „Vědci nejsou svatoušci. Ačkoliv málo z nich falzifikuje výsledky, konkurence je tak velká, že mnozí z nich se zachovávají zbaběle jiným způsobem“. Vědu brzdí nyní počet míst ve výzkumu a množství peněz, jež jsou k dispozici. „To, co až dosud bylo jen intelektuální soutěží, se změnilo v intenzivní boj o sporé finance. Tato změna je jako dlouhý běh, který je trvalý a neměnný, a bude mít asi nežádoucí účinky na etické chování mezi vědci. Případy vědeckého podvodu se stanou ještě častější, stejně jako jiné formy špatného chování ve vědě“. V této situaci vidí, že recenzní řízení v časopisech je v nebezpečí. Jsou to totiž časopisy, které rozhodují, co bude publikováno, a tím vlastně rozhodují i o tom, kdo získá finance. Grantové agentury totiž rozhodují při podpoře výzkumu právě převážně na základě publikací.

Z dosud uvedeného je zřejmé, že současné hodnocení vědeckých výsledků, tím spíše za použití IF, bere za základ hodnocení publikační činnosti. Souvisí tedy přímo i s činností odborných redakčních rad, jež zajišťují redakční zpracování článků obsahujících výsledky výzkumu. A to včetně jejich hodnocení pomocí „peer review“. Tím dbají redakční rady o kvalitu publikační činnosti a přispívají k jejímu zlepšení. Existuje skutečná návaznost hodnotících procesů v redakcích během publikace článků s výsledky výzkumu a následným hodnocením článků v rámci aktivít hodnotitelských institucí.

Propojení nebo alespoň paralela obou dějů, tj. na jedné straně hodnocení redakční a na straně druhé hodnocení hodnotitelskou institucí, je evidentní. Přitom recenzní řízení probíhá anonymně a stejně anonymně postupují při rozhodování i grantové agentury. K průhlednému fungování vědy je proto třeba, aby v těchto oblastech, tj. publikování výsledků výzkumu (tedy journalologie) a hodnocení výsledků vědy (tedy evaluační komise a aplikace IF), se rozhodování všech, kdo se na tom podílejí, řídilo zdravými morálními principy. Proto snad není pochyb o nutnosti přistoupit k otevřenosti ve všech možných složkách hodnocení vědy, nemá-li v ní dojít k iniciaci nepatřičného chování (misconduct).

Na tomto místě považují za nutná a zásadní, v duchu jakési poznámky uvádějící „na správnou míru“ možnost používání IF k hodnocení jednotlivců, uvést i stanovisko E. Garfielda. Vzhledem k desetiletému intervalu od svého uveřejnění v BMJ by mělo být už nejen dostatečně známé, alespoň odborníkům na hodnocení, ale i všemi respektované (81). „Hodnocení univerzitních pracovníků je důležitý krok, který ovlivňuje jejich individuální kariéru. IF, určený primárně k hodnocení časopisů, pro což je důležitý, by neměl být používán mimo tuto oblast jako náhradní způsob hodnocení osob, kromě mimořádných okolností“. E. Garfield takovéto korigující či moderující články adresoval i konkrétním skupinám, aby je varoval, před nevhodným používáním IF (82).

Farmaceuty, farmakology, ale i praktické lékaře a jistě i sociology vědy je v této souvislosti asi napadlo, zda by neprospělo všem, kdo používají IF, tak jako je tomu povinností i u jiných „remedií“, přidávat příbalový lístek, jež by mohl zabránit nebo omezit jeho zneužívání (misuse, abuse). Musel by na něm být uveden výrobce (např. Thomson), složení (přesně definován IF jako účinná látka jakož i příslušný citační rejstřík, z něhož byl odvozen), indikační skupina (vědečtí pracovníci, výzkumné instituce, autoři), charakteristika (bibliometrický indikátor časopisu), indikace (bibliometrické hodnocení odborných časopisů), kontraindikace (hodnocení publikačního či vědeckého výkonu jednotlivých pracovníků resp. autorů, nebo hodnocení za účelem docílení předem stanoveného výsledku evaluace), nežádoucí účinky (zkreslené výsledky hodnocení vedoucí k poškození hodnoceného, popř. i motivování k nepatřičnému vědeckému chování), interakce (k zajištění komplexního hodnocení výkonu, nejen opírajícího se o jedno kritérium vědcovy publikační činnosti, jakým IF je, nutnost kombinovat IF s dalšími vhodnými indikátory vědeckého výkonu a naprosto nutně při všech evaluacích spojit s posudkem kvalifikovaného a nezávislého experta), způsob podávání (použití IF vždy ještě doplnit informovaným souhlasem hodnoce-

ného), upozornění (pokud IF nepoužívá odborník, doslova profesionál, seznámený při nejmenším se základy bibliometrie, resp. scientometrie – pozor, nesměšovat s odbornými znalostmi v některém jiném vědním oboru nebo s hierarchickou pozicí v administrativně výzkumného ústavu nebo oficiální hodnotící instituce – výslovně tuto okolnost uvést v závěru hodnocení, nebo je raději ani nedělat), způsob skladování a varování vyplývá z předchozích bodů.

## EPILOG

### Tak co nakonec ten IF vlastně je?

- Je to číslo vypočtené na základě velkého množství dat zjištěných u vzorku článků uveřejněných za určité období ve vybraném časopise. Toto číslo je přesně vypočtené z údajů o počtu článků a počtu citací, které za dané období články dosáhly. IF je uváděn na tři platná desetinná místa a umožňuje statisticky odhadnout, jaký by, na základě těchto výpočtů platných pro zmíněný vzorek článků z uvedeného období, mohly mít citační ohlas další články, pokud budou do uvedeného časopisu zaslány a pak v něm uveřejněny. Označuje se jako „impakt faktor“, tedy „činitel dopadu“. Je to bibliometrický indikátor v podobě jednoho čísla a je platný jen pro daný časopis („journal impact factor“) a pro daný rok. IF neplatí pro jednotlivé články, z nichž byl vypočten, ani pro jejich autory.
- IF odhaduje průměrnou pravděpodobnost citovanosti. Přitom některé články, které v tom období v daném časopise vyšly, nemusely být vůbec citovány. IF, jako průměrná hodnota, je vypočten z údajů získaných třeba jen z několika úspěšných článků, a propůjčuje tím svou hodnotu i těm článkům, které v časopisy vyšly, ale citovány nebyly. Proto se IF vztahuje jen na časopis jako celek.
- Pokud jde o citovanost, je třeba si uvědomit, že na základě dlouhodobých sledování po řadu desetiletí u mnoha milionů zveřejněných článků bylo prokázáno, že jen polovina z nich je někdy citována. A pro důkaz „dopadu“ článku svědčí právě to, že tento článek byl citován. Bez ohledu na to, jaký IF má časopis, v němž byl článek uveřejněn. IF časopisu nemůže nijak nahradit citovanost článku, tedy jeho jednotlivé konkrétní citační ohlasy.
- Publikační zvyklosti co do počtu článků se v jednotlivých vědních oborech, ale i jejich podoborech, podstatně liší a stejně oborově odlišné je i citační chování autorů. Nacházíme tudíž v jednotlivých vědních disciplínách odlišné IF jejich časopisů. Proto není zásadně možné interdisciplinárně navzájem porovnávat publikační výkonnost podle IF, což platí jak pro jednotlivce tak i pro instituce.
- Nedodržení výše uvedených principů, zvýrazněných na konci jednotlivých odstavců, například při hodnocení vědecké výkonnosti, vede k použití IF nepatřičným způsobem, popřípadě přímo k jeho zneužití. Za takovýchto okolností mohou hodnotitelé dojít k nesprávným, až podvodným výsledkům, s vážnými až nedozírnými následky. Proto je třeba jak na jedné straně ve vědeckých institucích, kde věda vzniká, tak i na straně druhé v institucích, jejichž úkolem je vědu hodnotit, vytvořit takové podmínky, aby nedocházelo na žádné straně, ani uvnitř nich samotných, k tlakům, jež by k takovému zneužití mohly účastníky svést. Tento etický aspekt, jak u IF tak i všech indikátorů a dalších postupů používaných v hodnocení vědy, je třeba trvale zdůrazňovat i kontrolovat (etické komise). IF je nástroj hodnocení, který stejně jako skalpel, může ve správných rukou pomoci přezít, v nesprávných zahubit.
- Role IF je významná i pro samotné autory, například při volbě, kam zaslat k uveřejnění právě připravovaný rukopis. Zde je třeba si uvědomit, že procento přijatých rukopisů k uveřejnění v nějakém časopise v podstatě nepřímou závisí na jeho IF,

a přiměřená skromnost je na místě. IF může pomoci vědeckým pracovníkům i knihovníkům při objednávání nových časopisů, či při rušení jejich abonement. Hodnota IF by však při takovémto rozhodování měla být obezřetně korigována skutečnou „užitnou“ hodnotou časopisu, jak se jeví těm, kteří ho skutečně „užívají“ ke své práci.

- *Konečně je třeba si uvědomit, že časopis má dobrý IF proto, že jsou v něm za významné účasti editorů a recenzentů publikovány právě ty kvalitní práce.* A ne naopak, že by článek byl kvalitní proto, že je v časopise s dobrým IF. Mnozí autoři a zvláště zkušenější editoři a recenzenti o této skutečnosti nepochybují. Obtížnější je o tom přesvědčit vynavače IF, kteří zaujati jediným číslem s přesností na tři desetinná místa mají usnadněno své rozhodování, třeba právě při hodnocení výzkumu, neb právě toto číslo v případě jakýchkoliv, i zřejmých pozdějších pochyb o správnosti jejich postupu, jim poskytne nezpochybnitelné alibi. „Nemohl jsem jinak. Vždyť to je přece v souladu s IF!“
- Z celého textu i z výše uvedených pasáží tohoto epilogu by mělo být zřejmé, že IF představuje zásadní a nenahraditelný nástroj pro hodnocení časopisů na základě citovanosti. (Bez citačních rejstříků by samozřejmě nemohl vzniknout.) Ale samotný IF nějakého časopisu, bez citačních ohlasů k danému článku v tom časopise uveřejněném, nestačí k hodnocení vědecké práce. Svou jednoduchostí a dostupností může být jedním z řady kritérií pro hodnocení publikační činnosti jednotlivců i institucí. IF sám jediný, zvláště bez posouzení kvality výzkumu nezávislým expertem z daného oboru, nikdy nemůže stačit. Pokud ovšem nemá posloužit hodnotitelské administrativě jako domnělá záruka objektivit.

*Stále totiž platí, že „IF je dobrý sluha, ale špatný pán“.*

#### Zkratky

- CBE – Council of Biology Editors
- ČLČ – Časopis lékařů českých
- E – Erdősovo číslo
- EF – Euro-Factor
- IF – impakt faktor
- ISI – Institute of Scientific Information
- ISSI – International Society of Scientometrics and Informetrics
- JCR – Journal Citation Reports
- JPI – Journal Performance Indicators
- SCI – Science Citation Index
- WoS – Web of Science

#### LITERATURA

1. **Špála, M.:** Citační indexy – Dobrý sluha, ale špatný pán? In: Vlachý J. (ed.): Moderní využití citačních indexů. ČSTVT, Praha, 1988, s. 138-141.
2. **Garfield, E.:** Citation Analysis: The Agony and The Ecstasy. Předneseno na III. interní klinice I. LF Univerzity Karlovy u příležitosti udělení čestného doktorátu Univerzity Karlovy, 9. 5. 1995.
3. **Garfield, E.:** Agony and ecstasy of the Internet: Experiences of an information scientist qua publisher. Publications of Essen University Library, 1997, 21 s. 202-222. Předneseno na 19th International Essen Symposium Towards a Worldwide Library: A Ten Year Forecast, September 23–26, 1996.
4. **Garfield, E.:** The Agony and the Ecstasy of Publishing Your Own Book. Essays of an Information Scientist, 1977–1978, 3, s. 173-175; Current Comments, 1997, 27, s. 5-7. /http://www.garfield.library.upenn.edu/essays/v3p173y1977-78.pdf – 8. 11. 2005/
5. **Garfield, E.:** The agony and the ecstasy – The history and meaning of the Journal Impact Factor. International Congress on Peer Review and Biomedical Publication. Chicago, 2005 /www.eugenegarfield.org - 8. 9. 2005/

6. **Bartůněk, P. et al.:** Současnost a budoucnost českých lékařských časopisů. Čas. Léč. čes., 2003, 142, příloha s. 1-9.
7. **Bartůněk, P.:** Editorial. Čas. Léč. čes., 2006, 145, s. 3.
8. **Lee, S. T.:** Responsibilities of an editor. Annals Academy of Medicine, 1999, 28, s. 163-165.
9. **Rennie, D.:** Guarding the guardians: a conference on editorial peer review. JAMA, 1986, 256, s. 2391-2392.
10. **Garfield, E.:** Essays of an information scientist. Vol. 1-15, Philadelphia, ISI, 1962-1993.
11. **Diodato, V.:** Dictionary of bibliometrics. New York, The Haworth Press, 1994.
12. **Garfield, E.:** The use of Journal Impact Factors and citation analysis for evaluation of science. 41st Annual Meeting of the Council of Biology Editors, Salt Lake City, 1988. /www.garfield.library.upenn.edu – 8. 9. 2005/
13. **Garfield, E.:** The use of JCR and JPI in measuring short and long term journal impact. Council of Scientific Editors Annual Meeting, 2000. /www.garfield.upenn.edu/papers/ – 8. 11. 2005/
14. **Garfield, E.:** Long-term vs. short-term journal impact: Does it matter? The Scientist, 1998, 12, s. 10-12.
15. **Garfield, E.:** Long-term vs. short-term journal impact: Part.II. Cumulative impact factors. The Scientist, 1998, 12, s. 12-13.
16. **Garfield, E.:** Citation indexes to science: a new dimension in documentation through association of ideas. Science, 1955, 122, s. 108-111.
17. **Garfield, E.:** Citation analysis as a tool in journal evaluation. Science, 1972, 178, s. 471-479.
18. **Garfield, E., Sher, I. H.:** New factors in the evaluation of scientific literature through citation indexing. American Documentation, 1963, 14, s.195-201.
19. **Hopkin, K.:** Most highly cited. The Scientist, 2005, 19, s. 22-22.
20. **Garfield, E.:** Mapping the world of science. Předneseno na 150. výročním zasedání AAAS, Philadelphia, 1998. /http://garfield.library.upenn.edu/papers/mapsciworld.html – 8. 11. 2003/
21. **Wouters, P.:** Garfield as alchemist. In: Cronin B., Atkins H. B. (eds.): The web of knowledge. ASIS, 2000, 65-71.
22. **Lock, S.:** Journalology: evolution of medical journals and some current problems. Journal of Internal Medicine, 1992, 232, s. 199-205.
23. **Lock, S. P.:** „Journalology“: Are the quotes needed? CBE Views, 1989, 12, s. 57-59.
24. International Committee of Medical Journal Editors (ICJME): Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication (Update October 2005). /http://www.icmje.org – 8. 11. 2005/
25. **Garfield, E.:** The use of JCR and JPI in measuring short and long term journal impact. Předneseno na Council of Scientific Editors Annual Meeting, 9. 5. 2000. /http://www.library.upenn.edu/papers/cseimpact-factor05092000.html – 4. 9. 2005/
26. **Garfield, E.:** Journal impact factor: a brief review. Canadian Medical Association Journal, 1999, 161, s. 979-980.
27. /http://www.issi-society.info – 8. 11. 2005/
28. Scientometrics – An International Journal for all Quantitative Aspects of the Science of Science, Communication in Science and Science Policy. Springer Netherlands co-publication with Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary.
29. **Garfield, E.:** Impact of cumulative impact factors. Proceedings of the 8th IFSE Conference, Barcelona, 1995, s. 68-81.
30. **Ingversen, P., Larsen, B., Wormell, O.:** Applying diachronic citation analysis to research program evaluations. In: Cronin B., Atkins H. B. (eds.): The web of knowledge. ASIS, 2000, s. 373-387.
31. **Vinkler, P.:** Publication velocity, publication growth and impact factor: An empirical model. In: Cronin B., Atkins H. B. (eds.): The web of knowledge. ASIS, 2000, s. 163-176.
32. **Thomson:** Journal performance indicators. http://scientific.thomson.com/products/jpi – 4. 11. 2005/
33. **Okubo, Y.:** Bibliometric indicators and analysis of research systems: Methods and examples. Paris, OECD, 1997, STI Working Papers 1997/1 – OCDE/GD(97)41.
34. **Kademani, B. S., Kalyane, V. L.:** Bibliometric indicators for publication productivity analysis of an individual scientist. The Intnt. J. of Scientometrics and Informetrics, 1996, 2, s. 49-58.
35. **Arunachalam, S.:** Mapping life sciences research in India: A profile based on BIOSIS 1992–1994. /http://dlist.sir.arizona.edu/845 – 31.10.2005/

36. **Donovan, C., Butler, L.:** Testing quantitative indicators of the quality and impact research in the social sciences: A pilot study in economics. EPP, Canberra, 2005. /http://repp.anu.edu/home.htm – 8. 11. 2005
37. Research evaluation and policy project: Strategic assessment of research performance indicators. Canberra, REPP, 2005. /http://repp.anu.edu/home.htm – 8. 11. 2005
38. **De Castro, R., Grossman, J. W.:** Famous trails to Paul Erdős. The Mathematical Intelligencer, 1999, 21, s. 51-63.
39. **Hirsch, J. E.:** An index to quantify an individual's scientific research output. /http://arxiv.org/abs/physics/0508025 – 30. 10. 2005/
40. **Votípková, M., Hercová, J., Weichertová, E. et al.:** Český citační rejstřík lékařské literatury. Prakt. Lék., 2002, 82, s. 367-369.
41. The Open Citation Project (OpCit): The effect of open access and download („hits“) on citation impact: a bibliography of studies. /http://opcit.eprints.org/explorearchives.shtml – 28. 10. 2005/
42. **Garfield, E.:** Impact factors, and why they won't go away. Nature, 2001, 411, s. 522-522.
43. **Hofbauer, R.:** Euro-Factor (EF)<sup>TM</sup>. The European Journal Quality Factor. The new European „scientific currency“. Vienna, Vicer Publishing, 2002.
44. **Medonos, S.:** Citování v odborné a vědecké literatuře. Věstník SIA, 1943, 11, s. 7-12.
45. **Kofnovec, L.:** Které informační prameny se nejvíce citují v sovětské metalurgické literatuře. Bibliografický sborník. Martin, Matica slovenská, 1963, s. 111-133.
46. **Merta, A.:** citační rejstřík jako účinný rešeršní nástroj. Metodika a technika informací, 1964, 6, s. 1-7.
47. **Bureš, J.:** Ohlas vědeckých prací. Vesmír, 1964, 46, s. 151.
48. **Koryta, J.:** Ohlas vědeckých prací. Vesmír, 1964, 46, s. 151.
49. **Helbich, J.:** Některé výsledky citační analýzy časopisu Československá pediatrie. Čes. Pediat., 1979, 34, s. 687-688.
50. **Helbich, J.:** O principech a metodách naukomrických výzkumů. Zdravotnická dokumentace, 1987, 26, s. 64-75.
51. **Jánský, L.:** Je možno objektivně hodnotit úspěšnost základního výzkumu? Čs. Fyziol., 1986, 35, s. 193-199.
52. **Vlachý, J.:** Citation analysis of Europhysics journals. Czechoslovak Journal of Physics B30, 1980, s. 477-480.
53. **Vlachý, J.:** Citation histories of scientific publications – The data sources. Scientometrics, 1985, 7, s. 505-528.
54. **Vlachý, J.:** Citation patterns in physical journals. Eurphysics News, 1978, 9, s. 4-5.
55. **Šesták, Z.:** Impact factor po dvou letech. Akademický bulletin, (06), 1999. /http://press.avcr.cz/ – 27. 10. 2005/
56. **Hock, M.:** Srovnání a hodnocení vědeckých časopisů vydávaných AV ČR. Akademický bulletin, 1999, (09). /http://press.avcr.cz/ – 27. 10. 2005
57. **Holý, A.:** Poznámky k výše uvedenému článku ing. M. Hocka. Akademický bulletin, 1999, (09). /http://press.avcr.cz/ – 27. 10. 2005/
58. **Hořejší, V.:** Ještě jednou impaktový faktor. Akademický bulletin, 1999, (10). /http://press.avcr.cz/ – 27. 10. 2005
59. **Petrovský, E.:** „Impact Factor“ a hodnocení kvality vědeckých časopisů. Akademický bulletin, 2005, (09). /http://press.avcr.cz/ – 27. 10. 2005
60. **Kasal, P., Feberová, J.:** Impact Factor a hodnocení vědecké práce. Pelikán, 1997, 6. /http://www.lf2.cuni.cz/Projekty/pelikan – 27. 10. 2005/
61. **Menoušek, J.:** Vědecké lékařské informace na internetu – VII. Citační index a impakt faktor. Prakt. Lék., 2001, 81, s. 47-50.
62. **Pitterová, K.:** O využití citačních rejstříků a impakt faktoru. Čas. Lék. čes., 1999, 138, s. 474-476.
63. **Kolář, J.:** Impact Factor: Kritická analýza. Čes. Radiol., 1999, 53, s. 100-103.
64. **Svačina, P.:** Impakt faktor (editorial). Vnitř. Lék., 2002, 48, s. 693-694.
65. **Špála, M.:** Jak publikují autoři z 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v mezinárodním srovnání, také podle Science Citation Index. Na okraj fakultní bibliografie 1991–1995. Sborník lékařský, 1997, 97, s. 511-519.
66. **Šochman, J., Belán, A.:** Impaktové faktory a scientometrie. Existuje skutečně čistá věda? Vnitř. Lék., 2003, 49, s. 3-9.
67. **Zima, T.:** Impakt faktory?! Sborník lékařský, 1997, 98, s. 247-248.
68. **Faber, J.:** Úvaha o impakt faktoru. Sborník lékařský, 1997, 98, s. 249-250.
69. **Brdička, R.:** Další nespokojenci s impakt faktorem!? Čas. Lék. čes., 2002, 141, s. 435-435.
70. **Peregrin, J., Svoboda, V.:** Vláda měří vědu. Zničí při tom humanitární obory. Hospodářské noviny, 12.10.2005, rubrika Názory, s. 11.
71. **Christenson, J. A., Sigelman, L.:** Accrediting knowledge: Journal stature and citation impact in social science. Social Science Quarterly, 1985, 66, s. 964-975.
72. **Hoeffel, C.:** Journal impact factors (letter to the editor). Allergy, 1998, 53, s. 1225-1225.
73. **Batista, P. D., Campiteli, M. G., Kinouchi, O., Martinez, A. S.:** Universal behaviour of a research productivity index. /http://arxiv.org/abs/physics/0510142 – 30. 10. 2005/
74. **Ball, P.:** Index aims for fair ranking of scientists. Nature, 2005, 436, s. 900.
75. **Grygar, J.:** Vědci mají nový metr na svoji práci. Lidové noviny, 5.11.2005, příloha Věda, s. IX.
76. **Lederberg, J.:** Reflection on scientific biography. In: Lederberg J. (ed.): The Excitement and fascination of science: Reflections by eminent scientist, Vol. 3, Pt. 1. Palo Alto, Annual Review Inc., 1990, s. xvii-xxiii.
77. **Garfield, E.:** The use of journal impact factors and citation analysis for evaluation of science. Předneseno na mini-symposiu „Cell separation, hematology and journal citation analysis“ v Oslo 17. 4. 1998 /http://www.garfield.library.upenn.edu – 8. 11. 2005/
78. **Lederberg, J.:** How the Science Citation Index got started. In: Cronin, B., Atkins, H. B. (eds.): The web of knowledge. Medford, ASIS, 2000, s. 25-64.
79. **van Rooyen, S.:** The evaluation of peer-review quality. Learned Publishing, 2001, 14, s. 85-91.
80. **Goldstein, D.:** Scientific misconduct. Academe, 2000, 12, s. 28-31.
81. **Garfield, E.:** How can impact factors be improved? Br. Med. J., 1996, 313, s. 411-413.
82. **Garfield, E.:** Der Impakt Faktor und seine richtige Anwendung. Unfallchirurg, 1998, 48, s. 413-414.

*Je mi milou povinností poděkovat svým přátelům – ing. Miloši Jílkovi, CSc., emeritnímu pracovníkovi Ústavu mikrobiologie AV ČR za pomoc při výběru indikátorů z hlediska statistika, a ing. Janu Vlachému za dlouhodobou spolupráci a cenné rady v této oblasti. Konečně patří mé díky i PhDr. Jaroslavu Veselému z Oddělení časopisů Národní lékařské knihovny za pohotovost poskytnutí valné většiny plnotextových článků získávaných z internetových zdrojů.*

## 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

**K SEDMDESÁTINÁM  
PROF. MU.Dr. JOSEFA  
MARKA, DrSc.**

Nepochybně máme řadu vynikajících medicínských odborníků na evropské či dokonce světové úrovni. Ne každý je ale natolik uznáván ve svém oboru, že ho přímo zosobňuje. Takovým člověkem je prof. Josef Marek v endokrinologii, zejména v problematice onemocnění hypofýzy. Jeho nezpochybnitelná autorita se opírá o mimořádně široký rozhled a nesmírnou klinickou zkušenost, které získal za 40 roků práce na III. interní klinice I. lékařské fakulty.

Narodil se 23. ledna 1936 v Praze, vyrůstal v rodině středoškolského učitele v Berouně a po maturitě na berounském gymnáziu byl v roce 1954 přijat na lékařskou fakultu Univerzity Karlovy v Plzni. Studoval s vynikajícím prospěchem, zapojil se do vědecké práce a vyhrál celostátní soutěž studentských vědeckých kroužků. Po promoci v roce 1960 nastoupil na interní oddělení nemocnice v Klatovech, po 3 letech složil atestaci z vnitřního lékařství a následující rok byl přijat jako sekundář na interní kliniku Fakultní nemocnice v Plzni. S tímto místem se však nespokojil a po roce uspěl v konkurzu na místo sekundáře na klinice zakladatele české endokrinologie prof. Charvátka. Se III. interní klinikou spojil v srpnu 1965 svůj život medicínský i vědecký; po obhájení kandidátské disertační práce habilitoval v roce 1979 prací o prolaktinu, v roce 1984 obhájil doktorskou práci s tématem růstového hormonu, somatomedinů a prolaktinu v klinice. Na profesuru si ovšem musel jako nestraník počkat do roku 1990, kdy se stal třetím přednostou III. interní kliniky a také ředitelem Laboratoře pro endokrinologii a metabolizmus.

Těchto prvních 25 let na klinice strávil téměř výlučně klinickou a vědeckou prací. Sám sice později řekl: „Režim se nepodařilo nás převychovat, ale museli jsme dělat úlitby“, ale v jeho případech to byly úlitby pranepatrné. Jeho pracovitost a odborná způsobilost vždy byly neoddiskutovatelné. V dobovém posudku se praví doslova: „Vstup vojsk nechápal a teprve mnohem později akceptoval ...“, přesto je mu v závěru doporučeno převedení do trvalého pracovního poměru odborného asistenta a povolení studijního pobytu ve Francii s tím, že „republiku bude po všech stránkách dobře reprezentovat“. Skutečně odjel v roce 1972 do Marseille na stáž k prof. Jeanu Vagueovi, v té době již proslulému obezitologovi (byl první, kdo publikoval poznatky, vedoucí přímo k dnešnímu konceptu metabolického syndromu). Jak psal hned v prvním dopise prof. Charvátovi: „Prof. Vague mě chtěl dosti vehementně zapojit do svých experimentálních studií obesity a tukové tkáně.“ Nestalo se, a tak



místo jistě vynikajícího obezitologa máme jedinečného endokrinologa. Počet odborných sdělení přesáhl 350, a i když velkou endokrinologii zpracovává až nyní, zapsal se do povědomí nejširší lékařské obce svou opakovaně vydanou *Farmakoterapií vnitřních nemocí*. Prof. Marek je systematick, takže i do *Propedeutiky klinické medicíny*, kterou jsem měl tu čest s ním editovat, dodal kapitolu o vyšetřování v endokrinologii ve formě přehledných a obsahově dokonalých tabulek. Jeho systematickosti je darem především pro jeho pacienty – i jako přednostu kliniky nikoho jen tak neprohlédl, vždy osobně dojednal další potřebná vyšetření a bylo-li to nutné, zařídil hospitalizaci s přesným soupisem toho, co je potřeba udělat.

S profesorem Markem, tehdy docentem, jsem se blíže seznámil v roce 1984, když jsem po první atestaci začal pracovat na lůžkovém oddělení, které on dlouhá léta vedl. Encyklopedické znalosti pana docenta byly pro mladého sekundáře až deprimující. Teprve postupně jsem zjišťoval, že se opírají nejen o vynikající paměť, ale také o nesmírné množství prostudované literatury a vzorně uspořádané separátky. Byl téměř každodenním návštěvníkem Národní lékařské knihovny a myslím, že neexistuje podstatný článek, který by mu unikl. Pracovní režim profesora Marka však lze jen těžko doporučit: Ráno sice přicházel na kliniku „až“ v půl osmé, odchody se ale řídily posledním spojením městské dopravy směrem na Pankrác. Jeho pondělní a čtvrteční ambulance se táhly dlouho do večerů, někdy až nočních hodin, a pacienti museli být vybaveni dostatkem čtení a trpělivosti. Pan profesor každému věnoval tolik času, kolik považoval za nezbytné; a na to je každý časový rozvrh krátký. Stejný přístup měl i jako přednostou k posledním studentům, pokud potřeboval pomoci v odborných či osobních záležitostech. To se bohužel promítalo i do začátků a trvání velkých vizit, které jsme my, mladí a netrpěliví,

nazývali „polévkovými“, protože nejednou interferovaly s roznášením polévek pacientům. V time-managementu sice nemohu dávat pana profesora příkladem, za jeho mírným úsměvem se však skrývají jasně formulované názory, a i když nikdy neměl „ostré lokty“, dokázal provést III. interní kliniku složitou dobou 90. let minulého století, aniž by přišla o cokoli ze svého věhlasu a kvality.

Jestliže se funkce prof. Markovi vyhýbaly – řekněme to tak – před rokem 1990, o to více jich vykonával a vykonává od té doby. Jejich soupis přesahuje možnosti tohoto laudatia, takže jen velmi výběrově: Předseda a dlouholetý člen vědecké rady Ministerstva zdravotnictví ČR, historicky první viceprezident ČLK; předseda a dlouholetý člen oborové komise pro lékařské vědy Grantové agentury ČR, předseda oborové rady Interní grantové agentury MZ ČR. Člen výborů České endokrinologické společnosti (v současnosti místopředseda) a České internistické společnosti, člen 4 zahraničních odborných společností. Samozřejmě je jeho práce v komisích pro obhajoby kandidátských a doktorských prací a v komisích pro endokrinologické atestace. Jeho celoživotní zkušenosti s farmakoterapií ho přivedly do vědeckých rad českých farmaceutických společností, ale pro členství v etické komisi Mezinárodní asociace farmaceutických společností byly jistě rozhodující jeho nepochybné lidské kvality.

Přesto vše nepolevuje ve své vědecké práci, byl a je hlavním řešitelem řady grantových projektů i výzkumného záměru. Přednáší endokrinologii pregraduálně i postgraduálně, vede stáže pro mediky a samozřejmě má stále plnou ambulanci.

Profesor Marek byl po zásluze odměněn čestným členstvím České internistické společnosti a České endokrinologické společnosti a Pamětní medailí k 650 rokům trvání Univerzity Karlovy. Jsem opravdu rád, že jsem mohl přispět k jeho jmenování „Rytířem lékařského stavu“ v roce 1997. Nicméně jsem přesvědčen, že jeho celoživotní odměnou byla, je a bude klinická medicína, kterou umí jako málokdo. Jistě k tomu přispělo zázemí jeho manželky, ambulanti neuroložky, radost mu dělá i dcera Markéta, dnes již zkušená klinická hematoložka.

Přejeme panu profesorovi, jeho blízkým, všem jeho pacientům, ale i sami sobě, aby nám byl nadále rádcem, vzorem a příkladem.

I když si medicína žádá mnoho sil a ještě více času, dojdou Ti nejlepší cti a zaslouženého obdivu. Věřím, že sám bude konzumentem zdravotní péče v té nejmenší možné míře a že těch zbývajících 30 let do stovky (jak vždycky říkával pacientům) prožije aktivně a spokojeně.

prim. MUDr. Petr Sucharda, CSc.  
128 08 Praha 2, U Nemocnice I

**PROF. MUDr. RNDr.  
LUBOSLAV STÁRKA, DrSc.  
PĚTASEDMDESÁTNIKEM**

Prof. MUDr. RNDr. Luboslav Stárka, DrSc., emeritní ředitel Endokrinologického ústavu v Praze (1983–1987 jako zastupující, 1990–2000 jako řádný ředitel), se dne 16. listopadu 2005 dožil sedmdesáti pěti let. Rodák ze Slovenska se po vytvoření Slovenského štátu spolu se svými českými rodiči odstěhoval do Prahy. V Praze vystudoval gymnázium a Přírodovědeckou fakultu Univerzity Karlovy, kde se specializoval na obor organické chemie a v roce 1956 promoval. Od roku 1957 je život prof. Stárky spjat s Endokrinologickým ústavem. Jméno prof. Stárky se pojí nejen k historii Endokrinologického ústavu, ale i k historii české endokrinologie. Prof. Stárka si vždy uvědomoval nutnost sepětí laboratorní a klinické praxe, a proto při plném nasazení jako vedoucí laboratoře dokončil v roce 1972 studium při zaměstnání na lékařské fakultě Univerzity Karlovy, kde také šest let poté získal vědeckou hodnost doktora věd.

Prof. Stárka je nejen zakladatelem moderní české steroidologie, ale i uznávanou autoritou v tomto oboru ve světě. K české škole „steroidářů“ se dnes řadí Stárkoví spolupracovníci a žáci: prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc., donedávna přednosta Gynekologicko-porodnické kliniky 1. LF UK v Praze a dlouholetí pracovníci Endokrinologického ústavu, doc. RNDr. Richard Hampl, DrSc., RNDr. Jarmila Šulcová, CSc., RNDr. Marie Bičíková, CSc., ing. Martin Hill, DrSc., doc. RNDr. Oldřich Lapčík a další. Na mezinárodním poli Luboslav Stárka patřil ke skupině mladých badatelů, kteří vytvořili International Group for Steroid Hormones. Spolužakládával časopis *European Journal of Steroids*, který byl později přejmenován na *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. Byl aktivně činný v řadě odborných společností, komisí a vědeckých rad. Byl dlouholetým aktivním členem výboru a místopředsedou České endokri-



logické společnosti ČLS JEP a prezidentem nadace, která nese jméno prvního ředitele Endokrinologického ústavu doc. MUDr. K. Šilinka, DrSc.

Prof. Stárka si od mládí „vychutnal“ pohnuté osudy lidí v Československu. Nejen stěhování ze Slovenska v době nacismu, ale i tříměsíční internaci na Pankráci za „protistátní postoje“ po únorovém puči v roce 1948 a odvolání z funkce ředitele v 80. letech minulého století jako trest za emigraci dcery do USA. Po dobu svého působení ve funkci ředitele ústavu jak v 80. letech, tak po „sametové revoluci“ se velkou měrou přičinil o to, že ústav obhájil svůj kredit vrcholného výzkumného a zdravotnického pracoviště v oboru endokrinologie a metabolismu. S plným nasazením své energie bránil ústav před snahami o jeho dezintegraci.

Řadu svých raných prací zasvětil Stárka nejen chromatografické analýze, ale jako žák prof. Heyrovského, i polarografické analýze některých hormonálně aktivních látek včetně steroidů, které jej provázely po celý další vědecký život. Již v 60. letech minulého století vypracoval nové postupy v syntéze 7 $\alpha$ -hydroxyderivátů dehydroepiandrosteronu (DHEA),

jejichž fyziologický význam se stal středem pozornosti až v uplynulém desetiletí. Se svými spolupracovníky se zabýval úlohou 7-hydroxylace DHEA ve tkáních experimentálních zvířat a lidí. Již před více než 40 lety zkoumal tvorbou estrogenů z androgenů ve tkáních aromatizací. Naprosto prioritní objevy učinil Stárka se svým spolužákem z gymnázia, oftalmologem J. Obenbergerem, při zkoumání úlohy steroidů a mechanismu jejich účinku v různých částech zrakového orgánu. Při zkoumání vlivu androgenů a anabolických steroidů na sexuální funkci spolupracoval se sexuology. Se svými spolupracovníky se v poslední době věnuje problematice úlohy méně běžných steroidních metabolitů, jako je například epi-testosteron (se zaměřením na jeho antiandrogenní vlastnosti), neurosteroidů, roli steroidů u syndromu polycystických ovarií (PCOS) a ekvivalentu PCOS u mužů, jakož i problematice stárnutí.

Vědecká žejn prof. Stárky je úctyhodná – v době jeho výročí ji reprezentuje 388 publikací uvedených v časopiseckém databázi MEDLINE (PubMed) a navíc stovky publikací v domácích časopisech a řada monografií. Stárka se celoživotně podílel na výuce na lékařských fakultách a Přírodovědecké fakultě a vychoval rovněž řadu postgraduálních studentů biomedicínského studia.

Luboš Stárka je přes svůj věk stále aktivní, je doposud hlavním řešitelem dvou výzkumných úkolů, přednáší, publikuje, živě diskutuje se svými spolupracovníky o aktuálních problémech endokrinologie, avšak nezůstává lhostejný ani k dění kolem nás. Se zaujetím sobě vlastním se věnuje budování chaty, oblíbené horské turistice a milované rodině.

Milý Luboši, jménem spolupracovníků a přátel Ti přejeme do dalších let hodně zdraví a hlavně, ať neztratíš onen příslovečný elán.

*doc. MUDr. Vojtěch Hainer, CSc.  
a doc. RNDr. Richard Hampl, DrSc.  
116 94 Praha 1, Národní 8*

**MUDr. PETR SUCHARDA,  
CSc. – 50 LET**

Dne 27. ledna 2006 se dožívá 50 let primář III. interní kliniky v Praze MUDr. Petr Sucharda, CSc. Jako medik se zajímal o genetiku a několik let pracoval v Biologickém ústavu u prof. Vladimíra Křena, ale záhy zvítězila interna. V roce 1981 ukončil Fakultu všeobecného lékařství UK v Praze a nastoupil na kliniku, které již zůstal věrný – nejprve jako sekundární lékař, později jako odborný asistent a od roku 2001 jako primář.

Po získání základní specializace v interně se začal zabývat problematikou obezity pod vedením prof. Jiřího Šonky. Od založení České obezitologické společnosti je členem jejího výboru, od roku 2003 jejím vědeckým sekretářem. Věnuje se zejména popularizaci problematiky obezity, spolupracoval na řadě mediálních projektů, jako byla Těžká sázka nebo Dvojí šance.

Vědeckou práci spojil se svojí druhou specia-



lizací, ultrasonografickým vyšetřováním. V roce 2001 obhájil kandidátskou dizertační práci s ultrasonografickou tematikou a opakovaně byl hlavním řešitelem grantů s tématem analýzy textury ultrasonografických obrazů.

Při práci dokázal vystudovat i studium MBA v Prague International Business School. Kom-

plikovaný provoz naší kliniky s více než 60 lékaři a 200 dalšími pracovníky si bez jeho řídicích schopností neumíme představit.

Činný je také v akademické obci. Byl členem Akademického senátu Univerzity Karlovy a v současnosti je místopředsedou Akademického senátu 1. lékařské fakulty. V letech 1993–1995 byl předsedou Svazu českých lékařů (do jeho sloučení s Lékařským odborovým klubem).

Přes své vytížení je oblíbeným učitelem a podílel se na několika učebnicích. Byl jedním z editorů *Propedeutiky klinické medicíny* (Marek a kol., Praha, Triton, 2001) a *Geriatric a gerontologie* (Kalvach a kol., Praha, Grada, 2005).

Do dalších let si dovoluji panu primáři popřát jménem kolektivu kliniky hodně zdraví a elánu do další tvůrčí činnosti.

*prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc.  
128 08 Praha 2, U Nemocnice 1*

ZPRÁVY

**SPOLEK LÉKAŘŮ ČESKÝCH V PRAZE pořádá v lednu, únoru a březnu 2006 pravidelné přednáškové večery s diskuzí. Začátek je vždy v 17 hodin v Lékařském domě v Praze 2, Sokolská 31.**

**DNE 23. LEDNA 2006**

Přednáškový večer Gynnekologicko-porodnické kliniky I. LF UK a VFN  
Přednosta prof. MUDr. Alois Martan, DrSc.

**Klausův večer**

**Gynnekologická endoskopie**

Koordinátor: prof. MUDr. Alois Martan, DrSc.  
1. A. Martan: Úvod (5 min)  
2. H. Hrušková: Možnosti léčby pánevní endometriózy (10 min)  
3. M. Mára: Nové možnosti v léčbě děložních myomů (10 min)  
4. Z. Fučíková: Embolizace děložních tepen v terapii myomu (10 min)  
5. O. Sosna: Laparoskopie v diagnostice a terapii pánevního zánětu (10 min)  
6. D. Kužel: Intrauterinní diagnostika a operativa (10 min)  
Diskuze

**DNE 30. LEDNA 2006**

Přednáškový večer I. chirurgické kliniky I. LF UK a VFN  
Přednosta doc. MUDr. Jan Šváb, CSc.

**Kukulův večer**

**Zajímavé kazuistiky z práce I. chirurgické kliniky**

Koordinátor: doc. MUDr. Jan Šváb, CSc.  
1. J. Šváb: Úvod (5 min)  
2. D. Michalský, M. Pešková: Atopie sleziny (10 min)  
3. E. Biroš, J. Kvasnička, J. Bříza: Velká krvácení při prevenci TEN (10 min)  
4. P. Růžička, J. Šváb: Echinokokus jater (10 min)  
5. M. Kasalický: Laparoskopie tenkého střeva (10 min)  
6. J. Kraus, Z. Krška, I. Rathous: Hyperlipidemie v těhotenství a akutní zánět slinivky (10 min)  
7. M. Sedlář, J. Výborný: Poranění jater (10 min)  
Diskuze

**DNE 6. ÚNORA 2006**

Přednáškový večer III. interní kliniky I. LF UK a VFN  
Přednosta prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc.

**Charvátův večer**

**Praktické využití natriuretických peptidů v kardiologii**

Koordinátor: prof. MUDr. Jaromír Hradec, CSc.  
1. J. Hradec: Úvod (5 min)  
2. T. Janota: Natriuretické peptidy v diagnostice srdečního selhání (15 min)  
3. P. Jakubík: Ovlivnění BNP hypertenzí a fibrilací síní (10 min)  
4. J. Krupička: Lze řídit léčbu srdečního selhání podle BNP? (10 min)  
5. J. Hradec: Léčebné využití NP (10 min)  
Diskuze

**DNE 13. ÚNORA 2006**

**Slavnostní přednáškový večer Spolku českých lékařů v Praze**  
**Předseda: prof. MUDr. František Kölbl, DrSc.**

**Maydlova přednáška**

**Karcinom ledviny-nejčastější urologický nádor**  
Přednáší: doc. MUDr. Ivan Kawaciuk, CSc.

**DNE 20. ÚNORA 2006**

Přednáškový večer I. interní kliniky FNKV a 3. LF UK  
Přednosta prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.

**Jonášův večer**

Koordinátor: prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.  
1. J. Horák: Úvod (5 min)  
2. J. Horák, J. Střítecký: Jaterní fibrogenese (8 min)  
3. J. Neubauerová, K. Čimbušková, K. Balušková, J. Horák, J. Kovář: Molekulární mechanismy transportu železa v duodenální sliznici (8 min)  
4. M. Čimburová, I. Půtová, J. Kovář, J. Neubauerová, J. Horák: Genetické pozadí hemochromatózy (8 min)  
5. M. Hendrichová, K. Krátká, F. Málek, J. Žabka, M. Sedlářová, J. Vránová, J. Horák: Kvantifikace mikrozomálních jaterních funkcí pomocí dechového testu s<sup>13</sup>C-methacetinem (8 min)  
6. J. Žabka: Poruchy metabolismu kyseliny močové při nefropatiích-role v progresi a léčebná strategie (8 min)  
7. F. Málek, M. Havrdla: Naše zkušenosti s prvním rokem provozu ambulance pro kardiorenální syndrom (8 min)  
Diskuze

**DNE 27. ÚNORA 2006**

Přednáškový večer Ústavu hematologie a krevní transfuze Praha  
Ředitel prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.

**Proteomika a její uplatnění v medicíně**

Koordinátor: RNDr. Zbyněk Hrkal, DrSc.  
1. Z. Hrkal: Úvod (5 min)  
2. Z. Hrkal, H. Klamová: Cesta od genomiky k proteomice (15 min)  
3. D. Grebeňová: Charakterizace patofyziologických změn pomocí proteomiky (15 min)  
4. P. Halada: Moderní přístupy k charakterizaci bílkovin (15 min)  
5. K. Kuželová, H. Klamová: Uplatnění proteomiky v klinické hematologii a onkologii (15 min)  
Diskuze

**DNE 6. BŘEZNA 2006**

Přednáškový večer Ústavu biologie a lékařské genetiky I. LF UK a VFN  
Přednosta doc. MUDr. Milada Kohoutová, CSc. a spolu: Klinik dětského a dorostového lékařství I. LF UK a VFN, Klinika nefrologie I. LF UK a VFN Praha, Research Centre, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Montreal, Quebec, Kanada, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, Wisconsin, USA, LF UK Plzeň, Gyncentrum Hloubětín

**Seklův večer**

**Genetika v praxi vybraných oborů medicíny**

Koordinátor: doc. MUDr. Milada Kohoutová, CSc.  
1. M. Kohoutová: Úvod (5 min)  
2. A. Baxová, R. Mihalová, J. Zeman, P. Martásek, D. Záhoráková: Behaviorální fenotyp jako súčasť syndromologie (15 min)  
3. J. Reiterová, J. Štekrová, M. Urbanová, V. Kebrdlová, H. Obeidová, D. Maixnerová, M. Merta: Přínos DNA diagnostiky v nefrologii (15 min)  
4. O. Šeda, J. Tremblay, E. Merlo, D. Gaudet, U. Broeckel, G. Bouchard, M. Jomphe, G. Antoniol, P.-L. Brunelle, A. Gurau, F. Gossard, J. Pintos, T.A. Kotchen, A.W. Conwley, Jr., P. Hamet: Haplotypové signatury hypertenze s a bez metabolického syndromu-celogenomová asociační studie (15 min)  
5. A. Hořínek, M. Korabečná, Z. Ulčová-Gallova, P. Calda, K. Nouzová, M. Jančarová, H. Višková, D. Bezdíčková: Neinvazivní průkaz pohlaví plodu z fetální DNA v mateřské krvi (15 min)  
Diskuze

**DNE 13. BŘEZNA 2006**

Přednáškový večer Centra diabetologie, IKEM Praha  
Přednosta prof. MUDr. Terezie Pelikánová, DrSc.

**Syllabův večer**

**Diabetologie**

Koordinátor: prof. MUDr. Terezie Pelikánová, DrSc.  
1. T. Pelikánová: Úvod (5 min)  
2. R. Kožnarová: Kontinuální monitory glykémii-PRO a PROTI (12 min)  
3. T. Pelikánová, Z. Vlasáková: Metabolický syndrom-farmakologická léčba PRO a PROTI (12 min)  
4. F. Saudek: Transplantace pankreatu a izolovaných Langerhansových ostrůvků PRO a PROTI (12 min)  
5. A. Jirkovská, R. Bém, B. Sixta: Infekce a osteomyelitida syndromu diabetické nohy-léčit konzervativně nebo chirurgicky? (12 min)  
Diskuze

**DNE 20. BŘEZNA 2006**

Přednáškový večer II. interní kliniky I. LF UK a VFN  
Přednosta prof. MUDr. Aleš Linhart, DrSc.

**Peelnářův večer**

**Nové trendy v angiologii**

Koordinátor: prof. MUDr. Aleš Linhart, DrSc.  
1. A. Linhart: Úvod (5 min)  
2. M. Chochoła: Chronická ischémie dolních končetin (15 min)  
3. P. Vařejka: Intervenční léčba syndromu horní apertury (15 min)  
4. D. Karetová: Novinky ve farmakoterapii cévních onemocnění (15 min)  
5. A. Linhart: Závěrečné slovo (5 min)  
Diskuze

**DNE 27. BŘEZNA 2006**

Přednáškový večer Neurologické kliniky I. LF UK a VFN  
Přednosta prof. MUDr. Soňa Nevšímalová, DrSc.

**100. výročí samostatného oboru neurologie. Historie, současnost a perspektivy oboru**

Koordinátor: prof. MUDr. Soňa Nevšímalová, DrSc.  
1. Úvodní slovo: prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA - děkan I. LF UK MUDr. Pavel Horák, CSc., MBA - ředitel VFN  
2. E. Růžička: Ladislav Haškovec (1866-1944) a česká neurologie 1906-2006 (10 min)  
3. R. Jech: Funkční magnetická rezonance, morfometrie a traktografie-perspektivy neurologických aplikací (15 min)  
4. E. Růžička, R. Jech, D. Urgošík et al.: Hluboká mozková stimulace v léčbě Parkinsonovy nemoci a dyskinetických syndromů (15 min)  
5. P. Jiroutek: Neuroregenerace a nervosvalová onemocnění (15 min)  
6. J. Bauer: Současné trendy v léčbě cévních mozkových příhod (15 min)  
7. S. Nevšímalová, K. Šonka: Vztah kvality a kvantity spánku k našemu zdraví (15 min)  
Diskuze

*prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.*

*vědecký sekretář*

*prof. MUDr. František Kölbl*

*předseda*

Spolek lékařů českých v Praze je držitelem akreditace České lékařské komory čj. 003/16/2001 ke školení v systému celoživotního vzdělávání lékařů. Účast na večeru je hodnocena 2 kredity, pro přednášejícího dle platných směrníc ČLK. Potvrzení o účasti vydá na žádost sekretář Spolku. (sla)







NEJVÝZNAMNĚJŠÍ OSOBNOSTI PRAŽSKÉ LÉKAŘSKÉ FAKULTY

EDWARD BABÁK

(8. 6. 1873– 30. 5. 1926)

Psát o Edwardu Babákovi jako o jedné z nejproslulejších osobností pražské lékařské fakulty není tak snadné, jak by se na první pohled zdálo. Jako nevýznamnější osobnost si jej totiž právem nárokují i brněnské vysoké školy. Přestože pro ně – jmenovitě lékařskou fakultu Masarykovy univerzity a Vysokou školu zvěrolékařskou – je jedním z „otců zakladatelů“, větší část jeho profesionální dráhy a vrcholy vědecké činnosti jsou spojeny s Prahou.

Babák se narodil 8. června 1873 ve východočeských Smidarech v rodině praktického lékaře. Po maturitě na jičínském gymnáziu absolvoval lékařskou fakultu tehdejší české Karlo-Ferdinandovy univerzity v Praze, na níž promoval 14. listopadu 1898. Již v době studií byl demonstrátorem fyziologického ústavu u profesora Františka Mareše. Rok po promoci se v Marešově ústavu stal asistentem a o pouhé čtyři roky později byl habilitován z fyziologie (18. 3. 1903). To již měl za sebou první vědecké publikace, mimo jiné článek *Pojem biologie* v Časopise lékařů českých (1901), ve kterém formuloval zanedlouho realizovaný koncept obecné biologie jako výukového a vědního oboru pěstovaného na lékařských fakultách. První pokus o habilitaci z biologie v roce 1902 se mu však nepodařil. V roce 1907 (28. 10.) byl jmenován nehonoranovým mimořádným profesorem fyziologie a v roce 1917 (2. 10.) titulárním řádným profesorem české univerzity v Praze. Skutečným řádným profesorem Univerzity Karlovy se stal teprve krátce před svým odchodem do Brna, 23. května 1919.

V době svého pražského působení se zabýval experimentálním výzkumem v oblasti vývojové fyziologie, zpočátku zejména fyziologií trávení, později (po roce 1907) evolucioní dýchání; studoval ale také například problémy termoregulace nebo adaptace. Všestranný zájem o biologii mladých organismů přivedl Babáka nakonec k fyziologii dítěte, k níž u nás položil základy svým dílem *Úvod do biologie dítěte* z roku 1926. Publikace přispěla významně k osamostatnění pediatrie od vnitřního lékařství. Své znalosti si prohluboval i během studijních cest v zahraničí. Kromě výuky všeobecné a srovnávací fyziologie na lékařské fakultě přednášel o fyziologii také na pražském ČVUT a podílel se na vydávání několika odborných časopisů v čele s *Biologickými listy* (od roku 1912). Do Babákova „pražského období“ patří rovněž první vydání jeho stěžejního populárně-vědeckého díla *Tělověda* (1908). V době, kdy za Marešova života neměl naději na řádnou profesuru a vlastní ústav, usiloval alespoň o ustavení samostatného oddělení pro všeobecnou fyziologii, později zvažoval nabídku ujmout se vedení fyziologického ústavu univerzity v Záhřebu. Zlomem v jeho kariéře se nakonec stalo založení nových vysokých škol v Brně po vyhlášení samostatného Československa.

V Brně stál Babák u zrodu několika akademických institucí. V roce 1919 se stal řádným profesorem lékařské fakulty právě založené Masarykovy univerzity, na níž vedl fyziologický a prozatím i biologický ústav. O vybudování fakulty se zasloužil také jako její proděkan (1919/1920) a děkan (1921/1922), chod fakulty a celé univerzity ovlivňoval později jako rektor (1924/1925). Druhým hlavním místem Babáko-

va zakladatelského působení byla brněnská Vysoká škola zvěrolékařská, kde se stal profesorem fyziologie domácích zvířat (1919) a jejím prvním rektorem (1919–1921). U obou budovných škol se zasloužil například o přidělení vhodných budov a o získání kvalitních učitelů. V roce 1921 stál jako první rektor u zrodu Školy vyšších pedagogických studií, rovněž v Brně. Také v nové republice se angažoval v organizaci vědeckého života i mimo fakulturní půdu, například jako spoluzakladatel a předseda biologické společnosti, původně brněnské (1922), později celostátní (1924). Bez nadsázky je možné označit jej spolu s autory jeho biografie (P. Bravený – Z. Franc) z roku 1997 za „hlavu akademického Brna“. Babákova nejvýznamnější, mezinárodně uznávaná publikace o mechanice a inervaci dýchání vyšla rovněž v době jeho brněnského působení jako součást monumentální encyklopedie srovnávací fyziologie, vydávané v letech 1911–1925 v Jeně (*Die Mechanik und Innervation der Atmung*, in: *Handbuch der vergleichenden Physiologie*, Bd. I/1, 1921). Nového, na dva díly rozšířeného vydání se dočkala i jeho *Tělověda* (1922, 1924), tentokrát jako vysokoškolská učebnice.

Za své vědecké výkony a organizační zásluhy byl Babák vyznamenán členstvím v České akademii věd a umění, Národní radě badatelské a Královské české společnosti nauk nebo čestným doktorátem MVDr. Zemřel předčasně na plicní embolii po banálním poranění 30. května 1926 v Brně.

doc. PhDr. Petr Svobodný  
Ústav dějin UK – Archiv UK  
116 36 Praha 1, Ovocný trh 3  
e-mail: petr.svobodny@ruk.cuni.cz



Moudrost není v sebezapírání,  
ale v tom, naučit se nalézat radost  
ve věcech dostupných.

J. RUSKIN