

# ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

ČAS. LÉK. ČES., 150  
2011, č. 8, s. 421–472  
CLC EAL 150 (8)  
421–472 (2011)

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

ROČNÍK 150/2011, č. 8

## VEDOUcí REDAKTOR

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

## REDAKČNÍ RADA

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

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

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

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

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

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

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

*Prof. MUDr. Jan Holčík, DrSc.*  
Ústav sociálního lékařství a veřejného zdravotnictví LF  
MU  
Kamenice 5, 625 00 Brno – Bohunice

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

*Prof. MUDr. Ivan Hulín, DrSc.*  
Ústav patologické fyziologie LF UK  
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovenská republika

*Doc. MUDr. Peter Jarčuška, PhD.*  
I. interní klinika FN  
třída SNP 83/11, 040 11 Košice, Slovenská republika

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

*Doc. MUDr. Jaroslav Lindner, CSc.*  
II. chirurgická klinika kardiologicko-chirurgie  
1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

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

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

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

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

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

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

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

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

## KONZULTANTI

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

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

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

## OBSAH

## Přehledové články

- Macásek J, Zeman M, Vecka M, Vávrová L, Kodydková J, Tvrzická E, Žák A. Reaktivní kyslíkové a dusíkové sloučeniny v klinické medicíně ..... 423
- Salášek M, Pavelka T. Současné možnosti léčení poranění pánevního kruhu ..... 433
- Hrnčíř Z, Laco J. Klinický význam nemoci spojené s imunoglobuliny IgG4 ..... 438
- Chmelařová M, Palička V. Nejčastěji využívané metodiky k analýze DNA metylačních změn ..... 442

## Původní práce

- Vondráčková H, Staňková M, Machala L, Perlík F, Slanař O. Naše zkušenosti s maraviroem u HIV pozitivních pacientů ..... 447

## Kazuistika

- Testfaye H, Klapková E, Testfayeová A, Komárek V. Antiepileptic drug interactions: A clinical case demonstration ..... 451

## Speciální sdělení

- Nešpor K, Csémy L. Hazard u dětí a dospívajících ..... 457

## Dějiny lékařství

- Surá A. Hygiena ženy II  
Péče ženy o své tělo v době rudolfínské ..... 461

## Sjezdy

- Pavličková N. XI. jihočeské Timrovy dny (Hluboká nad Vltavou, 21.–22. dubna 2011) ..... 463
- Ševčík P. VI. symposium o léčbě bolesti (Brno, 29. a 30. dubna 2011) ..... 464
- Fajkusová L. 26. pracovní dny – Dědičné metabolické poruchy (Mikulov, 11.–13. května 2011) ..... 465
- Kinkorová J. Evropské perspektivy v personalizované medicíně (Brusel, 12.–13. května 2011) ..... 466

## Zprávy

- Knihy ..... 446, 456

- Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých ..... 469

## Laureáti Nobelovy ceny

- Čech P. Marshall Warren Nirenberg ..... 471

## CONTENTS

(No. 8, 3<sup>rd</sup> August 2011) Journal of Czech Physicians

## Review Articles

- Macásek J, Zeman M, Vecka M, Vávrová L, Kodydková J, Tvrzická E, Žák A. Reactive oxygen and nitrogen species in the clinical medicine ..... 423
- Salášek M, Pavelka T. Pelvic ring injuries: current concepts of management ..... 433
- Hrnčíř Z, Laco J. Clinical importance of the IgG4 related disease ..... 438
- Chmelařová M, Palička V. The most frequent methods used for DNA methylation analysis ..... 442

## Original Articles

- Vondráčková H, Staňková M, Machala L, Perlík F, Slanař O. Our experience with maraviroc treatment in HIV positive patients ..... 447

## Case Report

- Testfaye H, Klapková E, Testfayeová A, Komárek V. Antiepileptic drug interactions: A clinical case demonstration ..... 451

## Special Articles

- Nešpor K, Csémy L. Gambling in children and adolescents ... 457

## History of Medicine

- Surá A. Women's hygiene II  
Rudolphine Period ..... 461

## Congresses

- Pavličková N. 11<sup>th</sup> South Bohemian Timr's days (Hluboká nad Vltavou, April 21–22, 2011) ..... 463
- Ševčík P. 6<sup>th</sup> symposium on the treatment of pain (Brno, April 29 and 30, 2011) ..... 464
- Fajkusová L. 26<sup>th</sup> work days – Hereditary metabolic disorders (Mikulov, May 11–13, 2011) ..... 465
- Kinkorová J. European prospects in personalized medicine (Brusel, May 12–13, 2011) ..... 466

## News

- Books ..... 446, 456

- Books ..... 468

- Instruction to the Authors ..... 470

## Nobel Prize Laureates

- Čech P. Marshall Warren Nirenberg ..... 471

<http://www.cls.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2011

## ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Vydává: Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Sokolská 31, 120 26 Praha 2.

Vedoucí redaktor: prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.

Odpovědná redaktorka: Mgr. Helena Glezgová, e-mail: helena.glezgova@seznam.cz

Príspevky do Časopisu lékařů českých procházejí zdvojeným recenzním řízením.

Articles Publisher 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 ČR: 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, myris@myris.cz, 234 035 205, v SR Mediaprint-Kapa Pressegrasso, a.s., oddelenie inej formy predaja, P.O.Box 183, Vajnorská 137, 830 00 Bratislava 3, tel.: 004212444 588 16, 00421 244 458 821, fax: 00421 244 458 819, e-mail: predplatne@abompkapa.sk

Vychází: 12x ročně. Předplatné: na rok pro ČR je 1224,00 Kč, SR 59,40 €, jednotlivé číslo 102,00 Kč, SR 4,95 €.

Informace o předplatném podává a objednávky českých předplatitelů přijímá:

Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 296 181 805 – J. Spalová, e-mail: spalova@cls.cz

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Inzertní oddělení ČLS JEP,

tel.: 224 266 253, tel./fax: 224 266 265, e-mail: ntsinzerce@cls.cz

Registrační značka MK ČR E77.

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

Rukopis byl předán do výroby 25. 7. 2011. Zasláné příspěvky se nevracejí.

Vydavatel získává otiskem příspěvku výlučné nakladatelské právo k jeho užití.

Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány, autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu.

Vydavatel a redakční rada upozorňují, že za obsah a jazykové zpracování inzerátů a reklam odpovídá výhradně inzerent.

Žádná část tohoto časopisu nesmí být kopírována za účelem dalšího rozšiřování v jakékoliv formě či jakýmkoliv způsobem,

at již mechanickým nebo elektronickým, včetně pořizování fotokopii, nahrávek, informačních databází

na mechanických nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění.

# Reaktivní kyslíkové a dusíkové sloučeniny v klinické medicíně

Jaroslav Macášek, Miroslav Zeman, Marek Vecka, Lucie Vávrová, Jana Kodydková, Eva Tvrzická, Aleš Žák

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, IV. interní klinika VFN

## SOUHRN

V poslední době dochází k rychlému růstu poznatků o reaktivních kyslíkových a dusíkových sloučeninách (RONS, reactive oxygen and nitrogen species) v klinické medicíně. Jejich významná úloha byla popsána v patogenezi mnoha chorob včetně těch, které značně zatěžují zdravotnické systémy vyspělých států. Výzkumu reaktivních kyslíkových a dusíkových radikálů je proto věnováno velké úsilí. Jedná se o nestabilní částice ochotně reagující s biomolekulami v organismech. Tyto reakce se řetězově propagují a vedou k mnohočetnému poškození buněčných systémů, což se uplatňuje v patogenezi mnoha chorob. Chemickou podstatou těchto částic je přítomnost nespárovaného elektronu v zevním orbitalu. Patří sem také sloučeniny snadno oxidující jiné molekuly. Volné kyslíkové radikály vznikají během fyziologických procesů, jako jsou oxidativní fosforylace v mitochondriích, fagocytóza či při metabolismu purinů. Při nadměrné tvorbě ROS během těchto procesů může dojít k poškození tkáně. Dusíkaté radikály vznikají především při metabolismu oxidu dusnatého, který reguluje mnoho procesů v organismu, rozpážením jeho syntézy působením např. asymetrického dimethylargininu. Při vzniku radikálů či oxidačně působících látek hrají roli mnohé enzymy jako peroxizomální oxidázy, NAD(P)H oxidáza, xanthinoxidáza, syntáza NO, myeloperoxidáza, lipooxygenáza a mnoho dalších. RONS svůj negativní účinek zprostředkovávají chemickou modifikací DNA, proteinů a lipidů, čímž zasahují do základních biochemických a molekulárně biologických dějů buněk. Proti působení RONS zasahují antioxidantní systémy, které se dělí na enzymatické a neenzymatické. RONS se uplatňují v rozvoji mnoha chorobných stavů, z nichž jmenujeme aterosklerózu a její kardiovaskulární komplikace, diabetes mellitus, hyperlipidémii, neurodegenerativní či psychiatrická onemocnění.

**Klíčová slova:** RONS, radikály, superoxidový anion, radikál oxidu dusnatého, antioxidanty, ateroskleróza, diabetes mellitus, neurodegenerativní a psychiatrická onemocnění.

## SUMMARY

**Macášek J, Zeman M, Vecka M, Vávrová L, Kodydková J, Tvrzická E, Žák A. Reactive oxygen and nitrogen species in the clinical medicine**

Vast knowledge has accumulated recently on the role of reactive oxygen and nitrogen species (RONS) in clinical medicine. Strong evidence was disclosed on their important role in the pathogenesis of several diseases. Free radicals have unpaired electron and this is the reason for extreme reactivity causing propagation reactions that lead to the multiple damage to cells. Oxidizing agents belong to the family of reactive species. Reactive oxygen species are produced during biochemical processes such as oxidative phosphorylation, phagocytosis and metabolism of purins. Overproduction of reactive oxygen species can cause the tissue damage. Reactive nitrogen species are produced by inhibition of nitric oxide synthase by the action of asymmetric dimethylarginine. Peroxisomal oxidases, NAD(P) oxidase, xanthinoxidase, nitric oxide synthase, myeloperoxidase and lipooxygenase catalyze biochemical reactions producing reactive oxygen and nitrogen species. Biochemical and molecular processes in cells are negatively influenced by chemical modification of DNA, proteins and lipids caused by the action of reactive oxygen and nitrogen species. Antioxidant metabolites and enzymes work together to stop and to prevent oxidative modification of biomolecules. Reactive oxygen and nitrogen species play an important role in the pathogenesis of many diseases such as atherosclerosis, diabetes, hyperlipidaemia and neurodegenerative diseases.

**Key words:** RONS, radicals, superoxide anion, nitric oxide radical, antioxidants, atherosclerosis, diabetes mellitus, neurodegenerative and psychiatric diseases. Ma.

Čas Lék čes 2011; 150: 423–432

## ÚVOD

V klinické medicíně je dnes věnována velká pozornost pochodům spojeným s oxidačním stresem a působením reaktivních sloučenin kyslíku a dusíku (RONS – reactive oxygen

and nitrogen species). Mezi tyto látky patří nejen volné radikály, ale i sloučeniny, které nejsou v chemickém slova smyslu radikály, ale snadno oxidují jiné látky, nebo se na radikály mění. Většina chemických sloučenin obsahuje v zevních orbitalech spárované elektrony. Tzv. volné radikály obsahují v zevním orbitalu jeden nepárový elektron, což je pro ně energeticky nevýhodné, a tudíž se snaží spárovat elektron vazbou s jiným atomem či molekulou. Získáním elektronu od jiného atomu či molekuly (redukce) nebo jeho odevzdáním na jiný atom či molekulu (oxidace) přejde atom či molekula do energeticky stabilnějšího stavu s nižší reaktivitou. Mezi radikály v organismu patří například superoxidový anion  $\cdot\text{O}_2^-$ , oxid dusnatý  $\cdot\text{NO}$ , nebo hydroxylový radikál  $\cdot\text{OH}$ . Mezi neradikálové reaktivní substance patří například peroxid vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ky-

### ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Jaroslav Macášek  
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2  
e-mail: jmacasek@seznam.cz

Tab. 1. Přehled reaktivní sloučenin kyslíku a dusíku

Reaktivní formy kyslíku	volné radikály	tripletový kyslík $^3\text{O}_2^{\cdot\cdot\text{a}}$
		superoxidový anion $\text{O}_2^{\cdot-}$
		hydroxylový radikál $\text{HO}^{\cdot}$
		alkoxyl $\text{RO}^{\cdot}$
		hydroperoxyl $\text{HO}_2^{\cdot}$
	látky, které nejsou volnými radikály	peroxyl $\text{ROO}^{\cdot}$
		peroxid vodíku $\text{H}_2\text{O}_2$
		kyselina chlorná $\text{HClO}$
		ozon $\text{O}_3$
		singletový kyslík $^1\text{O}_2$
Reaktivní formy dusíku	volné radikály	oxid dusnatý $\text{NO}^{\cdot}$
		oxid dusičitý $\text{NO}_2^{\cdot}$
		nitroxyl anion $\text{NO}^{\cdot-}$
	látky, které nejsou volnými radikály	nitrosonium $\text{NO}^+$
		dimer oxidu dusičitého $\text{N}_2\text{O}_4$
		kyselina dusitá $\text{HNO}_2$
		oxid dusitý $\text{N}_2\text{O}_3$
		nitronium $\text{NO}_2^+$
		peroxynitrit $\text{ONOO}^{\cdot-}$
		alkylperoxynitrit $\text{ROONO}$

<sup>a</sup> Kyslík v základním energetickém stavu ( $^3\text{S}_g$ ) je vlastně biradikál; jeho reaktivita je díky tomu, že reakce tripletové molekuly se singletovou (většina molekul) je spinově zakázána, relativně nízká. Protože je ale molekula kyslíku hojně rozšířena, v přehledu ji uvádíme.

selina chlorná ( $\text{HClO}$ ) a peroxynitrit ( $\text{ONOO}^{\cdot-}$ ). Příklady nejdůležitějších reaktivních látek jsou uvedeny v tabulce 1.

Reaktivní formy kyslíku i dusíku vznikají v průběhu metabolických pochodů u všech aerobních organismů. Na jejich vzniku se podílejí i vnější vlivy, jako je ionizační záření, xenobiotika, toxiny či léky. Buňky a tkáně živých organismů jsou před poškozením těmito látkami chráněny antioxidantními ochrannými systémy (enzymatickými i neenzymatickými). V organismu však RONS nepůsobí pouze jako patogeny, ale podílejí se také na obraně vůči infekčním agens a v průměrných koncentracích ovlivňují signální transdukcii a genovou transkripci, přičemž oxid dusnatý ( $\text{NO}^{\cdot}$ ) je jednou z nejvýznamnějších signálních molekul v lidském organismu (1).

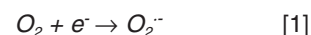
Nadměrná tvorba a/nebo nedostatečné odstraňování RONS, resp. zvýšený poměr prooxidační k antioxidantní aktivitě je označována pojmem **oxidační stres** (OS) (2). V důsledku OS může dojít k: 1. adaptaci buňky nebo organismu se zvýšením aktivity obranných systémů, 2. poškození buňky s oxidativní modifikací lipidů, DNA, proteinů, sacharidů atd., 3. buněčné smrti (3). Oxidační stres podle současných názorů hraje roli zejména u onemocnění, v jejichž patogenezi se uplatňuje zánět, který je s OS spojen. Jde o řadu rozšířených chorob, jako je ateroskleróza a její komplikace (ischemická choroba srdeční – ICHS), ischemická kolitida, ischemická cévní mozkové příhody, arteriální hypertenze, diabetes mellitus, neurodegenerativní neurologická onemocnění (Alzheimerova nemoc, roztroušená skleróza, Parkinsonova nemoc), psychiatrická onemocnění (schizofrenie, deprese) i zhoubné nádory (4).

## ZDROJE A VZNIK RONS V LIDSKÉM ORGANISMU

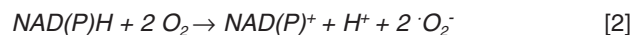
### Reaktivní sloučeniny kyslíku (ROS)

K nejvýznamnějším ROS se počítají superoxidový anion  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , hydroxylový radikál  $\text{OH}^{\cdot}$  a látka neradikálové povahy peroxid vodíku  $\text{H}_2\text{O}_2$ . K hlavním zdrojům  $\text{O}_2^{\cdot-}$  patří v lidském organismu reakce provádějící oxidativní fosforylaci v mitochondriích,

reakce katalyzované peroxidomálními oxidázami, NAD(P)H oxidázami, xantinoxidázou nebo jednoelektronová redukce kyslíku syntázami NO v případě deficitu argininu nebo tetrahydrobiopterinu (obr. 1). Při oxidativní fosforylaci probíhá v dýchacím řetězci v mitochondriích redukce molekuly atmosférického kyslíku na dvě molekuly vody, spojená s tvorbou ATP (4). Redukce molekulárního kyslíku na vodu vyžaduje celkem čtyři elektrony, pokud se uskuteční transfer pouze jednoho elektronu, vzniká superoxidový anion (4).

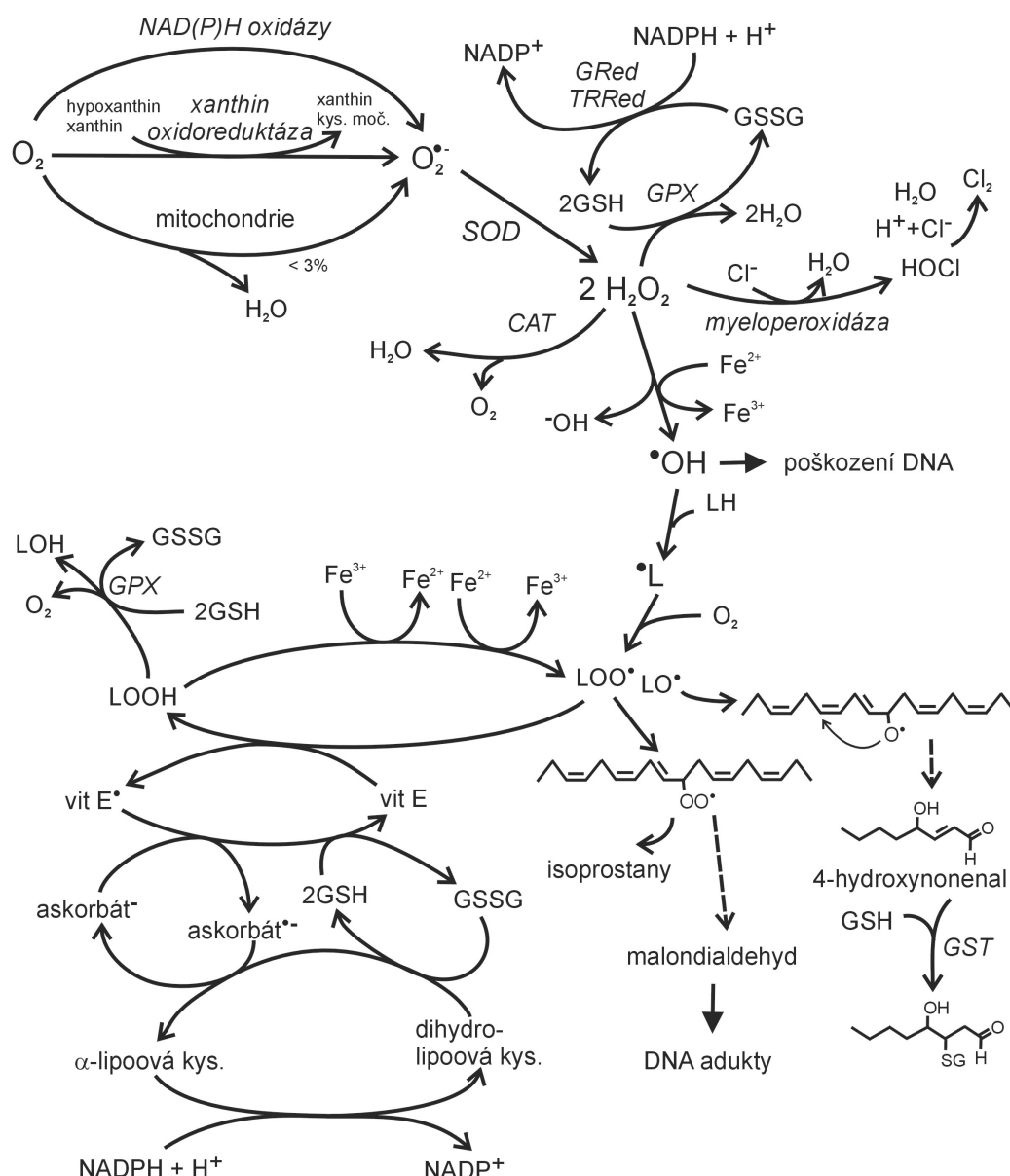


Na superoxidový anion je převedeno až 3 % molekul mitochondriálního kyslíku (5). NAD(P)H oxidáza je enzym vázaný na buněčnou membránu, který používá elektrony pocházející z NADPH k redukci molekulárního kyslíku na  $\text{O}_2^{\cdot-}$ :



Enzym se nachází v neutrofilních leukocytech, monocytech či makrofázích, kde je zdrojem velkého množství  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , který má baktericidní účinky. Strukturálně poněkud odlišná je NAD(P)H oxidáza obsažená v endotelu cév. Její produkce  $\text{O}_2^{\cdot-}$  je ve srovnání s formou obsaženou ve fagocytech o několik řádů nižší. Aktivita cévní NAD(P)H oxidázy a následná tvorba  $\text{O}_2^{\cdot-}$  je zvyšována působením řady faktorů účastnících se v patogenezi aterosklerózy, jako jsou angiotenzin II působící vazokonstrikci, PDGF (platelet derived growth factor) působící hyperplazii hladkých svalových buněk nebo trombin (6). Superoxid vzniká také působením enzymu xantinoxidoreduktazy. Tento flavoproteinový enzym obsahující molybden existuje ve dvou formách: xanthin oxidáza (XO) a xantin dehydrogenáza (XD). Enzym katalyzuje postupnou oxidativní hydroxylaci hypoxanthinu na xanthin a dále na kyselinu močovou (ve formě XD), ale může také redukovat kyslík na  $\text{O}_2^{\cdot-}$  (forma XO). Je zajímavé, že je lokalizován hlavně v endoteliálních a epiteliálních buňkách, což dobře nekoresponduje s jeho funkcí v metabolismu purinů, ale spíše naznačuje význam v systému antimikrobiální ochrany (7). Xantinoxidáza hraje významnou úlohu v patofyziologii reperfučního syndromu. Při hypoxii způsobené nedostatečným přívodem kyslíku krví (nízká perfuze tkání např. při infarktu myokardu) dochází k vzestupu hladiny ADP, který je za fyziologických okolností přeměňován působením XO na hypoxantin, xantin a močovou kyselinu. Při hypoxii je enzym inhibován; poté, co dojde k reperfuzi a opětovnému obnovení dodávky kyslíku, zvýší XO svoji aktivitu s cílem odstranit nahromaděné ADP a jako vedlejší produkt jsou ve zvýšeném množství produkovány enzymem XO i ROS s následným paradoxním prohloubením poškození po obnově dodávky kyslíku.

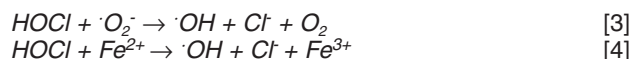
Vznikající  $\text{O}_2^{\cdot-}$  je působením enzymu superoxid dismutázy (SOD) přeměňován na  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ze kterého pak účinkem lyzozomální katalázy nebo mitochondriální glutathion peroxidázy (GPx) vzniká voda a kyslík (obr. 2). Glutathion, používaný GPx jako donor vodíku během eliminace  $\text{H}_2\text{O}_2$ , je regenerován glutathion reduktázou (GR). Součástí obranných mechanismů lidského organismu proti infekčním agens je také enzym myeloperoxidáza (MPO), nacházející se v azurofilních granulech



**Obr. 1.** Vznik reaktivních forem kyslíku v lidském organismu a jejich další osud (dle 6, 19)

vit – vitamin, GSH – glutathion, GSSG – glutathion disulfid, GPx – glutathion peroxidáza, GRed – glutathion reduktáza, GST – glutathion S-transferáza, TRRed – thioredoxin reduktáza, CAT – kataláza, LH – mastná kyselina, SOD – superoxid dismutáza

neutrofilů a lyzozomech monocytů. Enzym, který hraje roli ve fagocytóze, vytváří kyselinu chlornou (HClO) z peroxidu vodíku ( $H_2O_2$ ) a chloridů. Reakce HClO se superoxidem může vést ke vzniku mimořádně reaktivního hydroxylového radikálu (8).



Chloranové anionty reagují také s nízkomolekulárními aminy za vzniku chloraminů, které stejně jako chlornany mají silný baktericidní účinek (4). Hemo-peroxidázy, jako je MPO i eozinofilní peroxidázy, katalyzují také v přítomnosti  $H_2O_2$  a nitritu  $NO_2^-$  nitraci tyrozinu v proteinech, a mohou tak nepříznivě modifikovat jejich funkci, jako např. v případě apolipoproteinu A-1 a apolipoproteinu B.

### Reaktivní sloučeniny dusíku

Mezi nejvýznamnější reaktivní formy dusíku patří radikál oxidu dusnatého  $\cdot NO$  a peroxyinitrit  $ONOO\cdot$ . Radikál oxidu dusnatého  $\cdot NO$  je tvořen oxidací L-argininu působením syntázy

oxidu dusnatého (NOS) za vzniku citrulinu a  $NO$ . U člověka lze rozlišit tři hlavní izoformy NOS: endoteliální NOS (eNOS), indukibilní (iNOS) a neuronální (nNOS). nNOS a eNOS jsou konstitutivně exprimované enzymy, aktivované vzestupem hladiny intracelulárního kalcia ( $Ca^{2+}$ ).  $Ca^{2+}$  se váže na kalmodulin a komplex  $Ca^{2+}$ /kalmodulin aktivuje nNOS nebo eNOS. iNOS obsahuje pevně vázaný kalmodulin s kalcium a její syntéza je indukována zánětlivými cytokiny, jako je interleukin-1 (IL-1), tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), ale i antigeny bakterií a nádorových buněk.

Za fyziologických okolností se  $\cdot NO$  významně podílí na tzv. endotel-dependentní vazodilataci a regulaci cévního tonu, má protizánětlivé účinky, inhibuje agregaci krevních destiček a adhezi leukocytů i destiček na endotel a reguluje proliferaci a diferenciaci buněk cévní stěny. V buňce hladkého svalu cévy aktivuje  $\cdot NO$  enzym guanylát cyklázu. Aktivace guanylát cyklázy vede k syntéze cyklického GMP a k vazorelaxaci.

Ke správné funkci vyžadují NOS pět kofaktorů: flavinadenindinukleotid (FAD), flavinmononukleotid (FMN), hem, tetrahydrobiopterin ( $BH_4$ ) a  $Ca^{2+}$ -kalmodulin. Jestliže chybí L-arginin – substrát pro NOS nebo jeden z jeho kofaktorů, může NOS produkovat  $O_2^-$  místo  $\cdot NO$ , což je označováno jako roz-

přažený (uncoupled) stav NOS (9). K rozpražení reakce vede též zvýšení hladiny inhibitoru NOS, asymetrického dimethylargininu (ADMA), jehož zvýšené koncentrace jsou spojeny s endoteliální dysfunkcí u hypercholesterolémie, inzulinové rezistence či hyperhomocysteinémie. Rozpražení eNOS v cévní stěně působí oxidační stres jednak poklesem tvorby  $\text{NO}$ , jednak zvýšenou tvorbou  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . Pokud jsou tvořeny současně  $\text{NO}$  a  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , vzniká toxický peroxynitrit  $\text{ONOO}^-$ . Peroxynitrit reaguje s  $\text{CO}_2$ , který je v tělesných tekutinách obsažen ve vysokých koncentracích, a vytváří jednoelektronové oxidanty  $\text{NO}_2$  a  $\text{CO}_3^{\cdot-}$ , které oxidací aminokyseliny tyrozinu vedou ke vzniku tyrozinového radikálu Tyr a následně 3-nitrotyrozinu, 3- $\text{NO}_2$ -Tyr. Z  $\text{ONOO}^-$  může také vzniknout  $\text{OH}$ , působící peroxidací lipidů, mutace DNA, jejich fragmentaci nebo modifikace proteinů (obr. 2). Peroxynitrit vedle přímého toxického působení oxiduje  $\text{BH}_4$ , což rovněž přispívá k rozpražení eNOS.

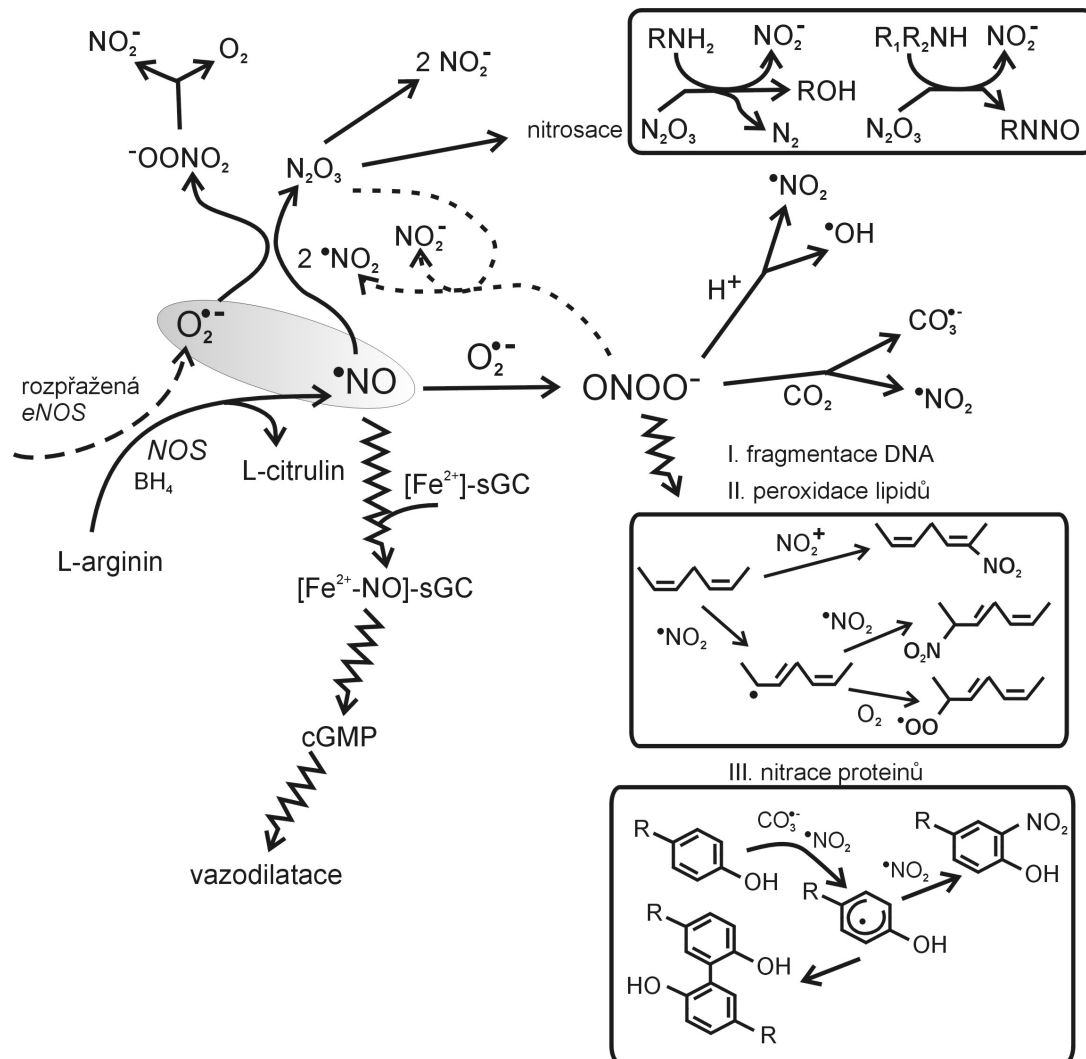
### Lipoxygenáza

Lipoxygenázy jsou dioxygenázy obsahující železo, které katalyzují stereospecifickou inzerci molekulárního kyslíku do molekuly vícenenasycené mastné kyseliny. Aktivní forma enzymu obsahuje v katalytickém centru trojmocné železo, forma lipoxygenázy s dvojmocným železem není aktivní. Působení lipoxygenáz na kyselinu arachidonovou vede k tvorbě 5-, 11- a 15- hydroperoxyeikosatetraenových mastných kyselin (HPETE), které jsou v tkáních rychle redukovány na od-

povídající hydroxyeikosatetraenové kyseliny (HETE), jako jsou 5S-hydroxy-6t,8c,11c,14c-, 12S-hydroxy-5c,8c,10t,14c- a 15S-hydroxy-5c,8c,11c,13t-eikosatetraenové mastné kyseliny (10). Z těchto derivátů jsou 5-hydroxy izomery předchůdci biologicky aktivních leukotrienů a lipoxinů (obr. 3), které hrají významnou roli v patofyziologii zánětu. 5-HETE má chemotaktický účinek na neutrofile, leukotrien  $\text{B}_4$  ( $\text{LTB}_4$ ) působí chemotakticky na fagocyty,  $\text{LTC}_4$ ,  $\text{LTD}_4$  a  $\text{LTA}_4$  působí vazokonstrikci, bronchokonstrikci a zvyšují permeabilitu cév. Lipoxiny mají naopak účinky protizánětlivé.

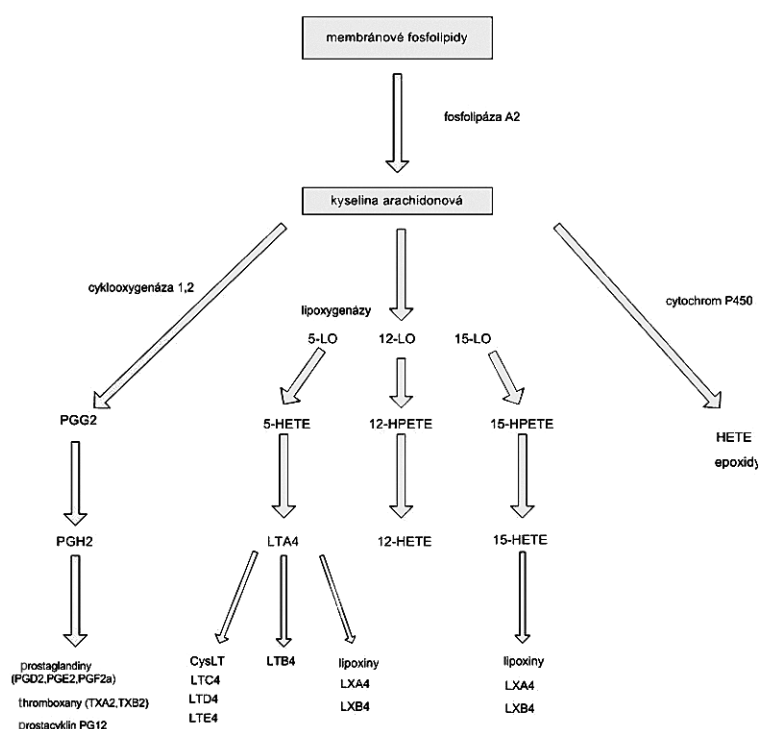
### Myeloperoxidáza

Myeloperoxidáza (MPO) je enzym, obsahující hem, který se nachází v azurofilních granulech neutrofilů a lyzozomech monocytů. Enzym vytváří kyselinu chlornou ( $\text{HClO}$ ) z peroxidu vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) a chloridů. MPO hraje roli při fagocytóze a produkty jejího působení se podílejí na destrukci bakterií, intracelulárních parazitů i nádorových buněk. Reakce kyseliny chlorné se superoxidem může vést ke vzniku mimořádně reaktivního hydroxylového radikálu (8). Chlornanové anionty reagují také s nízkomolekulárními aminy za vzniku chloraminů, které stejně jako chlornany mají silný baktericidní účinek (4). Hemo-peroxidázy, jako je MPO i eozinofilní peroxidázy, katalyzují také v přítomnosti  $\text{H}_2\text{O}_2$  a nitritu  $\text{NO}_2^-$  nitraci tyrozinu v proteinech, a mohou tak nepříznivě modifikovat jejich funkci, jako např. v případě apolipoproteinu A-1 a apolipoproteinu B. Oxidované produkty působení MPO jsou ve vysokých



Obr. 2. Vznik a působení reaktivních forem dusíku (dle 6, 11, 16, 17)

$\text{BH}_4$  – tetrahydrobiopterin, eNOS – endoteliální syntáza NO, sGC – solubilní guanylát cykláza, cGMP – cyklický guanylnofosfát



**Obr. 3.** Metabolismus eikosanoidů

HETE – hydroxyeikosatetraenová kyselina, HPETE – hydroperoxyeikosatetraenová kyselina, LO-x – lipoxygenáza, COX – cyklooxygenáza, LX – lipoxiny, LT – leukotrieny, cysLT – cysteinylleukotrieny

koncentracích prokazovány v částicích LDL lokalizovaných v aterosklerotických plátech. Předpokládá se, že aktivita MPO souvisí s vulnerabilitou aterosklerotických plátů (11). MPO může také modifikovat lipoprotein HDL, což vede k poruše reverzního transportu cholesterolu. Nejvyšší kvartily MPO v krvi a leukocytech významně korelovaly s přítomností koronární aterosklerózy. Ve studii u nemocných s AKS předpovídaly hladiny MPO rozvoj IM nezávisle na jiných rizikových faktorech, jako např. CRP (12). Zdá se, že MPO je významným činitelem, podílejícím se na destabilizaci aterosklerotického plátu a stanovení MPO by mohlo sloužit jako nezávislý prognostický ukazatel u nemocných přijatých k observaci pro bolest na hrudi.

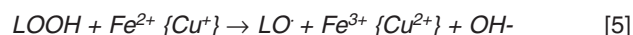
## MECHANISMY PŮSOBNÍ REAKTIVNÍCH ČÁSTIC

Nukleové kyseliny, lipidy a proteiny mohou být poškozeny působením RONS, což může vést až k buněčné smrti (5). Jejich působení není však jen nepříznivé, aktivují také různé buněčné signální kaskády, které regulují proliferaci, detoxifikaci, reparaci DNA nebo apoptózu. V případě snížené tvorby RONS může dojít k poruše imunitní odpovědi na cizorodnou noxu nebo k poruše proliferace. V závislosti na koncentraci a typu RONS mohou být aktivovány buď signální cesty proaktivní (např. reparace DNA) anebo buněčná apoptóza.

### Poškození lipidů

Působením radikálové látky, nejčastěji  $\cdot\text{OH}$ , na lipidy, zejména na vícenenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids, PUFA), vede k lipoperoxidaci (viz obr. 2). Oxidující látka vytrhne elektron z metylenové skupiny uhlíkového řetězce PUFA ( $-\text{CH}_2-$ ) za vzniku lipidového radikálu ( $\text{L}\cdot$ ). Po vytržení vodíku dojde ke změně elektronového uspořádání v uhlíkovém řetězci PUFA tak, že mezi dvěma dvojnými vazbami je jedna vazba jednoduchá (konjugovaný dien) (4). Konjugované dieny se snadno spojují s molekulárním kyslíkem za vzniku peroxylového radikálu  $\text{LOO}\cdot$ . Peroxylový radi-

kál může vytrhnout elektron ze sousední mastné kyseliny, která se stává radikálem, zatímco peroxylový se mění na hydroperoxid  $\text{LOOH}$ . Radikálová reakce se pak řetězovitě šíří dál (propagace), dokud není ukončena (terminace) setkáním radikálu mastné kyseliny s jiným radikálem nebo vitamínem E (4). Lipoperoxidačními pochody vznikají hydroperoxy a cyklické peroxy mastných kyselin, které v přítomnosti přechodných kovů (jako  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ) podléhají tzv. Fentonově reakci za vzniku alkoxylového radikálu  $\text{LO}\cdot$  a hydroxidového aniontu  $\text{OH}^-$ .



Lipoperoxidace nakonec vede ke vzniku stabilních látek, které lze laboratorně stanovit, jako je např. MDA (malondialdehyd) a nebo 4-hydroxynonenal (4-HNE). Malondialdehyd velmi ochotně reaguje s nukleofilními skupinami (aminoskupinami), a způsobuje tak modifikaci struktury a následně funkce proteinů (zesíťování kolagenu). Další produkt oxidace vícenenasycených mastných kyselin 4-hydroxynonenal, elektrofilní  $\alpha,\beta$ -nenasycený aldehyd, způsobuje kovalentní modifikaci DNA, což způsobuje vznik mutací, a proteinů signálních drah, a ovlivňuje tak genovou expresi zodpovědnou za produkci složek antioxidantního systému, heat shock proteinů a proteinů účastnících se reparace poškozené DNA. 4-hydroxynonenal je též užíván jako biomarker oxidativního poškození buněk. Jinými významnými produkty působení oxidačního stresu na lipidy jsou  $\text{F}_2$ -izoprostany (13). Izoprostany jsou látky podobné  $\text{F}_2$ -prostaglandinu vznikající neenzymatickou peroxidací kyseliny arachidonové působením radikálů.  $\text{F}_2$ -izoprostany však *in vivo* prodělávají další přeměnu v  $\text{E}_2$ -,  $\text{D}_2$ -,  $\text{A}_2$ -,  $\text{J}_2$ -izoprostany, izotromboxany a vysoce reaktivní ketoaldehydy zvané izoketaly. Podobné sloučeniny vznikají též z kyseliny dokosaheksaenové, která je hojná v neuronech, a proto se sloučeniny vzniklé její radikálovou neenzymatickou peroxidací nazývají neuroprostany či neuroketaly.  $\text{F}_2$ -izoprostany jsou nejenom markery lipoperoxidace, ale jako ligandy specifických receptorů způsobují i vazokonstrikci. U různých onemocnění (např. diabetu) dochází ke vzniku oxidativně modifikovaných LDL částic tzv. oxLDL, jejichž hlavními kompo-

mentami jsou 9-hydroxy-10,12-oktadekadienová (9-HODE) a 13-hydroxy-9,11-oktadekadienová (13-HODE) kyselina. Vznikají působením ROS na linolovou kyselinu. Bylo zjištěno, že 9-HODE i 13-HODE jsou endogenními aktivátory PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) a hrají významnou úlohu například při rozvoji diabetické nefropatie tím, že stimulují mezangiální proliferaci.

### Poškození DNA

Podobně jako lipidy jsou nukleové kyseliny poškozovány především  $\cdot\text{OH}$ . Hydroxylový radikál reaguje se všemi složkami DNA a poškozuje jak purinové, tak pyrimidinové báze i strukturu deoxyribózy. Dochází k vyjmutí vodíkového atomu z deoxyribózy s následnou destrukcí sacharidu a přerušení řetězce. Hydroxylový radikál vytváří addukty s purinovými i pyrimidinovými bázemi a modifikované báze pak slouží jako marker poškození DNA, např. 8-hydroxydeoxyguanozin (8-OH-dG), 8-hydroxy-guanin a 8-hydroxy-guanozin (4). Modifikace nukleových kyselin pak vede k chybným párováním bází při replikaci DNA a k následným změnám genetické informace.

### Poškození bílkovin

Oxidativní modifikace poškozuje strukturu bílkovin. Oxidace aminokyselin v proteinech vede k nevratným změnám. Dochází k fragmentaci a agregaci bílkovin. V důsledku konformačních změn se zvyšuje citlivost k proteolytickému štěpení. Citlivost proteinů vůči oxidaci

dehyd je velice reaktivní sloučenina vytvářející vazby především s amino-skupinami aminokyselin, což zapříčiňuje zesíťování proteinů a ztrátu jejich funkce. U diabetiků se zvyšuje glykace kolagenu, jenž se působením malondialdehydu zesítuje a tento děj sekundárně urychluje rozvoj aterosklerózy.

## ANTIOXIDAČNÍ SYSTÉM V LIDSKÉM ORGANISMU

Složitě biochemické děje neustále probíhající v živých organismech vytvářejí RONS, které mohou mít jak nepříznivé, tak i příznivé účinky. Pro správné fungování metabolických procesů je tak nutné stále ustavovat rovnovážný stav mezi vznikem a odbouráváním RONS. K udržení homeostázy v situaci, kdy jsou neustále vytvářeny RONS, slouží systém antioxidantů (tab. 2). Dříve se pomyslelo, že RONS mají pouze negativní účinky, ukázalo se však, že mají i příznivé účinky. V leukocytech slouží k likvidaci infekčních částic cestou respiračního vzplanutí za účasti NADPH oxidázy, hrají důležitou úlohu v signálních drahách (ovlivňují nukleární faktor  $\kappa\text{B}$ , mitogen-activated protein kinázu atd.), proliferaci, přežívání, migraci a adhezi buněk.

### Enzymatické antioxidanty

Mezi enzymatické antioxidanty patří např. superoxid dismutáza (SOD), kataláza (CAT), glutathion peroxidáza, glu-

Tab. 2. Důležité komponenty antioxidačního systému (dle 30, 31, 36)

Lokalizace		
Intracelulární Antioxidanty	buněčná membrána	extracelulární antioxidanty
<b>enzymové složky</b>		
superoxiddismutáza kataláza glutathionperoxidáza peroxidáza DT-diaforáza proteolytické enzymy hem oxygenáza I	fosfolipázy	SOD-3 EC-CAT GPx-3 paraoxonáza selenoprotein P? peroxiredoxiny
<b>neenzymové složky</b>		
Intracelulární Antioxidanty	buněčná membrána	extracelulární antioxidanty
Glutathion kyselina askorbová kyselina lipoová vazebné proteiny kovů – feritin ( $\text{Fe}^{2+}\text{gFe}^{3+}$ ), metallothioneiny ( $\text{Cu}^+$ ) opravné systémy DNA – excize basí glykosylázami, homologní rekombinace, spojování nehomologních konců	vitamin E $\beta$ -karoten	glutathion kyselina askorbová vitamin E * proteiny vázající přechodné kovy – transferin ( $\text{Fe}^{3+}$ ), laktoferin ( $\text{Fe}^{3+}$ ), ceruloplasmin ( $\text{Cu}^{2+}$ ), haptoglobiny (hemoglobin) a hemopexin (hem) albumin, bilirubin, kyselina močová, thioredoxin

\* Vitamin E je nejsilnějším antioxidantem v membránách, mimo ně vykazuje pouze slabé antioxidační schopnosti.

je ovlivňována také přítomností iontů kovů schopných katalyzovat reakci Fentonova typu (14). Modifikovány jsou zejména aminokyseliny postranních řetězců, zejména cystein a methionin, přičemž oxidací cysteinových zbytků vznikají smíšené disulfidy mezi thiolovými skupinami bílkovin (-SH) a nízkomolekulárními thioly, zejména GSH (15). Oxidace proteinů vede také k fragmentaci polypeptidových řetězců a k intra- i intermolekulárnímu síťování (cross-linking). Takto modifikované proteiny snáze podléhají degradaci. Je známo, že glykovaný kolagen zvyšuje tvorbu malondialdehydu a 4-hydroxynonenalu, produktů oxidace vícenenasycených mastných kyselin. Malondial-

dehyd reduktáza. Enzymy glutathion peroxidáza a glutathion reduktáza se nacházejí v cytoplasmě, mitochondriích i v jádře. Glutathion peroxidáza mění  $\text{H}_2\text{O}_2$  na vodu za spoluúčasti glutathionu (GSH) jako dárce vodíku. Vznikající glutathion disulfid (GSSG) je přeměňován zpět na GSH působením GR, jejímž kofaktorem je NADPH. Působením SOD dochází k přeměně  $^{\cdot}\text{O}_2^-$  na  $\text{H}_2\text{O}_2$ , který je detoxikován buď katalázou, která v lyzozomech rozkládá  $\text{H}_2\text{O}_2$  na vodu a kyslík, nebo účinkem GPx v mitochondriích (viz obr. 1). Glutathion reduktáza regeneruje GSH, který je používán jako donor vodíku glutathion peroxidázou během eliminace  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



## Neenzymatické antioxidanty

Mezi neenzymatické antioxidanty patří vitaminy A, C a E, glutathion, kyselina alfa-lipoová, dále karotenoidy, stopové prvky jako měď, zinek a selen, koenzym Q<sub>10</sub> (Co Q<sub>10</sub>) a kofaktory jako kyselina listová, vitaminy B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> a B<sub>12</sub>, dále též močovina, albumin či bilirubin. Hlavním intracelulárním antioxidantem je GSH, který působí jako přímý scavenger a současně jako kosubstrát pro GPx. Vitamin E je označen pro skupinu osmi příbuzných tokoferolů a tokotrienolů, které zabraňují peroxidaci lipidů. U lidí je nejaktivnější forma  $\alpha$ -tokoferolu. Hydroxylový radikál reaguje s tokoferolem za vzniku stabilního fenolického radikálu, který je redukován zpět na fenol askorbátem a NAD(P)H dependentními reduktázami (16). Koenzym Q<sub>10</sub> působí jako elektronový nosič v komplexu II mitochondriálního elektronového transportního řetězce. Je to v tučích rozpustný antioxidant, který ve vyšších koncentracích působí jako scavenger  $\Sigma O_2^-$  (17). Vitamin C (kyselina askorbová) stabilizuje kofaktor NOS, tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>), což podporuje tvorbu NO (18). Kyselina  $\alpha$ -lipoová je hydrofilní antioxidant, působící jak ve vodném, tak v lipidovém prostředí. Její redukováná forma, dihydrolipoát, je schopna regenerovat jiné antioxidanty, jako jsou vitamin C nebo vitamin E (18). Bilirubin je v poslední době intenzivně studován jako neenzymatický antioxidant. Kromě toho působí antiaterogenně tím, že inhibuje oxidaci LDL částic a lipidů obecně a pohlcuje kyslíkové radikály. Mnohé studie prokázaly inverzní vztah hladin bilirubinu k výskytu kardiovaskulárních chorob. Lidé s Gilbertovým syndromem (nekonjugovaná hyperbilirubinémie) mají nižší incidenci koronárních chorob (19).

## UPLATNĚNÍ RONS V KLINICKÉ MEDICÍNĚ

Volné radikály i ostatní RONS plní v organismu významné funkce. Jsou součástí **obraného systému** organismu proti bakteriální infekci, intracelulárním parazitům, cizorodým látkám i nádorovým buňkám. V případě bakteriální infekce se v neutrofilních leukocytech a makrofázích aktivuje enzym NAD(P)H oxidáza, vzniká superoxidový anion. Taktivo- vané buňky zvýší spotřebu O<sub>2</sub> (tzv. oxidační nebo respirační vzplanutí, respiratory burst). Vznikající  $\Sigma O_2^-$  se přeměňuje na H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Enzym myeloperoxidáza zase v polymorfonukleárních leukocytech katalyzuje tvorbu kyseliny chlorné z H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a chlorkového iontu. Významnou součástí obrany organismu proti různým mikrobům, intracelulárním parazitům i nádorovým buňkám, je aktivita iNOS. Exprese enzymu je indukována působením mikrobů a různých cytokinů a vede k produkci NO mnohem vyšší, než ke které dochází v důsledku aktivity eNOS. Současně vytvářený  $\Sigma O_2^-$  však působí zvýšenou koncentrací peroxynitritu ONOO<sup>-</sup>, který má baktericidní účinky (4). V nízkých koncentracích se RONS podílejí na nitrobuňčných signálních pochodech. V tzv. **signální transdukcii** je zprostředkovaným přenos informací přicházející zvenčí prostřednictvím hormonů, cytokinů, růstových faktorů či neurotransmiterů až do buněčného jádra. Transkripční faktory po vazbě na specifické sekvence DNA regulují aktivitu RNA polymerázy II. Některé signální cesty v buňce jsou zprostředkovány RONS, které v tomto případě hrají roli „druhotných posílů“ (second messengers). Pravděpodobně nejvýrazněji se RONS uplatňují při ovlivnění systému MAP kináz (mitogen associated protein kinase), který představuje kaskádu fosforylačních reakcí, ve kterých se postupně aktivují enzymy a další proteiny s výsledným ovlivněním jaderných transkripčních faktorů, regulujících buněčný růst, diferenciaci i apoptózu. Patří sem faktory NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B), významný u zánětlivých procesů, AP-1 (activated protein-1), ovlivňující růst a diferenciaci buněk a p53, což je protein, který pomáhá udržovat stabilitu genomu (zásahelem do reparačních mechanismů DNA a také do regulace proliferace a diferenciaci buněk) (20).

## VYBRANÁ ONEMOCNĚNÍ, V JEJICHŽ ETIOPATOGENÉZĚ JSOU VÝZNAMNÉ VOLNÉ RADIKÁLY

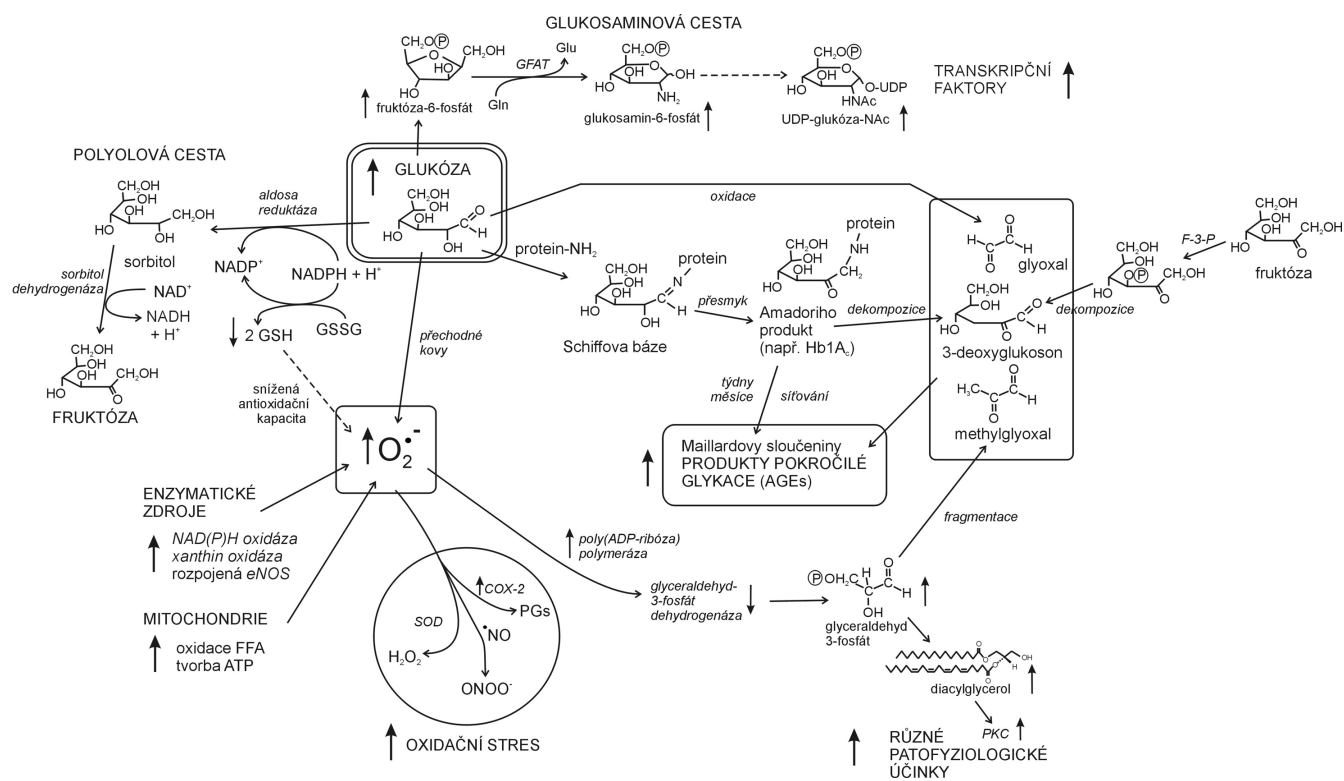
### Ateroskleróza a její komplikace

Aterosklerózu je možno charakterizovat jako chronické zá- nětlivé fibroproliferativní onemocnění, ve kterém hraje pod- statnou roli proliferace hladkých svalových buněk (SMC) a makrofágů, tvorba pojivové tkáně buňkami hladké svaloviny a hromadění lipidů, zejména volného (FC) a esterifikova- ného cholesterolu (CE), v buňkách a mezibuněčné hmotě. V ateroskleroze hraje oxidační stres významnou roli. Uplatňuje se zejména  $\cdot O_2^-$ , H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a NO. Nadměrná tvorba RONS vede k aterogenním a trombogenním změnám ve smyslu zvýšené adheze monocytů, agregace krevních destiček a porušené vazodilatace. Působením RONS jsou ve stěně cévy modifikovány LDL částice a vznikají tzv. minimálně modifikované a oxidované LDL (mmLDL – minimally modified and oxLDL-oxidized), mmLDL mají zoxidovanou pouze lipidovou složku a u oxLDL dochází k oxidační modifikaci i proteinové složky. Tyto částice následně inhibují vazodilataci a působí proaterogenně tím, že aktivují zánětlivou odpověď, prolifera- ci buněk, ale i jejich apoptózu. Syntéza proaterogenních ad- hezních molekul je zvyšována cytokiny (interleukiny, tumor necrosis factor alfa, angiotenzin II, endoteliální růstový faktor VEGF) mechanismy zahrnujícími RONS. Inaktivace NO pů- sobením  $\cdot O_2^-$  a zvýšená tvorba H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inhibuje vazodilataci. Oxi- dační stres působí také zvýšenou apoptózu endoteliálních bu- ňek cestou aktivace signální cesty proteinkinázy C (21). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i  $\cdot O_2^-$  významně ovlivňují migraci hladkých svalových buněk do cévních stěn indukci MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1) i proliferaci hladkých svalových buněk. Zvýšením sekrece i ak- tivita metaloproteinázy 9 se RONS podílejí i na zvýšeném od- bourávání extracelulární matrix (22), což má význam při vý- voji nestabilního aterosklerotického plátu a následné trombózy.

### Diabetes mellitus

U diabetes mellitus zvýšený oxidační stres pochází z ně- kolika zdrojů: 1. neenzymatické zdroje, tj. zejména hypergly- kémie, 2. zdroje enzymatické, kde vznikají RONS v důsledku aktivity enzymů, hlavně NAD(P)H oxidázy, xanthinoxidázy, cyklooxygenázy a 3. mitochondriální elektronový řetězec v průběhu oxidativní fosforylace (23). Hyperglykémie zvyšuje tvorbu volných radikálů několika způsoby (24). Během tzv. au- tooxidace glukózy, katalyzované přechodnými kovy, dochází ke vzniku redukováných kyslíkových derivátů, jako jsou  $\Sigma O_2^-$ ,  $\Sigma OH$  a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ale i reaktivních ketoaldehydů. Glukóza je dále schopna vázat se neenzymaticky adicí k aminoskupině pro- teinu (glykace), tímto vznikají přes meziprodukt (Schiffovy bá- ze) tzv. Amadoriho produkty. Důsledkem intramolekulárních přesmyků v Amadoriho produktech je vznik vysoce reaktivních dikarboxylových látek, glyoxalu, methylglyoxalu a 3-deoxy- glukosonu. Řádově během týdnů jsou Amadoriho produkty po intra- a intermolekulárních přestavbách přeměňovány na no- vou třídu molekul, tzv. Maillardovy sloučeniny, neboli AGE (advanced glycation end products). U hyperglykémie se me- tabolismus glukózy ubírá i polyolovou cestou, která také ve- de ke zvýšené tvorbě  $\Sigma O_2^-$ . Glukóza je nejprve redukována aldozoreduktázou za účasti NADPH na sorbitol, ten je oxido- ván NAD<sup>+</sup> s následným zvýšením poměru NADH/NAD<sup>+</sup> v cy- tosolu (hyperglykemická pseudohypoxie).

Zdrojem zvýšené tvorby superoxidu  $\Sigma O_2^-$  jsou u diabetu vedle hyperglykémie také enzymatické aktivity NAD(P)H oxi- dázy, xanthinoxidázy i cyklooxygenázy, jejichž působením vzniká  $\Sigma O_2^-$  jednonoelektronovou redukcí kyslíku. Se vzestupem hladiny  $\Sigma O_2^-$ , možná v důsledku poklesu BH<sub>4</sub> jsou spojeny sta- vy spojené s inzulinovou rezistencí jako obezita, arteriální hy- pertenze a diabetes mellitus (25). Superoxid, tvořený v mito- chondriálním systému za hyperglykemických podmínek,



Obr. 4. Oxidační stres a hyperglykémie v patofyziologii diabetu (dle 26)

COX-2 – izoforma 2 cyklooxygenázy, SOD – superoxid dismutáza, PKC – proteinkináza C, F-3-P – fruktóza 3-fosfatáza, GFAT – glutamin: fruktóza 6-fosfát aminotransferáza, Gln – glutamin, Glu – glutamát, PGs – prostaglandiny

aktivuje enzym poly (ADP-ribóza) polymerázu (PARP). To působí inhibiči glycerinaldehydfosfát dehydrogenázy (GAPDH) s následným zvýšením koncentrace glycerinaldehyd-3-fosfátu a aktivací 4 patologických mechanismů: 1. polyolové cesty, 2. glukozaminové cesty, 3. zvýšené tvorby methylglyoxalu a AGE, 4. vzniku diacylglycerolu (DAG), který aktivuje PKC (proteinkinázu C) (26). Aktivaci PKC je možné vysvětlit některé cévní abnormality pozorované u diabetu (změny funkcí buněk endoteliálních, mezangiálních, buněk hladkého svalstva čev s výslednými změnami permeability, kontraktility a syntézy bazální membrány). PKC může také modulovat působení hormonů, růstových faktorů a iontových kanálů. Následně působení oxidačního stresu v patofyziologii komplikací diabetu je podán na obrázku 4.

### Hyperlipidémie

Hypercholesterolemie i hypertriglyceridémie (HTG) jsou zdrojem zvýšeného oxidačního stresu. Je u nich zjišťována zvýšená tvorba  $\Sigma O_2\cdot$ , zřejmě v důsledku zvýšené aktivity xanthin oxidázy (27) a NAD(P)H oxidázy (28). Léčiva užívaná k léčbě těchto dvou stavů, statiny a fibráty, nesnižují pouze hladinu lipidů, ale mají tzv. pleiotropní účinky, mezi které patří i příznivé účinky na oxidační stres. U nemocných s HTG léčených fibráty byl popsán pokles hladiny konjugovaných diennů, prodloužení lag fáze lipoproteinových částic VLDL a LDL i vzestup aktivity SOD a GPx (29).

### Neurodegenerativní onemocnění

Mozek je vůči oxidačnímu stresu vysoce citlivý, protože využívá 20 % kyslíku spotřebovávaného organismem (30). Mozek také obsahuje velké množství vícenenasycených mastných kyselin a železa a nízkou koncentraci antioxidantních enzymů.

**Parkinsonova nemoc.** U Parkinsonovy nemoci dochází k degeneraci neuronů v substantia nigra, secernujících dopamin, které se podílí na kontrole a plánování pohybu. Před-

pokládá se, že v patofyziologii choroby se uplatňuje tvorba RONS a oxidace dopaminu (31). U pacientů s Parkinsonovou nemocí jsou silné důkazy o působení oxidačního stresu. V mozku pacientů s Parkinsonovou nemocí byla zjištěna zvýšená množství oxidovaných forem proteinů, lipidů a nukleových kyselin, jako jsou karbonyly proteinů, 4-hydroxy-2-nonenol a 8-hydroxy-2-deoxyguanosin (2, 3, 5, 9–11).

**Alzheimerova nemoc.** Podobně se oxidační stres podle současných názorů uplatňuje také v patogenezi Alzheimerovy nemoci. Alzheimerova nemoc (AD) je heterogenní onemocnění, za jejíž hlavní rys je považováno ukládání amyloidu beta ( $A\beta$ ) v mozku. Beta-amyloid je ukládán extracelulárně v tzv. senilních plácích a je tvořen z těla vlastního amyloidového prekurzorového proteinu (APP). Dalším patologickým proteinem u AD je degenerovaný protein tau, uložený intracelulárně (32). Tvorba RONS, jako např.  $H_2O_2$  provázející redukcí kovových iontů, vedla k oxidačnímu poškození neuronů a vzniku  $A\beta$ .  $A\beta$  sám je zdrojem oxidačního stresu. Během progresu AD byla prokázána lipoperoxidace, oxidační poškození proteinů i DNA.

V mozkové tkáni jsou u pacientů s AD prokazovány markery oxidačního stresu, jako je zvýšená aktivita hem-oxygenázy 1 (HO-1) a koncentrace 8-hydroxyguaninu (8-OHG). Senilní plaky nesou známky oxidativního poškození jako modifikace Maillardovými sloučeninami (AGE), karbonylace, „síťování“ (cross-linking) proteinů. V mozkové tkáni nemocných s AD jsou také prokazovány zvýšené koncentrace železa a mědi. Přesné mechanismy spojení mezi oxidačním stresem a smrtí neuronů, vedoucí k poruchám poznávacích procesů, však zatím nebyly objasněny (33).

### Psychiatrická onemocnění

V poslední době je úloha oxidačního stresu sledována i u některých psychiatrických onemocnění, zejména schizofrenie, ale i depresivních poruch, obsedantní kompulzivní poruchy (OKP) a autismu.

**Schizofrenie.** U pacientů se schizofrenií je většinou prokazována dysfunkce antioxidantního systému spojená s vystupňovanou lipoperoxidací. Mechanismy vzniku a působení oxidačního stresu u schizofrenie nejsou jasné, někteří autoři ukazují na význam zvýšeného obrátu katecholaminů u nemocných se schizofrenií (34).

**Depresivní poruchy.** V etiopatogenezi deprese se předpokládá účast oxidačního stresu, a protože mozek obsahuje velké množství vícenenasycených mastných kyselin, železa a nízkou koncentraci antioxidantních enzymů je k jeho působení náchylný. Deprese je často spojena i se subklinickým zánětem provázeným zvýšenými hladinami zánětlivých cytokinů, zvyšujících tvorbu reaktivních částic (35). Byla popsána korelace závažnosti symptomů deprese s hladinou lipoperoxidů v séru.

## ZÁVĚR

RONS i antioxidantní systémy hrají v organismu důležitou úlohu. Jejich vývoj šel ruku v ruce s vývojem aerobního metabolismu a ochrany před toxicitou kyslíku. Role RONS není pouze negativní účastí v patofyziologických mechanismech různých chorob, ale RONS mají též řadu příznivých účinků a jsou součástí přirozených buněčných signálních drah. Jejich patologické působení závisí hlavně na nerovnováze prooxidačních a antioxidantních systémů. V současné době je jejich studiu věnována zvýšená pozornost a lze doufat v brzké uplatnění poznatků pro léčbu chorob, v jejichž rozvoji se RONS uplatňují.

### Zkratky

13-HODE	– a 13-hydroxy-9,11-oktadekadienová kyselina
4-HNE	– 4-hydroxynonenal
8-OH-dG	– 8-hydroxydeoxyguanozin
8-OHG	– 8-hydroxyguanin
9-HODE	– 9-hydroxy-10,12-oktadekadienová kyselina
AD	– Alzheimerova nemoc
ADMA	– asymetrický dimethylarginin
AGE	– advanced glycation end products
AP-1	– activated protein-1
APP	– amyloidový prekurzorový protein
Aβ	– amyloid beta
BH <sub>4</sub>	– tetrahydrobiopterin
Ca <sup>2+</sup>	– intracelulární kalcium
CAT	– kataláza
CE	– esterifikovaný cholesterol
cGMP	– cyklický guanylnofosfát
Co Q <sub>10</sub>	– koenzym Q <sub>10</sub>
COX	– cyklooxygenáza
COX-2	– izoforma 2 cyklooxygenázy
CRP	– C-reaktivní protein
cysLT	– cysteinylleukotrieny
DAG	– diacylglycerol
eNOS	– endoteliální syntáza NO
F-3-P	– fruktóza 3-fosfatáza
FAD	– flavinadeninukleotid
FC	– volný cholesterol
FMN	– flavinmononukleotid
GAPDH	– glyceraldehydrofosfát dehydrogenázy
GFAT	– glutamin: fruktóza 6-fosfát aminotransferáza
Gln	– glutamin
Glu	– glutamát
GPx	– glutathion peroxidáza
GR	– glutathion reduktáza
GSH	– glutathion
GSSG	– glutathion disulfid
GST	– glutathion S-transferáza
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	– peroxid vodíku
HClO	– kyselina chlorná
HETE	– hydroxyeikosatetraenová kyselina
HO-1	– hem-oxygenáza
HPETE	– hydroperoxyeikosatetraenová mastná kyselina
HTG	– hypertriglyceridémie
IFN-γ	– interferon gamma

ICHS	– ischemická choroba srdeční
IL	– interleukin
iNOS	– inducibilní NOS
LDL	– lipoproteiny o nízké hustotě
LH	– mastná kyselina
LO-x	– lipoxygenáza
LT	– leukotrieny
LX	– lipoxiny
MCP-1	– monocyte chemotactic protein-1
MDA	– malondialdehyd
mmLDL	– minimálně modifikované a oxidované LDL (minimally modified and oxLDL-oxidized)
MPO	– myeloperoxidáza
NF-κB	– nuclear factor kappa B
nNOS	– neuronální NOS
NO	– oxid dusnatý
NOS	– syntáza oxidu dusnatého
OKP	– obsedantní kompulzivní porucha
ONOO <sup>-</sup>	– peroxynitrit
OS	– oxidační stres
PDGF	– platelet derived growth factor
PGs	– prostaglandin
PKC	– proteinkináza C
PPAR-γ	– peroxisome proliferator-activated receptor gamma
PUFA	– polyunsaturated fatty acids
RONS	– reactive oxygen and nitrogen species
ROS	– reaktivní sloučeniny kyslíku
sGC	– solubilní guanylát cykláza
SMC	– proliferace hladkých svalových buněk
SOD	– superoxid dismutáza
TNF-α	– tumor nekrotizující faktor alfa
TRRed	– thioredoxin reduktáza
XD	– xanthin dehydrogenáza
XO	– xanthoxanthin oxidáza

## LITERATURA

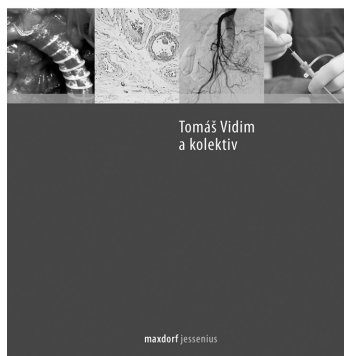
1. **Ignarro LJ, Cirino G, Casini A, Napoli C.** Nitric oxide as a signalling molecule in the vascular system: an overview. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34: 879–886.
2. **Sies H.** Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klin Wochenschr* 1991; 69(21–23): 965–968.
3. **Halliwell B, Whiteman M.** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004; 142: 231–255.
4. **Štípek S. (ed.)** Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Praha: Grada Publishing 2000.
5. **Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem & Cell Biol* 2007; 39: 44–84.
6. **Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS.** Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 39–38.
7. **Harrison R.** Physiological Roles of Xanthine Oxidoreductase *Drug Metab Rev* 2004; 36(2): 363–375.
8. **Racek J, Holeček V.** Enzymy a volné radikály. *Chem Listy* 1999; 93: 11A–780.
9. **Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB, 3rd.** Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17: 24–38.
10. **Smith WL.** The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *Biochem. J* 1989; 259: 315–324.
11. **Hazen SL, Heinecke JW.** 3-chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. *J Clin Invest* 1997; 99(9): 2075–2081.
12. **Brennan ML, Hazen SL.** Emerging role of myeloperoxidase and oxidant stress markers in cardiovascular risk assessment. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14: 353–359.
13. **Lawson JA, Rokach J, Fitzgerald GA.** Isoprostanes: formation, analysis and use as indices of lipid peroxidation in vivo. *J Biol Chem* 1999; 274 (35): 24441–24444.
14. **Stadtman ER.** Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Biol Med* 1990; 9: 315–325.

15. **Grune T, Reinheckel T, Davies Kja.** Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB J* 1997; 11: 526–534.
16. **Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, et al.** Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(10): 1456–1462.
17. **Hodgson JM, Wats GF.** Can coenzyme Q10 improve vascular fiction and blood pressure? Potential for effective therapeutic reduction in vascular oxidative stress. *Biofactors* 2003; 18 (1–4): 129–136.
18. **Heller R, Unbehaun A, Schellenberg B, et al.** L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem* 2001; 276(1): 40–47.
19. **Vítek L, et al.** Gilbert syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis* 2002; 160(2): 449–456.
20. **Piette J, Piret B, Bonini G, Schoonbroodt S, Merville MP, Legrand-Poels S, Bours V.** Multiple redox regulativ in NF-kappa B transcription factor activation. *Biol Chem* 1997; 378 (11): 1237–1245.
21. **Brunt KR, Fenrich KK, Kiani G, et al.** Protection of human vascular smooth cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis through functional codependence between HO-1 and Akt. *Arterioscler. Thromb. Vasc Biol* 2006; 26: 2027–2034.
22. **Libby P, Ridker PM, Maseri A.** Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135–1143.
23. **Griendling KK., FitzGerald GA.** Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: Basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003; 108: 1912–1916.
24. **Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G.** Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19: 257–267.
25. **Das UN.** Folic acid says NO to vascular diseases. *Nutrition* 2003; 19: 686–692.
26. **Brownlee M.** The Pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism. *Banteng Lemure* 2004. *Diabetes* 2005; 54: 1615–1625.
27. **Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG.** Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest* 1993; 6: 2546–2551.
28. **Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, et al.** Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxid synthese. *Circulation* 2002; 105: 1656–1662.
29. **Zeman M, Žák A, Vecka M, Tvrzická E, Romaniv S, Konárková M.** Treatment of hypertriglyceridemia with fenofibrate, fatty acid composition of plasma and LDL, and their relations to parameters of lipoperoxidation of LDL. *Ann NY Acad Sci* 2002; 967: 336–341.
30. **Juurink BH, Patison PG.** Review of oxidative stress in brain and spinal cord Indry: suggestions for pharmacological and nutritional management strategies. *J Spinal Cord Med* 21 1998; 309–334.
31. **Zhang J, Perry G, Smith MA, et al.** Parkinsones dinase is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons. *Am J Pathol* 1999; 154: 1423–1429.
32. **Jirák R, Koukolík F.** Demence. Praha: Galén 2004.
33. **Perry G, Cash AD, Smith MA.** Alzheimer disease and oxidative stress. *J Biomed Biotechnol* 2002; 23: 120–123.
34. **Mahadik SP, Mukherjee S.** Free radical pathology and antioxidant defense in schizoprenia: A review. *Schizophrenia Research* 1996; 19(1): 1–17.
35. **Maziere C, Auclair M, Maziere JC.** Tumor necrosis factor enhances low density lipoprotein oxidative modification by monocytes and endothelial cells. *FEBS Lett* 1994; 338: 43–46.
36. **Tkáč I, Molčányiová A, Javorský M, Kozárová M.** Fenofibrate treatment reduces circulating conjugated diene level and increases glutathione peroxidase activity. *Pharmacol Res* 2006; 53: 261–264.

*Práce byla podpořena výzkumným záměrem MŠMT ČR, MSM 0021620820.*

## ONEMOCNĚNÍ VISCERÁLNÍCH CÉV

diagnostika • chirurgická a endovaskulární léčba



Tomáš Vidim  
a kolektiv

maxdorf.jessenius

## ONEMOCNĚNÍ VISCERÁLNÍCH CÉV Diagnostika, chirurgická a endovaskulární léčba

MUDr. Tomáš Vidim a kol.

Maxdorf 2011, 168 str., edice Jessenius

ISBN: 978-80-7345-248-3

Cena: 495 Kč

Formát: B5, vázaná

Postižení viscerálních cév je provázeno vysokou morbiditou a ve svých akutních projevech také vysokou mortalitou. Chronická ischemie splachnických tepen je však dobře léčitelná a při včasné diagnostice lze snížit fatální riziko nepoznaného onemocnění.

Viscerální ischemie vyžaduje mezioborovou spolupráci. Týká se to jak diagnostiky, na niž se podílejí gastroenterologové, angiologové i další interní a chirurgické obory,

tak zejména léčby. Endovaskulární léčba je již samostatným oborem a kapitola byla zpracována předním specialistou v oboru. Cévně chirurgická léčba je v kompetenci cévního chirurga. Kniha uvádí popis operačních přístupů spolu s obrazovou dokumentací, která by měla být instruktivní pro všechny, kteří v daných oblastech neoperují příliš často.

**Objednávky zasílejte e-mailem nebo poštou: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz. Na objednávce laskavě uveďte i název časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli.**

# Současné možnosti léčení poranění pánevního kruhu

Martin Salášek, Tomáš Pavelka

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta a FN Plzeň, Klinika ortopedie a traumatologie pohybového ústrojí

## SOUHRN

Poranění pánevního kruhu představují závažná poranění v každém věku. Z etiologického hlediska se nejvíce uplatňují vysokoenergetická traumata, a proto jsou poranění pánve často doprovázena dalšími traumaty břicha, hrudníku a hlavy. Nestabilní poranění pánve jsou doprovázena masivním až život ohrožujícím krvácením. V rámci přednemocniční péče je třeba udržovat průchodnost dýchacích cest, dostatečnou oxygenaci, objemovou resuscitaci a vhodným způsobem imobilizovat pánevní kruh. Následuje co nejrychlejší transport do traumatologického centra. Při přijetí u hemodynamicky stabilních pacientů následuje CT vyšetření, u hemodynamicky nestabilních RTG a USG. K dosažení hemodynamické stability se pánevní kruh stabilizuje pánevní C-svorkou nebo pánevním zevním fixátorem. Při arteriálním krvácení se provádí pánevní tamponáda, popř. podvaz a. iliaca interna. Poté lze v akutním období využít vnitřní fixaci s využitím miniinvazivního přístupu (transiliakální vnitřní fixátor, iliosakrální šrouby). Klasickou otevřenou repozicí s vnitřní fixací lze použít až po stabilizaci celkového stavu (po cca 5 dnech); využívají se k ní jednak pánevní dlahy, jednak spinopelvická fixace. Po operační léčbě následuje klidový režim na lůžku a rehabilitace s cílem navrátit pacienta zpět do běžného života.

**Klíčová slova:** poranění pánevního kruhu, C-svorka, vnitřní fixace, miniinvazivní přístup.

## SUMMARY

### Salášek M, Pavelka T. Pelvic ring injuries: current concepts of management

Pelvic ring injuries occur at any age. Most injuries to the pelvis are due to high-energy trauma, these injuries are therefore associated with abdominal, thoracic and head injuries. Unstable disruption of the pelvic ring has been often coupled with massive or life-threatening haemorrhage. The goal of the prehospital management is to keep airway open, start oxygen therapy, fluid replacement therapy and apply appropriate immobilization device. On admission of hemodynamically stable patients CT is preferred, for hemodynamically unstable the plain antero-posterior pelvis radiograph and ultrasound. To achieve hemodynamic stability, the pelvic C-clamp or external fixator should be applied. Pelvic packing or ligation of internal iliac artery is performed in the presence of arterial bleeding. In the acute period minimally invasive internal fixation with closed reduction should be used (transiliacal internal fixator, iliosacral screws). The open reduction with internal fixation can be performed after stabilization of the general state of health (after about 5 days), pelvic plates and spinopelvic fixation are appropriate for this approach. To recover the patient into normal life, bed rest and rehabilitation follows after surgical treatment.

**Key words:** pelvic ring injuries, C-clamp, internal fixation, minimally invasive approach.

Sa.

Čas Lék čes 2011; 150: 433–437

## ÚVOD

Poranění pánevního kruhu představují závažná poranění v každém věku. Mohou se vyskytovat jako izolovaná poranění nebo poranění v rámci sdružených traumat a polytraumat (1, 2). Z etiologického hlediska se nejvíce uplatňují vysokoenergetická traumata, ke kterým dochází při auto-nehodách, při pádech z výšky nebo při přírodních katastrofách (3–5). Vzhledem k mechanismu úrazu jsou poranění pánevního kruhu často doprovázena poraněními břicha, hrudníku, hlavy a končetinovými traumaty.

Podle klasifikace přijaté AO skupinou (Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen) dělíme poranění pánevního kruhu na tři základní typy: **typ A – stabilní, typ B –**

**rotačně nestabilní, typ C – vertikálně a rotačně nestabilní.**

Poranění typu A zahrnují okrajové avulzní zlomeniny, izolované zlomeniny kosti kyčelní, zlomeniny ramének kosti stydké a příčné zlomeniny kosti křížové a kostrče. Jedná se tedy o zlomeniny bez narušení stability pánevního kruhu.

Poranění typu B charakterizuje léze v oblasti předního pánevního segmentu a inkompletní poranění v oblasti zadního segmentu, které umožňuje rotační dislokace.

Pro zlomeniny typu C je charakteristická kompletní léze v oblasti zadního pánevního segmentu, která umožňuje vertikální i rotační dislokaci. U jednotlivých typů existují další podtypy (3).

Otevřené zlomeniny se vyskytují u 5–10% poranění pánevního kruhu. Pro hodnocení otevřených zlomenin v oblasti pánve se mimo klasické Tscherneho klasifikace využívá **Jonesova klasifikace** (3). Jonesova klasifikace rozděluje otevřené zlomeniny do tří stupňů:

1. otevřená zlomenina při **stabilním poranění pánevního kruhu, bez poranění rekta,**
2. otevřená zlomenina při **nestabilním poranění pánve, bez poranění rekta,**
3. otevřená **zlomenina při nestabilním poranění pánevního kruhu s poraněním rekta a fekální kontaminací.**

### ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Martin Salášek  
Klinika ortopedie a traumatologie pohybového ústrojí LF UK a FN  
Alej Svobody 80, 304 60 Plzeň  
fax: +420 377 103 955 e-mail: martin.salasek@seznam.cz,  
salasekm@fnplzen.cz, salam3az@lfp.cuni.cz

Čím vyšší stupeň, tím vyšší riziko rané infekce a dalších komplikací. Zařazení typu zlomeniny do klasifikačního schématu je důležité pro rozhodování o typu léčby, hodnocení výsledků a komplikací a pro posudkovou činnost.

V léčbě všech typů poranění pánevního kruhu lze rozlišit následující tři etapy:

1. přednemocniční péče, 2. nemocniční léčba, 3. následná péče a rehabilitace.

## PŘEDNEMOCNIČNÍ PÉČE

Prvním krokem přednemocniční péče je **včasná identifikace možného poranění pánve** (6). Další kroky směřují k **omezení pánevního krvácení**, k tomu se používá imobilizace pánve pomocí pánevního pásu, vakuové matrace, protišokové kalhoty (7). V nouzi lze použít i bandáž pomocí prostěradel, která jsou upevněna svorkami. Pokud nejsou k dispozici předchozí pomůcky, lze využít i polohy pacienta se semiflektovanými kyčelními klouby, které jsou zároveň vnitřně rotovány a addukovány. Poloha dolní končetiny ve vnitřní rotaci, addukci a semiflexi se zabezpečí stažením obou kolenních kloubů elastickým obinadlem. Díky těmto pomůckám se na pánev působí cirkumferenciálním tlakem, čímž dochází ke kompresi v oblasti lomných linií, brání se zvětšování pánevního objemu, a tak vzniká tamponáda krvácení hematodem. V případě otevřených zlomenin je nezbytná komprese rány sterilním krytím (8).

Současně se zajišťují žilní vstupy pro **objemovou resuscitaci**, která se zahajuje již během transportu. Během celé přednemocniční péče je třeba udržovat volné dýchací cesty a zabezpečit vhodnou analgezií. **Následuje co nejrychlejší transport** do traumatologického centra. Přednemocniční péči tak lze shrnout do těchto základních bodů: vhodná **imobilizace pánevního kruhu, zajištění průchodnosti dýchacích cest a dostatečné oxygenace, objemová resuscitace, transport** do traumatologického centra.

## LÉČBA V NEMOCNICI

Cílem nemocniční léčby je záchrana života, obnovení integrity a funkce pánevního kruhu. **Pro správnou léčbu je nezbytná rychlá diagnostika.** Z hlediska stability krevního oběhu lze rozdělit pacienty s poraněním pánevního kruhu na dvě velké skupiny – **pacienty hemodynamicky stabilní a hemodynamicky nestabilní**, podle toho se mění schéma použitých zobrazovacích metod a postup terapie.

### Schéma postupu u hemodynamicky stabilního pacienta

Jako iniciální vyšetření je zařazeno CT, vzhledem k vysokoenergetické etiologii jako **celotělové CT** (tj. se zobrazením hlavy, hrudníku, břicha, pánve) (3). Při nálezů stabilního poranění bez hemoperitonea, bez pánevního hematomu a bez komplikujících poranění parenchymatózních orgánů je možný v urgentní fázi konzervativní postup na jednotce intenzivní péče (JIP), ARK. Při nálezů hemoperitonea, popř. při závažném poranění parenchymatózních orgánů je indikována v urgentní fázi explorativní laparotomie.

### Schéma postupu u hemodynamicky nestabilního pacienta

Při hemodynamické nestabilitě lze urgentní péči rozdělit podle času od přijetí. V prvních 5 minutách po přijetí – **při zevním krvácení a pánevním crush syndromu následuje neprodleně** převoz na operační sál a **urgentní operace**. Při zavřeném poranění se pokračuje v objemové resuscitaci – **iniciálně se podávají 2 l krystaloidů**, udržují se **volné dýchací cesty** a dostatečná oxygenace. V průběhu této resus-

citace se provádějí jen RTG **snímky tzv. z vitální indikace** – RTG snímek pánve a hrudníku v předozadní projekci a krční páteře v boční projekci. Současně je doplněno rychlé **ultrasonografické vyšetření (USG) břicha, hrudníku**, které má vyloučit přítomnost hemoperitonea, hemotoraxu, srdeční tamponády. Při diagnóze **tenzního pneumotoraxu** se zavádí co nejdříve hrudní drenáž, při srdeční tamponádě se drénuje perikardiální dutina (a následně kardiokirurgická revize). Pokud USG prokáže **hemoperitoneum** a poranění parenchymatózních orgánů, následuje **urgentní laparotomie** bez dalšího dovyšetřování.

**Při zástavě oběhu** je třeba vyloučit příčiny **4H + 4T** (hypovolémie, hypotermie, hypoxie, hyperkalémie/hypokalémie; tenzní pneumotorax, srdeční tamponáda, tromboembolická nemoc, toxické vlivy) a neprodleně zahájit kardiopulmonální resuscitaci.

V rámci vstupního vyšetření je nutné posoudit **stabilitu pánevního kruhu**. Pro posouzení stability se využívá klinické vyšetření a zhodnocení předozadního skiagramu pánve.

**Klinické známky nestability:** velká **dislokace** (deformita oblasti pánve, rotace, zkrat dolní končetiny), masivní **edém** a **hematom** měkkých tkání, nestabilita při palpačním vyšetření (tlak na oba hřebeny lopat kyčelních kostí vyvolá **rozevření pánve** nebo **příznak plovoucího křídla**), **otevřená zlomenina, poranění pánevních cév, nervů, poranění pánevních orgánů**.

**Radiologické známky nestability: dislokace** v zadním pánevním segmentu **větší než 1 cm, štěrbina patrná v lomné linii** (zejména ve spongiózní kosti), **avulzní zlomenina křížové nebo sedací kosti** (odlomení úponu sakrospinálních vazů), **avulzní zlomenina příčného výběžku obratle L5** spolu se štěrbinou v lomné linii v zadním segmentu nebo impakci v zadním segmentu pánve, **vertikální zlomenina rami ossis pubis a ramus ossis ischii** (3).

Po iniciálním podání 2 l krystaloidů se znovu vyhodnocuje hemodynamická stabilita (období 5–10 minut). Pokud je prokázáno **nestabilní poranění pánevního kruhu**, je třeba urgentní stabilizace pánevního kruhu **pomocí C-svorky** nebo **pomocí zevního pánevního fixátoru**. V případě dostupnosti CT vyšetření na urgentním příjmu a **při možnostech současné objemové resuscitace během CT** je některými autory preferováno provedení urgentního CT vyšetření místo RTG a USG (9).

**Indikací pro naložení pánevní C-svorky jsou nestabilní poranění pánve** (zlomeniny kosti křížové, dislokace v SI kloubu) **s hemodynamickou nestabilitou**. Mezi kontraindikace stabilizace C-svorkou patří zlomeniny lopaty kyčelní, kdy hrozí riziko perforace jistících šroubů. Relativní kontraindikací jsou kominutivní sakrální zlomeniny, kdy je možnost poranění sakrálního plexu, ale zástava krvácení v oblasti pánve má prioritu před eventuálním neurologickým poškozením. Pánevní svorka stlačuje lomné linie, brání další dislokaci, a zabezpečuje tak podmínky pro **zachování efektu tamponády pánevního hematomu**. C-svorka tak umožňuje stabilizaci pro akutní fázi ošetření a resuscitaci, nemá však dostatečnou stabilitu pro mobilizaci. Stručný postup naložení C-svorky: incize v oblasti průsečíku dlouhé osy femoru a horizontály vedené v oblasti spina iliaca anterior superior, kontraincize na druhé straně ve stejné úrovni, cca 4 prsty proximálně nad vrcholem velkého trochanteru (10). Tupá preparace směrem k lopatě kyčelní kosti. Zavedení jistících hřebů (pinů). Poté za současné komprese pánevního kruhu je na jistící hřeby nasazen rám C-svorky (kompresi a zavřenou repozici provádí operatér, asistence nasazuje C-svorku).

Alternativou ke stabilizaci pánev pomocí C-svorky je využití **zevního fixátoru**. Pánevní zevní fixátor se urgentně přikládá do oblasti hřebene kosti kyčelní – např. 2 piny na obou stranách, pokud se zavádí při hemodynamické stabilitě pacienta je lepší využít supraacetabulární zavedení za RTG kontroly.

**Pokud přetrvává hemodynamická nestabilita i přes naložení C-svorky nebo ZF, je třeba uvažovat o pánevním ar-**

**teriální krvácení, případně o dosud nediodagnostikovaném masivním krvácení v oblasti břicha nebo hrudníku.** Pánevní arteriální krvácení lze urgentně řešit **pánevní tamponádou** (11), při jejím neúspěchu poté **podvazem a. iliaca interna**. **Pánevní tamponáda** se provádí jako přímá retroperitoneální tamponáda. Po naložení C-svorky následuje cca 8 cm incize ve střední čáře (jako při DSL), neotevírá se peritoneální dutina, následuje přístup do paravezikálního a presakrálního prostoru a vkládají se roušky do oblasti malé pánve. Posléze se rána uzavírá. Revize a vynětí roušek je za 24–48 hodin po primárním poranění. Výhodou je rychlost provedení, hlavní nevýhodou je nutnost vynětí tamponujících roušek ve 2. době. Pánevní tamponáda je preferována u otevřených zlomenin, kdy je primárně nedostatečný efekt tamponády pánevním hematodem.

Pokud není pánevní tamponáda úspěšná, provádí se podvaz a. iliaca interna na postižené straně, neboť zdroje krvácení leží nejčastěji v povodí a. iliaca interna (zejména v oblasti a. glutea superior a a. pudenda interna) (9, 12).

Pokud přesto dále přetrvává **hemodynamická nestabilita** provádí se **pánevní angiografie** (DCA – damage control angiography). Katétr se zavádí na méně postižené straně cestou a. femoralis, po diagnostické angiografii následuje embolizace vhodným materiálem (není vhodné využívat susperselektivní embolizace vzhledem k delšímu času provedení) (3). Pokud se provádí po naložení C-svorky urgentní CT vyšetření i s podáním kontrastní látky, lze místo diagnostické angiografie pro zobrazení pánevního arteriálního krvácení využít **extravazace kontrastní látky na CT skenech** (13). Pro embolizaci se využívají například želatinové částice (14). Po úspěšné embolizaci a dosažení hemodynamické stability následuje intenzivní terapie na JIP. Současně použití C-svorky a pánevní embolizace vyhodnocovala studie Sadriho et al. (15). Hlavní nevýhodou urgentní angiografie je **delší čas provedení** (okolo 30 min) a většinou **nedostupnost** v prostorách **urgentního příjmu** (3).

Při přetrvávající hemodynamické nestabilitě se musí vyloučit též jiný zdroj krvácení mimo oblast pánve, neboť **při nestabilním poranění pánve je až v 50 % oběhová nestabilita způsobena jiným zdrojem krvácení**.

Po celou dobu se provádí objemová resuscitace. Kromě podávání **erytrocytárních koncentrátů a čerstvě zmrazené plazmy v poměru 1 : 1** se dle hemokoagulačního vyšetření podávají též **koncentráty koagulačních faktorů** (např. komplex protrombinového faktoru), popř. při život ohrožujících krváceních též **rekombinantní faktor VIIa** (16), např. preparát NovoSeven®.

Při dosažení hemodynamické stability následuje další vyšetření, které má za úkol odhalit komplikující poranění. Poranění pánve jsou v 15–20 % doprovázeny **poraněním urogenitálního traktu** (7). Na urogenitální trauma je třeba myslet při poraněních předního pánevního segmentu s výraznou dislokací, při bolestech v podbřišku, při přítomnosti hematurie, při nemožnosti spontánního močení a uretroragii, hematomu v oblasti zevního genitálu. Provádí se pokus o zavedení Foleyova katétru – zavádí se jen v tom případě, že není podezření na poranění uretry. Při jakémkoliv podezření na uretrální trauma se provede nejdříve retrográdní uretrogram s kontrastní látkou rozpustnou ve vodě. Při poranění uretry se provádí drenáž pomocí **suprapubické punkce** (např. pod USG kontrolou) (7). Po zavedení uretrálního katétru (popř. suprapubického katétru) se provádí zobrazení močového měchýře. Lze k tomu využít jak CT (**CT cystografie**), tak klasické **retrográdní cystografie**. Lze tak prokázat rupturu **močového měchýře, poranění uretry**. Rupturu močového měchýře lze dále rozlišit na extraperitoneální, intraperitoneální a kombinovanou (17). Při extraperitoneální ruptuře močového měchýře se na začátku postupuje konzervativně, pokud je vzhledem k velikosti ruptury nutná sutura, provádí se nejčastěji spolu s osteosyntézou předního pánevního segmentu (17). **Intraperitoneální ruptury**, vzhledem k riziku infekce v peritoneální dutině, **vyžadují časnou suturu**. V případě poranění

uretry je většinou v rámci primárního ošetření konzervativní postup a poté odložená rekonstrukce. Přidružená poranění zevního genitálu u mužů se řeší ve spolupráci s urologem, u žen je zapotřebí kooperace s gynekologem.

#### **Opatření při otevřených zlomeninách a při poraněních s fekální kontaminací**

Při otevřených zlomeninách v oblasti pánve dochází při porušení kožního krytu v místě zlomeniny nebo komunikujícím poranění do oblasti malé nebo velké pánve, představují cca 4–5 % ze všech poranění pánevního kruhu (8). Je jednak zvýšené riziko krvácení, jednak ranné infekce. Otevřené rány se po důsledné toaletě revidují, odstraňují se příp. cizí tělesa, nekrotické tkáně, rány se většinou ponechávají k sekundárnímu hojení (při velkých laceracích). **V případě těžkého rektálního poranění se provádí časná kolostomie** (do 6–8 hodin od přijetí), ke snížení následných infekčních komplikací. U všech otevřených zlomenin je nutná antibiotická terapie, tetanová profylaxe (TEGA 250 I. U. i. m., TAT i. m.), při fekální kontaminaci se provádí výplach fyziologickým roztokem (ke snížení fekální kontaminace), při komunikaci pánevního hematomu v oblasti rekta se v rámci urgentního ošetření provádí tamponáda v oblasti rekta (k zamezení evakuace pánevního hematomu) (2).

Podle stavu pacienta lze operační terapii poranění pánevního kruhu rozdělit do tří skupin podle urgentnosti provedení: 1. výkony z vitální indikace, 2. pánevní DCS, 3. výkony časně nebo odložené definitivní vnitřní fixace.

**1. Výkony z vitální indikace** – cílem je záchrana života, odvrácení ireverzibilních změn. Jejich úkolem je **dosažení hemodynamické stability**. Patří sem emergentní naložení C-svorky nebo pánevního ZF, dále provedení pánevní tamponády, popř. podvaz a. iliaca interna.

**2. Pánevní DCS** (pelvic damage control surgery) – po dosažení hemodynamické stability C-svorkou, ZF nebo pánevní tamponádou, a pokud to celkový stav pacienta umožňuje, následuje **miniinvazivní vnitřní osteosyntéza** – k ní lze v oblasti zadního pánevního segmentu využít např. transilakální vnitřní fixátor (TIFI) nebo sakroiliakální šrouby (TISS).

**3. Výkony časně nebo odložené definitivní vnitřní fixace** – po stabilizaci celkového stavu lze po cca 5 dnech využít klasické postupy ORIF (otevřená repozice s vnitřní fixací), popř. opět **miniinvazivní techniky osteosyntézy**.

#### **Souhrn definitivní terapie dle typu poranění dle AO klasifikace**

**Poranění typu A** – nedislokované zavřené zlomeniny, bez neurologického deficitu, bez přítomnosti komplikujících poranění v oblasti pánve se léčí většinou konzervativně. Operační léčbu vyžadují dislokované zlomeniny křížové kosti, výrazně dislokované zlomeniny ramének kosti stydké nebo lopaty kyčelní, otevřené zlomeniny, poranění s neurologickým deficitem.

**Při dislokovaných zlomeninách ramének kosti stydké** se užívají např. pánevní dlahy, retrográdní intramedulární šroub, subkutánní ventrální vnitřní fixátor (SVFI) (18). Pro využití dlah se užívá opět ORIF, pro intramedulární šroub stejně jako pro SVFI lze využít miniinvazivní zavedení pod skiafrackou kontrolou, po předchozí zavřené repozici. Stejně jako u symfyzeolýzy lze též použít zevní pánevní fixátor.

**Dislokované zlomeniny lopaty kosti kyčelní** – pro stabilizaci se využívají hlavně následující dva implantáty – 1. pánevní dlahy, 2. kortikální šrouby – nebo lze využít i kombinace obou implantátů (19). Umístění pánevních dlah vyžaduje metodu otevřené repozice a rozsáhlý operační přístup, kortikální šrouby lze, pokud je dosaženo zavřené repozicí vyhovujícího postavení, implantovat též miniinvazivně. Přístup pro otevřenou repozici se volí dle lokalizace zlomeniny (7). Při dislokovaných avulzních zlomeninách v oblasti trnů kosti kyčelní se využívají např. tahové šrouby.

**Poranění typu B** – symfyzeolýza do 2 cm, bez komplikujících poranění – lze léčit konzervativně klidem na lůžku, poté chůzí se symetrickou zátěží a odlehčením obou dolních končetin. Při větší dislokaci je třeba zvažovat stabilizaci předního pánevního segmentu. V úvahu připadají přední pánevní dlahy, cerkláz s využitím vstřebatelných vláken nebo zevní fixátor. Cerkláz s využitím vstřebatelného materiálu (např. PDS) je výhodná zejména při poranění u dětí a adolescentů, dále též tím, že není nutné tento materiál extrahovat ve 2. době (20). Zevní fixátor má výhodu v miniinvazivitě, možnosti zavedení u otevřených poranění, při vysokém riziku infekce, dále při urgentní fixaci při primárním ošetření. Nevýhodou jsou obtíže při polohování pacienta, při sezení, oblékání, obtížnější zavádění u oběžných pacientů, zvýšené riziko infekce v okolí upevňovacích pinů a obtížnější repozice (7). Dlahová technika se provádí většinou metodou ORIF, využívá se též při komplikujících poraněních urogenitálního traktu. Přístupem je nejčastěji suprapubická příčná laparotomie (Pfannestielův přístup). V případě výrazné rotační složky při poranění typu B v oblasti zadního pánevního segmentu je zapotřebí doplnit též stabilizaci zadního segmentu (3).

**Poranění zadního pánevního segmentu** – lze mezi ně zařadit kompletní vertikální zlomeniny kosti kyčelní, dislokace v SI kloubu, vertikální zlomeniny kosti křížové. Typ vnitřní fixace a přístup se volí nejen dle typu poranění, ale též podle přítomnosti komplikujících poranění (neurologický deficit, poranění rekta, otevřené zlomeniny apod.). K dispozici jsou implantáty jak pro klasickou metodiku ORIF (přední pánevní dlahy, spinopelvicke fixace, méně zadní pánevní dlahy), tak pro miniinvazivní přístup (TIFI (21), kanylované sakroiliakální šrouby – TISS (22, 23), svorníky (23)). Ve vybraných situacích se používá kombinace vhodných implantátů (např. 2x TISS, TISS + TIFI apod.). Indikací pro otevřený přístup (ORIF) jsou poranění, kde se nezdařila zavřená repozice, dále poranění s neurologickým deficitem.

Svorníky lze též využít pro zlomeniny křížové kosti a pro dislokace v SI kloubu. V současnosti se zavádějí méně často, díky většímu riziku poranění měkkých tkání v sakrální krajině, nižší stabilitě a pro omezenou nabídku těchto implantátů (7).

TISS jsou implantáty vhodné pro miniinvazivní fixaci v oblasti SI kloubů. Zavádí se perkutánně pod skiagrafickou kontrolou do oblasti S1, méně často do S2 (vzhledem k většímu riziku iatrogenního poranění sakrálního plexu). Podle stability poranění se používá buď jeden šroub (24), případně dva (25) nebo TISS doplňují jiný typ fixace. Pro precizní implantaci se v současnosti používá CT navigace (26), obdobně lze navigovat i pomocí 2D skiografie (27). Pro poranění, která jsou kontraindikována pro použití miniinvazivního přístupu, je určena otevřená repozice s vnitřní fixací (28). Jako přístup se volí například ilioinguinální přístup (pro přední dlahy) a zadní střední přístup (pro zadní dlahy), jedná se však o poměrně extenzivní přístupy, čímž roste i riziko následných ranných komplikací, zvyšuje se riziko pokračování krvácení. Hlavní nevýhodou ORIF je ve většině případů nemožnost využití v akutním období, tj. v období prvních 24 hodin po traumatu.

Spinopelvicke fixace (29, 30) patří mezi stabilní typy fixace, která se užívá zejména při poraněních typu C, pokud nelze dostatečné biomechanické stability dosáhnout s využitím jiných méně invazivních technik. Obdobně se při ORIF využívají zadní pánevní dlahy.

## NÁSLEDNÁ PÉČE A REHABILITACE

Rehabilitace (jak během hospitalizace, tak po propuštění do domácí péče) je nezbytnou součástí léčebného procesu. V akutním období zahrnuje hlavně klidový režim na lůžku, dechovou rehabilitaci a antidekubitální prevenci. Po stabilizaci pánevního kruhu je třeba individualizovat typ vhodné RHC s ohledem na typ primárního poranění pánevního kruhu, na druh použité fixace a na rozsahu přidružených poranění (31).

Celkové trvání klidového režimu na lůžku se tak pohybuje v řádu týdnů (cca 5–6 u nestabilních poranění (32)). Posléze následuje postupná vertikalizace (33) a návlek chůze o berlích, nejčastěji se symetrickou zátěží a s odlehčením obou DK. Plná zátěž je dle typu poranění možná za cca 6 měsíců (32). U stabilních poranění (typ A) je klid na lůžku většinou kratší, zaměřuje se na eliminaci tahu svalů, které by mohly způsobit dislokaci úlomků (např. při avulzi spina iliaca ant. sup. poloha se semiflektovanými kyčelními klouby), omezení sedu při avulzi tuber ischiadicum apod.).

## ZÁVĚR

Nestabilní poranění pánevního kruhu představují i přes pokroky v jejich léčbě stále závažná traumata. V rámci přednemocniční péče je třeba udržovat volné dýchací cesty a dostatečnou oxygenaci, zahájit objemovou resuscitaci, vhodně imobilizovat pánev a poraněného co nejrychleji transportovat do traumatologického centra. Po přijetí v nemocnici je klíčová včasná diagnostika. U hemodynamicky stabilních pacientů je nejpřínosnější provedení CT vyšetření, v případě hemodynamické nestability se provádí nejdříve AP skiagram pánve a ultrazvukové vyšetření břicha a hrudníku. Pro urgentní stabilizaci pánve při hemodynamické nestabilitě se využívá pánevní C-svorka nebo zevní fixátor. V případě arteriálního pánevního krvácení je pro hemodynamickou stabilizaci nezbytné použití pánevní tamponády rouškami, případně doplněné o podvaz poraněné a. iliaca interna. Pokud i přes předchozí opatření stále pokračuje pánevní krvácení, doplňuje se pánevní angiografie s embolizací. Po dosažení stabilizace celkového stavu se pánevní kruh stabilizuje s využitím implantátů pro vnitřní fixaci. V akutním období lze fixaci provést díky implantátům pro miniinvazivní fixaci. Konkrétní způsob stabilizace předního a zadního pánevního segmentu je třeba vždy individuálně posoudit. Po cca 5–6týdenním klidovém režimu na lůžku následuje rehabilitace, která je nezbytnou součástí léčby.

### Zkratky

AO	– Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen (Společnost pro otázky osteosyntézy)
AP	– anteroposteriorní, předozadní
ARK	– anesteziologicko-resuscitační klinika
DCA	– damage control angiography (angiografie provedená urgentně při hemodynamické nestabilitě, jejím cílem je dosažení hemodynamické stability)
DCS	– damage control surgery (okamžité chirurgické zákroky pro záchranu života)
DSL	– dolní střední laparotomie
JIP	– jednotka intenzivní péče
ORIF	– open reduction with internal fixation (otevřená repozice s vnitřní fixací)
PDS	– polydioxanone suture (typ dlouhodobě vstřebatelného vlákna z polydioxanonu)
SI	– sakroiliakální, křížokyčelní
SVFI	– subcutaneous ventral internal fixator (subkutánní ventrální vnitřní fixátor pro miniinvazivní stabilizaci předního pánevního segmentu)
TIFI	– transiliacal internal fixator (transiliakální vnitřní fixátor pro miniinvazivní stabilizaci zadního pánevního segmentu)
TISS	– transiliosacral screw (iliosakrální šrouby)
USG	– ultrasonografie
ZF	– zevní fixátor

## LITERATURA

1. Višňa P, Hoch J, et al. **Traumatologie dospělých**. Praha: Maxdorf 2004.
2. Šnajdauf J, Cvachovec K, Trč T, et al. **Dětská traumatologie**. Praha: Galén 2002.



3. **Chmelová J, Džupa P, Pavelka T, et al.** Diagnostika zlomenin pánve a acetabula Praha: Galén 2010.
4. **Rowe SA, Sochor MS, Staples KS, et al.** Pelvic ring fractures: Implications of vehicle design, crash type and occupant characteristics. *Surgery* 2004; 136(4): 842–847.
5. **Chem TW, Yang ZG, Dong ZH, et al.** Pelvic crush fractures in survivors of the Sichuan earthquake evaluated by digital radiography and multidetector computed tomography. *Skeletal Radiol* 2010; 39(11): 1117–1122.
6. **Lee C, Porter, K.** The prehospital management of pelvic fractures. *Emerg Med J* 2007; 24: 130–133.
7. **Durkin A, Sagi H C, Durham R, Flint, L.** Contemporary management of pelvic fractures. *The American Journal of Surgery* 2006; 192: 211–223.
8. **Grotz MRW, Allami MK, Harwood P, et al.** Open pelvic fractures: epidemiology, current concepts of management and outcome. *Injury. Int J Care Injured* 2005; 36: 1–13.
9. **Slater SJ, Barron, DA.** Pelvic fractures – A guide to classification and management. *European Journal of Radiology* 2010; 74: 16–23.
10. **Tiemann AH, Böhme J, Josten C.** Anwendung der Beckenzwinge beim poly-traumatisierten Patienten mit instabilem Becken Modifizierte Technik – Gefahren – Probleme. *Orthopäde* 2006; 35: 1225–1236.
11. **Papakostidis C, Giannoudis PV.** Pelvic ring injuries with haemodynamic instability: efficacy of pelvic packing, a systematic review. *Injury. Int J Care Injured* 2009; 40S4: S53–S61.
12. **White ChE Hsu JR, Holcomb JB.** Haemodynamically unstable pelvic fractures. *Injury, Int. J. Care Injured* 2009; 40: 1023–1030.
13. **Yoon W, Kim JK, Jeong YY, et al.** Pelvic Arterial Hemorrhage in Patients with Pelvic Fractures: detection with Contrast – enhanced CT. *RadioGraphics* 2004; 24: 1591–1606.
14. **Westhoff J, Laurer H, Wutzler S, et al.** Interventionelle Notfall-embolisation bei schweren Beckenfrakturen mit arterieller Blutung. *Unfallchirurg* 2008; 111: 821–828.
15. **Sadri H, Nguyen-Tang T, Stern R, et al.** Control of severe hemorrhage using C-clamp and arterial embolization in hemodynamically unstable patients with pelvic ring disruption. *Arch Orthop Trauma Surg* 2005; 125: 443–447.
16. **Suzuki T, Smith WR, Moore EE.** Pelvic packing or angiography: competitive or complementary? *Injury* 2009; 40(4): 343–353.
17. **Wirth GJ, Peter R, Poletti P-A, Iselin ChE.** Advances in the management of blunt traumatic bladder rupture: experience with 36 cases. *B J U International* 2010; 106: 1344–1349.
18. **Kuttner M, Klaiber A, Lorenz T.** Der subkutane ventrale Fixateur interne (SVFI) am Becken. *Unfallchirurg* 2009; 112: 661–669.
19. **Simonian PT, Chip Routt Jr. ML, Harrington RM, Tencer AF.** The unstable iliac fracture: a biomechanical evaluation of internal fixation. *Injury* 1997; 28: 469–475.
20. **Varga E, Hearn T, Powell J, Tile M.** Effects of method of internal fixation of symphyseal disruptions on stability of the pelvic ring. *Injury* 1995; 26(2): 75–80.
21. **Füchtmeier B, Maghsudi M, Neumann C, et al.** Die minimal-invasive Stabilisierung des dorsalen Beckenrings mit dem transiliakalen Fixateur interne (TIFI). Operative Technik und erste klinische Ergebnisse. *Unfallchirurg* 2004; 107: 1142–1151.
22. **Kraemer W, Hearn T, Tile M, Powell J.** The effect of thread length and location on extraction strengths of iliosacral lag screws. *Injury* 1994; 1: 5–9.
23. **Gorczyca JT, Varga E, Woodside T, et al.** The strength of iliosacral lag screws and transiliac bars in the fixation of vertically unstable pelvic injuries with sacral fractures. *Injury* 1996; 8: 561–564.
24. **Tosounidis G, Culemann U, Wirbel R, et al.** Die perkutane transiliosakrale Zugschraubenosteosynthese des hinteren Beckenrings (Erhöhte Sicherheit durch Standardisierung von Visualisierung und Technik). *Unfallchirurg* 2007; 110: 669–674.
25. **Mendel T, Kuhn P, Wohlrab D, Brehme K.** Minimal-invasive Stabilisierung einer bilateralen Sakrumfraktur mit lumbopelviner Dissoziation. *Unfallchirurg* 2009; 112: 590–595.
26. **Rosenberger RE, Dolati B, Larndorfer R, et al.** Accuracy of minimally invasive navigated acetabular and iliosacral fracture stabilization using a targeting and noninvasive registration device. *Arch Orthop Trauma Surg* 2010; 130: 223–230.
27. **Gras F, Marintschev I, Wilharm A, et al.** 2D-fluoroscopic navigated percutaneous screw fixation of pelvic ring injuries a case series. *BMC Musculoskelet Disord* 2010; 11: 153.
28. **Eid K, Keel M, Keller A, Ertel U, Trentz O.** Einfluss der Sakrumfraktur auf das funktionelle Langzeitergebnis von Beckenringverletzungen. *Unfallchirurg* 2005; 108: 35–42.
29. **Sagi HC.** Technical aspects and recommended treatment algorithms in triangular osteosynthesis and spinopelvic fixation for vertical shear transforaminal sacral fractures. *J Orthop Trauma* 2009; 23(5): 354–360.
30. **Nothofer W, Thonke N, Neugebauer R.** Die Therapie instabiler Sakrumfrakturen bei Beckenringbrüchen mit dorsaler Sakrumdistanzosteosynthese. *Unfallchirurg* 2004; 107: 118–128.
31. **Böhme J, Steinke H, Huelse R, et al.** Complex Ligament Instabilities after "Open Book" – Fractures of the Pelvic Ring – Finite Element Computer Simulation and Crack Simulation. *Z Orthop Unfall* 2011; 149(1): 83–89.
32. **Pavelka T, Džupa V, Ryšavý M, et al.** Poranění pánevního kruhu. *Acta Chir Orthop Traumatol Čech* 2006; 73: 405–413.
33. **Džupa V, Chmelová J, Pavelka T, et al.** Multicentrická studie pacientů s poraněním pánve: základní analýza souboru. *Acta Chir Orthop Traumatol Čech* 2009; 76(5): 404–409.

## VÝZVA REDAKCE

Apelujeme na všechny přispěvatele Časopisu lékařů českých, aby ve svých publikacích neopomýjeli 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*

# Klinický význam nemoci spojené s imunoglobuliny IgG4

<sup>1</sup>Zbyněk Hrnčíř, <sup>2</sup>Jan Laco

<sup>1</sup>Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, II. interní klinika

<sup>2</sup>Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Fingerlandův ústav patologie

## SOUHRN

Nemoc spojená s IgG4 je chronická imunopatologická choroba představující novou diagnostickou jednotku, která má tyto hlavní charakteristiky: 1. multiorgánová lymfoplazmocelulární infiltrace je provázena velkým množstvím polyklonálních IgG4<sup>+</sup> plazmatických buněk a fibrosklerózou; 2. strukturální poškození orgánů často vede k pseudotumoróznímu zvětšení a/nebo dalším změnám, jako jsou např. aortitida s aneuryzmatickou dilatací, sklerózuující pankreatitida, retroperitoneální fibróza aj.; 3. sérová koncentrace IgG4 je obvykle významně zvýšená; 4. rezpozivita na glukokortikoidy je základním znakem nemoci: při vzácné glukokortikoidní rezistenci byla zaznamenána rezpozivita na rituximab. Nemoc spojená s IgG4 se v současnosti považuje za vzácnou. Přehled poznatků o problematice, která se k ní vztahuje, může být přínosem pro upřesnění jejich významnosti u celé řady klinických disciplín.

**Klíčová slova:** IgG4 asociovaná choroba, IgG4<sup>+</sup> plazmatické buňky, koncentrace IgG4 v séru, pseudotumorózní zvětšení, rezpozivita na glukokortikoidy, rituximab.

## SUMMARY

### Hrnčíř Z, Laco J. Clinical importance of the IgG4 related disease

IgG4 related disease is a chronic immunopathological disorder, proposed as a new diagnostic entity, and characterized as follows: 1. background is in multiorgan lymphoplasmocellular infiltration associated with presence of large number of polyclonal IgG4<sup>+</sup> plasma cells, and fibrosclerosis; 2. structural damage of the affected organs is frequently associated with pseudotumorous enlargement and/or other morphological changes; for example aortitis with aneurysmatic dilatation, sclerosing pancreatitis, retroperitoneal fibrosis ect.; 3. serum concentration of IgG4 is usually significantly elevated; 4. responsiveness to glucocorticoids is a hallmark of the disease: in rare cases of glucocorticoid-resistance a response to rituximab was observed. At presence the disease related to IgG4 is considered as a rare disorder. Presented knowledge may be useful for better elucidation of its importance in clinical specialities.

**Key words:** IgG4-related disease, IgG4<sup>+</sup> plasma cells, IgG4 serum concentration, pseudotumorous enlargement, glucocorticoid-responsivity, rituximab. Hr.

Čas lék čes 2011; 150: 438–441

## ÚVOD

Originalita medicínského myšlení a pokrok v imunohistochemických analýzách vedly k vymezení nemoci spojené s IgG4. Jde o imunopatologické onemocnění způsobené lymfoplazmocelulární infiltrací různých orgánů/tkání, při které jsou přítomny v zánětlivém infiltrátu ve velkém množství polyklonální IgG4<sup>+</sup> plazmatické buňky. Většina nemocných má také vysokou koncentraci IgG4 v séru. Podle doposud indexovaných referencí je nemoc spojená s IgG4 sice poměrně vzácnou, ale rozhodně ne klinicky nevýznamnou jednotkou. Vyplyvá to zejména z těchto skutečností: a) zánětlivá infiltrace a fibroskleróza postižených orgánů/tkání vede postupně k jejich strukturálnímu poškození s řadou morfologických a funkčních důsledků, b) plíživé zvětšení objemu postižených struktur indukují v řadě případů podezření na onkologické onemocnění a c) u značné části nemocných lze dosáhnout významné regrese zánětlivého infiltrátu i poměrně malými dávkami glukokortikoidu. Vymezení vztahu k IgG4 představuje jed-

notící pojítka pro řadu nemocí/syndromů s topograficky rozdílnými klinickými projevy, které se doposud dařilo vysvětlit neúplně, nepřesně nebo vůbec ne.

## NOMENKLATURA A KLASIFIKACE

Nemoc spojená s IgG4 se dostala do popředí zájmu kliniků zejména po tom, co Hamano et al. (1) referovali o sklerózuující pankreatitidě s vysokou koncentrací IgG4 v séru. Pro recentně vymezené pojmy, klinické nevyjímaje, obvykle platí to, že nemají ustálenou jednotnou nomenklaturu. Přehled synonym používaných pro nemoc spojenou s IgG4 je uveden v tabulce 1 (2). Topograficky/orgánově limitovaná manifestace není v rozporu s koncepcí celkového imunopatologického

Tab. 1. Synonyma v nomenklatuře nemoci spjaté s IgG4

• choroba spojená s IgG4
• systémové onemocnění spojené s IgG4
• autoimunitní onemocnění spojené s IgG4
• IgG4 asociovaná choroba
• IgG4 syndrom
• systémová sklerózuující choroba spojená s IgG4
• IgG4 pozitivní multiorgánový lymfoproliferativní syndrom

### ADRESA PRO KORESPONDENCI:

prof. MUDr. Zbyněk Hrnčíř, DrSc.  
II. interní klinika LF UK a FN  
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové  
e-mail: hrncir@fnhk.cz

onemocnění. Klinicky němé postižení orgánů/tkání se může manifestovat v čase, popř. se dá prokázat sofistikovanými zobrazovacími metodami, jako například zvýšeným vychytáváním  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT (3).

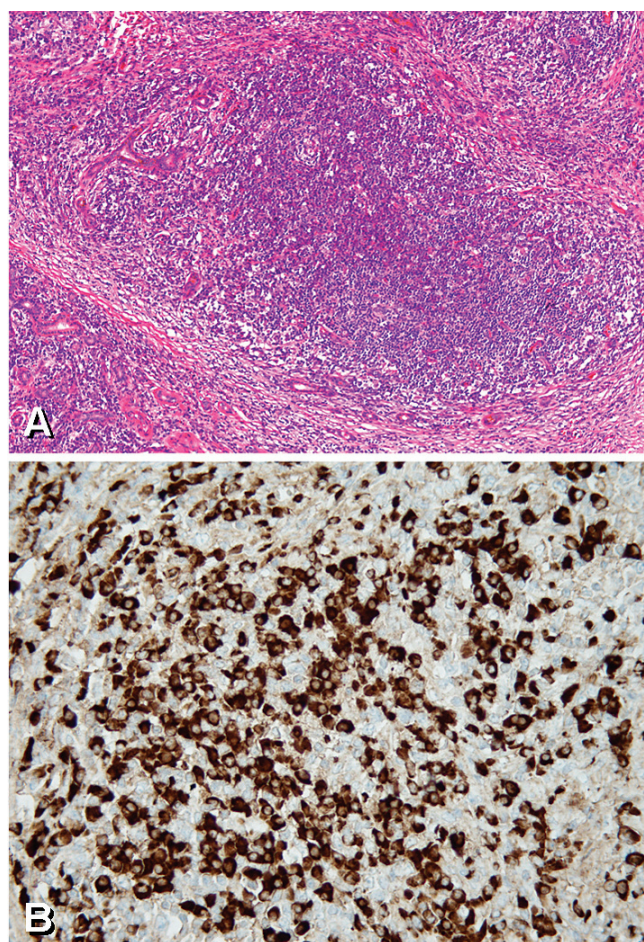
## PATOLOGIE

Postižené orgány/tkáně jsou prostoupeny zánětlivým infiltrátem. Jeho mikroskopická identifikace je podmínkou pro spolehlivé rozpoznání nemoci spojené s IgG4, a to bez ohledu na topografický původ vyšetřovaných vzorků. Při barvení hematoxylinem-eosinem jsou hlavními znaky difuzní lymfoplazmocelulární infiltrát s variabilní přítomností eozinofilních granulocytů, fibróza, resp. fibroskleróza, obliterující vaskulitida, popř. flebitida. Imunohistochemickou charakteristikou je abnormální množství IgG4<sup>+</sup> plazmatických buněk: jako diagnostické kritérium je většinou uváděn počet vyšší než 50 na jedno, příp. 3 zorná pole velkého zvětšení v závislosti na tom, který orgán či tkáň jsou předmětem mikroskopického vyšetření. IgG4<sup>+</sup> plazmatické buňky představují u nemoci spojené s IgG4 více než 30 % všech IgG<sup>+</sup> plazmatických buněk a zvýšená hodnota indexu IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> je významnou imunohistochemickou charakteristikou této choroby. Index IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> pod 10 % svědčí pro onemocnění bez souvislosti s IgG4 (2). Příkladem uvedených mikroskopických nálezů je sklerózující sialoadenitida v rámci Mikuliczovy choroby (4): mikroskopickým nálezem byl lymfoplazmocelulární infiltrát a imunohistochemický průkaz IgG4<sup>+</sup> plazmatických buněk v počtu nad 400/1 zorné pole velkého zvětšení (obr. 1). Podrobnější analýzou mikroskopických nálezů se zabývá přehled zaměřený na histopatologii (5).

## ETIOPATOGENEZE

Nemoc spojená s IgG4 je způsobena imunopatologickými mechanismy blíže neurčeného primárního (spoušťového) původu. Zdrojem informací o patogeneze jsou hlavně studie subpopulací T-lymfocytů a jejich působků v postižených tkáních a v periferní krvi, dysimunoglobulinémie s vysokou koncentrací IgG4 (popř. také celkového IgG) v séru a údaje o alergózách v anamnéze některých nemocných. Výzkum naráží na to, že jde (zatím?) o vzácné onemocnění, většina referencí má regionální původ (Japonsko) a nejsou k dispozici experimentální animální modely.

Značná role se přikládá T regulačním lymfocytům a jejich produktům (tj. interleukinu 10 a transformačnímu růstovému faktoru beta) v postižených tkáních: v periferní krvi byl zjištěn zvýšený počet CD25-pozitivních T regulačních buněk (6). Pro význam autoimunity svědčí reakce namířené proti některým autoantigenům (např. karboanhydráze II a IV, laktoferinu, alfa-fodrinu a pankreatickému inhibitoru trypsinu) s aktivací podtřídy Th1 lymfocytů a později naopak podtřídy Th2 lymfocytů, jež svými působky stimulují B-lymfocyty k diferenciaci v plazmatické buňky (5). V této souvislosti je zajímavým poznatkem to, že infekce *Helicobacter pylori* a jím produkovaná karboanhydráza II má částečnou sekvenční homologii s humánní obdobou tohoto enzymu (7). Význam alergické reakce ak-



Obr. 1. Chronická sklerózující sialoadenitida

A. Intenzivní lymfoplazmocelulární zánětlivý infiltrát ve tkáni submandibulární žlázy s těžkou atrofií sekreční komponenty (acinů a tubulů) jsou patrna pouze rezidua intralobulárních vývodů a fibróza ve formě vazivových pruhů (HE, zvětšeno 100×)  
B. Pozitivní imunohistochemický průkaz IgG4 ve formě hnědého zabarvení cytoplazmy plazmatických buněk (zvětšeno 400×)

centuje hypotéza, která se opírá o zvýšenou expresi Th2 cytokinů v postižených tkáních, zvýšenou koncentraci IgE v séru a IgG4 protilátky s poukazem na známý vztah IgG4 k alergickým reakcím (6). V interpretaci vysoké koncentrace polyklonálního IgG4 v séru nelze rozhodnout, zde jde o jev vyplývající z patogeneze nebo jenom o epifenomén.

## KLINICKÝ OBRAZ

Onemocnění postihuje dospělé osoby ve věkovém rozmezí 40–80 let, s největší frekvencí v 7. deceniu. Muži představují více než 75 % nemocných ve všech podskupinách (tab. 2) s výjimkou podskupiny s manifestací v oblasti hlavy

Tab. 2. Klasifikace nemoci spjaté s IgG4 podle lokalizace lézí (modifikováno podle Y. Zena a Y. Nakanuma (2))

Podskupina	Lokalizace postižení
1. hlava a krk	slinné a slzné žlázy, orbity, Riedlova struma, hypofýza
2. hrudník	pľíce, pleura, mediastinum, hrudní aorta
3. hepatobiliární trakt	pankreas, žlučník, žlučovody, játra
4. retroperitoneum	retroperitoneální fibróza, abdominální aorta/artérie, ledviny
5. systémová	variabilní kombinace lézí z podskupin 1–4, popř. také postižení mízních uzlin, periferních nervů, prostaty aj.

**Tab. 3.** Hlavní rozdíly mezi Mikuliczovou chorobou a Sjögrenovým syndromem

	Mikuliczova choroba	Sjögrenův syndrom
Prevalence podle pohlaví	muži a ženy	převážně ženy
Objem slinných a slzných žláz	výrazné zvětšení	obvykle bez zvětšení
Xeroftalmie a xerostomie	mírná nebo neprůkazná	výrazná
Anti SSA/Ro a SSB/La protilátky	negativní	pozitivní
Koncentrace IgG4 v séru	výrazně zvýšené	v normě
Infiltrace IgG4 <sup>+</sup> plazmatickými buňkami v bioptickém vzorku	průkazná	chybí
Odpověď na glukokortikoidy	většinou velmi dobrá	nevýrazná

a krku, kde je mírná převaha žen (2). Objem postižených orgánů/tkání se zvětšuje plíživě, nebolestivě a ohraničeně, a proto často vzbuzuje klinické podezření na nádor. Jindy dochází k difúzní infiltraci, jako např. v plicním intersticiu, periaortálně, v retroperitoneu apod. Lokální klinické důsledky těchto změn jsou dány jejich topografií. Zvětšení mízních uzlin (periferních, mediastinálních, retroperitoneálních) se zjišťuje u 30–50 % nemocných. Část nemocných měla nebo má také alergickou rinitidu a/nebo bronchiální astma.

Podskupina s dominantními změnami v oblasti hlavy a krku se vyznačuje hlavně postižením slinných a slzných žláz. Charakteristickým znakem je oboustranné, symetrické, nebolestivé a chronické zvětšení těchto exokrinních žláz, které vstoupilo do klinické medicíny pod názvem Mikuliczova choroba (8). Po celou druhou polovinu 20. století byla považována za podskupinu nebo variantu Sjögrenova syndromu. Teprve imunohistochemická vyšetření ukázala, že je to nemoc od Sjögrenova syndromu odlišná (9), a to nejenom v imunopatologii, ale v celé řadě dalších klinických a laboratorních ukazatelů (tab. 3). Jinou formou exokrinopatie slinných žláz je pseudotumorózní zánětlivé zduření (tzv. Küttnerův tumor), které postihuje zpravidla jednostranně submandibulární slinnou žlázu a je způsobeno chronickou sklerózující sialoadenitidou. U části z těchto nemocných byla prokázána lymfoplazmocelulární infiltrace s abnormálním množstvím IgG4<sup>+</sup> plazmatických buněk (10). Vzácnější, ale prognosticky závažnější je taková pseudotumorózní infiltrace v orbitě, která je spojena s rizikem útlakových změn a projevuje se protruzí bulbu, např. jako jednostranný exoftalmus (4). Z endokrinopatií v oblasti hlavy a krku byla nemoc spojená s IgG4 zaznamenána jako podstata Riedlovy strumy (11) a jako hypofyzitida reagující na glukokortikoidy (12). Biochemicky se vyznačuje podskupina nemocných s postižením hlavy a krku častou frekvencí extrémně vysoké koncentrace IgG4 v séru. Substrátem pro mikroskopickou analýzu je zpravidla excidovaný/bioptovaný zvětšený útvar/tkáň; při podezření na postižení slinných žláz však může stačit i standardní labiální biopsie. Při nedostupnosti nebo obtížné dostupnosti bioptického vzorku (tkáň orbity, hypofýzy) jsme odkázáni na nepřímou diagnostiku založenou na porovnávání objemu postiženého orgánu/tkáň před a během terapie glukokortikoidy. Nemoc spojená s IgG4 v oblasti hlavy a krku se sice projevuje jako zánětlivý pseudotumor, nicméně má zřejmě určitý onkogenní potenciál a je třeba na něj myslet při dlouhodobém sledování. Příkladem je pozorování skupiny pěti pacientů s chronickou sklerózující dakryoadenitidou na bázi nemoci spojené s IgG4, u kterých byl následně prokázán lymfom buď z biopsie orbitální tkáň, nebo slzné žlázy (13). Není bez zajímavosti, že retrospektivní analýza původního Mikuliczova pozorování vedla k závěru, že šlo o MALT lymfom slinných žláz (8).

Podskupina s postižením nitrohruďných orgánů/tkání zahrnuje především s IgG4 spojenou pneumopatii s možností zánětlivé infiltrace od alveolárního intersticia přes interlobulární septa až k bronchiálním a vaskulárním svazkům. Postižení mediastina se projevuje sklerózující mediastinitidou a/nebo lymfadenopatií. Významným projevem nemoci spojené s IgG4 je neinfekční izolovaná thorakální aortitida. Podkladem pro histopatologické analýzy jsou resekce dilatované/aneurymatické hrudní aorty. Sklerózující zánět s lymfoplazmocelulárním

infiltrátem a s nadměrnou expresí IgG4<sup>+</sup> plazmatických buněk má těžiště v adventicii. Stone et al. (USA) prokázali neinfekční aortitidu u 33/638 resekcí hrudní aorty, z toho u čtyř šlo o lymfoplazmocelulární aortitidu se signifikantně větší expresí IgG4<sup>+</sup> plazmatických buněk než u obrovskobuněčné aortitidy nebo u aterosklerózy (14). Středoevropská studie (15) se zakládá na histopatologickém vyšetření 51 resekcí dilatované/aneurymatické ascendentní aorty s průkazem neinfekční aortitidy v jedenácti případech, přičemž u šesti z nich byl index IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> vyšší než 50 %: všichni měli aortální inkompetenci z dilatace/aneurysmatu v této části srdečnice.

Výsledky mikroskopických analýz aortálních resekcí navozují otázku o možnosti klinického vyhledávání a rozpoznávání aortitidy spojené s IgG4. Aortitidu bez bližší specifikace lze prokázat zejména <sup>18</sup>F-FDG PET/CT vyšetřením. Pokud je takový nálezn provázen vysokou koncentrací IgG4 v séru a byly vyloučeny jiné příčiny obou těchto změn, tak lze myslet na to, že jde o orgánovou manifestaci nemoci spojené s IgG4. Současně je to podnětem pro pátrání po jiných manifestacích tohoto zpravidla multiorgánového onemocnění, zejména takových, které umožňují biopsii a odpovídající mikroskopickou analýzu. Za zpětnou potvrzení lze považovat ústup zánětlivých projevů aortitidy při léčbě glukokortikoidy, jak lze doložit <sup>18</sup>F-FDG PET/CT kontrolou v čase. Dá se předpokládat, že blízká budoucnost přinese k této pracovní hypotéze konkrétní data.

V podskupině s dominantním postižením hepatobiliárního traktu a retroperitonea je klasickou orgánovou manifestací s IgG4 spojená sklerózující pankreatitida. Klinicky se projevuje atakami bolesti břicha a ikterem. Provází ji nepravidelná zúžení pankreatického ductu a zvětšení tkáně pankreatu, někdy ložiskové. U části nemocných je spojena se sialoadenitidou a/nebo cholangitidou, jež jsou odlišné od nálezů u Sjögrenova syndromu nebo primární sklerózující cholangitidy. V kohortě 114 případů nemoci spojené s IgG4 (2) bylo zaznamenáno postižení pankreatu 28×, z toho 17× v rámci podskupiny s dominantní změnou v hepatobiliárním traktu a 11× v podskupině s multiorgánovým onemocněním. Některá pozorování nasvědčují o preferenční asociaci mezi IgG4<sup>+</sup> sklerózující pankreatitidou a Mikuliczovou chorobou (16, 17). Současné postižení pankreatu, slinných a slzných žláz bylo dokonce proponováno jako nová diagnostická jednotka pod názvem „plazmocytová exokrinopatie se vztahem k IgG4“ (17). Jiným retroperitoneálním orgánem, se kterým bývá spojována Mikuliczova choroba, jsou ledviny. Svědčí o tom reference o nemoci spojené s IgG4, která se projevovala vedle postižení slinných a slzných žláz také závažnou intersticiální nefritidou (18, 19). Postižení retroperitonea se u části nemocných manifestuje jako retroperitoneální fibróza s obrazem Ormondovy choroby, aortitidou abdominální části srdečnice s možností aneurymatického rozšíření a retroperitoneální lymfadenopatií.

Nemoc spojená s IgG4 je svojí podstatou celkové imunopatologické onemocnění. V navržené klasifikaci (viz tab. 2) jsou začleňováni do podskupiny se systémovým postižením pacienti s multiorgánovými projevy (2). Z hlediska klinického přístupu to znamená, že už při klinickém vyšetření nebo na základě nálezů, získaných zobrazovacími metodami, popř. kombinovaně, lze vyslovit důvodné podezření na systémovou formu této nemoci.

Klinicky významným biomarkerem nemoci spojené s IgG4

je vysoká koncentrace IgG4 v séru. Po vyloučení monoklonální gamapatie a dalších možných klinických adjustací (např. pemphigus vulgaris nebo foliaceus, atopické dermatitidy, některých parazitárních onemocnění, Wegenerovy granulomatózy aj.) (1) je podnětem pro hledání orgánu/tkáně umožňující biopsii a histopatologickou konfirmaci. U prokázaného onemocnění je pokles sérových hodnot IgG4 citlivým ukazatelem rezpozitivity na glukokortikoidy a součástí dlouhodobého klinicko-laboratorního monitorování. V tomto kontextu je třeba současně připomenout, že sérová hodnota IgG4 v rozmezí normy nevylučuje diagnózu této nemoci.

## TERAPIE A PROGNÓZA

Nemoc spojená s IgG4 většinou dobře reaguje na terapii glukokortikoidy. V sérii 38 nemocných stačila u 25 (66 %) vstupní dávka 10–30 mg prednisolonu denně p.o., větší startovní dávka (40–60 mg) bylo zapotřebí použít pouze u 13 pacientů s intersticiální pneumonitidou, intersticiální nefritidou, hydronefrózou při retroperitoneální fibróze nebo pankreatitidou. Jako udržovací dávka postačovalo 2,5–10 mg prednisolonu p.o. denně u 37/38 nemocných této série (9). U pankreatitidy byla dokonce zaznamenána zlepšená glukózová tolerance u diabetes mellitus (16). Při multiorgánovém postižení s těžkou intersticiální nefritidou bylo ojediněle nutné zahájit terapii i.v. pulzy metylprednisolonem. U nemocných s rezistencí na glukokortikoidy byla zaznamenána příznivá odpověď na terapii rituximabem (20) – vždy šlo o multiorgánovou manifestaci, z toho u dvou nemocných s orbitálním pseudotumorem. Nelze ale předpokládat, že retroorbitální infiltrace předznamenává rezistenci na glukokortikoidy; její ústup včetně vymizení jednostranného exoftalmu jsme zaznamenali už při vstupní dávce 32 mg prednisolonu p.o. (4).

Nemoc spojená s IgG4 je plíživě se manifestující chronické zánětlivé onemocnění. Prognóza odvisí od dominující orgánové manifestace, rozsahu a topografického významu už vzniklých strukturních změn a rezpozitivity na terapii. Dobrá odpověď na glukokortikoidy u většiny nemocných je nosným motivem pro včasné rozpoznávání a terapeutickou prevenci důsledků této nemoci. Otevřenou otázkou je vztah k maligním nádorům: v dosud nejobsáhlejší sérii 114 nemocných (2) měli anamnézu karcinomu 4 (3,5 %) a další 3 (2,6 %) jím onemocněli až po stanovení diagnózy nemoci spojené s IgG4.

## ZÁVĚR

Nemoc spojená s IgG4 je zatím zřídka rozpoznávané onemocnění, které se zčásti skrývá pod tradičními diagnózami vyplývajících z dominantní orgánové manifestace. Podstatou je sklerózující imunopatologický zánět s lymfoplazmocelulární infiltrací s přítomností vysokého počtu IgG4<sup>+</sup> plazmatických buněk. Ke klinickému podezření zpravidla vede nevyšvětlené, mnohdy pseudotumorózní, zvětšení postižených orgánů/tkání, patrné klinicky nebo zjištěné zobrazovacími metodami. Zejména tam, kde lze současně zachytit biomarker vysoké koncentrace IgG4 v séru je indikována biopsie/excize k imunohistochemické konfirmaci a zahájení – obvykle úspěšné – glukokortikoidní terapie. Lze předpokládat, že širší informovanost o nemoci spojené s IgG4 ukáže – ku prospěchu nemocných – její reálnou prevalenci a multidisciplinární klinický význam.

### Zkratky

CT – výpočetní tomografie  
FDG – fluorodeoxyglukóza  
Ig – imunoglobuliny

MALT – lymfoidní tkáň spojená se sliznicí  
(mucosa associated lymphoid tissue)  
PET – pozitronová emisní tomografie

## LITERATURA

1. Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001; 344: 732–738.
2. Zen Y, Nakamura Y. IgG4-related disease. A cross-sectional study of 114 cases. *Am J Surg* 2010; 34: 1812–1819.
3. Suga K, Kawakami Y, Hiyama A, Takeuchi M. F-18 FDG PET-CT findings in Mikulicz disease and systemic involvement of IgG4-related lesions. *Clin Nucl Med* 2009; 34: 164–167.
4. Hrnčíř Z, Laco J, Slezák R, Rencová E, Drahošová M, Brtková J. Mikuliczova choroba s jednostranným exoftalmem – nemoc spojená s IgG4. *Čes Revmatol* 2011; v tisku.
5. Laco J. Systémová sklerózující choroba spojená s imunoglobuliny IgG4 – současné poznatky. *Cesk Patol* 2010; 46: 82–85.
6. Fragoulis GE, Moutsopoulos HM. IgG4 syndrome: Old disease, new perspective. *J Rheumatol* 2010; 37: 1369–1370.
7. Guarneri F, Guarneri C, Bevenga S. *Helicobacter pylori* and autoimmune pancreatitis: Role of carbonic anhydrase via molecular mimicry? *J Cell Mol Med* 2005; 9: 741–744.
8. Ihlrl S, Harrison JD. Mikulicz's disease and Mikulicz's syndrome: Analysis of the original case report of 1892 in the light of current knowledge identifies a MALT lymphoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod* 2005; 100: 334–339.
9. Masaki Y, Dong L, Kurose N, Kitigawa K, Morikawa Y, et al. Proposal for a new clinical entity, IgG4-positive multiorgan lymphoproliferative syndrome: analysis of 64 cases of IgG4-related disorders. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 1310–1315.
10. Laco J, Ryska A, Celakovský P, Dolezalova H, Mottl R, Tucek L. Chronic sclerosing sialadenitis as one of the immunoglobulin G4-related disease: a clinicopathologic study of six cases from Central Europe. *Histopathology* 2011; 58: 1157–1163.
11. Dahlgren M, Khosroshahi A, Nielsen GP, Desphande V, Stone JH. Riedel's thyroiditis and multifocal fibrosclerosis are part of the IgG4-related systemic disease spectrum. *Arthritis Care Res* 2010; 62: 1312–1318.
12. Hori M, Makita N, Andoh T, Takiyama H, Yajima Y, et al. Long-term clinical course of IgG4-related systemic disease accompanied by hypophysitis. *Endocrine J* 2010; 57: 485–492.
13. Cheuk A, Yuen HKL, Chan ACL, Shih LY, Kuo TT, et al. Ocular adnexal lymphoma associated with IgG4<sup>+</sup> chronic sclerosing dacryoadenitis: A previously undescribed complication of IgG4-related sclerosing disease. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 1159–1167.
14. Stone JH, Khosroshahi A, Deshpande V, Stone JR. IgG4-related systemic disease accounts for a significant proportion of thoracic lymphoplasmacytic aortitis cases. *Arthritis Care Res* 2010; 62: 316–322.
15. Laco J, Steiner I, Holubec T, Dominik J, Holubcova Z, Vojacek J. Isolated thoracic aortitis: clinicopathological and immunohistochemical study of 11 cases. *Cardiovasc Pathol* 2010; Oct 29. doi:10.1016/j.carpath.2010.09.003.
16. Masaki Y, Sugai S, Umehara H. IgG4-related diseases including Mikulicz's disease and sclerosing pancreatitis: diagnostic insights. *J Rheumatol* 2010; 37: 1380–1385.
17. Yamamoto M, Ohara M, Suzuki Ch, Oka T, Naishiro Y, et al. A case of Mikulicz's disease complicated by autoimmune pancreatitis, in which impaired glucose tolerance was improved by glucocorticoid treatment. *Jpn J Clin Immunol* 2005; 28: 349–356.
18. Aoki A, Sato K, Itabashi M, Takei T, Yoshida T, et al. A case of Mikulicz' disease complicated with severe interstitial nephritis associated with IgG4. *Clin Exp Nephrol* 2009; 13: 367–372.
19. Shimoyama K, Ogawa N, Sawaki T, Karasawa H, Masaki Y, et al. A case of Mikulicz's disease complicated with interstitial nephritis successfully treated by high-dose corticosteroid. *Mod Rheumatol* 2006; 16: 176–182.

Práce byla podpořena Výzkumným záměrem MZ ČR 00179906.

# Nejčastěji využívané metodiky k analýze DNA metylačních změn

Marcela Chmelařová, Vladimír Palička

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta a FN Hradec Králové, Ústav klinické biochemie a diagnostiky

## SOUHRN

Vzhledem k významnosti vztahu mezi stupněm metylace DNA a genovou aktivitou, zejména u nádorových onemocnění, byla popsána celá řada technik sledujících metylaci DNA. Cílem této práce bylo zpracovat přehled o metodikách, které mohou být využívány k monitorování DNA metylačních změn. V práci je kladen důraz na monitorování změn metylace DNA v oblasti CpG ostrůvků promotorových oblastí genů. Přehled popisuje výhody, nevýhody a potenciální využití jednotlivých metod.

**Klíčová slova:** metylace DNA, modifikace hydrogensířičitanem, MSP, MS-MLPA.

## SUMMARY

### Chmelařová M, Palička V. The most frequent methods used for DNA methylation analysis

There is an important relationship between the degree of DNA methylation and gene activity in cancer. Number of techniques of DNA methylation analysis has been reported. The aim of this study was to review methodologies that can be used to monitoring DNA methylation changes. We reviewed techniques important for monitoring of DNA methylation changes of CpG islands in gene promoter regions. Advantages, disadvantages and potential use of these techniques are described.

**Key words:** DNA hypermethylation, bisulfite conversion, MSP, MS-MLPA.

Chm.

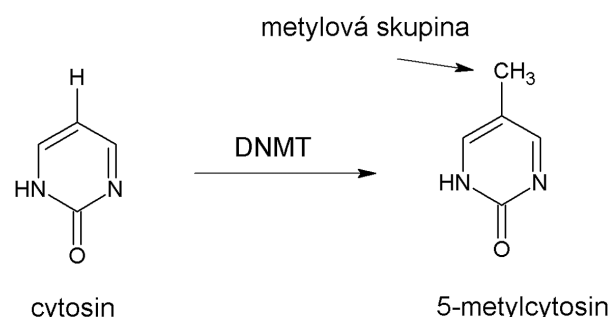
Čas Lék čes 2011; 150: 442–445

## ÚVOD

Při mnoha procesech v organismu, zvláště pak v procesu karcinogeneze často dochází k epigenetickým změnám. Epigenetické změny jsou změny v genové expresi, při nichž nedochází ke změnám kódujících sekvencí bází v polynukleotidovém řetězci DNA. Zahrnují DNA metylaci, modifikaci histonů, přestavbu chromatinu a posttranskripční genovou regulaci pomocí miRNA. Nejčastěji studovanou epigenetickou alterací je DNA metylace.

Methylace DNA je kovalentní modifikací DNA, která je katalyzována enzymy skupiny DNA methyltransferáz (DNMTs). Při metylaci dochází k vazbě metylové skupiny na 5. uhlík cytosinu za vzniku 5-metylcytosinu (obr. 1). Děje se tak přenosem metylu z S-adenosyl-methioninu na C5 pozici cytosinu v dinukleotidovém kontextu CpG. Distribuce 5-metylcytosinu v genomu je specifická pro každý buněčný typ a je ustavena během embryonálního vývoje (1). Methylace DNA není ovšem stálá, v organismu může docházet k její zesílení metylací *de novo*. Bohužel o mechanismu metylace *de novo* v normálních a nádorových buňkách není mnoho známo. K hromadění změn v metylaci DNA může docházet v průběhu několika let před vypuknutím maligního bujení, proto by tyto změny mohly být potenciálně používány v časně diagnostice nádorových onemocnění.

DNA metylace hraje nepostradatelnou roli v kontrole genové aktivity a je důležitá pro architekturu buněčného jádra



Obr. 1. Methylace cytosinu

ra (2), podílí se na regulaci transkripce, stabilitě chromozomů, genomickém imprintingu a inaktivaci X-chromozomu (3), dále má důležitou roli ve vývoji a chrání genom před transpozony. Stupeň metylace příslušného úseku DNA ovlivňuje aktivitu chromatinu. Transkripčně inaktivní chromatin je charakterizován přítomností metylovaného cytosinu, přičemž tato konfigurace brání transkripci. Methylace promotorových částí DNA může způsobovat transkripční inaktivaci tumorsupresorových genů, a to zejména tím, že snižuje vazebnou afinitu transkripčních faktorů, které interagují s DNA ve specifických sekvencích, což často vede k progresi tumorů či rezistenci k chemoterapeutikům.

V současné době známe několik genově specifických metod (tab. 1), které mohou být využity k monitorování změn v metylaci DNA. Při výběru metody záleží zejména na cíli studie. Důležité je, zda sledujeme celkovou hypermetylaci DNA, kde je metodou první volby HPLC (high-performance liquid chromatography) nebo pouze metylaci určitých částí DNA.

### ADRESA PRO KORESPONDENCI:

Mgr. Marcela Chmelařová  
ÚKBD LF UK a FN  
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové  
e-mail: chmelarovamarcela@seznam.cz

Tab. 1. Nejčastěji používané genově-specifické DNA metylační techniky

	Metoda	Specifické zpracování
Kvalitativní analýza CpG ostrůvků	Southern blot	enzymové štěpení
	metylačně-senzitivní enzymy a PCR	enzymové štěpení
	MSP	modifikace hydrogensířičitanem
Kvantitativní analýza CpG ostrůvků	MethyLight	modifikace hydrogensířičitanem
	MS-HRM	modifikace hydrogensířičitanem
	MS-MLPA	enzymové štěpení
	sekvenování	modifikace hydrogensířičitanem
	pyrosequenování	modifikace hydrogensířičitanem
	HeavyMethyl	modifikace hydrogensířičitanem
Celo-genomová analýza metylace	HPLC	celková hydrolyza

V tomto článku je kladen důraz na monitorování změn v metylaci v oblasti CpG ostrůvků.

## METODY ZALOŽENÉ NA MODIFIKACI DNA HYDROGENSÍŘIČITANEM

U metod založených na modifikaci DNA hydrogensířičitanem (bisulfite conversion) je prvním krokem chemická přeměna analyzované DNA. Při modifikaci dochází k přeměně cytosinu na uracyl pomocí hydrogensířičitanu sodného na jednovlákné DNA. Dochází k záměně všech cytosinů na uracyly, pouze metylované cytosiny (5-metylcytosin) jsou k záměně rezistentní a zůstávají jako cytosiny (4). Při procesu přeměny nemetylovaného cytosinu na uracyl je prvním krokem denaturace DNA zahřátím v alkalickém prostředí. Chemický průběh modifikace DNA zahrnuje sulfonaci a hydrolytickou deaminaci, kdy vzniká meziproduct (uracyl sulphonát), který musí být převeden na uracyl alkalickou desulfonací (obr. 2). Chemická modifikace takto vytvoří odlišnosti v sekvenci mezi metylovanou a nemetylovanou DNA.

Modifikace DNA hydrogensířičitanem je poměrně levná a jednoduchá, nevýhodou je ovšem časté poškození DNA, které se projeví zejména u málo kvalitní DNA izolované z parafinových bločků.

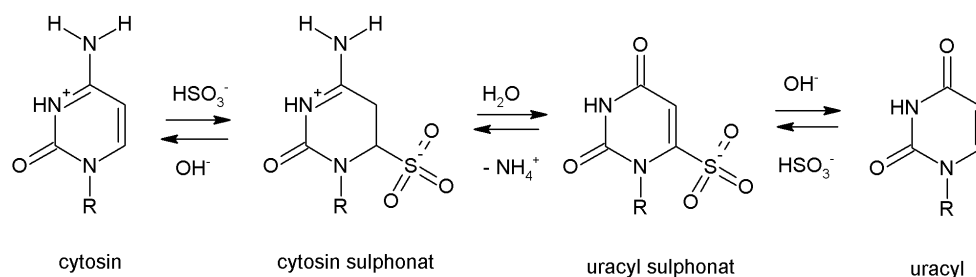
### Metylačně specifická PCR (MSP)

MSP je specifickou a senzitivní metodou využívanou zejména ke sledování abnormálních genových metylací ve vybraných genových sekvencích, zejména CpG ostrůvků (4). Její nespornou výhodou je proveditelnost při nízkých koncentracích DNA a relativně nízká cena. Nevýhodou této metody je ovšem falešná pozitivita některých výsledků.

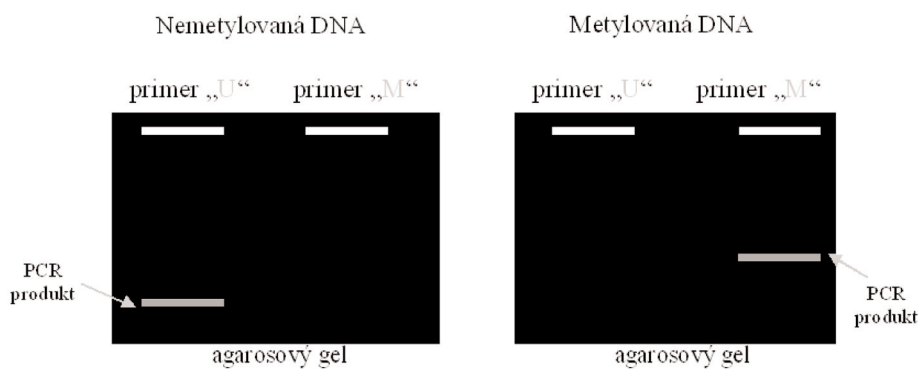
U MSP hydrogensířičitanovou modifikaci následuje amplifikace pomocí primerů specifických pro metylovanou (nemetylovanou) DNA. Ideálně jsou navrženy tři sady primerů přisedající k DNA na základě odlišností v sekvenci. Jeden set primerů (U) přise-

dá k nemetylované DNA, která podlela chemické modifikaci. Druhý set primerů (M) přisedá k metylované DNA, která také podlela chemické modifikaci. A třetí set primerů (W) přisedá ke každé DNA (metylované nebo nemetylované), která nepodlehla chemické modifikaci. Tento set primerů by měl sloužit jako kontrola efektivit chemické modifikace. Pravidla pro navrhování standardních primerů platí i pro navrhování primerů pro MSP. Primery by měly být přibližně 20–21 bp dlouhé a měly by mít podobnou disociační teplotu. Produkt MSP reakce s každým setem primerů by měl mít velikost 100–200 bp. K zabránění tvorby dimerů primerů by primery neměly být komplementární, a to zejména na 3' konci.

K vlastní amplifikaci se doporučuje využít „hot start“ PCR. Během reakce dojde k amplifikaci produktu. Pokud je vzorek DNA v místě CpG ostrůvků původně nemetylovaný, reakční produkt je detekovatelný pouze s využitím setu primerů U, primery navržené jako komplementární k nemetylované DNA sekvenci, v tomto případě pak žádný produkt nebude vznikat v reakci se setem primerů M, primery navržené jako komplementární k metylované DNA sekvenci. Naopak produkt MSP s použitím M primerů bude vznikat při reakci s původně metylovanou DNA. Nemodifikovaná DNA bude poskytovat produkt pouze v případě využití setu primerů W. Jako u každé PCR je nutné dbát na zabránění kontaminace PCR produktem (oddělené laboratoře na přípravu amplifikační směsi a detekci PCR produktu). Vyhodnocení PCR reakce může být následně kvalitativní pomocí **elektroforézy** (obr. 3) nebo kvantitativní, založené na detekci změn fluorescence (MethyLight, Syber green based, HeavyMethyl).

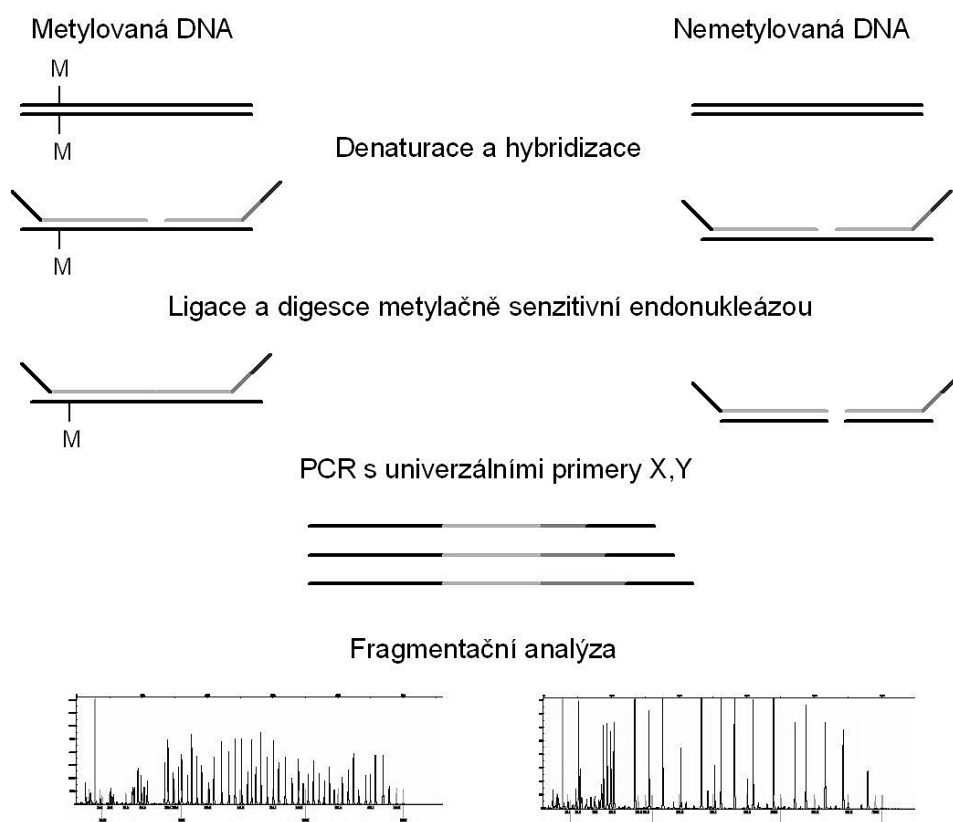


Obr. 2. Chemický průběh modifikace cytosinu na uracyl



Obr. 3. Elektroforetické vyhodnocení MSP

Legenda: Je-li DNA nemetylovaná, vzniká PCR produkt po reakci se setem primerů U, který je specifický pro nemetylovanou DNA. Je-li DNA metylovaná, vzniká PCR produkt po reakci se setem primerů M, který je specifický pro metylovanou DNA.



Obr. 4. MS-MLPA

### Sekvenování

Jednou z největších předností sekvenování amplifikovaných produktů je cenná kontrola hydrogensířčitanové přeměny.

Pro určení přesné sekvence nukleotidů v úseku DNA se využívají zejména dvě metody – Sangerova a Maxam-Gilbertova. Sekvenování amplifikovaných produktů je nejčastěji provedeno Sangerovou metodou. Sangerova metoda využívá speciální vlastnosti dideoxynukleotidů, které nemají na 3' uhlíku ribózy OH skupinu. Dideoxynukleotid je schopen se začlenit do replikující se DNA, ale následně zastaví elongaci řetězce. Označíme-li každý dideoxynukleotid jinou fluorescenční barvou, bude v reakční směsi vznikat směs různě dlouhých a různě barevně značených sekvencí. Výsledná sekvence je pak určena kapilární elektroforézou. Sangerova metoda je použitelná zejména k sekvenování krátkých sekvencí jednovlákné DNA.

V současné době je v souvislosti se sekvenací často zmiňováno pyrosekvenování. Jedná se o velice senzitivní technologii, která může být použita i ke kvantifikaci sekvenčních variací. Pyrosekvenování může detekovat a kvantifikovat i malé změny ve stupni metylace. Pyrosekvenování je založeno na detekci emitovaného světla během syntézy komplementárního vlákna exonukleasově-deficientní DNA polymerázou. Technologie pyrosekvenování již byla použita pro korelaci metylace DNA nádorových buněk a genové exprese, k měření buněčné odpovědi na léčbu látkami, které zabraňují DNA metylaci, k posouzení změn v metylaci DNA při vzniku nádorů a genetickém imprintingu (5).

### MS-HRM (methylation specific high-resolution melting analysis)

HRM je metoda založená na změnách teploty tání DNA v roztoku. HRM je realizována postupným zahříváním dvouvlákného amplikonu DNA z přibližně 50 °C na 95 °C. V určitém bodě tohoto procesu je dosaženo teploty tání amplikonu a dvě vlákna DNA se od sebe oddělí.

Nejčastěji se HRM provádí v real-time uspořádání. Toho je

dosaženo využitím fluorescenčního barviva. Využívána jsou interkalační barviva, která se specificky vážou na dvouvláknou DNA, a pokud jsou vázána fluoreskují jasně. Při absenci dvoušroubovice DNA se nemohou vázat a fluoreskují na nízké úrovni. Na začátku HRM analýzy je tedy vysoká úroveň fluorescence ve vzorku, protože jsou zde přítomny miliardy kopií dvouvlákného amplikonu. Během zahřívání vzorku přítomnost dvouvlákné DNA klesá, a proto se fluorescence snižuje.

Principem MS-HRM je, že DNA ovlivněná hydrogensířčitanem má v případě metylovaného templátu více cytosinů než DNA, která byla původně nemetylovaná (cytosiny se při modifikaci přeměnily na uracily), proto se změní i křivka teploty tání takovéto DNA. PCR produkty pocházející z templátů, který byl původně nemetylovaný, budou mít nižší bod tání než ty, které pocházejí z metylovaného templátu. HRM nabízí také možnost určení podílu metylace v daném vzorku porovnáním s kalibrační

křivkou, která vzniká mícháním různých poměrů univerzálně metylované a nemetylované DNA dohromady. Při analýze je porovnáována teplota tání univerzálně metylované a nemetylované DNA s vyšetřovaným vzorkem.

HRM je senzitivní a specifická (6), relativně jednoduchá a levná metoda. Předností této metody je analýza všech CpG ostrůvků amplikonu.

## VYUŽITÍ RESTRIKČNÍCH ENZYMŮ

Metylačně specifické restriční endonukleázy jsou enzymy specificky využívané k DNA metylační analýze. Většina z nich je inhibována metylací jejich rozpoznávacího místa, kde specificky štěpí DNA.

Mezi nejčastěji užívané restriční endonukleázy patří izoschizomery *HpaII*, *MspI*, které rozeznávají sekvenci CCGG. Každý z těchto enzymů je blokován metylací specifického místa. *HpaII* je blokován metylací jednoho z cytosinů uvedené sekvence, zatímco *MspI* je blokován pouze metylací vnějšího cytosinu (7).

Vystavíme-li sledovanou DNA působení restričních endonukleáz, dojde v případě, kdy není metylována, k jejímu rozštěpení. Následně můžeme takto naštěpenou DNA analyzovat pomocí elektroforézy a Southern blotu. Southern blot byl použit jako jedna z prvních metod pro analýzu metylace DNA. Použijeme-li po naštěpení DNA PCR reakci, bude vznikat PCR produkt pouze v případě, kdy DNA je metylována (nedochází k rozštěpení). Využití kombinace restriční endonukleázy s PCR se jeví jako senzitivnější metoda než Southern blot.

Využití restričních enzymů, které rozpoznávají metylované sekvence od nemetylovaných, může být aplikováno pouze u sekvencí, které obsahují jejich rozpoznávací sekvence, v čemž lze vidět určitou limitaci této metody ve srovnání s metodami využívajícími modifikaci DNA hydrogensířčitanem.

Nedávná studie popisuje „jednokrokovou metylační analýzu“ (8). Tato metoda je založena na kombinaci metylačně senzitivní endonukleázy a kvantitativní real-time PCR v jedné re-



akci. Prvním krokem je DNA štěpení, následované inaktivací endonukleázy a nakonec real-time PCR.

## MS-MLPA

MS-MLPA (methylation specific multiplex ligation-dependent probe amplification) je v současné době široce používaná metoda pro detekci epigenetických změn. MS-MLPA představuje semikvantitativní metodu pro sledování metylačních změn DNA. MS-MLPA je velmi podobná klasické MLPA, kdy ligace probe je kombinována se štěpením komplexu DNA-proba metylačně specifickou endonukleázou (9). Nejčastěji využívaným restriktivním enzymem je *HhaI*, tento enzym rozpoznává a specificky štěpí pouze nemetylovanou DNA sekvenci GCGC.

MS-MLPA lze provést v pěti základních krocích (obr. 4). Prvním krokem je denaturace DNA a hybridizace specifických MLPA sond. Následuje ligace a digesce s využitím metylačně specifické endonukleázy. Třetím krokem je PCR s užitím univerzálních primerů, při které dochází k exponenciální amplifikaci pouze ligovaných a neštěpených prob. Čtvrtým krokem je oddělení amplifikovaných produktů pomocí kapilární elektroforézy. Jelikož štěpené proby (hybridované s nemetylovanou DNA) nejsou během PCR amplifikovány, nebudou tedy při kapilární elektroforéze dávat žádný signál. Naopak, pokud byl vzorek metylovaný, hybridovaná proba je chráněna před digescí, bude vznikat amplifikační produkt a následně bude vznikat pík při kapilární elektroforéze. Posledním, pátým krokem je analýza dat.

MS-MLPA je metoda, která je velmi citlivá a může být využita již při malých koncentracích izolované DNA. Nespornou výhodou je i její použití u analýzy DNA izolované z parafinových bločků, která často bývá málo kvalitní. Další výhodou je analýza několika sekvencí v jedné reakci.

## MIKROČIPY

Mikročipy jsou používány jak k celkové analýze DNA, tak k detekci metylace v promotorových oblastech genů. Principem mikročipů je imobilizace fragmentů jednovlákné DNA na pozitivně nabitě nylonové membráně a hybridizace za vhodných podmínek. Hybridizační signály jsou nejčastěji detekovány s využitím chemiluminiscence.

Mikročipy jsou komerčně připravované a poskytované různými firmami jako například Illumina, NimbleGen, Agilent a Affymetrix. DNA sondy, nebo prvky, které tvoří čip, jsou klíčovým faktorem při výběru nejvhodnější platformy k řešení dané otázky. Některé biočipy jako například od firmy Illumina jsou navrhované pro analýzu DNA po hydrogensířičitanové modifikaci a některé se hodí pro analýzu po DNA restrikci.

## IMUNOPRECIPITAČNÍ METODY

Imunoprecipitační metodiky umožňují izolovat metylovanou DNA, což usnadní následnou analýzu. Principem imunoprecipitačních metod je imobilizace denaturované DNA na DEAE (diethylaminoethyl) membráně a následná inkubace s monoklonální protilátkou.

Imunoprecipitace metylované DNA je běžně dosažena použitím jedné ze dvou metod: izolace DNA metylovaných fragmentů pomocí monoklonální protilátky specifické k 5-metylcytosinu (anti-5mC) nebo izolace DNA fragmentů obsahujících metylované CpG dinukleotidy za použití proteinu vázajícího metyl doménu (MBD protein – methyl binding domain protein) (10). Imunoprecipitovaná DNA může být následně analyzována různými výše zmíněnými metodami.

## ZÁVĚR

Důležitost DNA metylace je jasná zejména u nádorových onemocnění. Důkazem je množství publikované literatury v posledních letech. V literárních pramenech je popsáno velké množství metod, které mohou být využívány ke sledování změn v metylaci DNA. Žádná z těchto metod ovšem nemůže být použita univerzálně, proto je důležitý správný výběr metody. Při volbě metody musíme dbát zejména na množství a kvalitu izolované DNA a možnosti a vybavení laboratoře. Mezi často analyzovanou DNA patří DNA izolovaná z parafinových bločků. Pro analýzu takovéto DNA se jeví nejvhodnější metodou MS-MLPA, musí být ovšem zváženy možnosti laboratoře, jelikož kromě běžně užívaného termocykléru je zapotřebí systém kapilární elektroforézy. V případě analýzy DNA izolované z krve je vhodné využít hydrogensířičitanovou přeměnu následovanou MSP a případně zakončenou sekvenováním amplifikovaných produktů. Je důležité mít na paměti, že správný výběr metody zajišťuje reprodukovatelné výsledky.

### Zkratky

DEAE	– diethylaminoethyl
DNA	– deoxyribonucleic acid
DNMT	– DNA metyltransferáza (methyltransferase)
HPLC	– high-performance liquid chromatography
MBD	– methyl binding domain
miRNA	– microRNA
MS-HRM	– methylation specific high-resolution melting analysis
MS-MLPA	– methylation specific multiplex ligation-dependent probe amplification
MSP	– methylation specific PCR
PCR	– polymerase chain reaction
RNA	– ribonucleic acid

## LITERATURA

1. Mareš J, Sedláček Z, Goetz P. Methylace DNA a nádorová onemocnění. Čas Lék čes 2000; 139(10): 291–294.
2. Esteller M. Epigenetics in Cancer. N Engl J Med 2008; 358(11): 1148–1159.
3. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. Genes Dev 2002; 16(1): 6–21.
4. Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93(18): 9821–9826.
5. Dejeux E, El Abdalaoui H, Gut IG, Tost J. Identification and quantification of differentially methylated loci by the pyrosequencing technology. Methods Mol Biol 2009; 507: 89–205.
6. Wojdacz TK, Dobrovic A. Methylation-sensitive high resolution melting (MS-HRM): a new approach for sensitive and high-throughput assessment of methylation. Nucleic Acids Res 2007; 35(6): e41.
7. Waalwijk C, Flavell RA. MspI, an isoschizomer of hpaII which cleaves both unmethylated and methylated hpaII sites. Nucleic Acids Res 1978; 5(9): 3231–3236.
8. von Kanel T, Gerber D, Schaller A, Baumer A, Wey E, Jackson CB, Gisler FM, Heinemann K, Gallati S. Quantitative 1-step DNA methylation analysis with native genomic DNA as template. Clin Chem 2010; 56(7): 1098–1106.
9. Nygren AO, Ameziane N, Duarte HM, Vijzelaar RN, Waisfisz Q, Hess CJ, Schouten JP, Errami A. Methylation-specific MLPA (MS-MLPA): simultaneous detection of CpG methylation and copy number changes of up to 40 sequences. Nucleic Acids Res 2005; 33(14): e128.
10. Thu KL, Pikor LA, Kennett JY, Alvarez CE, Lam WL. Methylation analysis by DNA immunoprecipitation. J Cell Physiol 2010; 222(3): 522–531.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906.

## Udělení Ceny Jana Evangelisty Purkyně

Čtvrtou červnovou středu se v barokním Saturnově sále libochoveckého zámku sešli zástupci odborných lékařských společností a čelní představitelé České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně jako účastníci i přímí aktéři letos již 53. Purkyňova dne. Hlavním bodem tohoto slavnostního pracovního společenského setkání pořádaného v rodšti velkého vědce Spolkem lékařů v Ústí nad Labem a Českou lékařskou společností JEP bylo předání Ceny Jana Evangelisty Purkyně.

Předsednictvo ČLS JEP uděluje každoročně toto své nejvyšší vyznamenání tajnou volbou z kandidátů navržených organizačními složkami ČLS JEP jako vy-



**Obr. 1.** Předání Ceny J. E. Purkyně

Na snímku zleva: prof. MUDr. Jaroslav Blahoš, DrSc., prof. MUDr. Vladimír Palička, CSc., dr.h.c., Eva Ponocná, ředitelka sekretariátu a prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.

raz uznání a ocenění mimořádných zásluh o rozvoj oboru a za celoživotní vědeckou tvorbu. Letošním laureátem se stal **prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.**

Charakter i atmosféru nadcházejícího jednání naznačoval nápis promítaný za diaprojektiv na velké filmové plátno: «*Quo ad bonum faustum*» zkrácená verze formule «*Quod bonum, faustum, felix, fortunatumque sit*» – «*Kéž je to k dobru, zdaru štěstí a požehnaní*», kterou kdysi bývaly zahajovány úřední procedury a jejíž začáteční písmena Q.B.F.F.F.Q.S. jsou součástí lékařského diplomu.

V roli moderátora programu přivítal prof. MUDr. Vladimír Palička, CSc., dr.h.c. všechny přítomné. Připomněl morální, symbolický i společenský význam, které představuje tradice Purkyňových dnů. Morální ve smyslu konkrétního ocenění celoživotní vědecké a pedagogické činnosti i dodržování a rozvíjení mravních a etických zásad lékařské profese, nositelem symboliky je pak jméno J. E. Purkyně obsažené v udělované ceně, jméno jednoho z největších badatelů 19. století, které v přeneseném slova smyslu nese i určitý motivační faktor pro všechny mladé lékaře, kteří vstupují lékařskou dráhu, a společenský význam spočívá ve vlastním setkání předních odborníků z různých oborů, kterým pracovní vytížení podobnou příležitostí většinou znemožňuje.

Poté se ujal slova předseda ČLS JEP profesor MUDr. Jaroslav Blahoš, DrSc. Uvítal zúčastněné hosty v prostorách Libochoveckého zámku a dále řekl: «*V protokolu předání Ceny se uvádí:*

Cena JEP se uděluje jako ocenění celoživotní obětavé práce v medicíně, činnosti léčebně-preventivní, vědecko-výzkumné a pedagogické a pro morální kvality kandidáta. Kandidát musí být členem ČLS JEP. Cena JEP pro rok 2011 je udělena prof. MUDr. Pavlu Klenrovi, DrSc.

Předání Ceny JEP zde na libochoveckém zámku má svůj symbolický význam daný zdejšími rodákem J. E. Purkyně, který se zde narodil v roce 1787, zde začal chápat to, co později ve svých vzpomínkách vyjádřil takto: «*Tam pod Hasenburkem začala moje mysl chápat životnost, tak blízko, abych ji svou myslí, svým vlastním dětským životem, pronikl, abych se v něj vžil, vcítil a vmyslil. Tam jsem ukojoval svého ducha četbou, z níž nejoblíbenější mi byl Komenského Orbis pictus, který mi otevíral nové a široké horizonty poznání a vzdělanosti.*»

Když před časem byla tendence rekonstruovat systém rezortních ústavů včetně Ústavu hematologie a krevní transfuze, kde byl ředitelem prof. Klener, vyjádřil prof. Zahradník při jedné oslavě v Lužanech paradox, když úředník zasahuje do činnosti a pravomoci přední hvězdičkového generála medicíny, prof. Klenera.

V oněch 5 generálských hvězdičkách lze vnímat i určitou symboliku okruhů Klenrových zájmů, vlastností a činností připomínajících důstojného následovníka Jana Evangelisty Purkyně. Jsou to zejména neodmyslitelné atributy života obou, tj. činnost badatelská s obdivuhodnou aktivitou publikační a pedagogickou, jež nezůstaly bez nejvyšších možných ocenění a poct, univerzitních, akademických, státních atd., a to jak na půdě domácí, tak i v cizině. Naši žáci se ještě dlouho

budou učit z Klenrovy interny, hematologie a onkologie a pro budoucí generace zůstanou dokladem naší vědy na začátku 21. století, tak jako spisy J. E. Purkyně sepsané před 150 lety.

Druhou pomyslnou hvězdičkou jsou bohaté zkušenosti v praktické medicíně, zejména v jeho oblíbené interně, hematologii a onkologii. Při léčebné péči věří v etiku jako integrální součást medicíny i v axiomy Purkyňovy: «*Lékař musí mít individuální přístup k nemocnému, měl by být osobností, v níž jsou spojeny vědomosti s citem a s taktem.*»

Nelze opomenout organizační schopnosti prof. Klenera. V ČLS JEP pracoval v četných funkcích od roku 1962 včetně předsednictva. Jeho veřejná činnost, a to nejen v medicíně, byla a je obecně známá: od poslance funkce přes prvního porevolučního ministra až po návržení na kandidáta na prezidenta republiky.

Jeho pátá hvězda ho přibližuje k Janu Evangelistovi snad nejlíže. Je to touha po vzdělání v duchu našich předních vzdělanců. Zdůrazňuje i výzvu Purkyně: «*Síla těla i duše, obratnost ruky, bystrost smyslu s živým pochopením, hlubokým nadáním, vznešeným přemýšlením, obecnou vzdělaností, humanitními ideály a kulturou obecně.*»

O odborné práci prof. Klenera podrobněji hovoří další gratulanti:

«*Vážený pane profesore, vzácný příteli, dovoluji, abych Ti předal Cenu Jana Evangelisty Purkyně a abych Ti jménem předsednictva i jménem svým gratuloval!*», řekl prof. J. Blahoš.

Poté u mikrofonu vystřídal prof. Blahoše ředitel Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze člen, výboru České hematologické společnosti ČLS JEP prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

Své vystoupení rozdělil od dvou částí. Úvodní, zaměřenou na stručnou rekapitulaci profesní dráhy prof. Klenera, doplnil některými osobními vzpomínkami. Uvedl příhodu, jak kdysi prof. Lemeš známý jako nesmlouvavý a neúprosný kritik po přečtení tehdy nové publikace prof. Klenera jen zabručel, že v ní objevil několik nedostatků. Prof. Trněný tento posudek tenkrát považoval za jedno z nejvyšších uznání kvality, jaké od prof. Lemeše do té doby slyšel.

Podrobněji pak hovořil o zásluhách prof. Klenera na rozvoj onkologické problematiky, zejména protinádorové chemoterapie, jejímž zakladatelem se u nás stal a které se systematicky věnuje dodnes. Připomněl jeho bohatou přednáškovou a publikační činnost obnášející bezmála dvě desítky monografií, 298 odborných sdělení a řadu učebnic. Za všechny uvedl nejoblíbenější monografii Vnitřní lékařství, které figuroval jako autor i editor a jejíž 4. aktualizované vydání se v těchto dnech připravuje do tisku. Některé z těchto textů se staly odbornými „biblemi“, z nichž studenti čerpají dodnes.

V další části se věnoval prof. Trněný problematice hematologických nádorů, onemocnění, na jehož terapii se soustředil i prof. Klener. Uvedl, že jde o nádory, jež se u nás vyskytují nejčastěji. V této souvislosti shrnul i milinky v jejich léčbě: sedmdesátá léta přinesla první účinnou terapii, v osmdesátých letech se objevily speciální monoklonální protilátky, které rozšířily možnosti lymfoproliferativní léčby a současnost charakterizují antigeny CD20, díky nimž se zvýšila možnost přežití o 15–20 %.

Za uplynulých 40 let prošly technika i metody léčby maligních lymfomů vývojem od radio- i chemoterapie po cíleně zaměřenou léčbu zasahující přímo nádorové buňky. Díky ní a možnostem, jež v rámci tohoto typu terapie slibují nové monoklonální protilátky, dochází postupně i přes zvýšenou incidenci onemocnění ke snížení mortality a zlepšení kvality života pacientů.

Jako poslední vystoupil s gratulací i odborným sdělením na téma „onkologie a ekonomika“

doc. MUDr. Jindřich Fínek, PhD. Zdůraznil, že monografie prof. Klenera jej provázejí už bezmála 30 let jeho onkologické praxe. Kromě toho, že kdysi byly v podstatě jediným zdrojem moderních publikovaných informací, měly vždy jedno společné: maximální hustotu potřebných údajů a velice úspornou strukturu. Jako konkrétní příklad uvedl nedávno vydanou devadesátistránkovou knížku Základy klinické onkologie určenou především medikům, začínajícím klinikům, ale i praktickým lékařům. Řekl, že když ji vzal do ruky, přemýšlel a měl jisté i pochybnosti, co všechno se z tak obsáhlého oboru mohlo na devadesát stran vlastně vejít. Po přečtení zjistil, že opravdu všechno, co potřebují studenti, začínající či praktický lékař vědět o biologické podstatě nádorového bujení, o symptomatologii, diagnostice a léčbě zhoubných novotvarů, a to včetně tabulek, grafů a obrázků.

«*Základy klinické onkologie lze přečíst za odpoledne a prostudovat za víkend. A pokud si čtenář tyto informace podrží, je vybaven znalostmi, které mu v rámci obecného medicínského vzdělání pomohou orientovat se v řadě disciplin starších je multioborové onkologické nemocné. Nesmí ovšem zapomenout jediné důležité slovo. Jenže žádná jiná v knize nejsou!*», řekl doc. Fínek.

Téma „onkologie a ekonomika“ se neslo v duchu aktuálních problémů současného zdravotnictví. V roce 2006 představovaly prostředky vložené do zdravotnictví 6,8 % z HDP; v současnosti se tento podíl zvýšil na 7,5 %. Je však nutné si také uvědomit, že následkem předcházející krize klesl celkový objem HDP. Jeden z hlavních problémů připravované reformy zdravotnictví spočívá v tom, že se mnoho hovoří o spoluúčasti pacienta, ale nikdo ve skutečnosti není schopen, nebo nechce říci, kolik prostředků je stát ochoten na financování zdravotnictví dát. Míchochodem – nyní vkládá do systému na každého pojištěnce – včetně novorozenců a důchodců v – přepočtu 44 euro měsíčně. Nové onkologické léky zlepšující kvalitu života jsou účinnější, ale také výrazně dražší. Zatímco léčba běžnými prostředky vychází průběžně na plus minus 20 000 Kč, nasazení moderních preparátů přijde na 100 000 Kč, a nezdíka i více.

\*\*\*

Vystoupení doc. Fínka uzavřelo první část programu 53. Purkyňova dne. Následoval vlastní slavnostní akt, kdy prof. Pavel Klener převzal z rukou předsedy ČLS JEP prof. Jaroslava Blahoše Cenu Jana Evangelisty Purkyně.

Ve svém vystoupení pak prof. Klener poděkoval za udělení Ceny, které, jak řekl, si velice váží. V této souvislosti a s úsměvnou sebeironií řekl, že jedním z prvních rozhodnutí, které počátkem devadesátých let jako ministr zdravotnictví učinil, bylo radikální zrušení všech nadbytečných vyznamenání titulů typu „zasloužilý lékař“. Cena J. E. Purkyně zůstala. Nyní vidí, že to bylo velice prozíravé rozhodnutí: zachoval ji pro sebe. Všem přítomným pak vyjádřil díky za projevy uznání své práce a zdůraznil, že pokrok v medicíně je především kolektivní záležitostí.

Závěrečné slovo prof. Jaroslava Blahoše se neslo ve stejné uvolněném duchu. Poděkoval všem přítomným za účast a podělil se s nimi o jednu vzpomínku. V sedmdesátých letech, byl Pavel Klener na studijním v pobytu u prof. Jeana Bernarda v Paříži, kam se on chystal, požádal ho proto v dopise o nějaké podrobnosti. Přišla lakonická odpověď: «*Lidé jsou zde skvělí, medicína zajímavá, prof. Bernard výborný, jídlo báječné, pití dobré a vína úžasná.*»

Slavnostní atmosféru celého setkání doplnilo a umocnilo vystoupení klavíristy Martina Levického, který přednesl Mozartovu Sonátu C dur, skladby J. Janáčka z cyklu Po zarostlém chodníčku a Lisztovu Mazepku.

Petr Rampír, foto Vladimír Brada

**Tab. 1.** Nositelé Ceny J. E. Purkyně ČLS JEP od roku 1962

1962 prof. MUDr. J. Vaněk, DrSc.	1988 prof. MUDr. S. Věšín, DrSc.
1963 prof. MUDr. V. Vortel, DrSc.	1989 akademik J. Zachar
1964 MUDr. Z. Richter	1990 prof. MUDr. J. Švejcar, DrSc.
1965 doc. MUDr. Z. Mařátka, DrSc.	1991 prof. MUDr. B. Niederle, DrSc.
1966 MUDr. B. Mossinger	1992 prof. MUDr. J. Antal, DrSc.
1967 doc. MUDr. S. Šita	1993 prof. MUDr. J. Král, DrSc.
1969 prof. MUDr. V. Kruta	1994 prof. MUDr. Z. Mařátka, DrSc.
1970 prof. MUDr. A. Fingerland	1995 prof. MUDr. O. Gregor, DrSc.
1971 prof. MUDr. T. R. Niedertand	1996 prof. MUDr. O. Schück
1972 akademik J. Charvát	1997 MUDr. J. Liška
1973 akademik J. Červenánský	1998 prof. MUDr. E. Černý, DrSc.
1974 akademik V. Laufberger	1999 prof. MUDr. L. Vyhnanek, DrSc.
1975 prof. MUDr. M. Ondřejčka	2000 prof. MUDr. J. Blahoš, CSc.
1976 prof. MUDr. F. Herles, DrSc.	2001 prof. MUDr. M. Samánek, DrSc.
1977 prof. MUDr. J. Michalčíková, DrSc.	2002 prof. MUDr. L. Szazama, DrSc.
1978 prof. MUDr. J. Mašek, DrSc.	prof. MUDr. R. Petr, DrSc.
1979 akademik M. Thurzo	2003 prof. MUDr. J. Procházka, DrSc.
1980 akademik J. Houštěk	2004 doc. MUDr. I. Pěrovský, DrSc.
1981 prof. MUDr. B. Špaček, DrSc.	2005 prof. MUDr. V. Špičák, CSc.
1982 prof. MUDr. J. Rusnák, DrSc.	2006 prof. MUDr. M. Hájek, DrSc.
1983 prof. MUDr. D. Dieška, DrSc.	prof. MUDr. K. Lewit, DrSc.
1984 prof. MUDr. J. Dobiáš, DrSc.	2007 prof. MUDr. J. Kos
1985 prof. MUDr. J. Hořejší, DrSc.	prof. MUDr. Ladislav Chrobák, CSc.
1986 prof. MUDr. J. Homolka, DrSc.	2008 prof. MUDr. T. Fučíková, DrSc.
akademik K. Šiška	2009 prof. MUDr. J. Tichý, DrSc.
1987 MUDr. J. Mariány	2010 prof. MUDr. B. Hučín, DrSc.
	2011 prof. MUDr. P. Klener, DrSc.

# Naše zkušenosti s maravirocem u HIV pozitivních pacientů

<sup>1</sup>Hana Vondráčková, <sup>2</sup>Marie Staňková, <sup>3</sup>Ladislav Machala, <sup>1</sup>František Perlík, <sup>1</sup>Ondřej Slanař

<sup>1</sup>Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Farmakologický ústav

<sup>2</sup>Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, AIDS centrum FN Na Bulovce, Infekční klinika 1. LF UK a FN Na Bulovce

<sup>3</sup>Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta, AIDS centrum FN Na Bulovce, Infekční klinika FN Na Bulovce

## SOUHRN

**Východisko.** Přestože antiretrovirová terapie změnila klinický průběh HIV infekce, zůstává onemocnění AIDS nevléčitelnou chorobou. Vznikají skupiny antiretrovirotik s novými mechanismy účinku. Mezi nimi inhibitory vstupu, jejichž jediným registrovaným zástupcem je maraviroc. Primárním cílem práce je vyhodnotit klinickou účinnost maravirocu pomocí parametru virové nálože změřené do 4. týdne od zahájení léčby, sekundárním cílem je vyhodnotit účinnost léčiva do 125. týdne sledováním změn hodnot virové nálože a změn počtu CD4<sup>+</sup> lymfocytů. Rovněž je hodnocena bezpečnost léčiva.

**Metody a výsledky.** Do skupiny pacientů jsme zařadili celkem 23 subjektů, dva pacienty z České republiky a 21 pacientů z Francie. Virová nálož poklesla ve 4., 24. i 48. týdnu více než o dva řády (-2,136; -2,448; -2,452 log<sub>10</sub> kopií/ml). V počtu CD4<sup>+</sup> lymfocytů docházelo k nárůstu hodnot (71,71; 142,00; 196,43 buněk/mm<sup>3</sup>). Bezpečnost léčiva byla hodnocena sledováním četnosti výskytu nežádoucích účinků. Získaná data jsme porovnali s registračními klinickými studii III. fáze. Během léčby se objevilo jedenáct podezření na nežádoucí účinky, žádné z těchto podezření nebylo dáno do příčinné souvislosti s terapií maravirocem. Nejčastější z nich patří do skupiny neurologických nežádoucích účinků.

**Závěry.** Naše zkušenosti s maravirocem byly pozitivní, léčivo se osvědčilo jako účinné antiretrovirotikum pro kombinaci léčby HIV infekce.

**Klíčová slova:** maraviroc, CCR5 inhibitory, HIV, AIDS.

## SUMMARY

**Vondráčková H, Staňková M, Machala L, Perlík F, Slanař O. Our experience with maraviroc treatment in HIV positive patients**

**Background.** Although antiretroviral therapy has changed the clinical course of HIV infection, AIDS remains an incurable disease. Virus entry inhibitors, including maraviroc as the only registered representative of the class, represent a newly emerged group of anti-retrovirals with novel mechanism of action. The primary endpoint is to evaluate the clinical efficacy parameter of maraviroc by measuring viral load at the end of the 4 week treatment period. The secondary endpoint is to evaluate the effectiveness of the drug by monitoring the changes of the viral load values and CD4<sup>+</sup> cell counts during the period of 125 weeks. Drug safety was also assessed.

**Methods and results.** Data of 23 subjects were collected, 21 patients were from the Czech Republic and 2 patients from France. Decrease in viral load in the 4<sup>th</sup>, 24<sup>th</sup> and 48<sup>th</sup> week was more than two orders of magnitude (-2.136; -2.448; -2.452 log<sub>10</sub> copies/ml). The CD4<sup>+</sup> cell count increased (71.71, 143.00, 196.43 cells/mm<sup>3</sup>). Drug safety was assessed by monitoring the frequency of adverse effects. The data obtained were compared with the III. phase of clinical trials.

**Conclusions.** Our experience with maraviroc was positive. Maraviroc proved to be an effective antiretroviral agent for a combination therapy of HIV infection.

**Key words:** maraviroc, CCR5 inhibitors, HIV, AIDS.

Vo.

Čas lék čes 2011; 150: 447–450

## ÚVOD

Syndrom získaného selhání imunity (AIDS) je soubor příznaků a infekcí, který je důsledkem stupňujícího se poškození imunitního systému člověka virem lidské imunodeficiencie HIV. Tato progresse a s tím spojený klinický obraz byly rozděleny do šesti etap podle Walter-Reedova klasifikačního systému. Zjednodušeně se infekce HIV rozděluje častěji na tři fá-

ze: fáze primoinfekce, chronická fáze a fáze rozvinutého onemocnění AIDS (1).

Původce onemocnění AIDS – virus HIV – patří do čeledi *Retroviridae*, rod *Lentivirus*. V současné době jsou známy dva typy HIV: predominantní HIV 1 a méně patogenní HIV 2. Na základě genetických rozdílů především v *env* oblasti genomu se HIV-1 člení do tří skupin: M, N a O. Skupina M je v podstatě zodpovědná za světovou epidemii. Kmeny v ní zahrnuté se rozdělují do odlišných subtypů, které vykazují určitou geografickou preferenci. Například subtyp B dominuje zejména v Americe, v Evropě a je dominantním subtypem i v České republice. Mezi jednotlivými subtypy jsou patrné biologické rozdíly. Jedna a tatáž osoba a stejně tak jedna a tatáž buňka může být nakažena zároveň více typy viru HIV (2).

Vývoj léčby HIV infekce znamenal obrovský pokrok a přínos pro mnoho pacientů. Nicméně i přes již dosažené úspěchy zůstávají virová rezistence a tolerance limitujícími fakto-

### ADRESA PRO KORESPONDENCI:

PharmDr. Hana Vondráčková  
Farmakologický ústav 1. LF UK  
Albertov 4, 128 00 Praha 2  
fax: +420 224 968 149  
e-mail: hana.vondrackova@centrum.cz

ry léčby (3). Objevují se proto nové třídy antiretrovirotik s novými mechanismy účinku. Mezi ně patří i inhibitory vstupu viru HIV do hostitelské buňky. V současné době je jediným registrovaným zástupcem této třídy maraviroc, který se selektivně váže na lidský chemokinový koreceptor CCR5 a zabraňuje tak R5-tropnímu HIV-1 viru ve vstupu do buněk (4). Vedle molekuly CD4 je právě CCR5 či CXCR4 koreceptor nezbytný pro vstup viru HIV do hostitelské buňky (5, 6). Varianty viru HIV-1 se odlišují využitím vazebných koreceptorů. Bud virus může využít pouze CCR5 koreceptor, nebo výhradně CXCR4 koreceptor nebo může používat střídavě oba (7). Maraviroc byl v Evropské unii registrován v říjnu roku 2008, na území USA již v říjnu roku 2007 (8). Maraviroc je v kombinaci s ostatními antiretrovirovými léčivými přípravky indikován k léčbě pacientů infikovaných jen prokazatelným R5-tropním HIV-1 virem. Na základě výsledků klinické studie byla nejprve schválena indikace maravirocu pro léčbu HIV+ dospělých pacientů, kteří již dříve byli léčeni antiretrovirovými přípravky. Nicméně v listopadu roku 2009 byla ve Spojených státech amerických FDA (Úřad pro kontrolu potravin a léků – Food and Drug Administration) rozšířena indikace maravirocu i pro terapeuticky naivní dospělé pacienty infikované R5-tropním HIV-1 virem (4). Maraviroc je substrátem cytochromu P450 CYP3A4. Pokud je maraviroc podáván současně s inhibitory a/nebo induktory CYP3A4, může být ovlivněna jeho koncentrace i terapeutický účinek, a proto se doporučuje úprava dávkování. Renální clearance představuje přibližně 23 % celkové clearance maravirocu, pokud je podáván bez inhibitorů CYP3A4. Nejčastěji zaznamenanými nežádoucími účinky během studií III. fáze při doporučeném dávkování – bez ohledu na incidenci v porovnání k samotné optimalizované základní terapii (OBT) – byly průjem, nauzea a bolest hlavy. Tyto nežádoucí účinky byly časté (0,01–0,1%). Dosavadní studie prokázaly, že maraviroc je aktivní vůči virům rezistentním na dosud existující antiretrovirovou terapii. V budoucnosti však lze předpokládat, že ani maraviroc nebude v problematice rezistence výjimkou (9).

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Do skupiny pacientů jsme zařadili celkem 23 osob užívajících jako součást své antiretrovirové terapie maraviroc (Celsentri®, Pfizer). Dva pacienti jsou léčeni v pražském AIDS centru Fakultní nemocnice Na Bulovce a 21 pacientů se léčí ve fakultní nemocnici Lapeyronie (Centre Hospitalier Universitaire Montpellier) v jihofrancouzském městě Montpellier. Zařazovacími kritérii bylo absolvování minimálně již jedné léčebné linie či terapeutický neúspěch v anamnéze (tzn. virová nálož vyšší než 5000 kopií HIV RNA/ml nebo nutnost přerušení léčby), stabilní léčba nebo bez léčby po dobu minimálně 4 týdnů před nasazením maravirocu, věk nad 16 let a prokázaný R5-tropní HIV-1. U každého pacienta jsme před zahájením léčby odebrali čerstvý vzorek krve, podmínkou byla minimální hodnota virové nálože 1000 kopií HIV RNA/ml krve pro zajištění dostatečné citlivosti vyšetření. V současné době je nejpoužívanější Trofile Assay (9), který se provádí v laboratořích v San Franciscu. Výsledky testu jsou v České republice i ve Francii k dispozici za 3–4 týdny po odebrání vzorku.

Klinicky jsme sledovali dva hlavní parametry získávané z imunologické a sérologické laboratoře. Prvním parametrem byla hodnota virové nálože (VL), jež odráží rychlost vývoje nemoci a představuje množství virové RNA (nebo jejich kopií) v 1 ml krve. Detekční metoda měřící hladinu virové nálože má citlivost 20 kopií RNA/ml. Hodnoty virové nálože jsme zlogaritovali, a sledovali jsme tak pokles virové nálože v řádech. Druhým hodnoceným parametrem byl počet CD4<sup>+</sup> lymfocytů reflektující imunologický stav nemocného. Oba dva parametry účinnosti jsme zaznamenávali v určených časových intervalech; zde uvádíme hodnoty těsně před zahájením léčby, dále ve 4., 24. a 48. týdnu od zahájení léčby maravirocem. Primárním parametrem

účinnosti byl stanoven rozdíl ve virové náloži ve 4. týdnu léčby oproti vstupní hodnotě. Kromě uvedených laboratorních parametrů jsme se zaměřili také na četnost výskytu nežádoucích účinků v našem souboru pacientů. Všechny nežádoucí účinky jsme identifikovali a vyhodnotili dle údajů v SPC a závěrů III. fáze klinických studií MOTIVATE 1 a MOTIVATE 2.

## Statistická analýza

Pro statistické vyhodnocení změny virové nálože a počtu CD4<sup>+</sup> buněk byl použit neparametrický párový Wilcoxonův test (statistický software Unistat 5.1.). Statistická významnost byla hodnocena při  $p < 0,05$ .

## VÝSLEDKY

Základní demografická data jsou shrnuta v tabulce 1. Minimální doba léčby infekce HIV byla 9 let. Rozdíly hodnot virové nálože oproti výchozí hodnotě v čase včetně procentuálních podílů pacientů dosahujících na snížení virové nálože pod 50 nebo 400 kopií HIV RNA/ml krve jsou shrnuty v tabulce 2. Rozdíly mezi výchozí hodnotou a následujícími hodnotami v dalších časových intervalech jsou statisticky vysoce významné ( $p < 0,01$ ). Procento pacientů dosahující hodnot virové nálože pod 400 kopií/ml se v průběhu léčby statisticky signifikantně zvyšovalo ( $p < 0,01$ ). Rovněž procento pacientů dosahující hodnot virové nálože pod 50 kopií HIV RNA/ml v čase statisticky významně narůstalo ( $p < 0,01$ ).

Statisticky významné rozdíly v absolutním počtu CD4<sup>+</sup> buněk v daných časových intervalech jsou uvedeny v tabulce 3.

Hodnoty virové nálože a CD4<sup>+</sup> lymfocytů v průběhu léčby znázorňují obrázky 1 a 2. Pokles virové nálože probíhal po dvou exponenciálních. Do 8. týdne se virová nálož rychle snižovala ( $T_{1/2} = 1,7$  týdne). Následovala pomalá fáze mizení ( $T_{1/2} = 404,9$  týdne). Pozvolný vzestup CD4<sup>+</sup> lymfocytů byl v negativním regresním vztahu s virovou náloží ( $r = -0,80$ ;  $p < 0,01$ ). V průběhu léčby pacientů maravirocem žádný pacient z léčby neodstoupil a nebyl ošetřujícím lékařem ani pacientem hlášen žádný nežádoucí účinek, a to jak ve francouzském zdravotnickém zařízení, tak v českém AIDS centru. Problém se snášenlivostí nevznikl ani u „komplikovaných“ pacientů těžce tolerujících předchozí terapeutické linie. V průběhu léčby bylo zaznamenáno celkem jedenáct podezření na nežádoucí účinky u osmi pacientů, nejčastější z nich byly neurologické obtíže, akutní obstrukční renální nedostatečnost, srdeční ischemie a dále bolesti kostí, zvýšená hladina kyseliny močové, hypercholesterolemie, hypertriglyceridémie a imunoreaktivní zánětlivý syndrom. U těchto nežádoucích účinků nebyla ale shledána příčinná souvislost s terapií maravirocem.

## DISKUZE

Problematika viru HIV a s ním spojeného onemocnění AIDS zůstává mezi významnými celosvětovými problémy (10). Evidentní nárůst přenosu tohoto viru je pravidelně zaznamenáván v řadě zemí včetně České republiky, kde bylo mezi říjnem roku 1985 a lednem roku 2011 nahlášeno celkem 1536 HIV pozitivních osob s každoročně stoupající prevalencí (11). Navzdory poklesu morbidity a mortality na onemocnění AIDS v důsledku zavedení kombinované antiretrovirové terapie (cART) je účinnost léčby stále významně limitována řadou faktorů. Třemi nejčastějšími důvody selhání léčby, které spolu logicky souvisí, jsou špatná compliance, jež je vyžadována ze strany pacienta minimálně na 95 %, špatná tolerance léčby a nedostatečná účinnost léčby. Navíc je třeba si uvědomit, že všechna dostupná antiretrovirotika zajišťují pouze dočasnou supresi virové nálože. Kauzální lék, který by vedl ke kompletní eradikaci infekce, zatím neexistuje (12).

Změna virové nálože po přibližně měsíci léčby maraviro-  
cem představovala markantní pokles virové nálože, a to přibližně o dva řády (2,136). U naprosté většiny pacientů užívání maravirocu výrazně snížilo hodnotu virové nálože a dokázalo tuto hodnotu udržet po celé období, které bylo v této práci sledováno, tj. až po 125. týden. V průběhu času lze vysledovat klesající trend, který však vykazuje jistou variabilitu jednotlivých pacientů podmíněnou řadou faktorů, jako je compliance daného pacienta a jeho celkový stav s ohledem na přítomnost či absenci superponujících infekcí. Pozitivním výstupem je rovněž vysoké procento pacientů dosahujících virové nálože pod 400 kopií HIV RNA/ml krve již záhy po zahájení léčby a v čase vzrůstající procento pacientů, jež dosahují hodnot nižších než 50 kopií HIV RNA/ml krve. Pozorované výsledky se shodují s výsledky dosaženými v průběhu III. fá-

Tab. 1. Základní demografická charakteristika souboru –  $\bar{x}$  (SD)

<b>Celkový počet pacientů</b>		23
<b>Věk</b>	roky	49,87 (7,27)
<b>Poměr mužů a žen</b>		19:4
<b>Doba léčby HIV infekce</b>	roky	15,63 (4,45) 15,00 (medián)
<b>Doba léčby maravirokem</b>	dny	519,67 (247,23) 478,00 (medián)
<b>Počáteční hodnota CD4<sup>+</sup></b>	buňky/mm <sup>3</sup>	242 62; 554 (rozsah)
<b>Počáteční hodnota VL</b>	log <sub>10</sub> kopie/ml	4,02 1,92; 5,47 (rozsah)

Tab. 2. Rozdíl hodnot virové nálože proti výchozí hodnotě ve 4., 24. a 48. týdnu po zahájení léčby

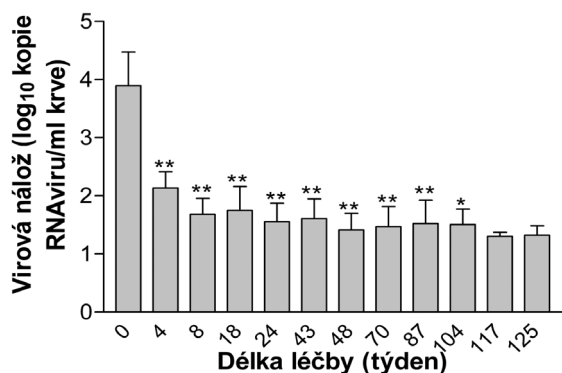
Výsledky	4. týden	24. týden	48. týden
změna výchozí VL (log <sub>10</sub> kopií/ml)	-2,136**	-2,448**	-2,452**
směrodatná odchylka	0,844	1,251	1,240
interval spolehlivosti 97,5%	[-2,707; -1,565]	[-3,150; -1,746]	[-3,291; -1,613]
procento pacientů VL < 50 kopií/ml	21,4**	63,2**	85,7**
procento pacientů VL < 400 kopií/ml	85,7**	89,5**	92,9**

\*\* p < 0,01

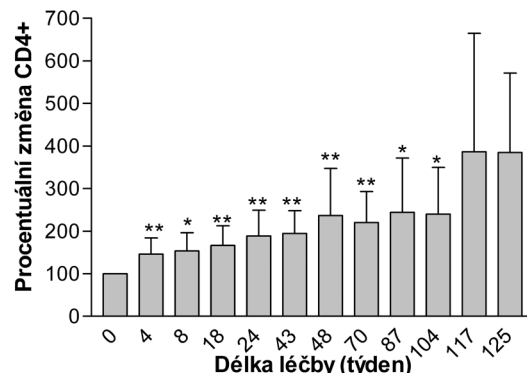
Tab. 3. Rozdíl počtu CD4<sup>+</sup> lymfocytů proti výchozí hodnotě ve 4., 24. a 48. týdnu po zahájení léčby

Výsledky	4. týden	24. týden	48. týden
změna výchozího počtu CD4 <sup>+</sup> buněk (buňky/mm <sup>3</sup> )	71,71**	142,00**	196,43**
směrodatná odchylka	117,068	149,576	174,566

\*\* p < 0,01



Obr. 1. Hodnoty virové nálože v průběhu léčby ( $\bar{x}$ , SD)  
\*\* p < 0,01; \* p < 0,05



Obr. 2. Hodnoty CD4<sup>+</sup> lymfocytů v procentech v průběhu léčby ( $\bar{x}$ , SD)  
\*\* p < 0,01; \* p < 0,05

ze klinického hodnocení léčiva. Maximální redukce virové nálože po co možná nejdélejší dobu je jedním z hlavních terapeutických cílů, neboť vede k zastavení či alespoň zpomalení progresu onemocnění a pomáhá zabránit nebo alespoň oddálit rozvoj rezistence (13). V současné době by se účinnost antiretrovirového léčiva měla již po měsíci léčby projevit poklesem hladiny virové nálože minimálně o jeden řád, aby bylo možné prohlásit terapii léčivem za úspěšnou (12).

Druhým pozorovaným parametrem je hodnota CD4<sup>+</sup> lymfocytů zobrazující imunologický stav nemocného. Reflektuje ne/rovnováhu mezi produkcí a destrukcí CD4<sup>+</sup> lymfocytů (12). V našem souboru pacientů jsme zaznamenali postupný nárůst CD4<sup>+</sup> lymfocytů. U individuálních pacientů je ná-

růst pozvolný a kolísá, což lze vysvětlit obecně obtížně dosažitelnou reparací lidského imunitního systému, rozdílnou compliance a rovněž odlišným celkovým zdravotním stavem každého pacienta. Obnovu imunitního systému rovněž komplikuje výskyt imunorestitučního zánětlivého syndromu (z angl. „Immune reconstitution inflammatory syndrome IRIS), který se vyskytuje v 10–32 % případů, a objevuje se zejména u pacientů, jimž byla nasazena antiretrovirová léčba vůbec poprvé či po terapeutické pauze. Syndrom se projevuje zhoršením celkového klinického stavu manifestujícího se zvýšeným počtem oportunních infekcí virového, bakteriálního i mykotického původu (14). Podezření na výskyt tohoto syndromu jsme měli u jednoho pacienta, u ně-

hož se krátce po zahájení léčby objevily příznaky akutního chřipkového onemocnění, které nevyžadovalo farmakologickou léčbu. Je možné, že se jednalo o nežádoucí účinek maravirocu. I v případě hodnot  $CD4^+$  lymfocytů naše výsledky potvrzují výsledky z registračních studií III. fáze klinického hodnocení maravirocu.

Během této práce žádný pacient nevyšel z léčby z důvodu špatné tolerance. V průběhu léčby se vyskytlo několik možných podezření na nežádoucí účinky maravirocu, nicméně u žádného z nich nebyla prokázána příčinná souvislost s maraviroem. Pacienti užívali kombinaci více antiretrovirotik současně, nežádoucí jevy tedy mohly souviset i s ostatními léčivými v kombinaci. Dle výsledků klinických studií se dal předpokládat výskyt zejména průjmů, nauzey a bolestí hlavy, které se ve III. fázi studií objevovaly často, tj. v 0,01–0,1 % případů. V souboru pacientů zahrnutém v této práci se z těchto obtíží vyskytla jedenkrát bolest hlavy.

## ZÁVĚR

Naše práce celkově potvrzuje výsledky klinických studií A4001027 a A4001028, uskutečněných na území USA, Kanady, Evropy a Austrálie (15).

Maraviroc byl ve studii účinným a dobře tolerovaným léčivem, které v kombinovaném terapeutickém režimu bylo a jistě i nadále bude významným přínosem pro terapii HIV infekce.

### Zkratky

AIDS	– syndrom získaného selhání imunity
cART	– kombinovaná antiretroviróvá terapie
FDA	– Úřad pro kontrolu potravin a léků (USA)
HIV	– lidský virus imunitní nedostatečnosti
IRIS	– imunorestituční zánětlivý syndrom
OBT	– optimalizovaná základní terapie
RNA	– ribonukleová kyselina
SD	– směrodatná odchylka
SPC	– souhrn údajů o přípravku
$T_{1/2}$	– terapeutický poločas
VL	– virová nálož

## LITERATURA

1. **Montagnier L.** AIDS: fakta – naděje. 2 ed. Praha: Státní zdravotní ústav 1996.
2. **Osmnact A, Gimenez F.** Pharmacie clinique et thérapeutique. Paříž: Masson 2000.
3. **Smith S, Raymond A.** Encyclopedia of AIDS – a social, political, cultural, and scientific record of the HIV epidemic. 1 ed. Chicago: Fitzroy Dearborn Publishers 1998.
4. Souhrn údajů o přípravku Celsentri [cited 4. 1. 2010]; [http://www.pfizer.cz/files/spc/pfizer/Celsentri/Celsentri-150mg\\_SPC\\_dec\\_2009.pdf](http://www.pfizer.cz/files/spc/pfizer/Celsentri/Celsentri-150mg_SPC_dec_2009.pdf)
5. **Hans P S, Schellhorn S, Dezube B J, et al.** New approaches in the treatment of HIV/AIDS – focus on maraviroc and other CCR5 antagonists. Ther Clin Risk Manag 2008; 4(2): 473–485.
6. **Armour D, Groot M J, Edwards M, et al.** The discovery of CCR5 receptor antagonists for the treatment of HIV infection: hit-to-lead studies. Chem Med Chem 2006; 1(7): 706–709.
7. **Jeannette MW, Wei H.** Development and Charakteriazion of a Novel Single-Cycle Recombinant-Virus Assay To Determine Human Immunodeficiency Virus Type 1 Coreceptor Tropisme. Antimicrob Agents and Chemother 1997; 51(2): 566–575.
8. Souhrn rozhodnutí Společenství o registraci léčivých přípravků od 1. října 2008 do 31. října 2008, Úřední věstník Evropské unie, Editor. 2008. C305/3.
9. **Neelanjana R.** Maraviroc in the treatment of HIV infection. Drug Des Devel Ther, 2008; (2): 151–161.
10. **Matýšková M, Snopková S.** HIV/AIDS a patologie v krevním obrazu. Čas Lék čes, 2007; (146): 68–73.
11. Zpráva o výskytu a šíření HIV/AIDS v ČR za rok 2011; [www.szu.cz/tema/prevence/zprava-o-vyskytu-a-sireni-aids-za-rok-2011](http://www.szu.cz/tema/prevence/zprava-o-vyskytu-a-sireni-aids-za-rok-2011)
12. **Yeni P.** Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH: recommandations du group d'experts. Paříž: Flammarion SA 2008.
13. **Staňková M.** Novinky v antiretroviróvé terapii HIV/AIDS infekce. Interní Med. 2008; 10(11): 498–502.
14. **Beishuizen SJ, Geerlings SE.** Immune reconstitution inflammatory syndrome: immunopathogenesis, risk factors, diagnosis, treatment and prevention. Neth J Med 2009; 67(10): 327–331.
15. EPAR Celsentri – Scientific Discussion/human. [cited 23. 02. 2010]; [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Scientific\\_Discussion/human/000811/WC500022194.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/human/000811/WC500022194.pdf)

*Děkujeme Sylvie Hansel-Esteller a Nicolas Terrail z podílejícího se pracoviště Centre Hospitalier Universitaire Montpellier pod záštitou Université Montpellier 1.*

## Case report

# Antiepileptic drug interactions: A clinical case demonstration

<sup>1</sup>Hundie Tesfaye, <sup>1</sup>Eva Klapková E, <sup>2</sup>Alena Tesfayeová, <sup>2</sup>Vladimír Komárek

<sup>1</sup>Department of Clinical Biochemistry and Pathobiochemistry, Division of Clinical Pharmacology, University Hospital, Motol, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Paediatric Neurology, University Hospital, Motol, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

## SUMMARY

Epilepsy is a serious health disorder affecting both paediatric and adult population worldwide. Due to difficulties in identifying its aetiology, initial management is often guided by empiric therapy measures. Symptomatic control requires the use of antiepileptic drugs (AEDs), many of which have the potential for adverse drug interactions. Children are especially susceptible to drug interactions and frequently exhibit atypical adverse events, which may require special care.

**Aim.** To demonstrate a case of a 15 year old girl suffering from refractory epilepsy with underlying focal cortical dysplasia (FCD), whose seizure deterioration was most probably associated with drug-drug interactions between prescribed common antiepileptic drugs, namely valproic acid, phenobarbital or the prodrug primidon and carbamazepine.

**Key words:** focal cortical dysplasia, refractory epilepsy drug, drug interaction.

## SOUHRN

### Tesfaye H, Klapková E, Tesfayeová A, Komárek V. Antiepileptické léky a lékové interakce: klinická kazuistika

Epilepsie je závažné onemocnění postihující dětskou i dospělou část populace po celém světě. Vzhledem k obtížnému zjišťování etiologie je prvotní nastavení léčebných postupů často řízené empirickými terapeutickými úvahami. Zvládnutí projevů vyžaduje použití antiepileptických léčiv, přičemž mnoho z nich vykazuje možné lékové interakce. Speciálně děti jsou vnímavé k lékovým interakcím a často vykazují atypické nežádoucí projevy vyžadující speciální péči.

**Cíl.** Popis případu patnáctileté dívky trpící refrakterní epilepsií na podkladě fokální kortikální dysplazie, u níž bylo zhoršování klinického stavu s velkou pravděpodobností spojováno s lékovými interakcemi mezi běžně předepisovanými antiepileptiky, jmenovitě kyselinou valproovou, fenobarbitalem, nebo primidonem a karbamazepinem.

**Klíčová slova:** fokální kortikální dysplazie, léky na refrakterní epilepsii, léková interakce.

Čas Lék čes 2011; 150: 451–456

## INTRODUCTION

Epilepsy is a common disorder approximately affecting 0.5–2% of the population worldwide. Approximately one-third of cases are resistant to drug treatment although the mechanisms underlying this drug resistance are not well understood (1). In a recent review, Reynolds and Rodin (2) brought attention to the history of clinical concepts of epilepsy and its classification, especially in the last 100 years. Throughout its recorded history, epilepsy has always been defined by its most dramatic symptoms, like falling, motor activity or loss of consciousness, but separation from other causes of the same paroxysmal symptoms has always proved challenging. A recent paper by Meencke (3) also describes the history of the clinical neuropathology of epilepsy in the last hundred years, from microscopy to molecular neuropathology, mainly focusing on the

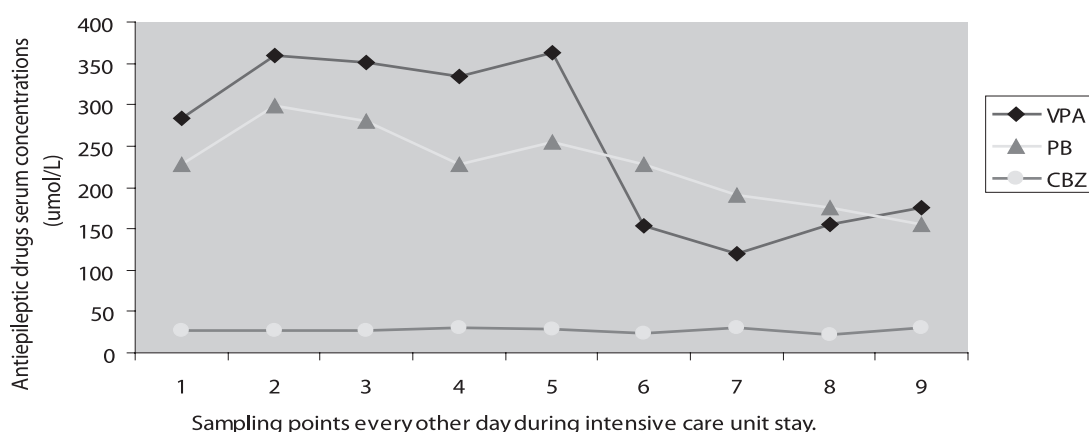
concepts of hippocampal sclerosis and causes or consequence of seizures, as well as the concept of developmental disturbances in respect to general epileptogenicity. Clinical neuropathology remains an important discipline in the future of epileptology and brain research especially in the area of molecular genetics, whereas, neuropathology may help to understand the stages of epileptogenesis and factors responsible for the progressive nature of the disease. Despite remarkable progress, the aetiology of the syndrome is often difficult to confirm. Focal cortical dysplasia (FCD) is a congenital abnormality where the neurons in an area of the brain fail to migrate in the proper formation in utero. It is one of the most common causes of intractable epilepsy in children and is a frequent cause of epilepsy in adults. FCD is associated with enlarged cells known as balloon cells for their large elliptical shape, displaced nucleus, and lack of dendrites or axons. It is hypothesized that balloon cells and dysplastic neurons contribute to seizures in patients with cortical dysplasia. Refractory epilepsy with underlying focal cortical dysplasia is usually resistant to drug treatment in approximately one-third of cases, but the mechanisms underlying this drug resistance are not understood. Previous studies in human epilepsy have shown that multidrug resistance (MDR-1) or multidrug resistance associated protein (MRP-1) may also be overexpressed in

### ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Hundie Tesfaye, Ph.D.  
Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK  
a FN Motol  
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5  
e-mail: hundie.tesfaye@fnmotol.cz

**Table 1.** Combined antiepileptic plasma concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) determined by fluorescent polarization immunoassay (FPIA) method five months before (**top column**) and during the event requiring intensive care (**bottom columns**)

Drug	Level	Method	Reference range
phenobarbital primidone carbamazepine	85.2 53.5 39.4	FPIA	65–172 23–69 17–43
phenobarbital primidone carbamazepine	99.1 56.2 32.4	FPIA	65–172 23–69 17–43
phenobarbital primidon carbamazepine valproic acid	229.5 26.0 – 283.8	FPIA	65–172 23–69 17–43 347–693
phenobarbital carbamazepine valproic acid	299.6 26.0 360.0	FPIA	65–172 17–43 347–693

**Fig. 1.** Profile of series serum levels of concomitantly administered AEDs, namely, valproic acid (VPA), phenobarbital (PB) and carbamazepine (CBZ) in a 14 year old female patient with suspected drug-drug interaction for the three antiepileptic drugs. The concentrations of PB were above the therapeutic limit until dose reduction to a third of the initial dose. However, the other two drugs (VPA and CBZ) demonstrated levels within conventional therapeutic ranges (see Table 1).

brain tissue (glia and neurones), which do not normally express these proteins. Thus in pathologies causing refractory epilepsy, the presence of overexpressed resistance proteins in lesional dysplastic neurones may lower the interstitial concentration of AEDs in the vicinity of the epileptogenic pathology leading to drug resistant epilepsy (1). As drug monotherapy rarely controls the disease, multi-drug approaches are common practice, especially in paediatric age groups. Symptomatic control requires the prophylactic use of antiepileptic drugs (AEDs), many of which have the potential for adverse drug interactions with other coprescribed medication. Drug-drug interactions are reported to give rise to adverse drug reactions (ADRs) in at least 6% of subjects with epilepsy (4). Children are especially susceptible to drug interactions and frequently exhibit atypical adverse events, which may require hospitalization or result in death (5). In primary care, 3.0% of children on chronic antiepileptic therapy are co-prescribed therapeutic agents, which could give rise to clinically serious drug-drug interactions (6). Within a 36 year period 331 children aged < 17 years died following suspected ADRs in the United Kingdom. AED therapy was associated with 65 of these deaths, and sodium valproate alone with 31 deaths. Even the 'safer' second-generation AEDs were involved in 20 fatal cases and have been identified as the most important cause of drug-related childhood death (7). In the present case we describe possible drug-drug interactions which may be responsible for clinical deterioration in a patient with refractory epilepsy.

## CASE PRESENTATION

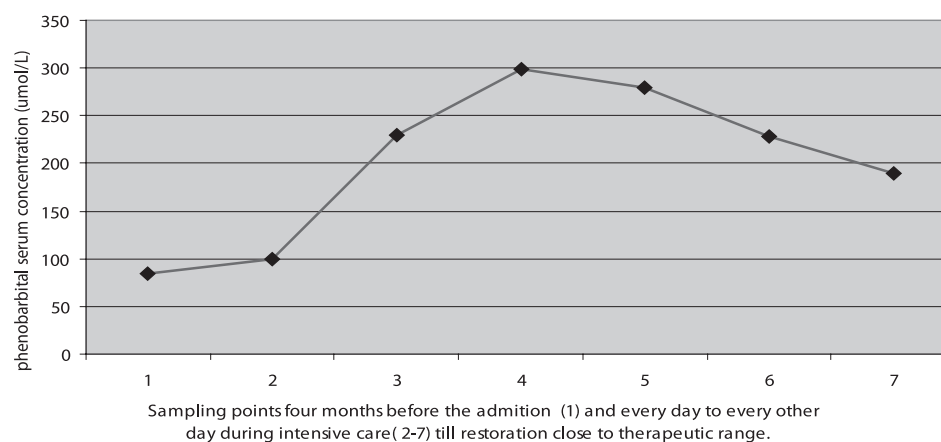
A female paediatric patient was on long term follow-up and general care for refractory epilepsy. No familial history association was reported with the diagnosis. Her epilepsy was classified as multi-drug resistant, where all available AEDs including combinations of new generation drugs failed to fully control the entity. Further investigation led to the diagnosis of FCD IIb Lsin. indicating surgery (stereotactic resection) as the most appropriate treatment. Post surgery, no significant long term improvement was observed, instead, hemianopsia and paraparesis l.d.x. has been observed as complication. Maintenance dose of AEDs was continued, but with poor control yet, where vagus nerve stimulation (VNS) has been provided in addition to AEDs therapy. AEDs levels just four months before deterioration were within conventional therapeutic ranges (Table 1, first row), whereas phenobarbital levels during the clinical deterioration were within toxic ranges despite the rest of the AEDs being within therapeutic margins. Once upon admission her state had deteriorated and VPA was added to the AEDs (PRM, PB i.v., CBZ) and this led to further deterioration. The main clinical manifestations potentially linked to ADRs were alteration of consciousness, hallucination and delirium. AED levels revealed significantly high PB levels (Fig. 1.) despite significant reduction of the dose from initially 300 mg/day to only 100 mg/day during the hospital stay.



**Table 2.** Mechanisms of action of antiepileptic drugs (AEDs) used concomitantly in the present case report and consideration of synergism in terms of pharmacodynamics. As illustrated all the three drugs act by influencing the gamma aminobutyric acid (GABA) system

Agent(s))	Mechanism(s) of action
PB PRM	Mediated via binding to GABA-A complex. This is probably not the only mechanism for the antiepileptic action of barbiturates. They are thought to inhibit neuronal activity by increasing potassium conductance beside reducing sodium conductance in hyperactive neurones.
VPA	Inhibition of enzymes (GABA transferase and succinic aldehyde dehydrogenase), which are important for GABA catabolism. This leads to increased availability of GABA/enhanced GABA action or mimics its action at postsynaptic receptor sites. The primary mechanism for the antiepileptic actions of valproate relate to reduction of calcium current through T-channels and reduction of sodium conductance in hyperactive neurones.
CBZ	Binds GABA-A komplex, reduces sodium conductance in hyperactive neurones and stabilizes the inactivated state. Besides its anticonvulsant properties it has sedative and hypnotic effects.

PB – phenobarbital, PRM – primidone, VPA – valproic acid, CBZ – carbamazepine



**Fig. 2.** Serum phenobarbital concentrations during concomitant therapy with valproate and restoration of levels close to conventional therapeutic range after dose adjustment in refractory epilepsy

## DISCUSSION

Drug-drug interactions at any level (both pharmacokinetic and pharmacodynamic) represent a major challenge in multi-drug treatment of epilepsy. Valproic acid is a minor substrate of CYP2A6, 2B6, 2C8/9, 2C19, 2E1. It weakly inhibits CYP2C8/9, 2C19, 2D6 and 3A4; whereas it induces CYP2A6. In the present case of concomitantly used drugs, phenobarbital and carbamazepine are inducers, but the inhibitory effect of valproate may be significant as demonstrated by evident cumulation of phenobarbital blood levels (Fig. 2). Valproic acid may increase, decrease, or have no effect on carbamazepine levels; but may increase serum concentrations of carbamazepine – epoxide (active metabolite) by inducing the metabolism of parent drug (carbamazepine). VPA can displace the protein binding of CBZ. VPA also inhibits microsomal epoxide hydrolase (mEH), the enzyme responsible for the breakdown of **carbamazepine-10,11 epoxide** into inactive metabolites. Valproic acid appears to inhibit the metabolism of phenobarbital; thus increasing its overall effect. (Cave: PB intoxication after adding PB/PRM to VPA, as a late effect). Phenobarbital/primidone, and carbamazepine may produce enzyme inducing effects that can lower the half-life of VPA thus leading to therapeutic failure. Although the mechanism is unknown, it should be considered that phenobarbital levels increase when valproic acid is given concomitantly, enhancing its sedative effects. It is well documented that carbamazepine serum concentrations may be elevated when valproic acid is added to the treatment regimen. This is largely due to an increase in carbamazepine epoxide levels. Phenobarbital, primidone, and carbamazepine may produce enzyme inducing effects that can temporarily lower the half-life of valproic acid. The

mechanism of action of carbamazepine and its derivatives is relatively well understood i.e. voltage-gated sodium channels are the molecular pores that allow brain cells (neurons) to generate action potentials, the electrical events that allow neurons to **communicate over long** distances. After the sodium channels open, to start the action potential, they inactivate, essentially closing the channel. Carbamazepine stabilizes the inactivated state of sodium channels, meaning that fewer of these channels are available to open, making brain cells less excitable. Epileptic children exposed to oxidative stress and conventional antiepileptic drugs change the oxidative/antioxidative balance. Recently, Aycicek et al. confirmed the effects of carbamazepine, valproic acid and phenobarbital on the oxidative and antioxidative balance in epileptic children (8).

Common symptoms of AED overdose include coma, deep sleep, motor restlessness, and visual hallucinations, where supportive treatment is necessary. Valproic acid is usually well tolerated but has been associated with some side effects. Several cases of VPA induced non-hepatic hyperammonemic encephalopathy in subjects treated by VPA alone and other concomitant AED have been reported in the medical literature (9). Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy is an unusual complication which may occur just after the beginning or during treatment. It is characterized by vomiting, drowsiness, lethargy and progressive impairment of consciousness, focal neurologic signs, cognitive slowing and increased seizure frequency. This is a poorly studied side effect independent of the drugs hepatotoxic action. The increase in serum ammonium level is due to several mechanisms, although the most important one appears to be the inhibition of carbamoylphosphate synthetase-I, the enzyme that begins the urea cycle. Hyperammonemia leads to an increase in the glutamine level

in the brain, which produces astrocyte swelling and cerebral edema. Polytherapy with several drugs, such as phenobarbital, seems to contribute to the problem (10). Valproic acid-induced hyperammonemic encephalopathy may occur in people with normal liver function, despite normal doses and serum levels of VPA (11). Our patient also had significant hyperammonemia cca 109  $\mu\text{mol/L}$  (normal range 14-55  $\mu\text{mol/L}$ ) which was gradually reversible. Carbamazepine may aggravate juvenile myoclonic epilepsy and has also been linked to serious adverse cognitive effects, including EEG slowing and cell apoptosis. These adverse effects have been said to be associated with the formation of CBZ metabolites. The problem of bioequivalence and/or therapeutic failure in association with replacement of different generic products. Such a problem was first observed in Australia, when an outbreak of phenytoin intoxication occurred among epileptic patients (12, 13) as a result of single excipient change from calcium **sulphate to lactose** by the drug manufacturer. The consequence was a substantial increase in bioavailability and an increase of phenytoin serum concentrations by 80 to 100%. Patients presented with a typical clinical picture of phenytoin intoxication with ataxia, double vision and periods of vomiting, where a complete remission in all patients was achieved when the original excipient was restored (14). Similar cases have been reported, of patients, who had seizure frequency increase after they were switched to generic drug associated with significant drug level changes (15). In a recently published cases of breakthrough seizures, brand to generic substitution was blamed as the main cause (16). In Denmark, several patients who complained of adverse effects when switched to generic lamotrigine underwent hospitalization with blood levels assessed every 3 hours. One patient had a fall, a skull fracture, and an epidural hematoma after the switch and had elevated levels during testing that were consistent with toxicity while taking the generic drug. Another patient had status epilepticus and lower levels on the generic and a third patient had ataxia within the first hour of taking the generic associated with a higher  $C_{\text{max}}$  (17). Two Canadian studies (18, 19) demonstrated that switchback rates from generic to brand are 5 to 10 times higher for AEDs than other classes of medications and significantly higher numbers of outpatient visits and mean length of hospital stays occurred in people taking generic AEDs compared with those taking brand name drug. In 2007, US case – controlled database analysis of healthcare for 12- to 64-year-olds with epilepsy and AED formulation changes, indicated 81% greater odds of an AED formulation switch relative to the controls (20). Carbamazepine, phenobarbital, and valproic acid are among commonly used antiepileptic drugs that show complicated pharmacokinetic behavior. Immunoassays are used routinely to monitor these drugs, and assay specificity is important to obtain accurate results. Frank et al. (21) reported molar cross-reactivity of carbamazepine-10,11-epoxide of 12% in carbamazepine determination by immunoassay, indicating that high performance liquid chromatography (HPLC) may be useful for monitoring patients. This may be particularly relevant for those patients exhibiting symptoms of carbamazepine toxicity, whose serum carbamazepine concentration is within the therapeutic range but who may be producing significant levels of the active epoxide metabolite. Unfortunately we did not have access to this assay at the time of case manifestation. Matos et al. (22) reported cases in which false-positive antidepressive drug levels led to the diagnosis of carbamazepine intoxication. Dasgupta et al. (23) observed significant interference of carbamazepine with the FPIA method. Besides problems relating to interindividual and intra-individual variation and idiosyncratic undesired effects, shortcomings due to bioequivalence and/or therapeutic equivalence problems may also be a challenge associated with the introduction of different generic products

(13–14). For the determination of bioequivalence, the so-called rule of inclusion is used, meaning that the 90% confidence intervals (CIs) for the new preparation should be within the limits: for AUC 80–125%. Proof of bioequivalence between **reference** and **generic** preparations of antiepileptic drugs does not mean that they are freely interchangeable. Generic formulations with proven bioequivalence to branded preparations can be used, for example, at the beginning of treatment or in poorly controlled patients with serum concentrations in the mid range. However, it has been demonstrated that the usual rules for bioequivalence and the range of acceptability for preparations of carbamazepine are problematic (23). Beside the pharmacokinetic variability, interaction at a pharmacodynamic level is also possible due to some similarities in mechanism of actions. The available data indicate that the anticonvulsant efficacy of these AEDs is mainly due to the inhibition of sodium channel activity (24). Similar targets or mechanism of action and other conditions affecting pharmacokinetic and toxicodynamic processes may be significant in terms of drug-drug interactions. The mechanism of action of valproic acid is not clearly defined; however, effects of the drug may be related at least in part to increased brain concentrations of the inhibitory neurotransmitter GABA, probably through inhibition of catabolic enzymes of GABA. Thus, valproate may cause increased availability of GABA, an inhibitory neurotransmitter, to brain neurones or may enhance or mimic its action at postsynaptic receptor sites. Animal studies have shown that valproic acid inhibits GABA transferase and succinic aldehyde dehydrogenase, enzymes which are important for GABA catabolism, whereas results of a study indicate the drug inhibits neuronal activity by increasing potassium conductance (25). In a study of 88 paediatric patients receiving sodium valproate monotherapy, side effects were noted in 71 patients. Although average doses in these patients were significantly higher than in the 17 patients with no side effects, no difference in plasma concentration were noted (26). In clinical practice, serum level monitoring of anticonvulsant drugs is usually adequate. When there is an alteration in the binding of the anticonvulsant drug to the plasma proteins, however, the relationship between the serum concentration and therapeutic efficacy or toxicity becomes difficult to interpret. Behavioural alterations, digestive disorders, and neurological changes are the common side effects observed and can occur with combinations such as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), phenytoin, carbamazepine and valproic acid, or when albumin levels are low. A failure to rely on serum free levels of the anti-convulsant under these circumstances can easily result in poor clinical decisions. The technique of serum free level measurement and illustrative examples of specific cases are provided to document the usefulness of this invaluable laboratory test (27). The relationship between dose and total valproate concentration is nonlinear, i.e. concentration does not increase proportionally with dose, but increases to a lesser extent at higher doses due to saturable plasma protein binding. The kinetics of unbound drug are linear. Symptoms of overdose include coma, deep sleep, motor restlessness, and visual hallucinations. Valproic acid appears to inhibit the metabolism of phenobarbital; thus increasing its effect. Phenobarbital is a short-acting barbiturate with sedative, hypnotic, and anticonvulsant properties. Time to peak, serum on oral is 1–6 hours, whereas half-life elimination in children is 37–73 hours, with 20% to 50% excreted as unchanged drug in the urine. As is the case with barbiturates in general, phenobarbital depresses the sensory cortex, decrease motor activity, alter cerebellar function, and produces **drowsiness, sedation, and hypnosis**. In high doses, it exhibits anticonvulsant activity and may produce also dose-dependent **respiratory depression**. Valproic acid appears to inhibit the metabolism of phenobarbital, thus increasing its effect. One must beware

of phenobarbital intoxication after adding PB/PRM to VPA, also as a late effect. Valproic acid and valnoctamide both interact with carbamazepine, as they inhibit microsomal epoxide hydrolase (mEH), the enzyme responsible for the breakdown of carbamazepine-10,11 epoxide into inactive metabolites. By inhibiting mEH, valproic acid and valnoctamide cause a buildup of the active metabolite, prolonging the effects of carbamazepine and delaying its excretion. In combinations with CBZ, VPA inhibits the reduction of the metabolite CBZ-epoxide, thus leading to an overdose of CBZ-epoxide, an interaction which happens more frequently when CBZ is added to VPA than the other way round. Carbamazepine itself is associated with a number of idiosyncratic adverse effects, including skin rash, blood disorders and hepatitis, in 30–50% of patients (28) These adverse effects have been associated with the formation of CBZ metabolites (29–30). Therefore, therapeutic drug monitoring (TDM) of CBZ metabolites also has important clinical implications. In addition CBZ is also a well known enzyme inducer up-regulating cytochrome P450 enzymes (31).

## CONCLUSIONS

To enhance our understanding of epilepsy as a disease, antiepileptic drugs (AEDs) PK/PD principles, including drug interaction mechanisms, may allow more effective use of these drugs. If a high potential for metabolic drug-drug interactions exists between co-administered antiepileptic drugs, undesired effects may occur unexpectedly at any time during therapy. Carbamazepine, phenobarbital, and valproic acid are commonly used antiepileptic drugs that show complicated pharmacokinetic behavior. Therefore, dose adjustment based on clinical judgement assisted by therapeutic drug monitoring may be of vital importance.

### Abbreviations

ADRs	– adverse drug reactions
AEDs	– antiepileptic drugs
CBZ	– carbamazepine
CIs	– confidence intervals
FCD	– focal cortical dysplasia
GABA	– gamma aminobutyric acid
HPLC	– high performance liquid chromatography
MDR	– multidrug resistance
mEH	– microsomal epoxide hydrolase
NSAIDs	– non-steroidal anti-inflammatory drugs
PB	– phenobarbital
PRM	– primidone
TDM	– therapeutic drug monitoring
VNS	– vagus nerve stimulation
VPA	– valproic acid

## REFERENCES

1. **Sisodiya SM, Lin WR, Harding BN, Squier MV, Thom M.** Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy. *Brain* 2002; 125: 22–31.
2. **Reynolds EH, Rodin E.** The clinical concept of epilepsy. *Epilepsia* 2009; 50(Suppl 3): 2–7.
3. **Meencke HJ.** Clinical neuropathology of the epilepsies in the 100 years of the ILAE (1909–2009). *Epilepsia* 2009; 50 (Suppl 3): 8–16.
4. **Manon-Espaillet R, Burnstine TH, Remler B, et al.** Antiepileptic drug intoxication: factors and their significance. *Epilepsia* 1991; 32: 96–100.
5. **Bourgeois BF.** New antiepileptic drugs in children: which ones for which seizures. *Clin Neuropharmacol* 2000; 23: 119–132.
6. **Novak PH, Ekins-Daukes S, Simpson CR, Milne RM, Helms P, McLay JS.** Acute drug prescribing to children on chronic antiepilepsy therapy and the potential for adverse drug interactions in primary care. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 59: 712–717.
7. **Clarkson I, Choonara I.** Surveillance for fatal suspected adverse drug reactions in the UK. *Arch Dis Child* 2002; 87: 462–467.
8. **Aycicek A, Iscan A.** The effects of carbamazepine, valproic acid and phenobarbital on the oxidative and antioxidative balance in epileptic children. *Eur Neurol* 2007; 57: 65–69.
9. **Mehndiratta MM, Mehndiratta P, Phul P, Garg S.** Valproate induced non hepatic hyperammonaemic encephalopathy (VNHE) – a study from tertiary care referral university hospital, north India. *J Pak Med Assoc* 2008; 58: 627–631.
10. **Segura-Bruna N, Rodriguez-Campello A, Puente V, Roquer J.** Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy. *Acta Neurol Scand* 2006; 114: 1–7.
11. **Wadzinski J, Franks R, Roane D, Bayard M.** Valproate-associated hyperammonemic encephalopathy. *J Am Board Fam Med* 2007; 20: 499–502.
12. **Balla J.** "Dilantin" overdose. *Med J Aust* 1968; 2: 480–481.
13. **Eadie MJ, Sutherland JM, Tyrer JH.** "Dilantin" overdosage. *Med J Aust* 1968; 2: 515.
14. **Tyrer JH, Eadie MJ, Sutherland JM, Hooper WD.** Outbreak of anticonvulsant intoxication in an Australian city. *BMJ* 1970; 4: 271–273.
15. **Burkhardt RT, Leppik IE, Blesi K, Scott S, Gapany SR, Cloyd JC.** Lower phenytoin serum levels in persons switched from brand to generic phenytoin. *Neurology* 2004; 63: 1494–1496.
16. **Berg MJ, Gross RA, Tomaszewski KJ, Zingaro WM, Haskins LS.** Generic substitution in the treatment of epilepsy: case evidence of breakthrough seizures. *Neurology* 2008; 71: 525–530.
17. **Nielsen KA, Dahl M, Tønnerup E, Wolf P.** Comparative daily profiles with different preparations of lamotrigine: a pilot investigation. *Epilepsy Behav* 2008; 13: 127–130.
18. **Andermann F, Duh MS, Gosselin A, Paradis PE.** Compulsory generic switching of antiepileptic drugs: high switchback rates to branded compounds compared with other drug classes. *Epilepsia* 2007; 48: 464–469.
19. **LeLorier J, Duh MS, Paradis PE, Lefebvre P, Weiner J, Manjunath R, Sheehy O.** Clinical consequences of generic substitution of lamotrigine for patients with epilepsy. *Neurology* 2008; 70(22 Pt 2): 2179–2186.
20. **Zachry WM 3rd, Doan QD, Clewell JD, Smith BJ.** Case-control analysis of ambulance, emergency room, or inpatient hospital events for epilepsy and antiepileptic drug formulation changes. *Epilepsia* 2009; 50: 493–500.
21. **Frank EL, Schwarz EL, Juenke J, Annesley TM, Roberts WL.** Performance characteristics of four immunoassays for antiepileptic drugs on the IMMULITE 2000 automated analyzer. *Am J Clin Pathol* 2002; 118: 124–131.
22. **Matos ME, Burns MM, Shannon MW.** False-positive tricyclic antidepressant drug screen results leading to the diagnosis of carbamazepine intoxication. *Pediatrics* 2000; 105(5): E66.
23. **Dasgupta A, McNeese C, Wells A.** Interference of carbamazepine and carbamazepine 10,11-epoxide in the fluorescence polarization immunoassay for tricyclic antidepressants: estimation of the true tricyclic antidepressant concentration in the presence of carbamazepine using a mathematical model. *Am J Clin Pathol* 2004; 121: 418–425.
24. **Mayer T, May TW, Altermüller DM, Sandmann M, Wolf P.** Clinical problems with generic antiepileptic drugs. *Clin Drug Invest* 1999; 18: 17–26.
25. **McEvoy GK (ed.)** American hospital formulary service, drug information. Bethesda, MD: American Society of Hospital Pharmacists 1991; 1147.
26. **Reynolds JEF (ed.)** Martindale, the extra pharmacopoeia, 29th ed. London: The Pharmaceutical Press 1989; 413.
27. **Ambrósio AF, Soares-Da-Silva P, Carvalho CM, Carvalho AP.** Mechanisms of action of carbamazepine and its derivatives, oxcarbazepine, BIA 2-093, and BIA 2-024. *Neurochem Res* 2002; 27: 121–130.
28. **Reynolds NC Jr, Murthy VS.** Serum free levels and evaluation anticonvulsant drug interactions. *Wis Med J* 1989; 88: 25–27.
29. **Ju C, Uetrecht JP.** Detection of 2-hydroxyiminostilbene in the urine of patients taking carbamazepine and its oxidation to a reactive iminoquinone intermediate. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288: 51–56.

30. **Shear NH, Spielberg SP.** Anticonvulsant hypersensitivity syndrome. In vitro assessment of risk. *J Clin Invest* 1988; 82: 1826–1832.
31. **Riley RJ, Kitteringham NR, Park BK.** Structural requirements for bioactivation of anticonvulsants to cytotoxic metabolites in vitro. *Br J Clin Pharmacol* 1989; 28: 482–487.
32. **Luo G, Cunningham M, Kim S, et al.** CYP3A4 induction by drugs: correlation between a pregnane X receptor reporter gene

assay and CYP3A4 expression in human hepatocytes. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 795–804.

*The corresponding autor is thankful to Dr. Gareth J. Veal from Newcastle University, UK, for reviewing the manuscript not only language wise also for stylistic advice.*

## Zprávy

# Plánované akce odborných složek ČLS JEP

### ZARI

1. září 2011

#### Racionální antibiotická terapie v ordinaci PLDD

Místo: Lékařský dům Praha  
Pořadatel: OSPDL ČLS JEP

15. až 17. září 2011

#### XLVIII. dny nukleární medicíny

Místo: Hradec Králové  
Pořadatel: ČSNM ČLS JEP, Oddělení nukleární medicíny FN Hradec Králové

30. září až 1. října 2011

#### Brněnské dny praktického lékařství

Místo: Brno  
Pořadatel: SVL

29. září až 1. října 2011

#### VII. hradecké vakcinologické dny

Místo: Hradec Králové  
Pořadatel: Česká vakcinologická společnost ČLS JEP

### RIJEN

3. až 7. října 2011

#### Kurz hypnózy pro lékaře a klinické psychology

Místo: Psychiatrická léčebna v Kroměříži  
Pořadatel: Psychiatrická společnost ČLS JEP, sekce pro hypnózu a Psychoterapeutická společnost, sekce pro hypnózu

6. října 2011

#### Vedlejší účinky aditivních látek v potravě

Místo: Lékařský dům Praha  
Pořadatel: OS PDL ČLS JEP

12. až 14. října 2011

#### 15. česko-slovenský psychiatrický sjezd

Místo: Brno  
Pořadatel: Psychiatrická společnost ČLS JEP a Česká psychiatrická společnost o. s.

18. až 19. října 2011

#### IV. ostravské angiologické dny 2011

Místo: Ostrava  
Pořadatel: Česká angiologická společnost ČLS JEP a Vítkovická nemocnice a.s.

### LISTOPAD

2. listopadu 2011

#### Kazuistiky z dětské endokrinologie

Místo: Praha 2, Lékařský dům  
Pořadatel: OSPDL ČLS JEP

2. až 5. listopadu 2011

#### 28. česko-slovenská psychoterapeutická konference

Místo: Luhačovice, hotel Fontána  
Pořadatel: Česká psychoterapeutická společnost ČLS JEP a Psychiatrická společnost ČLS JEP

5. až 6. listopadu

#### Supervizní soustředění hypnoterapeutů (v návaznosti

#### na 28. česko-slovenskou psychoterapeutickou konferenci)

Místo: Luhačovice, hotel Fontána  
Pořadatel: Česká psychoterapeutická společnost ČLS JEP a Psychiatrická společnost ČLS JEP

11. až 12. listopadu 2011

#### XVII. moravskoslezské pediatrické dny s mezinárodní účastí

Místo: Ostrava  
Pořadatel: Spolek lékařů Ostrava ČLS JEP

# Hazard u dětí a dospívajících

<sup>1</sup>Karel Nešpor, <sup>2</sup>Ladislav Csémy

<sup>1</sup>Psychiatrická léčebna Bohnice, Praha

<sup>2</sup>Psychiatrické centrum Praha

## SOUHRN

Hazardní hraní je u dětí a dospívajících závažný a v České republice relativně častý problém, zejména u chlapců. Farmakologické možnosti léčby jsou omezené. O to důležitější je proto psychotherapie a rodinná terapie také a prevence včetně omezování dostupnosti hazardu. V závěru práce uvádíme stručnou kazuistiku a doporučení rodičům, jejichž dítě hazardně hraje.

**Klíčová slova:** hazard, dospívající, prevence, léčba, rodinná terapie.

## SUMMARY

### Nešpor K, Csémy L. Gambling in children and adolescents

Gambling in children and adolescents is a serious and relatively common problem especially among Czech boys. Psychotherapy, family therapy and prevention are more important than pharmacotherapy here. The prevention includes also the restrictions of gambling availability. We present a brief case report and the instructions for the parents of children with a gambling problem.

**Key words:** gambling, adolescents, prevention, treatment, family therapy.

Ne.

Čas Lék čes 2011; 150: 457-460

## KRÁTCE O EPIDEMIOLOGII HAZARDU

Hazard je zejména u českých chlapců značně rozšířený. Csémy uvádí na základě studie ESPAD 2007, že denně nebo téměř denně hazardně hraje 1,1 % chlapců ve věku 16 let a dalších 1,3 % hraje přibližně jednou týdně. U části těchto dospívajících již může docházet k rozvoji patologických forem hráčství.

Problémy s hazardem se ale objevují už i v nižším věku. Dvořáková (1) sledovala 670 žáků 8. tříd z náhodně vybraných pražských základních škol. Výsledky uvedené v tabulkách 1 a 2 naznačují, že část dětí školního věku si nachází přístup k herním automatům a hazardní hře.

Hraní hazardních her nejvíce korelovalo s chozením na diskotéky ( $r = 0,38$ ), dále s jízdou na motorce nebo mopedu ( $r = 0,35$ ), chozením do kina ( $r = 0,33$ ) a bezcílným potloukáním se po ulici ( $r = 0,24$ ).

Návykové nemoci se v dětství v dospívání rozvíjejí podstatně rychleji, než v pozdějších letech. Nepřekvapují proto údaje z literatury, podle nichž je výskyt patologického hráčství mezi dospívajícími a mladšími dospělými vyšší než v celé populaci. Jiménez-Murcia et al. (2) navíc zmiňují, že v jejich souboru byl začátek patologického hráčství v nižším věku spojen s větší intenzitou tohoto návykového problému.

## PŘÍČINY

Nastally a Dixon (3) uvádějí, že patologické hráčství vzniká u dětí a dospívajících v důsledku interakce rizikových čini-

Tab.1. Frekvence hraní na hracích automatech

	Nikdy (zřídka)	Několikrát měsíčně	Týdně a častěji
Celkem	93,3	2,1	4,6
Dívky	96,8	1,9	1,3
Chlapci	89,9	2,2	7,9

Tab. 2. Přátelé, o nichž dotázaný uvádí, že hrají hazardní hry

	Celkem	Dívky	Chlapci
Nikdo z mých přátel	81,3	85,8	76,9
Můj nejlepší přítel/má nejlepší přítelkyně	3,1	1,5	4,6
Někteří mí přátelé/mé přítelkyně	12,4	11,1	13,7
Zřídka nebo nikdy	3,2	1,5	4,9

telů, které se vyskytují na více rovinách. Tyto roviny zahrnují oblast biologickou, psychologickou, ale také sociální, např. důležitá jsou očekávání spojená s hazardem a jeho propagace nebo dostupnost hazardu pro dospívající. Z tohoto hlediska je situace u nás extrémně nepříznivá, nabídka různých forem hazardu je zde vysoká a to i pro nezletilé.

Z rodinných rizikových činitelů lze předpokládat, podobně jako u problémů působených alkoholem, negativní vliv malého rodičovského dohledu a nedostatku vřelosti a péče. Heineman (4) zmiňuje jako rizikový faktor přílišnou tvrdost, typicky na straně otce, a přílišnou ústupnost, obvykle na straně matky. Vysoce rizikový je pro dospívající i výskyt patologického nebo problémového hráčství nebo jiné návykové nemoci u někoho z rodičů.

## MOŽNOSTI LÉČBY

### Farmakologická léčba

Grant a Potenza (5) uvádějí, že v USA nebyl v této indikaci schválen žádný preparát a že neexistují studie, které by

### ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Karel Nešpor, CSc.  
Psychiatrická léčebna Praha-Bohnice  
Mužské oddělení pro léčbu závislostí  
Ústavní 91, 181 02 Praha 8  
e-mail: drnespor@gmail.com  
www.drnespor.eu, www.youtube.com/drnespor

u dospívajících patologických hráčů zjišťovaly efekt medikamentózní léčby a její bezpečnost. Podle citovaných autorů je mozek dospívajících vyvíjejícím se orgánem, a proto u nich nelze mechanicky předpokládat stejný efekt medikace jako u dospělých.

Dalo by se uvažovat o naltrexonu, ten je patrně efektivní a pro dospívající bezpečný, v dětské psychiatrii se používá i v jiné indikaci. Výhodou je navíc i to, že mírní bažení po alkoholu, což se bývá u některých klientů souběžně se vyskytující problém. Podstatnou překážkou je ale vysoká cena preparátu, přesahující možnosti většiny klientů.

V případech, antidepresiv, jako jsou fluvoxamin nebo escitalopram (5) byly zase u dospívajících po podání léků této skupiny pozorovány suicidální tendence, což je u patologického hráčství velmi relevantní problém. V případě stabilizéru nálad lithia zase představuje komplikaci náročnost na spolupráci, protože je třeba monitorovat hladinu léku. Podstatné jsou také vedlejší účinky lithia, jeho interakce a velká toxicita při předávkování.

O to důležitější jsou zde proto nefarmakologické postupy léčby a samozřejmě především prevence.

### Nefarmakologické přístupy léčby

Nastally a Dixon (3) zmiňují změnu prostředí a společností, psychodynamické, behaviorální a kognitivní přístupy. Sem patří například systematická desenzibilizace nebo kognitivní restrukturační, o nichž více na jiném místě.

Jiménez-Murcia et al. (2) uvádějí, že u patologických hráčů mladšího věku zjišťovali častěji hledání nových podnětů a nižší schopnost sebeovládání. Zde bych připomenul doporučení, kterého se nám před lety dostalo od docenta Skály, totiž že léčba má být dobře organizovaná, má v ní být řád a pravidelnost, ale také něco, co klienty překvapí.

### Krátká intervence v rodinách

Většina patologických hráčů a jejich rodin nevyhledá léčbu, ale snaží se problém zvládnout svépomocí. Tuto skutečnost je třeba brát v úvahu a nabízet patologickým hráčům i jejich rodičům pomoc, která je pro ně přijatelná. Z tohoto důvodu jsme umístili na internet k bezplatnému stahování příručku „Už jsem prohrál dost“ (6), kde je i kapitola určená rodičům dospívajících patologických hráčů. Uvádíme ji v příloze ve zkrácené a adaptované podobě.

## SPECIFIKA PREVENČE PROBLÉMŮ PŮSOBENÝCH HAZARDEM U DĚTÍ A DOSPÍVAJÍCÍCH

Celosvětově existuje mnoho preventivních programů, které mají za cíl předcházet problémům s hazardem u dospívajících. Efekt těchto programů ale nebyl většinou hodnocen, nebo v případě, že hodnocen byl, se tyto programy ukázaly neúčinné (7). Jediný prokazatelně účinný program se jmenuje Stacked Deck (volně přeloženo Podvodná hra). Ten zahrnoval 5 až 6 interaktivních hodin a jeho efekt přetrvával 4 měsíce po skončení programu. Kromě interaktivnosti kladl program důraz na zajímavost a nácvik relevantních dovedností. Autora jsme kontaktovali a zeptali se ho, co soudí o možnosti integrovat prevenci hazardu do programů zaměřených na prevenci škod působených alkoholem, tabákem a drogami. Jeho odpověď byla pozitivní, zdůvodnil to skutečností, že používané postupy se v obou případech z velké části překrývají.

Prevence problémů s hazardem se u dětí a dospívající skutečně používá podobné postupy jako prevence škod působených návykovými látkami. Využívají se například práce s motivací, nácvik relevantních sociálních dovedností, dovedností rozhodování (7) a dovedností sebeovlivnění, výuka mediální

gramotnosti, nabízení pozitivních alternativ a další postupy (např. 8).

Při prevenci patologického hráčství existují také určitá specifika. Ta se týkají například systému hodnot a nakládání s financemi. Existuje zde také přesah k počítačové gramotnosti, protože nejrůznější formy hazardu jsou v dnešní době dostupné i na internetu (9). Je také, podobně jako v léčbě, užitečné pracovat s chybami myšlení, např. iluzí kontroly, magickým myšlením, nepochopením zákona pravděpodobnosti nebo iluzí, že by peníze mohly vyřešit veškeré problémy.

Z celospolečenského hlediska je nejdůležitější omezování dostupnosti hazardu pro děti a dospívající a regulace reklamy hazardu takovým způsobem, aby nepůsobila na tuto velmi zranitelnou část populace.

## STRUČNÁ KAZUISTIKA

Dospívající K. M., věk v době přijetí do léčebny 16 let.

**Rodinná anamnéza:** Otec pracuje dlouhodobě mimo republiku, matka nemá dostatečnou autoritu. Pacient má sestru ve věku 7 let.

**Osobní anamnéza:** běžné nemoci.

**Návyková rizika:** Asi 20 cigaret týdně, alkohol příležitostně, rok před přijetím krátkodobě i konopí, jiné drogy neguje. Hazard hrál problémově 2–3 měsíce před přijetím, jednalo se o ruletu. Zkusil to s vrstevníky, vyhrál asi 30 000 Kč. Měl pocit, že si tak vydělá.

**Škola:** Kvůli hazardu přestal chodit do školy, neklasifikován.

**Nynější onemocnění:** V souvislosti s hazardem krádeže v domácnosti rodičů. Dělal navíc doma scény a vyhrožoval, slovní agrese vůči rodičům a mladší sestře v souvislosti s hazardem. Dluhy kolem 50 000 Kč.

**Přůběh léčby:** Z propustek se vracel v pořádku a v květnu 2010 řádně dokončil ústavní léčbu. Matka se zúčastňovala rodinné terapie. Předán ambulantnímu psychiatrovi, doporučena také ambulantní skupina u našeho oddělení. Propuštěn bez medikace.

**Katamnéza v listopadu 2010:** Podle matky je stav dobrý, nehraje a chodí do školy.

## LITERATURA

1. **Dvořáková Z.** Vztah mezi způsobem trávení volného času a výskytem rizikového chování u žáků pražských základních škol. Univerzita Hradec Králové 2008, Číslo diplomové práce: 10143; 103 s.
2. **Jiménez-Murcia S, Alvarez-Moya EM, Stinchfield R, Fernández-Aranda F, Granero R, Aymamí N, Gómez-Peña M, Jaurrieta N, Bove F, Menchón JM.** Age of onset in pathological gambling: clinical, therapeutic and personality correlates. *J Gambl Stud* 2010; 26(2): 235–248.
3. **Nastally BL, Dixon MR.** Adolescent gambling: current trends in treatment and future directions. *Int J Adolesc Med Health* 2010; 22(1): 95–111.
4. **Heineman M.** The parents of male compulsive gamblers: clinical issues/treatment approaches. *J Gambl Behav* 1989; 5: 321–332.
5. **Grant JE, Potenza MN.** Pharmacological treatment of adolescent pathological gambling. *Int J Adolesc Med Health* 2010; 22(1): 129–138.
6. **Nešpor K.** Už jsem prohrál dost. Praha: Sportpropag 2006; 130. Zdarma dostupné na [www.drnespor.eu](http://www.drnespor.eu).
7. **Williams RJ, Wood RT, Currie SR.** Stacked Deck: an effective, school-based program for the prevention of problem gambling. *J Prim Prev* 2010; 31(3): 109–125.
8. **Nešpor K.** Metodika prevence ve školním prostředí. Praha 2003; 39. Zdarma dostupné na adrese [www.drnespor.eu](http://www.drnespor.eu).
9. **Griffiths MD, Parke J.** Adolescent gambling on the internet: a review. *Int J Adolesc Med Health* 2010; 22(1): 59–75.

## PŘÍLOHA

### CO DĚLAT, KDYŽ DÍTĚ HAZARDNĚ HRAJE – DOPORUČENÍ RODIČŮM

Rodiče by při zvládání problému s hazardem u dítěte měli postupovat promyšleně a cílevědomě. Důležité je to, aby rodiče mysleli také na sebe a další členy rodiny, zejména na sourozence problémového dítěte. Pomáhá dobrá spolupráce rodičů a i spolupráce zájem v rámci širší rodiny. Jestliže nestačí svépomoc, je správné včas vyhledat odbornou pomoc. Vaším spojencem je přirozený proces zrání a dospívání. I závažné problémy u dospívajících se dají často překvapivě dobře překonat.

#### Důležitá spojení

Je důležité, aby rodiče problémového dítěte dobře spolupracovali. Kdyby se jim to nedařilo, mladistvý hráč dovedně využije rozporů, aby mohl v hazardní hře pokračovat. Dobrým spojencem bývá být i lékař, psycholog nebo jiný odborník. Už to, že se člověk s problémem svěří, často pomáhá získat větší nadhled a najít dobré řešení.

#### Motivace

Nezletilé dítě je na rodině v mnoha směrech závislejší než dospělý člověk. To je jasná výhoda. Rodině to poskytuje větší možnost nátlaku ke změně chování. Mladistvý patologický hráč bývá většinou nezralý a neschopný se o sebe sám postarat. Může sice pohrdat názory rodičů, ale většinou si nedokáže opatřit základní prostředky k životu. V tom je vaše šance a síla. Určitou základní péči jste sice povinni nezletilému dítěti poskytnout, ale mělo by cítit, že je to jiné, když se chová hazardně a když ne. Cílem je, aby dítě pochopilo, že skutečná samostatnost předpokládá schopnost se o sebe postarat. Někdy mladistvého patologického hráče k léčbě motivuje až hrozba ústavní výchovy, jak se o tom ještě zmíníme dále.

#### Pravidla

Vytvořte a prosazujte zdravá rodinná pravidla, ta se mohou týkat peněz, trávení volného času, studia i pomoci v domácnosti. Dítě by mělo vědět, jaké předvídatelné důsledky bude mít jeho jednání. Mělo by mu být jasné, že je výhodnější, když se bude chovat přijatelně.

#### Mění se u dítěte povaha?

Na něčí povahu nelze usuzovat podle toho, jak se chová v době, kdy hazardně hraje. Skoro všichni patologičtí hráči, jestliže v hazardu pokračují, lžou, podvádějí, začínají být hrubí nebo se uzavírají do sebe a nekomunikují. Pokud se podaří problém s hazardem překonat, chování dítěte se naopak pronikavě zlepšuje. Většinou se velmi zlepší i jeho školní prospěch.

#### Zdravé sobectví a dobrý životní styl rodiny

Rodiče i další členové rodiny, v níž je patologický hráč, jsou ve velmi náročné situaci. S ohledem na jejich zdraví i proto, aby dokázali jednat účelně a inteligentně, je třeba pamatovat na dobré hospodaření se silami a přiměřený odpočinek. Zdravý způsob života rodiny navíc usnadňuje překonání návykového problému u dítěte.

- Předcházejte u dítěte nudě, plánujte společné aktivity s dítětem a dalšími členy rodiny a zejména na počátku abstinence si na dítě vyhradte dostatek času. Měli byste mít dobrý přehled o tom, kde problémové dítě je a co dělá, a také si to ověřovat.
- S kvalitním trávením volného času souvisí i dobrá společnost. Pomozte dítěti se odpoutat od té špatné. To má pro překonání problému často podstatný význam. Jestliže potomek tvrdí, že si chce jen povídat s rizikovými lidmi, kteří hazardně hrají nebo berou drogy, buď lže, nebo podceňuje nebezpečí.
- Pamatujte i na sourozence problémového dítěte. Sourozenci problémového dítěte jsou více ohroženi, problémem v rodině trpí a vaši péči a váš zájem potřebují.

#### Právní stránka věci

Nezletilé dítě nelze vyhodit z domu, nebo ho doma nechat a se přestěhovat jinam. To by bylo v rozporu se zákonem a takový rodič

by riskoval trestně právní postih. Náš trestní zákon jde v tomto směru ještě dále a říká, že:

- (1) Kdo, byť i z nedbalosti, ohrozí rozumový, citový nebo mravní vývoj dítěte tím, že
  - a) svádí ho k zahálčivému nebo nemravnému životu,
  - b) umožní mu vést zahálčivý nebo nemravný život,
  - c) umožní mu opatřovat pro sebe nebo pro jiného prostředky trestnou činností nebo jiným zavrženíhodným způsobem, nebo
  - d) závažným způsobem poruší svou povinnost o ně pečovat nebo jinou svou důležitou povinnost vyplývající z rodičovské zodpovědnosti, bude potrestán odnětím svobody až na dvě léta.
- (2) Kdo umožní, byť i z nedbalosti, dítěti hru na výherním hracím přístroji, který je vybaven technickým zařízením, které ovlivňuje výsledek hry a které poskytuje možnost peněžité výhry, bude potrestán odnětím svobody až na jeden rok, peněžítým trestem nebo zákazem činnosti.
- (3) Odnětím svobody na 6 měsíců až 5 let bude pachatel potrestán,
  - a) spáchá-li čin uvedený v odstavci 1 nebo 2 ze zavrženíhodné pohnutky,
  - b) pokračuje-li v páchaní takového činu po delší dobu,
  - c) spáchá-li takový čin opětovně, nebo
  - d) získá-li takovým činem pro sebe nebo pro jiného značný prospěch.

(Trestní zákoník, § 201, znění platné od 1.1.2010)

Rodiče udělají dobře, když dítěti jasně řeknou, že jeho svoboda má své jasně vymezené hranice. Ignorování těchto hranic by poškodilo celou rodinu. Ohlásit to, že dítě hazardně hraje a odmítá léčbu, má význam i jako sebeobrana rodičů před právními důsledky. Navíc až vážně míněná hrozba ústavní výchovy nebo hrozba ohlášení krádeže na policii mohou přimět dospívajícího přijmout léčbu a abstinovat od hazardu.

Vůči problémovému dítěti ale nepoužívejte násilí. I to je v rozporu se zákonem (§ 198 Týránění svěřené osoby) a hlavně to bývá neúčinné. Často se tak živí v dítěti pocit ukřivdnosti a to ho vede k sabotování snah rodičů a k útěkům. Excesivní násilí, jehož se rodiče dopustili, navíc vyvolává v rodičích pocity viny a znesnadňuje, aby se chovali předvídatelně a cílevědomě.

#### Když svépomoc nestačí, pomůže léčba

Tím, že si včas přiznáte rozsah problému, pronikavě usnadníte jeho řešení. Můžete si tak ušetřit spoustu výdajů i utrpení. Léčba s pomocí psychiatra nebo psychologa může probíhat v různých zařízeních, např. dětská psychiatrie, pedagogicko-psychologická poradna, poradna pro rodinu, manželství a vztahy nebo v zařízení pro léčbu závislostí. Užitečná jsou i zařízení, kam se lze telefonicky nebo i osobně obracet v případech krize. Připouštím ovšem, že ne všude je snadné najít terapeuta, který se této problematice věnuje. Léčba může pomoci dospívajícímu i vám. Položte si otázku, co by bylo vaším největším problémem, kdyby bylo dítě v pořádku. Pamatujte, že zvládáním svých problémů zvyšujete i šanci na ovlivnění dítěte.

#### Informace jsou důležité

Opatřete si informace. Pomůže vám to situaci dítěte lépe pochopit a efektivněji jednat. V současnosti (rok 2010) je nejlepším zdrojem informací o patologickém hráčství v češtině tato kniha a kniha „Už jsem prohrál dost“, která je volně ke stažení z adresy: [www.drnespor.eu](http://www.drnespor.eu).

#### Peníze představují pro dospívajícího riziko

Důvodem je to, že peníze vyvolávají craving (bažení) po hazardu. Vneste do finančního hospodaření dítěte pořádek, nedávejte mu větší částky peněz. Pokud má nějaké vlastní příjmy trvejte na tom, že budou přicházet na bankovní účet, s nímž nebude moci mladý patologický hráč sám disponovat. Finanční operace většího rozsahu provádějte zásadně sami.

### Vřelost a laskavost ano, slabost ne

Přístup k dítěti, které návykový problém, shrnuje anglické souloví „tough love“ (čti taf lav), česky to znamená „tvrdá láska“. Myslí se tím dobrý vztah k dítěti, snaha mu pomoci, ale zároveň cílevědomost a pevnost. Najděte a udržujte zdravou rovnováhu mezi kritickým postojem vůči chování dítěte („nelíbí se nám, že hazardně hraje“) a respektem vůči jeho osobnosti a láskou k němu. Vhodné je také oceňovat pokroky a změny k lepšímu a vidět silné stránky dítěte, jeho možnosti a dobré záliby, na které se dá navázat.

### Nechtějte vysvětlení, chtějte změnu

Někteří lidé se mylně domnívají, že tím, že se něco vysvětlí a pochopí, se to zároveň vyřeší. Důvodů, proč vzniká patologické hráčství, je celá řada. Kořeny tohoto problému lze hledat v mnoha rovínách. Uplatňuje se zde nejen osobnost dítěte nebo rodina, dostupnost různých forem hazardní hry, žebříček hodnot ve společnosti, životní styl, vliv reklamy a další okolnosti. Pochopit je může být užitečné jen tehdy, jestliže to slouží změně k lepšímu. Vysvětlení používaná jako výmluvy a zdůvodnění, proč v hazardu pokračovat, jsou vysloveně škodlivá. Netrvejte na tom, aby dítě vymyslelo přijatelné vysvětlení. Žádejte změnu chování a abstinenci od hazardu.

### Myslete na budoucnost – vlastní i dítěte

Některá zaměstnání se pro dítě, které má problém s hazardem vysloveně nehodí, např. číšník, taxikář nebo ten, kdo pracuje s hotovými penězi a má velkou hmotnou zodpovědnost. Naopak nejvhodnější je práce s pravidelnou pracovní dobou, práce, kde se nevyskytují volné finanční prostředky ani nepředvídatelné a nekontrolovatelné příjmy. Výplatu je správné odesílat na bankovní účet, s nímž by mladý patologický hráč neměl mít možnost sám disponovat.

### Jak zvládat dramatické situace

- Nefinancujte hazard a neusnadňujte její provozování. Rodina by měla zabezpečit cenné předměty a nenechat se okrádat. U patologických hráčů bývá většinou otázkou času, kdy se začnou ztrácet peníze, šperky a další cenné předměty. Podstatná je ne-

jen finanční stránka věci, ale i to, že ukradený majetek slouží špatné věci, totiž rozvoji patologického hráčství. Neobstojí argumentace, že by si dítě opatřilo prostředky jinak, např. krádežemi mimo rodinu. Jestliže bude problém pokračovat, je téměř jisté, že k tomu stejně dojde.

- Nedejte se vydírat. Vyhrožování útekem nebo sebevraždou je častým a oblíbeným způsobem vydírání rodičů. Tato rizika u patologických hráčů existují. Tím, že rodiče pod jejich tlakem ustupují, ovšem riziko nesnižují, ale zvyšují.
- Riziko sebevražedného jednání nepodceňujte. Pokud o této možnosti dítě hovoří nebo máte v tomto směru podezření, vyhledejte odbornou pomoc. Můžete se obrátit na dorostového psychiatra, dorostového lékaře, psychologa v pedagogicko-psychologické poradně. V případě náhlého ohrožení života nebo zdraví neváhejte zavolat záchrannou službu (číslo 155).
- Nedejte se vydírat pochybnými známými dítěte, kteří na vás vymáhají peníze, jež jim dítě údajně dluží. Dluhy za nezletilé dítě nejste povinni platit, pokud mu někdo hazardní hru umožnil, porušil zákon. Z jiného telefonu, než je váš, ohlaste celou záležitost na policii a s policií spolupracujte. O úmyslu informovat policii vyděračům neříkejte. Nemůžete mít jistotu, že zaplacením peněz by celá záležitost skončila. Možná by se právě naopak stalo dítě pro provozovatele hazardní hry o to přitažlivějším objektem zájmu. Podle právního názoru, který máme k dispozici (Ondruška, 2010) za dluhy dětí nezodpovídáte ani v případě, že si je udělaly jinde než při hazardu.

### Vztahy v širší rodině a hazard

O problému je též vhodné informovat širší rodinu, už proto, aby si mladistvý od příbuzných podvodně neopatřoval prostředky. Nespoléhejte na prarodiče. Nastěhovat mladistvého patologického hráče k babičce má většinou předvídatelné důsledky. Babička bude okradena, možná i týrána a situace se bude zhoršovat. Problém, který obtížně zvládáte vy, sotva zvládnou prarodiče. Navíc za dítě a to, co dělá, před zákonem odpovídáte vy, a tuto odpovědnost nemůžete přestěhováním dítěte přenést např. na jeho babičku.



# Hygiena ženy II Době rudolfínská

Alexandra Surá

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav dějin lékařství a cizích jazyků

Během vlády Rudolfa II. se stala Praha centrem evropské politiky a významným střediskem vědeckého a uměleckého života. Jak se od doby pozdního středověku změnila osobní hygiena a jak se ženy podřizovaly panující módě? V polovině 16. století vzniká na španělském dvoře móda, která překročí-



**Obr. 1.** Uzavřený výstřih s okružím a dlouhé rukávy sahající až k zápěstí odhalovaly pouze ženinu tvář a ruku

la hranice Španělska a v určitých modifikacích si získala oblibu nejen v šlechtickém, ale i měšťanském prostředí. V českých zemích se španělský kostým rozšířil velmi rychle. Ženský šat se skládal z těsného živůtku, který se začal nosit společně s korzetem, jenž formoval hrudník a pas do žádané podoby – plochá hrud a úzký pas. K docílení plochého hrudníku se korzety vyztužovaly rybími kosticemi nebo širokými kovovými pásy. Je až neuvěřitelné, s jakou nepřírozeností se muselo potýkat tělo ženy, aby splnilo tento módní požadavek. Také široká sukně začíná být podepřena krinolínou a větším množstvím spodniček (obr. 1).

V apatykách se díky rozvoji farmakologie nachází celá řada nových přípravků. K dispozici jsou nové cizokrajné byliny, nové receptury, podle kterých se zhotovují různé lektvary, vody, oleje, flastry a masti. Také rozvoj alchymie, který je tak typický pro období vlády Rudolfa II., obohatil dobové apatyky

#### ADRESA PRO KORESPONDENCI:

Mgr. Alexandra Surá  
Ústav dějin lékařství a cizích jazyků 1. LF UK  
Karlovo náměstí 40, 128 00 Praha 2  
e-mail: alexandraf@seznam.cz

různými přípravky vzniklými rozličnými technologiemi. Rozšíření a obliba herbářů přispívá k poznání léčivých a tonizujících účinků některých drog. Je třeba zmínit Matthioliho herbář, který přeložil, vlastními zkušenostmi obohatil a upravil pro českého čtenáře lékař a přírodovědec Tadeáš Hájek z Hájku (1525–1600). V herbáři se nachází nemalé množství receptů na zhotovení různých kosmetických přípravků. Některé potřebné ingredience či přímo hotové výrobky bylo možné zakoupit v apatykách, kde se často prodávaly ve dvou verzích pro bohaté a chudé. K ošetření pleti sloužily různé vody, masti a oleje, obsahující zejména bylinné výtažky. Objevují se také prostředky obsahující různé anorganické sloučeniny. Jedním z hojně používaných prostředků, kterým si ženy natíraly obličej, aby docílily žádané bělostné barvy, byl plejvajs (slou-



**Obr. 2.** Kromě hygienických předmětů zavěšovaly ženy na své pásy i drobné předměty denní potřeby

čenina olova). Byl k dostání v apatyce, dal se také připravit podomácku. Návod na jeho přípravu za pomoci kovového kuchyňského nádobí a octa se nachází v knize lékaře Jana Černého (asi 1456–1530). Používání tohoto „zkrášlovadla“ mělo za následek řadu nežádoucích účinků. Jan Černý uvádí zápach z úst, černání, bolení a vypadávání zubů. Alabastrový obličej se někdy dostal do kontrastu s ostatními částmi těla, zejména s krkem, na který ženy (s mytím) často zapomínaly. Havlík z Varvažova ve svých spisech vypráví o mladici, která mívala tvář „zblášenou, vydynchovanou – a hrdlo jako mazanou botu, a když se nešetří a hlavou na stranu pohne, tu viděti to černé hrdlo od tváře rozdílné“.

Ženy všech společenských vrstev nosí okruží, které si žádá vyčesaný účes. Vlasy se nosí spletené v různé drdůlky, do kterých se zaplétají ozdoby, podle movitosti majitelek od



Obr. 3. Facality byly nejčastěji hedvábné, lemované krajkou

zlatých kameny či perlami vykládaných šperků až po levné cetky zakoupené u kramářky, či šmejdířky. Účes se často zpevňuje a ozdobuje sítkou. Oblíbenou barvou vlasu byla plavá a tizianová. Nemůžeť vod, olejů ani flastrů se vymyslíti, by ony nimi z vlasů nitek zlatých dělali se nepokusily,“ říká o barvení vlasů Havlík z Varvažova. K docílení zlatavého odstínu se doporučovalo natírat vlasy olejem z divizny. Výtažek z listů z pušpanu (buxusu) či rebarbory zbarvoval vlas dočervena. Hřebeny měly často i měšťanské ženy pobité stříbrem. Kovaná „vocolová“ zrcadla jsou v době rudolfínské nahrazována zrcadly skleněnými konkávními. Drobné hygienické předměty – zrcátka, voňavé pomandery, nůžky a hřebínky si ženy spolu s měsíci a klíči přivazovaly k opasku, který plnil funkci dámské kabelky (obr. 2). Zámožné ženy napouštěly své facality vonnými vodami. Tyto zdobené kapesníčky (zhruba od polo-

viny 16. století) nebyly určeny k otírání nosu, ale nosily se jen jako ozdoba v ruce (obr. 3). K praktické potřebě se používaly utěráčky, utěrky a pásnice.

Zdravé zuby patřily vždy ke krásnému úsměvu ženy. K vyplachování úst byly určeny vody obsahující výtažky z máty, šalvěje, rozmarýny, myrhy či skořice. V Matthioliho herbáři se dočteme o špičkách, které se zhotovovaly z rozmarýnových větvíček k „párání zubů“, a podle autora byly k dostání ve všech apatykách. Šperk často neplnil pouze funkci dekorativní, v rudolfínské době byly do prstenů či přívěsků kromě drahých kamenů zasazovány i netradiční materiály, kterým byla přisuzována léčivá, tonizující a ochranná moc. Vlčí zuby, kůstky z různých zvířat, větvíčky korálů, zvířecí drápy a jiné rozdílné komponenty zlatníci vkládali do zlata a stříbra.

V 16. století roste obliba lázní, které byly v každém městě či městečku. V Praze byly lázně rozestavěny hlavně při pravém břehu Vltavy – od Podskalí až k židovské lázni Na Františku. V domácnostech sloužilo k mytí obličeje a rukou umyvadlo – lavabo. Renesanční lavabo byla zhotovena převážně z cínu nebo mědi a měla většinou tvar oválný nebo okrouhlý. Koupel se prováděla v dřevěných nebo plechových vanách. Vedle tuzemských mýdel se objevují mýdla benátská. Ženy ve svých dnech používaly podle svého umu různé savé materiály. Důležitou úlohu hrála ženina nejspodnější spodnička nazývaná tajná, která plnila funkci spodního oděvu. Po vykasání této spodničky, svázáním předního a zadního dílu se vytvořil velký uzel, který absorboval menstruační krev.

Ženy i v tomto období musely vynaložit nemalé úsilí, aby své tělo udržely v jakési přijatelné čistotě. Velkým pomocníkem jim byly různé aromatické látky, které s větším či menším úspěchem pomáhaly zakrýt nedostatky tělesné hygieny a zejména v následujících dvou století si získaly dominantní postavení v osobní hygieně ženy.

## PRAMENY

1. **Matthioli PO, Tadeáš Hájek z Hájku.** Herbář jinak bylinář velmi užitečný. Praha: Odeon 1982; 82. 215.
2. **Černý J.** Knieha lékařská, kteráž slove herbář aneb zelinář. Praha: Avicenum 1981; 245, 276–277, 321–322, 352–353, 431, 435.
3. **Hlaváčková L, Svobodný P.** Dějiny lékařství v českých zemích. Praha: Triton 2004; 39–40.
4. **Winter Z, Zíbrt Č.** Dějiny kroje v zemích českých II. Praha: F. Šimáček 1893; 368–371, 391–392, 507–509, 533, 538.
5. **Winter Z.** Kulturní obraz českých měst. Život veřejný v XV. a XVI. věku. Díl první. Praha: Maticе česká 1890; 554–555, 559–562.
6. **Winter Z.** Remeslnictvo a živnosti XVI. věku v Čechách (1526–120). Praha: Česká akademie císaře Františka Josefa pro vědy, slovesnost a umění 1909; 601, 673
7. **Kybalová L.** Dějiny odívání: renesance (15. a 16. století). Praha: Lidové noviny 2009; 86, 109–114, 129–132.
8. **Neumann J, a kol.** Rudolfínská Praha. Praha: ČTK – Pressfoto 1984; 19–20.
9. **Vurm B.** Rudolf II. a jeho Praha. Ostrava: Anagram 1997; 7–11.

## XI. jihočeské Timrovy dny

### Hluboká nad Vltavou, 21.–22. dubna 2011

Ve dnech 21.–22. dubna 2011 se konaly již jedenácté Jihočeské Timrovy dny, tentokrát v romantickém prostředí hotelu Štekl v blízkosti zámku Hluboká nad Vltavou. Zúčastnilo se jich 70 lékařů a přes 40 sester.

Hlavním tématem byla patologie očnice a mezioborová spolupráce.

První den jednání se řešila současná problematika léčby glaukomu novými preparáty bez konzervačních látek, které přináší možnosti léčby u alergiků a pacientů nesnášející běžné oční kapky s konzervačními látkami, jakou je například benzalkonium (N. Pavlíčková, České Budějovice, M. Eliášová, Litomyšl). Kazuistiku operací zadního segmentu oka prezentovali autoři z našeho očního oddělení Nemocnice České Budějovice, a. s. (J. Sattran, J. Šimek).

Druhý den se účastníci kongresu seznámili se zajímavou prací kolegů z oční kliniky Všeobecné fakultní nemocnice Praha (P. Kuthan, I. Kainzová, P. Diblík) o pseudotumorech očnice – idiopatického zánětlivého syndromu očnice, klinické jednotky připomínající nádor, která může postihnout různé struktury očnice a u níž nelze stanovit její etiologii.

Velmi instruktivní byla práce z neurochirurgického oddělení Fakultní nemocnice Plzeň (M. Choc, V. Runt, J. Mraček). Autoři referovali indikace, možnosti a limity chirurgické léčby tumorů orbity s využitím laterální orbitotomie či extradurální transkraniální orbitotomie u lézí v přední polovině orbity a transkraniální intradurální orbitotomie se selektivní dekompresí optického kanálku u afekcí zadní části a apexu orbity. K zacílení čistě intraorbitálních a intrakraniálních lézí bylo v posledních letech užito intraoperační obrazové navigace.

Dalším zajímavým sdělením byla přednáška Retrogradní exenterace očnice (J. Fiedler z neurochirurgického oddělení Nemocnice České Budějovice, a. s.).

Kolegové z Oční kliniky 2. LF UK a FN Motol (M. Odehnal, J. Malec, D. Dotřelová) prezentovali dvouleté zkušenosti s včelkovými implantáty z 24 karátového zlata, které dle jejich zkušeností jsou bezpečnou metodou v terapii lagophtalmu při obrně lícního nervu.

Z našeho oddělení jsme přednesli kazuistiku mladé ženy s rychle se rozvíjejícím obrazem orbitocelulitidy: se zánětlivou protruzí bulbu, omezenou hybností bulbu a diplopií (M. Hackl, N. Pavlíčková, J. Sattran, V. Sýkora), která byla ve spolupráci s ORL oddělením operačně a konzervativně úspěšně vyléčena.

Z dalších sdělení byla přínosná práce z posudkového lékařství (J. Pertlíček) o novém hodnocení a posuzování stavu invalidity u očních chorob.

Neméně zajímavé jsou vždy přednášky psychologické Mgr. Václava Šnorka, kterého jsme pozvali a který svým velmi ilustrativním způsobem vždy strhne pozornost. Na řadě příkladů z praxe rozebral problematiku komunikace zdravotnického personálu s pacientem, důležitost individuálního přístupu a schopnosti vzájemného porozumění.

Část jednání se věnovala endokrinní orbitopatii a její léčbě (M. Karhanová z FN Olomouc, P. Rezek z Oblastní nemocnice Kolín, a. s.). Kolega Rezek pak uzavřel jednání rozsáhlou kazuistikou očních chorob v oblasti očnice a jejich řešení z jeho dlouhodobé praxe. V sesterské sekci byly klad-



MUDr. Naďa Pavlíčková a prim. MUDr. Jan Sattran, oba z Očního oddělení Nemocnice České Budějovice, a. s., při zahájení (foto MUDr. Marie Šotolová)

ně hodnoceny práce našich lékařů Úrazy oka (P. Bartoška), Vyšetřovací metody v současném očním lékařství (D. Honner), Zlomeniny očnice (Neumannová S. ze stomatochirurgického oddělení).

Pozornost získalo i Profesní vzdělávání a kompetence sester v praxi (I. Chloubová ze ZSF JU). Kvalifikační příprava všeobecných sester se v současnosti odehrává na vysokých školách univerzitního i neuniverzitního typu a na vyšších zdravotních školách.

Přednáška Vybrané minority a jejich specifika versus sestry (D. Nováková ze ZSF JU) připomněla současný celosvětový vývoj v oblasti migrace a změny v etnickém složení populace v České republice, a tím i nutnost přípravy sester řešit při ošetrovatelské péči specifické problémy různých komunit.

XI. jihočeské Timrovy dny proběhly za krásného slunečného počasí, které umocnilo příjemnou náladu všech účastníků i vystavujících firem. Diskuze jak odborné, tak neformální probíhaly proto i mimo hotel, na terase a v zámeckém parku. Historii založení a rozvoje zámku Hluboká s promyšlenou stavbou zahrady a okolí nám přiblížil velmi sofistikovaným způsobem pan Richard Vlasák, redaktor Českobudějovického deníku.

MUDr. Naďa Pavlíčková  
Nemocnice České Budějovice, a. s.  
B. Němcové 585/54, 370 01 České Budějovice 7  
e-mail: pavlickova@nemcb.cz

## VI. sympozium o léčbě bolesti\*

Brno, 29.–30. dubna 2011

Ve dnech 29. a 30. dubna 2011 se konalo v Brně v hotelu Voroněž VI. sympozium o léčbě bolesti, které spolupřádaly Sekce pro diagnostiku a léčbu bolestí hlavy při České neurologické společnosti a Společnost pro studium a léčbu bolestí České lékařské společnosti. Organizace se ujal tradiční pořadatelský tým odborníků specializujících se na léčbu bolesti a bolestí hlavy prof. MUDr. Ivan Rektor, CSc., prof. MUDr. Pavel Ševčík, CSc. a MUDr. Jiří Mastík.

Záštitu nad sympoziem převzali hejtman Jihomoravského kraje Mgr. Michal Hašek, primátor města Brna Roman Onderka, rektor Masarykovy univerzity v Brně prof. PhDr. Petr Fiala, Ph.D., děkan LF MU v Brně prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., ředitel FN u sv. Anny v Brně ing. Petr Koška, MBA a ředitel FN Brno MUDr. Roman Kraus, MBA.

Sympozia se letos zúčastnilo 292 registrovaných účastníků z řady oborů (neurologie, algeziologie, dětská neurologie, anesteziologie, rehabilitace, neurochirurgie, neurofyziologie, psychologie, otorinolaryngologie ...) a deset vystavujících firem. Nemalou účastí přispěli rovněž slovenští kolegové. Zaznělo 26 přednášek rozdělených do čtyř pátečních a dvou sobotních sekcí a devět přednášek ve čtyřech firemních sympozii. Deset příspěvků bylo předneseno v bloku A, pojednávajícím o chronické bolesti a 16 přednášek bylo věnováno bolestem hlavy. Prim. Doležil vystavil poster o hypnic headache. Z 26 abstraktů sestavili dr. Jiří Mastík a dr. Hakl jun. ve spolupráci s prof. Richardem Rokyta a nakladatelstvím Tigris Supplementum časopisu Bolest, které bylo k dispozici účastníkům na začátku jednání.

V průběhu slavnostního zahájení sympozia převzal doc. Jiří Málek za tým autorů Cenu SSBL za nejlepší knihu roku 2009 – za knihu Málek, Ševčík a kol. Léčba pooperační bolesti z nakladatelství Mladá Fronta. Navázal křest čerstvé dokončeného druhého vydání téhož úspěšného titulu. Knihu pokřtil předseda SSLB prof. Richard Rokyta. Prof. Pavel Ševčík a prim. J. Kozák poté pokřtili novou knihu, monografii prof. J. Opavského Bolest v Ambulantní praxi, kterou právě vydává Maxdorf.

K úvodní přednášce byl tradičně pozván zahraniční host. Tentokrát jím byl nově nastupující prezident EFIC prof. Hans Kress z AKH Wien, který se ujal tématu Problematika průlomové bolesti. V přednášce se věnoval především moderním farmakoterapeutickým metodám a způsobům aplikace opioidů při tomto typu bolesti. V následující přednášce věnoval předseda SSLB prof. R. Rokyta zaslouženou pozornost pohlavním rozdílům ve vnímání a toleranci bolesti. Prof. P. Kukumberg z Bratislavy pronesl úvahu „Pacient versus (sine contra) lékár“, v němž zdůraznil umění komunikace s pacientem při řešení jakéhokoli symptomu či onemocnění. Dalším slovenským hostem byla prim. Marta Kulichová, prezidentka Slovenské SSLB, která se v přednášce „Opioidy nie sú zlaté tefla“ podívala s odstupem na dobrodíní i rizika dlouhodobé léčby opioidy.

Sekce pro diagnostiku a léčbu bolestí hlavy prezentovala čtyři bloky přednášek: Tradičně migrénu, vztahy spánku a bolestí hlavy, sekundární bolesti hlavy a obličejové neuralgie.

Odpolední blok zahájil prof. J. Opavský z Olomouce přehledem známých i opomíjených provokačních faktorů migrény a tenzní bolesti hlavy. Následovaly dva příspěvky dětské neurologie. Dr. Muchová s kolektivem autorů z Dětské neurologické kliniky Brno zpracovala rozsáhlou epidemiologickou

studii výskytu primárních bolestí hlavy u dětí na základních a středních školách. Poněkud překvapivě vévodil tenzní typ cefaley. Doc. R. Šlapal upozornil na podobnosti klinického obrazu a léčby migrény a epilepsie a na význam EEG vyšetření. J. Mastík z Brna uzavřel první blok dvěma kazuistikami vzácné perzistující aury bez migrenózního infarktu s klinickým obrazem a diferenciální diagnostikou nemoci.

V následujícím bloku, monotematicky věnovaném vztahu spánku a bolesti hlavy, upozornila kolegyně Sumová z pražské AV na možné souvislosti některých bolestí hlavy se stavem cirkadiálního systému a na možnosti terapeutického využití melatoninu. Následoval souborný referát dr. Dostálové a prof. Šonky z Prahy o vzájemném působení spánku a bolesti hlavy, některé poznatky mohou být užitečným doplňkem léčby bolesti. Blok uzavřela přednáška prim. Doležila z Prahy o bolestech hlavy, většinou primárních, které se vyskytují v období spánku. Spánková problematika byla prezentována i na jediném letošním posteru prim. Doležila a kol. věnovaném kazuistice pacientky s vzácnou hypnic headache s výtečným efektem indometacinu.

Páteční odpolední program byl věnován chronické nenádorové bolesti a podíleli se na něm představitelé řady oborů: Farmakolog Tomáš Doležal představil Novinky ve farmakoterapii bolesti, neurolog prof. J. Bednařík představil Klinický standard pro farmakoterapii neuropatické bolesti, algeziolog prim. J. Kozák pohovořil o kampani Change Pain, algeziologové dr. Vrba a J. Kozák uvedli první české zkušenosti s použitím ziconotidu v léčbě chronických neuropatických bolestí, neurochirurg V. Masopust přednesl příspěvek „Failed back surgery syndrom“ a neurointenzivista J. Procházkva představil první výsledky studovaného účinku gabapentinu na neuropatickou složku bolesti u FBSS.

Sobotní dopolední program, rovněž velmi pěkně navštěvený, zahájil prim. Kotas z Plzně didaktickou přednáškou o závažných sekundárních bolestech hlavy, okouřenou řadou působivých kazuistik. Prim. J. Marková z Prahy se spoluautory R. Kotasem, I. Niedermayerovou a J. Mastíkem hodnotili soubor pacientů s bolestí hlavy z nadužívání akutní medikace po dvou letech sledování. Přes různé regionální odlišnosti se ukazuje, že nadužívání triptanů a především ergotaminu je možné úspěšně čelit. V poslední přednášce brněnských autorů přednesla dr. Niedermayerová rozbor bolestí hlavy u seniorů. V souboru 140 seniorů ze tří brněnských center převážovaly ve shodě s literárními údaji sekundární bolesti hlavy, zejména neuralgie obličeje a bolesti hlavy vaskulárního původu.

Poslední sekcí zahájil prim. Urgošík a spoluautoři z oddělení stereotaktické a radiační neurochirurgie. Představil zajímavou prezentaci radiochirurgické léčby v oblasti ggl. sphenopalatinum. Výsledky jsou přes omezený soubor nadějně pro řešení trigeminální autonomní cefaley (cluster headache) a neuralgie v oblasti I. větve trojklanného nervu. Autoři doc. Vaculín a dr. Franěk z Ústavu normální, patologické a klinické fyziologie v Praze ukázali na animálních modelech možnosti dalšího výzkumu prahu bolesti. Dr. Fricová z Prahy představila diferenciální diagnostiku orofaciálních bolestí. Kolegyně Nosková pohovořila o postpunkčních bolestech hlavy, které jsou řídkou komplikací epidurální porodní analgezie a anestezie při císařském řezu. Výskyt těchto bolestí na Gynekologicko-porodnické klinice 1. LF UK a VFN v Praze byl

\*Text je rovněž zveřejněn v časopisu Bolest 2011; 14 (2): 102–103.

0,42% a v léčbě se plně osvědčila aplikace krevní zátky. Autorky dr. Ryšavá, dr. Vokurková a dr. Lukášová z Brna nás seznámily s chirurgickým řešením velofaryngeální insuficience u dětí a v poslední přednášce „Užití kresby v diagnostice bolesti hlavy dětí“ poodkryly autorky dr. Pejčochová a dr. Muchová z Kliniky dětské neurologie v Brně emočně citlivě vnímání a prezentaci bolesti dětí různých věkových skupin.

Nedílnou součástí konference byla čtyři firemní sympozia – průlomovou bolestí se zabývalo sympozium firmy Gedeon Richter, na jehož závěru obdržela každá z účastnic krásnou růži. Firma Astellas Pharma věnovala sympozium problematice léčby periferní neuropatické bolesti pomocí Qutenzy – 8% náplasti s kapsaicinem. Na tomto sympoziu představil prim. Kozák nové postupy v léčbě neuropatické bolesti a prim. Lejčko navázal praktickými zkušenostmi s použitím 8% náplasti s kapsaicinem.

Firma Grünenthal věnovala své sympozium novým přístupům v léčbě lokalizované neuropatické bolesti, příspěvky zde přednesli doc. Štětkářová (Léčba bolesti z pohledu neurologa) a prim. Lejčko (Zkušenosti s přípravkem Versatis). Na téma neuropatické bolesti proběhlo rovněž sympozium firmy

Pfizer, na němž přednesli sdělení o neuropatické bolesti prof. Ambler a prim. Lejčko.

Společenský večer se odehrál jako obvykle v Moravské chalupě v blízkosti hotelu Voroněž. Probíhaly tu hluboké a kvalifikované diskuze o problémech diagnostiky a léčby bolesti podmalované cimbálovou muzikou. Prezidenti obou participujících společností prim. Jolana Marková a prof. Richard Rokyta se na závěr sympozia rozloučili s přátelskou a odborně pestrou atmosférou sjezdu a vyslovili přání setkat se v Brně za dva roky znovu.

Vzhledem k příznivému ohlasu a vzniklé tradici multidisciplinárního setkávání na téma Bolest plánují organizátoři uspořádání sedmého ročníku Symposia o bolesti v Brně na jaře roku 2013.

*prof. MUDr. Pavel Ševčík, CSc.*

*Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny  
LF MU a FN Brno  
MUDr. Jiří Mastík  
Neurologická klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně  
e-mail: psevci@fnbrno.cz*

## 26. pracovní dny – Dědičné metabolické poruchy

Mikulov, 11–13. května 2011

Dne 11–13. května 2011 se v Mikulově konaly 26. pracovní dny věnované dědičným metabolickým poruchám. V tomto roce měla konference dvě hlavní témata, a to: 1. molekulárně-genetické přístupy ke studiu dědičných poruch metabolismu a 2. dědičné poruchy metabolismu lipoproteinů a cholesterolu.

V rámci prvního tématu konference byly prezentovány dvě zvané přednášky, a to přednáška „Homozygosity mapping as a primary diagnostic tool in genetic and metabolic disorders“ prof. Orly Elpeleg z Hadassah-Hebrew University Medical Center Ein-Karem v Jeruzalémě a dále přednáška „Identification of disease-causing genes using genomic techniques“ doc. Stanislava Kmocha z Ústavu dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN v Praze (ÚDMP). Uvedené přednášky (a nejen ty, ale i další sdělení z ÚDMP prezentovaná formou přednášek nebo posterů) poukázaly na možnosti využití nových genomických přístupů (homozygosity mapping, exome sequencing, next generation sequencing) pro stanovení genových změn asociovaných s vrozenými nemocemi a současně také na nutnost doplnit analýzu genomu dalšími metodickými přístupy. To jsou přístupy, které umožní funkčně analyzovat mutace zjištěné na úrovni DNA, a tak potvrdit nebo vyvrátit kauzalitu nalezené mutace, resp. mutací. Právě tento komplexní molekulárně genetický přístup v diagnostice vzácných metabolických nemocí je v ÚDMP ukázkově rozvíjen.

V rámci druhého hlavního tématu konference měl zvanou přednášku „Program aktivního vyhledávání pacientů se závažnými dyslipidemiemi“ dr. Tomáš Freiburger z Centra kardiovaskulární a transplantační chirurgie v Brně (CKTCH). Dr. Freiburger je koordinátorem mezinárodního projektu MedPed (Make early diagnosis to Prevent early deaths in medical pedigrees) za Českou republiku. Tento projekt sdružuje odborníky z více než 30 zemí světa v jejich úsilí dramaticky snížit počet předčasných úmrtí u lidí s geneticky determinovanými, avšak léčitelnými poruchami metabolismu lipidů. Velký důraz je v projektu MedPed kladen na vyhledávání nemocných me-

zi příbuznými již diagnostikovaných pacientů a také na využití DNA diagnostiky. V současné době je v registru MedPed 5793 českých nepříbuzných pacientů. Největší pozornost je věnována familiární hypercholesterolemii a právě s podezřením na tuto diagnózu je v registru 3583 nepříbuzných pacientů, u kterých proběhla nebo probíhá analýza genů pro apolipoprotein B 100 (v CKTCH) a LDL receptor (v Centru molekulární biologie a genové terapie Fakultní nemocnice Brno). Na úvodní přednášku Dr. Freiburgra pak navázaly další čtyři přednášky vztahující se k metabolismu lipidů, dvě zaměřené spíše klinicky (zkušenosti s centralizovanou péčí o děti s dyslipidemiemi, význam monitorování ne-cholesterolových sterolů v diagnóze a léčbě FH) a dvě na molekulárně genetickou diagnostiku (FH a pseudohypertriglyceridémie).

Kromě dvou hlavních témat byly v rámci sekce Varia a Orální sdělení (příspěvky původně přihlášené do posterových sekcí, ale vědeckým výborem konference vybrané jako přednáška) prezentovány příspěvky týkající se dalších metabolických nemocí (glykogenózy, familiární juvenilní hyperurikemická nefropatie, homocystinurie, fenylketonurie), zajímavých kazistik (deficit hydrolázy S-adenosylhomocysteinu, kongenitální hyperinsulinismus, deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně těžkým řetězcem), metabolického profilování pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie nebo analýzy nových diagnostických markerů metodami kapalino- vé chromatografie.

Jaké byly 26. pracovní dny věnované dědičným metabolickým poruchám? Věříme, že navázaly na předchozí léta, tedy na úspěšnou tradici setkávání lidí z Čech, Moravy a ze Slovenska, kteří se zabývají nemocemi metabolismu, jejich diagnostikou, léčbou a také výzkumem.

*RNDr. Lenka Fajkusová, CSc.,  
doc. MUDr. Dagmar Procházková, Ph.D.  
Centrum molekulární biologie a genové terapie FN Brno  
Černopolská 9, 613 00 Brno  
e-mail: lfajkusova@fnbrno.cz*

# Evropské perspektivy v personalizované medicíně

Brusel, 12.–13. května 2011

Evropská komise (EK) pořádala ve dnech 12.–13. května 2011 v prostorách bruselského Meeting Centra Square mezinárodní konferenci Evropské perspektivy v personalizované medicíně.

Program konference otevřela Draghia Ruxandra Akli, ředitelka generálního ředitelství pro oblast zdraví (DG Health, DG Research and Innovation) představením programu a důrazem na význam personalizované medicíny nejen ve výzkumu, ale zejména v péči o pacienta.

První den konference byl zaměřen na tři nosná témata personalizované medicíny, k nimž EK v minulém roce pořádala v Bruselu tematické odborné workshopy. Více informací o těchto workshopech najdete na: [http://ec.europa.eu/research/health/policy-issues-personalised-medicine\\_en.html](http://ec.europa.eu/research/health/policy-issues-personalised-medicine_en.html).

Těmi tématy byly: role -omics a *in vitro* a *in vivo* technologií ve vývoji personalizované medicíny – možnosti klinického využití; biomarkery – identifikace, validace bezpečnosti a účinnosti biomarkerů; a klinický výzkum a klinické testy v době rozvoje personalizované medicíny – potřeby a význam.

Blok věnovaný metodám -omics, zahájil Tim Altman (Imperial College London) přednáškou „Role -omics ve vývoji personalizované medicíny“ přehledem genové klasifikace se zřetelem k onkogenům, Mathias Uhlén (Swedish Royal Institute of Technology) v přednášce „Evropské perspektivy v personalizované medicíně, výzkum a vývoj“ zmínil historii výzkumu lidského genomu do současné doby a zdůraznil přípravu evropského projektu „The Human protein atlas“ (<http://www.proteinatlas.org/>), na němž se podílí 35 evropských výzkumných organizací a který by měl být dokončen v roce 2015. Markus Schwaiger (Technical University of Munich) představil ve své přednášce „Molekulární zobrazování jako nástroj personalizované medicíny“ historii zobrazovacích metod a zejména výhody možnosti jejich kombinací pro zobrazování jevů na buněčné úrovni (Nature 2008; 452 (7187): 580–589). Panelu, který následoval po každém bloku, se kromě přednášejících zúčastnilo několik dalších řečníků, kteří komentovali a doplnili příspěvky v daném bloku.

Druhý blok věnovaný biomarkerům v personalizované medicíně, jejich identifikaci, validaci, spolehlivosti a účinnosti zahájila Catherine Larue (Bio-Rad) přednáškou „Biomarkery v personalizované medicíně“ jejich definicí a klasifikací. Do budoucna je třeba se zaměřit na rozvoj nástrojů k analýzám dat, na inovativní metody diagnostiky, na koordinaci spolupráce výzkumu a biomedicínského a farmaceutického průmyslu. Charles Swanton (London Research Institute, Cancer research) v přednášce „Objev biomarkerů“ uvedl přehled biomarkerů využívaných v onkologii a u dalších chorob, významných pro evropskou populaci. Krishna Prasad (Medical Healthcare products Regulatory Agency UK) si v přednášce „Biomarkery, jejich role, možnosti a limity“ položil několik otázek: personalizovaná medicína – Proč? Kde? Je pro ni evropské prostředí vhodné a je schopné ji akceptovat? A poukázal na novou roli biomarkerů v personalizované medicíně pro predikci a prognózu jak vývoje chorob, tak především efektu léčby.

Třetí blok byl věnován klinickému výzkumu a zejména klinickým testům v době personalizované medicíny. Anne de Bock (Astrazeneca) představila v přednášce „ARESSA (gefitinib) přehled“ průběh výzkumu, vývoje a zkušenosti a srovnání s dalšími léky pro léčbu pokročilých nebo metastatických non-small cell lung cancer (NSCLC) rakovin. Munir Pirmoha-

med (University of Liverpool) v přednášce „Testy na lidech – klinické aspekty a klinický výzkum“ referoval o zdlouhavém procesu získání ověřeného testu aplikovatelného v klinické praxi a nutnosti zjednodušení a urychlení tohoto procesu. Zdůraznil potřebu multidisciplinárního přístupu k pacientům a veřejnosti a úlohu biobank.

Druhý den konference byl zahájen vystoupením komisaře pro zdraví a spotřebitelskou politiku Johna Dalli, který ve svém projevu poukázal na význam personalizované medicíny a na překážky, které je třeba odstranit k jejímu efektivnímu využívání, jedná se např. o nedostatečný legislativní rámec v Evropské unii. Důležitou roli hraje nástroj hodnocení zdravotnických technologií (Health Technology Assessment – HTA). Hlavní prioritou personalizované medicíny je především přínos pro pacienty, důraz bude třeba klást na prevenci vzniku chorob. Tato konference podle Johna Dalli přispěje k formulaci zprávy o využití „-omics“, technologií ve farmaceutickém výzkumu a vývoji, kterou společně připravují kabinety některých komisařů. Její vydání je plánováno na rok 2012. Následovalo vystoupení Fabiena Calvo (INCa – INCER – National Institute of Cancer), „Personalizovaná medicína a nadnárodní iniciativa pro rovný přístup“ k problémům vývoje léků pro různá nádorová onemocnění, a poukázal na nutnost spolupráce mezi výzkumnými centry a farmakologickými, diagnostickými firmami s nemocnicemi. Elizabeth Ofili (Clinical research centre, Morehouse school of Medicine, Atlanta, USA) v příspěvku „Warfarinová studie“ obecně představila některé rysy současné reformy zdravotnictví v USA a následně se zaměřila na problematiku personalizace v USA velice diskutovanou otázku optimalizace a monitoraci „warfarinové léčby“ na zásadách personalizované medicíny pohledem klinického trialu organizovaného farmaceutickou firmou.

Po plenárních přednáškách následovaly stejně jako první den konference tři bloky přednášek: Rámec regulačních opatření v oblasti personalizované medicíny, možnosti inovativních technologií při zachování kvality a bezpečnosti péče o pacienty; analýza nákladů a výnosů personalizované medicíny – příjem zdravotních systémů a podpora inovací; implementace personalizované medicíny, role pacientů a lékařů – dostupnost, informovanost, zdroje a potřeby.

V prvním bloku vystoupil Thomas Metcalfe (Roche Pharma and Chair, European Biopharmaceutica Enterprises) v příspěvku „Evropské perspektivy v personalizované medicíně“ popsal strategii farmaceutického výzkumu u léků některých rakovin. Upozornil na potřebu širší informovanosti pacientů o principech, výhodách a perspektivách personalizované medicíny, a tím získání důvěry co nejširší veřejnosti. Marisa Pappaloca Amati (European Medicines Agency) v příspěvku „Personalizovaná medicína směrem k trhu a pacientům“ představila EMA založenou v roce 1995 se sídlem v Londýně (European Medicines Agency, <http://www.ema.europa.eu>), jejíž významnou činností je evaluace účinných látek vyvíjených farmaceutickými firmami pro použití v Evropské unii. Anne van Nerom (Scientific Institute of Public Health) představila ve své přednášce nepřehlednou škálu evropských direktiv, týkajících se personalizované medicíny v nejrůznějších aspektech. V panelu k této sekci vystoupil prof. Milan Macek z 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a prezident European Society of Human Genetics.

Druhý blok věnovaný analýze nákladů a výnosů personalizované medicíny vystoupil Richard Bergström (European

Federation of Pharmaceutical Industries and Association, EFPIA – skupina 27 farmaceutických firem), vysvětlil úlohu EFPIA v evropské iniciativě Innovative Medicines Initiative (IMI), která vznikla na základě dohody s EK vyčleněním 1 mil. euro ze 7. rámcového programu priority zdraví na společně formulovaný výzkum s EFPIA, která do iniciativy přispěla finančně stejným dílem. IMI vypisuje každoročně výzvy k podávání vědecko-výzkumných projektů. Katherine Payne (University of Manchester) představila v přednášce „Vývoj cen a nákladů personalizované medicíny“ model výpočtu nákladu a zisků, jako významný nástroj HTA (Health Technology Assessment) a na konkrétním příkladu demonstrovala, že personalizovaná medicína může být levnější (a často je) než klasická. Anna Bucsis (Main Association of Austrian Social Insurance Institutions) ve sdělení „Výhody a nevýhody personalizované medicíny ve zdravotní péči“ upozornila na etické, právní a edukativní problémy personalizované medicíny, které nelze řešit na národní úrovni, a vystoupila s návrhem koncepce instituce „European Institute of Health“, která by zaručila dohled nad optimálním procesem vývoje a implementace personalizované medicíny do rutinní praxe v Evropě.

Závěrečný blok, role pacientů a lékařů byla zaměřena na klinický výzkum a klinické testy v kontextu personalizované medicíny. David Haery (European AIDS Treatment Group) dokumentoval proces výzkumu a vývoje léků HIV „Personalizovaná léčba HIV“ a ukázal na něm problémy dlouhodobého vývoje různých typů léků obdobně, jak tomu bude potřeba

pro personalizovanou medicínu. Matthias Schwab (Dr. Margarete Fischer-Bosch Institute of Clinical Pharmacology Stuttgart, BRD) dokumentoval jak současné – omixové metody nás zavalují obrovským množstvím dat, které je nutné jednoznačně interpretovat. Představil ACCE – analytický model pro evaluaci dat z genetických testů.

Konferenci uzavřel Anders Olauson (European Patient's Forum) v následujících bodech:

- změna konceptu chápání nemocí – kontext molekulárních mechanismů, potenciál genomiky,
- úzká spolupráce průmyslu, akademické sféry, policy-makers a pacientů,
- potřeba většího zapojení pacientů a organizací sdružujících pacienty,
- rozvoj personalizované medicíny nesmí prohloubit existující nerovnosti v přístupu ke zdravotní péči,
- závěry z konference budou použity při přípravě tzv. společného strategického rámce (CSF) evropského výzkumu a inovací po roce 2013.

Referáty z konference budou přístupné na [www stránce Evropské komise:](http://www.ec.europa.eu/research/health/events_en.html)

[www.ec.europa.eu/research/health/events\\_en.html](http://www.ec.europa.eu/research/health/events_en.html)

*doc. RNDr. Judita Kinkorová, CSc.  
Technologické centrum Akademie věd ČR  
Ve Struhách 27, 160 00 Praha 6  
e-mail: kinkorova@tc.cz*

GRADA

Václav Vojta, Annegret Peters

## Vojtův princip

Překlad 3., zcela přepracovaného vydání



## Vojta Václav, Peters Annegret VOJTŮV PRINCIP

**Grada, nakladatelství odborné literatury**  
**ISBN: 978-80-247-2710-3, kat. číslo 1331**  
**cena 495 Kč, 21,29 €,**  
**167 × 240, brožovaná vazba, 200 stran**

V polovině 20. století vypracoval Václav Vojta na základě pozorování změny spasticity při manipulaci s dítětem školního věku s infantilní spastickou diparérou terapeutický koncept - reflexní lokomoci.

Léčba reflexní lokomocí představuje možnost zabránit vývoji infantilní cerebrální parézy a její fixaci hlavně u „ohrožených kojenců“, kteří ještě spasticitu viditelně neprokazují, a je dnes neodmyslitelnou součástí moderní fyzioterapie v neurologii, ortopedii, chirurgii jak u dětských, tak u dospělých pacientů.

**Objednávky zasílejte e-mailem nebo poštou: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: [nts@cls.cz](mailto:nts@cls.cz). Na objednávce laskavě uveďte i název časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli.**

**Jiří Mareš, Eva Vachková a kol.:**  
**PACIENTOVO**  
**POJETÍ NEMOCI II**

Brno: MSD 2010, 72 s. ISBN 978-80-7392-150-7.

Ve zprávě o Pacientově pojetí nemoci I (SCAN 2010; 20(3):15) jsme uvedli, že „Seznámení se s pacientovým pojetím nemoci se u nás dosud nestalo součástí komplexní péče o nemocného a v učebnicích medicíny takovou stať nenajdeme. Znalost pacientova pojetí jeho nemoci hraje přitom důležitou roli pro získání jeho důvěry, a to jak ve fázi stanovování diagnózy, tak i v terapii. Důvěru nemocného získá ošetřující personál tím snáze, čím lépe se seznámí s tím, jak se na nemoc dívá sám nemocný a které obavy u něho nemoc vyvolává.“

Uvedená publikace Pacientovo pojetí nemoci je hlubší analýzou pacientova pojetí nemoci a je rozdělena na dvě části – na část obecnou a metodologickou.

Prvá část se zabývá diagnostikou laického pojetí zdraví, opírající se o výpověď jedince o sobě samém, s laickým uvedením dvaceti různých laických pojetí seřazených do přehledné tabulky, o využití testovacích postupů a o sledování jedince v určitých situacích. Jsou zmíněny obtíže s odborným definováním termínu zdraví vyplývající i z rozdílného chápání tohoto pojmu v různých jazycích. Druhá kapitola první části se zabývá začleněním pacientova pojetí do edukačního a ošetrovatelského procesu, kde k diagnostikování pacientova pojetí nemoci může přispět po doporu-

čených úpravách dotazník IPQ-R-CZ (viz níže) beroucí v úvahu celkem osm proměnných, jako je trvání nemoci a její charakter, zda je průběh akutní nebo chronický, možnosti ovlivnění průběhu nemoci, pacientovo porozumění povahy nemoci a další. Třetí kapitola první části je věnována sociální reprezentaci zdraví a nemoci a rozdílu mezi obecným, běžně sdíleným poznáním a pojetím vědeckým. Kapitola končí doporučením zajímavého úkolu, kterým je zjišťování určitých typů laických názorů u velkých skupin nemocných a s jejich využitím v individuální práci s nemocným a při práci ve skupinách.

Metodologická část je rozdělena do čtyř kapitol. V úvodní kapitole se autoři zabývají verzí dotazníku IPQ-R (Revised Illness Perception Questionnaire) (Moss-Morrisová et al. 2002), aby se v další části věnovali české verzi dotazníku IPQ-CZ, která vznikla překladem z původního anglického originálu IPQ a tuto verzi rozšířili o nové položky, čímž vznikl nový dotazník IPQ-R-CZ, který respektuje strukturu originální anglické verze, rozdělené do tří částí: A – zdravotní obtíže, které má nemocný, B – pacientovo pojetí nemoci a C – pacientův názor na příčinu jeho nemoci. Studie současně analyzuje 16 publikací a 9 v národních jazycích včetně čínštiny, věnovaných psychosomatickým charakteristikám dotazníku IPQ-R a porovnává je s českou verzí. Česká veřejnost má tak k dispozici českou verzi uznávaného a v zahraničí používaného dotazníku IPQ-R. Další kapitola je věnována kvalitativním metodám pro zjišťování pacientova pojetí nemoci, které nejsou zatím běžně používány. Důležité při tom je, že kvalita-

tivní přístupy dovolují zachytit to, co je pro daného nemocného důležité a co nikoliv. Autoři nenašli v dostupné literatuře přehlednou studii věnovanou kvalitativním metodám pro pacientovo pojetí nemoci a podrobili z tohoto hlediska analýze dosavadní publikované práce.

V kapitole „Pojetí nemoci očima dítěte“ si autorka E. Vachková vytkla za cíl zjistit v pilotní studii s použitím české verze dotazníku CIPQ-CZ dětské pojetí nemoci na podkladě vyšetření 40 dětí ve věku 5–18 let. Naskýtá se otázka, zda toto věkové rozpětí není příliš široké pro zahrnutí do jedné skupiny. Potvrzuje to i konstatování v závěru, že dotazník je spíše vhodný pro věkovou skupinu od 3. až 4. třídy. Poslední kapitola zachycuje různé pohledy a postoje na nemoc, její příčiny a důsledky na podkladě rozboru rozhovoru se čtyřmi nemocnými na nemocničním lůžku za 1–3 týdny po tak závažné události, jakými byl stav po resuscitaci, nebo po probrání z komaťozního stavu.

Přehlednost a názornost usnadňují pečlivě sestavené tabulky. Za každou kapitolou jsou uvedeny literární zdroje až do roku 2010 včetně, a to i publikace knižní. Čtenář mající zájem o citovanou literaturu uvítá anglicko-český slovníček pojmů souvisejících s pojetím zdraví. Je připojen jmenný rejstřík.

**Závěrem lze říci, že jde o mimořádnou publikaci, jak je jednoznačně uvedeno i v připojených recenzích významných recenzentů, jakými jsou prof. J. Křivohlavý, prof. V. Tothová a doc. J. Beran. Publikaci lze vřele doporučit všem pracovníkům poskytujícím zdravotní péči.**

*prof. MUDr. Ladislav Chrobák, CSc.*



# Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých

Časopis lékařů českých zpoplatňuje publikaci článků s dedikací grantového či jinak finančně podporovaného výzkumu a vývoje z veřejných zdrojů. Cena jedné černobílé tiskové strany v časopisu je 1800 Kč, barevné strany 2000 Kč včetně DPH a potřebnou částku lze čerpat z prostředků na tento výzkum.

Pokud si autor článku přeje uveřejnit dedikaci grantu, výzkumnému záměru apod. zašle na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko CLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, k rukám Marcely Havlíkové (tel./fax: 224 266 226, e-mail: havlikova@cls.cz) písemnou objednávku k publikaci práce, kterou je možné stáhnout z [www.cls.cz](http://www.cls.cz) – adresa: [http://www.cls.cz/dokumenty/objednavka\\_publicace.doc](http://www.cls.cz/dokumenty/objednavka_publicace.doc). Částka bude fakturována ve fázi korektury a daňový doklad bude autorovi zaslán po zveřejnění článku. Rukopisy s dedikací bez objednávky budou sice redakci posuzovány, ale autor bude upozorněn na nutnost zaslání objednávky publikace. Pokud ani pak NTS objednávkou neobdrží, bude dedikace v korektuře vyškrtuta.

Na stejné [www stránce](http://www.cls.cz/dokumenty/prohlášení_autoru.doc) (adresa [adresa http://www.cls.cz/dokumenty/prohlášení\\_autoru.doc](http://www.cls.cz/dokumenty/prohlášení_autoru.doc)) naleznou autoři i **prohlášení autorů**, které podepsané všemi zúčastněnými autory zašlou na výše uvedenou adresu NTS. Prohlášení autorů je třeba poslat ke každému odbornému příspěvku do časopisu.

## ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Je vydáván Českou lékařskou společností J. Ev. Purkyně. Je časopisem interdisciplinárním a přísně vědeckým, publikujícím přehledové články a původní vědecké práce ze všech oborů medicíny. Přináší rovněž informace z jednání, sjezdů, abstrakta, recenze nejnovějších knih, kapitoly z dějin medicíny, osobní zprávy, kazuistiky, články o pre- i postgraduálním vzdělávání lékařů, odpovědi na odborné dotazy čtenářů aj.

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

## OBEZNÉ POŽADAVKY NA ÚPRAVU RUKOPISŮ

K publikaci v Časopisu lékařů českých může být přijat pouze **příspěvek, který nebyl a nebude publikován v jiném časopisu**. Výjimku tvoří pouze abstrakta vědeckých konferencí. **Rukopisy zasílejte pouze v elektronické formě. Soubory větší než 5 Mb pošlete na adresu vedoucího redaktora (viz níže) na elektronickém nosiči. Text v elektronické podobě graficky neupravujte!** Kromě emailové adresy korespondujícího autora uvádějte také telefonní číslo.

Při autorské korektuře není dovoleno měnit ani doplňovat text. **Korektury vracejte obratem, nejpozději však do 8 dnů od data odeslání z redakce.** Na pozdější autorské korektury nemůže být brán z časových důvodů zřetel.

## MÍRY, HMOTNOSTI, JEDNOTKY

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

## NÁZVY LÉČIV

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

## ZKRATKY A SYMBOLY

Pokud je použita zkratka, musí před jejím prvním použitím v textu předcházet plný název. **V nadpisu a souhrnu zkratky nepoužívejte.** Na závěr příspěvku uveďte seznam zkratek s jejich vysvětlivkami v abecedním pořadí.

## TABULKY

Rozsáhlé tabulky přeplněné daty nebudou přijaty. Každá tabulka musí být opatřena popisem, vysvětlivkami a symboly statistického hodnocení. **Odkaz na číslo tabulky** musí být uvedeno na příslušném místě v textu.

## OBRAZOVÁ DOKUMENTACE

Obrázky, fotografie musí mít profesionální úroveň. **Pérovky, fotografie a výstupy z přístrojů přijímá redakce ve formátech tif, eps a jpg, grafy v programu Excel zpracované pro jednobarevný tisk.** Pokud jsou obrázky ve formátu jpg, je třeba užít velkého rozlišení (nejlépe kompresní poměr 10–12) z důvodů kvality. Názvy obrázkových souborů musí vycházet ze jména autora a čísla obrázku (např. MACEK1.tif). **Autor je povinen zbavit dokumentaci osobních iniciál pacienta. Odkaz na číslo obrázku (grafu)** musí být uvedeno na příslušném místě v textu.

V průvodním dopisu při zaslání rukopisu vedoucímu redaktorovi je nutné přesně uvést, **kteřé obrázky mají být barevné**, a na výše uvedenou adresu NTS zaslat **písemný souhlas s platbou. Barevné strany** bez ohledu na to, kolik obsahují barevných obrázků, **autoři hradí z vlastních zdrojů** (2000 Kč za jednu tiskovou stranu). Je třeba uvést přesnou adresu plátce, v případě právnické nebo podnikající fyzické osoby také IČ a DIČ. **Obrazová dokumentace**, která nebude mít tyto náležitosti, bude automaticky publikována černobíle.

## KLÍČOVÁ SLOVA

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

## LITERATURA

Smí obsahovat jen skutečné prameny, tj. publikace, na něž se autor v textu odvolává. Nesmějí se uvádět práce jen z důvodů formálních. **Citace uvádějte v pořadí, v jakém se vyskytují v textu.** V textu citace vyznačte číslem v závorce, např. (1). Vyhybejte se odkazům na abstrakta; tzv. „nepublikovaná pozorování“ a „osobní informace“. Správnost odkazu (citace) by měla být ověřena. **Při citacích upřednostňujte domácí autory a publikace před zahraničními.**

**Příklady citací** monografické publikace (1), příspěvku v monografické publikaci (2), ve sborníku (3), článku v časopisu (4), na internetu (5):

1. **Domínik J, Žáček P.** Chirurgie srdečních chlopní (... nejen pro kardio-

chirurgie) ve 200 vyobrazeních. Praha: Grada Publishing 2008.

2. **Jiskra J.** Autoimunitní polyorgánové syndromy. In: Límanová Z, et al. *Trendy soudobé endokrinologie, Štitná žláza.* Praha: Galén 2006; 227–237.

3. **Dunovský J.** Úmluva o právech dítěte a práva dětí v České republice. In: *Sborník z 1. mezinárodní konference o dětských právech.* České Budějovice: Zdravotně sociální fakulta JU 2003; 5–15.

4. **Goetz P, et al.** Hrozí zneužití – diskreditace lékařské genetiky. *Čas Lék čes* 2008;147: 159–161.

5. **Horák J.** Standardní diagnostický a terapeutický postup u genetické (hereditární) hemochromatózy. <http://www.ceska-hepatologie.cz/index.php?node=43>

## POUŽITÍ CIZÍCH MATERIÁLŮ

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

## ETICKÉ ASPEKTY

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

## KONFLIKT ZÁJMŮ

Autor má povinnost oznámit redakci podporu firmy, jejíž produkt v práci použil. Předpokládá se, že autoři přehledových farmakoterapeutických článků nejsou finančně zainteresováni (nebo konkurenti) ve společnosti/firmě, o jejímž výrobku v článku referují. Všechny informace tohoto druhu, které budou redakci svěřeny, budou drženy v tajnosti.

## PRÁVO K UVEŘEJNĚNÝM PŘÍSPĚVKŮM

Česká lékařská společnost má k uveřejněným příspěvkům vylučně nakladatelské právo. Za informování autorů v tomto smyslu zodpovídá vedoucí redaktor.

## ÚPRAVA JEDNOTLIVÝCH TYPŮ ČLÁNKŮ

AKTUÁLNÍ TÉMA, PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK, FARMAKOTERAPIE, KAZUISTIKA, SPECIÁLNÍ SDĚLENÍ

**Titulní strana:** krátký, výstižný název práce; celá jména autora/ů; úřední název pracoviště, město, popř. země.

**Souhrn:** česky a anglicky, max. rozsah 200 slov bez vnitřního členění, zakončeno 3–10 klíčovými slovy.

**Vlastní text – seznam použitých zkratek – literatura.**

**Adresa pro korespondenci:** celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

PŮVODNÍ PRÁCE, VYŠETŘOVACÍ METODY

**Titulní strana:** krátký, výstižný název práce; celá jména autora/ů; úřední název pracoviště, město, popř. země.

**Strukturovaný abstrakt:** česky a anglicky, max. rozsah 200 slov s následujícím členěním:

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

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

Závěry: co z dané studie vyplývá.

Klíčová slova: 3–10 slov.

**Vlastní text – metody – výsledky – diskuze – seznam použitých zkratek – literatura.**

**Adresa pro korespondenci:** celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

## DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ

Všechny rukopisy typu původní práce a vyšetřovací metody jsou od 1. ledna 2008 redakci přijímány pouze s anglickým překladem, který dodá autor. Článek v angličtině podléhá stejným požadavkům recenzentů jako článek v češtině a po proběhnutí recenzním řízením a případných úpravách bude uveřejněn v anglické mutaci časopisu na internetu. **Redakce překlady nezajišťuje, vyhrazuje si však právo nekvalitní překlad vrátit autorovi k přepracování.**

ZPRÁVY ZE SJEZDŮ, DĚJINY LÉKAŘSTVÍ, DOPISY REDAKCI, DISKUZE

**Titulní strana:** krátký, výstižný název práce; celá jména autora/ů; úřední název pracoviště, město, popř. země.

**Vlastní text**

**Adresa pro korespondenci:** celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

U VŠECH FOREM RUKOPISŮ

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

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

**Redakce nepřijme práce:** které neodpovídají uvedeným požadavkům; které byly nepříznivě posouzeny recenzenty; jestliže redakce v poslední době práci stejného tématu přijala nebo již publikovala; není-li v záměru redakce a posílání časopisu danou problematiku publikovat; pokud k článku charakteru původní práce či vyšetřovacích metod není přiložen anglický překlad.

**Rukopisy vyhovující uvedeným požadavkům zasílejte na adresu vedoucího redaktora: prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.**

1. interní klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10, e-mail: horak@fnkv.cz

# Instruction to the Authors the Journal of Czech Physicians

Journal of Czech Physicians charges publication of articles with a dedication to a grant or otherwise supported research and development from the public sources. One page of the black-white journal page costs 1800 CZK, the colour page 2000 CZK, including VAT which can be drawn from the specified public sources.

If authors wish to publish the grant support, research plan support, etc., they should send a written order (available at address: [http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych?&confirm\\_rules=1](http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych?&confirm_rules=1)) to the address: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, Marcela Havlíková (tel./fax: 224 266 226, e-mail: [havlikova@cls.cz](mailto:havlikova@cls.cz)). The invoice will be send with the proofs; the tax certificate will be send after the issue is printed. Manuscripts with the dedication but without the accompanying order will be evaluated by the editorial board, but the author will be notified about the obligation to send the order. If publisher does receive the order, the dedication will be erased during proofreading.

At the same www page ([http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych?&confirm\\_rules=1](http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych?&confirm_rules=1)) authors can find **Authors' statement** which should be signed by all authors and send to the address of the publisher. **Authors' statement** should be attached to each scientific article.

## JOURNAL OF CZECH PHYSICIANS

Is published by the Czech Medical Association of Jan Evangelista Purkyně. It is a multidisciplinary journal, strictly scientific which brings review articles and original contributions from all fields of medicine. It also brings information on the meetings, congresses, abstracts, book reviews, chapters from the history of medicine, personal information, casuistics, articles about the pre- and postgraduate medical education, answers for specialized questions of readers etc.

This Instructions for Authors are in accordance with "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (3<sup>rd</sup> revision, 1988, Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals – published in full translation in *Cas Lék Čes* 2000; 139(1): 31.

## GENERAL REQUIREMENTS FOR THE LAYOUT OF THE MANUSCRIPT

Accepted for publication in the Journal of Czech Physicians can be only the **manuscript not simultaneously being considered by other journals**. Exception is the abstract from scientific conferences.

**Manuscript should be submitted only in an electronic form. Files larger than 5 Mb should be mailed to the Editor in Chief (address see below) using an electronic medium. Electronic text should not be graphically formatted.** Along with e-mail address of the corresponding author, the phone number should be added.

During proofreading authors cannot change or extend the text. **The corrected proofs should be send immediately (not later than the 8th day) back to the Editorial Office.** Retarded proofs cannot be considered.

## UNITS OF MEASUREMENT

Results of the chemical, physical and clinical examination should be reported in SI form units (Système international d'Unités). Values of the heart rate, temperature, and blood pressure can be reported in conventional units.

## NAMES OF DRUGS

Drugs should be referred to by their brand names along with their generic names.

## ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

When an abbreviation is first used, the word in full, followed by the abbreviation in parentheses should be given. Avoid using abbreviations in the title and abstract. Alphabetical list of abbreviations along with their explanation should be given at the end of manuscript.

## TABLES

Extensive tables with many data will not be accepted. Include table title, footnotes and symbols of statistical evaluation. Tables should be numbered and the number should be referred in the corresponding part of the text.

## FIGURES

Illustrations and photographs should reach the professional level. **Line drawings, photos and instrument outputs are acceptable only in file formats: TIF, EPS, JPG, and graphs from the Excel program processed for single-coloured print.** To preserve the quality, figures in JPG format should be of the highest resolution (the best is the compression rate 10-12). Titles of figure files should root from the author's name and the figure number (e.g. MACEK1.tif). **Names and initials of the referred patients have to be erased. Figures (graphs) should be numbered** and the number should be referred in the corresponding part of the text.

In the accompanying letter to the Editor in Chief, author has to state which figures should be in colour and for the above given Editor's address the written consent with the payment must be send. **Colour pages**, regardless how many figures they include, **must be covered by authors** (2000 Kc for a single printing page). The exact address of the payer should be included and payers of the physical or legal entity have to include their personal or VAT identification number. Figures not fulfilling the requirements will be published in blacked-white mode.

## KEY WORDS

Three to ten key words for indexing purposes should be supplied below the abstract. Use terms/phrases taken from Index Medicus (thesaurus MeSh)

## REFERENCES

Only authentic sources referred to in text can be cited. No formal references should be included. **In the text, references should be cited using Arabic numerals in parentheses in the order in which they appear.** Avoid references to abstracts, unpublished data and personal communications. Authors are responsible for the accuracy and completeness of their references and for the correct text citation.

**Examples of reference** styles: from a book (1), chapter in a book (2), proceedings (3), journal article (4), online article (5).

1. **Dominik J, Záček P.** Chirurgie srdečních chlopní (... nejen pro kardiologii) ve 200 vyobrazeních. Praha: Grada Publishing 2008.

2. **Jiskra J.** Autoimunitní polyorgánové syndromy. In: Límanová Z, et al. Trendy soudobé endokrinologie, Stítná žláza. Praha: Galén 2006; 227–237.

3. **Dunovský J.** Úmluva o právech dítěte a práva dětí v České republice. In: Sborník z 1. mezinárodní konference o dětských právech. České Budějovice: Zdravotně sociální fakulta JU 2003; 5–15.

4. **Goetz P, et al.** Hrozí zneužití – diskreditace lékařské genetiky. *Čas Lék Čes* 2008;147: 159–161.

5. **Horák J.** Standardní diagnostický a terapeutický postup u genetické (hereditární) hemochromatózy. <http://www.ceska-hepatologie.cz/index.php?node=43>

## THE USE OF FOREIGN MATERIAL

Material (diagrams, figures, graphs) taken from another sources/publications can appear only with a written consent of the author/publisher who is in possession of the copyright (copyright ©). Ask the authors of papers in print, unpublished data or personal communications for the consent. Send their written approval to the publisher together with the Authors' statement (see above).

## ETHICAL ASPECTS

To all manuscripts reporting data from studies involving human participants, approval of an appropriate institutional ethics committee must be added. **In the presented material names, initials of patients, hospital or protocol numbers should be avoided.** When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the institutional and national guide for the care and use of laboratory animals was followed or include the statutory declaration on the institutional review body's approval

## CONFLICT OF INTEREST

Author must disclose any funding from a company whose products were used in the study. Authors of the review articles on pharmacotherapy are expected not to have any financial interests (or a concurrency) in the company whose products are referred. All information provided to the Editors will be kept confidential.

## REQUIREMENTS FOR MANUSKRIP FORMATS

CURRENT TOPICS, REVIEW ARTICLE, PHARMACOTHERAPY, CASUISTICS, SPECIAL CONTRIBUTIONS

**Title page:** short concise name of the article, full name of author/authors; institutional affiliations, city and country.

**Summary:** identical Czech and English versions, maximal extend 200 words, no internal division, should be followed by 3 to 10 key words.

**Text of the article – list of abbreviations – references.**

**Address of the corresponding author:** full name and titles, address, fax number, e-mail address.

ORIGINAL ARTICLE, EXAMINATION METHODS

**Title page:** short concise name of the article, full name of author/authors; institutional affiliations, city and country.

**Structured abstract:** identical Czech and English versions, maximal extend 200 words, with the following headings:

Objective: 2 to 4 sentences providing the context or background for the study, 2 to 3 sentences characterizing the aim of the study

Methods and results: characteristics of the studied cohort, methods used, principal results expressed in the numeric form, the level of significance

Conclusions: should include an evaluation of the study and areas for further research

Key words: 3 to 10.

**Text of the article – methods – results – discussion - list of abbreviations – references.**

**Address of the corresponding author:** full name and titles, address, fax number, e-mail address.

## IMPORTANT NOTICE

**Since January 1, 2008 Editorial board will accept all manuscripts of the primary studies type and examination methods only with English translation supplied by the author. English manuscript should follow the requests of reviewers similarly as the Czech version and after the editorial procedure and corrections it will be published in the English version of the journal at Internet. Editors do not provide translations but they reserve the right to return translations of the inferior quality for revision.**

INFORMATION FROM CONGRESSES, HISTORY OF MEDICINE, LETTERS TO THE EDITOR, DISCUSSION

**Title page:** short concise name of the article; full name of author/authors; institutional affiliations, city and country.

**Text of the article**

**Address of the corresponding author:** full name and titles, address, fax number, e-mail address.

IN ALL MANUSCRIPT CRIPTFORMATS

In all types of manuscripts after the references information on the grant support (full name of the agency, number of the project) should be given together with the full address of the affiliate institution and home, and personal identification number.

**Each manuscript is evaluated by the editorial board and reviewed by two expert reviewers. Not accepted manuscripts are commonly returned within 3 months.**

**Editors can refuse the manuscript** that does not correspond to the published instructions; those negatively reviewed; when editors recently accepted or published another manuscript in the same topics; if the studied subject does not meet the aims of the Journal or editors.

**All manuscripts meeting the given requirements should be send for the address of the Editor in Chief:**

prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.  
I. interní klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady  
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10  
e-mail: [horak@fnkv.cz](mailto:horak@fnkv.cz)

## Laureáti Nobelovy ceny

V roce 1968 získali Nobelovu cenu za fyziologii nebo medicínu tři američtí badatelé na poli genetiky – biochemici Robert William Holley, Har Gobind Khorana a Marshall Warren Nirenberg.

MARSHALL WARREN NIRENBERG

(1927–2010)

Od narození 10. dubna 1927 až do svých 14 let žil Marshall Warren Nirenberg v New York City, ale když tam onemocněl revmatickou horečkou, rozhodli se rodiče, krejčí Harry Edward Nirenberg a Minerva rozená Bykowsky, změnit jemu i jeho sestře Joan podnebí. V roce 1941 se rodina přestěhovala do Orlanda na Floridě, kterou Marshall později nazval „přírodním rájem“ a rád vzpomínal na roky strávené v jeskyních a močálech při lovu pavouků.

Bylo pak přirozené, že v roce 1944 začal na Floridské univerzitě v Gainesville studovat zoologii. Během 4 let studii vyučoval jako asistent po 2 roky biologií a jako výzkumný asistent v laboratoři výživy sbíral po nějaký čas zkušenosti se značkováním látek radioizotopy a stopováním jejich aktivity v chemických reakcích. Po zisku bakalářské zooloogie v roce 1948 studoval v Gainesville další 4 roky, přitom rok pracoval v laboratoři výživy a napsal magisterskou dizertaci o taxonomii a ekologii chrochtů (*Trichoptera*), hmyzu, který dobře znal už z Orlanda (The Caddis Flies of Alachua County, with Notes on Those of Florida). Za tuto práci dosáhl v roce 1952 magisteriátu zoologie.

Potom na Ústavu biochemie Michiganské univerzity v Ann Arboru jako vyučující doktorand v Jamese F. Hogga zkoumal metabolismus nádorových buněk a v roce 1957 obhájil doktorskou dizertaci o osudu hexóz v těchto buňkách (Hexose Uptake in Ascites Tumor Cells).

Ty zůstaly předmětem jeho badatelského zájmu nejen v Ann Arboru (Inhibition of Anaerobic Glycolysis in Ehrlich Ascites Tumor Cells by 2-deoxy-D-glucose. *Cancer Res* 1958; 18: 518–521; s Hoggem), ale v následujících 2 letech i v marylandské Bethesda, kde díky grantu Americké rakovinové společnosti pracoval u DeWitta Stettena mladšího v Národním ústavu pro revmatické, metabolické a trávicí choroby, součástí Národních zdravotních ústavů (An Enzymic Defect in Ascites-Tumor Cells. *Biochim Biophys Acta* 1958; 30: 203–204. A Biological Characteristic of Ascites Tumor Cells. *J Biol Chem* 1959; 234: 3088–3093).

Pro další rok v Bethesda získal grant sekce pro metabolické enzymy Veřejné zdravotní služby a začal tu zkoumat vztah mezi DNA, RNA a tvorbou bílkovin. Od objevu role DNA jako „transformujícího principu“ Oswaldem Averym v roce 1944 přes konstrukci dvojité šrou-

bovice DNA Francisem Crickem a Jamesem Watsonem v roce 1953 se poznání molekulárního základu života značně prohloubilo, záhadou však stále zůstávaly replikace DNA během buněčné reprodukce i exprese genetické informace. Mnozí badatelé předpokládali interakci mezi DNA a RNA, ale ani bakteriální genetici jako Joshua Lederberg, ani proteinoví chemici jako Christian Anfinsen k její podstatě dosud neprošli. Otázka, co je vlastně úlohou RNA, zaměstnávala i Nirenberga. Navštěvoval proto večerní kurzy genetiky pro pracovníky Národních zdravotních ústavů, kteří se zajímali o mezioborový výzkum. Formálně však v molekulární genetice nebyl odborně vyškolen a jeho naivní vstup na cizí pole považovali mnozí za profesionální sebevraždu.

V roce 1960 se Nirenberg jako biochemik – výzkumník stal natvalo pracovníkem Národního ústavu pro revmatické, metabolické a trávicí choroby. A v téže době přišel z Cornellovy univerzity do Bethesda bonnský postdoktorand Johann Heinrich Matthaei, biochemik o 2 roky mladší než Marshall. Tito dva spolu studovali nukleotidy tvořící molekulu DNA (adenosin, cytosin, guanin a thymin) a RNA (adenosin, cytosin, guanin a uracil). Vytvořili syntetický polynukleotid sestávající ze sérií tří jednotek uracilu (UUU, poly-U) a zjistili, že jeho působení na materiál cytoplazmy bakterie *Escherichia coli* mělo za následek tvorbu aminokyselinového řetězce sestávajícího pouze z fenylalaninu. Dne 15. května 1961 Nirenberg s Matthaeiovou rovnocennou pomocí **pocho-pil, že UUU je kódovým slovem pro identifikaci fenylalaninu**, a těmito pokusy **prokázal, že syntézu bílkovin z aminokyselin řídí RNA („messenger RNA“) přenášející genetickou informaci z DNA**.

Dva měsíce nato, 14. července 1961, uzavřel Marshall sňatek s kolegyní Perolou Zaltzmanovou, rovněž biochemičkou Národních zdravotních ústavů. Hned v srpnu 1961 se v Moskvě konal V. mezinárodní kongres biochemie. V poslední chvíli přihlášený, dodatečně proto mimo hlavní program zařazený referát neznámého Nirenberga o výsledcích experimentů s poly-U byl vyslechnut sotva třiceti kolegy a v záplavě příspěvků zapadl. O tom, že jacísi dva Američané mají klíč k možnému objasnění jedné z největších záhad molekulární genetiky, se však doslechl na kongresu přítomný Francis Crick. Přemluvil organizátory, aby Marshallovi dovolili opakovat přednášku před tisícíhlavým plénem, a dosud bezvýznamný a nasmělý biochemik z Bethesda opouštěl Moskvu jako slavný vědec. Úspěch přednášky **zasadil poslední těžkou ránu dožívajícímu protimendelovskému a protimorganovskému lysenkoismu**, který dlouho dusil i českou genetiku a její průkopníky B. Seklu, K. Hrubého i F.

Kříženeckého. Několik Nirenbergových publikací v rychlém sledu (The Dependence of Cell-Free Protein Synthesis in *E. coli* upon RNA Prepared from Ribosomes. *Biochem Biophys Res Commun* 1961; 4: 404–408; s Matthaeiem. Characteristics and Stabilization of DNAase-Sensitive Protein Synthesis in *E. coli* Extracts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1961; 47: 1580–1588; s Matthaeiem. The Dependence of Cell-Free Protein Synthesis in *E. coli* upon Naturally Occurring or Synthetic Polyribonucleotides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1961; 47: 1588–1602; s Matthaeiem) vyvolalo pak závody o vylouštění zbytku genetického kódu mezi Brennerem, Ochoou, Crickem a dalšími.

V roce 1962 byl Nirenberg jmenován přednostou oddělení biochemické genetiky Národního kardiologického ústavu. Tehdy odešel Matthaei z Bethesda a Nirenberg pokračoval ve studiu genetického kódu se skupinou asi dvaceti postdoktorandů a laborantů včetně Normy Heatonové, která zůstala v sestavě skupiny 40 let. Podle vzoru pokusu s poly-U experimentoval dále se syntetickou RNA a **v tripletu AAA (tři adenosiny) objevil kódové slovo pro aminokyselinu lysin**, dále **v tripletu CCC (tři cytosiny) objevil kódové slovo pro aminokyselinu prolin**, naopak triplet GGG (tři guaniny) se ukázal jako zcela neúčinný (Qualitative Survey of RNA Codewords. *Proc Natl Acad Sci USA* 1962; 48: 2115–2123; s Jonesem). V letech 1964 a 1965 vyvinul Nirenbergův postdoktorand Philipp Leder důmyslný filtrační přístroj užitečný při stanovování pořadí nukleotidů v kodonech, což urychlilo proces určování kódových slov pro aminokyseliny.

Jak závod o rozluštění genetického kódu spěl v roce 1965 k závěru (než uplynul rok 1966, podařilo se Nirenbergovými a Khoranovými technikami dešifrovat všech 64 kodonů RNA pro všech 20 aminokyselin), rozhlížel se Nirenberg po nových vědeckých záhadách, během následujících 4 let obrátil svůj zájem a přeorientoval svou laboratoř z výzkumu DNA-RNA-bílkovinné soustavy pro příjem, ukládání a předávání genetické informace na výzkum mozku, jedině další soustavy pracující s informací, a to smyslovou a myšlenkovou (stejný posun v badatelské orientaci od molekulární biologie k neurobiologii prodělali Seymour Benzer, Sydney Brenner, Julius Adler, Gunther Stent, Max Delbrück, Francis Crick i Cyrus Levinthal). Nirenberga zejména zaujalo studium neuroblastomů, protože jejich buňky se na rozdíl od plně vyvinutých neuronů dělí. Přijal je jako model vývoje neuronů a příležitost studovat neurotransmitery v mozku a zkoumáním jejich syntézy poznávat podrobnosti zpracování informace v nervové soustavě. Nové perspektivy otevírající se genetickému inženýrství podnítily Ni-

renberga k napsání úvodníku, v němž říká: „Když člověk nabyvá schopnosti poroučet vlastním buňkám, musí potlačovat nutkání k tomu, dokud není dostatečně moudrý, aby svých znalostí užíval k prospěchu lidstva ...“ (Will Society Be Prepared? Science 1967; 157: 633).

V roce 1968 byl Nirenberg „za svůj výklad genetického kódu a jeho funkce v syntéze bílkovin“ (konkrétně za rozluštění genetického kódu pro fenylalanin, později pro lysin a prolin) vyznamenán třetinovým podílem na Nobelově ceně za fyziologii nebo medicínu. Dalšími podílníky pak byli madisonský biochemik původem z Paňdžábu Har Gobind Khorana za potvrzení Nirenbergova objevu a konečné prolomení celého kódu pro syntézu bílkovin a biochemik Robert William Holley z Cornellovy univerzity za izolaci a charakterizaci transferové RNA. Na stejně zaslužilého Matthaeiho se nedostalo.

Na slavnostním shromáždění ve Stockholmu 10. prosince 1968 představil laureáty králi a Královské švédské akademii věd profesor Karolinského lékařsko-chirurgického institutu Peter Reichard. Úvodem připomněl zrození genetiky jako vědy v nadlouho zapomenutém poznání brněnského augustiniána Gregora Mendela z pokusů s křížením hrachu, že děděné znaky jsou určovány „elementy“ dědičnosti (1866), připomněl také izolaci „nukleinu“ z buněčných jader Švýcarem Friedrichem Miescherem (1868), aniž kdo souvislost mezi oběma objevy tušil, dále zmínil zásluhu Švéda Einara Hammarstena o probuzení vědeckého zájmu na počátku čtyřicátých let 20. století a průkaz Američana Oswalda Averyho, že nikoli bílkovina, nýbrž nukleová kyselina obsahuje genetickou informaci (1944), z čehož povstala molekulární biologie, jejíž výzkum je v roce 1968 Nobelovou cenou vyznamenáván už popáté od roku 1958. Reichard vystihl význam Nirenbergovy syntézy jednoduché nukleové kyseliny pro rozluštění prvního znaku genetického kódu (1961) i Nirenbergův a zejména Khoranův přínos pro konečné rozluštění celého genetického kódu v následujících letech, zatímco Holley objevil nukleovou kyselinu převádějící genetický kód do abecedy bílkovin, připravil ji v čisté formě a ko-

nečně v roce 1965 určil její přesnou chemickou stavbu – u biologicky aktivní nukleové kyseliny vůbec poprvé. Dne 12. prosince 1968 měl Nirenberg nobelovskou přednášku (The Genetic Code. Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1963–1970. Amsterdam: Elsevier Publishing Company 1972; 372–395). Téhož roku dostal od prezidenta USA Lyndona B. Johnsona Národní medaili cti.

V letech po Nobelově ceně setrval Nirenberg v obratu od genetiky k neurobiologii a v roce 1973 začal s Wernerem Kleem studovat účinky morfinu na nervovou soustavu (Mode of Action of Endogenous Opiate Peptides. Nature 1976: 609–612; s Kleem). Ve snaze porozumět počáteční strategii budování nervové soustavy a diferenciace neuroblastů začal v roce 1989 u octomilky (*Drosophila melanogaster*) studovat homeoboxový gen vnd/NK-2, jehož exprese zapíná úplně první krok neurálního vývoje v části centrálního nervového systému embrya mušky. V roce 2001 byl zvolen za člena Americké filozofické společnosti. V témže roce zemřela po 40 letech manželství jeho žena Perola. Dne 23. prosince 2005 se vdovec Nirenberg oženil s profesorkou Kolumbijské univerzity a přednostkou Ústavu klinicko-genetické epidemiologie Psychiatrického institutu státu New York Myrrou Weissmanovou. Stal se tak otčímem jejího syna Jonathana a dcer Judith, Sharon a Susan.

Při pracovní návštěvě České republiky, zajišťované Ústavem živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd, ve dnech 23. až 29. dubna 2006 vystoupil Nirenberg s přednáškou (Regulation of Axon Formation by Clonal Lines of a Neural Tumor) v Masarykově onkologickém ústavu v Brně a na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze. Dne 25. dubna 2006 přijal v brněnském Dietrichsteinském paláci Mendelovu pamětní medaili za rozvíjení Mendelova vědeckého odkazu, kterou mu udělilo Mendelianum Moravského zemského muzea v Brně, načež přednesl svou „Mendel Lecture“ (Deciphering the Genetic Code) a diskutoval s odborníky, studenty i veřejností. O zakladateli genetiky řekl: „Stojíme na ramenou gigantů, kteří tu byli před námi. Mendel je beze všech pochybností jedním z nich.“ Na Nirenber-

govu počest uspořádal nakonec předseda Akademie věd ČR prof. Václav Pačes slavnostní večeři v pražské Lannově vile.

Marshall Warren Nirenberg se po celý život angažoval v mnoha záležitostech, v nichž cítil svou „nepopiratelnou odpovědnost“ občana, vědce a známé osobnosti. Na poli vědy byl přesvědčným stoupencem výzkumu embryonálních kmenových buněk a terapeutického klonování a hlasitě požadoval vládní podporu vědy jako nezbytný předpoklad jejího pokroku. Do konce života byl přednostou oddělení biochemické genetiky Národních zdravotních ústavů. Přes četné nabídky profesur a vedoucích míst z prestižních institucí zůstal Bethesda věrný po celé více než půlstoletí. Profesor Nirenberg zemřel 15. ledna 2010 na rakovinu ve svém newyorském bytě.

## LITERATURA

1. **Caskey CT.** Obituary: Marshall Nirenberg (1927-2010). Nature 2010; 464(7285): 44.
2. **Houdek F.** První luštitel genetického kódu. Medical Tribune 2007; 3(11): B8.
3. **Leder P.** Retrospective. Marshall Warren Nirenberg (1927–2010). Science 2010; 327(5968): 972.
4. **Magill FN. (ed.)** The Nobel Prize Winners. Pasadena – Englewood Cliffs: Salem Press 1991; 2: 1033–1040.
5. **McMurray EJ. (ed.)** Notable Twentieth-Century Scientists. New York: Gale Research Inc. 1995; 3: 1474–1475.
6. **Nirenberg MW, Olivová J.** Poznávání genetického kódu. Rozhovor. Vesmír 2007; 86(8): 523.
7. **Scolnick E.** Marshall Nirenberg 1927–2010. Cell 2010; 140: 450–451.
8. **Sodomka L, Sodomková Magd., Sodomková Mark.** Kronika Nobelových cen. Praha: Euromedia Group k. s. – Knižní klub 2004: 332–333.
9. **Wasson T. (ed.)** Nobel Prize Winners. New York: The H. W. Wilson Company 1987; 767–769.
10. **Watts G.** Marshall Warren Nirenberg. The Lancet 2010; 375(9721): 1158.

MUDr. Pavel Čech  
Kabinet dějin lékařství 3. LF UK  
Ruská 87, 100 00 Praha 10  
e-mail: pavel.cech@lf3.cuni.cz