

# SCRIPTA MEDICA

FACULTATIS MEDICAE BRUNENSIS MASARYKIANAE  
SPISY LÉKAŘSKÉ FAKULTY MASARYKOVY UNIVERZITY V BRNĚ

Doplňková řada edice **Supplement**,  
určena k publikacím odborných sdělení z jednání  
lékařských kongresů a symposií



Toto číslo obsahuje sdělení přednesená a diskutovaná na jednáních  
**Kongresu MEFA 96**  
konaného ve dnech 6. - 9. 11. 1996 v Brně

Za věcnou a jazykovou správnost příspěvků zodpovídají autoři,  
texty nebyly redakcí upravovány.

## INDEX

L. Beneš PERSPEKTIVY FARMACEUTICKÉ CHEMIE Perspectives in Medicinal Chemistry	9
J.Květina, V.Grossmann, P.Anzenbacher K FARMAKOLOGICKÝM PROGNÓZÁM - 1996 Notes to Pharmacological Prognosis - 1996	12
Chalabala M., Rabišková M. TECHNOLOGIE LÉKOVÝCH SYSTÉMU, VZTAH K TERAPII A POŘEBÁM TRHU Technology of Medicamental System, Relation to Therapy and Market Needs	16
Štípal R., Kuba J., Černý J., Pleva L., Káňa A., Martínek A. SROVNÁNÍ DOBUTAMINOVÉ ECHOKARDIOGRAFIE A SCINTIGRAFIE MYOKARDU U NEMOCNÝCH SE SUSPEKTNÍ NEBO PROKÁZANOU ISCHEMICKOU CHOROBOU SRDEČNÍ PŘI SIMULTÁNNÍ ZÁTĚŽI Comparison of Dobutamin Echocardiography and Myocardial Scintigraphy in Patients with Suspected or Proved Coronary Artery Disease during Simultaneous Exercise	19
Kotlářová J., Hartlová S., Klemrová V., Jirková O. NÁZORY PRAKTICKÝCH LÉKAŘŮ NA INDIVIDUÁLNĚ PŘIPRAVOVANÉ LÉKY Family Physicians Opinions on Individually Prepared Medicaments	21
Vanžura, M., Bečková, I., Višňovský, P. ROČNÍ SPOTŘEBA LÉKŮ OBSAHUJÍCÍCH LÁTKY S NÁVYKOVÝM POTENCIÁLEM V PODMÍNKÁCH MALÉHO MĚSTA Annual Consumption of Drugs Containing Agents with Dependency Potential in a Small Town	25
Švestka J. ALGORITMY LÉČBY AKUTNÍ DEPRESÍVNÍ PORUCHY Algorithm for the Treatment of Acute Depressive Disorder	28
Češková E. ALGORYTMY LÉČBY MÁNIE ALGORITHM FOR THE TREATMENT OF MANIA	32
Švestka J. ALGORITMY PROFYLAXE AFEKTIVNÍCH PORUCH Prophylaxis of Affective Disorders	35
Maršálek M. ALGORITMY LÉČBY EXTRAPYRAMIDOVÝCH NEŽÁDOUCÍCH REAKCÍ Algorithm for the Treatment of Extrapiramidal Unwilling Reactions	38
J. Raboch ALGORITMY BIOLOGICKÉ LÉČBY OBSEDANTNĚ KOMPULZIVNÍ PORUCHY (OCD) Algorithm for the Biologic Treatment of Obsedant Compulsive Disorders	41
J. Drtil LÉČBA ZÁVISLÝCH NA TABÁKU NEUROLEPTIKY A ANTIDEPRESIVY Treatment of TOBACCO DEPENDENCY with Neuroleptics and Antidepressives	44

E. Češková, J. Švestka ANTIKONVULZIVA V LÉČBĚ AKUTNÍCH PSYCHOTICKÝCH PORUCH ANTICONVULSANTS IN THE TREATMENT OF ACUTE PSYCHOTIC DISORDERS	48
Novotný, M., Kostřica, R., Círek, Z. ARLEVERT V LÉČBĚ ZÁVRATÍ Arlevert in the Treatment of Vertigo	55
Rado Nosál, Viera Jančinová, Margita Petriková BLOKÁTORY BETAADRENERGNEHO RECEPTORA A KRVNÉ DOŠTIČKY BETAADRENOCEPTOR BLOCKING DRUGS AND BLOOD PLATELETS	60
Viera Jančinová, Rado Nosál and Peter Matejka ÚČINEK CHLOROQUINU NA FUNKCI LIDSKÝCH TROMBOCYTŮ EFFECT OF CHLOROQUINE ON HUMAN BLOOD PLATELET FUNCTIONS	65
Rado Nosál, Viera Jančinová, Edita Danihelová K INHIBÍCI KRVNÝCH DOŠTIČIEK NIEKTORÝMI H1- ANTAGONISTAMI On the inhibition of blood platelets with some histamine H1- antagonists	69
J.Pečivová, K.Drábiková, R.Nosál BLOKÁTORY BETAADRENERGNEHO RECEPTORA A FOSFOLIPIDÓZA V IZOLOVANÝCH ŽÍRNYCH BUNKÁCH Beta-adrenoceptor blocking drugs and phospholipidosis in mast cells	75
K.Drábiková, J.Pečivová, R.Nosál ÚČINOK CHLOROCHINU NA NIEKTORÉ FUNKCIE ŽÍRNYCH BUNIEK Effect of chloroquine on some isolated mast cell functions	80
K.Kotuliaková, K.Drábiková, R.Nosál, T.Mačičková and E.Danihelová ÚČINOK KATIONICKÉHO AMFIFILNÉHO LIEČIVA DITHIADENU NA STIMULOVANÉ ĽUDSKÉ POLYMORFONUKLEÁRNE BUNKY Effect of cationic amphiphilic drug Dithiaden on stimulated human polymorphonuclear cells	85
Višňovský P., Rusek V. JUBILEÁ FARMAKOLOGICKÝCH UČEBNÍC Jubilees of pharmacological textbooks	89
Doležal, P., Hrabálek, A. TRANSODERMÁLNÍ LÉKOVÉ FORMY Transdermal drug delivery dosage forms	93
Doležal, P., Hrabálek, A. LIPOZÓMY A (TRANS)ODERMÁLNÍ APLIKACE LÉČIV Liposomes and (trans)dermal administration of drugs	99
Ivan Rektor ANTIKONVULZIVNÍ TERAPIE NEPILEPTICKÝCH NEUROLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ Anticonvulsant Therapy of Nonepileptic Neurologic Diseases	103
Malý J., Pecka M. HEPARIN V SOUVISLOSTI S TROMBOLÝZOU Heparin administration after thrombolysis	106
Kotlářová J., Hartlová S., Klemerová V., Tižková M. NEJČASTĚJŠÍ LÉKOVÉ FORMY V INDIVIDUÁLNÍ PŘÍPRAVĚ LÉKŮ SOUČASNOSTI The Most Common Medicament Forms in Individual Preparation of Current Drugs	109

J. Šulc, Y. Ploysongsang, C. Volta, A. Zapletal, J. Milic-Emili NOVÁ METODA MĚŘENÍ RESISTENCE RESPIRAČNÍHO SYSTÉMU: POUŽITÍ PŘERUŠOVANÉHO NEGATIVNÍHO TLAKU (INTERNEP) New Method for Measurement of Respiratory System Resistance: Application of an Intermittent Negative Expiratory Pressure (INTERNEP)	112
Marek D., Lukl J., Heinc P., Fiala M. MOŽNOSTI TDI V DIAGNOSTICE ARYTMÍÍ - PRVNÍ ZKUŠENOSTI SE SYSTÉMEM TOSHIBA POWER VISION Using of TDI in arrhythmia diagnosing - first experience with Toshiba Power Vision system	125
Špác, J., Němcová H., Hlinomaz O., Blaha M., Dvořák I.: NOVÉ MOŽNOSTI ECHOKARDIOGRAFIE V DIAGNOSTICE LEVOKOMOROVÉ DYSFUNKCE New possibilities of echocardiography in the diagnosis of the left ventricular dysfunction	128
Marek D. TISSUE DOPPLER IMAGING - MOŽNOSTI PRAKTICKÉHO POUŽITÍ Tissue doppler imaging in clinical practice	131
Krusová D., Ševela K., Mejzlík V., Pecová J., Svojanovský J. MOŽNOSTI MONITOROVÁNÍ NEFROTOXICKÝCH ÚČINKŮ Possibilities of Monitoring of Nefrotoxicity	134
Faberová V., Juranová D. ÚČINEK LÁTKY VULM 993 NA CÍRKULACI CHOLESTEROLU V AORTĚ U KRÁLÍKŮ NA CHOLESTEROLOVÉ DIETĚ Effect of VULM 993 on turnover of cholesterol in aorta of cholesterol-fed rabbit	142
V. Jančinová, R. Nosál ÚČINOK ANTIHISTAMINIKA BROMADRYLU NA LUDSKÉ KRVNÉ DOŠTIČKY Effect of Antihistaminic Bromadryl on Human Blood Platelets	143
T. Mačičková, M. Kettner, D. Adam MECHANIZMY REZISTENCIE KLINICKÝCH IZOLÁTOV GRAM-NEGATÍVNYCH BAKTÉRIÍ VOČI AMINOGLYKOZIDOVÝM ANTIBIOTIKÁM Mechanisms of Resistance of Clinical Isolators of Gram-negative Bacteria to Aminoglycosid Antibiotics	146
Mirossay L., Mojžiš J., Nicák A., Kohút A. ÚLOHA PEPTIDERGNEJ INERVÁCIE PRI OCHRANE ŽALÚDKA Role of peptidergic innervation in gastroprotection	149
Mojžiš, J., Pomfy, M., Kohút, A., Nicák, A., Sovičová R., Mirossay, L. OCHRANA ŽALÚDOČNEJ SLIZNICE PRI POSTISCHEMICEJ REPERFÚZII Protection of Gastric Mucosa During Postischemic Reperfusion	152
Sadloňová I., Lazar J. ANTISKLEROTICKÝ ÚČINOK LÁTKY VULM 993, POZOROVANÝ V ARTÉRIÁCH KRÁLÍKOV NA CHOLESTEROLOVEJ DIÉTĚ. MORFOLOGICKÁ ŠTÚDIA Antiatherosclerotic effect of VULM 993 in arteries of cholesterol - fed rabbits. The morfological study	155
L. Schmidtova, D. Juranova, R. Hozova, P. Noskovič ÚČINOK VULM 993 NA METABOLIZMUS LIPIDOV Influence of VULM 993 on lipid metabolism	156
Valentová, J., Gombošová, I., Švec, P. VLIV MONOHYDRÁTU N-SALICYLIDEN-β-ALANINATOMĚDNATÉHO KOMPLEXU NA HEMOPOEZU U OZÁŘENÝCH MYŠÍ The effect of copper(II) N-salicylidene-β-alaninate monohydrate on haemopoiesis in irradiated mice	157
Bilder J.	160

ETIKA V CHIRURGII (Úvaha o pregraduální výuce etiky) Ethics in Surgery (Thought about Pregradual Teaching of Ethics)	
Cejpek, P., Fadrus P. Etické problémy transplantací ETHICAL PROBLEMS OF TRANSPLANTATIONS	163
Vomela J. LÉKAŘSTVÍ A ETIKA Medicine and ethics	165
Pařko P. NĚKOLIK ETICKÝCH PROBLÉMŮ V CHIRURGII Some ethical issues in surgery	170
Vomela J. PRÁVNÍ VĚDOMÍ law awareness	172
Vorlíček J., Rečtořiková O. SDĚLOVÁNÍ DIAGNÓZY ONKOLOGICKY NEMOCNÝM making the cancer patient known with the diagnosis	176
M. Hájek ETIKA VZTAHŮ OBČANSKÉ SPOLEČNOSTI KE ZDRAVOTNÍKŮM Ethics of Relations of the General Population to the Health Care Workers	180
Haškvcová, H. O LÉKAŘSKÉ ETICE, ZEJMÉNA V CHIRURGII About Medical Ethics, Mainly in Surgery	185
Koutecký, J. ÚVODNÍ ÚVAHA O PSYCHOLOGICKÝCH A MRAVNÍCH PROBLÉMECH SOUČASNÉ CHIRURGIE Introduction to Psychological and Moral Problems of Current Surgery	188
I. Malý INFORMOVANÝ SOUHLAS S PLÁNOVANOU OPERACÍ Informed consent with planned surgery	194
Prymula, R., Beran, J., Šplíňo, M. VIROVÁ HEPATITIDA B - VYBRANÉ ASPEKTY VAKCINACE Viral hepatitis B - selected aspects of vaccination	197
Prymula, R., Beran, J., Šplíňo, M. VIROVÁ HEPATITIDA G (VHG) Viral hepatitis G	200
Heclová S., Sponar Jar. ÚVAHY O VČASNÉ LÉČBĚ AIDS Considerations on Opportune Treatment of AIDS	204
J.Kohout SOUČASNÁ PROBLEMATIKA PROFESIONÁLNÍCH RHINITID Contemporary problems of occupational rhinitis	207
Brhel, P. PROFESIONÁLNÍ SINONASÁLNÍ KARCINOM Z EXPOZICE PRACHU DŘEVA	209

(Occupational sinonasal cancer in woodworkers)	
Slepička, J., Tesař, Z. PNEUMOKONIÓZA ZE SVAŘOVÁNÍ V SEVEROMORAVSKÉM REGIONU Welders' pneumoconiosis in the region of North Moravia	212
M. Kneidlová, E. Hrnčíř PODMÍNKY VZNIKU NEMOCÍ Z POVOLÁNÍ PŘENOSNÝCH A PARAZITÁRNÍCH Conditions for Recognition of Contagious and Parasitic Occupational Illness	215
E. Hrnčíř, M. Kneidlová NEMOCI Z PŘETLAKU NEBO PODTLAKU Hyper and HYPOBARRIC Diseases	218
Hubáčová, L., Borský, I. ANALÝZA ŤAŽKOSTÍ MUSKULOSKELETÁLNĚHO SYSTÉMU U ZDRAVOTNÍCKÝCH PRACOVNÍČEK Z DVOCH BRATISLAVSKÝCH NEMOCNIC Analysis of musculo-skeletal disorders of the female health personnel from two Bratislava's hospitals	221
Pokorný A. KUŘÁCKÝ NÁVYK, RIZIKOVÝ FAKTOR OVLIVŇUJÍCÍ VENTILAČNÍ PLICNÍ FUNKCI U PŘEŽÍVAJÍCÍCH A ZEMŘELÝCH MUŽŮ Smoking Habit: A Risk Factor Affecting the Ventilatory Function of the Lung in Surviving and Deceased Men	226
Beran J., Douda P., Prymula R., Šplího M., Grál P., Rychlý R. ČESKÉ U.N. JEDNOTKY - SÉROPREVALENCE ANTI-HAV PROTILÁTEK V LETECH 1991 - 1994	232
Drahoňovská H., Hostičková M., Gajdoš P., Šrůtková P., Andresová E., Špelina V. CHEMICKÉ LÁTKY, BAKTERIE A PLÍSNĚ NA NOVOROZENECKÝCH ODDĚLENÍCH	238
Hostičková M., Mahmoodová T., Louda L., Jandák Z., Stuchlík V. VLIV HLUKU A VIBRACÍ INKUBÁTORŮ NA ZDRAVOTNÍ STAV DĚTÍ NAROZENÝCH S NÍZKOU PORODNÍ HMOTNOSTÍ The influence of Noise and Vibrations of Incubators on the Medical Status in New-borns with Low Birth Weight	243
Kolářová M., Kareš I., Sekaninová G. MIKROBIOLOGICKÉ SLEDOVÁNÍ PROVOZU INKUBÁTORŮ Microbiologic Monitoring of Incubator Use	248
Paříková J. MYKOTICKÉ INFEKCE A DEZINFEKCE Mycotic Infections and Desinfection	253
Pazdziora E. DEKONTAMINACE NEMOCNICNÍCH ODPADŮ Decontamination of Hospital WAIST Materials	258
Tomek M., Tomková V.: MOŽNOSTI KVANTIFIKACE RIZIKOVÝCH FAKTORŮ POMOCÍ STATISTICKÝCH METOD Possibilities of Qantification of Risk Factors Applying Statistical Methods	265
Z. Siegllová, R. Brdička, P. Lemež, J. Sajdová, J. Starý METYLAČNÍ ZMĚNY REGULAČNÍCH OBLASTÍ DNA - MOŽNÝ UNIVERZÁLNÍ MARKER MALIGNÍHO KLONU U AKUTNÍCH LEUKEMIÍ Methylation alterations of 5 regions of DNA - promising universal marker of blast cells in acute leukemia	270
Faber E., Indrák K., Penka M., Krahulcová E., Mociková K., Kuviková A., Jarošová M., Pikalová Z., Slezák P. PERSPEKTIVY POUŽITÍ INTERLEUKINU - 2 V IMUNOTERAPIÍ AKUTNÍCH LEUKÉMIÍ	277

Perspectives of Use of Interleukin - 2 in Immunotherapy of Acute Leukaemia	
Kyra Michalová, Zuzana Zemanová, Jana Březinová FLUORESCENČNÍ IN SITU HYBRIDIZACE (FISH) V DIAGNOSTICE HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION (FISH) IN DIAGNOSIS OF HEMATOLOGIC MALIGNANCIES	281
Haškovec C., Pechová R., Lemež P., Schwarz J. DETEKCE ZBYTKOVÉ CHOROBY U AKUTNÍ PROMYELOCYTÁRNÍ LEUKEMIE Detection of Remnant Disease in Acute Promyelocytic Leukaemia	288
J. Schwarz, R. Pechová, C. Haškovec MÍSTO PCR VYŠETŘENÍ HYBRIDNÍHO GENU PML/RAR $\alpha$ V KOMPLEXNÍ DIAGNOSTICE AML The place of PML/RAR $\alpha$ hybrid gene examinations in the complex diagnostics of AML	291
A.Vítek TRANSPLANTACE KOSTNÍ DŘENĚ U AKUTNÍCH LEUKEMIÍ Bown Marrow Transplant in Acute Leukaemia	298
Krahulcová E., Penka M., Vorlíček J., VÝVOJ DIAGNOSTIKY A TERAPIE AL The Development of Diagnostics and Therapy of Acute Leukaemia	303
K. Indrák LÉČBA AKUTNÍCH LEUKÉMIÍ The Treatment of Acute Leukaemia	307
Elbl L., Hájek R., Vášová I., Chaloupka V., Krahulcová E., Penka M., Vorlíček J. KARDIOLOGICKÉ KOMPLIKACE PROTINÁDOROVÉ LÉČBY ANTRACYKLINY The Heart Complications of Antitumor Treatment with Antracyclines	315
Smejkal P., Krahulcová E., Buliková A., Matýšková M., Penka M., Klabusay M. SOUČASNÉ TRENDY V DIAGNOSTICE AKUTNÍCH LEUKÉMIÍ Current Trends in Diagnostics of Acute Leukaemia	320
Simonov, M. DIAGNOSTIKA CELIAKIE ENTEROKLÝZOU Diagnostics of Celiacia with Enteroklysis	330
Ceralová, D. DIAGNOSTICKÝ ALGORITMUS ILEOZÍCH STAVŮ Diagnostic Algorithm in Ileous Conditions	333
J. Svitač, J. Kliment, M. Zibolen DIAGNOSTIKA AKÚTNEJ PYELONEFRITÍDY V DETSKOM VEKU Diagnostics of Acute Pyelonefritis in Childhood	336
Krejčová B., Buček J., Čada K., Smilek P. PROBLÉMY DIAGNOSTIKY A LÉČBY MALIGNÍCH MELANOMŮ V OTOLARYNGOLOGII The Problems of Diagnostics and Treatment of Malignant Melanoma in Otorhinolaryngology	339
J. Melichar, Č. Neumann, A. Šin ZAJIŠTĚNÉ HŘEBOVÁNÍ U ZLOMENIN DOLNÍCH KONČETIN Locked Nailing of Fractured Lower Extremity	344
M.Babjuk, L.Jarolím, T.Hanuš, M.Janský SIGMA RECTUM POUCH (MAINZ POUCH II): PRVNÍCH 50 OPEROVANÝCH PACIENTŮ THE SIGMA RECTUM POUCH (MAINZ POUCH II) - FIRST 50 OPERATED PATIENTS	347

M.Babjuk, L.Jarolím, T.Hanuš, M.Janský KVALITA ŽIVOTA U PACIENTŮ SE SIGMA RECTUM POUCHEM QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH THE SIGMA RECTUM POUCH	351
L. Jarolím, M. Babjuk, T. Hanuš, M. Janský MATURACE ORTOTOPICKÉ NÁHRADY MOČOVÉHO MĚCHÝŘE U ŽENY MATURATION OF THE ORTHOTOPIC BLADDER REPLACEMENT IN THE FEMALE	355
L. Jarolím., M. Babjuk OBSTRUKČNÍ ILEUS U NEMOCNÉ SE SIGMA-RECTUM POUCHEM OBSTRUCTIVE ILEUS IN A PATIENT WITH SIGMA-RECTUM POUCH	358
Rovný F., Řehořek P., Rovný A., Kotek V. APENDIX JAKO MECHANISMUS KONTINENCE Appendix as a Mechanism of Continence	361
Mechl Z., Vyzula R., Kostřica, R. PRVNÍ ZKUŠENOSTI S LÉČBOU NÁDORŮ HLAVY A KRKU PACLITAXELEM V KOMBINACI S CARBOPLATINOU A NÁSLEDNOU RADIOTERAPIÍ The Initial Experience in the Treatment of Advanced Head and Neck Cancer by Paclitaxel /Taxol/ and Carboplatin Followed by Radiotherapy	364
Brázda, A., Paroulek, J., Pazdera, J. K PROBLEMATICE ALLOPLASTICKÉ REKONSTRUKCE TĚLA DOLNÍ ČELISTI PO ONKOCHIRURGICKÝCH OPERACÍCH. To Questions of the Mandible Alloplastic Reconstructions after Oncosurgery	368
Chaloupka, R., Vlach, O. OPERAČNÍ ŘEŠENÍ TUMORŮ KRČNÍ PÁTEŘE SURGICAL MANAGEMENT OF CERVICAL SPINE TUMORS	373
V. Chrobok, A. Pellant BENIGNÍ NÁDORY NERVOVÉ POCHVY X. HLAVOVÉHO NERVU Benign neoplasms of the vagus nerve	376
Chrobok V., Vokurka J., Hybášek I., Pellant A., LÉČEBNÁ TAKTIKA U NEMOCNÝCH SE ZÁNĚTLIVOU RINOGENNÍ OČNICOVOU KOMPLIKACÍ The treatment of patients suffering from rhinogenic inflammatory orbital complications	379
Bláhová J., Vomela J., Čundrle I., Hakl. L. HLUBOKÉ KRČNÍ INFEKCE JAKO KOMPLIKACE ZÁNĚTŮ ORL OBLASTI Deep Neck Inflammation as a Complication of ENT Diseases	382
Kostřica, R., Trnka, A., Vomela, J. PŘÍNOS MEDIASTINOSKOPIE V DIAGNOSTICE INFILTRACÍ MEZIHRUDÍ Contribution of Mediastiscopy in the Diagnosis of mediastinal Tumors	386
Cejpek, P., Ševčík P. SEKUNDÁRNÍ POŠKOZENÍ MOZKU PO PORANĚNÍ CNS Secondary Brain Damage after CNS Injury	388
Cejpek P., Buček J., Smrčka V. NEOBVYKLÝ PŘÍPAD NEUROFIBROMU KALVY A Rare Case of Neurofibroma Calvae	390
Lomíček M. NĚKOLIK ZÁKLADNÍCH INFORMACÍ O PROJEKTECH CASE MIX V RÁMCI VZP Several Basic Information about CASE MIX Projects in Frames of VZP	394



Při citacích článků Supplementa 4 uvádějte stránky uvedené v záhlaví konkrétního příspěvku.

Scripta medica	70	Supplementum 4	9-11	Brno, 1996
----------------	----	----------------	------	------------

Farmaceutická fakulta VFU Brno, Faculty of Pharmacy, University of Veter. Pharm. Sci. Brno

**L. Beneš**

## Perspectives in Medicinal Chemistry

### Perspektivy farmaceutické chemie

#### Souhrn

Výsledky farmaceutické chemie a dalších spolupracujících oborů v posledních padesáti letech přispěly k likvidaci řady, do té doby nezvládnutelných nemocí, případně změnily jejich následky, prodloužily průměrnou délku života, přispěly k rozšíření transplantačních možností a zcela zásadně ovlivnily léčbu psychických poruch. Určitý racionální pokrok ve výzkumu léčiv přineslo zavedení kvantitativních vztahů mezi chemickou strukturou a biologickým účinkem prostřednictvím optimalisace struktury. Novými přístupy je charakterisována farmaceutická chemie v posledních asi deseti letech, kdy byl využit ve výzkumu léčiv významný pokrok v biologických vědách, zvláště v molekulární biologii a rozvoj výpočtové techniky, včetně programového vybavení, postaveného na znalostech struktury interakčních míst v organismu, s biologicky účinnou látkou nebo léčivem (Molecular Design, Molecular Graphics). Vazby mezi chemií, biologií a výpočtovou technikou vyústily do metod t.zv. přizpůsobování se (Mimicking) molekuly potenciálního léčiva biologickému reakčnímu partneru. Poskytly možnosti vsunutí molekulárních stop do molekuly (Molecular Harpoons-vpichy, Molecular Tweezers-pinzety ) nebo vytrhnutí určitých částí molekuly (Molecular Clips- stříhy v molekule), v zájmu nalezení specifické biologické odpovědi na podané léčivo a jeho interakci s receptory. Těchto oblastí se přímo dotýká i syntéza receptorů nebo tvorba umělých receptorů, přenos iontových kanálů a nebo jejich restrukturalisace. Největší nárůst nových léčiv se očekává s poznáním lidského genomu, kdy po zjištění místa zakódovaných patologických změn nebo místa genetické predisposice k určitým nemocem, může následovat přímé ovlivnění těchto procesů, cíleně připravenými látkami. Výzkum nových léčiv není dnes limitován preparativní metodologií, ale přípravou selektivního léčiva, s cíleným dosahem k interagujícímu místu v organismu.

Klíčová slova: Farmaceutická chemie - vývoj léčiv - budoucnost

#### Summary

The results of medicinal chemistry and other cooperated disciplines in the last fifty years contributed to liquidation of many uncontrollable diseases, changed of those consequences, prolonged life - time, extended transplantation chances and in principle wholly influenced the treatment of psychoneurotic diseases. The rational progress in drug development has been come with the quantitative structure-activity relationships and optimalisation of the drug chemical

structure and biological activity. Medicinal chemistry is characterized with the new accesses in last ten years. It has been utilized progress in biological sciences, specially in molecular biology and expansion of computer technics, including software equipments. Those studies have depended on combination of crystallographic and computational methods, on drug-receptor interaction (Molecular graphics). The interaction between chemistry, biology and computer technics leads to new methods characterized as a mimicking. Those fields direct contacted with the molecular harpoons, molecular tweezers and molecular clips technics in protein structure, genom construction, nature and artificial receptor construction, transmission of ion channel or ion channel reconstruction. The most progress in new drugs development is expected with humane genome decoding when after location the place of coded pathophysiological changes or the locality of genetic predisposition towards certain diseases, the direct influencing of these processes using the prepared compounds can follow. The research of the new drugs is not limited by preparative methodology at the present, but by the preparing of the selective drug with the target site effect in organism. Keywords: Medicinal Chemistry - Drug Development - Future

### **Perspektivy farmaceutické chemie**

Farmaceutická chemie je obor, který v posledních letech podstatně změnil svoji náplň. Nadále je orientován na léčivo a to od jeho vývoje, syntézy až po vysvětlení mechanismu účinku léčiv, na studium vztahů chemické struktury a biologické aktivity, na biodynamické chování léčiva a na jeho chemickou reaktivitu. Objektem výzkumu moderní farmaceutické chemie je receptor, enzym, iontový kanál, DNA, RNA nebo i regulační protein. Předmětem zájmu je též chemická formulace léčiva (např. Chemical Delivery System) za účelem barierové prostupnosti a cílené dostupnosti léčiva v organismu. Farmaceutická chemie staví na současných technických možnostech preparativní chemie, jež zvládá syntézu prakticky jakékoliv, strukturálně i velmi složité látky, včetně peptidů, na instrumentálním vybavení spektrálního a chromatografického typu a na úrovni výpočetní techniky, s příslušným softwarovým vybavením.

Jednou z nejsledovanějších oblastí, kde jsou očekávány objevy vysoce účinných léčiv, je oblast enzymových inhibitorů, především inhibitorů peptidáz. Již uplatnění inhibitorů angiotenzinkonvertázy v léčbě hypertenze (kaptoprilu a pod. nebo zofenoprilu, zcela specificky působícího v myokardiální oblasti), bylo určitým stimulem i školou pro výzkum dalších enzymů a jejich inhibitorů. Tak např. hirudin, selektivní inhibitor trombinu, izolovaný z pijavice *Hirudo officinalis*, účinkuje inhibičně již ve velmi nízkých koncentracích. Jeho rekombinantní formy by mohly najít uplatnění například vůči tvorbě nádorových metastáz. Pro renin, který je glykoprotein syntetisovaný v ledvinách ve formě proreninu, existují též inhibitoři, např. kyselina 4-(S)-amino-5-cyklohexyl-3-(S)-hydroxypentanová. Nejsledovanějšími inhibitory proteáz, jsou látky působící na virus lidské imunodeficiency (HIV). Účinkem proteáz se vytvářejí menší a funkčně schopné proteiny. Inhibuje-li se aktivita této asparaginové proteázy, budou výsledné viriony neinfekční. Zajímavými léčivy budoucnosti se mohou stát i inhibitoři cysteinových proteáz, u kterých se předpokládá využití v léčbě virových a bakteriálních nákaz. Intenzivně studovanou proteázou je i lysosomální katepsin, který se zúčastňuje v procesech nádorového růstu. Inhibiční účinek proteáz by mohl být využit i na zábranu štěpení insulinu v GIT a k vytvoření jeho perorálně použitelné formy. Studovány jsou mnohé další inhibitory různých enzymů. V některých případech jsou již k dispozici léčiva, jak je tomu u léčby benigní hyperplasie prostaty, pomocí inhibitorů steroid-5-alfa-reduktázy - např. finasteridu, turosteridu, epristeridu. V souvislosti s nádory prsu, dělohy nebo i prostaty se předpokládá zapojení aromatázy a jejich inhibitorů pyridoglutethimidu, roglethimidu, případně dalších. Zajímavou skupinou mohou být antagonisté cholecystokininu (CCK), reprezentující širokou škálu funkcí na různých cílových místech. Mohou se stát slibnými léčivy,

ovlivňujícími např. různé imunitní a zánětlivé procesy, mohou též prostřednictvím např. interleukinu-2 zvyšovat produkci T buněk. Rychle se utvářející farmakoterapeutickou skupinou jsou antagonisté PAF (Platelet Activation Factor), sehrávající klíčovou roli při různých patologických stavech (např. při systémové anafylaxi, alergické bronchokonstrikci, endotoxiny indukovaného poškození plic, GIT, ledvin i dalších orgánů). Jsou uvažováni jako potenciální léčiva např. astmy, imunitních poruch, endotoxických šoků. I když vakciny nenáleží do oblasti farmaceutické chemie, úspěšná vakcinace může podstatně ovlivnit skladbu používaných léčiv na přelomu 3. tisíciletí, kdy se očekává vakcinační zvládnutí větší části tropických nemocí, ale i vyřešení kontracepce. Vakciny budou využity v léčbě a prevenci nemocí vyvolaných *Helicobacter pylori*, intenzivně se pracuje na imunisaci proti nádorovým antigenům a proti HIV. Vakcína proti hepatitidě B a D již existuje, proti typu C prozatím odolává z důvodů rychlé změny serotypu a jeho šíře. Vzhledem k tomu, že virus hepatitidy C syntetisuje v jaterních buňkách protein o 3010 aminokyselinách a proteázy jej štěpí na 8 až 9 menších jednotek, není vyloučeno nalezení specifického inhibitoru, schopného zablokovat virovou reprodukci. Trend výzkumu léčiv pocházejících z poznání lidského genomu, bude v nejbližších letech značně zesilovat. Vzhledem k tomu, že je známo místo zakodování mnohých nemocí (např. Alzheimerovy choroby, řady nádorových onemocnění, polycystické ledvinné fibrozy), mohou být včas diagnostikovány genetické změny a nasazena preventivní léčba. V blízké době bude zavedena do praxe tabletová forma mutantního genu, který je schopný navodit proticholesterolovou imunitu. Prozkoumán je též ubiquitinový systém, podílející se na regulaci řady buněčných funkcí (např. výběrová degradace bílkovin, odpovědná reakce na tepelné a jiné stresy, regulace buněčného receptorového povrchu, vliv na neurodegenerativní nemoci i na virová onemocnění). Jelikož je ubiquitin bílkovinou tepelného šoku (HSP) a řada dalších HSP je v organismu syntetisována, není vyloučeno využití některých z nich, např. HSP 65 k protektivnímu působení vůči tumorům. Syntéza proteinů je dnes prakticky vyřešený problém a proto je otázkou nedaleké budoucnosti zavedení těchto látek do praxe. Jednou z nejvíce zkoumaných oblastí je apoptosa, naprogramovaná smrt buňky, která je definována morfologickými změnami vedoucími k nepatologickému odstranění buňky z tkáně. V tomto procesu působí kromě mnoha mechanismů i volné radikály. Je předpoklad, že budou nalezeny látky, které by mohly některé z apoptických kroků modifikovat. Nové přístupy jsou očekávány v regulaci NO-syntázy a v možnosti ovlivnění hladin jím produkovaného oxidu dusnatého (NO) a to využitím specifických inhibitorů tohoto enzymu. Použitím počítačů a odpovídajícího programového vybavení je možné zcela cíleně obměňovat strukturu již známých látek a nebo modelově vytvářet nové, které budou přesněji vyhovovat kontaktu s cílovým místem z hlediska prostorového uspořádání (molekulární dizajn, metody molekulární grafiky). Do struktury např. enzymu, většinou ve stužkovém ztvárnění (ribbon representation), se k aktivním místům (podle elektronové hustoty), postupně modelově přizpůsobuje molekula potenciálního léčiva. Analýzou reakčních mechanismů lze dospět i ke ztvárnění umělého enzymu.

Nejnovější metodou posledních let je t.zv. kombinatorní chemie, kdy se k reaktivnímu ligandu, izolovaně a postupně přidávají jiné látky. Vzniklé produkty, v přímém napojení na počítač, se neisolují, ale strukturálně přímo charakterizují a biologicky vyhodnocují. Kombinatorní chemie je již propracována v chemii peptidů. Moderní farmaceutická chemie, ve spolupráci s řadou dalších oborů, se tak přesunuje do oblastí, které zůstávají výzvou i pro 3. tisíciletí.

Literatura u autora

Scripta medica	70	Supplementum 4	12-15	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

(Farmaceutická fakulta VFU, Brno a Ústav experimentální biofarmacie, společné pracoviště AV ČR a PRO.MED.CS Praha a.s., Hradec Králové)

**J.Květina, V.Grossmann, P.Anzenbacher**

## **K FARMAKOLOGICKÝM PROGNOZÁM - 1996**

### **Summary**

This attempt to estimate the trends in pharmacology and their impact on innovations in pharmacotherapy is based on a comparison with a similar study published in 1974 by one of us (J. Květina). The following subjects are reflected in the present paper:

a) Classification based on the drug-organism interactions:

- pharmacodynamic aspects: ordering of receptors according to their structure, function, mechanisms of transduction and of the cascade of subsequent events,
- pharmacokinetic aspects: prospects of organ drug-targeting, influence of the chirality of the molecules, individualization of pharmacotherapy according to the isoforms of enzymes of biotransformation (assumed development of markers).

b) Attempts to rationalize the interpretation and transfer of data from experimental to clinical pharmacology (testing of possibilities to formulate hypotheses coupling pharmacokinetic data and pharmacodynamic effect).

### **Souhrn**

Jako konfrontační podklad pro pokus o soudobý odhad některých farmakologických vývojových trendů a jejich eventuální dopad na inovace farmakoterapie byl použit podobný prognostický pokus, který byl publikován jedním z autorů (J.Květina) v roce 1974.

Současné zamyšlení je tříděno:

a) podle základních mechanismů interakcí léčiv s organizmem:

- aspekty farmakodynamické: farmakon-receptorová perspektiva na základě řazení receptorů podle jejich struktury, lokalizace, mechanismů transdukce a následných biochemických kaskád,
- aspekty farmakokinetické: perspektivy orgánového drug-targetingu, vlivy chiralit molekul, individualizace farmakoterapie podle izoform biotransformačních enzymů (předpoklad vývoje markerů),

b) podle perspektiv racionalizace přenosu dat z experimentální do klinické farmakologie (vymezování sdružených závislostí mezi farmakokinetickými a farmakodynamickými ukazateli).

Klíčová slova: farmakologie, prognóza

### **Úvod**

První premisou, nad kterou se zamýšlely naše farmakologické prognózy z počátků sedmdesátých let (1,2), byla otázka několika - tehdy aktuálních - dilemat při modelování mechanismů interakcí

mezi léčivy a biologickými systémy. Předvídali jsme vyhledávání průsečíků pro různé modelovací roviny a pro sladování výzkumných trendů, směřujících k molekulární farmakologii (tj. směrem k relativně izolovaným farmako-biochemickým dějům) se zpětnými vazbami na úrovni celého organismu a to konkrétně organismu lidského. Logickým metodickým odhadem bylo upřesňování kombinovaných biologicko-matematických technik (matematických proto, aby se predikčně na celoorganismové úrovni využilo experimentálních dat dosažitelných v eticky dostupných, morfologicky a funkčně definovaných kompartmentech organismu). Bylo přitom předvídatelné, že jako heuristicky plodné by mělo být uplatňování pravděpodobnostních formulací vztahů mezi fyzikálně-chemickými charakteristikami serií látek a jejich chováním na úrovni biologických bariér, na úrovni biologických transportních vazeb a na úrovni biotransformačních přeměn (čili vztahů farmakokinetických). A podobně z hlediska farmakodynamiky totéž pokud jde o vztahy mezi charakteristikami látek a kvalitou a intenzitou jejich zásahů do dějů spjatých s farmakologickými receptory. Odhadovali jsme, že bude třeba vytvořit sdružený model mezi farmakokinetickými ukazateli ve vyrovnané kinetické fázi (dnes se jí říká „steady state“) a parametry farmakodynamické účinnosti, reprezentovanými mírou vysycování recepčních míst a mírou následných řetězových reakcí, na jejichž konci je výsledný efekt farmaka. Současná realita ukazuje, že pokusy o takto definované formulace občas problesknou: využívají vztahové rovnice, které zahrnují míru farmakodynamické aktivity v čase, koncentrace léčiva v plazmě a bioeliminační konstanty. Jejich širší využívání pro konstrukci nových potenciálních léčiv zůstává však i nadále pouhou perspektivou. Důvodem konkrétně ve farmakodynamice je především to, že exaktnost vstupních fyzikálních a chemických dat významně převyšuje specifičnost vstupujících biologických korelátů. Minulost naproti tomu prokázala užitečnost tohoto zmapování vztahů (např. pomocí metody QSAR) ve farmakokinetice: došlo k vyslovení predikcí pro vazby léčiv na úrovni plazmatických proteinů a pro difuzní a některé carrierové transporty léčiv v některých biologických bariérách (např. i některé naše studie: 3,4). Perspektivně by v tomto modelování mělo jít o farmakodynamické rozšiřování studií mimo homologické řady látek, ve farmakokinetice pak o zmapování dalších biodistribučních mechanismů např. na subcelulárních úrovních a hlavně o další utřídování biotransformačních mechanismů (včetně možností přenosů předklinických dat do klinické farmakologie z mezidruhově srovnávacích aspektů).

Na pomezí farmakodynamiky a farmakokinetiky se v posledních deseti letech zintenzivnila další otevřená otázka, jejíž systematictější řešení se rýsuje v nepříliš vzdálené budoucnosti: vztah mezi chiralitou léčiv a jejich farmakologií. Dokumentací o významných farmakokinetických a farmakodynamických rozdílech mezi enantiomery se za 150 let od prvních náznaků (např. chinin / chinidin) nashromáždilo sice nemálo (v současné farmakoterapeutické paletě je přes 500 účinných látek ve formě racemických směsí), pravidla pro vyslovení zákonitostí, které by umožňovaly predikční úvahy, však zatím neexistují.

Většina projektů farmakologického modelování vyúsťuje jako impulzy pro syntézu nových léčiv. Prognosticky je v tomto smyslu na místě snaha o cílenější využívání objevů biochemické fyziologie, biochemické pato-fyziologie, ..., molekulární farmakologie a o vytyčování kritérií, které by tyto výzkumné trendy usměrňovaly. Jedním z možných kritérií je určitá hierarchizace potřeb farmakologických výzkumů podle frekvence nedořešených kauzálně farmakoterapeutických postupů a podle frekvence pato-fyziologických situací, ohrožujících velké populační skupiny. Za uplynulých 20 let se pořadí takto postavené „společenské objednávky“ vůči farmakologii trochu posunulo. Na počátku sedmdesátých let to byly maligní nádory, hypertenzní nemoc, rezistentní bakteriální infekce, psychózy, deprese, degenerativní choroby, v současném subjektivním odhadu by to mohly být ateroskleróza, maligní nádory, virozy, autoimunitní onemocnění, imunodeficience, radikálové choroby, Alzheimerova nemoc, disbalance stopových prvků. Jiným usměrňujícím kritériem pro farmakologické impulzy vůči farmaceutické chemii (kterému většina farmakologů od

vyslovení farmakon-receptorové teorie především věří) je provokování tvorby nových léčiv na základě pokroků znalostí o farmakon-receptorové „černé skřínce“, v níž se schovávají farmakodynamické interakční děje. Za významný počin nedávné minulosti v této oblasti lze považovat vytvoření pracovní skupiny mezinárodní farmakologické společnosti IUPHAR (Amsterdam, 1991), které se prozatím podařilo kategorizovat dosud poznané farmakologické receptory do téměř stovky specifit. Toto třídění vychází ze studií o farmakon-receptorových strukturách, o lokalizaci receptorů, o transdukčních mechanismech a na ně navazujících biochemických kaskádách (5). Zde lze zřejmě především hledat zásadní invence pro farmakoterapeutické inovace. Půjde ovšem o řadu metodicky složitých otázek, zahrnujících poznávání plasticity receptorů, jejich architektury a jejich prostředí (např. pH, úroveň iontových sil, přítomnost stopových prvků, přítomnost specifických endogenních působků a jejich zpětných vazeb). Přitom navíc jsou samozřejmě očekávatelné další objevy endogenních mediátorů s podobnými interakčními mechanismy na receptorech jaké vyvolávají ať již poznané nebo dosud nepoznané exogenní látky. Jde o perspektivu objevů na základě totožného postupu, pomocí jakého se v minulosti objevily endorfíny, leukotrieny, cytokiny nebo blíže k současnosti endozepiny anebo jak se rýsuje tušená existence např. endogenních kardio-inotropinů.

Pokud jde o farmakokinetiku, která se na konci šedesátých let teprve postupně konstituovala: odhadovali jsme v minulých prognózách, že bude nezbytné zjednodušovat původní nepřehledné, většinou tabelárně vyjadřované farmakokinetické transportní konstanty (vypočítávané různými programy, např. pomocí kompartmentové analýzy) tak, aby se klinik mohl na základě kinetických údajů zorientovat při stanovování dávkových režimů. Tato odhadovaná „zjednodušující“ snaha je dnes realitou, takže v klinické farmakologii většinou vystačíme s parametry bioavailability, s udáváním  $c_{max}$ ,  $t_{max}$ , AUC a některého z bioeliminačních parametrů, ve stadiu steady state při opakovaném podávání pak s udáváním fluktuace. Dalším prognostickým farmakokinetickým aspektem byl již v minulosti tušený vývoj transdermálních a transnasálních enhancerů. Současnost ukazuje určité vystřízlivění po počátečním entusiasmu ve smyslu řady limitujících mantinelů pro tyto aplikační cesty: nekonstantnost transdermální absorpce např. podle okamžité oběhové situace jedince, u transnasálního transportu riziko snížené lokální imunity vyprovokované enhancery o větší molekule. Farmakokinetický trend se tedy perspektivně vrhá na drug-targeting a na vymyšlení pro-drug forem. Jde o nosiče, které by zanesly účinnou látku do cílové tkáně, v níž by došlo k jejímu, většinou enzymatickému uvolnění. Jedním z příkladů je L-acetyl-amino-glutarát, který se tlačí do mesangiomu tubulárních epitelí ledvin, jinou perspektivou v tomto trendu je směřování cytostatických působků do nádorových buněk (pomocí např. tumorových antigenů, monoklonálních antilátek, konjugátů antilátka-léčivo, LDL-komplexů). Recentně nejotevřenější kapitolou v drug-targetingu je hledání struktur, které by procházely střevní bariérou v komplexu nosičů s účinnou složkou bez rozložení.

V souvislosti s „lékovou explozí“, která znamenala a znamená modifikace statistického obrazu chorob (a z toho vyplývajících dalších ukazatelů kvality života) bylo již v minulosti předvídatelné rozšíření iatrogenních nemocí. Prognostikovali jsme proto postupnou stimulaci výzkumů změn, které vyvolávají farmaka svými vedlejšími a nežádoucími účinky v celopopulačních souvislostech. V minulých dvou desetiletích skutečně došlo k vytvoření celé nové lékové subdiscipliny - farmakoepidemiologie. Ta si prozatím vypracovala základní metodologická pravidla, dostává se na úroveň promyšleného shromažďování dat a čeká ji nejprve etapa systematictějších interpretací, vyjadřujících relativní poměr „benefit / risk“ u jednotlivých typů terapie a pak zřejmě etapa nezbytného soustředění formulací do zjednodušujících koeficientů. Jedním z takovýchto možných soustředění by mohl být vztah, který jsme se pokusili zformulovat (J.Květina, D.Svoboda, 1993) jako provokující impuls směrem k těm, kteří se těmito otázkami soustavněji zabývají: koeficient pro „benefit / risk“ farmakoterapie vyjádřený buď jako podíl anebo jako rozdíl mezi

parametry „b“ (zahrnující míry odstranění příčin choroby, odstranění symptomů nemoci, nahrazení nedostatečné funkce, zlepšení somatického stavu, zlepšení psychického stavu, snížení rizika komplikací, zlepšení sociálních funkcí) a „r“ (zahrnující míry nežádoucích účinků, navození iatrogenních symptomů, možností individuální variability v reaktivitě, snížení kvality života).

Jedním z cílů farmakoepidemiologie jsou návody pro individualizaci farmakoterapie. Za tím účelem došlo během osmdesátých let k utřídění faktorů - které mohou výsledný efekt farmaka ovlivnit - na vlivy interindividuální a na vlivy intraindividuální. Z nich lze vytypovat to, co už dnes dokážeme považovat za obecněji poznané a tedy platné (vlivy ontogeneze, pohlaví, patofyziologických stavů), to, co je zřejmě platné, avšak z hlediska poznání méně generalizovatelné (např. faktory genetické, dietologické, chronobiologické, barometrické) a to, co je snad možné, avšak teprve budoucnost ukáže míru plausibility a významnosti (např. uplatnění kondiciogramů). Pro blízkou výzkumnou perspektivu je v tomto ohledu zvláště aktuální otázkou komplikované pole „experimentální farmakogenetiky“ ve smyslu zmapování zdrojů a důsledků genetických variabilit v lidské populaci (zvířecí modely jsou zde - pro specifitu v enzymatické vybavenosti - málo užitečné) a na jeho základě predikování úprav farmakoterapeutických režimů. I když už dnešní znalosti dovolují kategorizovat cca třicet isoform konkrétně cytochromů P-450, jde pradávně o pouhý zlomek plejády geneticky podmíněných - biotransformačně významných enzymových variant v různých lidských populacích. Existence genového polymorfismu provokuje ideální představy, aby perspektivně každý jedinec - podobně jako má určenu krevní skupinu - měl ve své dokumentaci údaj o schopnosti biotransformovat cizorodé látky. Relativně bližším výzkumným úkolem je vytypování „neinvazivních „markerů“ jako specifických substrátů pro jednotlivé biotransformační enzymové isoformy.

Poznámka: Protože do vymezeného stránkového limitu tohoto sdělení se z „filozofujícího“ pokusu o farmakologické úvahy (předneseného jako 40-minutový referát v rámci brněnského futurologického cyklu „Léčiva na prahu XXI. století“) vešlo jen oškubané torzo, pokusí se autoři o ucelenější publikování v „Čs. farmacii“.

## Literatura

1. J.Květina: Čs.Farmacie, 23:97-99, 1974,
2. J.Květina: Farmaceuticko-farmakologický výzkum v „Úvahy o budoucnosti lékařských věd“, Avicenum, 1975,
3. M.Lázníček, K.Waisser, J.Květina: Eur.J Drug Metab. 2:451-460, 1984,
4. J.Květina, M.Lázníček, M.Květinová, K.Waisser: in „QSAR Methods in Pharmacokinetic Analysis“, S.249-256, Elsevier Sci.Publ. 1985,
5. Pharmacol. Reviews, 46: 111-229, 1994.



Scripta medica	70	Supplementum 4	16-18	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta,

Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

**Chalabala M., Rabišková M.**

## **TECHNOLOGIE LÉKOVÝCH SYSTÉMŮ, VZTAH K TERAPII A POŘEBÁM TRHU**

### **Souhrn**

Termín "drug delivery" označuje přívod léčiva do organismu požadovanou rychlostí nebo v požadovaném čase, jeho uvolnění v určitém orgánu, případně v jiném místě působení. Léky s řízeným uvolňováním léčiva se staly součástí moderní farmakoterapie a pozitivně ovlivňují patient compliance. Další požadavky kladené technologii léků např. přívod léčiva do určitého místa organismu nebo absorpce peptidů a proteinů po perorálním podání jsou předmětem současného výzkumu.

### **Summary**

The term "drug delivery" embraces any technology by which therapeutic agents are introduced into the body and made available to the target organ or site of action. Controlled release systems became a part of modern pharmacotherapy and play the positive role in patient compliance. However, the other demands on pharmaceutical technology e.g. site specific drug delivery important in the treatment of cancer, colon drug delivery or protein and peptide delivery have to be solved in future.

**Klíčová slova:** technologie léků, transportní lékové systémy, bezpečnost farmakoterapie, patient compliance

### **Úvod**

Každý výzkum potenciálního léčiva vyžaduje v určité fázi jeho transformaci do léku, který svou formou umožňuje zamýšlenou aplikaci. Z tohoto aspektu oslovuje technologii léků chemie léčiv. Řešení nejsou jednoduchá, protože z chemického a farmakologického výzkumu přicházející látka nemá často vhodné fyzikální vlastnosti pro formulaci a výrobu léku. Příkladem je velké úsilí věnované perorální aplikaci peptidů a proteinů. Na technologii léků se obrací i terapeutická praxe, která chce léky bezpečné a účinné. Cesta k větší bezpečnosti je v snížení podané látky, protože to přináší vždy redukci nežádoucích účinků. Snížení dávky je ale možné, jen když se technologickými prostředky podaří soustředit léčivo na místo očekávaného působení a snížit zátěž orgánů, tkání a buněk irelevantních. Konečně se očekává, že technologie léků najde i inovační řešení, která se kladně projeví v ekonomické bilanci nového léčiva.

Současné léky a jejich formy v progresivní podobě můžeme označit za transportní lékové systémy (drug delivery systems), protože umožňují ustálený přívod léčiva do biofáze (controlled drug delivery), přívod léčiva na místo účinku (site specific delivery) a přívod léčiva podle potřeby organismu (delivery on demand, triggered delivery).

### Ustálený přívod léčiva

Vývoj s ustáleným, řízeným, zpravidla prodlouženým uvolňováním léčiva a jeho absorpcí je zvládnutý a výroba léků tohoto typu (máme na mysli léky perorální) standardní praxí. Jde o léky typu - retard, o retardety.

Původní snaha o ustálený přívod léčiva kinetikou nultého řádu, o vyrovnanou plazmatickou hladinu bez nežádoucích kolísání (píků), o minimalizování nežádoucích účinků se v současnosti spojuje s tendencí zjednodušovat dávkovací režim a tak zlepšovat patient compliance.

Vykrystalovaly dva základní typy léků tohoto typu, v makro- i mikropodobě, a to typ zásobníkový a typ matricový. Na řízení uvolňování léčiva se využívají fyzikální procesy: rozpouštění, permeace, difuze, osmóza.

Ustálený přívod léčiva umožňují i tzv. terapeutické systémy, léky které necharakterizuje obsažená dávka, ale rychlost jakou léčivo do organismu přivádějí. Nejzajímavějšími jsou systémy transdermální (TTS - transdermal therapeutic systems), které dosáhly mimořádný úspěch při aplikaci nitroglycerinu a které přispěly k objevení tolerance na toto léčivo. I když počet léčiv procházejících kožní bariérou není tak velký, jak se původně myslelo, transdermální aplikace se stále úspěšně využívá např. při substituci hormonů v menopauze v souvislosti s léčením osteoporózy.

### Přívod léčiva na místo účinku

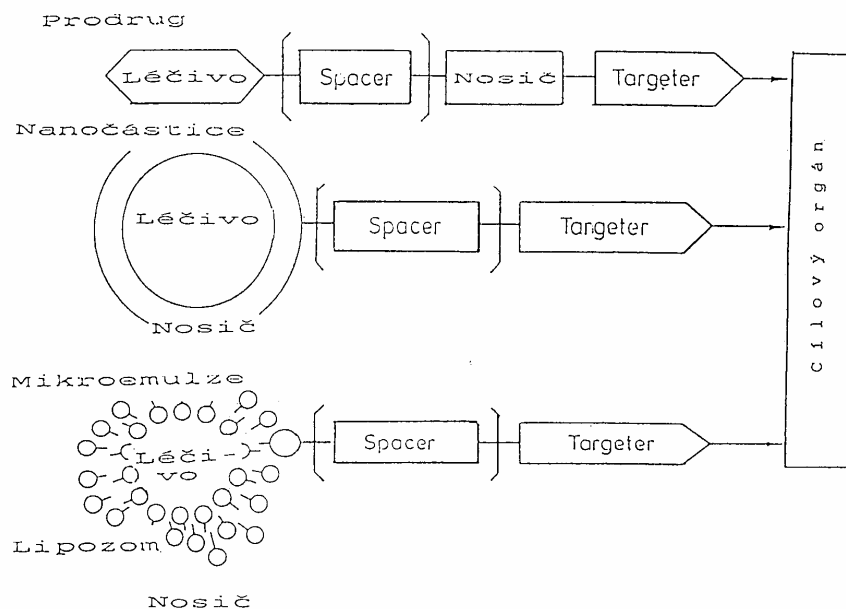
Při úvahách o přívodu léčiva na místo účinku nejde o topickou aplikaci, ale o aplikaci parenterální a o perorální podání do obtížně přístupné části GIT, tlustého střeva.

Parenterální cesta usměrnění léčiva, cílení léčiva (targeting) je nejsledovanější z hlediska jeho přívodu do nádorů. Umožnila by snížení zátěže cytostatiky a dosažení jejich zvýšené koncentrace v nádoru s pravděpodobností většího efektu.

Jako transportní jednotka se navrhly z fosfolipidů složené lipozomy. Jejich struktura umožňuje zabudování molekul léčiv rozpustných ve vodě i v lipidech. Usměrnění k cílovým buňkám se posílí spojením lipozomů s monoklonálními protilátkami - imunolipozomy. Dokonalé cílení léčiv zabudovaných do lipozomů se nedaří, problémy jsou se stabilitou vzniklých systémů. To omezuje jejich reálné využití v terapii.

Realizace orgánově specifických transportních systémů na základě biodegradovatelných polymerů vzhledem k jejich složitosti (obr.) je problémem budoucnosti.

## Orgánově specifický transportní systém



Pro přívod léčiva do tlustého střeva (např. morbus Crohn, ale i antiastmatika) se řeší na základě difference v hustotě mikrobiální populace v tenkém a tlustém střevě.

### Přívod léčiva podle potřeby organismu

Časovou závislost potřeby léčiva objevila chronofarmakokinetika. Na její zjištění odpovídá technologie léků chronobiogalenickými přístupy.

Optimálním přívodem léčiva do organismu není vždy přívod ustálený, organismus nevyžaduje vždy rovnoměrnou hladinu, ale naopak hladinu nemonotónního průběhu. Platí to např. pro antihypertenziva nebo antidiabetika.

V stadiu vývoje jsou léky schopné uvolnit léčivo v předem programovaném čase. Představují přechod od standardních léčiv k léčebným pomůckám, protože nechybějí návrhy využívající k řízení liberace miniaturizovanou výpočetní techniku. Tak je možné kombinovat místně i časově specifický nástup účelně transportovaného léčiva.

### Peptidy a proteiny

Léčiva ze skupiny peptidů a proteinů patří z hlediska účinnosti k nejzajímavějším, z hlediska perorální aplikace však mezi těžce zvládnutelná. Perorální inzulín je jedním z intenzivně řešených problémů.

### **Závěr**

Technologie léků dokazuje vývojem léků vyšších generací svou schopnost úspěšně odpovídat na výzvy chemie léků, terapeutické praxe i potřebě ekonomicky využít etické léčivo.

Literatura u autora

Scripta medica	70	Supplementum 4	19-20	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Interní klinika FNŠP Ostrava

**Štípal R., Kuba J., Černý J., Pleva L., Káňa A., Martínek A.**

## **SROVNÁNÍ DOBUTAMINOVÉ ECHOKARDIOGRAFIE A SCINTIGRAFIE MYOKARDU U NEMOCNÝCH SE SUSPEKTNÍ NEBO PROKÁZANOU ISCHEMICKOU CHOROUBOU SRDEČNÍ PŘI SIMULTÁNNÍ ZÁTĚŽI**

### **Souhrn**

Při srovnání DE a SPECT v souboru 49 nemocných se suspektní nebo prokázanou ICCHS bylo dosaženo shody v 92%. Při korelaci se SKG se nálezy DE shodovaly v 88% a SPECT v 81%. DE a SPECT poskytují informace doplňující SKG v diagnostice a taktice léčby ICCHS.

Klíčová slova: dobutaminová echokardiografie, SPECT, ICCHS

### **Summary**

Comparing DE and SPECT in group of 49 patients with suspected or proved IHD agreement was in 92%. By correlation with CAG agreement was 88% by DE and 81% by SPECT. DE and SPECT give additional information to SCG in diagnosis and treatment strategy of IHD.

Key words: dobutamine echocardiography, SPECT, IHD

### **Úvod**

Echokardiografie a tomografická scintigrafie myokardu (SPECT) představují moderní neinvazivní možnosti hodnocení nemocných se suspektní nebo prokázanou ischemickou chorobou srdeční (ICCHS). Cílem práce bylo srovnání obou těchto metod při jedné zátěži dobutaminem.

### **Soubor nemocných**

Metodou dobutaminové echokardiografie (DE) a SPECT bylo vyšetřeno 49 nemocných se suspektní nebo prokázanou ICCHS, 37 mužů a 12 žen, věku  $54,3 \pm 8,3$  (37-74) let, 24 po infarktu myokardu (IM+), 25 bez infarktu (IM-). Podskupina 32 osob, 25 mužů a 7 žen, 18 IM+, 14 IM- byla navíc vyšetřena selektivní koronarografií (SKG) v období do 1 měsíce od neinvazivního vyšetření.

### **Metodika**

DE: Standardní roviny byly zaznamenány v klidu a při zátěži infuzí dobutaminu ve 3 minuty trvajících stupních v dávkách 5,10,15,20,30 a 40 ug/kg/min. Při nedostatečné tepové odpovědi byl na vrcholu zátěže podán 0,5-1mg atropinu. Byla hodnocena motilita jednotlivých oblastí odpovídajících povodí hlavních koronárních tepen. Podle obvyklých kritérií byla hodnocena ischemie u pacientů IM-, u IM+ viabilita, ischemie v oblasti IM, mimo oblast IM a jizva.

**SPECT:** V klidu na lačno bylo brzy ráno i.v. podáno 80 MBq <sup>201</sup>Tl a za 30-60 minut proveden SPECT. Na vrcholu zátěže dobutaminem bylo podáno i.v. 600-800 MBq Tetrafosminu značeného <sup>99m</sup>Tc. Zátěž poté pokračovala alespoň 1 minutu. Za 60 minut byl proveden SPECT. Byla hodnocena distribuce radiofarmaka v oblastech odpovídajících povodí hlavních koronárních tepen. Podle obvyklých kritérií byla hodnocena ischemie, viabilita a jizva.

**SKG:** Jako pozitivní byl hodnocen nález stenózy nad 50% na hlavních koronárních tepnách.

## Výsledky

Při srovnání výsledků DE a SPECT se nálezy shodovaly úplně u 35 ze 49 (72%) nebo částečně u 10 ze 49 (20%), celkem tedy u 92% vyšetřených. Mezi SKG a DE byl souhlas úplný u 23 z 32 (72%) nebo částečný u 5 z 32 (16%), celkem tedy v 88% případů. Při srovnání SKG a SPECT se nálezy shodovaly úplně u 22 z 32 (69%) nebo částečně u 4 z 32 (12%), celkem tedy v 81% případů.

Při hodnocení 7 částečně nesouhlasných nálezů bylo při stanovení SKG jako referenční metody DE přesnější 3x, ve 2 případech byl přesnější SPECT a 2x byly výsledky obou metod obdobné. Zcela nesouhlasných nálezů bylo celkem 6, z toho u 2 nemocných s jizvou po IM byl koronarogram infarktové tepny normální (patrně při pozdní rekanalizaci, ve skutečnosti se o nesouhlas nejedná). Ve 2 případech stenózy RIA a RIA s RCX byl nález DE i SPECT negativní. Ve 2 případech (postižení ACD a třítepenná nemoc) byl DE nález pozitivní při negativním SPECT.

## Diskuse

SKG je považována za metodu mající zásadní význam pro diagnózu a taktiku léčby u nemocných se suspektní nebo prokázanou ICHS, i když normální koronarogram diagnózu ICHS nevyklučuje (1). Neinvasivní metody DE a SPECT mají vysokou senzitivitu i specificitu v diagnostice ischemie myokardu (2). Kromě diagnostiky mají obě neinvasivní metody význam v určení prognózy osob se známou nebo suspektní ICHS (3,4).

Při srovnání DE a SPECT různými typy zátěže bylo dosaženo obdobných výsledků (2). Cílem naší práce bylo zjistit, zda se shoda výsledků obou metod může zvýšit když vyšetřujeme pacienta simultánně při jedné zátěži dobutaminem. Naše výsledky se shodovaly u více než 90% vyšetřených. Při srovnání se SKG se výsledky obou metod shodovaly u více než 80% případů. Příčinou falešně negativních výsledků u obou metod může být kromě technických problémů a malé zkušenosti vyšetřujícího rovněž nedostatečná zátěž a dostatečně vytvořený kolaterální oběh, u SPECT je možný falešně negativní nález i u malé části nemocných s chorobou tří tepen (při homogenní distribuci izotopu).

Každá ze srovnávaných metod poskytuje poněkud jinou informaci o prokrvení myokardu, proto nikdy nelze dosáhnout úplné shody. DE a SPECT doplňují SKG v diagnostice a taktice léčby ICHS, tyto informace je samozřejmě nutno hodnotit v souvislosti s klinickým stavem nemocného.

## Literatura

1. Erbel R et al. Value of intracoronary ultrasound and Doppler in the differentiation of angiographically normal coronary arteries: a prospective study in patients with angina pectoris. *Eur Heart J* 1996;17:880-889
2. Hoffmann R et al. Comparative evaluation of bicycle and dobutamine echocardiography with perfusion scintigraphy and bicycle electrocardiogram for identification of coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1993;72:555-559
3. Afridi I et al. Dobutamine stress echocardiography: Sensitivity, specificity, and predictive value for future cardiac events. *Am Heart J* 1994;127:1510-1515

4. Brown KA, Rowen M. Prognostic value of a normal exercise myocardial perfusion imaging study in patients with angiographically significant coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1993;71,865-868

Scripta medica	70	Supplementum 4	21-24	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové

**Kotlářová J., Hartlová S., Klemerová V., Jirková O.**

## **Názory praktických lékařů na individuálně připravované léky**

### **Souhrn**

Naše studie zjišťuje pomocí dotazníků názory 142 praktických lékařů na individuální přípravu léků (IPL) v lékárnách. Výsledky byly porovnány se studií Andrýsové (1980). Naprostá většina praktických lékařů se domnívá, že magistraliter příprava léků má i nadále v terapii pacientů své nezastupitelné místo.

Klíčová slova: lékárna - praktický lékař - individuální příprava léků

### **Summary**

Our study is a type of sociologic exploration. It maps the views of the 142 practical physicians on the individual extemporaneous compounding of drugs in the pharmacies of the Czech Republic. Statements were acquired with the help of a questionnaire (types of the questions, e.g., what do you think about prescription of extemporaneous prepared drugs, about teaching and further education of prescribing of drugs). Answers are confronted with the study by Andrýsová (1980). 93 % of practical physicians call for this activity in pharmacies at the present moment.

Key words: pharmacy - practical physician - individual extemporaneous compounding of drugs

Individuální příprava léků je nedílnou součástí činnosti našich lékáren. Ale zůstane tomu tak i do budoucna? Uskutečnili jsme průzkum, v němž jsme zjišťovali názory přímých aktérů tohoto procesu, lékařů a lékárníků, na individuální přípravu léků a otázky s ní spojené. Naše sdělení mapuje názory praktických lékařů, neboť tito byli v našem souboru nejpočetněji zastoupeni.

### **Metodika práce a charakteristika souboru**

Údaje jsme získali formou sociologického průzkumu pomocí dotazníků v létě roku 1994. Vycházeli jsme z dotazníku Andrýsové (1980). Dotazníky byly anonymní, obsahovaly 15 otázek. U některých z nich mohlo být uvedeno více možností. Známé bylo pohlaví respondenta, jeho odborná specializace, absolvovaná fakulta a rok promoce.

Celkově odpovědělo 413 lékařů, z toho 254 žen (61,5 %) a 159 mužů (38,5 %). Praktických lékařů bylo celkem 142, tj. 34,4 % všech lékařů; 86 žen (20,8 %) a 56 mužů (13,6 %). Pražskou lékařskou fakultu absolvovalo 69 praktických lékařů, Hradec Králové - 21, Olomouc - 21, Brno - 18, ostatní - 13.

## Výsledky a diskuze

S nutností předepisovat individuálně připravované léky i v současné době souhlasí 132 praktických lékařů (93 %), což je převážná většina. Necelé 3 % lékařů se vyjádřily záporně a 4 % nehodnotily. V průzkumu Andrýsové ze 179 lékařů téměř 89 % považovalo za nutné zachovat IPL recepturu.

Tabulka 1: Lékové formy předepisované lékaři

Léková forma	Počet odpovědí	Procenta
Roztoky k vnitřnímu užití	27	19,0
Roztoky k vnějšímu použití	69	48,6
Masti	116	81,7
Prášky	36	25,4
Čípky, vag. globule	29	20,4
Oční kapky	32	22,5
Nosní a ušní kapky	52	36,6
Čaje	4	2,8
Jiné	4	2,8

Tabulka 1 uvádí, které lékové formy lékaři nejčastěji předepisují. V čele stojí masti, uvedlo je téměř 82 % lékařů. Dříve (1980) to byly roztoky k vnějšímu použití. U magistraliter přípravků 53,5 % lékařů mění individuálně dávky a množství a 46,5 % ne.

Důvody k předepisování IPL lékaři ukazuje tabulka 2.

Tabulka 2: Důvody předepisování IPL lékaři

Důvody	Počet odpovědí	Procenta
Nedostatek vhodného HVLP	73	51,4
Psychologické	71	50,0
Možnost individuálního dávkování	65	45,8
Dobré zkušenosti s vlastními předpisy	90	63,4
Lepší znalost složení léku	22	15,5
Ekonomické	21	14,8
Jiné	3	2,1

Nejvíce lékaři oceňují své dobré zkušenosti s vlastními předpisy (63,4 %), dále uvedli nutnost náhrady nedostatku vhodného HVLP (51,4 %) a psychologické důvody (50,0 %).

Se sortimentem HVLP co do druhů a aplikačních forem je spokojeno 78,2 % lékařů, 3,5 % ne a 18,3 % nehodnotí. Spokojenost se sortimentem HVLP se výrazně zvýšila, dříve bylo 53 % lékařů spokojeno a 31 % ne.



Výuka magistraliter receptury na lékařské fakultě byla 12 % praktických lékařů považována za důkladnou, 57 % za průměrnou a dokonce 31 % za nedostatečnou. Dříve bylo s výukou plně spokojeno 25 % lékařů, nespokojeno 21 % a jako průměrnou ji hodnotilo 53 %. Což značí, že výuka receptury IPL na lékařských fakultách ustupuje do pozadí.

Další doplňování znalostí lékařů v oblasti IPL bylo u 51 % lékařů z vlastního zájmu, dále vynucené okolnostmi (38 %), pouze příležitostné (25 %). Dříve převládal u lékařů vlastní zájem (60 %), donuceno okolnostmi bylo 18 % lékařů.

Jako zdroje nových poznatků v magistraliter receptuře uvedlo 55 % lékařů konzultace s lékárníkem a 47 % literaturu. Shodně okolo 20 % lékařů využívá semináře a 20 % jiné zdroje (např. recepty a rady starších kolegů, konzultace s odborníky).

Léky připravované v lékárně považují lékaři většinou za stejně kvalitní jako HVLP, bývají však méně stabilní a měly by mít lepší adjustaci.

S rozšířením sortimentu léčivých a pomocných látek souhlasí 41 % lékařů. Naproti tomu 11 % se zdá zbytečné. 36 % nedokáže posoudit a 12 % nehodnotí.

Názory na určité sjednocení magistraliter receptury či vytvoření receptářů jsou u 84 % lékařů kladné, tj. 73 % je považuje za vhodné a 11 % za nutné. 11 % lékařů myslí, že je sjednocení zbytečné a 5 % se domnívá, že je neproveditelné.

67 % praktických lékařů považuje konzultaci s lékárníkem u individuálně připravovaných léků za potřebnou jen v některých případech (dříve 41 %) a 28 % za výhodnou ve většině případů (dříve 52,0 %). Zbytek konzultaci nepotřebuje nebo nehodnotí.

## **Závěr**

Z průzkumu zaměřeného na individuální přípravu léků v lékárnách provedeného mezi praktickými lékaři vyplývá, že tato činnost je lékaři pozitivně vnímána a je jimi i nadále vyžadována. Proto by měla i do budoucna zůstat v lékárnách zachována.

## **Literatura**

1. Andrýsová I.: Studie farmaceutických aspektů obsahu a organizace výrobní činnosti v lékárenství. (Kandidátská dizertační práce.) Farm. fakulta UK, Hradec Králové, 1980
2. Jirková O.: Problémy lékárenské přípravy léků III. (Diplomová práce.) Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové, 1996
3. Kotlářová J., Jirková O., Hartlová S.: Názory lékařů a lékárníků na individuální přípravu léků v lékárnách. Scripta medica 68, Suppl. 3, Brno, 1996, 333 - 338

Scripta medica	70	Supplementum 4	25-27	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Katedra farmakologie a toxikologie Farmaceutické fakulty UK,

Hradec Králové, ČR.

**Vanžura, M., Bečková, I., Višňovský, P.**

## **Roční spotřeba léků obsahujících látky s návykovým potenciálem v podmínkách malého města**

*One-year consumption of drugs with potential for abuse in a small czech town*

### **Souhrn**

Spotřeba léků obsahujících kodein nebo efedrin byla sledována za rok 1993 v lékárně v Novém Bydžově, městě s regionem asi 8 000 obyvatel (včetně malé nemocnice s poliklinikou). Celkové vydané množství za jednotlivé měsíce se u kodeinu pohybovalo mezi 75–273 g, u efedrinu mezi 11–193 g. Podíl ze všech vydaných léčiv nepřesáhl v případě kodeinu či efedrinu 2,25–5,10 % měsíčně. Z jednotlivých preparátů obsahujících kodein byl nejvíc žádán ALNAGON (Slovakofarma), v případě efedrinu SOLUTAN (Galena) a IPECARIN (Galena, Slovakofarma).

Při sledování spotřeby opiátových analgetik za roky 1991–1994 lze pozorovat pokles spotřeby morfinu a petidinu a nárůst novějších preparátů. Petidin však zůstává nejčastěji používaným narkotickým analgetikem.

### **Summary**

Consumption of drugs containing codeine or ephedrine was followed according to the pharmacy registers in Nový Bydžov, East Bohemia, a town of about 8000 inhabitants. The whole consumption, involving that of the small hospital located in the town, was analyzed for the year 1993. Total amounts calculated per each month of the year fluctuated between 75–273 gm for codeine, and 11–193 gm for ephedrine. From the whole number of preparations sold in 1993, the portions of drugs followed were only 2.25–5.10 % per a month. Among preparations containing codeine, ALNAGON (Slovakofarma), a combination of acetylsalicylic acid, caffeine, phenobarbitone, and codeine was preferred among the patients. Ephedrine was mostly used in antitussive mixtures: SOLUTAN (Galena) and IPECARIN (Galena, Slovakofarma).

Comparing the consumption of some commonly used opioid analgesics in 1991–1994, one can see a decrease in the use of morphine and pethidine and an increase in that of the newer narcotic analgesics. Nevertheless, pethidine remained the most frequently used opioide in the region followed.

### **Úvod**

Statistiky o spotřebě léků obsahujících látky s návykovým potenciálem se vedou celostátně i pro regiony některých velkých měst. Málo pozornosti bylo však zatím věnováno menším městům, kde situace může být odlišná od velkoměstské s dlouhodobě existujícími toxikomanickými subkulturami. Autoři proto zpracovali na základě údajů o spotřebě léčiv v podmínkách malého

města zásobovaného z jediné lékárny celoroční spotřebu léků domácí provenience obsahujících kodein a efedrin. Dále sledovali též vývoj spotřeby analgetik-anodyn v průběhu čtyř let po roce 1990.

### **Materiál a metody**

Byly zpracovány recepty a dodací listy zahrnující všechny léky vydané lékárnou v Novém Bydžově v roce 1993. Pro srovnání spotřeby opiátů byly zpracovány materiály i z let 1991 až 1994. Lékárna byla v té době vlastně jediným dodavatelem pro celou oblast Novobydžovska s počtem obyvatel asi 8 000; dodávala léky i pro v městě sídlící nemocnici s poliklinikou. Jelikož byly zpracovány dodací listy i recepty, pokrývá studie celé spektrum HVLP vydaných na lékařský předpis i volně prodaných.

### **Výsledky**

Graf č.1 znázorňuje podíl množství léků obsahujících kodein a efedrin na celkovém množství léků vydaných sledovanou lékárnou v roce 1993. Vidíme, že podíl není vysoký; pohybuje se mezi 2,25–5,10 %.

Celková množství kodeinu a efedrinu vydaná v HVLP v jednotlivých měsících sledovaného roku zachycuje graf č. 2. Většinou převažují preparáty s kodeinem. Vázanost obou skupin na sebe není patrná, i když by to hypoteticky bylo možné předpokládat (souvislost látek jako léčiv při onemocněních horních dýchacích cest).

Tab. č. 1 zachycuje pořadí nejčastěji předepisovaných HVLP ve sledovaném roce. Pro zjednodušení nejsou už uvedeny přípravky, jejichž celkové předepisované množství bylo méně než o řád oproti nejčastějšímu preparátu ALNAGON.

Graf č. 3 znázorňuje vývoj spotřeby opioidových analgetik ve sledovaném regionu v letech 1991 - 1994. Vidíme relativní pokles spotřeby klasických morfinu a petidinu a vzestup novějších (fentanyl, piritramid); petidin si však uchovával jako injekční opioid prioritu.

### **Diskuse**

Novobydžovsko patrně nepatří mezi problémové oblasti z hlediska abuzu „drog všedního dne“ už z toho důvodu, že leží mimo hustě zalidněné aglomerace (2) . Jestliže počítáme s regionem asi 8 000 obyvatel, roční spotřeba sledovaných látek v přepočtu na 1 obyvatele činí asi 0,25 g pro kodein, 0,14 g pro efedrin. Podíl na celkové spotřebě kolísá mezi 2,25 až 3,5 % s výjimkou lednových 5,1 % (obr. 1). Léky obsahující efedrin (obr. 2) byly odebírány více v jarním a podzimním období, kdy je více chřipkových onemocnění a nachlazení. Spotřeba kodeinu nejevila výraznější výkyvy od pásma přibližně mezi 100–250 g měsíčně. To zřejmě souvisí s trvalejší oblibou nejvíce odebíraných preparátů ALNAGON, SPASMOVERALGIN A KORYLAN (tab. 1), které patří všechny do skupiny analgetických směsí. Až po nich následovaly expektorační směsi, které byly odebírány v množstvích řádově nižších a v pestřejším spektru, co zřejmě odpovídá širší paletě současné nabídky v této skupině. Ani otázka obsahu efedrinu nebyla rozhodující - SOLUTAN s vysokým obsahem v balení nebyl výrazněji preferován.

Zajímavý je vývoj spotřeby injekčních anodyn (obr. 3). V průběhu čtyř let spotřeba „klasických“ opiátů klesá, spotřeba modernějších (fentanyl, priritramid) jeví stoupající trend. O důvodech se můžeme jenom dohadovat, zvláště když celková spotřeba je nízká a petidin si udržuje stále prioritu. Celostátně je situace obrácená - ve prospěch morfinu (3).

### **Závěr**

Jednoroční přehled spotřeby léků s návykovým potenciálem ukazuje na už známá fakta (oblibu Alnagonu a dalších kodeinových anagletických směsí), zároveň však také na celkově

nevysokou spotřebu těchto skupin léků. Vývoj spotřeby anodyn pokračuje trendem, který lze uvítat, protože návykovost některých novějších opiátů se zdá být nižší (1). Na druhé straně prioritní postavení petidinu přidává skeptikům další důkaz o dosud přetrvávající tendenci lékařské veřejnosti držet se spíše osvědčených a dobře vyzkoušených starších léčiv.

## **Literatura**

1. Katzung, B. E.: Základní a klinická farmakologie. Český překlad z 5. vyd. H a H, Jinočany, s.1072.
2. Netík, K., Budka, I., Neumann, J., Válková, H.: K osobnosti kriminálního toxikomana. Praha, Psychiatrické centrum 1990, s. 115.
3. Srnková, J., Havelková, B.: Využitie morfinu v liečbe bolestivých stavov. Slovakofarma Rev. 4, 1994, s. 132 - 133.

Scripta medica	70	Supplementum 4	28-31	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Psychiatrická klinika Fakultní nemocnice Brno-Bohunice

**Švestka J.**

## **ALGORITMY LÉČBY AKUTNÍ DEPRESÍVNÍ PORUCHY**

### **Souhrn**

Popsané algoritmy ukazují nejúčinnější terapeutické postupy pro většinu depresivních nemocných, avšak terapeutická zkušenost lékaře u konkrétního nemocného je nepominutelná. Léčba akutních depresí byla rozdělena do terapie unipolárních a bipolárních forem; obdobné terapeutické postupy jako u unipolární deprese volíme u atypické deprese a dystymie, obdobné algoritmy jako u bipolární deprese platí i u smíšené fáze, rychlých cyklérů, cyklotymie a periodické krátké deprese.

Klíčová slova: akutní depresivní epizoda - algoritmy léčby

### **Summary**

Through described algorithm the most efficacious treatment approaches for the majority of depressive patients are presented, but the doctor's therapeutic experience is unomitable. The treatment of acute depression was divided into the treatment of unipolar and bipolar forms; the similar therapeutic approaches as in unipolar depression are chosen in atypical depression and dysthymia. Similar algorithms as in bipolar forms are valid also in the treatment of mixed phase, rapid cyclers, cyclothymia and brief recurrent depression.

Key words: acute depressive episode- treatment algorithm

### **Úvod**

Algoritmy léčby akutní depresivní poruchy se liší vzájemně u unipolárních a bipolárních forem, neboť antidepresíva, zvl. tricyklická a heterocyklická, mohou vést až u 30 % léčených k přesmyku do hypo- až manie a tím k navození rychlého cyklování příp. farmakorezistence (APA 1993, 1994, Goodwin et al. 1990).

#### Algoritmy léčby unipolární deprese (obr. č. 1):

1. linie: Všechna antidepresíva, tj. TCA/HCA, SSRI/SNRI, IMAO/RIMA jsou stejně účinnými (Janicak et al. 1993). Nejlépe tolerovanými jsou SSRI, SNRI a nortriptylin a desipramin (Depression guideline panel 1993), zatímco nejvíce interakcí s jinými léky bylo zaznamenáno při použití IMAO a poněkud méně RIMA. Přihlédnout bychom měli i k diagnóze podskupiny

unipolární depresivní poruchy (psychotická deprese, atypická deprese, dystymie) a psychické či somatické komorbiditě. 2. linie: Záměna (substituce): Pokud zaměníme TCA za TCA, dosáhneme jen malé terapeutické úspěšnosti (20 - 30 % respondérů), zatímco záměna za HCA nebo SSRI přinese kýžený efekt až u 50 % léčených a záměna za IMAO až u 60 % pacientů (Joffe et al. 1996). Odlišná situace existuje u nonrespondérů k SSRI, kdy záměna buď za TCA/HCA nebo za jiný preparát ze skupiny SSRI vede ke stejnému efektu, tj. 50 - 75 % zlepšených (Joffe et al. 1996).

Obr. č. 1

<b>ALGORITMY LÉČBY AKUTNÍ UNIPOLÁRNÍ DEPRESE</b>	
1. linie:*	TCA/HCA - SSRI/SNRI - IMAO/RIMA
2. linie:	záměna - potenciace (T3, lithium, neuroleptika, pindolol) - kombinace
3. linie:	antikonvulzíva, benzodiazepiny, dopaminoví agonisté nonfarmakologické postupy: EKT, spánková deprivace, léčba jasným světlem

\* u psychotické deprese a vysokého rizika suicidia neuroleptika příp. v kombinaci s antidepresívou a EKT

Potenciace (augmentace): Potenciace účinku antidepresív je prokázána u levotyroxinu a lithia, neuroleptik a pindololu (poslední potencuje efektivnost SSSR, clomipraminu a moclobemidu).

Kombinace: Kombinace TCA/HCA s jinými preparáty téže skupiny je málo účinná a měla by své opodstatnění jen při kombinování serotonergního s noradrenergickým účinkem. Při společném podávání TCA a SSRI (zvl. paroxetinu a fluoxetinu) dochází až k toxickému zvýšení sérových koncentrací TCA (inhibice P450 2D6) stejně jako při kombinaci fluvoxaminu s clozapinem (P450 1A2). Při kombinaci TCA, HCA, SSRI a SNRI s IMAO/RIMA dochází k závažné lékové interakci (Ciraulo et al. 1995). U farmakorezistentních pacientů se přesto používá kombinace TCA s IMAO/RIMA, avšak jen za přesně definovaných podmínek: k léčbě TCA přidáme IMAO/RIMA (nikoliv naopak), obě antidepresíva jsou podávána v nižších dávkách a tuto kombinaci použijeme jen u hospitalizovaných nemocných.

3. linie: Mezi alternativní metody patří podávání dopaminových agonistů jako jsou bromokriptin, lisurid, pergolid, z antikonvulzí carbamazepinu a valproátu či vysokoafinitních benzodiazepinů jako jsou alprazolam nebo clonazepam. Z nefarmakologických metod je nejúspěšnější elektrokonvulzivní terapie. V úvahu také připadá spánková deprivace příp. léčba jasným světlem o minim. intenzitě 2500 Luxů u sezónní deprese (Goodwin et al. 1990).

#### Algoritmy léčby bipolární deprese (obr. č. 2):

1. linie: Všechna tymoprofylaktika se vyznačují i antidepresivním působením (Janicak et al. 1993). Jestliže pacienti nereagují dostatečně na tymoprofylaktika anebo byli-li jimi dlouhodobě léčeni při dostatečných sérových koncentracích, přistoupíme ihned k podávání SSRI, která jsou zatížena nejnižším rizikem přesmyku do mánie (Suppes et al. 1995). U rychlých cyklérů se musíme varovat podávání SSRI a nejúčinnějšími jsou valproát, atypická neuroleptika (clozapin) příp. kalciové blokátory. Smíšenou fázi nikdy neléčíme antidepresívou, ale jen tymoprofylaktiky a/nebo neuroleptiky stejně jako nemocné s periodickou krátkou depresí. K léčbě psychotické deprese jsou indikována neuroleptika (příp. v kombinaci s SSRI) a EKT. K aplikaci EKT rovněž přistoupíme při vysokém riziku suicidia.

2. linie: Záměna (substituce): Pověštině zaměňujeme tymoprofylaktika za SSRI, avšak můžeme rovněž zaměnit tymoprofylaktika příp. SSRI mezi sebou. Potenciace (augmentace): Levotyroxin nesporně potencuje účinek lithia u hypo- i eutyroidních pacientů, EKT a dle Joffeho et al. (1992) rovněž SSRI. V případě přidání lithia k SSRI (fluoxetinu, fluvoxaminu) se dostaví léčebný účinek

až u 50% nemocných. Neuroleptika jsou preparáty první volby v léčbě psychotických bipolárních depresí, u smíšených fází či při periodických krátkých depresích. Účinek SSRI (s výjimkou sertralinu) je možno potencovat pindololem Kombinace: Kombinace dvou tymoprofylaktik (Li + CBZ, Li + valproát) byla shledána u nonrespondérů účinnější než podávání každého z těchto léků samostatně. Kombinace CBZ a valproátu s SSRI může vést k inhibici metabolismu obou antikonvulziv. Ostatní všechna tato antidepresiva je možno kombinovat s lithiem a s výjimkou IMAO/RIMA rovněž s carbamazepinem a valproátem (Ciraulo et al. 1995).

3. linie: Z alternativních psychofarmakologických postupů je možno zvažovat použití dopaminových agonistů či vysokoafinitních benzodiazepinů (alprazolam, clonazepam). Elektrokonvulzivní terapie je stejně účinnou u bipolárních a unipolárních depresí, a to u cca 80 % léčených. Optimalizace EKT spočívá v aplikaci alespoň 12 zákroků, z čehož minimálně 6 musí být bilaterálních a v kontrole, že neproběhly jen abortivní konvulze (Montgomery et al. 1996). Spánková deprivace je účinná u cca 50 - 60 % depresivních nemocných, ale její efektivnost je přechodná a může vést k přesmyku do mánie; rovněž potencuje účinek antidepresiv u farmakorezistentních nemocných (Thase et al. 1995). U sezónní deprese je účinná léčba jasným světlem o intenzitě minimálně 2500 Luxů, a to u 50 - 60 % léčených; nástup antidepresivního efektu je patrný již po 4 - 7 dnech léčby.

Obr. č. 2

<b>ALGORITMY LÉČBY AKUTNÍ BIPOLÁRNÍ DEPRESE</b>	
1. linie:*	tymoprofylaktika (lithium, carbamazepin, valproát - + SSRI**
2. linie:	záměna - potenciace (T3, lithium, pindolol, atypická neuroleptika) - kombinace
3. linie:	dopaminoví agonisté, vysokoafinitní benzodiazepiny nonfarmakologické postupy: EKT, léčba jasným světlem

\* u psychotické deprese a vysokého rizika suicidia neuroleptika příp. v kombinaci s SSRI a EKT

\*\* při předchozí neúspěšné léčbě tymoprofylaktiky s dostatečnými sérovými koncentracemi ihned použít SSRI

## Literatura

1. APA: Practice guidelines for major depressive disorder in adults, Am. J. Psychiatry 1993, 150, Suppl., 1-26.
2. APA: Practice guidelines for the treatment of patients with bipolar disorder, Am. J. Psychiatry 1994, 151, Suppl., 1-36.
3. Ciraulo D.A., Shader R.J., Greenblatt D.J. et al.: Drug interactions in psychiatry, Williams and Wilkins, Baltimore 1995.
4. Clinical practice guideline No 5: Depression in primary care, Depression guideline panel, AHCPR Publ. No 93-O551, Rockville, 1993.
5. Goodwin F.K., Jamison K.R.: Manic-depressive illness, Oxford University Press, Oxford 1990.
6. Janicak P.G., Davis J.M., Preskorn S.H., Ayd F.J.: Principles and practice of psychopharmacotherapy, Williams and Wilkins, Baltimore, 1993.
7. Joffe R.T., Levitt A.J., Sokolov S.T.H.: Augmentation strategies: Focus on anxiolytics, J. Clin. Psychiatry 1996, 57, Suppl. 7, 25-31.
8. Montgomery S.A., Cassano G.B.: Management of bipolar disorder, M. Dunitz, London 1996.
9. Suppes T. et al.: Algorithms for the treatment of bipolar, manic-depressive illness, Psychopharm. Bull. 1995, 31, 469-474.
10. Thase M.E., Rush A.J., Kasper S., Nemeroff C.B.: Tricyclics and newer antidepressant

medications: Treatment options for treatment-resistant depressions, *Depression* 1994/95, 2, 152-168.



Scripta medica	70	Supplementum 4	32-34	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

**Češková E.**

## **ALGORITHM FOR THE TREATMENT OF MANIA**

### **ALGORYTMY LÉČBY MÁNIE**

#### **Souhrn**

Autor prezentuje algoritmus léčby manické poruchy. Za základ je v současné době považována specifická léčba lithiem a antikonvulzívy a léčba nespecifická tj. typická neuroleptika, vysoceafinitní benzodiazepiny elektrokonvulze. Algoritmus je rozložen do 3 linií. Na každé linie je několik zastupitelných alternativ, jejíž volba závisí od pečlivé diagnostiky a zkušeností.

#### **Summary**

The author presents algorithm for the treatment of manic disorder. Nowadays the specific treatment with lithium and anticonvulsants and the nonspecific treatment with typical neuroleptics, high affinity benzodiazepines and electroconvulsive therapy are considered to be a basic approach. The algorithm is divided in 3 lines. In every line there are some alternatives. The individual choice depends on careful diagnostic consideration and experience.

#### **Úvod**

Za základ terapie manické poruchy se v současné době považuje léčba specifická, tj. lithium a antikonvulzíva a léčba nespecifická, tj. vysoce afinitní benzodiazepiny (BZ), klasická neuroleptika (N) a elektrokonvulzivní léčba (EKT). Algoritmus léčby sestává z několika po sobě jdoucích linií. **První linie** je prezentována monoterapií specifickými antimaniky. Jejich účinnost byla prokázána ve dvojitě slepých studiích proti placebo. Individuální volba je dána především detailní diagnostikou.

**LITHIUM (LI)** zůstává lékem první volby u klasické mánie různé intenzity. Účinnost byla prokázána ve 4 studiích kontrolovaných placebem. Doporučená hladina je nad 0,8 mE/l (Goodwin et Jamison, 1990). **Pozitivní prediktory účinku** jsou 1. klasická mánie do střední intenzity, 2. pozitivní rodinná anamnéza s dobrou reakcí na lithium, 3. menší počet předchozích episod a 4. mánie s následnou depresí.

**KARBAMAZEPIN (KAR)** je nejčastěji užívaným antikonvulzivem u mánie. Účinnost byla prokázána ve 2 dvojitě slepých studiích vůči placebo (Ballenger et Post 1980, Emrich et al. 1985). Srovnatelnost s LI vyplynula ze 4 dvojitě slepých studií. **Optimální** je hladina 8 mikrogramů/l a více. Za **pozitivní prediktory** jsou pokládány 1. klasická mánie, 2. mánie špatně reagující na lithium včetně sekundární mánie, 3. schizoafektivní porucha, manický typ, 4. nepřítomnost rodinné anamnézy bipolární poruchy. KAR bývá spěšnější v kombinaci než v monoterapii.

**VALPROÁT (VAL):** V 6 dvojitě slepých kontrolovaných studiích byl VAL signifikantně lepší než placebo a srovnatelný s lithiem. Emilien et al. (1996) provedli metanalýzu dvojitě slepých randomizovaných studií s LI, KAR a VAL. Účinnost byla stejná, ale výskyt vedlejších účinků byl menší u antikonvulziv. Za optimální je považována hladina 80mg/l a více, výhodná je nárazová dávka 20 mg/kg /na den, což vede k sérové koncentraci přibližně 80 mg/l po prvním dni a nástupu účinku v průběhu prvních 3 dní (McElroy et al., 1996). K **pozitivním prediktorům** léčby patří 1. klasická mánie, 2. mánie špatně reagující na lithium, tj. smíšená a dysforická mánie, rychlí cykléři, komorbidita s abusem návykových látek, sekundární mánie.

Již na úrovni 1. linie je u závažné a psychotické mánie nutná kombinace s nespecifickou léčbou. K nespecifické léčbě patří vysoce afinitní BZ, klonazepam a lorazepam a typická N. Výhodou přídatné léčby BZ je rychlé zvládnutí agitovanosti, neklidu a ev. i možnost snížení dávky N (Edward et al., 91). Efekt N byl prokázán v otevřených studiích, v průměru činí 50-70% (Češková, 1994). Přes relativní častost kombinace LI + N je kontrolovaných studií velmi málo. I když rozdíly nebyly signifikantní ve prospěch kombinace, je při volbě podstatný časový faktor, tj. rychlý pacifikující efekt N a pozdější nástup efektu LI.

U psychotické mánie je preferován KAR, ev. v kombinaci s N, jak vyplývá z predikčních studií. Ve 3 dvojitě slepých studiích byla kombinace KAR + N stejně úspěšná (Moller et al., 1989) resp. nesignifikantně lepší (Klein et al. 84, Goncalves et Stoll, 1985) než N samotné. U smíšené fáze a dysforické mánie je na místě první volby VAL ev. v kombinaci s N a /nebo BZ, což opět vyplývá ze studií zaměřených na predikční faktory.

Na **druhou linii** přecházíme při neúspěchu. Při plné terapeutické neúspěšnosti volíme záměnu specifických antimanik při částečné dvojkombinaci. 2 dvojitě slepé studie prokázaly úspěšnost **LI + KAR** u nonresponderů na monoterapii (Desai et al. 87, Kramlinger et Post, 89). Důkaz o augmentaci antimanického účinku kombinací **LI + VAL** a **KAR + VAL** spočívá na malém počtu kasuistik. Nutné počítat s tím, že VAL inhibuje metabolismus KAR a zvyšuje jeho hladiny, KAR naopak zvyšuje metabolismus VAL. (Gerner et Stanton, 92).

**3.linie** je prezentována postupy, u kterých byla úspěšnost dokumentována pouze kasuistikami a otevřenými studiemi. Při neúspěchu předchozích postupů je možná záměna za atypická neuroleptika, aplikace elektroléčby nebo přidání blokátorů kalciového kanálu, respective možno zvolit některý z experimentálních přístupů. U atypických neuroleptik se vzhledem k mechanismu jejich účinku předpokládá, že by mohla mít relativně specifičtější účinek u afektivních poruch než typická neuroleptika. Antimanický efekt klozapinu byl prokázán ve 27 převážně kasuistických a retrospektivních studiích (Zarate et al., 1995). Účinek risperidonu byl udáván v malých otevřených studiích jak v monoterapii tak i v kombinaci s thymoleptiky avšak při monoterapii se objevily zprávy u exacerbaci mánie (Gelenberg et Hopkins, 1996). EKT byla před érou psychofarmak jediným účinnějším terapeutickým prostředkem. I dnes však existuje málo studií, které by srovnávaly elektroléčbu s konzervativnějšími přístupy.

## Literatura

1. Ballenger J.C. et al.: Carbamazepine (Tegretol) in maniodepressive illness: a new treatment. Am. J. Psychiatry, 137, 1980, 782-790.
2. Češková E.: Mánie a jejich léčba. Čs. psychiatrie, 90, 1994, 131-134.
3. Desai N.G. et al.: Carbamazepine hastens therapeutic action of lithium in mania. Proceedings of the International Conference on New Directions in Affective Disorders 1987, (Abstracts), 97.
4. Edwards R. et al.: Clonazepam in acute mania: A double-blind trial. Australia and New Zealand Journal of Psychiatry, 25, 1991.

5. Emilien G. et al.: Lithium compared to valproic acid and carbamazepine in the treatment of mania: a statistical meta-analysis. *European Neuropsychopharmacology*, 6, 1996, 245-252.
6. Emrich H.M. et al.: The use of sodium valproate, carbamazepine and oxcarbazepine in patients with affective disorders. *J. Affective Disord.* 8, 1985, 243-250.
7. Gerner, R. H., Stanton, A.: Algorithm for patient management of acute manic states : Lithium, valproate, or carbamazepine ? *J. Clin. Psychopharmacol.*, 12, 1992, s. 57-63.
8. Gelenberg A.J., Hopkins H.S.: Antipsychotics in bipolar disorder. *J. Clin. psychiatry*, 57, 1996, suppl 9, 49-52.
9. Goncalves N., Stoll K.D.: Carbamazepin bei manischen Syndromen. Eine kontrollierte doppelblind-Studie. *Nervenarzt* 1985, 56, 43-47.
10. Goodwin F.K., Jamison K.R.: *Manic-depressive illness*. New York, oxford University Press, 1990.
11. Klein E. et al.: carbamazepine and haloperidol vs. placebo and haloperidol in excited psychoses. *Arch. Gen. Psychiatry*, 41, 1984, 165-170.
12. Kramlinger K.G., Post R.M.: Adding lithium carbonate to carbamazepine: antimanic efficacy in treatment-resistant mania. *Acta Psychiatr. Scand*, 1989, 79, 378-385.
13. McElroy S.L. et al.: Valproate as a loading treatment in acute mania. *Neuropsychobiology*, 1993, 27, 146-149.
14. Moller H.M. et al.: Double-blind evaluation of the antimanic properties of carbamazepine as a comedication to haloperidol. *Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol Psychiatry*, 1989, 13, 127-136.
15. Zarate C.A. et al.: Clozapine in severe mood disorders. *Psychopharmacol. Bull.*, 31, 1995, 3, 636.

Scripta medica	70	Supplementum 4	35-37	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Psychiatrická klinika Fakultní nemocnice Brno-Bohunice

**Jaromír Švestka**

## **ALGORITMY PROFYLAXE AFEKTIVNÍCH PORUCH**

### **Souhrn**

Při volbě profylaxe afektivních poruch je důležité rozlišovat mezi bipolárními a unipolárními formami. Algoritmus profylaxe bipolárních poruch začíná tymoproylaktiky (Li, carbamazepin, valproát), pokračuje přes jejich záměny, kombinace či potenciaci trijodtyroninem k použití neuroleptik a kalciových blokátorů. Prvou volbou profylaxe unipolární deprese jsou buď antidepressiva nebo tymoprofylaktika; při jejich neúspěchu je mezi sebou zaměňujeme, kombinujeme nebo potencujeme trijodtyroninem či lithium kyselinou listovou. Poslední profylaktickou možností u obou forem afektivních poruch je udržovací elektrokonvulzivní terapie.

Klíčová slova: afektivní poruchy - algoritmy profylaktické léčby

### **Summary**

When choosing the prophylaxis of affective disorders there is important to differentiate between the bipolar and unipolar forms. The algorithm for the prophylaxis of bipolar disorder is started with thymoprophylactics (lithium, carbamazepine, valproate) and the algorithm is continued through the alternative treatment, combinations and potentiations with triiodthyronine to the use of neuroleptics and calcium channel blockers. The first choice prophylaxis of unipolar depression are either antidepressants or thymoprophylactics, in the case of no efficacy the mutual substitution, combination or potentiation with triiodthyronine, lithium potentiation of folic acid is recommended. The last prophylactic possibility in both affective disorders is an maintenance treatment with electroconvulsions.

Key words: affective disorders - algorithms for prophylaxis

### **Úvod**

Při rozhodování o tymoprofylaxi musíme pečlivě rozlišovat mezi bipolárními a unipolárními formami; tymoprofylaktika (lithium = Li, carbamazepin = CBZ, valproát = VAL) jsou účinnými u obou forem, zatímco antidepressiva u bipolární poruchy nejsou účinnějšími než placebo a vedou k provokaci manické fáze u 20 - 30 % léčených (Goodwin, Jamison 1990, Janicak et al. 1993).

Algoritmy profylaxe bipolárních poruch (obr. 1):

1. linie: Profylaktiky první linie jsou Li, CBZ a VAL (APA 1993, 1994). Při výběru mezi uvedenými profylaktiky se rozhodujeme podle reakce v akutní fázi u nemocného či jeho pokrevních příbuzných a dále dle podtypu bipolární poruchy, psychické a somatické komorbidity a možných nežádoucích účinků a interakcí s jinými léky.

Obr. 1

ALGORITMY PROFYLAXE BIPOLÁRNÍ AFEKTIVNÍ PORUCHY	
1. linie:	lithium - carbamazepin - valproát
2. linie:	záměna uvedených profylaktik či jejich vzájemná kombinace; potenciace T3
3. linie:	spironolakton, neuroleptika (zejména atypická), + SSRI, clorgylin, kalciové blokátory (nimodipin), elektrokonvulzivní léčba (udržovací)

2. linie: Při neúspěchu profylaxe Li, CBZ nebo VAL je možno zkusmo potencovat jejich účinek trijodtyroninem. Při plné neúčinnosti zvoleného profylaktika provedeme jejich záměnu: nonreaktoři k Li dobře odpovídají na CBZ nebo VAL stejně jako nonrespondéři k CBZ na VAL (Janicak et al. 1993). Při dosažení jen částečného úspěchu profylaxe je doporučováno kombinovat profylaktika mezi sebou (Li + CBZ nebo Li + VAL). VAL v kombinaci s CBZ inhibuje metabolismus 10,11-epoxi-CBZ, což může být provázeno zmateností ev. stuporem (Bazire 1996).

3. linie: Hendler (1978) podával s dobrým výsledkem spironolakton u nemocných, netolerujících Li. Neuroleptika samotná nebo v kombinaci s tymoprofylaktiky jsou indikována u nemocných, u nichž převažují manické fáze v průběhu poruchy či u rychlých cyklérů (Janicak et al. 1993). Z antidepresív nejnižším rizikem přesmyku do manie jsou zatíženy SSRI (2 - 4 % Peet 1994). Pro léčbu refraktérních cyklérů byly doporučeny clorgylin či z kalciových blokátorů nimodipin. U pacientů rezistentních ke všem známým profylaktikům je nutno zvažovat udržovací elektrokonvulzivní terapii (APA 1990).

#### Algoritmy profylaxe unipolární deprese (obr. 2):

V profylaxi unipolární deprese jsou stejně účinnými tymoprofylaktika a antidepresíva. Při výběru mezi nimi se řídíme předchozí terapeutickou reakcí v akutní depresi pacienta či jeho pokrevních příbuzných a předpokládaným výskytem nežádoucích účinků stejně jako ochotou nemocného ke spolupráci (Godwin et al. 1990).

Obr. 2

ALGORITMY PROFYLAXE UNIPOLÁRNÍ DEPRESIVNÍ PORUCHY	
1. linie:	antidepresíva (TCA/HCA-SSRI/SNRI-IMAO/RIMA) nebo
*	tymoprofylaktika (lithium, carbamazepin, valproát)
2. linie:	záměna uvedených léků či jejich vzájemná kombinace, potenciace T3
3. linie:	elektrokonvulzivní terapie (udržovací), kyselina listová, lamotrigin

\* Pozn.: výběr provést dle úspěšnosti v akutní epizodě, předpokládaných nežádoucích účinků a s jejich výskytem související ochotě ke spolupráci

1. linie: Z tymoprofylaktik zůstává nejvíce používaným Li, jehož účinnost byla prokázána vůči placebo i antidepresívům v kontrolovaných studiích (Janicak et al. 1993). Profylaktická efektivnost CBZ a VAL byla potvrzena v řadě otevřených zrcadlových a kontrolovaných studiích (Goodwin et al. 1990, Janicak et al. 1993).

V léčbě akutních depresivních fází jsou daleko častěji používána antidepresíva a proto je logičtější pokračovat v jejich dlouhodobém podávání než je zaměňovat za tymoprofylaktika. Profylaktické dávky imipraminu, fenelzinu a SSRI by měly být stejně vysoké nebo vyšší než při léčbě akutní depresivní fáze (APA 1993). 2. linie: Při neúspěchu profylaxe Li, antikonvulzivy či

anidepresívy neexistují kontrolované studie, které by rozhodly, zda je v dalším postupu výhodnější vzájemná záměna těchto léků nebo jejich vzájemná kombinace. Kombinace tymoprofylaktik (Li, CBZ a VAL) má být účinnější než monoterapie - viz bipolární poruchy. Li je možno kombinovat s úspěchem s antidepresívy, avšak nezabrání přesmyku do manie (Goodwin et al 1990). SSRI inhibují metabolismus CBZ i VAL a tím zvyšují jejich sérové hladiny (Bazire 1997). Inhibitory MAO (vč. RIMA) nelze kombinovat s CBZ, TCA/HCA, SSRI a SNRI pro nebezpečí interakcí (Ciraulo et al. 1995). U farmakorezistentních pacientů, rychlých cyklérů či k odstranění Li nebo CBZ vyvolaného hypotyreoidizmu může být užitečné potencování levotyroxinem.

3. linie: Přidání kyseliny listové k Li může potencovat jeho účinek (Coppen et al. 1982). V r. 1996 byly zveřejněny první pozitivní výsledky s dlouhodobým podáváním lamotriginu (Bowden 1996). Ultimum refugium pro farmakorezistentní pacienty je dlouhodobé profylaktické podávání elektrokonvulzivní terapie, které doporučila i APA (APA 1990).

## Literatura

1. American Psychiatric Association Practice Guidelines: The practice of ECT: Recommendations for treatment, training and privileging, American Psychiatric Press, Washington 1990.
2. American Psychiatric Association: Practice guideline for major depressive disorder in adults, Am. J. Psychiatry 1993, 150, Suppl., 1-26.
3. American Psychiatric Association: Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder, Am. J. Psychiatry 1994, 151, Suppl., 1-36.
4. Bazire S.: Psychotropic drug directory, Quay Books, Dinton 1997
5. Ciraulo D.A., Shader R.J., Greenblatt D.J. et al.: Drug interactions in psychiatry, Williams and Wilkins, Baltimore 1995.
6. Goodwin F.K., Jamison K.R.: Manic-depressive illness, Oxford University Press, Oxford 1990.
7. Janicak P.G., Davis J.M., Preskorn S.H., Ayd F.J.: Principles and practice of psychopharmacotherapy, Williams and Wilkins, Baltimore 1993.

Scripta medica	70	Supplementum 4	38-40	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Psychiatrická léčebna Praha 8 - Bohnice

**Michal Maršálek**

## **Algoritmy léčby extrapyramidových nežádoucích reakcí**

### **Souhrn**

Nejlepší léčbou u akutních i tardivních poruch je snížení dávky neuroleptika. V dalším kroku se překročí k aktivní léčbě. U parkinsonismu a akutní dystonie jsou účinným lékem anticholinergika nebo dopaminergika. U akutní akatizie se užívají především beta-blokátory a benzodiazepiny. Anticholinergika jsou účinná také u symptomů tardivní dystonie, tardivní akatizie a paradoxní tardivní dyskineze. Botulotoxin A může zřetelně zlepšovat tardivní dystonie. U většiny tardivních poruch (dyskineze, dystonie, akatizie) patří mezi základní léky beta-blokátory, benzodiazepiny a antioxidanty. Účinnost zvyšuje kombinace několika preparátů s různým mechanismem působení. Dalším krokem v léčbě tardivních syndromů je nahrazení neuroleptické medikace atypickým neuroleptikem a poté clozapinem. Zvýšení dávky neuroleptik, elektrokonvulze nebo stereotaktické operace jsou krajním řešením u farmakorezistentních poruch.

**Klíčová slova:** polékové extrapyramidové syndromy, léčba

### **Summary**

The best treatment strategy for both, acute and tardive extrapyramidal syndromes is reduction of neuroleptic dosage. An active therapy may be tried in the next step. Anticholinergic or dopaminergic agents represent effective treatment of parkinsonism and acute dystonia. Beta-blockers and benzodiazepines give better alternative in the treatment of acute akathisia. Anticholinergics may also affect symptoms of tardive dystonia, tardive akathisia, and paradoxical tardive dyskinesia. Marked improvement of tardive dystonia might be achieved by local application of botulotoxine A. Beta-blockers, benzodiazepines, and antioxidants represent fundamental treatment of tardive syndromes (dyskinesia, dystonia, akathisia). Therapeutic effect may be increased by combination of several medicaments with different mechanism of action. Replacement of neuroleptic medication with atypical neuroleptics and then with clozapine is a third approach to the treatment of tardive syndromes. Increasing neuroleptic dosage, electroconvulsive therapy or stereotactic operation seems to be the ultimate trial in severe pharmacoresistant states.

**Key words:** drug - induced extrapyramidal syndromes, treatment

### **Úvod**

Těžiště ochrany před extrapyramidovými syndromy (EPS) je v prevenci (co nejnižší dávky neuroleptik - zvláště při udržovací léčbě a preference atypických neuroleptik). Vysazení neuroleptik, stejně jako pokusy o intermitentní léčbu neúměrně zvyšují riziko relapsu psychózy a intermitentní léčba navíc zhoršuje tardivní dyskineze (1). Naopak dlouhodobé kontinuální podávání nízkých dávek neuroleptik podle dlouhodobých studií často samo o sobě vede ke stabilizaci nebo dokonce ke zlepšení tardivních extrapyramidových poruch, takže jejich vývoj je příznivější, než se původně předpokládalo (2). Prvním krokem při zjištění akutních i tardivních extrapyramidových poruch je snížení dávky neuroleptik; u tardivních poruch (mimo tardivní dystonii a paradoxní tardivní dyskinezi) také vysazení anticholinergních antiparkinsonik (3) a u tardivní dyskineze či dystonie případně úprava chrupu nebo zubní protézy (4).

Uváděné poznatky o aktivní léčbě v tomto přehledu vycházejí z výsledků kontrolovaných terapeutických pokusů. Výjimku tvoří ojedinělé zkoušení elektrokonvulzí a stereotaktických operací, kde kontrolované práce nejsou známy. Jednotlivé preparáty při aktivní léčbě patrně působí jen na podskupiny EPS, které jsme dosud schopni identifikovat pouze terapeutickým pokusem. V individuálních případech proto může být terapie dosti účinná. V léčbě akutních EPS (hlavně parkinsonismu a akutní dystonie) jsou lékem 1. linie cholinergní nebo dopaminergní antiparkinsonika (ověřeno jen pro amantadin). (5) Anticholinergní antiparkinsonika jsou účinná také u tardivní dystonie (6), akutní i tardivní akatizie (7) a paradoxní tardivní dyskineze. Botulotoxin A je používán úspěšně k lokálnímu zásahu u hlavových a laryngeálních tardivních dystonií, méně úspěšný je u dystonií šíje. (8) U většiny tardivních poruch a u akutní akatizie patří mezi léky 2. linie lipofilní beta-blokátory (hlavně propranolol), - GABAergní benzodiazepiny (hlavně clonazepam) (8, 9, 3), a antioxidanty (vitamin E, příp. pyritinol) - (9, 3, 10). Nověji nejsou doporučována cholinergika a blokátory Ca kanálu, u kterých terapeutický efekt nebyl v kontrolovaných studiích potvrzen (3). U tardivních dyskinezí se neprokázala účinnost dopaminergik (3). Výsledky léčby lithiem u tardivních dyskinezí a dystonií jsou převážně negativní (11), navíc lithium samo patrně zvyšuje pohotovost k jejich rozvoji. U tardivní akatizie chybí kontrolované práce o účincích benzodiazepinů, proto se za základní léky volby považují jen beta-blokátory a anticholinergika. Kontrolované studie léčby tardivního myoklonu a tardivního syndromu Gilles de la Tourette nejsou známy. Užívají se benzodiazepiny, u myoklonu i fenytoin. Při podobné terapeutické účinnosti se volí u všech EPS vhodný preparát základní řady individuálně především podle vedlejších účinků. Účinnost léčby obvykle zvýší kombinace více léků základní řady s různým mechanismem působení.

U farmakorezistentních tardivních poruch se nahrazuje v léčbě 3. linie původní neuroleptikum jiným, hlavně atypickým neuroleptikem mimo clozapin. Clozapin se ordinuje až při selhání předchozí terapie kvůli vyššímu riziku agranulocytózy. Další uváděné způsoby léčby (zvýšení dávky neuroleptika, elektrokonvulze a stereotaktické operace) se neužívají rutinně a představují krajní řešení v rámci 4. linie u těžkých farmakorezistentních tardivních poruch.

## Literatura

1. Yassa R., a kol., *Am. J. Psychiat.*, 147, 1990, s. 1156 - 1163.
2. Casey D. E., Gardos G.: *Tardive dyskinesia and neuroleptics: From dogma to reason*. 1. vyd., Washington D. C. 1986, s. 76 - 97.
3. Feltner D. E., Hertzman M., *Hosp. Commun. Psychiat.*, 44, 1993, s. 25 - 34.
4. Jeste D. V., Wyatt R. J., *Arch. gen. Psychiat.*, 39, 1982, s. 803 - 816.
5. Remington G., Bezchlibnyk-Butler K., *CNS Drugs*, 5, 1 (Suppl.), 1996, s. 21 - 35.
6. Burke R.E., a kol., *Neurology*, 32, 1982, s. 1335 - 1346.



7. Sachdev P.: Akathisia and restless legs. 1. vyd., Melbourne 1995.
8. Jankovic J., a kol., Neurology, 41, 1991, s. 1088 - 1091. 9. Jeste D. V., a kol., J. clin. Psychopharmacol., 8, 4 (Suppl.), 1988, s. 38 - 48.
10. Maršálek M., a kol., Eur. Neuropsychopharmacol., 5, 3 (Spec. issue), 1995, s. 390.
11. Jeste D. V., Wyatt R. J., Arch. gen. Psychiat., 39, 1982, s. 803 - 816.

Scripta medica	70	Supplementum 4	41-43	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Psychiatrická klinika, 1. LF UK Praha 2

**J. Raboch**

## **Algoritmy biologické léčby obsedantně kompulzivní poruchy (OCD)**

### **Souhrn**

1. krok: každý preparát typu SRI (Serotonin Reuptake Inhibitors) - Clomipramin, Fluoxetin, Fluvoxamin, Paroxetin, Sertralin podávat minimálně 10 týdnů ve správné dávce. Použít Clomipramin a minimálně další dvě látky typu SSRI. 2. krok: augmentace SRI Clonazepamem minimálně 4 týdny, kombinace SRI s neuroleptiky nebo alternativní monoterapie IMAO (Phenelzin), nebo Clonazepamem. 3. krok: při neúspěchu dalších alternativních postupů včetně elektrokonvulzí zvážit indikaci neurochirurgického zákroku

### **Summary**

First line: to treat with drugs of the SRI type (Serotonin Reuptake Inhibitors) - Clomipramine, Fluoxetine, Fluvoxamine, Paroxetine and Sertraline at least 10 weeks using the adequate dose. Second line: augmentation of the SRI by Clonazepam at least for 4 weeks, combination with neuroleptics or alternative monotherapy with IMAO (Phenelzine) or Clonazepam. Third line: in the case of unsuccessful outcome of the above mentioned treatment including other alternative methods (ECT) to consider neurosurgery.

### **Úvod**

Obsedantně kompulzivní porucha (OCD), která patří do širšího spektra úzkostných poruch, byla dříve považována za vzácnou duševní chorobu, která se dá obtížně léčit. Nyní je známo, že se jedná o jednu z nejčastějších duševních poruch, která ovlivňuje z celoživotního pohledu asi 2 - 3 % populace (10). Bylo také zjištěno, že OCD je relativně dobře léčitelná, jak demonstrovaly poslední, z dlouhodobého hlediska úspěšné studie používající kognitivně behaviorální terapii (KBT - 2) a léky ovlivňující především centrální serotoninergní systém (SRI - Serotonin Reuptake Inhibitors - 1).

### **Léčebné postupy první volby**

Clomipramin je nejdéle a nejčastěji studovaným lékem v léčbě OCD. Jeho dobrý efekt byl opakovaně prokázán jak ve skupinách pacientů s OCD a depresí, tak u pacientů s OCD bez závažnější depresivní symptomatiky (6). V posledních asi 8 letech bylo ve více kontrolovaných studiích prokázáno, že látky typu SSRI jsou účinnější než placebo v léčbě OCD. Jednalo se o Fluvoxamin, Sertralin, Fluoxetin a Paroxetin (11). Postavení látek typu IMAO a RIMA je zatím nejasné, protože tyto léky většinou nebyly podrobeny zkoušení v kontrolovaných studiích, i když např. tranlycypromin byl v otevřené klinické studii úspěšný u pacientů rezistentních na clomipramin (4). Příznivý efekt antidepresiv se objevuje do 5 týdnů po nasazení preparátu, avšak ke

zlepšování dochází i v dalších týdnech. Proto podávání preparátu minimálně 10 týdnů bývá považováno za vhodné (11). Pakliže dojde k příznivému efektu po nasazení antidepresiva a toto je podáváno dlouhodobě (studie popisují i 2-leté sledování), antidepresiva jsou dobře snášena a příznivé ovlivnění OC-symptomatiky přetrvává. Avšak po vysazení léků i po jejich několikaměsíčním podání dochází během několika týdnů k recidivě obtíží asi u 80 - 90 % pacientů (9). Které z účinných látek SRI zvolit jako prvé, není zcela jasné. Z metaanalytických studií vyplývá, že clomipramin může být o trochu účinnější než SSRI, avšak přímá srovnání toto nepotvrzují. Přitom je třeba mít na mysli profil vedlejších účinků a farmakokinetické vlastnosti jednotlivých preparátů (1). Pakliže jeden druh SRI není účinný, doporučuje se vyzkoušet ještě minimálně 2 preparáty této skupiny. Dle otevřených klinických studií je pravděpodobnost zlepšení stavu po nasazení druhého či třetího léků stejné skupiny stále ještě vysoká (11).

### Léčebné postupy druhé volby

Tradičně jsou antidepresiva kombinována s anxiolytiky. Z nich pouze clonazepam se ukázal být účinný v kontrolovaných studiích (3) ať podávaný v kombinaci s SRI nebo samostatně. Podává se dávka 0,5 mg p.d., která může být postupně zvyšována až do dávky 5 mg p.d. Zlepšení je možno očekávat během několika dnů. Neuroleptika podávaná samostatně neovlivňují příznivě OC symptomatiku. Avšak kombinace látek SRI s dopaminovými antagonisty se prokázala být účinnou zvláště tam, kde se OCD vyskytuje současně s tikovými obtížemi. Haloperidol v nižší dávce (kolem 5 mg p.d.) v kombinaci s fluvoxaminem se u tohoto typu pacientů ukázal být efektivní (7). Jiná neuroleptika zatím neprošla přísnými kritérii kontrolovaných studií. V léčbě OCD byla vyzkoušena celá řada dalších alternativních postupů. V některých otevřených klinických studiích u rezistentních pacientů byly úspěšné elektrokonvulze (5).

### Léčebné postupy třetí volby

Jako ultimum refugii u tzv. maligních forem OCD, které nezabírají na všechny výše uvedené postupy bývají považovány neurochirurgické zákroky. Ani tato metoda nebyla zatím z pochopitelných důvodů podrobena dvojité slepé proceduře. Avšak ze souhrnné prospektivní studie vyplývá, že u více než 250 odoperovaných rezistentních pacientů došlo u 38 % k vymizení příznaků a u 29 % bylo výrazně zlepšeno a to i z hlediska dlouhodobého. Tato metoda má samozřejmě velmi přísná indikační kritéria i jasné kontraindikace (8).

## Literatura

1. Greist, J.H., Jefferson, J.W., Kobak, K. A., Katzelnik, D.J., Serlin, R.S.: Efficacy and tolerability of serotonin transport inhibitors in obsessive-compulsive disorder. Arch. Gen. Psychiat., 52, 1995, s. 53 - 60.
2. Greist, J.H.: Behavior therapy for obsessive compulsive disorder. J. Clin. Psychiat., 55, 1994, suppl. 10, s. 60 - 68
3. Hewlett, W.A., Vinogradov, S. Agras, W.: Clomipramine, clonazepam and clonidine treatment of obsessive compulsive disorder. J. Clin. Psychopharmacol., 12, 1992, s. 420 - 430.
4. Joffe, R.T., Swinson, R.P.: Tranylcypromine in primary obsessive-compulsive disorder. J. Anx. Disord., 4, 1990, s. 365.
5. Maletzky, B., McFarland, B., Burt, A.: Refractory obsessive compulsive disorder and ECT. Convulsive Therapy 10, 1994, 1, s. 34 - 42.

6. Mavissakalian, M., Turner, S., Michelson, L., Jacob, R.: Tricyclic antidepressant in obsessive disorder: antiobsessional and antidepressant agents. *Am. J. Psychiat.*, 142, 1985, s. 572-576.
7. McDougle, C.J., Goodman, W.K., Price, H.P.: Dopamine antagonists in tic-related and psychotic spectrum obsessive compulsive disorder. *J. Clin. Psychiat.*, 55, 1994, suppl. 3, s. 24 - 31.
8. Mindus, P., Rauch, S.L., Nyman, H., Baer, L., Edman, G., Jenike, M.A.: Capsulotomy and cingulotomy as treatments for malignant obsessive compulsive disorder: an update. In: *Obsessive Compulsive Disorder*. Eds. E. Hollander, J. Zohar, D. Marazziti, B. Olivier, Wiley, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore 1994, s. 245-276.
9. Pato, M.T., Zohar-Kadouch, R., Zohar, J., Murphy, D.L.: Return of symptoms after discontinuation of clomipramine in patients with obsessive-compulsive disorder. *Am. J. Psychiat.*, 145, 1988, s. 1521 - 1525.
10. Rasmussen, S.A., Eisen, J.L.: The epidemiology and differential diagnosis of obsessive-compulsive disorders. *J. Clin. Psychiat.*, 55, 1994, suppl. 10, s. 5 - 10.
11. Rauch, S.L., Jenike, M.A.: Management of treatment-resistant obsessive compulsive disorder: concepts and strategies. In: *Obsessive Compulsive Disorder*. Eds. E. Hollander, J. Zohar, D. Marazziti, B. Olivier, Wiley, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore 1994, s. 227 - 244

Scripta medica	70	Supplementum 4	44-47	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Soukromá psychiatrická praxe, Liberec

**J. Drtil**

## **Léčba závislých na tabáku neuroleptiky a antidepresivy.**

### **Souhrn**

Počínaje rokem 1970 (ve Výzkumném ústavu psychiatrickém v Praze) jsme začali léčit pacienty vracející se ze zahraničí, kteří byli závislí na tvrdých drogách flufenazin decanoátem (Moditen depot). V průběhu sedmdesátých a osmdesátých let jsme v psychiatrickém oddělení liberecké nemocnice přeléčili 66 mladých osob závislých na toluenu, trichlorethylenu, trihexiphenidylu, injekčních analgetikách, anxiolytikách, psychostimulanciích a jiných drogách. Čtyři z nich zemřeli, u pěti se zjistil defekt osobnosti, zdravotní stav ostatních se zlepšil, jedna třetina byla sociálně problémová.

Nové poznatky o farmakodynamice flufenazin decanoátu a jeho vlivu na závislost jsme zjistili při započetí léčby závislých na tabáku. Konzum cigaret klesal k nule. Podobné výsledky jsme zjistili u chlorpromazinu (Plegomazin) a také u haloperidolu. Pimozid (Orap) byl rovněž účinný. Zatímco v průběhu neuroleptické léčby bylo jednodenní abstinence dosahováno po 14 - 15 týdnech. léčby, u fluoxetinu (Prozac) jí bylo dosaženo po 5 - 6 týdnech.

Klíčová slova : tabák, závislost, farmakoterapie, depotní neuroleptika, chlorpromazin, haloperidol, pimozid, fluoxetine.

### **Summary**

In the beginning of 1970's (in Výzkumný ústav Psychiatrický in Prague) we started treating patients who returned from abroad addicted hard drugs with Phluphenazine decanoate (Moditen depot). In 1970 s - 80's at the Department of Psychiatry of the Liberec Hospital we treated 66 young persons addicted on Toluen, Trichlorethylene, Triphenidyl, injected Analgetics, Anxiolytics, Psychostimulants and other drugs. Four of them died, five suffered a personality defect, the health status of the rest improved, one third of those were socially problematic.

New findings about the pharmacodynamics of Phluphenazin decanoate and its effects on addiction were achieved when we started to treat with it a group of tobacco addicts. Their consumption of cigarettes fell to zero. Similar results were achieved with Plegomazine and also Haloperidol. Pimozid (Orap) was also effective. While with the neuroleptic treatment a one-day abstinence was mostly achieved after 14 - 15 weeks of treatment, with Phluoxetine (Prozac) it was achieved within 5 - 6 weeks.

Key words: tobacco, dependence, pharmacotherapy, depot neuroleptics, Chlorpromazine, Haloperidol, Pimozid, Phluoxetine.

## Úvod

Na počátku sedmdesátých let jsme ve Výzkumném ústavu psychiatrickém v Praze zahájili léčbu flufenazin decanoátem (Moditen depot) u pacientů, kteří se vraceli ze zahraničí a kteří byli závislí na tak zvaných tvrdých drogách a u kterých byla v důsledku toho zřejmá alespoň drobná psychotická symptomatologie.

Koncem sedmdesátých a v průběhu osmdesátých let jsme v psychiatrickém oddělení nemocnice v Liberci léčili 66 mladých osob, které byly závislé na toluenu, trichlorethylenu, triphenidylu, injekčně aplikovaných analgetikách, antipyretikách, anxiolytikách a jiných drogách. Čtyři z nich zemřeli, u pěti se zjistil defekt osobnosti, zdravotní stav ostatních se zlepšil, jedna třetina z nich byla sociálně problémová. U dvou osob se podala ampule přípravku (Moditen depot) dvakrát, u tří osob třikrát, u dvou osob čtyřikrát, u padesáti devíti osob jednou.

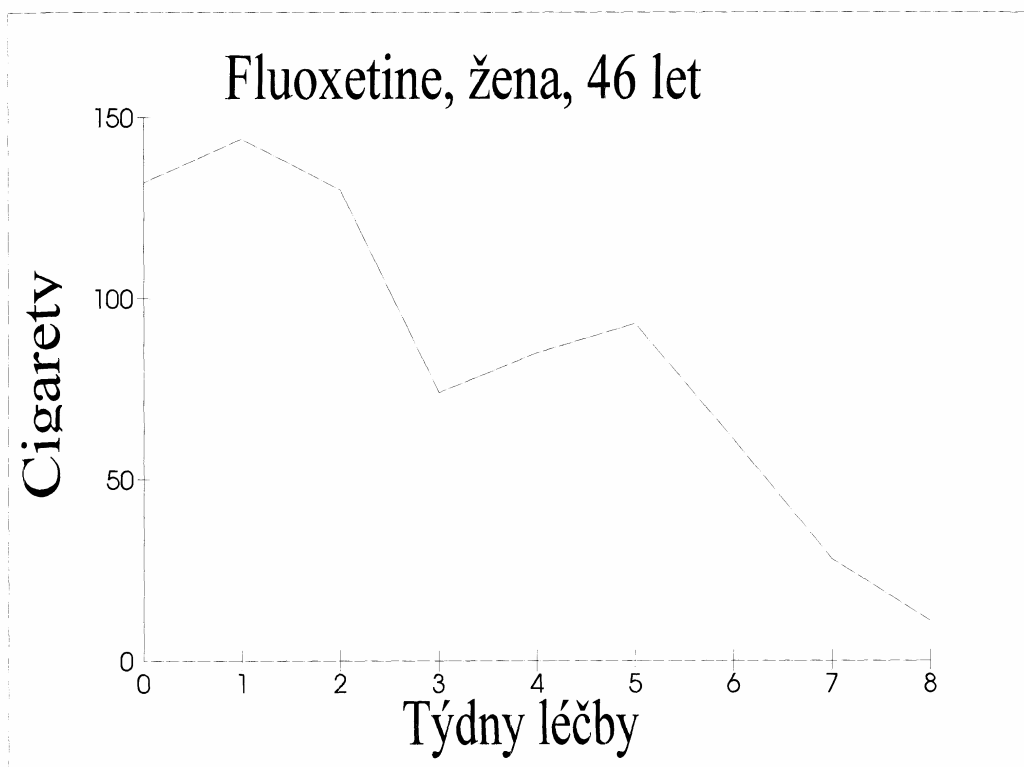
Podnětem k zahájení psychofarmakologické léčby závislých na tabáku byla snaha přispět k léčbě somaticky nemocných. Jednalo se konkrétně o některé kardiaky, kteří nemohli být chirurgicky léčeni, pokud by nepřestali kouřit. Dále se jednalo o některé onkologicky nemocné, u nichž bylo ukončení abúzu cigaret nutnou podmínkou ke zlepšení prognózy jejich základního onemocnění a dále se jednalo o nemocné prekancerózami.

První léčenou sestavu tvoří 16 osob, z toho devět mužů a sedm žen. Průměrný věk sestavy byl 41.3 roku (muži 40.1, ženy 43.1). V průměru kouřili 20.43 roků. Každému léčenému se aplikovala jedna ampule přípravku Moditen depot děleně na dvě části s třídním intervalem mezi oběma injekcemi. Jeden mililitr obsahuje 25 mg flufenazin decanoátu. Abstinence trvající tři a více měsíců se zjistila u osmi osob (5 mužů, 3 ženy), tedy u 50% sledovaného vzorku. Abstinence v trvání jeden den až tři týdny u pěti osob (3 ženy, 2 muži). Vůbec nezačaly abstinovat tři osoby (2 ženy, 1 muž). Všichni však kouření velmi podstatně omezili. Vedlejší příznaky se zjistily u sedmi osob (43.75%). Celá studie se uskutečnila v letech 1981 až 1987.

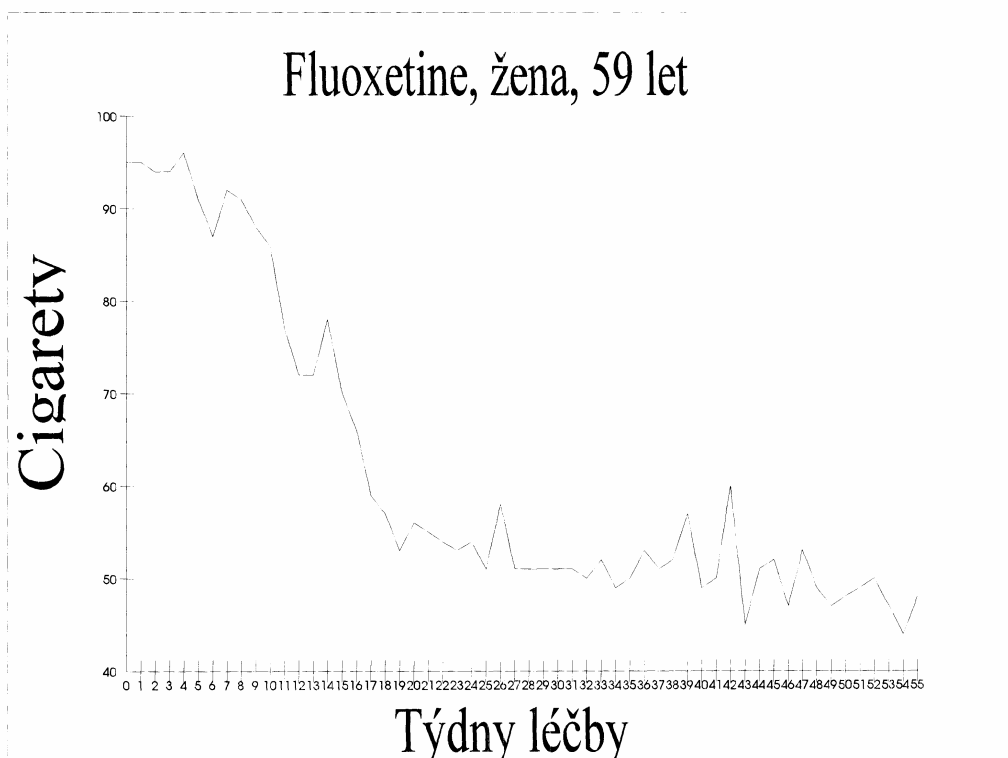
V další fázi naší práce jsme se zaměřili mimo jiné na objektivizaci průběhu abstinence a vedli jsme pacienty k tomu, aby denně přesně zaznamenávali konzum cigaret. Na základě takto zjištěných údajů jsme mohli zkonstruovat křivky postupného řídnutí abúzu cigaret směrem k abstinenci. Zatím se nám jeví jako léčiva účinná ve vztahu k dosažení abstinence neuroleptika, a to: flufenazin decanoát (Moditen depot), chlorpromazin (Plegomazin), haloperidol (Haloperidol) a pimozid (Orap). Z antidepressiv je to fluoxetin (Prozac).

Dosud pozorované křivky řídnutí abúzu cigaret lze rozdělit na dvě skupiny:

1. Křivky s relativně krátkým průběhem, které znázorňují dosažení alespoň jednodenní abstinence od cigaret od pěti do patnácti týdnů léčby. Pokles průběhu řídnutí abúzu je plynulý a nepřerušovaný.



2. Křivky s dlouhodobým průběhem. Zatím nejdelší průběh léčby je 55 týdnů bez přerušení. Křivka poklesu abúzu klesá zprvu strmě, pak velmi zvolna.



Působení neuroleptik na pokles abúzu cigaret si vysvětlujeme tak, že molekuly zmíněných neuroleptik mohou zablockovat receptory v ústředním nervovém systému přijímající tabákové

alkaloidy (nikotin), které byly vytvořeny v průběhu kouření. Protože se k těmto receptorům nedostane jejich "mateřská" látka, to jest tabákové alkaloidy, které vyvolaly jejich existenci, receptory po čase zaniknou (asi za 14 dní). Chybí pak struktura, která by si na organismu "vynucovala" dodávání alkaloidů z tabáku. Pokud jde o výklad mechanismu účinku fluoxetinu (Prozac), který blokuje zpětné vychytávání serotoninu, zatím nám nosná hypotéza chybí.

## **Literatura**

1. Drtil J.: Klinika návykových chorob. 23 stran. Vydal OÚNZ Liberec v roce 1990.
2. Drtil, J.: Treatment of Patients Dependent on Tobacco with Fluphenazine Decanoate. *Activitas nervosa superior* (Praha), 31, 1989, 2: 116 - 117
3. Ereshefsky, J., Jann, M. W., Saklad, R. S., Davis Ch. M., Richards, A. L., Burch, N. R.: Effects of smoking on Flufenazine Clearance in Psychiatric Inpatients. *Biol. Psychiatry* 1985, 20: 329 - 352
4. Vinařová, E., Vinař, O., Kalvach, Z.: Smokers Need Higher Dose of Neuroleptics Drug. *Biological Psychiatry*, Vol. 19, No 8, 1984, 19: 1265 - 1268

MUDr. Jiří Drtil, CSc.  
Podzimní 369  
460 01 Liberec 12



Scripta medica	70	Supplementum 4	48-54	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Univ. Psych. Dept., Masaryk University Brno, Czech Republic

**E. Češková, J. Švestka**

## **ANTICONVULSANTS IN THE TREATMENT OF ACUTE PSYCHOTIC DISORDERS**

### **Antikonvulzíva v léčbě akutních psychotických poruch**

#### **Summary**

Anticonvulsants might be an useful alternative and additive treatment for acute psychotic disorders. An up-to-date summary including authors own experience is presented.

#### **Souhrn**

Antikonvulzíva mohou být v léčbě akutních psychotických poruch užitečnou alternativní nebo přídatnou léčbou. Autoři podávají souhrnný přehled literatury a vlastní zkušenosti v této oblasti.

Anticonvulsants now represent 1) alternative or 2) adjunctive treatment in acute psychotic disorders. The first anticonvulsant used in psychiatric indication was carbamazepine (CBZ), followed by valproate (VAL) and high-affinity benzodiazepines, clonazepam (CLO) and recently also lorazepam. For all these it is common, that the first indication tested was mania, followed by prophylactic treatment, depression and finally schizophrenia or also other indications recently. It was the clinical observation which raised the possibility, that CBZ has antimanic properties, later sophisticated theoretical explanations for possible efficacy of anticonvulsants in acute psychotic disorders were postulated. In this paper the available data about anticonvulsants in acute psychotic disorders are summarized, including our own experience. Further on some implications for clinical practice are discussed too.

#### **1. ANTICONVULSANTS IN MANIA**

##### **CARBAMAZEPINE**

The most frequently used anticonvulsant in mania treatment is without any doubt CBZ. Within this indication CBZ was first used by Japanese authors, its efficacy was later verified by Americans and mechanisms of action explained by kindling phenomena. The positive results from open studies were replicated in double-blind studies. According to our own experience from an open study (n=36) CBZ was effective in 62% of treated. In two double blind studies with placebo 19 of 26 treated pts improved on active treatment, e.g. 73%. The table 1 summarizes the double-blind trials

of CBZ resp. oxcarbazepine (OXC), its keto derivate compared with neuroleptics and lithium. Data from controlled studies suggest that: 1) CBZ is superior to placebo, a pronounced improvement was achieved in 73% of the treated pts, 2) CBZ is equivalent to neuroleptics, CBZ (resp. OXC) was minimally as effective as chlorpromazine, haloperidol and pimozide, 3) CBZ is comparable to lithium for mania treatment. Even if the majority of studies of CBZ were conducted on lithium resistant pts, there are studies suggesting the CBZ effectiveness is comparable to that of lithium in unselected pts.

The combination of lithium and CBZ, respectively of CBZ and neuroleptics for the treatment of mania has been advocated. Patients selected were resistant to monotherapy. Most employed the mirror design. Combination CBZ and lithium was more effective than monotherapy, combination CBZ and haloperidol minimally as effective as haloperidol. CBZ is often reported to be particularly appropriate for patients who have: 1) severe mania, 2) mixed phase, 3) schizoaffective symptoms, 4) rapid cycles, 5) no family history of bipolar illness. All of these factors correlate with poor response to lithium.

In all these studies doses ranged from 200-2.000 mg pro die, plasma levels 4 - 15,5 mcg/l. From the pharmacokinetic point of view there is important that CBZ induces hepatic enzymes which increases its own metabolism. After the transitory decrease of plasma levels the steady state is achieved after one month of therapy.

#### VALPROATE

In 6 open and 6 double-blind studies a good efficacy was observed in 63% and 51% of the treated (Table 2). With VAL response may be associated with: 1) mixed phase, 2) rapid cycles, 3) presence of nonparoxysmal EEG abnormalities, 4) history of head trauma antedating onset of illness.

The doses ranged from 750 - 3.800 mg pro die, plasma level from 50 - 103 mg/ml. From pharmacokinetic point of view the combination of VAL and CBZ is not recommended. VAL inhibits the metabolism of CBZ, and CBZ enhances the metabolism of VAL. In contrast to CBZ VAL does not induce its own metabolism or hepatic metabolism in general.

#### CLONAZEPAM

In 3 open and 3 double-blind studies a good efficacy was found in 60% and 58% of pts (Table 3). In all these studies doses ranged from 2 mg - 16 mg pro die. In monotherapy CLO was successful only in hypomania. In more severe cases of mania comedication with neuroleptics was necessary even if high doses of CLO were used. It may reduce the doses of neuroleptic while maintaining behavioural control.

Recently lorazepam started to be excessively studied. The preliminary results are similar to those with CLO.

## 2. ANTICONVULSANTS IN DEPRESSIVE DISORDER

#### CARBAMAZEPINE

Antidepressive efficacy of CBZ was tested in 9 open and 3 double-blind studies, e.g. in 179 pts. A good therapeutic results were achieved in 55% and 44% of the treated. In all these studies doses ranged from 400 - 2.000 mg pro die, plasma level 6.7 - 12.5 mcg/l of CBZ.

#### VALPROATE

8 open and 1 double blind studies were performed. 2 out of 8 open studies were conducted by Brno psychiatrists. In the first study sodium valproate was used, in the second one valpromide. But whichever drug is used, the active compound is valproic acid and its concentration is monitored. In 1 double-blind study VAL was used in comparison to placebo as comedication to antidepressants.

Clinically relevant results were achieved in 49% of the treated (Table 5). The doses ranged from 600 - 1. 900 mg pro die, plasma level 76 - 95 mg/ml of VAL.

#### CLONAZEPAM

With CLO only 2 open studies were performed, totally in 92 pts. In our study an antidepressant efficacy was found in 60% and in the Japanese study in 84% of treated.

### 3. ANTICONVULSANTS IN SCHIZOPHRENIC DISORDER

#### CARBAMAZEPINE

CBZ was used in this indication as monotherapy in very few patients and its efficacy in 2 double-blind studies was rather low. According to our experience, there are some pts who react, but the predictive factors are unknown. In pharmacoresistant pts CBZ was used as augmentation analogically to lithium together with neuroleptic. The results achieved were usually better than with neuroleptic and placebo. In 2 double-blind studies the augmentation potential of CBZ was equal to that of lithium.

#### VALPROATE

The augmentation strategy was tested in schizophrenic disorders also with VAL. In 11 studies this strategy was successful in 37% of treated.

#### CLONAZEPAM

In the literature available there are no double-blind studies investigating CLO as sole pharmacologic treatment in schizophrenia. At Brno Clinic we have performed one, but the results were not published. The trial suggests that CLO may be successful antipsychotic agent in some pts. 4 studies used CLO as adjunctive therapy. In one a deterioration of aggressivity was observed, in another one a significant reduction of anxiety was seen. Freinhar and Alvares evaluated CLO as an excellent adjunctive therapy, one study was successful in pharmacoresistant pts, e.g. positive results in 3 of 4 studies.

#### Other indication

Successively some other possible indications are tested - panic disorders, withdrawal syndromes, eating disorder et some others.

### **Discussion**

The limitation of neuroleptics and lithium has led to a search for alternative agents. CBZ and VAL have some advantages over lithium and neuroleptics, for example lack of neuroleptic side effects. They may be appropriate not only in mania, but also in depression and maintenance and may be considered suitable for pts who are nonresponsive to lithium. Use of benzodiazepine anticonvulsants may bring some potential problems concerning the dependence (the doses used in mood disorders are rather high, especially in mania), and the problem of disinhibition. Desinhibited behavior in manic patient could be difficult to differentiate from worsening symptoms of mania. In clinical practice with manic pts a combination with neuroleptics is preferred.

Anticonvulsants are appropriate also in depression, especially in the bipolar form. Currently available antidepressants are efficient in 60-70% of the patients treated and with the exception of the 3rd generations they have side effects which may lead to noncompliance and contraindications of their administration. All this is the reason to search also for alternative approaches in the treatment of depressive disorder. At Brno Clinic we have focused on anticonvulsants in these indications and we have made a more detailed analysis of influencing individual symptoms and

syndroms. According to our experience the effect of non-benzodiazepine anticonvulsants in the individual syndromologic forms of depression was balanced, CLO was most efficient in anxious forms of depression. Non-benzodiazepine anticonvulsants did not lead, in our samples to a switch to hypomania, which deserves further confirmation. Their average general therapeutic effect can be compared with that of classical antidepressants and of antidepressants of the II<sup>nd</sup> and III<sup>rd</sup> generation. Another profile of side effects and the supposed different mechanism of action make anticonvulsants an interesting alternative for older and pharmaco-resistant depressed pts.

In schizophrenia CBZ and VAL are useful adjunctive therapy, the literature on double-blind benzodiazepine use is inconsistent. The studies reviewed suggest that 1) response is variable, 2) benzodiazepines are potentially most useful as adjuncts to neuroleptics in the acute management of psychotic agitation, although actual antipsychotic effects have also been observed in some pts, 3) therapeutic effect when seen develops rapidly but may diminish later, 4) relatively higher doses are associated with better response. We have focused only on the trial with CLO, a high-affinity benzodiazepine. There are too few data for a summary, but the results are similar to those as with other benzodiazepines in this indication.

### Conclusions

1) Anticonvulsants in mania: There is now substantial evidence that CBZ and VAL have acute antimanic efficacy, CLO is suggested to be a successful adjunctive treatment to standard antimanic agent. 2) Anticonvulsants in depression: Anticonvulsants are appropriate treatment especially in bipolar form of affective disorder, but more studies are necessary, especially with CLO. 3) Anticonvulsants in schizophrenia: Anticonvulsants are suggested to be an successful adjunctive therapy, especially in pharmaco-resistant pts, but there is still lack of well designed studies.

Literatura u autora

**TABLE 1. CARBAMAZEPINE (OXCARBAZEPINE) VS. NEUROLEPTIC AND LITHIUM IN ACUTE MANIA (DB)**

AUTHORS		No OF PTS.	RESULTS
OKUMA et al.	1979	CBZ=32 CPZ=28	CBZ>CPZ (NS)
POST	1982	CBZ=12 LI=7, PIM=8	CBZ=PIM=LI
GROSSI et al.	1984	CBZ=18 CPZ=19	CBZ=CPZ
MÜLLER et STOLL	1984	OXC=10 HAL=10	OXC=HAL
BROWN et al.	1989	CBZ= 8 HAL= 9	CBZ>HAL (NS)
EMRICH	1990	OXC=17 HAL=20	OXC=HAL
LENZI et al.	1986	LI= 8 CBZ= 6	CBZ= LI

LERER et al.	1987	LI=14 CBZ=14	LI>CBZ (NS)
LUSZNAT et al.	1988	LI=22 CBZ=22	LI>CBZ (NS)
EMRICH	1990	OXC=29 LI=24	OXC= LI

CPZ=chlorpromazine, HAL=haloperidol, PIM=pimozide, LI=lithium  
OXC=oxcarbazepine

**TABLE 2. VALOPROIC ACID IN ACUTE MANIA : OPEN STUDIES**

<b>AUTHORS</b>	<b>No OF PTS.</b>	<b>RESULTS</b>
McELROY et al.	1988	56
BROWN	1989	233
CALABRESSE et al.	1991	34
CLOTHIER et al.	1991	17
KECK et al.	1993	19
McELROY et al.	1993	13
<b>TOTAL</b>	<b>372</b>	<b>234/372 63%</b>

**DOUBLE-BLIND STUDIES**

POST et al.	1984	1	0/ 1	0%
BRENAN et al.	1984	8	6/ 8	75%
EMRICH et al.	1985	5	4/ 5	80%
FREEMAN	1990	VAL=14 LI=13	9/14 12/13	64%
POPE et al.	1991	VAL=17 PL=19	9/17 2/19	53%
BOWDEN et al.	1994	VAL=69 LI=36 PL=74	35/69 17/36 18/74	48% 49% 25%
<b>TOTAL</b>	<b>256 VAL:</b>	<b>63/114</b>	<b>51%</b>	

PL=placebo

**TABLE 3. CLONAZEPAM IN ACUTE MANIA: OPEN STUDIES**

<b>AUTHORS</b>	<b>No OF PTS.</b>	<b>RESULTS</b>
----------------	-------------------	----------------

VICTOR et al.	1984	3	3/ 3	100%
FREINHAR et ALVAREZ	1985	2	2/ 2	100%
<b>ČEŠKOVÁ et al.</b>	<b>1993</b>	<b>35</b>	<b>19/35</b>	<b>54%</b>
<b>TOTAL</b>		<b>40</b>	<b>24/40</b>	<b>60%</b>

#### DOUBLE-BLIND STUDY

CHOUINARD et al.	1983	11	CLN>LI	
CHOUINARD	1987	CLO= 6	5/ 6	83%
		HAL= 6	6/ 6	100%
BRADWEJN et al.	1990	CLO=11	2/11	18%
		LOR=13	8/13	61%
<b>TOTAL</b>		<b>47</b>	<b>21/36</b>	<b>58%</b>

LOR=lorazepam

**TABLE 4. CARBAMAZEPINE IN ACUTE DEPRESSION: OPEN STUDIES**

<u>AUTHORS</u>	<u>No OF PTS.</u>	<u>RESULTS</u>	
WUNDERLICH et al.	1988	13	11/13 85%
NEUMANN et al.	1987	5	CBZ=TRI
SETHI et TIWARI	1984	5	3/ 5 60%
EMRICH et al.	1985	3	3/ 3 100%
FOLKS et al.	1985	4	3/ 4 75%
PRASAD	1985	12	11/12 92%
<b>NÁHUNEK et al.</b>	<b>1987</b>	<b>37</b>	<b>17/37 46%</b>
FRANKENBURG et al.	1988	20	5/20 25%
CULLEN et al.	1991	16	7/16 44%
<b>TOTAL</b>		<b>115</b>	<b>60/110 55%</b>

#### DOUBLE BLIND STUDIES

BALLENGER et POST	1980	13	5/13 38%
ROY-BYRNE et al.	1984	16	6/16 37%
POST et al.	1986	35	17/35 49%

---

<b>TOTAL</b>	<b>64</b>	<b>28/64</b>	<b>44%</b>
--------------	-----------	--------------	------------

TRI=trimepranol

**TABLE 5. VALPROIC ACID IN ACUTE DEPRESSION: OPEN STUDIES**

<b>AUTHORS</b>	<b>No OF PTS.</b>	<b>RESULTS</b>
LAMBERT 1984	47	19/47 40%
McELROY et al. 1980	13	0/5 0%
HAYES 1989	9	7/9 78%
<b>ŠVESTKA et al. 1990</b>	<b>41</b>	<b>22/41 53%</b>
CALABRESE et DELUCCHI 1990	34	19/34 56%
FOGELSON et al. 1991	2	0/2 0%
<b>ŠVESTKA et al. 1992</b>	<b>42</b>	<b>21/42 50%</b>
KEMP 1992	1	1/1 100%
<b>CELKEM</b>	<b>181</b>	<b>89/181 49%</b>

**DOUBLE-BLIND STUDY**

VINAŘ et al. 1989	42	VAL=PL
-------------------	----	--------

Scripta medica	70	Supplementum 4	55-59	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

<sup>1</sup>ORL oddělení FNŠP Brno-Bohunice

<sup>2</sup>ORL klinika KU - Plzeň

**<sup>1</sup>Novotný, M., <sup>1</sup>Kostřica, R., <sup>2</sup>Círek, Z.**

## **Arlevert v léčbě závratí**

### **Arlevert in the Treatment of Vertigo**

#### **Souhrn**

Cílem této studie je informovat o účinnosti Arlevertu /kombinového léku z Cinnarizinu a Dimenhydrinátu/, jeho dvou složkách, jejich účinnosti a toleranci a porovnat je navzájem.

Arlevert má dobré antivertiginózní a antiemetické vlastnosti na závratě periferního i centrálního původu, je lepší než Dimenhydrinát nebo Cinnarizin používaný samostatně. Arlevert má velmi dobrou toleranci.

Klíčová slova: Arlevert - Dimenhydrinát - Cinnarizin - závratě - poruchy sluchu - tinnitus

#### **Summary**

The aim of this study is to inform about Arlevert /constituted from Cinnarizine and Dimenhydrinate/, its two components, their efficacy and tolerance and to compare them one to another. Arlevert has good antivertiginous and antiemetic activity on vertigo patients with peripheral vestibular and/or central origin, better than Dimenhydrinate or Cinnarizine used separately. Arlevert has a very good tolerance.

Key words: Arlevert - Dimenhydrinate - Cinnarizine - vertigo, hearing loss - tinnitus.

#### **Úvod**

Díky zvyšující se modernizaci a vysoké industrializaci našeho každodenního života stoupá stále množství civilizačních chorob. Závratě jsou na jednom z prvních míst v této skupině. Proto vítáme každou možnost rozšíření léčebné palety těchto svízelných syndromů. Fy. Hennig Arzneimittel GmbH and Co uvedla v poslední době na náš trh kombinovaný preparát Arlevert /A/. Skládá se ze dvou velmi účinných složek již známých v otoneurologické praxi - Cinnarizine /C/ a Dimenhydrinat /D/.

Cílem této práce je posoudit léčebné vlastnosti a toleranci Arlevertu a izolovaně též jeho složek Cinnarizinu a Dimenhydrinatu a posoudit je navzájem.

#### **Materiály a metoda**



Jde o mezinárodní multicentrální studii - dvojitý slepý pokus, kterého se zúčastnily tři německé ORL kliniky a dvě česká pracoviště - v Plzni a v Brně. Pracoviště v Plzni a Brně vytvořila dohromady soubor nemocných /E=122/ s vertigem centrálního, ev. periferního původu s výjimkou BPPV /Benigní paroxysmalní polohové vertigo/ a Meni rovy choroby.

Rozdělení souboru dle věku:

A = 56,83, D = 50,51, C = 50,21.

Podle pohlaví bylo toto rozdělení:

A = 19 mužů a 44 žen, D = 16 mužů a 25 žen, C = 20 mužů a 20 žen.

Test trval 4 týdny a léčebné dávky byly 3x 1 tableta po jídle /A = 1 tableta, 20 mg.C + 40 mg.D./  
D = 1 tableta 40 mg., C = 1 tableta 20 mg./.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno testem Kruskal-Wallis.

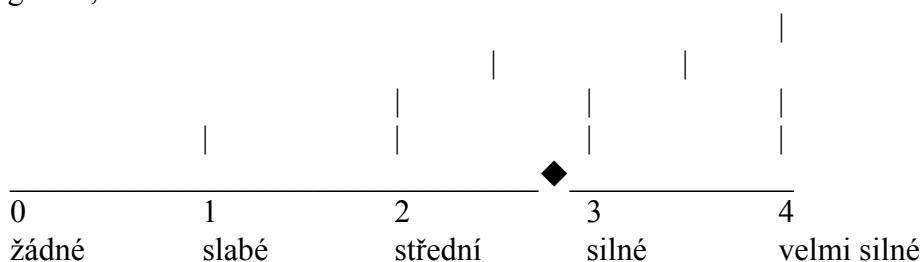
A - podáno 40 pacientům /32,8%/, D - 41 pacientům /33,6%/

a C = 41,0 /33,6%/ pacientům.

Pacienti byli vyšetřeni a kontrolováni před začátkem léčby, po týdnu léčby a po ukončení terapie, t.j. po 4 týdnech.

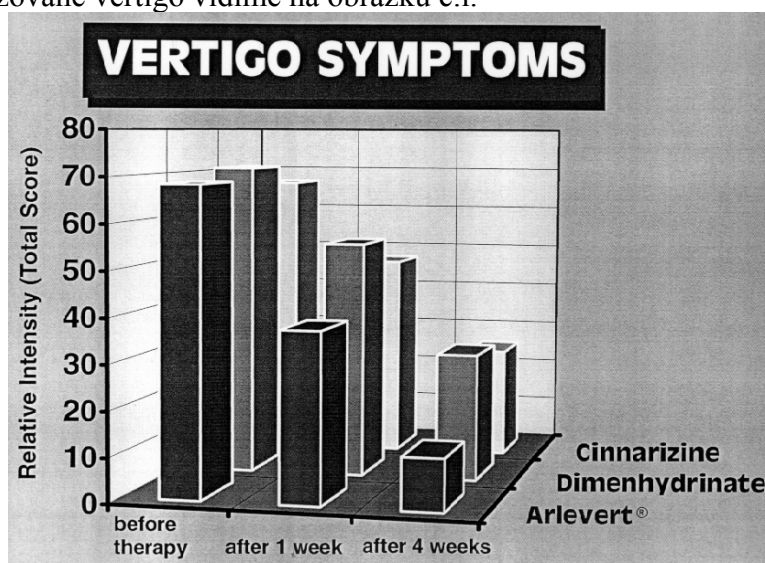
K objektivnímu měření bylo použito pro vestibulospinální reakce CCG měření, nystagmus byl zapsán pomocí ENG - spontánní jevy, OPKN, polohový nystagmus a kalorický test dle Claussena. Dále byla prováděna prahová audiometrie. Pro vyjádření léčebných výsledků byly rovněž studovány subjektivní symptomy: pocity závratí, doprovodné vegetativní symptomy a faktory vyvolávající vertigo, dále tinnitus a subjektivní poruchy sluchu.

Subjektivní symptomy byly pacientem hodnoceny pomocí celkového skóre na jednoduché škále.  
Např. pro vertigo = 2,8

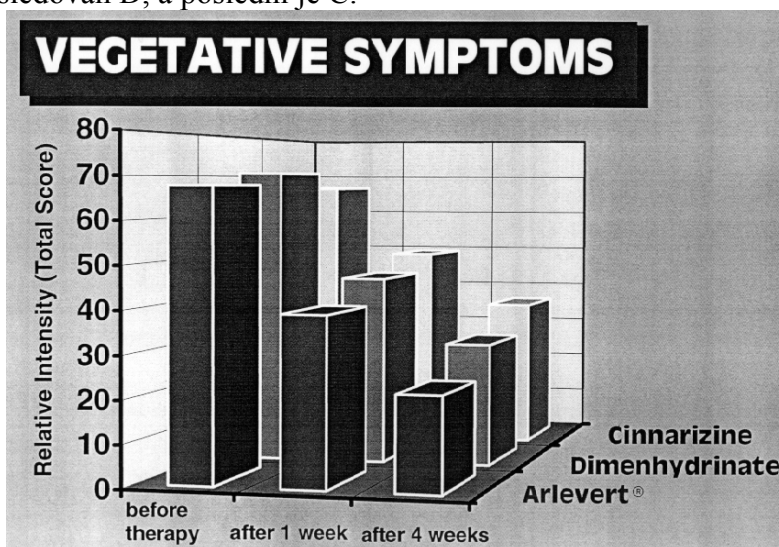


## Výsledky

Subjektivně posuzované vertigo vidíme na obrázku č.1.



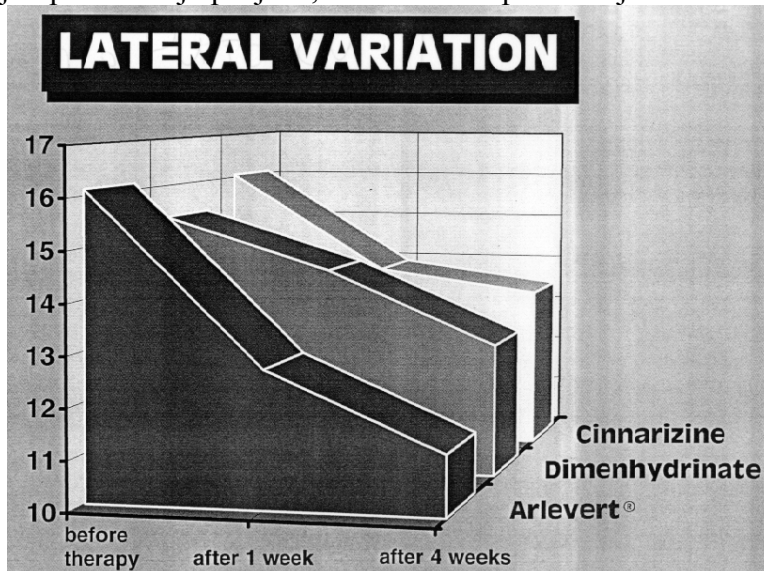
Nejlepší výsledky má A pak C a poslední D. Podobné výsledky jsou na dalším obrázku č.2, znázorňujícím vegetativní symptomy, kde je hierarchie ústupu symptomů následující: nejlepší je A, sledován D, a poslední je C.



Stejně posuzovali pacienti vliv na tinnitus - nejlepší je A, pak D a poslední je C. Subjektivní posouzení poruchy sluchu a jejich změn bylo následující: A - pak C a poslední D.

Tinnitus i změny sluchu doznaly během 4 týdnů zlepšení, ale rozdíl mezi našimi třemi sledovanými preparáty nebyl statisticky signifikantní. Audiometricky po 4 týdnech léčby byly zjištěny malé nesignifikantní změny u všech tří preparátů. U ENG studií byly podobné, nepříliš výrazné změny. Jen tam, kde iniciální frekvence byla vyšší než 60 kmitů za 30 sekund před léčbou, jsme po léčbě viděli normalizaci v dráždění labryntu.

Na obr.č.3 vidíme ústup závratí vyjádřený ústupem laterálních titubací sledovaných na CCG. Zde vidíme následující pořadí: nejlepší je A, sledován D a poslední je C. - viz obr.č.3.



Na tabulce č.1 vidíme statistické zpracování /Kruskal-Wallis test/ ústupu příznaků vertiga, vegetativní symptomatologie a laterálních titubací na CCG, jednak A proti D a A versus C - po 4 týdnech léčby.

Tabl. č.1

<b>STATISTICAL RESULTS</b> (BRIEF SUMMARY, SIGNIFICANCE LEVELS, KRUSKAL-WALLIS TEST)			
	<b>VERTIGO SYMPTOMS</b>	<b>VEGETATIVE SYMPTOMS</b>	<b>LATERAL VARIATION</b>
<b>ARLEVERT<sup>®</sup></b> <b>VS</b> <b>DIMENHYDRINATE</b>	SS	S	S
<b>ARLEVERT<sup>®</sup></b> <b>VS</b> <b>CINNARIZINE</b>	SS	SS	SS

S (p ≤ 0.05)

SS (p ≤ 0.01)

SSS (p ≤ 0.001)

NS not significant

Pokud se týče tolerance většina pacientů snášela všechny preparáty velmi dobře, nebo dobře. Nebyly pozorovány žádné vedlejší účinky, nebyly statisticky významné rozdíly.

### Diskuze

Předkládáme výsledky studie o pozorování subjektivních a objektivních účinků léčby kombinovaným preparátem A a jeho jednotlivých částí D a C. Objektivní testy byly prováděny pomocí ENG, CCG, a prahové audiometrie. Z našich statistických šetření můžeme konstatovat, že A měl nejlepší výsledky, sledován D a nakonec byl C. Z toho vyplývá, že v kombinovaném preparátu A jsou úspěšně využity léčebné vlastnosti z D /t.j. snižování periferní aktivity labyrintu zvláště jeho otolitové části, Fermin et al. 1950 a inhibiční vlastnosti na Deitersovo jádro a jeho synapse - Juju et al. 1971, a jeho velmi výrazné antivertiginózní a antiemetické vlastnosti - Gutner et al. 1951/ a Cinnarizinu. U C zvláště jeho sedativní vlastnosti na vestibulární labyrint, a jako Ca-blokátoru - jeho anti-vasokonstričních vlastností. /Philipszoon 1961, Godfraind et al. 1982, Claussen 1990/. Tímto spojením dosahuje preparát A velmi dobrých výsledků u léčby závratí jak centrální tak periferní etiologie. /Halama 1985, Lowatscheff 1986, Sitzer 1986/.

Pro menší efekt u prahové audiometrie a ENG výsledků dodáváme: většina našich pacientů měla starší poruchu sluchu 3-5 roků. Zde nemůžeme očekávat velké změny u obou těchto testů. Ale u "čerstvých případů" a u mladších jedinců /jen malá nesignifikantní skupina/, jsme viděli rychlé vyrovnání k fyziologickým hodnotám, jak u prahové audiometrie, tak u testů ENG.

### Závěr

1. Arlevert má dobré antivertiginózní a antiemetické vlastnosti jak u periferních, tak i centrálních vestibulárních syndromů.
2. Arlevert má dobrý účín i na poruchu sluchu a tinnitus.
3. Arlevert má při statistickém hodnocení lepší výsledky než Cinnarizin a Dimenhydrinat a užívané separátně.
4. Arlevert má velmi dobrou toleranci, nebyly zjištěny žádné vedlejší příznaky.

### Literatura

1. Claussen, C.F.: Zahl der Schwindelpatienten nimmt ständig zu. *Therapiewoche*, 40, 5, 19, X3-4, 1990.
2. Fermin, H. et al.: The effect of Dimenhydrinate upon the labyrinth. *Acta Otolaryngol.* 38., 1950, 543-549.
3. Godfraind, T., et al.: Cinnarizine - a selective calcium entry blocker. *Drugs of Today* 18, 1, 1982, 27-42.
4. Gutner, L., B. et al.: Action of Dimenhydrinate /Dramamine/ and other drugs on vestibular function. *Arch. Otolaryng.* 53, 308-315, /1951/.
5. Halama, P.: Erfahrungen bei der Therapie des vestibulären und zerebralen Schwindels mit Arlevert. *Therapie Woche* 35, 12, 2-10, 1985.
6. Jaju, B., P., Wang, S., C.: Effects of diphenhydramine and Dimenhydrinate on Vestibular Neuronal Activity of Cat: A search for the locus of their anti-motion sickness action. *The J. of Pharmacology and Exper. Therapeutics*, VI. 175, No, 3, 1971, 718-724.7
7. Lowatscheff, K.: Therapie des Altersschwindels in der Praxis. *Therapie Woche*, 25, 2, 2-6, 1985.9
8. Philipszoon, A., J.: Influence of Cinnarizine on the labyrinth and on vertigo. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 7, 2, 1961, 184-190.
9. Sitzer, G.: Das Symptom Schwindel bei zerebrovaskulär Insuffizienz. *Die Med. Welt* 37, 7, 208-210, 1986.

Scripta medica	70	Supplementum 4	60-64	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Department of Pharmacology, Medical Faculty, Masaryk University Brno;

<sup>1</sup>Institute of Experimental Pharmacology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

**Rado Nosál, <sup>1</sup>Viera Jančinová, <sup>1</sup>Margita Petříková**

## **BETAADRENOCEPTOR BLOCKING DRUGS AND BLOOD PLATELETS**

### **Blokátory betaadrenergického receptora a krvné doštičky**

#### **Souhrn**

Blokátory betaadrenergického receptora inhibujú agregáciu krvných doštičiek v poradí: propranolol > alprenolol > metipranolol > oxprenolol > atenolol > praktolol. V tom istom poradí skúmané liečivá inhibovali aktivitu fosfolipázy A<sub>2</sub> a tvorbu tromboxánu B<sub>2</sub> v stimulovaných doštičkách. Predpokladá sa inhibičný účinok skúmaných blokátorov betaadrenergického receptora na kaskádu arachidonovej kyseliny v krvných doštičkách.

#### **Summary**

Betaadrenoceptor blocking (BAB) drugs inhibited blood platelet aggregation in the following rank order of potency: propranolol > alprenolol > metipranolol > oxprenolol > atenolol > practolol. The same rank order of potency was demonstrated for the drugs investigated as to platelet phospholipase A<sub>2</sub> activity and thromboxane B<sub>2</sub> generation inhibition. It is suggested that the effect of BAB drugs studied on stimulated platelets resulted from their inhibition of arachidonic acid pathway in platelets.

Key words: Betaadrenoceptor blocking drugs, blood platelets, phospholipase A<sub>2</sub>, thromboxane B<sub>2</sub>

#### **Introduction**

Blood platelet aggregation plays an important role in many pathologic processes, ischaemic heart disease being the most important one [1]. Betaadrenoceptor blocking (BAB) drugs represent a large group of agents with different efficacies on platelet aggregation both in clinical and experimental conditions [2]. The inhibition of platelet aggregation in vitro was demonstrated to correlate with membrane fluidisation activity of investigated BAB drugs [3]. In this study we are presenting a possible mechanism of antiaggregatory activity of the BAB drugs investigated, which could explain the suggested difference in their mode of action.

#### **Methods and materials**

Platelet preparation

Platelet rich plasma (PRP) was prepared from citrated blood collected from Wistar rats (350g) by centrifugation at 250 x g for 15 min at room temperature. Platelets were then washed by differential centrifugation and resuspended in modified Tyrode's solution as described previously [3].

#### Platelet aggregation

Platelet aggregation was measured turbidimetrically in a dual channel aggregometer (Chrono-log aggregometer, USA) using 450  $\mu$ l samples and the aggregation was evaluated from the recorded aggregation curves, as described earlier [3,4].

#### Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) measurement

The activity of PLA<sub>2</sub> in platelets was detected by means of <sup>3</sup>H-arachidonic acid incorporation and subsequent liberation after stimulation as described by Jančinová and Nosál' [5]. Isolated platelets were incubated with <sup>3</sup>H-arachidonic acid (<sup>3</sup>H-AA; 7.6x10<sup>5</sup> Bq/ml) for 60 min at 37°C, washed twice by centrifugation and their number was adjusted to 1.3 x 10<sup>9</sup>/ml. After incubation with the given drugs and stimulus, the samples were cooled to 0°C and centrifuged (12 000 x g for 3 min at 4°C). The supernatant was removed and sedimented platelets were extracted for lipids in a chloroform : methanol (2:1) mixture. After extraction [5] aliquots from the supernatant and lipid extracts were transferred to 5 ml of Bray's solution and the radioactivity was measured in Packard TriCarb liquid scintillation counter model 300-C. The radioactivity of the supernatant, calculated as the percentage from the total radioactivity in the supernatant and the extracted cells of each sample, represented the liberation of <sup>3</sup>H-AA and was proportional to the activity of phospholipase A<sub>2</sub>.

#### Thromboxane (TXB<sub>2</sub>) generation.

For measurement of TXB<sub>2</sub> the method described by Nosál' et al. [6] was applied. Isolated platelets were adjusted with Tyrode's solution to get 5 x 10<sup>4</sup>/l of the sample. Platelets were pretreated with the BAB drugs studied and subsequently stimulated at 37°C. Incubation was stopped by addition of indomethacin (final concentration 10<sup>-4</sup> mol/l), by cooling the samples in ice and centrifugation of tubes for 3 min at 10 000 x g and 4°C. After centrifugation the TXB<sub>2</sub> content of 100  $\mu$ l supernatant aliquots was determined by using the <sup>125</sup>I-thromboxane B<sub>2</sub> RIA kit and detected in a RIA multidetector counter (JNG 402 Tesla). All results are given as means  $\pm$  SEM and the results were statistically evaluated by Student's t-test.

## Materials

ADP: Serva; collagen: ÚSOL Praha; thrombin: Imuna Š.Michaľany; alprenolol (ALP): AB Hässle; atenolol (ATE), propranolol (PRO) and practolol (PRA): ICI; metipranolol (MET): Spofa Works; oxprenolol (OXP): Ciba. <sup>3</sup>H-arachidonic acid and thromboxane RIA kit were the kind gift of Dr. I. Mucha, Institute of Isotopes CO, Ltd, Budapest, Hungary. All other chemicals were of analytical grade from commercial sources.

## Results

The effect of propranolol (PRO), alprenolol (ALP), metipranolol (MET), oxprenolol (OXP), practolol (PRA) and atenolol (ATE) in the concentration of 10<sup>-4</sup> mol/l on ADP-, collagen- and thrombin-stimulated platelets is demonstrated in figure 1.

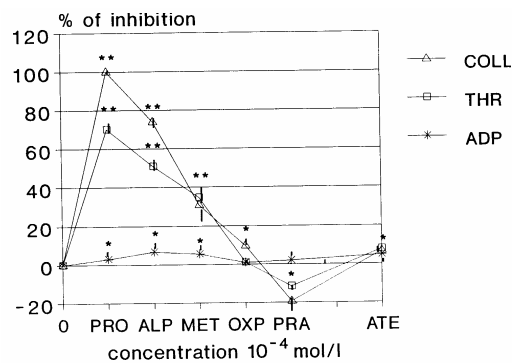


Figure 1. Effect of propranolol (PRO), alprenolol (ALP), metipranolol (MET), oxprenolol (OXP), practolol (PRA) and atenolol (ATE) on blood platelet aggregation stimulated with collagen (COLL), thrombin (THR) and ADP.

Values are means from 6 to 8 experiments  $\pm$  S.E.M, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$

The drugs in the figure are ordered according to their efficacy to inhibit stimulated platelet aggregation. PRO inhibited completely (100%) the aggregation induced with collagen, by 70% the aggregation induced with thrombin and by 3% the aggregation stimulated with ADP. The collagen- and thrombin-induced aggregation was also highly significantly inhibited with ALP and MET by 74% and 31%, respectively. OXP significantly inhibited only collagen-stimulated aggregation. The ADP-induced aggregation was significantly decreased with ALP and MET by 7% and 5%, respectively. It is evident from the figure that ATE was almost ineffective, inhibiting only thrombin-stimulated aggregation by 8%. On the other hand, PRA potentiated the thrombin- and collagen-induced aggregation by 11% and 19%, respectively.

Figure 2 shows the effect of the BAB drugs studied on PLA<sub>2</sub> activity in isolated platelets as measured by <sup>3</sup>H-AA liberation. Stimulation of platelets with thrombin increased the PLA<sub>2</sub> activity by 12.4%. In thrombin-stimulated platelets PRO, ALP and MET significantly decreased the PLA<sub>2</sub> activity by 46%, 42% and 24%, respectively. ATE, on the other hand, increased thrombin-induced activity of PLA<sub>2</sub> by 8%.

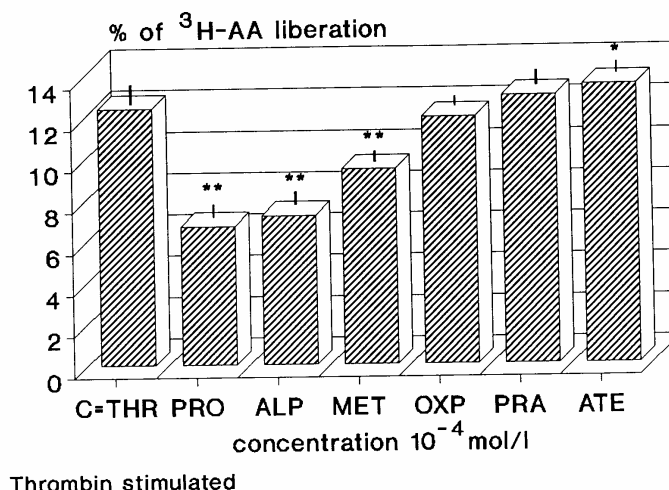


Figure 2. Phospholipase A<sub>2</sub> activity expressed as <sup>3</sup>H-arachidonic acid liberation from membrane phospholipids in isolated blood platelets pretreated with BAB drugs and stimulated with thrombin (THR). PRO = propranolol, ALP = alprenolol, MET = metipranolol, OXP = oxprenolol, PRA = practolol, ATE = atenolol

Each value is the mean from 5 to 7 measurements  $\pm$  S.E.M, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$

The effect of BAB drugs on TXB<sub>2</sub> generation in thrombin-stimulated platelets is shown in figure 3. Stimulated platelets generated 74.2 pg TXB<sub>2</sub> /10<sup>6</sup> platelets. PRO, ALP, MET and OXP significantly decreased thrombin-induced TXB<sub>2</sub> generation by 86.9%, 79%, 81% and 61%, respectively. PRA and ATE were without any effect.

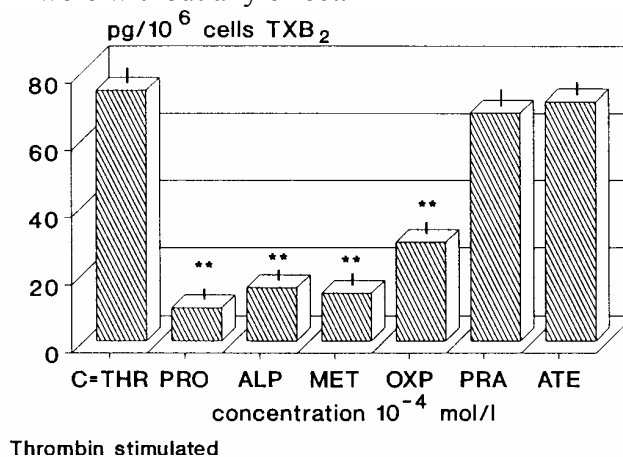


Figure 3. Effect of propranolol (PRO), alprenolol (ALP), metipranolol (MET), oxprenolol (OXP), practolol (PRA) and atenolol (ATE) on thromboxane B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>) generation in isolated blood platelets stimulated with thrombin (THR).

Values are means from 3 to 5 experiments  $\pm$  S.E.M., \*\*  $p < 0.01$

## Discussion

PRO, ALP and MET decreased significantly platelet aggregation in the rank order of stimuli: collagen > thrombin > ADP. OXP decreased only collagen-stimulated aggregation. PRA on the other hand, potentiated collagen- and thrombin-induced aggregation and ATE was without any pronounced effect.

Multiple inhibition of stimulated aggregation has suggested that BAB drugs may interfere with platelet glycoprotein receptors, phospholipase C activation and intracellular calcium activation (collagen stimulation [7]), or phosphorylation of G-coupled receptors with phospholipase C activation (thrombin stimulation [8]), or adenylate cyclase inhibition with subsequent calcium activation (ADP stimulation [9]). Since the platelet activation was associated with calcium mobilisation in platelets [10], the inhibitory effect of BAB drugs on aggregation resulted most probably from decreased availability of this ion for the final step in platelet aggregation.

The antiaggregatory BAB drugs PRO, ALP and MET decreased phospholipase A<sub>2</sub> activity which was demonstrated to be strongly dependent on calcium mobilisation [11]. The higher the inhibition of stimulated arachidonic acid liberation the higher the inhibition of aggregation. The phospholipase A<sub>2</sub> induced liberation of arachidonic acid triggers the arachidonic acid pathway, with thromboxane generation as the final step of cyclooxygenase activation.

Inhibition of thromboxane B<sub>2</sub> generation with BAB drugs highly correlated with their inhibitory effect on thrombin-stimulated platelet aggregation, arachidonic acid liberation from membrane phospholipids and with their membrane fluidisation activity [6]. Almost identical relationships were found for chloroquine and some H<sub>1</sub>-histamine antagonists [12,13] indicating that the inhibition of platelet aggregation by cationic amphiphilic drugs was not mediated through specific receptors but rather by their interaction with stimulus-activated and calcium-dependent phospholipase A<sub>2</sub>.

## Acknowledgement



This work was supported in part by the Slovak Grant Agency for Science (grant No. 2/1019/96).

## References

- [1] Mehta J. Platelets and prostaglandins in coronary artery disease. Rationale for use of platelet suppressive drugs. *J. Am. Med. Assoc.* 1983; 249: 2818-2823.
- [2] Weksler BB, Gillick M, Pink J. Effect of propranolol on platelet function. *Blood* 1977; 46: 185-196.
- [3] Nosál' R, Jančinová V, Ondriaš K, Jakubovský J, Balgavý P. The interaction of beta-adrenoceptor blocking drugs with platelet aggregation, calcium displacement and fluidisation of the membrane. *Biochim. Biophys. Acta* 1985; 821: 217-228.
- [4] Nosál' R, Jančinová V, Petříková M. Antiaggregatory properties of beta-adrenoceptor blocking drugs are related to their physico-chemical properties. *Platelets* 1992; 3: 29-33.
- [5] Jančinová V, Nosál' R. Differences among betaadrenoceptor blocking drugs in modifying platelet aggregation and arachidonic acid liberation under thrombin stimulation. *Thromb. Res.* 1989; 54: 687-698.
- [6] Nosál' R, Jančinová V, Petříková M. On the relationship between the inhibition of thrombin stimulated aggregation and thromboxane formation in isolated platelets treated with betaadrenoceptor blocking drugs. *Thromb. Res.* 1992; 68: 333-344.
- [7] Blockmans D, Deckmyn H, Vermynen J. Platelet activation. *Platelets* 1995; 9: 143-156.
- [8] Yamamoto N, Greco NJ, Bernard MR, Tanoue K, Yamazaki H, Jamieson GA, Michelson AD. Glycoprotein Ib (GP Ib)-dependent and GP Ib-independent pathways of thrombin-induced platelet activation. *Blood* 1991; 77: 1740-1748.
- [9] Colman RW, Figures WR, Colman RF, Morinelli TA, Niewiarowski S, Millis DCB. Identification of two distinct adenosine diphosphate receptors in human platelets. *Trans. Assoc. Am. Physicians* 1980; 93: 305-316.
- [10] Siffert W, Akkerman JWN. Activation of sodium-proton exchange is a prerequisite for Ca<sup>2+</sup> mobilization in human platelets. *Nature* 1987; 325: 456-458.
- [11] Sweatt JD, Johnson SL, Cragoe EJ, Limbird LE. Inhibitors of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange block stimulus-provoked arachidonic acid release in human platelets. *J. Biol. Chem.* 1985; 260: 12910 - 12919.
- [12] Jančinová V, Nosál' R, Petříková M. On the inhibitory effect of chloroquine on blood platelet aggregation. *Thromb. Res.* 1994; 74: 495-504.
- [13] Nosál' R, Jančinová V, Petříková M. Effect of antihistaminics on stimulated blood platelet functions. *Čs. Fyziol.* 1995; 44: 21-23.

Scripta medica	70	Supplementum 4	65-68	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Institute of Experimental Pharmacology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava,

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Medical Faculty, Masaryk University, Brno.

**Viera Jančinová, <sup>1</sup>Rado Nosál' and Peter Matejka**

## **EFFECT OF CHLOROQUINE ON HUMAN BLOOD PLATELET FUNCTIONS**

### **Summary**

The *in vitro* effect of the antimalarial drug chloroquine on aggregation of human blood platelets was studied. Chloroquine inhibited stimulated platelet aggregation in a dose-dependent way. Depending on the aggregation stimulus used, its minimum effective concentrations were 20  $\mu\text{mol/l}$  (ADP, PMA), 50  $\mu\text{mol/l}$  (adrenaline), 100  $\mu\text{mol/l}$  (thrombin) and 1000  $\mu\text{mol/l}$  (A23187). Moreover, liberation of arachidonic acid was decreased in the presence of chloroquine, but only in thrombin- and not in A23187-stimulated platelets. This indicates inhibition of phospholipase  $A_2$ , however a direct effect on the enzyme, its substrate or on calcium ions seems to be less possible. As decreased thromboxane  $B_2$  generation without parallel decrease in arachidonate liberation was observed in A23187 stimulated platelets, a further inhibitory effect of chloroquine at some other steps of arachidonic acid cascade, like thromboxane synthase, is suggested.

Key words: chloroquine, human blood platelets, platelet aggregation, arachidonic acid liberation, thromboxane  $B_2$  generation, phospholipase  $A_2$

### **Introduction**

Chloroquine, one of the most useful antimalarial drugs with anti-inflammatory and immunomodulatory properties, was found to accumulate significantly in platelets reaching up to millimolar concentrations, and administered orally, it decreased platelet aggregation in patients and healthy volunteers [1-3]. Under *in vitro* conditions, chloroquine inhibited uptake and caused release of serotonin [1,2], inhibited aggregation and decreased generation of thromboxane  $A_2$  in platelets [4,5]. As the effects were accompanied by decreased liberation of arachidonic acid, an interference of the drug with phospholipase  $A_2$  was supposed [5-7]. It is not clear whether chloroquine inhibits the enzyme directly, by interference with its phospholipid substrate, by decreased availability of  $\text{Ca}^{2+}$  ions, or by inhibition of signal transduction at a step upstream of phospholipase  $A_2$ . To characterise the site of chloroquine action more precisely, we compared its effect on platelet aggregation induced by 5 stimuli and initiated by different pathways.

### **Materials and methods**

Chloroquine phosphate = ACO, Sweden; ADP, human thrombin = Imuna, Slovakia; calcium ionophore A23187 = Calbiochem, Switzerland; adrenaline (epinephrine bitartrate salt) and PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) = Sigma, USA; [5,6,8,9,11,14,15 (N)<sup>3</sup>H]- arachidonic acid (7 TBq /mmol/l) and <sup>125</sup>I-TXB<sub>2</sub> RIA kit = kind gifts from Dr. I. Mucha, Institute of Isotopes, Budapest, Hungary.

Platelet rich plasma (PRP) was isolated by centrifugation (200 x g, 15 min) of fresh blood from healthy male volunteers aged 20 - 50 years. The platelets were separated by subsequent centrifugation of PRP at 450 x g for 10 min, gently resuspended in buffered Ca<sup>2+</sup> - free Tyrode's solution [4] with 5.4 mmol/l EDTA and washed by centrifugation at 450 x g for 6 min in the same buffer, with EDTA omitted. The platelet count was adjusted to 1x10<sup>4</sup>/ l (thromboxane B<sub>2</sub> generation), 2x10<sup>5</sup>/ l (aggregation) or 4x10<sup>5</sup>/ l (arachidonic acid liberation).

Platelets were preincubated with chloroquine for 30 s at 37°C and stimulated for 5 min with ADP (2 μmol/l), adrenaline (4 μmol/l), PMA (50 nmol/l), thrombin (0.05 NIH U/ml ) or Ca<sup>2+</sup> - ionophore A23187 (1.8 μmol/l). Platelet aggregation was measured turbidimetrically, liberation of arachidonic acid and thromboxane B<sub>2</sub> generation were determined by radiometry and radioimmunoassay, respectively [5].

## Results

Chloroquine inhibited stimulated aggregation of human platelets in a dose-dependent way (Table 1).

Table 1: Dose-dependent effect of chloroquine (CQ) on human platelet aggregation stimulated by ADP, adrenaline (ADRE), phorbol myristate acetate (PMA), thrombin (THR) and Ca<sup>2+</sup> - ionophore A23187. Mean amplitudes of aggregation curves ± SEM are given. Significant changes in comparison to controls. \*p < 0.05; \*\*p < 0.01; n = 5 - 7.

CQ ( mmol/l)	ADP	ADRE	PMA	THR	A23187
0	33.9 ± 1.1	23.7 ± 1.6	37.0 ± 1.2	42.6 ± 1.2	42.1 ± 2.1
1	33.2 ± 1.6	22.2 ± 2.3	37.9 ± 1.6	41.0 ± 1.8	42.7 ± 3.5
10	31.5 ± 1.3	20.4 ± 2.6	34.6 ± 1.4	41.0 ± 3.5	42.0 ± 1.8
20	26.3 ± 1.7**	19.2 ± 1.6	31.6 ± 1.1**	-	-
50	22.2 ± 1.5**	15.8 ± 1.7**	24.0 ± 1.7**	-	-
100	20.4 ± 2.1**	11.9 ± 1.4**	21.3 ± 1.7**	21.0 ± 3.1**	34.9 ± 2.1
1000	5.4 ± 0.8**	5.4 ± 0.4**	-	2.9 ± 0.8**	20.7 ± 0.8**

Depending on the aggregation stimulus used, its minimum effective concentrations were 20 μmol/l (ADP, PMA), 50 μmol/l (adrenaline) and 100 μmol/l (thrombin). In platelets stimulated by Ca<sup>2+</sup> -ionophore A23187, the amplitudes of aggregation curves were significantly decreased only in the presence of 1000 μmol/l chloroquine (by 50.8%).

Open columns on Figure 1 demonstrate the effect of chloroquine on liberation of <sup>3</sup>H-arachidonic acid related radioactivity (<sup>3</sup>H-AA) from human platelets. Thrombin and calcium ionophore A23187 released 16.6 ± 0.8 % and 31.4 ± 5.9 % of <sup>3</sup>H-AA, respectively. Chloroquine (10 and 100 μmol/l) decreased this process in thrombin-stimulated platelets (to 12.4 ± 0.4% and 4.8 ± 0.2%); the liberation induced by A23187 was not significantly affected. Generation of TXB<sub>2</sub> (hatched columns in Figure 1) induced by thrombin declined in the presence of 10 and 100 μmol/l chloroquine by

59.4% and 89.6%, respectively. In A23187 stimulated platelets, the same drug concentrations lowered thromboxane content by 7.8% and 31.0%.

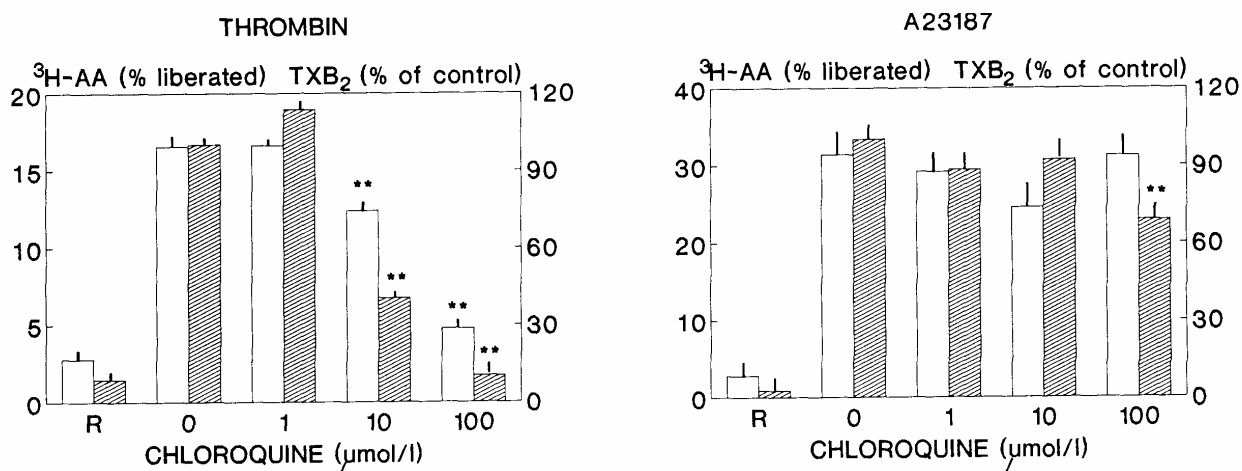


Figure 1: Arachidonic acid liberation ( $^3\text{H-AA}$ , open columns) and thromboxane  $\text{B}_2$  generation ( $\text{TXB}_2$ , hatched columns) in platelets treated with chloroquine and stimulated by thrombin or  $\text{Ca}^{2+}$ -ionophore A23187. R = resting platelets;  $n = 10$ , mean  $\pm$  SEM, \*\* $p < 0.01$ .

## Discussion

The chloroquine-induced inhibition of stimulated aggregation may result from its interaction with human platelets at different sites. The first and the best characterised is interference with the arachidonic acid cascade. Minimally two possible sites seem to exist for this interaction. Chloroquine, similarly to propranolol [8], could inhibit thromboxane synthase, as decreased thromboxane  $\text{B}_2$  generation without parallel decrease in arachidonate liberation was observed in A23187 stimulated platelets (Figure 1). The second site is its interaction with phospholipase  $\text{A}_2$  activity, indicated by the decreased liberation of arachidonic acid [5-7, Fig.1]. Chloroquine could decrease activity of the enzyme by direct interaction (like mepacrine [9]), by formation of complexes with phospholipids, which are resistant to phospholipase  $\text{A}_2$  hydrolysis (like other cationic amphiphilic drugs [10]), or by decreased availability of calcium. However in our experiments, chloroquine failed to inhibit arachidonate mobilisation induced by A23187 (Figure 1), thus inhibition of signal transduction upstream of phospholipase  $\text{A}_2$  (at the level of membrane glycoproteins and/or phospholipids?) seems to be more likely.

Chloroquine may interact with membrane glycoproteins and receptors and in this way affect the initial step(s) of platelet activation. This assumption is supported by the facts that (i) the drug antagonised the effect of ADP and adrenaline (stimuli acting through specific membrane receptors) at 20 times lower concentrations than the effect of A23187, which bypasses membrane processes (Table 1), and (ii) the structurally similar drug quinidine was demonstrated to directly interact with glycoprotein IIb/IIIa [11].

Moreover, owing to its divalent cationic moiety, chloroquine may interact with negatively charged polar lipids [7,10]. As the drug passes freely through membranes, it can specifically bind to phosphatidylserine present on the inner leaflet of the platelet membrane. This must have resulted in protein kinase C inhibition, since the recorded decreased PMA aggregation (Table 1) can be mediated solely by activation of the enzyme. Furthermore, binding of chloroquine to phosphoinositols can decrease activity of phospholipase C (effect demonstrated with mepacrine [12]) and inhibit platelet aggregation through reduced generation of second messengers -

diacylglycerol and inositol (1,4,5)triphosphate. Finally, interaction of chloroquine with anionic phospholipids may alter membrane receptor function (by altered lipid microenvironment) and displace membrane bound calcium. The latter could play a role in A23187 stimulated aggregation, as it was strongly inhibited by decreased availability of membrane calcium and as the inhibitory effect of chloroquine on this aggregation was abolished by isomolar concentrations of  $\text{Ca}^{2+}$  ions [4].

The proposed interference of chloroquine with the initial step(s) of platelet activation (thus modifying simultaneously several regulatory pathways) makes its inhibitory effect more global than that of aspirin. Moreover, its *in vitro* antiaggregatory effectiveness and that in concentrations which correspond to therapeutic levels and its inhibition of other processes closely related to atherogenesis (PDGF- stimulated arterial smooth muscle cells proliferation and cholesterol accumulation in macrophages) suggest a new quality of chloroquine as a cardio- and cerebrovascular protective drug [2].

### Acknowledgements

We are grateful to Dr. Istvan Mucha from the Institute of Isotopes, Budapest, Hungary, for supplying us with  $^3\text{H}$ -arachidonic acid and  $\text{TXB}_2$  RIA kits. This work was supported in part by the Slovak Grant Agency for Science (grant No.2/1019/96).

### References

- [1] Costa JL, Fay DD, Kirk KL. Quinacrine and other basic amines in human platelets: Sulfolipid compartmentation and effects on serotonin. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1984; 43: 25-42.
- [2] Nosál R. Blood platelets and chloroquine. *Platelets* 1995; 6: 310-316.
- [3] Cummins D, Faint R, Yardumian DA, Dawling S, Mackie I, Macchin SJ. The *in vitro* and *ex vivo* effect of chloroquine sulphate on platelet function: implications for malaria prophylaxis in patients with impaired haemostasis. *J. Trop. Med. Hyg.* 1990; 93: 112-115.
- [4] Jančinová V, Nosál R, Petříková M. On the inhibitory effect of chloroquine on blood platelet aggregation. *Thromb. Res.* 1994; 74: 495-504.
- [5] Nosál R, Jančinová V, Petříková M. Chloroquine inhibits stimulated platelets at the arachidonic acid pathway. *Thromb. Res.* 1995; 77: 531-542.
- [6] Drábiková K, Pečivová J, Nosál R. Effect of chloroquine on arachidonic acid pathway in isolated mast cells. *Inflamm. Res.* 1996; Supplement 1: S13-S14.
- [7] Kodavanti UP, Mehendale HM. Cationic amphiphilic drugs and phospholipid storage disorder. *Pharmacol. Rev.* 1990; 42: 327-354.
- [8] Cohen DA, Povalski HJ, Rinehart RR, Barclay BW, van Orsdaell D, Tsai C, Sakane Y. Thromboxane  $\text{A}_2$  ( $\text{TXA}_2$ ) synthetase inhibition causes endoperoxide shunting towards  $\text{PGI}_2$  and  $\text{PGE}_2$  synthesis in canine whole blood. *Feder. Proc.* 1983; 42: 640-645.
- [9] Mahadevappa VG, Sicilia F. Mobilization of arachidonic acid in thrombin-stimulated human platelets. *Biochem. Cell. Biol.* 1990; 68: 520-527.
- [10] Girke S, Mohr K, Schrape S. Comparison between the activities of cationic amphiphilic drugs to affect phospholipid membranes and to depress cardiac function. *Biochem. Pharmacol.* 1989; 38: 2487-2496.
- [11] Chong BH, Kaplin IJ. Effect of quinidine on platelets. *Haemostasis* 1990; 20: 106-111.
- [12] Siess W. Molecular mechanisms of platelet activation. *Physiol. Rev.* 1989; 69: 58-178.

Scripta medica	70	Supplementum 4	69-74	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Department of Pharmacology Medical Faculty MU Brno

<sup>1</sup>Institute of Experimental Pharmacology Slovak Academy of Sciences

<sup>2</sup>Institute of Haematology and Transfusiology, Bratislava

**Rado Nosál, <sup>1</sup>Viera Jančinová, <sup>2</sup>Edita Danihelová**

## **On the inhibition of blood platelets with some histamine H<sub>1</sub>- antagonists**

### **K inhibícii krvných doštičiek niektorými H<sub>1</sub>- antagonistami**

#### **Souhrn**

Bromadryl a Dithiaden v koncentračnej závislosti inhibovali doštičkovú agregáciu stimulovanú ADP, adrenalinom, trombínom a A 23187. Dithiaden bol 2- až 5-násobne účinnejší v inhibícii ADP- a trombínom-stimulovanej agregácie. Bromadryl a Dithiaden v koncentrácii 100 μmol/l významne znižovali trombínom stimulovanú aktivitu fosfolipázy A<sub>2</sub> doštičiek, Dithiaden bol 100-násobne účinnejší na zníženie produkcie doštičkového tromboxánu B<sub>2</sub>.

#### **Summary**

Bromadryl and Dithiaden dose-dependently inhibited platelet aggregation induced with ADP, adrenaline, thrombin, and A23187. Dithiaden was found to be 2 to 5 times more active in inhibiting ADP- and thrombin-stimulated aggregation, respectively. Bromadryl and Dithiaden in the concentration of 100 μmol/l significantly decreased thrombin-stimulated activity of phospholipase A<sub>2</sub> in platelets, while Dithiaden was 100-times more effective in decreasing the generation of platelet thromboxane B<sub>2</sub>.

Key words: Bromadryl, Dithiaden, human blood platelets, aggregation, arachidonic acid, thromboxane

#### **Introduction**

A number of cationic amphiphilic drugs (CAD) was reported to interact with stimulated blood platelets in vitro by receptor-independent mechanisms [1,2]. The H<sub>1</sub>-antagonists Bromadryl<sup>R</sup> (BRO) and Dithiaden<sup>R</sup> (DIT) were demonstrated to inhibit rat platelets in vitro [3]. Since histamine receptors on blood platelets were identified to be of the H<sub>2</sub>-subtype [4] and the role of histamine in platelet functions has not been fully recognized as yet we considered the interaction of BRO and DIT with platelets of great importance. In this study we investigated the effect of BRO and DIT on human blood platelets in vitro.

## **Methods and materials**

### *Blood sampling and platelet preparation*

Blood was taken at a blood bank from healthy volunteers (males, aged 20 to 50 years) by antecubital venepuncture and was immediately mixed with 3.8% v/w trisodium citrate, ratio 9 ml of blood to 1 ml of citrate, in polypropylene centrifugation tubes. Blood was centrifuged for 15 min at 200 x g and 22°C. Aliquots from platelet rich plasma (PRP) and sedimented blood were recentrifuged for 30 min at 2 200 x g and 22°C to obtain platelet poor plasma (PPP) for diluting PRP so as to get 200 000 platelets / µl of sample. The number of platelets was adjusted after counting in Thrombocounter Coulter.

### *Platelet aggregation*

Platelet rich plasma (450 µl) was stabilised in an aggregometer (Agrometer Chrono-log) at 37°C for 1 min. Subsequently, the drug tested was added in the amount of 20 µl and incubated with the sample for 30 s. The aggregation was induced by adding the stimulus (ADP, adrenaline) in the amount of 20 µl and the aggregation was recorded for 2.5 min. To obtain isolated platelets, PRP was transferred and mixed with a mixture of 4.5% w/v citric acid and 6.6% w/v dextrose in the amount of 50 µl per 1 ml of PRP. After centrifugation at 980 x g for 10 min at 22°C, PPP was decanted and platelets were resuspended in an equal volume of PPP with Tyrode's solution + EDTA. After stabilising the suspension of platelets for 10 min at room temperature, the samples were centrifuged for 6 min at 980 x g and 22°C. Sedimented platelets were resuspended in an equal volume of Tyrode's solution without EDTA and the suspension was adjusted with Tyrode's solution to get 200 platelets per 1 µl. For aggregation studies, 450 µl of platelet suspension was stabilised for 2 min at 37°C, the drug tested was added in the amount of 20 µl and incubated for 30s. Aggregation was induced either with calcium ionophore A23187 (20 µl, final concentration 1.8 µmol/l) or with thrombin (20 µl, 0.05 NIH U/ml) and was recorded for 2.5 min.

### *Liberation of arachidonic acid (AA)*

The PRP was mixed with a mixture of 4.5 % citric acid and 6.6% dextrose in the amount of 50 µl per 1 ml PRP and with <sup>3</sup>H-arachidonic acid in the amount of 0.5 µCi/1 ml of PRP. After 60 min incubation at 37°C, the samples were centrifuged for 10 min at 980 x g and 22°C and the platelets were washed two times by centrifugation in an equal volume of Tyrode's buffer with EDTA for 6 min at 980 x g and 22°C. The supernatant was removed and the platelets were resuspended in Tyrode's buffer without EDTA and after counting adjusted with Tyrode's buffer to get 400 000 platelets per 1 µl of sample. The samples of 1 ml were stabilised for 2 min at 37°C and the incubation was followed for 30 s with 27 µl of the drug tested. The stimulation was induced with thrombin (20 µl, final concentration 0.5 NIH U/ml) for 5 min at 37°C. The incubation was terminated by centrifugation of samples at 12 000 x g for 3 min at 4°C. After removal of the supernatant the sedimented platelets were resuspended in 0.5 ml of H<sub>2</sub>O and 2 ml of the extraction mixture consisting of chloroform, methanol and H<sub>2</sub>O in a ratio 20:40:1. <sup>3</sup>H-AA was determined as described earlier [5].

### *Thromboxane generation*

Platelets were isolated and prepared by the same procedure as described for <sup>3</sup>H-AA liberation. The platelets were diluted with EDTA-free Tyrode's buffer to get 10 000 platelets/µl of the sample. Tubes with 450 µl of platelet suspension were stabilised at 37°C for 2 min and treated subsequently with the drug tested in the amount of 20 µl for 30 s. Stimulation with 20 µl of thrombin (0.05 NIH U/ml) followed for 5 min at 37°C. Incubation was stopped by cooling the tubes to 0°C and by addition of indomethacin (final concentration 0.1 mmol/l). After centrifugation at 14 000 x g for 2 min and 4°C, the generation of thromboxane was determined in 15 µl of the supernatant by means of <sup>125</sup>I-TXB<sub>2</sub> RIA kit in RIA Multidetector Counter JNG 402 (Tesla).

## Materials

Bromadryl<sup>R</sup> and Dithiaden<sup>R</sup> : Léčiva Praha, Czech Rep.; ADP, SDS (sodium dodecylsulphate), thiobarbituric acid: Serva, Germany; epinephrine bitartrate: Sigma, USA; calcium ionophore A23187: Calbiochem, Switzerland; human thrombin: Imuna Š. Michal'any, Slovak Rep. 5,6,8,9,11,14,15-N-<sup>3</sup>H-arachidonic acid (7TBq/mmol) and <sup>125</sup>I- thromboxane B<sub>2</sub> RIA kit: a kind gift from dr. I. Mucha, Institute of Radioisotopes Budapest, Hungary.

## Results

The effect of BRO and DIT on stimulated human platelet aggregation is shown in figure 1 A,B. BRO in the concentration of 20  $\mu\text{mol/l}$  significantly inhibited the aggregation of platelets stimulated with A23187 and thrombin from  $42.6 \pm 5.7$  mm to  $21.7 \pm 4.2$  mm and  $17.2 \pm 3.5$  mm, respectively. In the concentration of 100  $\mu\text{mol/l}$  BRO, significantly inhibited the aggregation induced with ADP and adrenaline from  $35.7 \pm 3.2$  mm and  $23.3 \pm 2.1$  mm to  $29.2 \pm 1.9$  mm and  $12.7 \pm 1.1$  mm, respectively. DIT in the concentration of 10  $\mu\text{mol/l}$  significantly decreased platelet aggregation induced with ADP from  $35.7 \pm 3.2$  mm to  $30.1 \pm 2.8$  mm. In the concentration of 20  $\mu\text{mol/l}$ , DIT significantly decreased the aggregation stimulated with adrenaline, thrombin and A23187 from  $21.2 \pm 1.9$  mm,  $41.9 \pm 3.5$  mm and  $44.9 \pm 3.8$  mm to  $15.9 \pm 1.2$  mm,  $23.3 \pm 2.1$  mm and  $30.7 \pm 2.9$  mm, respectively.

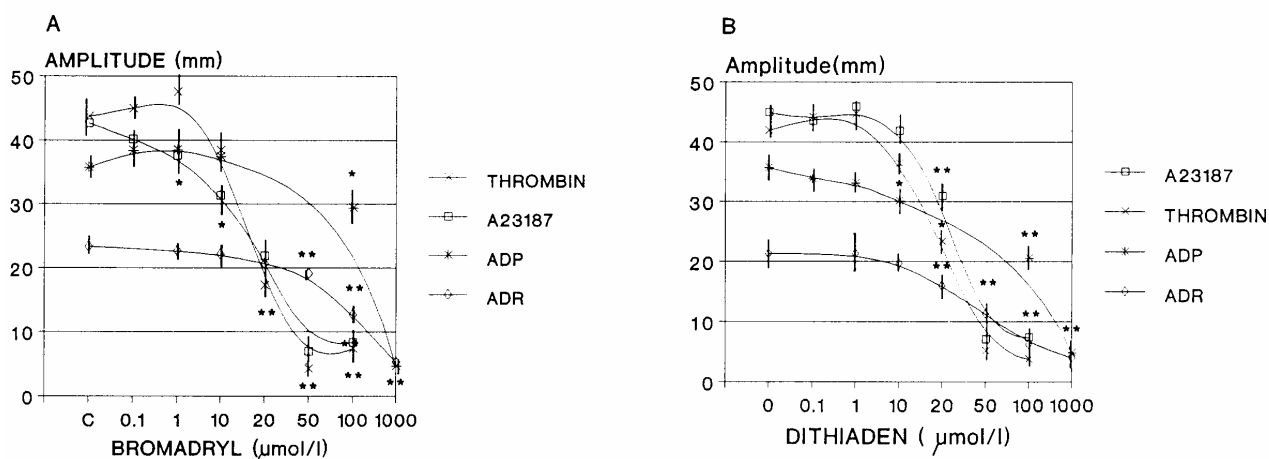


Figure 1

A. Effect of Bromadryl on human platelet aggregation induced with ADP (adenosine diphosphate), A23187 (calcium ionophore) and adrenaline (ADR). Each point is the mean of 5 to 7 measurements  $\pm$  SEM. \*\*  $p < 0.01$

B. Effect of Dithiaden on human platelet aggregation induced with ADP (adenosine diphosphate), A23187 (calcium ionophore) and adrenaline (ADR). Each point is the mean of 5 to 7 measurements  $\pm$  SEM. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$

Figure 2A shows the effect of BRO and DIT on thrombin-stimulated <sup>3</sup>H-AA liberation from platelet membrane phospholipids. BRO and DIT in the concentration of 100  $\mu\text{mol/l}$  significantly decreased the <sup>3</sup>H-AA liberation induced with thrombin from  $18.6 \pm 1.8$  % to  $5.6 \pm 0.6$  % and  $8.8 \pm 0.8$  %, respectively.



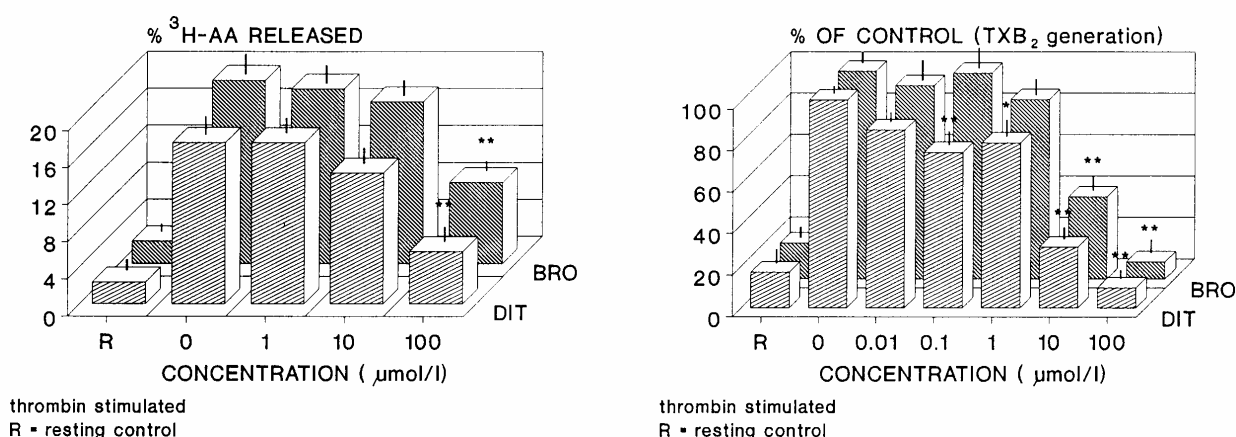


Figure 2  
Effect of Bromadryl (BRO) and Dithiaden (DIT) on <sup>3</sup>H-arachidonic acid liberation (left panel) and thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) generation (right panel).  
Each value is the mean of 4 to 6 measurements ± SEM. \* p < 0.05, \*\* p < 0.01

The effect of BRO and DIT on thromboxane B<sub>2</sub> generation in thrombin-stimulated platelets is shown in figure 2B. DIT in the concentration of 0.1 μmol/l significantly decreased thrombin-induced TXB<sub>2</sub> generation to 74.8 ± 3.7% . BRO in the concentration of 10 μmol/l significantly decreased TXB<sub>2</sub> generation in thrombin-stimulated platelets to 39.5%.

## Discussion

BRO and DIT inhibited human blood platelet aggregation in vitro in a dose-dependent manner. The inhibition of aggregation by BRO followed the rank order of stimuli: thrombin > A23187 > adrenaline > ADP. DIT inhibited the aggregation in the following rank order of stimuli: ADP > thrombin > A23187 > adrenaline. DIT, as compared with BRO, was 5 to 10 times more effective in inhibiting aggregation induced with ADP and adrenaline. Such a wide range of the inhibitory effect of BRO and DIT could indicate a possible interaction at receptor as well as nonreceptor stimulatory pathways. Adrenaline and ADP stimulation of platelets is considered to be receptor-mediated via adenylate cyclase inhibition with subsequent decrease in the platelet cAMP [6,7]. Thrombin, on the other hand, stimulates platelets by binding to glycoprotein Ib and by proteolytic degradation of glycoprotein V [8,9]. Calcium ionophore A23187 stimulated platelets by increasing plasma Ca<sup>2+</sup> influx, bypassing membrane receptors [10,11].

DIT and BRO dose-dependently decreased AA liberation from membrane phospholipids of platelets stimulated with thrombin. This indicates that BRO and DIT may interfere with stimulated platelets by preventing the activation of phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), which splits AA from membrane phospholipids. A similar effect was demonstrated for lipophilic betaadrenoceptor blocking drugs and chloroquine in rat platelets [5,12].

As thromboxanes are considered the most active auto-proaggregatory active substances in platelets, their inhibition indicates a possible mechanism of DIT and BRO action. Interestingly, DIT in 0.1 μmol/l concentration, decreased thrombin stimulated generation of TXB<sub>2</sub>, while BRO was effective only in almost 100 times higher concentrations (10 μmol/l).

DIT and BRO possess a cationic amphiphilic structure, typical for most pharmacologically active drugs. In addition to the receptor mediated effects of CAD, these compounds are able to interact with cell membrane phospholipids. Such interaction, involving their high affinity to negatively charged membrane phospholipids, resulted in the formation of CAD-phospholipid complexes [13,14]. These complexes have a resistance to phospholipase A<sub>2</sub>, which is unable to split AA [15].

As the inhibitory effect in human platelets was very similar to that in rat platelets [16], we assume that DIT and BRO, like other CAD, may pass through the platelet plasma membrane and interact with PLA<sub>2</sub> and/or thromboxane synthase by an as yet unidentified mechanism. Inhibition of these enzymes by DIT and BRO resulted in a dose-dependent decrease of platelet aggregation induced by different stimuli. This beneficial side effect of BRO and DIT on platelet aggregation in vitro should be verified in vivo, as DIT and BRO have been used clinically in many indications for several years.

### Acknowledgement

This work was supported in part by the Slovak Grant Agency for Sciences (grant No. 2/1019/96).

### References

- [1] Nosál' R, Jančinová V, Petříková M. Antiaggregatory properties of beta-adrenoceptor blocking drugs are related to their physico-chemical properties. *Platelets* 1992; 3: 29-33.
- [2] Jančinová V, Nosál' R, Petříková M. On the inhibitory effect of chloroquine on blood platelet aggregation. *Thromb.Res.* 1994; 74:495-504.
- [3] Nosál' R, Jančinová V, Petříková M. Effect of antihistaminics on stimulated blood platelet functions. *Čs. Fyziol.* 1995; 44: 21-23.
- [4] Launay JM, Bondoux D, Oset-Gasque MI, Emami S, Mutel V, Haimart M. Increase of human platelet serotonin uptake by atypical histamine receptors. *Amer. J. Physiol.* 1994; 266: 526-536.
- [5] Jančinová V, Nosál' R. Differences among betaadrenoceptor blocking drugs in modifying platelet aggregation and arachidonic acid liberation under thrombin stimulation. *Thromb. Res.* 1989; 54: 687-698.
- [6] Lenox RH, Ellis I, Van Riper D, Ehrlich YH. Alpha<sub>2</sub>-adrenergic receptor mediated regulation of adenylate cyclase in the intact human platelet. Evidence for a receptor reserve. *Mol. Pharmacol.* 1985;27:1-9.
- [7]Clare KA, Scrutton MC, Thompson NT. Effect of alpha<sub>2</sub>-adrenoceptor agonists and of related compounds on aggregation and adenylate cyclase activity in human platelets. *Br. J. Pharmacol.* 1984; 82: 467-476.
- [8] Takamatsu JM, Horne III MK, Graluick HR. Identification of the thrombin receptor on human platelets by chemical crosslinking. *J.Clin.Invest.* 1986; 77: 62-68.
- [9] Phillips DR, Agin PP. Platelet plasma membrane glycoproteins. Identification of a proteolytic substrate for thrombin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1977;75:940-947.
- [10]Rittenhouse-Simons S. Differential activation of platelet phospholipase by thrombin and ionophore A23187. *J.Biol.Chem.* 1987; 256: 4153-4165.
- [11] Nosál' R, Jančinová V, Petříková M. The role of intracellular calcium in A23187 stimulated and beta-adrenoceptor blocking drug treated blood platelets. *Biochem. Pharmacol.* 1994; 47: 2207-2211.
- [12] Nosál' R, Jančinová V, Petříková M. Chloroquine inhibits stimulated platelets at the arachidonic acid pathway. *Thromb. Res.* 1995; 77: 531-542.
- [13] Joshi UM, Kodavanti PRS, Lockhard VG, Mehendale HM. Fluorescence studies on binding of amphiphilic drugs to isolated lamellar bodies: relevance to phospholipidosis. *Biochim. Biophys. Acta* 1989;1004: 309-320.
- [14] Kodavanti UP, Mehendale HM. Cationic amphiphilic drugs and phospholipid storage disorders. *Pharmacol. Rev.* 1990; 42: 327-354.
- [15] Pappu A, Hostetler KY. Effect of cationic amphiphilic drugs on the hydrolysis of acidic and natural phospholipids by liver phospholipase A. *Biochem. Pharmacol.* 1984; 33: 1639-1644.

[16] Nosál R, Jančinová V, Petříková M. The H<sub>1</sub>-histamine receptor antagonist dithiaden inhibits stimulated platelet aggregation, malondialdehyde formation and thromboxane production in vitro. *Inflamm. Res.* 1995; 44: S14-S15.

Scripta medica	70	Supplementum 4	75-79	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Institute of Experimental Pharmacology SAS, Bratislava

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Medical Faculty, Masaryk University, Brno

**J. Pečivová, K. Drábiková, <sup>1</sup>R. Nosál**

## **Beta-adrenoceptor blocking drugs and phospholipidosis in mast cells**

### **Blokátory betaadrenergného receptora a fosfolipidóza v izolovaných žírnych bunkách**

#### **Souhrn**

Atenolol (ATE), exaprolol (EXA), metipranolol (MET) a propranolol (PRO) sa vzájomne líšili v účinku na izolované potkanie žírne bunky stimulované 48/80. ATE nemal žiaden účinok na uvoľnenie histamínu, degranuláciu a inkorporáciu <sup>32</sup>P, na druhej strane znižoval uvoľnenie arachidonovej kyseliny. EXA, MET a PRO znižovali uvoľnenie histamínu a granúl. MET inhiboval uvoľnenie arachidonovej kyseliny a znižoval tvorbu TXB<sub>2</sub>. EXA a PRO neovplyvnili uvoľnenie arachidonovej kyseliny, avšak EXA znižoval tvorbu TXB<sub>2</sub>. Interakcie ATE, EXA, MET a PRO so žírnymi bunkami sa ukazujú byť nereceptorového pôvodu, vyvolanú ich chemicko-fyzikálnymi vlastnosťami a schopnosťou liečiv prenikať cez plazmatickú membránu buniek.

#### **Summary**

Atenolol (ATE), exaprolol (EXA), metipranolol (MET) and propranolol (PRO) differed in their effects on 48/80 stimulated isolated rat mast cells. ATE had no effect on histamine release, degranulation and <sup>32</sup>P incorporation while it decreased arachidonic acid liberation. EXA, MET and PRO decreased release histamine and granules. MET inhibited arachidonic acid release and decreased TXB<sub>2</sub> formation. EXA and PRO did not modulate arachidonic acid release while EXA decreased TXB<sub>2</sub> generation. Interactions of ATE, EXA, MET and PRO with mast cells seems rather to be of non-receptor character, induced by physico-chemical properties and the ability of drugs to cross and interact with the plasmic membrane.

Key words: beta-adrenoceptor blocking drugs, rat mast cells, histamine release, degranulation, <sup>32</sup>P incorporation, arachidonic acid liberation, thromboxane B<sub>2</sub> generation

#### **Introduction**

There is considerable evidence indicating a pathophysiologic role of mast cells. Mast cells degranulate in response to both immune and nonimmune stimuli. Preformed products (within mast cell granules) and newly synthesized substances (derived from the phospholipid cell membrane)

mediate the immune and nonimmune functions of mast cells [1]. Many of the cationic amphiphilic drugs have been reported to be implicated in phospholipid storage disorders - accumulation of polar lipids - in humans, laboratory animals and cultured cells. Cationic amphiphilic drugs (CAD) comprise a large group of compounds sharing the common characteristics of being both amphiphilic and cationic, due to an apolar ring system and an ionizable nitrogen atom, which can become positively charged. These properties enable CAD to interact with membrane phospholipids, which can lead to several significant alterations in cellular structure and function [2].

Four beta-adrenoceptor blocking (BAB) drugs, atenolol, exaprolol, metipranolol, and propranolol were studied for their effect on stimulated histamine release, degranulation, arachidonic acid release, TxB<sub>2</sub> formation and <sup>32</sup>P incorporation in rat mast cells under in vitro conditions.

### Materials and methods

Mast cells were isolated from pleural and peritoneal cavities of male Wistar albino rats and separated on Ficoll gradient [3]. Histamine was determined fluorometrically and <sup>35</sup>S, <sup>32</sup>P, <sup>3</sup>H-AA and TxB<sub>2</sub> by radioactivity techniques [5,4,6,7]. Ficoll, Pharmacia Uppsala, histamine Koch Light Ltd, phosphatidylinositol (PI), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylserine (PS), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidic acid (PA), SERVA, BAB drugs: ATE [10<sup>-3</sup> mol/l], PRO [10<sup>-4</sup> mol/l], ICI, MET = trimepranol [10<sup>-3</sup> mol/l] Spofa, EXA [5x10<sup>-5</sup> mol/l], Drug Research Institute Modra, Na<sub>2</sub><sup>35</sup>SO<sub>4</sub> (9.25.10<sup>7</sup> Bq per rat) and <sup>32</sup>P orthophosphate (5 MBq/sample) ROTOP SRN, <sup>3</sup>H-arachidonic acid (2.08.10<sup>-2</sup> MBq/sample), <sup>125</sup>I-thromboxane RIA kit Institute of Radioisotopes Budapest, Bray's scintillation solution, Spolana Neratovice. All other chemicals were of the highest purity available.

### Results

We studied the effect of BAB drugs, i.e. ATE, MET, PRO and EXA, in concentrations in which none of the drugs released granules in unstimulated isolated rat mast cells. PRO and EXA, however, were found to release 20.7% and 19.0% histamine, respectively.

Fig.1 shows histamine release, degranulation, and <sup>32</sup>P incorporation in stimulated mast cells. Compound 48/80 (positive control) released 63.8% of histamine and 15.9% of granules. ATE did not modulate the effect of 48/80, MET and EXA significantly decreased histamine release to 21.0% and 47.3%, respectively, and degranulation to 10.06% and 5.7%, respectively. PRO significantly decreased histamine release

to 55.83% but did not affect degranulation. Compound-48/80 stimulated <sup>32</sup>P incorporation into total phospholipids was significantly decreased by EXA and PRO, increased by MET, while ATE had no effect.

Fig.2 demonstrates the effect of ATE, EXA, MET and PRO on 48/80 stimulated arachidonic acid release and thromboxane formation. Compound 48/80 released 21.5% of <sup>3</sup>H-AA into supernatant and TXB<sub>2</sub> formation was 442.8 pg/10<sup>5</sup> mast cells. Arachidonic acid release was not affected by EXA and PRO, ATE and MET significantly decreased it to 16.98% and 15.85%, respectively. ATE and PRO did not significantly modulate TXB<sub>2</sub> formation, EXA and MET significantly decreased it to 131.6 pg and 67.5 pg/10<sup>5</sup> isolated rat mast cells.

### Discussion

Atenolol, exaprolol, metipranolol and propranolol belong to the same pharmacological group of beta-adrenoceptor blocking drugs but they differed in their effects on the parameters studied. ATE did not influence 48/80 stimulated degranulation and histamine release. Due to their membrane affinity MET and PRO may modulate the effect of a stimulus with receptor activity, like 48/80. MET and PRO did not affect unstimulated release of histamine and granules [3], they however,

significantly decreased stimulated release of histamine and degranulation. EXA significantly inhibited histamine liberation, degranulation and  $^{32}\text{P}$  incorporation into membrane phospholipids.

The hydrophilic ATE acts probably on the plasmic membrane only, because it failed to affect not only histamine release, and degranulation but also  $^{32}\text{P}$  incorporation, while it decreased  $^3\text{H-AA}$  release from 48/80 stimulated mast cells.

MET inhibited AA release in mast cells stimulated both by substances with specific membrane receptors, and by A 23187 [8]. Moreover, MET increased membrane fluidity [9] and changed  $^{32}\text{P}$  incorporation into membrane phospholipids [6]. Effect of MET seems to be partly on and partly in plasmic membrane.

On account of its lipophilicity and effect on redistribution of membrane phospholipids [7] PRO could be expected to influence 48/80 stimulated  $^3\text{H-AA}$  release. It was however not found to modulate  $^3\text{H-AA}$  release in 48/80 stimulated mast cells, which may be accounted for by its ability to release arachidonic acid in unstimulated mast cells [8]. EXA did not influence 48/80 stimulated AA release. EXA and MET decreased  $\text{TXB}_2$  formation despite the increased  $^3\text{H-AA}$  release, particularly in the case of EXA, which may be result of stimulated  $\text{PLA}_2$  activity along with reduced thromboxane synthase activity [10].

These data positively correlate with the partition coefficient of each drug, their membrane perturbing activity and their ability to bind to isolated rat mast cells [6, 9]. The importance of various kinds of lipids and lipid by-products in the regulation of cell function has been increasingly recognized. Any change in the metabolism of membrane phospholipids influences directly or indirectly one or more of the important components of the phospholipid - signaling pathway [2]. The results clearly show that the drugs studied interacted with mast cells in different ways according to their affinity and ability to interfere with membrane phospholipids. Their potential involvement in the development of phospholipidosis could however be confirmed only by long-term exposure of mast cells to BAB drugs.

### Acknowledgements

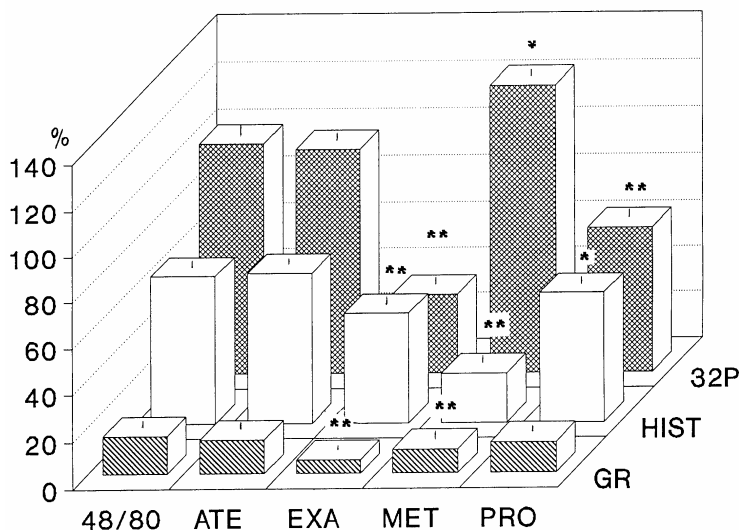
We are grateful to Dr. Istvan Mucha from the Institute of Isotopes, Budapest, Hungary, for supplying us with  $^3\text{H}$ -arachidonic acid and  $\text{TXB}_2$  RIA kits. This work was supported in part by Slovak Grant Agency for Science (grant No.2/1019/96).

### References

- [1] Rothe, M.J., Nowak, M., Kerdel, F.A.: The mast cell in health and disease,
- [2] Kodavanti, U.P., Mehendale, H.M.: Cationic amphiphilic drugs and phospholipid storage disorder. *Pharmacol. rev.* 42, 1990, 327-354,
- [3] Nosal, R., Pecivova, J., Drabikova, K.: On the interaction of beta-adrenoceptor blocking drugs with isolated mast cells. *Agents Actions* 16, 1985, 478-484, [4] Fillion, G.M.B., Slorach, S.A., Uvnas, B.: The release of histamine, heparine and granule protein from rat mast cells treated with compound 48/80 in vitro. *Acta physiol Scand* 78, 1970, s.547-560,
- [5] Shore, P.A., Burkhalter, A., Cohn, V.H.Jr.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J.Pharmacol.Exp.Therap* 127, 1959, s.182 -186,
- [6] Pečivová, J., Drábiková, K., Jančinová, V., Nosál, R.: On the relationship between incorporation of  $^{32}\text{P}$  into phospholipids and binding of beta-receptor blocking drugs to isolated mast cells. *Agents Actions* 23, 1988, s.146-148,
- [7] Nosal, R., Pecivova, J., Drabikova, K.: Alterations in membrane phospholipid turnover, arachidonic acid liberation and thromboxane formation in isolated mast cells treated with propranolol and atenolol. *Agents Actions Special Conference Issue* 1992, C253-C255,

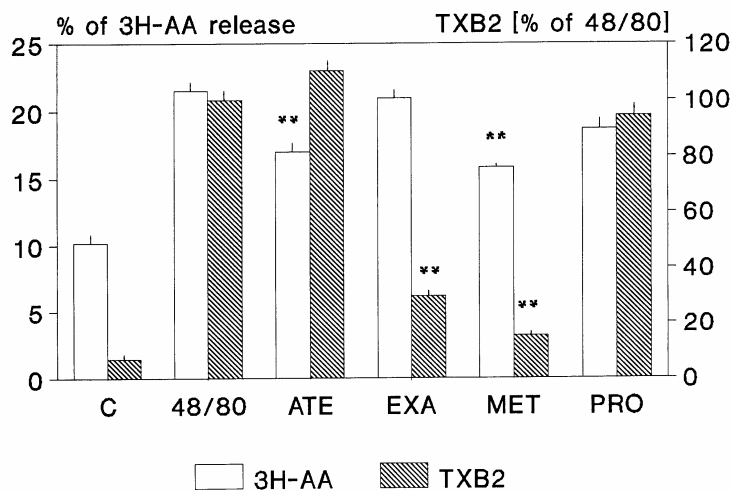
- [8] Pečivová,J., Drábiková,K., Nosal,R.: Effect of beta-adrenoceptor blocking drugs on  $^{32}\text{P}$  incorporation into and arachidonic acid liberation from phospholipids in stimulated rat mast cells,  
 [9] Nosal,R., Drabikova,K., Pecivova,J., Ondrias,K.: Membrane perturbing activity of beta-adrenoceptor blocking drugs in isolated rat mast cells. Agents Actions 27, 1989, 36-38,  
 [10] Leli,U., Hauser,G.: Mechanism of modification of rat brain lysophospholipase A activity by cationic amphiphilic drugs. Biochim. Biophys. Acta 918, 1987, 126-135

Fig.1



Effect of atenolol, exaprolol, metipranolol and propranolol on histamine release, degranulation and  $^{32}\text{P}$  incorporation in 48/80 stimulated mast cells. Isolated mast cells were preincubated with BAB drugs and  $^{32}\text{P}$  for 5 min at 37°C and stimulated by 48/80 for additional 3 min. The values indicate the mean  $\pm$  SEM, n=4, \*p  $\leq$  0.05.

Fig.2



Effect of atenolol, exaprolol, metipranolol and propranolol on release of  $^3\text{H-AA}$  related radioactivity and thromboxane B<sub>2</sub> formation in 48/80 stimulated mast cells. Isolated mast cells were prelabelled with  $^3\text{H-AA}$  for 60 min, washed twice, incubated with BAB drugs for 5 min at 37°C and stimulated by 48/80 for additional 3 min. C=non treated cells. The values indicate the mean  $\pm$  SEM, n=4, \*p  $\leq$  0.05, \*\*p  $\leq$  0.01.

Scripta medica	70	Supplementum 4	80-84	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Institute of Experimental Pharmacology, SAS, Bratislava, Slovak Republic,

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Medical Faculty, Masaryk University Brno, Czech Republic

**K. Drábiková, J. Pečivová,<sup>1</sup>R. Nosál**

## **Effect of chloroquine on some isolated mast cell functions**

### **Účinok chlorochinu na niektoré funkcie žírnych buniek**

#### **Souhrn**

Studovali účinok chlorochinu (CQ) na uvoľnenie histamínu z izolovaných žírnych buniek potkana (IŽBP) a účinok CQ na stimulované IŽBP (látka 48/80, A23187) s ohľadom na uvoľnenie histamínu, uvoľnenie <sup>3</sup>H-arachidonovej kyseliny (AK), ako aj tvorbu prostaglandínu D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) a tromboxánu B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>). V koncentračnej závislosti CQ uvoľňoval histamín z IŽBP, avšak v stimulovaných bunkách inhiboval všetky študované funkcie. Inhibičný účinok CQ na IŽBP závisel na druhu použitého stimulu a bol výraznejší pre látku 48/80. Na druhej strane CQ bol účinnejší na inhibíciu tvorby PGD<sub>2</sub> a TXB<sub>2</sub> v porovnaní s ovplyvnením uvoľnenia histamínu a AK v bunkách stimulovaných 48/80 a A23187.

Výsledky ukazujú, že CQ popri inhibícii fosfolipázy A<sub>2</sub> môže ovplyvniť aj iné enzýmy IŽBP zúčastnené v metabolizme AK. Predpokladá sa možnosť interakcie CQ s IŽBP na úrovni membrán ako aj intracelulárne.

#### **Summary**

The direct effect of chloroquine (CQ-0.001-1.0 mmol/l) upon histamine liberation in isolated rat mast cells (IRMC) was studied. Further, the effect of CQ on stimulated (compound 48/80 or A 23187) IRMC was investigated with respect to: histamine liberation, <sup>3</sup>H-arachidonic acid (AA) liberation, prostaglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) and thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) generation. Depending on the concentration used, CQ liberated histamine, while in stimulated IRMC it inhibited all the functions studied. Its inhibitory effect depended however on the type of stimulation, being more intensive in compound 48/80 stimulated IRMC. On the other hand, both on compound 48/80 and A 23187 stimulation, CQ exerted a more pronounced inhibitory effect on PGD<sub>2</sub> and TXB<sub>2</sub> generation than on histamine and <sup>3</sup>H-AA liberation. This appears to indicate that besides phospholipase A<sub>2</sub>, CQ may interact also with some other enzymes participating in arachidonic acid metabolism. The results of this study suggest that CQ may interfere with IRMC at a plasmic membrane site as well as intracellularly.



Key words: Rat mast cells, chloroquine, histamine liberation, arachidonic acid liberation, prostaglandin D<sub>2</sub> generation, thromboxane B<sub>2</sub> generation, compound 48/80, A 23187

## Introduction

The antimalarial drug CQ is used in the treatment of rheumatic arthritis and other connective tissue diseases [1]. It does however have side effects, such as skin reactions and phospholipid storage disorders [2,3]. Some of these effects have been suggested to be linked to the ability of CQ to interact with phospholipids and phospholipase A<sub>2</sub> activation [3,4,5]. Skin reactions were ascribed to histamine liberation from mast cells [2]. It was therefore of interest to study the influence of CQ on unstimulated, as well as compound 48/80 or A 23187 stimulated isolated rat mast cells (IRMC). The aim of the study was to contribute to the explanation of possible sites of CQ action on mast cells, which play an important role in inflammation and in immediate hypersensitivity reactions.

## Materials and methods

Mast cells were isolated from pleural and peritoneal cavities of male Wistar rats (300-350g) and separated by differential centrifugation in Ficoll. IRMC were subsequently washed twice and counted for their number. Histamine liberation from mast cells ( $3 \times 10^5$  mast cells/ml) was measured fluorometrically [6]. <sup>3</sup>H-AA liberation ( $5 \times 10^5$  mast cells/1ml) was determined after phospholipid extraction in chloroform [7] and radioactivity was measured by liquid scintillation counting in a Packard TRI CARB 2500 TR using Bray's scintillation solution. PGD<sub>2</sub> and TXB<sub>2</sub> generation ( $10^5$  mast cells/100 l) was studied in the supernatant using radioimmunoassay [8]. All values are given as means  $\pm$  SEM and the results were statistically evaluated by Student's t-test.

Ficoll-Pharmacia Uppsala; histamine.HCl-Koch Light; o-phthaldialdehyde-Merck, compound 48/80-Sigma, ionophore A 23187-Calbiochem, chloroquine-ACO, Bray's solution-Spolana.

<sup>3</sup>H-arachidonic acid ( $2.08 \times 10^{-2}$  MBq/sample), <sup>125</sup>I-thromboxane B<sub>2</sub> and <sup>3</sup>H-prostaglandin D<sub>2</sub> RIA kit were kind gifts from Dr.I.Mucha, Institute of Isotopes, Budapest, Hungary.

All other chemicals were of analytical grade from commercial sources.

## Results

Table 1 shows CQ-induced dose-dependent liberation of histamine from IRMC. CQ in the concentrations of 0.001 and 0.01 mmol/l liberated  $6.6 \pm 0.9$  and  $7.2 \pm 0.4$  % of histamine, respectively. In the concentrations of 0.1 - 1.0 mmol/l, CQ significantly increased histamine liberation in comparison with resting IRMC ( $7.4 \pm 0.3$  %), from  $9.7 \pm 0.5$  to  $18.8 \pm 0.8$  %, respectively.

Table 1 Dose-dependent effect of CQ on histamine liberation in IRMC

CQ (mmol/l)	0.000	0.001	0.010	0.100
% Histamine liberation	$7.4 \pm 0.3$	$6.6 \pm 0.9$	$7.2 \pm 0.4$	$9.7 \pm 0.5^{**}$
CQ (mmol/l)	0.200	0.400	0.800	1.000
% Histamine liberation	$10.5 \pm 0.8^{**}$	$12.5 \pm 0.5^{**}$	$14.8 \pm 1.2^{**}$	$18.8 \pm 0.8^{**}$

Mast cells were incubated with CQ in different concentrations for 5 min at a 37°C.  
n = 6, x  $\pm$  SEM, \*\*p < 0.01 (significance in comparison with resting IRMC)

As shown in Fig 1a, histamine liberation induced by compound 48/80 and A 23187 was significantly decreased by CQ pretreatment at the concentration of 0.4 mmol/l to  $76.6 \pm 7.6$  and

79.4 ± 1.6%, respectively. At the same concentration, CQ significantly decreased <sup>3</sup>H-AA liberation in compound 48/80 stimulated IRMC to 86.0 ± 1.2%, while in A 23187 stimulated cells, liberation was significantly decreased (92.5 ± 1.5%) already at the concentration of 0.2 mmol/l (Fig.1b). PGD<sub>2</sub> generation in IRMC stimulated with compound 48/80 was significantly inhibited starting with the concentration of 0.2 mmol/l (46.9 ± 9.9 %), while in mast cells stimulated with A 23187, CQ was effective (86.0 ± 5.1%) already in the concentration of 0.1 mmol/l (Fig.1c). TXB<sub>2</sub> generation in IRMC stimulated with compound 48/80 was significantly inhibited by CQ at the concentration of 0.2 mmol/l (44.2 ± 2.4%), while in mast cells stimulated with A 23187 significant inhibition (51.9 ± 10.4%) was achieved only starting with the concentration of 0.4 mmol/l (Fig.1d).

## Discussion

Histamine liberation from IRMC induced by CQ in the higher concentrations tested (0.1 - 1.0 mmol/l) in the present study was probably the result of intracellular displacement of histamine by CQ from granular binding sites, as described for other cationic amphiphilic drugs [6]. The mean therapeutic level of CQ after single i.v. infusion of 300 mg/kg was 837 ± 248 ng/ml [9], corresponding to 0.0016 mmol/l. In our experimental setting, however, CQ failed to liberate histamine even in the concentration of 0.01 mmol/l. We thus assume that adverse reactions observed in vivo [2] may not have been due to the histamine liberating effect of CQ in these cells.

In mast cells stimulated with compound 48/80 and A 23187, phospholipase A<sub>2</sub> has been suggested to play a major role in arachidonic acid liberation and secretion of mediators, e.g. histamine, leukotrienes and prostaglandins [10]. Our results showed that CQ significantly decreased histamine and AA liberation in both compound 48/80 and A 23187 stimulated IRMC. These effects may be related to the ability of CQ to interact with phospholipids and phospholipase A<sub>2</sub> [11], thus affecting directly or indirectly some important parts of the phospholipid signalling pathway [12]. We found that the inhibitory effect of CQ on compound 48/80 or A 23187 induced histamine and AA liberation was accompanied by an inhibition of PGD<sub>2</sub> and TXB<sub>2</sub> generation. This inhibition was even more intensive than the inhibition of histamine and AA liberation. The mechanism of PGD<sub>2</sub> synthesis inhibition may conceivably be operative by decreased release of arachidonic acid, as a result of phospholipase A<sub>2</sub> inhibition, and by decreased conversion of arachidonic acid to prostaglandins, as a result of cyclooxygenase inhibition. The obtained results indicate that besides phospholipase A<sub>2</sub>, CQ might inhibit some other enzymes included in arachidonic acid metabolism (cyclooxygenase, thromboxane synthase). Similar findings were described by Nosal et al. [4] in rat platelets. The inhibitory action of CQ was found to be significantly more intensive in compound 48/80 (surface membrane receptor stimulus) rather than in A23187 (receptor bypassing stimulus) stimulated IRMC, concerning all the functions studied. This fact suggests that CQ affects either the binding of compound 48/80 to its receptors or metabolic events linked to these receptors. On balance, CQ may be presumed to act on IRMC at a plasmic membrane site as well as intracellularly.

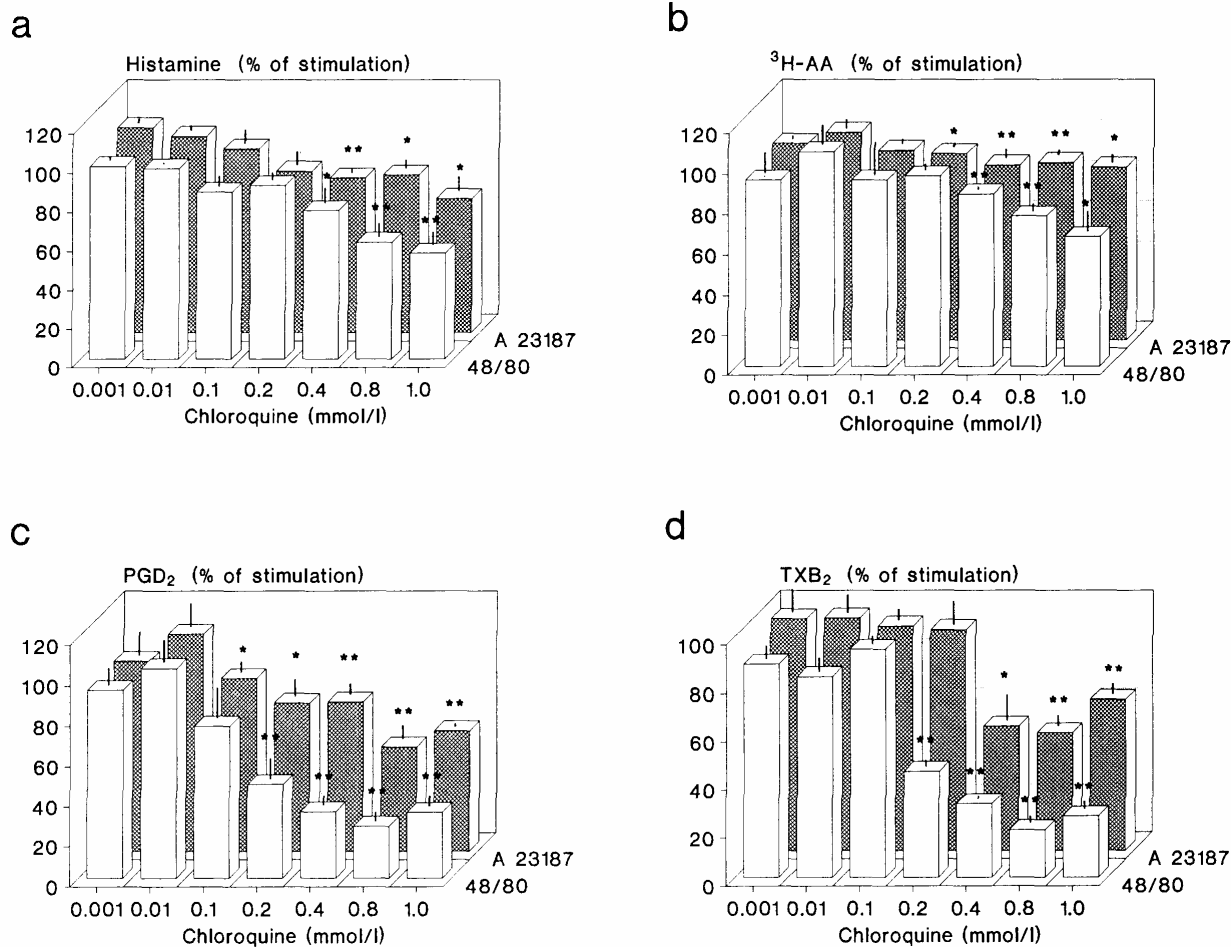
## Acknowledgement.

This work was supported in part by the research grant GAV SAS 1019/94.

## References

[1] Mackenzie AH. Antimalarial drugs for rheumatoid arthritis. *Am.J.Med.* 1983; 75 (Suppl.):48-58

- [2] Webster LT. Drugs used in chemotherapy of protozoal infection. In *The pharmacological basis of therapeutics*. (Eds. A.G. Gilman, L.S. Goodman, T.W. Rall and F. Murad). pp.1029-1048. McMillan, New York 1985
- [3] Kodavanti UP, Mehendale HM. Cationic amphiphilic drugs and phospholipid storage disorder. *Pharmacol. Rev.* 1990;42:327-354
- [4] Nosál R, Jančinová V, Petříková M. Chloroquine inhibits stimulated platelets at the arachidonic pathway. *Thromb. Res.* 1995;77:531-542
- [5] Hurst NP, French JK, Bell AL, Nuki K, O' Donnell ML, Betts WH, Cleland LG. Differential effects of mepacrine, chloroquine and hydroxychloroquine on superoxide anion generation, phospholipid methylation and arachidonic acid release by human blood monocytes. *Biochem. Pharmacol.* 1986;35:3083-3089
- [6] Nosál R, Pečivová J, Drábiková K. Evidence for intracellular histamine liberation in isolated rat mast cells. *Agents Actions* 1982;12:601-607
- [7] Pečivová J, Drábiková K, Nosál R. Effect of betaadrenoceptor blocking drugs on <sup>32</sup>P incorporation into and arachidonic acid liberation from phospholipids in stimulated rat mast cells. *Agents Actions* 1989;27:29-32
- [8] Drábiková K, Pečivová J, Nosál R. Effect of chloroquine on arachidonic acid pathway in isolated rat mast cells. *Inflamm. Res.* 1996;45:Supplement 1:S13-S14
- [9] Gustafsson LL, Walker O, Alván G, Beerman B, Estevez F, Gleisner L, Lindström B, Sjöqvist F. Disposition of chloroquine in man after single intravenous and oral doses. *Br.J.Clin. Pharmacol.* 1983;15:471-479
- [10] Yamada K, Okano Y, Miura K, Nozawa Y. A major role for phospholipase A<sub>2</sub> in antigen - induced arachidonic acid release in rat mast cells. *Biochem.J.* 1987;247:95-99
- [11] Hostetler KY. The role of phospholipases in human diseases. In: *Phospholipids and Cellular Regulation* (Ed. Kuo JF) vol.1, pp.181-206. CRC Press, Boca Raton, FL, 1985
- [12] Farese RV. Calcium as intracellular mediator of hormone action: intracellular phospholipid signalling systems. *Am.J.Med.Sci* 1988;296:223-270



**LEGEND TO FIGURE:**

Figure 1 Effect of CQ on a) histamine liberation b) <sup>3</sup>H-AA liberation, c) PGD<sub>2</sub> and d) TXB<sub>2</sub> generation in IRMC stimulated with compound 48/80 or A 23187.

Mast cells were incubated in the presence of CQ for 5 min at 37°C prior to addition of compound 48/80 (2.5 µg/ml - histamine and <sup>3</sup>H-AA liberation, 10 µg/ml - PGD<sub>2</sub> and TXB<sub>2</sub> generation) or A 23187 (5 µmol/l) followed by incubation for 3 min (histamine and <sup>3</sup>H-AA liberation) and 15 min (PGD<sub>2</sub> and TXB<sub>2</sub> generation).

n = 4 - 7, X ± SEM, \* p < 0.05 \*\* p < 0.01

Values are expressed as percentages of values (100%) obtained 1) after stimulation with 48/80 - histamine liberation: 54 ± 2.5 %, <sup>3</sup>H-AA liberation: 17.8 ± 1.7%, PGD<sub>2</sub> generation: 9198 ± 728 pg/10<sup>5</sup> mast cells, TXB<sub>2</sub> generation: 327 ± 20 pg/10<sup>5</sup> mast cells and 2) after stimulation with A 23187 - histamine liberation: 53.9 ± 1.5%, <sup>3</sup>H-AA liberation: 37.9 ± 2.4%, PGD<sub>2</sub> generation: 12 870 ± 1497 pg/10<sup>5</sup> mast cells, TXB<sub>2</sub> generation: 513 ± 36 pg/10<sup>5</sup> mast cells.

Scripta medica	70	Supplementum 4	85-88	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Institute of Experimental Pharmacology SAS

<sup>1</sup>Institute for Haematology and Transfusiology, Bratislava, Slovak Republic

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, Medical Faculty, Masaryk University, Brno

**K. Kotuliaková, K. Drábiková, <sup>2</sup>R. Nosál, T. Mačičková and E. Danihelová<sup>1</sup>**

## **Effect of cationic amphiphilic drug Dithiaden on stimulated human polymorphonuclear cells**

## **Účinok kationického amfifilného liečiva Dithiadenu na stimulované ľudské polymorfonukleárne bunky**

### **Souhrn**

Študovali účinok dithiadenu (DIT; 0,1-100 µmol/l) na agregáciu, tvorbu lyzozýmu a produkciu superoxidového anionu v FMLP-stimulovaných ľudských polymorfonukleárných bunkách. Dithiaden inhiboval všetky funkcie stimulovaných neutrofilov bez koncentračnej závislosti. Nenašla sa jediná koncentrácia, ktorá by bola účinná na všetky parametre, lyzozým a superoxidový anion boli inhibované koncentráciou 100 µmol/l, agregácia neutrofilov bola významne znížená DIT v koncentrácii 1 µmol/l.

### **Summary**

We investigated the effect of dithiaden (DIT; 0.1-100 µmol/l) on aggregation, lysozyme production and superoxide anion generation in FMLP-stimulated human polymorphonuclear cells. Dithiaden was found to inhibit all the investigated functions of stimulated neutrophils, though no dose-dependence was observed. No single concentration was found effective for all parameters, thus lysozyme and superoxide anion production were inhibited by 100 µmol/l DIT, while aggregation of neutrophils was significantly decreased already by 1 µmol/l DIT. Key words: Dithiaden, human polymorphonuclears, aggregation, lysozyme, superoxide anion

### **Introduction**

Many cationic amphiphilic drugs (CAD) have been shown to inhibit stimulated cell functions *in vitro*. In isolated blood platelets, dithiaden was shown to inhibit stimulated aggregation, MDA formation [1], and thromboxane generation [2]. Similar results were obtained in blood platelets for chloroquine [3]. Although the inhibitory effect of the antimalarial drug chloroquine on phagocyte function (attributed to its lysosomotropism), as well as its inhibitory effect on non-lysosomal functions have been intensively analysed [4,5], the effect of other cationic amphiphilic drugs on neutrophil functions has yet to be elucidated. In this study we examined the effect of DIT on some

characteristic neutrophil functions (aggregation, lysozyme production and superoxide anion generation) after FMLP stimulation.

## Materials

### Chemicals:

Cytochalasin B, Cytochrome C and FMLP (N-formyl-methionyl-leucylphenylalanine, Sigma), *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma), Dextran T 500 (Pharmacia Fine Chemicals), Lymphoprep (Nyegaard and Co) All other chemicals were of analytical grade from commercial sources.

## Methods

### Isolation of PMN

PMN were isolated from citrate blood of healthy volunteers after dextrane sedimentation and Lymphoprep centrifugation by a modified Boyum's method [6]. Sedimented PMN were resuspended in phosphate buffer saline (PBS) containing: 137 mmol/l NaCl, 2.7 mmol/l KCl, 8.1 mmol/l Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.5 mmol/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 18 mmol/l CaCl<sub>2</sub> and 10 mmol/l MgCl<sub>2</sub>, (pH=7.4) and washed once with PBS. Washed PMN were stained with Türk solution and counted in Bürker chamber under a light microscope with phase contrast. The microscopical purity of isolated PMN was close to 95%. PMN aggregation was measured turbidometrically in an aggregometer (Chrono-log Dual Channel). PMN ( $7 \cdot 10^6$ ) were preincubated for 5 min with dithiaden (0.1-100 µmol/l) and subsequently stimulated with 0.1 µmol/l FMLP. The results were expressed as an increase of aggregation amplitude, in mm, measured 60 s after addition of the aggregation stimulus.

### Lysozyme measurement

Lysozyme was measured spectrophotometrically at 450 nm, using a *Micrococcus lysodeikticus* as a standard. Isolated PMN were stabilised at room temperature, activated with cytochalasin B (5 µl/ml) and subsequently treated with DIT (0.1-100 µmol/l). After FMLP (0.1 µmol/l) stimulation, the kinetic curves were recorded. Results were evaluated as percentage of the control.

Superoxide anion generation ( $O_2^-$ ) was measured by the reduction of cytochrome C, using the extinction coefficient  $E=2.1 \times 10^4 \text{ M}^{-2}\text{cm}^{-1}$ , by the modified Babior method [7]. Isolated PMN were preincubated with DIT for 30 min, stimulated (after cytochrome C addition) with FMLP (0.1 µmol/l) and centrifugated at 7500xg for 1 min. Supernatants from the samples were then measured in Hewlett Packard 8452 A diode array spectrophotometer at 550 nm. Results were evaluated as nmol  $O_2^-$  production by  $10^6$  PMN/5 min.

## Results

The effect of dithiaden on human PMN aggregation after FMLP stimulation is shown in Fig.1. Dithiaden in the concentration of 1 µmol/l significantly decreased the aggregation response of PMN from  $85.82 \pm 1.27$  mm to  $78.44 \pm 2.31$  mm.

Fig.2 demonstrates the effect of dithiaden (0.1-100 µmol/l) on FMLP-stimulated lysozyme production from human PMN. Pretreatment of PMN with 100 µmol/l DIT resulted in significant inhibition of *Micrococcus lysodeikticus* lysis to 50.64%, as compared with FMLP.

The release of superoxide anion modulated by dithiaden (0.1-100 µmol/l) after FMLP stimulation is illustrated in Fig.3. Dithiaden in the concentration of 100 µmol/l significantly inhibited superoxide anion generation from  $10.96 \pm 1.4$  nmol to  $6.3 \pm 1.5$  nmol.

## Discussion

The results presented in this study indicate that after FMLP stimulation, all the neutrophil functions investigated (aggregation, lysozyme production and superoxide anion generation) were inhibited by dithiaden. The aggregation of blood platelets as well as of red blood cells is well known both in physiological and pathological conditions [1]. The aggregation of white blood cells, has been by far less documented. This is why we examined the effect of dithiaden on stimulated human neutrophil aggregation. The presented inhibitory effect of DIT on the aggregation of PMN is consistent with that observed for DIT on blood platelets [1] and can thus be a possible "antiaggregatory" effect. Lysozyme (muramidase), the component of three types of human neutrophil granules, was shown to be an important bacteriolytic enzyme [8]. The inhibitory effect of some anti-inflammatory agents (ibuprofen, ketoprofen and indomethacin) on its discharge from human neutrophils was reported [9]. In this study, we also found an inhibitory modulation of lysozyme production by dithiaden. The mechanism of lysozyme liberation after drug preincubation remains, however, unclear. Phagocytic cells are able to produce a substantial amounts of reactive oxygen species. The production of superoxide anion by one-electron reduction of oxygen in biological systems, together with its reactivity, are suggest it to be a possible killing agent. The inhibitory effect of DIT on  $O_2^-$  generation, presented in our study, is consistent with that observed for chloroquine by Hurst. Possible mechanisms include direct inhibition of phospholipase C or inhibition of the linkage between activated receptors and phospholipase C [5]. In conclusion, the results presented indicate that the CAD dithiaden effectively affected all the neutrophil functions studied. Nevertheless, the exact role of dithiaden in the activation cascade of neutrophils needs to be further investigated.

### Acknowledgement

This work was supported in part by the Slovak Grant Agency for Science (grant No.2/1019/96)

### References

- [1] Nosál R., Jančinová V. and Danihelová E.: The  $H_1$ -histamine antagonist Dithiaden inhibits human platelets *in vitro*. *Inflamm Res* 45, Supplement 1: S29-S30, 1996;
- [2] Nosál R., Jančinová V. and Petriková M.: The  $H_1$ -histamine antagonist Dithiaden inhibits stimulated platelets aggregation, malondialdehyde formation and thromboxane production *in vitro*. *Inflamm Res* 44, Supplement 1: S14-S15, 1995;
- [3] Nosál R., Jančinová V. and Petriková M.: Chloroquine inhibits stimulated platelets at the arachidonic acid pathway. *Thrombosis Res* 77, No.6, 531-542, 1995;
- [4] Mackenzie A.H.: Pharmacologic actions of 4-aminoquinoline compounds. *Am J Med* 75, 5-10, 1983;
- [5] Hurst N.P., French J.K., Gorjatschensko L, Betts W.: Studies of the mechanism of inhibition of chemotactic tripeptide stimulated neutrophil polymorphonuclear leukocyte superoxide production by chloroquine and hydroxychloroquine. *Annals of Rheumatic Diseases* 46, 750-756, 1987;
- [6] Boyum A.: Isolation of Mononuclear Cells and Granulocytes from Human Blood: *Scan J Clin Lab Invest* 21 (suppl), 77-90, 1968;
- [7] Babior B.M., Kipnes R.S., Curnutte J.T.: Biological Defense Mechanisms, The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent: *J Clin Invest* 52, 741-744, 1973;
- [8] Mollinedo F., Gajate C., Schneider D.L.: Cytochrome-b co-fractionates with gelatinase-containing granules in human neutrophils. *Mol Cell Biochem* 30, 774-785, 1991;
- [9] Smith R.J. and Iden S.S.: Pharmacological modulation of chemotactic factor-elicited release of granule-associated enzymes from human neutrophils. *Biochem Pharmacol* 29, 2389-2395, 1980

Fig.1 The effect of dithiaden on human PMN aggregation after FMLP (0.1  $\mu\text{mol/l}$ ) stimulation. Each value is the mean of 6 to 10 measurements  $\pm$  SEM, \*\* $p \leq 0.01$

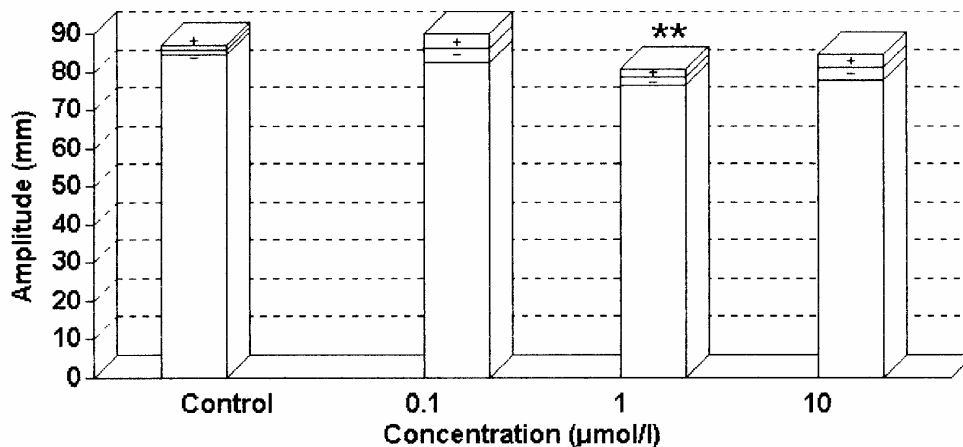


Fig.2 The effect of dithiaden on FMLP-stimulated lysozyme release from human PMN. Each value is the mean of 6 to 10 measurements  $\pm$  SEM, \*\* $p \leq 0.01$

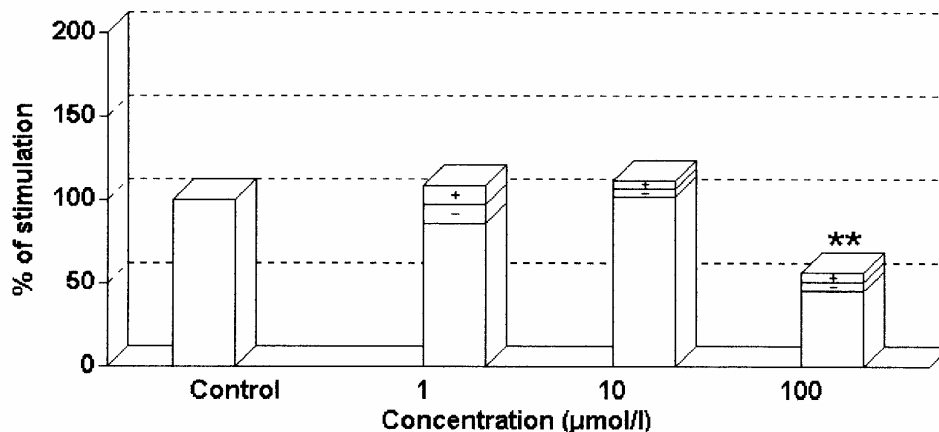
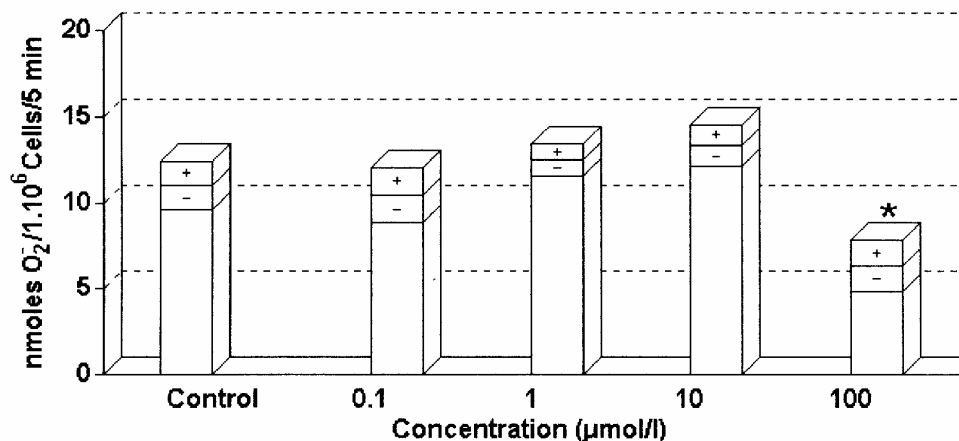


Fig.3 The release of superoxide anion from FMLP-stimulated human PMN after dithiaden modulation. Each value is the mean of 6 to 10 measurements  $\pm$  SEM, \* $p \leq 0.05$





Scripta medica	70	Supplementum 4	89-92	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

<sup>1</sup>Katedra farmakologie a toxikologie, <sup>2</sup>České farmaceutické muzeum,

Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové

**Višňovský P.<sup>1</sup>, Rusek V.<sup>2</sup>**

## **Jubileá farmakologických učebníc**

## **Jubilees of pharmacological textbooks**

### **Súhrn**

V roku 1995 si pripomíname výročia vydania významných učebníc farmakológie: FARMAKOLOGIE (autor K. Chodounský, 1905); FARMAKOLOGIE (K.J.Lhoták, 1924, vyd. 1925); FARMAKOTHERAPIE (J. Štefl, 1940, vyd. 1949). Ide o priekopnícke diela. Kniha K. Chodounského sa vyznačuje množstvom vtedy aktuálnych informácií a dodnes aktuálnych názorov. K. J. Lhoták po prvý raz u nás vyčlenil osobitnú kapitolu pre všeobecnú farmakológiu. J. Štefl sa usiloval s úspechom o vytvorenie stručnej príručky zahrnujúcej teoretické i praktické aspekty farmakológie. Všetky tri knihy si zaslúžia hlbšiu pozornosť historikov farmakológie i ďalších čitateľov.

### **Summary**

In the year 1995 we have been remembering an anniversary of the edition of distinguished pharmacological textbooks: FARMAKOLOGIE (K.Chodounský, 1905); FARMAKOLOGIE (K.J.Lhoták, 1924, edition 1925), FARMAKOTHERAPIE (J. Štefl, 1940, edition 1949). All three textbooks are pioneer works. The book of K. Chodounský is noted for quantity of topical reports in the past days and of modern ideas which are still valid at present. K.J.Lhoták as the first in this country selected a special chapter for general pharmacology. J. Štefl succesfully attempted at the creation of a brief handbook embracing both theoretical and practical aspects of pharmacology. All three books mentioned are sure to deserve deeper attention of historians of pharmacology as well as of other readers.

### **I.**

„FARMAKOLOGIE“ (1) prof. MUDr. Karla Chodounského bola napísaná „po dvacetileté zkušenosti učiteľské a mnohem delší výkonné praktické“ \*). Autor vtedy už prekročil šesťdesiatku (nar. 1843), sedemnásť rokov bol docentom, sedem rokov mimoriadnym a potom tri roky riadnym profesorom farmakológie.

V úvodnej časti vysvetľuje autor niektoré zásady tvorby a členenia textu. Vychádza z poznatkov publikovaných v časopisoch, ktoré uvádza stručnou citáciou v texte a súhrnne v zozname „Zkráceniny citovaných period. tiskopisů“. Ten obsahuje takmer štyri desiatky titulov (v poradí

podľa počtu) nemeckých, českých, francúzskych a jeden anglický - Brit. Med. J. Neuvádza sa ani jedna učebnica farmakológie, i keď v samotnom texte na citácie z kníh narazíme. Dnes sa píšú u nás knihy z obráteného gardu - časopisecké citácie sa v našich učebniciach prakticky nevyskytujú.

Autor už na prvej strane vysvetľuje, prečo nečlení knihu na všeobecnú a špeciálnu časť. „Zdalo se mi vhodnějším projednávatí jednotlivé skupiny celistvě, tedy s všeobecného a zároveň i speciálního stanoviska.“ Pravda je, že autor mal s členením kapitol problémy, ktoré poznajú i súčasní tvorcovia učebníc - kapitoly sú sčasti usporiadané podľa účinkov na jednotlivé systémy („jedy nervové; kardiaka a diuretika; projímadla, ...“ atď.), sčasti podľa chemickej štruktúry („Skupina digitalinu; skupina kofeinu; ...“).

\*) Český text sa cituje bez pravopisných úprav

„Vstupné slovo“ však stojí za pozorné prečítanie. Niektoré názory sú totiž dodnes až prekvapujúco aktuálne. „Kdyby měli praktikové dostatečné základní vědomosti..., nekladli by v příčině medikamentosní terapie... na vlastní zkušenosti a subjektivní přesvědčení hlavní váhu...“ (zdoraznil v texte prof. Ch.). Podľa autora je „...p r o v i n ě n í m lékaře, ordinuje li při prosté insomnií chloralhydrát.“ Liečba nemá klesnúť „...na pouhého dodavatele materiálu k statistice p r ů m ě r n ý c h výsledků léčebných method.“ Smutné podľa autora je aj „...faktum, že se kliniky a praxe zhusta propůjčily k službám interestů továrních, k čemuž někdy stačil pouhý obchodní cirkulář...“, „...ba není téměř vědeckého časopisu praktického lékařství, který by nevycházel bez insertní ozdoby všemožných medikamentosních šmejdu...“. Blízke je dnešku aj autorovo kategorické „...žádám přísný výběr a úplné prověření farmakologické a toxikologické...“. Nad jednou z posledných viet úvodu by sme sa mali zamyslieť: „Jest na čase, aby zde zavládla větší upjatost a rozvážný konservatismus, jakým jedině se může díti pokrok bezpečný v disciplině, která uzákoňuje používání léčiv u chorého člověka“.

Iste sa nájdú v texte mnohé názory a tvrdenia, ktoré nezodpovedajú dnešnej úrovni vedomostí. Je to už deväťdesiat rokov a vtedy napísané autorom už vyše šesťdesiatročným. Farmakológia sa iba začínala konštituovať. Aspirín bol vtedy nový liek. Autor však už o ňom hovoril a citoval v tom čase nové práce, niektoré vydané aj rok pred vznikom knihy! Z iných dnes známych a používaných liečiv spomeňme okrem klasických alkaloidov a ďalších prirodzených látok aj fenacetín, nitroglycerín, chinidín (nie ako antidysrytmikum), oxid dusný. Heroín sa odporúča ako sedatívum, „...po němž vznikati mohou nemilé příznaky“, ktoré autor bližšie nešpecifikuje. Pozoruhodná je zmienka o mechanizme účinku nitroglycerínu: „Předpokládá se, že se část v organismu redukuje v dusan...“. Že by už vtedy tušili existenciu magickej molekuly NO?

## II.

Kamil Josef rytíř Lhoták (1876 - 1926), od r. 1909 mimoriadny, od r. 1914 riadny profesor na LF, vydáva svoju knihu „FARMAKOLOGIE“ (2) a časť „Předmluva“ dátuje 20. decembra 1924. Možeme teda predpokladať, že kniha v skutočnosti vyšla r. 1925 a patrí k jubilujúcim. Autor takisto využíva svoju dlhoročnú skúsenosť prednášateľa a examinátora. V koncepcii sa jeho kniha od Chodounského dost' odlišuje. Obsahuje už všeobecnú časť blízku našim súčasným predstavám o obsahu tejto oblasti („I. Původ jména farmakologie. II. Jak byly léky objeveny. III. Jak léčiva působí. IV. Okolnosti, které mění účin léčiv. V. Vstřebávání, proměny a vylučování léků.“ atď.). Za všeobecnou časťou nasleduje rozsiahla receptúra (vyše 100 strán). Rozsah tejto časti s mnohými rozpismi magistraliter je vzhľadom na vtedajšiu úroveň HVLP pochopiteľný. „Díl druhý (zvláštní)“ je členený do značnej miery podľa účinku (napr. hypnotiká, diuretiká, vazodilatanciá, atď.), v menšej miere podľa chemickej príslušnosti. Značná členitosť tohoto delenia sposobila, že táto časť obsahuje takmer päť desiatok skupín. Právom sa autor v úvode obáva, že „při prvním nárazu tohoto

rozbouřeného moře nastane v mysli studujícího neklid“. Ako opatrenia sa uvádzajú zhrnutia na konci (niektorých) kapitol a prehľadné členenie. Graficky je text členený prehľadne, ale z pohľadu faktického už menej - napr. lieky posobiace na GIT sú roztrúsené najmenej na piatich miestach rozsiahleho textu. Orientáciu však uľahčujú registre: vecný i podľa chorob a indikácií. Aj princíp zhrnutia účinkov na konci niektorých kapitol je účelný; moderné svetové učebnice (napr. 3) ho využívajú dokonale. Oproti knihe prof. Chodounského je zaradená bohatá obrazová dokumentácia (157 obrazov, schém a reprodukováných záznamov z experimentov) poskytnutá sčasti bratislavským prof. Polákom. Zato citovanie literatúry nenašlo u prof. Lhotáka pochopenie: pokladá ich „...v učebnici za drahý luxus“ a odkazuje záujemcu na zdroje nemecké (Heffter), anglické (Sollmann) a francúzske (Pouchet).

Z novších a nových látok najdeme v texte barbituráty, prokain, inzulín (považovaný za chalón, ale už so správnou indikáciou), amidopyrin, fenacetín, arsfenamín. Aspirínu sa venuje rovnaký priestor ako u prof. Chodounského dvadsať rokov predtým. Heroín a ďalšie klasické návykové látky sú už uvedené s patričným varovaním. Na záver tejto časti môžeme konštatovať, že sa prof. Lhotákovi podaril jeho zámer „...psáti slohem jasným jako studánka - tak jak mluví naše maminka...“.

### III.

„FARMAKOTHERAPIE PRAKTICKÉHO LÉKAŘE“ prof. MUDr. Jiřího Štefla (1904 - 1961), profesora Masarykovy univerzity v Brne, vznikla opäť o necelé dve desaťroky rokov neskôr. „Předmluva“ je datovaná rokom 1940, copyright Melantrich Ltd. je z r. 1941, vydanie, ktoré mal autor tohoto príspevku k dispozícii, je ako štvrté vydanie z r. 1949 (4).

„Posláním této knihy jest uvéstí praktického lékaře do systému therapeutického myšlení.“ Už z toho vyplýva, že Štefla kniha smeruje inde než predchádzajúce. Používala sa však aj ako učebnica, ako autor vie zo spomienok pamätníkov. Aj skriptá z r. 1952 toho istého autora (5) smerujúce výlučne k výuke sú obsahom i členením veľmi podobné. Autor delí celú farmakológiu do troch veľkých častí: „I. Farmakodynamie funkcí. A. Nervový systém; B. Svalstvo; C. Žlázy. II. Karence. A. K. endogenní; B. K. exogenní; C. Choroby z nadbytku.

III. Obrana proti škodlivinám.“ Všeobecná farmakológia ako vyčlenená časť chýba. Je zaradená tabuľka maximálnych dávok. Text obsahuje veľa receptov magistraliter, čo tiež smeruje k praktickému lekárovi. Autori niektorých informácií sa citujú, ale iba menom, presnejší prameň z textu nemožno zistiť. Ako praktická, rozsahom nie abundančná príručka farmakológie však musela byť kniha vo svojej dobe veľmi cenná.

### IV.

Na záver ešte poznámka. Može sa zdať divné, že sa českým učebniciam venuje aj slovenský autor. V svojej dobe však tieto materiály slúžili rovnako študentom, lekárom a farmaceutom českým i slovenským. Svedčí o tom aj osobná skúsenosť jedného z autorov, ktorý všetky tieto (a niektoré ďalšie) cenné knihy získal na Slovensku, z pozostalosti viacerých slovenských lekárov, či už študovali v Bratislave alebo v Prahe.

### Literatura

Chodounský, K.: Farmakologie. Bursík a Kohout, Praha 1905, s. 466.

Lhoták, K. J.: Farmakologie. Nákl. vlastním, Praha 1924. s. 770.

Rang, H. P., Dale, M. M.: Pharmacology. Churchill Livingstone Edinburgh, 1991, s. 995.

Štefl, J.: Farmakotherapie praktického lékaře. 4. vyd. Melantrich, Praha 1949, s. 355.

Štefl, J.: Farmakotherapie. Státní ped. nakladatelství, Praha 1952, s. 371.

Scripta medica	70	Supplementum 4	93-98	Brno, 1996
----------------	----	----------------	-------	------------

Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové

**Doležal, P., Hrabálek, A.**

## Transdermal drug delivery dosage forms

### TRANSDERMÁLNÍ LÉKOVÉ FORMY

#### Souhrn

Popis hlavních faktorů a proměnných veličin transdermální terapie je doplněn přehledem v současné době již zavedených transdermálních přípravků. Jsou charakterizovány technologické postupy výroby transdermálních přípravků, jejichž hlavní typy jsou rovněž diskutovány z hlediska vhodnosti dosud používané terminologie.

**Klíčová slova:** transdermální terapie - transdermální přípravky

#### Summary

A survey of the main factors and variables of transdermal therapy is presented and transdermal formulations currently marketed worldwide are summarized. Various technologies used for the development and design of transdermals are described and also discussed as regards the acceptance of commonly used terms.

**Key words:** transdermal therapy - transdermal formulations

#### Úvod

V souvislosti s moderními trendy orientovanými na racionalizaci farmakoterapie, přistoupil v šedesátých letech ke klasickému směru výzkumu v oblasti léků, zaměřenému na vyhledávání a optimalizaci chemických struktur, směr nový. Stále zřetelněji se totiž ukazovalo, že chemická entita léčiva představuje sama o sobě pouze jeden objekt pro výzkum vedoucí k dosažení optimální terapeutické hodnoty léku. Druhou možností představují prostředky a cesty, jakými je léčivo do organismu podáváno. Tato skutečnost vedla k explozivnímu nárůstu poznatků v oblasti lékových forem a v jeho rámci také k návratu pozornosti ke kůži jakožto orgánu absorpce léčiv.

Problematické transdermální aplikace léčiv (TDA) se v oblasti výzkumu a vývoje lékových forem věnuje značné úsilí již téměř dvacet let. Každoročně se v odborných časopisech objevuje několik desítek nových teoretických prací, stále vysoký je rovněž počet nově zveřejňovaných patentů. Důvodem jsou dosavadní úspěšné výsledky, kterých bylo při TDA léčiv dosaženo, a to jak z hlediska terapeutického, tak i po stránce komerční. Transdermální léčivé přípravky (TDP) je přitom nutné zásadně odlišovat od topicky aplikovaných přípravků určených k externí lokální terapii.

Moderní perorální lékové formy, které umožňují přesně řídit uvolňování léčiv v gastrointestinálním traktu (GIT), pomohly řešit řadu problémů až do nedávné doby s tímto způsobem aplikace spojených. Poskytují možnost dosažení a relativně dobře definovatelného udržování terapeuticky žádoucích hladin léčiv v systémové cirkulaci, současně s prodloužením

intervalů mezi jednotlivými aplikacemi. Z nedořešených a v jednotlivých konkrétních případech obtížně řešitelných problémů však zůstává malá biologická dostupnost některých léčiv z GIT, obecně potom zůstávají principiální problémy související s přirozeným časovým průběhem tranzitu perorálně podaných léčiv jednotlivými dílčími úseky zažívacího traktu, variabilitou absorpce léčiva v důsledku jeho interakcí s potravou, individuální rozdílností lokálních enzymatických aktivit v GIT a zejména problémy dané "first pass" efektem metabolizace léčiv v játrech. Pro většinu perorálních přípravků proto dosud stále platí klasické schéma podávání (2 až 3krát denně).

Použití parenterálních lékových forem není výše zmíněnými faktory, ovlivňujícími absorpci léčiv z GIT, zatíženo. Umožňuje přivádět léčivo přímo do krve, případně řídit jeho hladiny v systémové cirkulaci. Vzhledem k rizikům spojeným s jejich využitím však vesměs vyžadují aplikaci kvalifikovaným zdravotnickým personálem (injekce - vyjma autoinjektorů a injekční autoaplikace inzulinů) nebo i hospitalizaci (infúzní podání - vyjma zpětnovazebně regulovatelných infúzních miničerpadel).

S rektální aplikací jsou spojeny potíže s lokální dráždivostí a s ní souvisejícími problémy defekačními, s použitím implantátů potom, opět kromě relativně náročného způsobu aplikace, také rizika nežádoucích imunitních reakcí.

Výše uvedené důvody vedly k intenzivnímu výzkumu TDA léčiv a po roce 1981 již i k využití TDA v podobě konkrétních farmaceutických přípravků. Prvotní zaměření bylo přitom soustředěno především na taková léčiva, která mají krátký biologický poločas, nízký terapeutický index a zejména takové fyzikálně chemické vlastnosti, které je k relativně bezproblémové aplikaci přes kůži vlastně předurčují. Rozsáhlý přehled na toto téma poskytuje stat<sup>1)</sup> nebo kompendium.<sup>2)</sup>

Transdermální aplikace je ovšem pro převážnou většinu účinných látek jako takových principiálně limitována přirozenými bariérovými vlastnostmi kůže. Proto jsou používány různé přístupy umožňující transdermální absorpci účinných látek reverzibilně zvýšit. Zahrnují například využití okluze, manipulace s polaritními vlastnostmi vehikul, iontoforézu, sonoforézu a především využití akceleračních kožních absorpce neboli urychlovačů transdermální penetrace, respektive permeace. Uvedená problematika je uceleně pojednána v novějších monografiích.<sup>3,4)</sup>

Za optimální TDP je až dosud považován takový přípravek, který při splnění běžných požadavků kladených na léky, tj. bez nežádoucích vedlejších efektů, umožňuje dlouhodobé podávání léčiva do tělního systémového oběhu, a to rychlostí, určenou pouze konstantní rychlostí uvolňování léčiva z přípravku (kinetikou nultého řádu).<sup>5)</sup> Dostupná literatura ovšem poukazuje na skutečnost, že většina v současné době vyráběných TDP tuto ideu v plné míře nespĺňuje. Řídícím činitelem rychlosti absorpce zůstává vlastně lidská kůže, se svými značně variabilními bariérovými vlastnostmi.<sup>6)</sup> Při výzkumu a vývoji nových i zdokonalování dosud používaných TDP je proto nutné stále uvažovat jejich interakci s pokožkou.

### **Výhody transdermálních přípravků**

TDP byly a jsou vyvíjeny se snahou o kontinuální podání léčiv do centrálního tělního kompartmentu s možností autoaplikace pacientem, a to s těmito potenciálními přednostmi:<sup>7)</sup>

1. snadná aplikace (při možnosti volného pohybu pacienta)
2. absorpce léčiva není primárně ovlivněna denním režimem pacienta (množství, skladba a intervaly přijímání potravy i řadou dalších běžných aktivit)
3. vyloučení "first pass" efektu jater (kůže ovšem má vlastní biotransformační enzymy)
4. snížené riziko předávkování
5. snadné a rychlé přerušování aplikace

### **Nevýhody transdermálních přípravků<sup>8)</sup>**

1. Možnost výskytu nežádoucích dráždivých reakcí pokožky jako přímý důsledek fyzikálních vlivů v místě aplikace (okluze, tření, tlak).

2. Možnost výskytu lokálních i systémových dráždivých a alergických reakcí s tím, že jejich potenciálním zdrojem mohou obecně být nejen všechny součásti TDP (léčivo, konstitutivní látky, aditiva, nečistoty), ale také změny ve stupni hydratace pokožky, běžné nepatogenní, ale i patogenní mikroorganismy, blokáda potních žlázek či porušení rohové vrstvy kůže snímáním přípravku.

### Kritéria výběru léčiv pro TDA

K tomu, aby bylo možné považovat dané léčivo za vhodné pro případnou TDA, musí současně splňovat celou řadu požadavků. K rozhodnutí o výběru je potřebné uvážit základní údaje týkající se uvažovaného léčiva:

1. farmakodynamické a farmakokinetické, zahrnující
  - určení terapeuticky žádoucích koncentračních hladin léčiva v krvi
  - vymezení požadavku na potřebný rozsah jeho přívodu do centrálního tělního kompartmentu
  - specifikace biotransformace léčiva ve vitální kůži
  - specifikace vedlejších účinků léčiva
2. rozpustnostní a difuzivitní
3. permeabilitní ( v jakém rozsahu a jakou rychlostí léčivo proniká kůži)
4. nutnost využití permeačních akceleračních látek
5. výskyt nežádoucích reakcí léčiva na kůži
6. přijatelné rozměry transdermálního přípravku (a další estetické požadavky)
7. akceptovatelná cena

V tabulce 1 jsou pro ilustraci uvedeny hodnoty vybraných charakteristik některých známějších, transdermálně již aplikovaných léčiv, přičemž údaje tohoto typu jsou vždy důležité pro vstupní úvahu o případném výběru dalších léčiv uvažovaných pro podání transdermální cestou. Umožňují totiž odhadovat úroveň fluxu  $J$  [ $\text{mg}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ ] léčiva přes kůži, potřebnou k dosažení terapeuticky efektivních hladin léčiva v krvi.

Tab. 1: Fyzikálně chemické a farmakokinetické charakteristiky vybraných transdermálně aplikovaných léčiv

	m.h.	$\log K_{o/v}$	$P$	$V_d$	$Cl_t$	$t_{1/2}$	$BD_{p.o.}$	terap. konc.
	[dalton]		[ $\text{cm}/\text{h} \cdot 10^3$ ]	[ $\text{dm}^3$ ]	[ $\text{dm}^3/\text{h}$ ]	[h]	[%]	[ng/ml]
estradiol	272	2,49	5,2	4,8	615-790	0,05	-	1,2-11,0
fentanyl*	337	2,93	10	280	27-75	3-12	32	1
ISDN	236	-	-	189	1,22	105	0,8	22
klonidin	230	0,83	35	147	13	6-20	95	0,2-2,0
nikotin	162	-	3	182	77,7	2	30	10-30
TNG	227	2,05	20	231	966	0,04	< 1	1,2-11,0
skopolamin*	303	1,24	0,5	98	67,2	2,9	27	0,04
testosteron	288	3,31	400	-	-	-	< 1	10-100
triprolidin	278	3,6	-	-	43,7	2-6	-	5-15

\* volná báze

### Klasifikace transdermálních přípravků

Pro klasifikaci TDP jsou dosud používána různá kritéria. Jednotlivé typy TDP jsou přitom v současné době označovány řadou výrazů, jakými jsou například "membránové", "rezervoárové", případně "mikrorezervoárové" a "monolitické", ale i pomocí dalších, poněkud matoucích pojmů. Tyto termíny totiž sice v sobě zahrnují snahu o vystižení mechanismu uvolňování léčiva z popisovaného přípravku, jsou však do značné míry zavádějící a mohou vést k nedorozumnění při úvahách o způsobu jejich přípravy či výroby. Cestu k odstranění těchto nejasností by zřejmě představoval způsob klasifikace založený na technologickém přístupu,<sup>9)</sup> který se snaže o zjednodušené postihu mechanismu liberace v názvosloví vyhýbá, zato však poskytuje jasnější představu o celkovém charakteru přípravku i způsobech jeho výroby. Předkládaná klasifikace, doplněná stručným popisem již existujícího konkrétního technologického provedení přípravků daného typu, naznačuje možné třídění TDP.

### **1. Polotuhé přípravky**

Jedná se v podstatě o jednoduché přípravky typu masti, krému nebo gelu. Nanášejí se roztíráním na kůži (někdy s následným využitím okluzivního obkladu). Vymezení absorpční plochy a definování kinetiky pasáže takto aplikovaného léčiva přes kůži je u těchto TDP velmi problematické. Parametry liberace lze obecně řešit optimalizací polarity a viskozity příslušného vehikula.

Do této skupiny patří mast Neos-nitro (Neo-Donner KG), používaná dříve k prevenci některých typů angina pectoris, s obsahem 1 % trinitátu glycerolu (TNG) v základu tvořeném vazelinou, lanolinem a laktózovou triturací TNG. Obdobnými přípravky jsou také Nitro-Bid (Marion Merrell Dow) a Nitrol (Adria) s obsahem 2 % TNG.

Z hormonálních polotuhých přípravků lze v rámci této skupiny uvést Oestrigel (Besins-Iscoveco), který obsahuje 60 mg estradiolu ve 100 g alkogelu i Progestigel téhož výrobce.

### **2. Periferně adhezivní matricové přípravky**

Poměrně početnou skupinu představují TDS, v nichž je léčivo dispergováno v hydrofilní nebo lipofilní polymerní matici tvaru disku (kotouče) definovaných rozměrů (tloušťka, plocha). Disk s obsahem léčiva je umístěn na nepropustné, okluzivní nosné membráně. Fixace přípravku v místě aplikace je realizována lepidlovou vrstvou, nanesenou na svrchní nosné membráně tak, že zároveň kotví matici a navíc, v podobě prsténce okolo polymerního rezervoáru, adhezuje k pokožce.

V praxi nejdříve zavedeným přípravkem tohoto typu je Nitro-Dur I (Key). Jeho hydrofilní matrice o tloušťce 2,1 mm je tvořena polyvinylalkoholem a polyvinylpyrolidonem s obsahem vody, glycerolu, citronanu sodného a 5,1 mg TNG/cm<sup>2</sup>. Aktivní plocha 20 cm<sup>2</sup> přípravku uvolňuje 10 mg TNG za den. Celková plocha kontaktu tohoto přípravku s kůží ovšem činí 90 cm<sup>2</sup>, což bylo nejprve pacienty akceptováno, později však, v konkurenci TDP jiných typů, vedla přílišná velikost přípravku k jeho eliminaci z praktického používání. Kromě této právě uvedené nevýhody neumožňují navíc ani matricové TDP, již z principu, liberaci většinou jinak žádoucí kinetikou nultého řádu. Analogické přípravky pro podání TNG jsou k dispozici pod označením Nitrodisc (Searle) s obsahem 2,0 mg TNG/cm<sup>2</sup>, založené na lipofilní silikonové matici plastifikované polyethylenglykolem 400, isopropylmyristatem a vodou, nebo přípravek Prostep (Lederle) s obsahem nikotinu.

### **3. Přípravky s kapalným rezervoárem a modulační membránou**

U tohoto typu TDP je kapalným rezervoárový kompartment uzavřen (opouzdřen) nosnou fólií nepropustnou pro léčivo a neporózní, nebo mikroporézní membránou, které slouží k vymezení liberace léčiva na základě ustalování rozdělovacích rovnováh, nebo na základě vhodně volené porozity příslušné membrány. Kontakt modulační membrány s kůží je zajišťován pomocí hypoalergenního polymeru, který je vybírán tak, aby neměl na uvolňování léčiva podstatnější vliv.

Z komerčně dostupných TDP lze do této skupiny řadit především přípravky Estraderm (Ciba), vyráběné ve třech velikostech (3, 10 a 20 cm<sup>2</sup>). Jejich kapalným rezervoárem, s obsahem

estradiolu a přísadou ethanolu, je uzavřen mezi nosnou fólií z polyesteru a řídicí membránou z EVA kopolymeru. Adheze k pokožce je zajištěna vrstvičkou polyizobutylenu. Podobně je technologicky řešen také analgetický přípravek Duragesic (Jansen) obsahující 250 mg/cm<sup>2</sup> fentanyl, inkorporovaného v alkogelu hydroxymethylcelulózy, u něhož fixaci EVA modulační membrány zajišťuje silikonové adhezivum, nebo další z řady TNG přípravků, Transderm-Nitro (Summit).

#### **4. Elastické laminované přípravky**

Laminované (vrstvené) transdermální přípravky byly vyvinuty z matricových TDP ve snaze zmenšit celkovou plochu přípravku a zajistit liberaci kinetikou nultého řádu. Toho bylo dosaženo použitím nejméně dvou vrstvených ploch, z nichž jedna vykazuje při uvolňování léčiva z přípravku řídicí funkci, v jednodušší případě zajišťuje současně i jeho potřebnou adhezi, častěji jsou však vícevrstvené ("rezervoárovým gradientem řízené").

V současné době jsou laminované TDP pro svoje technologické přednosti i z důvodů aplikačních v praxi nejrozšířenější. Jejich již klasickým představitelem je historicky první (1981) přípravek tohoto typu Scopoderm (Ciba-Geigy). Z dalších TDP k nim od roku 1985 patří Catapres-TTS (Boehringer-Ingelheim), který je tvořen aluminovanou polyesterovou nosnou fólií, polyizobutylénovou vrstvou s obsahem léčiva, mikroporózní membránou a polyizobutylénovým adhezivem. Je vyráběn ve 3 velikostech (3, 7, resp. 10,5 cm<sup>2</sup>), umožňujících po dobu jednoho týdne aplikaci 100, 200, resp. 300 mg/den antihypertenzivního klonidinu. Jako laminované přípravky jsou řešeny také tři ze čtyř dosavadních TDP, používaných k aplikaci nikotinu při odvykacích kúrách kuřáků cigaret, konkrétně Habitrol (Ciba), Nicotrol (Parke-Davis) a Nicoderm (Marion Merrel Dow). Z dalších TDP je možné uvést například také Frandol (Yamanouchi), Minitran (3M) a Deponit (Schwartz).

Jak je z uvedených příkladů zřejmé, lze závěrem říci, že vzhledem k existenci dostatku podkladů v oblasti TDP dozrála již zřejmě doba k ujednocení jejich klasifikace. Předložený návrh členění může být chápán jako příspěvek do další diskuse.

## **Literatura**

1. Cleary, G. W.: Transdermal delivery systems: A medical rationale. In.: Shah, V. P., Maibach, H. I.: Topical Drug Bioavailability, Bioequivalence and Penetration. Plenum Press, New York, London, 1993. s. 16 - 68
2. Chien, Y. W.: Novel Drug Delivery Systems. 2. Ed., Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong, 1992, 797 s.
3. Walters, K. A., Hadgraft, J. (Eds.): Pharmaceutical skin penetration enhancement. Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong, 1993. 440 s.
4. Williams, A. C., Barry, B. W., CRC Drug Carrier Systems, **9**, 1992, s. 305.
5. Chien, Y. W., Drug Dev. Ind. Pharm., **9**, 1983, s. 449.
6. Chien, Y. W., Drug Dev. Ind. Pharm., **13**, 1987, s. 589.
7. Barry, B.W., Dermatological formulations. Percutaneous absorption. Marcel Dekker, New York, Basel, 1982. s.164.
8. Boddé, H. E. et al., CRC Drug Carrier Systems **6**, 1989, s. 87.
9. Cleary, G. W.: Transdermal controlled release systems. In: Langer, R. S. Wise, D. L.: Medical applications of controlled release. Vol. 1. Boca Raton., CRC Press 1984. s. 203.

*Tato práce byla vytvořena v rámci grantu 203/95/0602 GAČR a za podpory Univerzity Karlovy.*

RNDr. Pavel Doležal, CSc.  
Farmaceutická fakulta UK



Heyrovského 1203  
500 05 Hradec Králové

Scripta medica	70	Supplementum 4	99-102	Brno, 1996
----------------	----	----------------	--------	------------

Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové

**Doležal, P., Hrabálek, A.**

## **Liposomes and (trans)dermal administration of drugs**

### **Lipozómy a (trans)dermální aplikace léčiv**

#### **Souhrn**

Po stručné charakterizaci lipozómů je podán kritický rozbor některých rozporuplných nálezů při využití lipozómů v oblasti (trans)dermální aplikace léčiv. Poznatky o vysoké účinnosti a přednostech topických přípravků s obsahem lipozómů pocházejí až dosud převážně z firemního výzkumu. Objektivita hodnocení vysoké účinnosti těchto přípravků ovšem bývá často pochybná, zejména ve spojení se systémovou transdermální aplikací. Přesto se však lipozómy mohou stát užitečnou součástí topických přípravků určených k léčení některých kožních onemocnění.

**Klíčová slova:** lipozóm - topický přípravek - transdermální přípravek

#### **Summary**

A short characterisation of liposomes is presented. The following critical commentary of (trans)dermal delivery of liposome-encapsulated drugs is oriented to the controversial scientific reports in this area. Most of the claims of the effectiveness and advantages of topical preparations have been based on company research reports so far. However, an objective evaluation of the high performance of topical liposome formulations is frequently obscured, especially in connection with transdermal systemic drug administration. Nevertheless, liposomes seem to may become a useful constituent of topical dosage forms for therapy of some skin diseases.

**Key words:** liposome - topical preparation - transdermal preparation

#### **Úvod**

Lipozómy jsou unilamelární nebo multilamelární, přibližně kulovitá tělíska, jejichž jednotlivé lamely jsou tvořeny dvojrůstvou fosfolipidů, uzavírající v sobě stejný počet vodných mikrokompartmenů. Poprvé byly popsány v roce 1961.<sup>1)</sup> Průměr malých unilamelárních lipozómů spadá do rozmezí 25 nm až 100 nm, u velkých unilamelárních tělísek, resp. multilamelárních lipozómů bývá v rozmezí od 100 až 500 nm do 10 mm. Podrobnější klasifikaci podle morfologie a velikosti lipozómů poskytuje řada novějších publikací.

Lipozómy zanedlouho našly uplatnění v oblasti imunologie, diagnostických technik při biologických studiích membrán, a dalších oblastech. Od sedmdesátých let byly lipozómy intenzivně studovány rovněž v souvislosti s možnostmi jejich využití ke zvýšení účinnosti podání léčiv, a to

prakticky u všech do úvahy připadajících aplikačních cest.<sup>2,3)</sup> K jejich tvorbě bylo postupně využito velké množství amfifilních látek lipidického charakteru a nalezena řada postupů přípravy umožňujících cíleně připravit lipozómy nejrůznější morfologie a požadované velikosti.<sup>4,5)</sup> Léčiva přitom mohou být v lipozómech inkorporována ve vodném kompartmentu, nebo vmezeřena do lipidické dvojvrstvy, a tímto způsobem chráněna před přímým kontaktem s okolním prostředím dále využita k selektivnímu uvolňování, případně targetingu (kancerostatika, antibiotika, antifungální látky apod.).

V roce 1988 byl registrován první topický léčivý přípravek s obsahem ekonazolu enkapsulovaného v lipozómech (Pevaryl<sup>®</sup>, Cilag)<sup>6)</sup>, krátce poté byl k dispozici přípravek pro intravenózní aplikaci amfotericinu.<sup>7)</sup>

V souvislosti s topickou dermální a transdermální aplikací léčiv se nejprve zdálo, že podobnost složení lipozómů s interkorneocytární substancí pokožky (40 % ceramidů, 25 % cholesterolu 25 % volných mastných kyselin a 10 % sulfátu cholesterolu) lipozómy přímo předurčuje k využití jako vhodných nosičů pro topickou dermální a transdermální aplikaci léčiv.

Této skutečnosti však dosud bylo prakticky využito pouze v oblasti kosmetických přípravků. V současné době je v evropských zemích k dispozici přes 400 přípravků s deklarovaným obsahem lipozómů. Nabízí se otázka, je-li komerční úspěch kosmetických topických přípravků opravdu podložen jejich prokazatelně lepšími vlastnostmi.

U topicky aplikovaných léčivých přípravků se kromě Pevarylu dosud do terapie neprosadil žádný další. Podstatným problémem v této souvislosti je totiž skutečnost, že léčivo jako takové, případně léčivo inkorporované do lipozómu, musí na cestě k cílovému místu svého účinku v kůži, kterými jsou vitální vrstvy epidermis (pokud se nejedná o v principu snadněji dostupné struktury kožních adnex), překonat velmi obtížnou bariéru, kterou představuje nejvrchnější, zrohovatělá vrstva epidermis - stratum corneum.

Názory odborníků v této záležitosti se značně různí. Po prostudování řady publikací na dané téma, lze mezi pracovníky, kteří se zabývají topickým dermálním využitím lipozómů, najít přibližně tyto skupiny:

**Racionalisté**, vycházející pouze z toho, co je nejen publikováno v primárních zdrojích, ale také nezávisle experimentálně reprodukováno a ověřeno na různých pracovištích.

**Optimisté**, kteří se přes různé důvodné pochybnosti přiklánějí k názoru, že kdyby alespoň část všech primárních nálezů byla posléze dostatečně verifikována, bude tím učiněn významný pokrok.

**Skeptici**, kteří vycházejí z toho, že již představa průniku částic značné velikosti a hmotnosti, jakou lipozómy pro průnik kožní bariérou vzhledem k její struktuře mají, nemůže přinést žádné skutečně doložitelné zlepšení průniku léčiva pokožkou (ve srovnání s aplikací léčiva ve vehikulu analogického látkového složení, avšak bez uplatnění lipozómů).

**Komerčionalisté**, kteří vždy ve prospěch lipozómů pro topickou aplikaci najdou vždy alespoň jeden důvod k jejich použití: neusnadňují-li lipozómy liberaci a průnik léčiva do kůže, přinášejí až dosud vždy velmi zajímavý finanční efekt.

V rámci výzkumu lipozómů při dermální a transdermální aplikaci lze však najít čtyři následující **racionální důvody** pro jeho intenzivní pokračování:<sup>8)</sup>

1. Lipozómy mohou sloužit jako „organická rozpouštědla“ pro solubilizaci velmi málo rozpustných léčiv, například kortikosteroidů. Výsledkem je potom zvýšení lokální koncentrace léčiva a zvýšení jeho termodynamické aktivity v místě aplikace.

2. Lipozómy mohou sloužit jako rezervoár léčiva pro prodloužené uvolňování dermatologicky aktivních látek, včetně antibiotik, kortikosteroidů nebo kupříkladu retinoové kyseliny.

3. Lipozómy, mohou svojí desintegraci fluidizovat lipidické vrstvy stratum corneum pokožky a působit tak vlastně jako penetrační, případně permeační akceleranty pro léčivo.

4. Lipozómy mohou sloužit jako membránová bariéra pro řízení rychlosti uvolňování dermatologického léčiva.

5. Lipozómy, respektive jejich stavební součásti, mohou napomáhat průniku léčiv do kůže prostřednictvím pilosebaceálních jednotek, cestou kožních adnex.

Zdá se, že takto vymezené pole pro využití lipozómů v topických přípravcích odvrátí zásadní pochybnosti, které vznikly po deklaraci těchto útvarů Mezeiem jako „transdermálních přenašečů“,<sup>9)</sup> která byla později postupně podrobena značné kritice výše již zmíněných skeptiků.<sup>10-</sup>

<sup>12)</sup> Zejména průnik korpuskulárních útvarů mnohvrstevným stratum corneum, ale i dalších vrstev epidermis, se vzhledem k úplnému vyplnění příslušných mezibuněčných prostor charakteristickou lipidickou substancí jeví jako představa nesprávná. Později se ostatně ukázalo, že prvotní nálezy Mezeie<sup>9,10)</sup> byly, kromě jiného také výsledkem experimentálního artefaktu. Ten spočíval v odstraňování neabsorbovaných množství látky s povrchu pokožky pomocí tampónů napuštěných etanolem, což vedlo k urychlení následné transdermální absorpce permeačně zkoumaného acetonidu triamcinolonu.<sup>12)</sup>

Z mnoha dalších kontroverzních nálezů v dané oblasti lze zmínit například následující:

a) na vzájemně odlišných modelech kůže (různých laboratorních zvířat, včetně bezsrstých myši i kůže lidské) bylo prokázáno, že jak lipozómy tak samotné fosfolipidy přes intaktní kůži nepermeují: radioaktivně značené fosfolipidy totiž nebyly v permeačních *in vitro* pokusech v akceptorovém médiu detegovány.<sup>12)</sup>

b) lipofilní léčiva, konkrétně progesteron a hydrokortizon, vykazovala prakticky shodné permeabilitní parametry bez inkorporace do lipozómů i po aplikaci v lipozómech.<sup>12,13)</sup>

Jako nejpravděpodobnější se tudíž při interpretaci jinde potvrzovaných zvýšených hodnot transdermálního průniku zmíněných léčiv (zejména progesteronu) jeví již zmíněná souvislost s fluidizací lipidických oblastí rohové vrstvy kůže. Tento efekt lze ovšem přičíst jak fosfolipidům, tak také volným mastným kyselinám, jsou-li v testovaných vehikulech přítomny, nehledě na to, jsou-li formovány v podobě lipozómů či nikoli.

c) pokud lipozómy do pokožky vůbec penetrují, pak nikoli hlouběji, než do svrchních vrstev stratum corneum, jak bylo prokázáno fluorescenčně značenými látkami.<sup>14)</sup>

Ukazuje se proto, že rutinní srovnávací studie konvenčních topických přípravků s přípravky obsahujícími lipozómy jsou sice někdy zajímavé, avšak často poskytují zavádějící informace. Skutečná hodnota podobných studií bývá totiž pochybná nejméně ze dvou následujících důvodů:

1. Oba typy srovnávaných přípravků mají často nejen rozdílnou fyzikální strukturu, ale také rozdílné složení vehikula.

2. Mnoho autorů až do nedávné doby deklaruje použití stejných koncentrací zkoumaného léčiva v srovnávaných přípravcích, což je z hlediska aktuálních termodynamických aktivit daného léčiva zjevně nesprávné.

Tato chyba byla učiněna například v již citované práci,<sup>10)</sup> v níž byla porovnávána penetrace triamcinolonu z *ad hoc* připraveného lipozómového základu s analogickými charakteristikami, získanými za použití komerčně dostupného, klasického základu Dermabase<sup>®</sup>. Stejně chyby se však autoři dopustili i o pět let později, při srovnání lokálně anestetického účinku tetrakainu v lipozomálním gelu s účinností klasického Pontocain<sup>®</sup> cream.<sup>15)</sup>

Výše uváděné výhrady sice směřovaly k potenciálnímu využití lipozómů v topických dermatologických přípravcích, lze je ovšem v plném rozsahu přenést i na problematiku přípravků transdermálních. Z celé typové palety těchto přípravků připadá do úvahy využití lipozómů pouze u nejjednodušší možné varianty, a sice u transdermálních polotuhých přípravků. Přestože jsou k dispozici zprávy o lipozómy zprostředkovaném transdermálním podání hydrochloridu bunazosinu<sup>16)</sup>

jako  $\alpha$ -blokátoru a flufenamové kyseliny,<sup>17)</sup> u technologicky komplikovanějších typů transdermálních přípravků se využití lipozómů prozatím nejeví nadějně. Navíc se nověji ukazuje, že opakovaná, případně dlouhodobá aplikace směsí některých lipidů používaných ke tvorbě lipozómů působí na kůži nepříznivě.<sup>18)</sup>

V daném kontextu si předkložený přehled klade za cíl poněkud zmírnit informační jednostrannost, která až dosud v oblasti topického využití lipozómů převažuje.

## Literatura

1. Bangham, A. D. et al., Adv. Lipid Res., **1**, 1965, 238.
2. Yatvin, M. B., Lelkes, P.I., Med. Phys., **9**, 149, 1982.
3. Gregoriadis, G. (Ed.), In: Recent Trends and Progress. J. Wiley, 1988, Chichester. 366.
4. Lichtenberg, D., Barenholz, Y., Liposomes: preparation, characterization and preservation. In: Glick, D.(Ed.), Methods of Biological Analysis, Vol. 33. J. Wiley, 1988, New York. 337.
5. Lasic, D.D., Liposomes: From physics to applications. Elsevier, 1993. Amsterdam. 261-468.
6. Raab, W., Artzl. Kosmetol., **18**, 1988, 213.
7. Lopez-Berestain, G. et al., J. Infect. Dis., **151**, 1985, 704.
8. Schreier, H., Bowstra, J., J. Control. Release **30**, 1994, 1.
9. Mezei, M., Gulasakharam, V., Life Sci., **26**, 1980, 131.
10. Mezei, M., Gulasakharam, V., J. Pharm. Pharmacol., **34**, 1982, 473
11. Ganesan, M.G., et al., Int. J. Pharm., **20**, 1984, 139.
12. Knepp, V. M., et al., J. Control. Release **5**, 1988, 221
13. Jacobs, G. P., et al., J. Pharm. Pharmacol., **40**, 1988, 829.
14. Lasch, R. et al., J. Control. Release **18**, 1991, 55.
15. Gesztes, A. Mezei, M., Anesth. Analg., **67**, 1988, 1079.
16. Kato, A. et al. J. Pharm. Pharmacol., **39**, 1987, 399.
17. Kimura, T. et al., Chem. Pharm. Bull., **37**, 1989, 454.
18. Hofland, H.E.J., et al., J. Control. Release **16**, 1991, 155.

*Tato práce byla vytvořena v rámci grantu 203/95/0602 GAČR a za podpory Univerzity Karlovy.*

RNDr. Pavel Doležal, CSc.  
Farmaceutická fakulta UK  
Heyrovského 1203  
500 05 Hradec Králové

Scripta medica	70	Supplementum 4	103-105	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

1. Neurologická klinika MU, FN U Sv. Anny, Brno

**Ivan Rektor**

## **ANTIKONVULZIVNÍ TERAPIE NEPILEPTICKÝCH NEUROLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ**

### **Souhrn**

Antiepileptika u neepileptických neurologických poruch

Antiepileptika účinkují cestou různých mechanismů na řadu mozkových funkcí. Jsou látky s antikonvulzivním účinkem stimulující inhibiční neurotransmisi, jiná snižující excitační aminokyselinový účinek a látky účinkující na membránovou vzrušivost. Mechanismy účinku na CNS mohou být užity také u některých neepileptických mozkových poruch:

1. Poruchy se spontánními abnormními synchronními výboji neuronů: některé bolestivé poruchy mohou být léčeny antiepileptiky. Trigemínová a postherpetická neuralgie jsou dobře známé indikace.

Antikonvulzivum je známo v léčbě kausalgíí, fantomových bolestí, neuropatické bolesti, vegetalgie atd. Jsou účinná také u vzácného Issacova syndromu a u myotymie.

2. Poruchy s abnormální neuronální odpovědí vyvolanou zevními podněty. Antikonvulziva jsou účinná u spinálních automatismů po spinální lézi, u některých typů reflexního myoklonu a u paroxysmální kinesiogenní choreoatetózy.

3. Dysfunkce v motorickém systému. U některých syndromů abnormních pohybů jsou antikonvulziva užitečná. Zatímco účinky jsou interindividuálně velmi odlišné, ve většině případů esenciálního tremoru jsou antikonvulziva látky prvního výběru.

4. Bolesti hlavy. Dobrá odpověď u pacientů zvláště s migrénou není vzácná. U neepileptických poruch antiepileptika mohou být užitečná jako mocná adjuvantní terapie, v některých případech dokonce jako základní medikace.

### **Summary**

Antiepileptics in non-epileptic neurological disorders

Antiepileptics acts through different mechanisms on various cerebral functions. There are drugs with anticonvulsive action stimulating the inhibitory neurotransmission, the others decreasing the excitatory amino-acid action, and drugs acting on membrane excitability. The mechanisms of acting on CNS can be used also in some non-epileptic brain disorders :

1. Disorders with spontaneous abnormal synchronous discharges of neurons : Several pain disorders can be treated by antiepileptics. Trigeminal and postherpetic neuralgia are a well-known indication.

Anticonvulsants in the therapy of causalgias, phantom pain, neuropathic pain, vegetalgia etc. is often omitted. They are effective also in the rarely occurring Isaacs syndrome with myokymia.

2. Disorders with abnormal neuronal response evoked by external stimuli. Anticonvulsants are effective in spinal automatism following spinal transection, in some types of reflex myoclonus and in paroxysmal kinesigenic choreoathetosis.

3. Dysfunction inside the motor system. In several abnormal movement syndromes anticonvulsants can be useful. While the effects are interindividually very different in most of them, in the essential tremor the anticonvulsants are drugs of first choice.

4. The headache. A good response in patients, especially with migraine, is not rare. In non-epileptic disorders the antiepileptic drugs can be useful as potent adjuvant therapy, in some of them even as a basic medication.

Tato práce přináší praktický přehled použití antiepileptik v klinické neurologii mimo epileptologii. Antiepileptika jsou léky, které při klinickém podávání působí na různé orgány a mechanismy jejich působení se mohou projevovat i jiným způsobem než je utlumení epileptické aktivity. V CNS působí většinou na neuron, na jeho membránu nebo na synapsi, resp. ovlivňují neuronální populace, např. na jejich synchronizaci. Antiepileptika působí samozřejmě jak na zdravé neurony tak na neurony s patologickou funkcí, která se může projevit i jinou formou než je epilepsie.

Použití antiepileptik jsem rozdělil pro lepší přehlednost do čtyř skupin:

1/ stavy, při kterých dochází k patologické synchronní aktivitě neuronů, která se neprojevuje epilepsií, ale mechanismus na neuronální úrovni je podobný;

2/ patologická odpověď na podráždění;

3/ poruchy koordinace mezi jednotlivými cerebrálními strukturami a okruhy, zejména v oblasti řízení motoriky. Jde o onemocnění vznikající na vyšší organizační úrovni než je neuron;

4/ bolesti hlavy.

Ad 1. Bolestivé stavy charakteru neuralgií, vegetalií, kauzalií, fantomových bolestí. Příčinou bolestí je abnormální aktivita neuronů, která je víceméně spontánní anebo je způsobena lokální lézí v průběhu nervu nebo jeho ganglií. Synchronní neuronální hyperaktivita u bolestí je srovnatelná s podobným mechanismem, který v CNS způsobuje epilepsii. Nepřekvapuje tedy, že je léčitelná antiepileptiky. Nejznámějším příkladem je neuralgie trigeminu a další obličejové neuralgie. Podobná situace je dobře známá u postherpetické neuralgie, kde podáváme také antiepileptika. Existuje ovšem celá řada méně častých neuralgií, např. neuralgie pudendálního nervu, kde se na možnost podávání antiepileptik nemyslí, ačkoliv mohou mít dobrý efekt. Samozřejmě, na rozdíl od epilepsií, antiepileptika v těchto indikacích nejsou jedinými aplikovanými léky. Obvykle se podávají v kombinacích, zejména s analgetiky různého typu. Účinná a poměrně málo často užívaná je kombinace s antidepresivy. Jde o působení na různé složky na vnímání bolesti. Z antidepresiv je nejčastěji podáván amytriptylin. Obvyklou chybou při podávání kombinace antidepresiv s antikonvulzivy v této indikaci je nedostatečné dávkování. Nemůžeme se řídit sérovými hladinami antiepileptik, protože normy jsou stanoveny pro indikaci epilepsie. Hladiny kontrolujeme vzhledem k možnosti toxických účinků.

U neztížitelných bolestí - např. u neuralgií trigeminu - podáváme vysoké, až toxické dávky intravenózního fenytoinu, které mohou přerušit nebo alespoň částečně utlumit bolest, která nereaguje na jinou medikaci. Nejčastěji podáváme, a to již po mnoho let, fenytoin a karbamazepin. V posledních letech se se velmi rozšiřuje podávání valproátu. Z nových léků se testuje podávání oxkarbamazepinu u neuralgií trigeminu v klinice i v experimentu.

Ad 2. Další skupinou jsou onemocnění způsobená abnormální reakcí neuronů na externí stimuly. Nejčastěji jde o spinální automatismy u spinálních lezí, zejména transekcí. Tato indikace není nová. Podáván je zejména Fenytoin, který je dobře snášen a má dobrý efekt.

Dalším syndromem z této skupiny je reflexní, resp. akční, a intenční myoklonus. Diferenciální diagnostika vyžaduje zejména elektrofyziologickou analýzu svalového záškubu a jeho vztahu k cerebrální aktivitě. Mechanismus působení antiepileptik není zcela jasný.

Kinesogenní paroxysmální choreoatetóza je vzácným onemocněním většinou u dětí. Projevuje se náhle vzniklou atakou abnormálních pohybů, která trvá 2-3 minuty. V EEG může být abnormita. Kinesogenní paroxysmální choreoatetóza může být kontrolována fenytoinem nebo karbamazepinem. V diferenciální diagnostice je nutno odlišit řadu podobných stavů, nereagujících na antikonvulziva, např. paroxysmální choreoatetóza nebo dystonická choreoatetóza, což jsou klinicky podobné stavy, ale nejsou provokovány pohybem.

Noční paroxysmální dystonie se projevuje komplexními abnormálními pohyby, někdy s agresivním chováním trvající 2-3 minuty, a také reaguje na antiepileptika. U paroxysmálních abnormálních pohybů, které na antiepileptika reagují, máme poněkud pochybnosti o jejich nezávislosti na epileptickém ději.

Ad 3. Antikonvulziva podáváme u onemocnění, kdy dochází k poruchám spolupráce některých, zejména subkortikálních, struktur. Jedná se zejména o systémy podílející se na řízení motoriky. Klasickým případem je esenciální tremor, který reaguje na primidon ve velmi nízkých dávkách, anebo fenobarbital. U abnormálních pohybů různé semiologie a nozologie, které jsou obtížně přístupné medikaci, se lze pokusit o podávání antiepileptik. Tato indikace není obvyklá a neexistují žádná schémata podávání. Nicméně, při známé resistenci abnormálních pohybů na terapii, může být antiepileptikum překvapivě účinné.

Ad 4. Indikací antiepileptické medikace jsou bolesti hlavy, od klasické migrény s aurou, po tenzní cefaleu. Pro bolesti hlavy platí aforismus, že mnoho léků je účinných, ale není známo, který u kterého pacienta. Lékem volby jsou antikonvulziva u dysrytmické migrény, tedy s nálezem paroxysmální aktivity v EEG. Postupně byl podáván fenytoin a karbamazepin, v současnosti se podává několik různých látek, zejména clonazepam a valproát. Léčebný efekt na snížení frekvence záchvatů je patrný až v 50-70%, intenzita je tlumená méně.

## Literatura

Cler JM., Vercelletto M., Bricout JH., Vercelletto P.: Choreo-athetose paroxystique kinesogenique: affection autonome ou epilepsie reflexe? Rev Neurol, 1990 146 (1), p 25-9

Feders, S.: Die Paroxys. Choreoathetosen. Fortschr Neurol Psychiatr, Jun 1991, 59:(6), p234-8

Fredow G., Loscher W.: Effects of pharmacological manipulation of GABAergic neurotransmission in a new mutant hamster model of paroxysmal dystonia. Eur J Pharmacol, 1991, 192 :2 p207-19

Kondo T., Fromm CH., Schmidt B.: Comparison of gabapentin with other antiepileptic and GABAergic drugs. Epilepsy Res, 1991 8 (3), p226-31

Kloke M., Hoffken K., Olbrich H., Schmidt CG.: Anti-depressants and anti-convulsants for the treatment of neuropathic pain syndromes in cancer patients. Onkologie, 1991 14 (1), p40-3

Maccario M., Lustman LI.: Paroxysmal nocturnal dystonia presenting as excessive daytime somnolence. Arch Neurol, 1990 47 (3), p291-4

Watson CP.: Postherpetic neuralgia. Neurol Clin, May 1989 7 (2), p231-48



Scripta medica	70	Supplementum 4	105-108	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

II. katedra vnitřních oborů, LF UK Hradec Králové

2.nd Department of Medicine, Faculty of Medicine Charles University, Hradec Králové

**Malý J., Pecka M.**

## **Heparin v souvislosti s trombolýzou**

### **Heparin administration after thrombolysis**

#### **Souhrn**

Antikoagulační léčba, která následuje po trombolýze by měla:

- 1) akcelerovat rekanalizaci
- 2) snížit četnost reokluzí
- 3) nezvyšovat riziko krvácení

Zda podat či nepodat heparin po trombolýze je dané výběrem trombolytika:

U fibrin neselektivních trombolytik, jako jsou urokinaza, streptokinaza a APSAC, nemá podání současné heparinu význam, protože antikoagulační efekt obstarávají fibrin -degradační produkty, které se tvoří ve velkém množství.

V případě léčby tkáňovým aktivátorem plasminogenu a ostatních fibrin selektivních trombolytik je i.v. podání heparinu naopak doporučováno.

Pro antikoagulační terapii po koronární trombolýze je vhodné dodržovat tyto zásady:

- a) Podávat vyšší dávky heparinu a zvážit zda prospěch je významnější než riziko krvácení
- b) Nízkomolekulární heparin je výhodnější než standardní heparin, je možno lépe předpovědět antikoagulační odpověď.
- c) Vhodnost aplikace heparinu je dána především výběrem trombolytika.
- d) Heparin má být podáván v terapeutických dávkách, za kontroly APTT.

#### **Summary**

Anticoagulant therapy is given during and after thrombolysis in an attempt to accelerate recanalisation and to reduce the frequency of reocclusion without increasing the risk of haemorrhage. In both experimental animal models and humans, there is evidence that heparin has only limited ability to accelerate plasminogen activation-induced thrombolysis. This may reflect its inability to inactivate clot-bound thrombin, because, unlike heparin, the direct thrombin inhibitors increase the rapidity of tissue plasminogen activator-induced recanalisation. Although the use of heparin in conjunction with thrombolytic agents does not accelerate clot lysis, there is evidence that suggests that heparin reduces thrombotic reocclusion after tPA-induced coronary thrombolysis, but only when used in therapeutic doses.

Achieving this goals is problematic because large doses of heparin must be given, and careful laboratory monitoring is necessary because of the between-patient variability in the anticoagulant response to heparin.

Three approaches can be taken to optimise adjunctive antithrombotic therapy in the setting of thrombolysis. First, higher doses of heparin can be used with the hope that the benefits outweigh the risk of bleeding. Second, LMWH may be better than standard heparin in this setting because LMWH produces a more predictable anticoagulant effect. Thirdly, the direct thrombin inhibitors can be used because, unlike standard heparin and LMWH, these agents can inactivate clot-bound thrombin.

## Úvod

Antikoagulační léčba, která následuje po trombolýze by měla:

- 1) akcelarovat rekanalizaci
- 2) snížit četnost reokluzí
- 3) nezvyšovat riziko krvácení

Podle experimentálních studií má heparin omezenou schopnost zvyšovat trombolýzu indukovanou plazminogen aktivátorem, ale má určitou schopnost inaktivovat trombinem aktivovanou hemostázu. Na druhé straně přímé inhibitory trombinu jsou schopné akcelarovat trombolýzu aktivovanou t-Pa. Trombolytická léčba se současně podávaným heparinem není schopna urychlit lýzu trombu. Podání heparinu spolu s t-Pa však efektivně snižuje množství koronárních reokluzí, ale pouze tehdy, je-li heparin podáván v terapeutických dávkách.

V Heparin Aspirin Reocclusion Trial (HART) byla angiograficky dokumentována reperfuze koronární tepny, vyšetřené za 18 hod po léčbě t-Pa: Byla zjištěna 82% reperfuze koronárních tepen při současném podání heparinu a 52% reperfuze bez heparinu ( $p < 0.001$ ). Reperfuze byla závislá na APTT, při APTT pod 45 sec. byla pouze 45 % ,reperfuze při APTT nad 45 sec. byla 88% a reperfuze při APTT nad 60 sec. byla 95%.

V European Cooperative Study Group (ECSG) byla sledována reperfuze po 81 hodinách po trombolytické léčbě tPa. Ve skupině s heparinem zůstalo 83% reperfuzí a ve skupině bez heparinu 75%. Výsledek byl také závislý na prodloužení APTT.

Všechny tyto studie tvrdí, že heparin jako prevence retrombózy je efektivní, jestliže vede k významné antikoagulační odpovědi. Z toho plyne i nutnost řádné laboratorní kontroly, neboť odpověď na léčbu heparinem je u řady nemocných individuální. Je nutné zvažovat i to, že podání terapeutických dávek heparinu je spojeno významnějším rizikem krvácení.

Časná reokluze je asi u 15% úspěšně reperfundovaných nemocných. Polovina reokluzí je však klinicky němá.

Zda podat či nepodat heparin po trombolýze je dáno výběrem trombolytika:

U fibrin neselektivních trombolytik jako jsou urokináza, streptokináza a APSAC, nemá podání současně heparinu význam, protože antikoagulační efekt obstarávají fibrin degradační produkty, které se zde tvoří ve velkém množství.

V GUSTO studii nebyl významný rozdíl v reperfuzích mezi nemocnými léčenými s.c. a i.v. heparinem.

V případě léčby pomocí tPa a ostatních fibrin selektivních trombolytik je i.v. podání heparinu naopak doporučováno.

Toto doporučení vyplývá z následujících pozorování:

- a) angiografické studie dokumentují časnou reperfuzi po tPa ve srovnání s léčbou streptokinázou

b) podle velkých studií nejsou rozdíly v mortalitě u nemocných se srdečním infarktem při léčbě streptokinázou a tPa při nedostatečné heparinizaci.

c) angiografické studie ukazují, že časná reperfúze po tPa je nezávislá na heparinu, ale bez časného podání heparinu jsou reokluze po tPa častější než po streptokináze

d) s účinnou i.v. heparinizací je signifikantní redukce mortality ve srovnání se streptokinázou. Ve studii GUSTO byla mortalita s tPa 6,3% a se streptokinázou 7,3%, relativní pokles rizika mortality byl 13,7% ( $p < 0,001$ ).

Ve studii TIMI II a III byla podle angiografické kontroly prokázána časná a přetrvávající reperfúze při léčbě tPa 81% a při léčbě streptokinázou 61%.

### **Závěr**

Pro antikoagulační terapii po koronární trombolýze je vhodné dodržovat tyto zásady:

a) Podávat vyšší dávky heparinu a zvážit, zda prospěch je významnější než riziko krvácení

b) Nízkomolekulární heparin je výhodnější než standardní heparin, neboť lze lépe předpovědět antikoagulační účinek.

c) Vhodnost aplikace heparinu je dána především výběrem trombolytika.

d) Heparin má být podáván v terapeutických dávkách, za kontroly APTT.

### **Literatura**

1) Bode C., Nordt T.K., Runge M.S.: Thrombolytic therapy in acute myocardial infarction -- selected recent developments. *Ann. Hematol.* 1994, 69, (supplII) S35-540.

2) de Boer A., van Griensven J.M.T.: Drug interactions with thrombolytic agents. *Clin. Pharmacokinet.* 28, (4), 1995, 315-326.

3) De Bono D.P. et al.: Early intravenous heparin improves coronary patency in thrombolysis with recombinant human tissue-type plasminogen activator. *Br. Heart J.* 1992 67, 122-128.

4) Theroux P., Perez-Villa F., Waters D., et al.: Randomized double blind comparison of two doses of hirulog with heparin as adjunctive therapy to streptokinase to promote early patency of the infarct-related artery in AMI. *Circulation* 91, 8, 1995, 2132-2139.

Scripta medica	70	Supplementum 4	109-111	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové

**Kotlářová J., Hartlová S., Klemerová V., Tížková M.**

## **Nejčastější lékové formy v individuální přípravě léků současnosti**

### **Souhrn**

Byly sledovány nejpoužívanější lékové formy v současné magistraliter přípravě léků: 1. Solutiones externae (v širším pojetí) - 42%; 2. Unguenta - 27 %; 3. Collyria - 11 %.

Klíčová slova: lékárna - individuální příprava léků - lékové formy

### **Summary**

The aim of this study was to analyse the individual extemporaneous compounding of drugs in the Czech pharmacies at the present moment. It was investigated what kinds of the dosage forms are prepared, how many components they have, what kinds of the ingredients are used. The most frequent dosage forms are: 1. Solutiones externae (in broader conception of this terms) - 42%; 2. Unguenta - 27 %; 3. Collyria - 11 %.

Key words: pharmacy - individual extemporaneous compounding of drugs - dosage forms

### **Úvod**

Individuální příprava léků (IPL) patří do každé lékárny. Na katedře sociální a klinické farmacie FaF UK v Hradci Králové se zabýváme problematikou individuální přípravy léků. Naše sdělení představuje nejčastěji se vyskytující lékové formy v magistraliter receptuře současné doby. Metodika práce a charakteristika souboru

Vycházeli jsme z metodiky uváděné Andrásovou. V letech 1993/94 jsme sledovali po dobu jednoho týdne aktuální preskripci předpisů na IPL. Bylo zpracováno 161 souborů ze 129 různých lékáren ze 77 různých obcí ČR. Stejný úkol byl zadán ve dvou letech po sobě. Výsledky obou průzkumů byly obdobné.

Výsledky a diskuze

Získali jsme přehled o zastoupení lékových forem v rámci celého souboru, o vztahu lékových forem a počtu položek, z kterých se skládají. Jednotlivé položky v rámci každého předpisu jsme dále rozčlenili do tří základních skupin: na léčivé a pomocné látky (LL + PL), na léčivé přípravky (LP) a HVLP použité při přípravě IPL (HVLP). Výsledky názorně ukazuje tabulka 1. U každé z těchto skupin jsou dále uvedeny i nejčastěji se vyskytující konkrétní příklady léčiv nebo pomocných látek.

Poznámka: Rozdělení lékových forem jsme převzali z dřívějších prací, abychom mohli provést vzájemné porovnání.

Nejčastěji se vyskytující lékovou formou jsou v současné době Solutiones externae - celkem 42 %. Druhou nejužívanější lékovou formou jsou Unguenta - 27 %. Tyto lékové formy tvoří téměř 70

% veškeré magistraliter receptury! Na 3. místě stojí Collyria - 11 % a za nimi následují Solutiones internae - 10 %.

Pulveres divisi se 6 % jsou na 5. místě. Suppositoria, globuli a Pulveres nondivisi dosáhly shodně po 2,5 %.

Solutiones externae jsou v souladu s dřívějšími pracemi pojaty šířeji. Podrobnější rozdělení v rámci skupiny vypadá takto: roztoky vnější - ostatní tvoří 52 %, nosní kapky 38 %, suspenze 7 % a ušní kapky 3 %. Po provedení korekce vypadá pořadí nejčastějších lékových forem takto: 1. - masti - 27 %, 2. - roztoky vnější - ostatní - 22 %, 3. - nosní kapky - 16 %.

### 1. Solutiones externae - jednotlivé skupiny

a) Rhinoguttae (nosní kapky) - převládají přípravky tříložkové (28 %). Vyskytují se však i osmi a vícerožkové přípravky (2 %).

LL + PL = Ephedrinium chloratum, Aqua purificata, Methylcellulosum, Argentum diacetyltannicum albuminatum

LP = Sol. natrii chlorati isot., Sol. adrenalinii hydrogentartarici

HVLP = Framykoin sol., Sanorin gtt., Septonex plv., Mukoseptonex gtt.

b) Otoguttae (ušní kapky) - nejčastěji jsou předepisovány přípravky dvousložkové (42 %).

LL + PL = Acidum boricum, Aqua purificata, Spiritus dilutus

LP = Sol. hydrogenii peroxidati diluta

HVLP = Septonex plv.

c) Suspensiones (suspenze, emulze) - převládají jednosložkové přípravky (39 %), zde je myšleno většinou Suspensio zinci oxydati, které dostávají do lékáren již hotové od distributorů.

LL + PL = Mentholum, Zincum oxydatum, Glycerolum 85 %

LP = Suspensio zinci oxydati, Tinctura carbonis detergens

HVLP = Triamcinolon tct.

d) Solutiones externae - ostatní - z těchto převládají tříložkové přípravky (39 %).

LL + PL = Spir. dilutus, Aqua purificata, Acidum salicylicum

LP = Garg. formaldehydi Kutvirt, Spiritus saponis kalini

HVLP = Triamcinolon tct. a lotio

### 2. Unguenta

Druhé pořadí v lékových formách drží Unguenta (masti, pasty, krémy) s 27 %. Převládají unguenta dvousložková (41 %).

LL + PL = Ac. salicylicum, Vaselinum flavum, Dexamethasonum

LP = Cremor refrigerans, Synderman CH, Ambiderman

HVLP = Hydrocortison ung., Flucinar ung., Framykoin ung.

### 3. Collyria

Překvapila nás stálost výskytu kolýrií (oční kapky, oční vody) - okolo 11 %. Očekávali jsme, že při současné široké škále HVLP bude jejich zastoupení dnes již mnohem nižší. Nejčastěji se připravují kolýria dvousložková (přes 64 %). Pozn.: za složku je počítána pouze účinná látka a vehikulum, nikoliv např. konzervans.

LL + PL = Aqua purificata, Kalium iodatum, Pilocarpinium chloratum, Natrium iodatum a Natrium tetraboricum.

LP = Sol. adrenalinii hydrogentartarici

HVLP = Vitamin B12 inj., Sanorin gtt.

## Závěr

Výsledky této studie jsou dobře využitelné v praxi a mohou svým dílem přispět k dalšímu vývoji lékárenské přípravy léků. Naše materiály jsme např. poskytli pracovníkům SÚKLu pro přípravu nového Českého lékopisu, pedagogům farmaceutických fakult pro výuku farmaceutické technologie.

## Literatura

1. Andrýsová I.: Studie farmaceutických aspektů obsahu a organizace výrobní činnosti v lékárenství. (Kandidátská dizertační práce.) Farm. fakulta UK, Hradec Králové, 1980
2. Tížková M.: Problémy lékárenské přípravy léků II. (Diplomová práce.) Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové, 1996
3. Tomišková L.: Problémy lékárenské přípravy léků I. (Diplomová práce.) Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové, 1996

Tabulka 1: Procentuální zastoupení složek v jednotlivých lékových formách

Léková forma	Složka		
	LL + PL	LP	HVLP
Rhinoguttae	56	8	36
Otoguttae	88	10	2
Suspensiones	53	45	2
Ostatní sol.externae	82	16	2
Unguenta	61	24	15
Collyria	95	3	2

Scripta medica	70	Supplementum 4	112-124	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>Kardiocentrum, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>Meakins-Christie Laboratories, McGill University, Montreal, Canada

(Dr. Ploysongsang was on sabbatical leave from The University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio 45267, U.S.A.)

<sup>3</sup>The Second Dept. of Paediatrics, Prague, Czech Republic

**<sup>1</sup>J. Šulc, <sup>2</sup>Y. Ploysongsang, <sup>2</sup>C. Volta, <sup>3</sup>A. Zapletal, <sup>2</sup>J. Milic-Emili**

## **New Method for Measurement of Respiratory System Resistance: Application of an Intermittent Negative Expiratory Pressure (INTERNEP)**

### **NOVÁ METODA MĚŘENÍ RESISTENCE RESPIRAČNÍHO SYSTÉMU: POUŽITÍ PŘERUŠOVANÉHO NEGATIVNÍHO TLAKU (INTERNEP)**

Keywords: resistance, respiratory system, pulmonary function testing, method, negative expiratory pressure

This study was supported by the J.T. Costello Memorial Research Fund and by the Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health

#### **Souhrn**

Pøerušovaci metodu (von Neergaard a Wirz - 1927) mìøení resistance respiraèního systému ( $R_{rs}$ ), jsme modifikovali použitím negativního tlaku (NEP) -0.5 kPa, aplikovaného v průběhu klidového relaxovaného výdechu. NEP, generovaný na Venturiho principu, byl aplikován pøerušovani o frekvenci 4 Hz u 8 zdravých dospilých v průběhu metacholinového testu. Pøi relaxovaném výdechu platí:

$$P_{mus} I(t) = P_{el, rs} - R_{rs} \cdot V'(t) \quad (1)$$

kde  $P_{mus} I(t)$  = tlak **inspiraèních** svalù bhem klidového výdechu, který tento výdech zpomaluje,  $P_{el, rs}$  = retrakèní tlak respiraèního systému ( $rs$ ),  $R_{rs}$  = resistance  $rs$ ,  $V'(t)$  = průtok bhem klidového výdechu v èase  $t$ .

Aplikovaný NEP usnadòuje a urychluje výdech odsátím vzduchu z plic. Svou silou tak pùsobí proti  $P_{mus} I(t)$ , tedy klidový výdech zpomaluje. Proto platí:

$$P_{mus} I(t) - NEP = P_{el, rs} - V'R_{rs}(t) \quad (2)$$

Objemové hladiny na konci klidového výdechu je pak dosaženo dòíve a též  $P_{el, rs}$  klesá rychleji.  $P_{mus} I$  však klesá stále jen jako funkce èasu (Shee 1985). Proto bhem aplikace NEP se  $P_{el, rs}$  může vyrovnat velikosti  $P_{mus} I(t)$ , pokud proud vzduchu bhem výdechu dosáhne **nulové hodnoty** (ZF). V okamžiku pøerušení NEPu nastává vyjímèená situace: **retrakèní tlak  $P_{el,rs}$  se v okamžiku pøerušení průtoku**

(t.j. v okamžiku dosažení ZF) **rovná  $P_{\text{mus I}}(t)$** . Respirační systém dosáhne rovnovážného stavu a **obí síly** [t.j.  $P_{\text{mus I}}(t)$  a  $P_{\text{el, rs}}$ ] **se navzájem ruší**. Dechový objem se v ten daný okamžik nemění. Rovnici (2) lze proto upravit:

$$\text{NEP}_{\text{res, rs}} = V' R_{\text{rs}}(t) \quad (3)$$

kde  $\text{NEP}_{\text{res, rs}}$  = NEP překonávající pouze resistivní složku tlakového spádu,  $V'(t)$  = průtok během klidového výdechu měřený tisíci před přerušením NEPu.  $R_{\text{rs}}$  lze tedy vypočítat jako:

$$R_{\text{rs}} = \text{NEP}_{\text{res, rs}} / V'(t) \quad (4)$$

Výsledná klidová  $R_{\text{rs}}$  u 8 dospělých osob je  $0.49 \pm 0.15$  [kPa/l/s]. Po maximální koncentraci (16-128 mg/ml) metacholinu  $R_{\text{rs}} = 0.92 \pm 0.43$  ( $P < 0.05$ ). Po následné inhalaci 400  $\mu\text{g}$  Albuterolu  $R_{\text{rs}} = 0.50 \pm 0.17$  ( $P < 0.05$ ). Nová metoda nevyžaduje spolupráci pacienta, je neinvazivní a ekonomicky dostupná.

Lit.: Shee CD et al: J.Appl.Physiol. 58:1859-1865, 1985

## Summary

We modified the interruption method (von Neergard, Wirz - 1927) for measurement of the respiratory system resistance ( $R_{\text{rs}}$ ) by using of a negative expiratory pressure (NEP) -0.5 kPa applied during quiet relaxed expirium. The NEP generated by a device based on the Venturi principle was applied intermittently (frequency of 4 Hz) in 8 healthy adults during a methacholine challenge test. In a relaxed expiration the following relationship holds:

$$P_{\text{mus I}}(t) = P_{\text{el, rs}} - R_{\text{rs}} \cdot V'(t) \quad (1)$$

where  $P_{\text{mus I}}(t)$  = pressure generated at any instant time  $t$  of expiration by the **inspiratory** muscles,  $P_{\text{el, rs}}$  = elastic recoil pressure of the total respiratory system (rs),  $R_{\text{rs}}$  = resistance rs,  $V'(t)$  = the flow at any instant  $t$  during relaxed expiration. During application of a NEP, it facilitates expiration by sucking air out from the lungs. Therefore the equation (1) becomes

$$P_{\text{mus I}}(t) - \text{NEP} = P_{\text{el, rs}} - V' R_{\text{rs}}(t) \quad (2)$$

The NEP hastens expiration and decreases end-expiratory lung volume as well as  $P_{\text{el, rs}}$  **more rapidly** than during normal quiet expiration, whereas  $P_{\text{mus I}}(t)$  decays as a function of time. Therefore during application of NEP, the  $P_{\text{el, rs}}$  will have a chance to be equal to the  $P_{\text{mus I}}(t)$  when the expiratory flow **reaches zero** during the intermittently applied NEP. At the moment when NEP is stopped and the airflow drops to zero, **a unique situation** occurs:  $P_{\text{el, rs}}$  equals  $P_{\text{mus I}}(t)$ , and these two forces **cancel each other**. Among multiple intermittent cessations of NEP, there is only one, which is associated with zero flow, the others either do **not reach** zero flow or their flow signals **pass** the zero flow point. Accordingly the equation (2) becomes

$$\text{NEP}_{\text{res}} = R_{\text{rs}} \cdot V'(t) \quad (3)$$

where  $\text{NEP}_{\text{res}}$  = the NEP pressure just before zero flow which overcomes only the  $R_{\text{rs}}$ , and  $V'(t)$  is the flow just before the interruption of NEP. Then we will get

$$R_{\text{rs}} = \text{NEP}_{\text{res}} / V'(t) \quad (4)$$

Measured  $R_{\text{rs}}$  in 8 adults is  $0.49 \pm 0.15$  [kPa/l/s]. In maximal methacholine concentration (16-128 mg/ml)  $R_{\text{rs}}$  is  $0.92 \pm 0.43$  ( $P < 0.05$ ). After following inhalation of 400  $\mu\text{g}$  of Albuterol  $R_{\text{rs}}$  is  $0.50 \pm 0.17$  ( $P < 0.05$ ). This new method does not require subject's co-operation, is non-invasive and economically accessible.

Ref.: Shee CD et al: J.Appl.Physiol. 58:1859-1865, 1985



## Introduction

The theoretical basis of measuring the respiratory system resistance ( $R_{rs}$ ) in humans has been elaborating since the beginning of this century (1). There are several methods of measuring of  $R_{rs}$  (see later). The original method of von Neergaard and Wirz (2) is based on the assumption that during a short period (about 100 msec) of airway occlusion a rapid equalization of mouth (where the interruption is performed) and alveolar pressure is established. The resistance (claimed by authors as the airway resistance) was calculated as a ratio of mouth pressure measured immediately after interruption and the airflow measured just before interruption. During the past forty years several authors have contributed to a better understanding of the latter method (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13). This technique was also used in an elegant study in awake adults to calculate post-inspiratory inspiratory muscle activities (PIIA) (14).

The purposes of this study are to modify the method used originally by von Neergaard and Wirz (2), to introduce new approach for using a technique of a negative expiratory pressure application (15) for a  $R_{rs}$  measurement in spontaneously breathing subjects, to compare the obtained data on  $R_{rs}$  in present study with previously measured  $R_{rs}$ .

## Materials and Methods

In a relaxed expiration, according to Shee et al (14) the following relationship holds due to the lack of the expiratory muscle activity

$$P_{\text{mus I}} = P_{\text{el, rs}} - P_{\text{res, rs}} \quad (1)$$

or

$$P_{\text{mus I}}(t) = E_{rs} \cdot V(t) - R_{rs} \cdot V'(t) \quad (2)$$

where  $P_{\text{mus I}}(t)$  (also post-inspiratory inspiratory muscle activity = PIIA) is the pressure generated at any instant time  $t$  by the inspiratory muscles during expiration,  $E_{rs}$  is the elastance of the total respiratory system (rs),  $R_{rs}$  is the resistance of the total rs,  $V(t)$  is the lung volume at any instant  $t$  during relaxed expiration,  $V'(t)$  is the airflow at any instant time  $t$  during relaxed expiration.

Application of a negative pressure during expiration (NEP), (15), facilitates expiration by sucking air out of the lungs. Therefore the equation (2) becomes

$$P_{\text{mus I}}(t) - \text{NEP} = E_{rs} \cdot V(t) - R_{rs} \cdot V'(t) \quad (3)$$

A NEP of 0.5 kPa hastens expiration and decreases the lung volume  $V(t)$  as well as  $P_{\text{el, rs}}$  more rapidly than during normal quiet expiration, whereas  $P_{\text{mus I}}$  decays as a function of time (14). Therefore during application of NEP, the elastic recoil of the total respiratory system [ $P_{\text{el, rs}}$  or  $E_{rs} \cdot V(t)$ ] will be equal to the  $P_{\text{mus I}}$  whenever the expiratory airflow,  $V'(t)$ , reaches zero during the intermittently applied NEP.

The NEP is applied intermittently with frequency of 4 Hz, i.e., the duration of one NEP application is about 150 msec. At the moment when NEP is stopped and the airflow drops to zero (Fig. 1, Fig. 2), a unique situation occurs:  $P_{\text{el, rs}}$  equals  $P_{\text{mus I}}$ , and these two forces cancel each other. As a consequence, the respiratory system reaches an equilibrium momentarily and the volume of the respiratory system doesn't change, i.e. the respiratory system reveals its "volume plateau" as shown in the same figures. As a corollary, we can use the "volume plateau" as an index of equalization of  $P_{\text{el, rs}}$  and  $P_{\text{mus I}}$ .

Among multiple intermittent cessations of NEP, there is only one, which is associated with zero-flow, while the others either do not reach zero-flow or their flows become inspiratory (i.e. flow signals pass the zero flow point). Using the NEP associated with zero-flow the equation (3) becomes

$$NEP_{res, rs} = R_{rs} \cdot V'(t) \quad (4)$$

where  $NEP_{res, rs}$  is the NEP associated with zero airflow, which overcomes  $P_{res, rs}$  and  $V'(t)$  is airflow at any instantaneous time  $t$  immediately before the interruption of the NEP. Hence, we will get an equation for calculation of  $R_{rs}$ :

$$R_{rs} = NEP_{res, rs} / V'(t) \quad (5)$$

### Study Subjects

We studied eight healthy adult volunteers. All subjects were non-smokers, one subject was a former smoker (duration of cessation was nine years). Mean age ( $\pm$  SD) at the time of the study was  $37 \pm 7$  years, standing height  $175 \pm 6$  cm, body weight  $74 \pm 7$  kg (see Table 1). All subjects had been free of upper respiratory infection for at least one month prior to the testing and abstained also from caffeine on testing days. In all subjects we obtained pulmonary function tests (FEV1, FVC, FEV1/FVC and Raw measured in a bodyplethysmograph), performed in a seated position (see Table 1). The results were compared with the predicted values of Knudson (16) and Quanjer (17). The study was approved by the local Ethics Committee.

ANTHROPOMETRIC CHARACTERISTICS AND LUNG FUNCTION DATA OF 8 NORMAL SUBJECTS												
SUBJECT	Sex	Height	Weight	Age	FEV1		FVC		FEV1/FVC		Raw	
	M/F	cm	kg	yrs	L	% pred	L	% pred	%	% pred	kPa.L-1.s	
mean	7M/1F	175	74	37	3,64	91	4,58	94	80	97	0,14	< 0,22(upper limit)
SD		6	7	7	0,63	13	0,83	13	6	8	0,035	

### Study Design

Using our method we measured  $R_{rs}$  in eight seated subjects during normal quiet breathing in three steps. First, after the inhalation of a phosphate buffered saline solution (PBS), second, at the maximal dose of methacholine, and third, after inhalation of a bronchodilator after methacholine challenge. The  $R_{rs}$  measurement was followed by the FEV1 and FVC measurements in every step.

### Experimental Setup

Experimental setup used is shown in Fig. 3. Mouth pressure ( $P_{ao}$ ) was measured through a port close to the mouth piece by a pressure transducer (Validyne MP 45-1-871, Northridge, U.S.A., range  $\pm 100$  cmH<sub>2</sub>O, i.e.,  $\pm 10$  kPa). Airflows were measured by a Fleisch pneumotachograph #2 (distributed by BIONETICS Limited, Montreal, Canada) and a differential pressure transducer (Validyne MP 45-14-871, Northridge, U.S.A., range of  $\pm 2$  cmH<sub>2</sub>O, i.e.,  $\pm 0.2$  kPa). A device for delivery of a negative expiratory pressure (NEP) working on the Venturi principle (AEROMECH Devices Limited, Almonte, Ontario, Canada) was tightly connected to the Fleisch pneumotachograph. Driving pressure from a compressed air tank was connected to the device by a rapid one-way valve (ASCO 8030G, ASCOLECTRIC, Brantford, Canada) which was controlled manually as well as electronically by a software program (RAYTECH Instruments, Vancouver, Canada). All data were converted to digital formats (sampling frequency 100 Hz) and collected by a physiologic recording system DIREC (Fine

Science Tools Inc., Foster City, U.S.A.). Volume signals were obtained by electronic integration of flow signals. Data were processed by the computer program ANADAT (licensed by J.H.T. Bates, Meakins - Christie Labs., Montreal, Quebec, Canada).

### **Methacholine Inhalation**

A modified inhalation challenge protocol was carried out. For drug inhalation the jet Wright nebulizer (Aerosol Medical Ltd., Colchester, England) was used. This nebulizer produces particles in the range of 1.0 - 1.5 micron of aerodynamic mass median diameter. The inhalation challenge started with a phosphate buffered saline solution (PBS), followed by increasing concentrations of methacholine aerosol. Aerosols were inhaled by tidal breathing for 2 minutes, at interval of 6 - 7 minutes. The responses were quantified in every steps by spirometry (FEV<sub>1</sub>), using a microspirometer (MicroMedical Ltd., England). Principally, spirometry always followed R<sub>rs</sub> measurement.

The test was stopped when the subjects showed a 20% decrease in FEV<sub>1</sub> or reached the maximum level of methacholine concentration [Mch] of 128 mg/mL or experienced a severe dyspnea and/or cough. At the end of the study, a bronchodilator aerosol (Albuterol 400µg) was given to every subjects to reverse any bronchoconstriction.

### **Protocol and Measurements**

All studies were performed in a seated posture. During the measurements the neck was held in semi-extension position (18). The study began with a minimal period of 120 sec of a quiet breathing which was not recorded. Recordings started with a period of 60 sec of the normal tidal breathing. Then the measurements were performed after the inhalation of a phosphate buffered saline solution (PBS) during normal quiet breathing, at the maximal dose of methacholine (the mean methacholine concentration [Mch] was  $78 \pm 45$  mg.mL<sup>-1</sup>, range 16 - 128 mg.mL<sup>-1</sup>), and after the administration of the bronchodilator (Albuterol 400µg). The duration of collection of all data was 90 seconds for one run. Manual intermittent applications of NEP started at the beginning of a quiet expiration. Generally 0.5 kPa of intermittent negative expiratory pressure (INTERNEP) was used. The magnitude of INTERNEP was verified by applying the INTERNEP against a closed mouth piece just before and after measurements. The frequency of manually applied negative pressure was 4 Hz, ranging 3.8 - 4.2 Hz. Only those INTERNEP applications, where zeroflows were reached (see **Materials and Methods**), were selected for the further calculation. The flow and mouth pressure values just preceding the zero flow, i.e., when the respiratory system reached momentarily an equilibrium (see Fig. 1 and Fig. 2) were used for the calculation. The ratio between the mouth pressure during INTERNEP application and the simultaneously recorded flow was calculated as the resistance of respiratory system.

### **Statistical Analysis**

Parametric statistics were used since normal distributions have been shown previously for spirometric data. The paired t-test was used for within group comparisons. Results are presented either as mean  $\pm$  SD. The P value less than 0.05 was judged significant.

### **Results**

The results are shown in Table 2. The mean respiratory system resistance (R<sub>rs</sub>) measured in 8 seated adults was  $0.49 \pm 0.15$  kPa.L<sup>-1</sup>.s. At maximal methacholine concentrations (the mean [Mch]  $78 \pm 45$  mg.mL<sup>-1</sup>) the mean R<sub>rs</sub> was  $0.92 \pm 0.43$  kPa.L<sup>-1</sup>.s (P<0.05) and after the inhalation of 400µg of Albuterol the mean R<sub>rs</sub> decreased significantly to  $0.50 \pm 0.17$  kPa.L<sup>-1</sup>.s (P<0.05). Concomitant mean

FEV1 changes during maximal [Mch] reached minus  $12 \pm 9$  % of the initial (PBS-condition) value, after bronchodilator it reversed to minus  $3 \pm 6$  % of the initial value.

## Discussion

In the present study, the respiratory system resistance ( $R_{rs}$ ) in eight seated healthy adults was a little less than one half kPa.L-1.s (see **Results**). After methacholine challenge  $R_{rs}$  was approximately twice as high. Following inhalation of a bronchodilator  $R_{rs}$  decreased very close to the initial value.

In the classical interruption technique (2), the major flaw is the assumption that during the short airflow interruption at the mouth, the mouth pressure rapidly becomes equal to the alveolar pressure. It was shown that this assumption did not hold in diseased lungs as well as even in normal lungs due to the time constant inequalities, a gas redistribution phenomena (5, 9), a contribution of a chest wall resistance (19) and the high-frequency postinterruption oscillations (20). If in "classical" interruption method airway resistance is increased the equilibration of mouth pressure with alveolar pressure may be delayed because a small amount of air has to move from the alveolar space into the mouth for the mouth pressure to rise. Also the cheeks compliance could play a negative role for the pressure equilibration. Therefore alveolar pressure and resistance is much underestimated by conventional reading methods (21).

The interpretation of a resistance value measured by the interruption technique may be problematic. This can be demonstrated by a sum of explanations, published during last almost seventy years. It ranged from the term of airway resistance (2, 6, 12, 13) to the term of total respiratory system resistance (5, 7, 9). In the Bates' analyses of the interruption method two types of resistance, i.e. airway resistance and total respiratory system resistance was proposed (8, 9).

Using intermittent negative pressure method (INTERNEP), there are neither actual interruption of airflow nor assumption for the actual alveolar pressure measurement. Airflow, lung volume and mouth pressure changes only during the application and cessation of intermittently applied NEP, not by any interruption. These changes are used to calculate the total respiratory system resistance. Therefore, theoretically our technique should be more accurate than the interruption method and thus give more truthful values of resistance. Our  $R_{rs}$  values should be slightly higher than those obtained by the classical interrupter technique, which tends to underestimate the pressure.

Our expiratory total respiratory system resistance data measured by the INTERNEP technique were similar to those already published  $R_{rs}$ . Mead and Whittenberger (3) found the sum of the lung and thorax resistance of about 4.5 cmH<sub>2</sub>O.L-1.s (we refer the results in originally published units). Inspiratory resistance of the respiratory system, in ventilated adults without airflow obstruction, measured by the interrupter technique (22) was 8.6 cmH<sub>2</sub>O.L-1.s, with severe airway obstruction  $R_{rs}$  was 16.0 cmH<sub>2</sub>O.L-1.s. The mean respiratory system resistance measured by the interruption technique in normal population (age ranged from 8.4 to 75.6 years !) was  $3.8 \pm 1.7$  cmH<sub>2</sub>O.L-1.s (23). The viscoelastic inspiratory resistance of respiratory system in healthy anaesthetized humans amounted to  $3.7 \pm 0.7$  cmH<sub>2</sub>O.L-1.s was found (24). The effective pulmonary resistance measured by a technique of rapid airway occlusion during constant-flow inflation in anaesthetized paralysed adults equaled  $3.44 \pm 0.97$  and the chest wall tissue resistance,  $2.12 \pm 0.58$  cmH<sub>2</sub>O.L-1.s (25), respectively. The sum of these values was about 5.5 cmH<sub>2</sub>O.L-1.s (i.e. 0.55 kPa.L-1.s), which is very close to the values obtained in the present study.

Pulmonary resistance changes during challenge test may generally reach a substantial extent according to doses of challenge agents. An inspiratory pulmonary resistance ( $R_L$ ) in normal adults after methacholine challenge (a maximal [Mch] 64 - 128 mg.mL-1) increased by about 400% of baseline value (i.e. from the initial  $R_L$  range of 1.4 - 2.8 cmH<sub>2</sub>O.L-1.s to the range of 6 - 11 cmH<sub>2</sub>O.L-1.s) (26).  $R_L$  in dogs increased after [Mch] 16mg.mL-1 inhaled to 199% and after [Mch] 256 mg.mL-1 to 330%

of initial value, respectively (27). Much more increase of  $R_L$  in dogs after challenge (about 700% of initial value) was also found (28, 29). Similarly, a resistance of the respiratory system ( $R_{rs}$ ) in dogs increased after histamine infusion from a resting value of about 3.0 cmH<sub>2</sub>O.L-1.s to the value of about 8.5 cmH<sub>2</sub>O.L-1.s, i.e. by more than 250% of initial value (30).

To compare these data with our results - we found that in our group of normal adults an increase of  $R_{rs}$  was no more than 100% of initial (i.e. PBS-condition) value. The prominent influence of deep inspiration (DI) on dyspnea sensation and smooth muscles responsible for airway narrowing during challenge was intensively studied (31). However it was not the case in our protocol because DI is not required for the INTERNEP technique. Relatively low values of FEV<sub>1</sub> after maximal [Mch] (see Table 2) could be influenced by DI needed. The FEV<sub>1</sub> measurement does not allow separation of an effect of a DI or an effect of the inhaled bronchoconstrictive agent. To assess a given effect by using a technique that interferes with the effect is probably unsatisfactory despite its wide usefulness (26, 31). According to a study in dogs after histamine challenge Loring and co-workers (28) proposed that contractile elements responsible for alterations in air-space distensibility and hysteresis of dynamic lung recoil are either not stretched by lung inflation or are stretched but shorten again rapidly. It means the lung tissue resistance ( $R_{LT}$ ) increased, but did not decrease after lung inflation, in spite of Raw increased after challenge and decreased after lung inflation (28). On the other hand viscoelastic pressure losses associated with parenchymal distortion were proposed by morphometric method in dogs after methacholine exposure (27).

#### CHANGES OF FEV<sub>1</sub>, FVC and Rrs DURING METHACHOLINE CHALLENGE TEST

##### IN 8 NORMAL SEATED SUBJECTS

SUBJECT	after PBS	after maximal methacholine concentration					after Albuterol			
	Rrs	FEV1	FVC	Rrs		max. [MCh]	FEV1	FVC	Rrs	
	kPa.L-1.s	% PBS	% PBS	kPa.L-1.s	% PBS	mg.mL-1	% PBS	% PBS	kPa.L-1.s	% PBS
1	0,53	-12	-5	1,37	159	64	0	2	0,46	-13
2	0,50	-2	2	0,50	0	128	1	1	0,44	-12
3	0,40	-19	-12	0,75	88	64	-15	-3	0,50	13
4	0,82	-25	-11	1,09	33	128	-12	-2	0,78	-5
5	0,55	-4	1	1,20	118	128	-3	1	0,72	31
6	0,36	-5	0	0,47	31	16	2	1	0,37	3
7	0,37	-9	-3	0,44	19	32	1	-1	0,37	0
8	0,37	-22	-7	1,50	305	64	0	4	0,38	3
mean	0,49	-12	-4	0,92	94	78	-3	0	0,50	2
SD	0,15	9	5	0,43	101	45	6	2	0,16	14
<i>P</i> value vs PBS	/	<i>P</i> <0.01	<i>N.S.</i>	<i>P</i> <0.05		/	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>	
<i>P</i> value vs [Mch]	/	/	/	/	/	/	<i>P</i> <0.02	<i>P</i> <0.05	<i>P</i> <0.05	

**Definition of abbreviations:** % PBS = percent change relative to values obtained after inhalation of phosphate buffered saline (PBS)

Lung volume is a major determinant not only of  $R_{aw}$  itself but of the bronchoconstrictive response to Mch in normal subjects. The response could be enhanced when subject reach lower than functional residual capacity (FRC) level, i.e., probably changes in lung volume act to alter the forces of interdependence between airways and parenchyma that oppose airway smooth muscle contraction (29). However, it was not the case of our study because our subjects after INTERNEP application have ordinarily reached just FRC level (see Fig. 1).

The total respiratory system resistance is a sum of airway resistance ( $R_{aw}$ ), chest wall resistance ( $R_{CW}$ ) and a resistance of lung tissue ( $R_{LT}$ ). In our group of 8 adults the mean value of  $R_{aw}$  measured in bodyplethysmograph was  $0.14 \pm 0.04$  kPa.L-1.s. D'Angelo and co-workers (19, 25, 32) found the chest wall resistance ( $R_{CW}$ ) in paralysed adults amounted to about 27% of total  $R_{rs}$ . The actual value of  $R_{CW}$  might be in conscious spontaneously breathing subjects slightly higher because of no respiratory muscles relaxation. If we infer from our data a resting expiratory  $R_{rs}$  in seated adults of 0.49 kPa.L-1.s, and assuming a  $R_{CW}$  of 30% of total  $R_{rs}$  we can compute a resistance of lung tissue ( $R_{LT}$ ) to be about 0.2 kPa.L-1.s. Despite this value looks high, similar data (i.e., the tissue viscous resistance constituting about 30% - 40% of the total respiratory resistance) were already found in normal subjects during quiet breathing (33). A further investigation should be done to obtain more information about the value of  $R_{LT}$  itself in asthmatics as well as in normals, and its changes during inhalation challenge.

We conclude that this new method does not require the subject's co-operation, is non-invasive, economically inexpensive and provides theoretically reliable values of  $R_{rs}$ .

## Acknowledgements

The authors wish to thank the medical staff of the Chest Hospital in Montreal whose willing co-operation made the study possible, and especially the technician Miss Wendy Churchill, who performed the pulmonary function tests.

## References

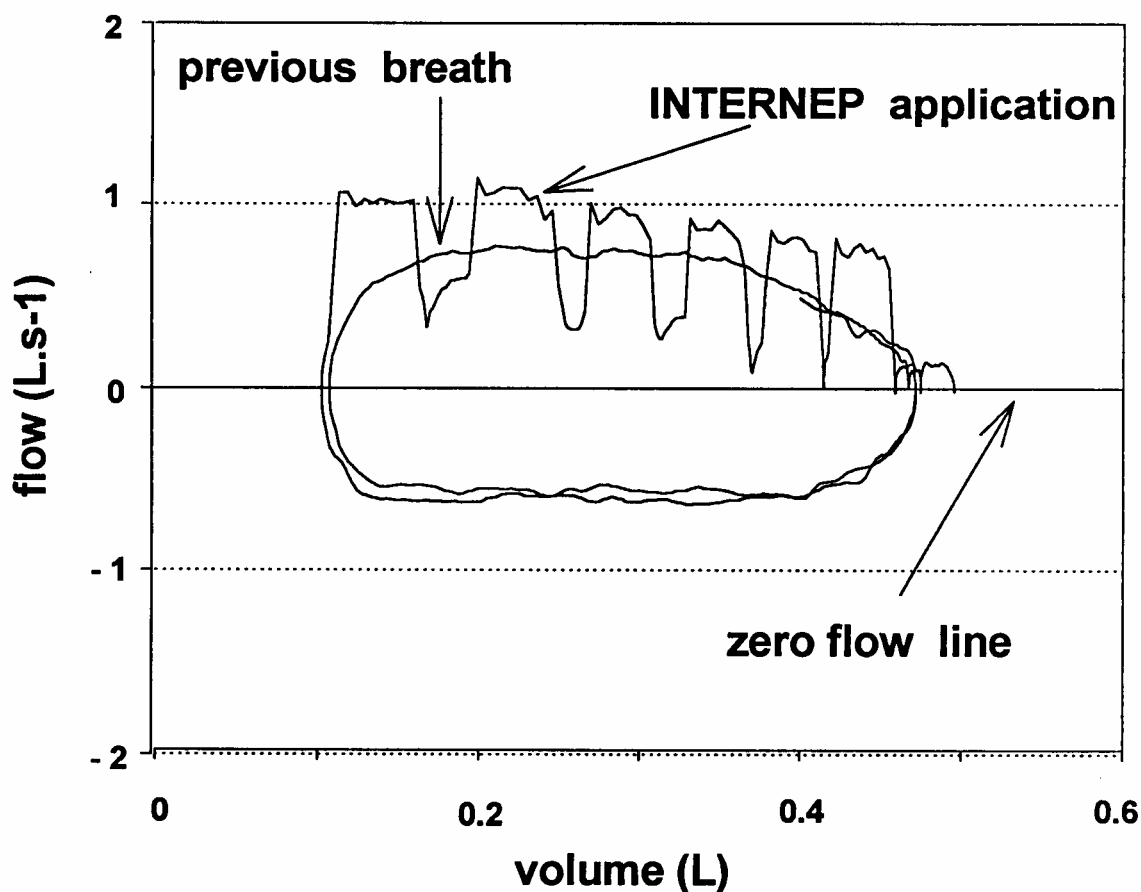
1. Rohrer F. Der Strömungswiderstand in den menschlichen Atemwegen und der Einfluss der unregelmässigen Verzweigung des Bronchialsystems auf den Atmungsverlauf verschiedener Lungenbezirke. *Pflügers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere* 1915; 162: 225-229
2. Neergaard von J, Wirz K. Die Messung der Strömungswiderstände in den Atemwegen des Menschen, insbesondere bei Asthma und Emphysema. *Z Klin Med* 1927; 105: 51-82
3. Mead J, Whittenberger JL. Evaluation of airway interruption technique as a method for measuring pulmonary air-flow resistance. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1954; 6: 408-416
4. Clements JA, Sharp JT, Johnson RP, Elam JQ. Estimation of pulmonary resistance by repetitive interruption of airflow. *J Clin Invest* 1959; 38: 1262-1270
5. Frank NR, Mead J, Whittenberger JL. Comparative sensitivity of four methods for measuring changes in respiratory flow resistance in man. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1971; 31: 934-938
6. Jackson AC, Milhorn HT, Norman JR. A reevaluation of the interruption technique for airway resistance measurement. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1974; 36: 264-268
7. Gottfried SB, Rossi A, Calverley PMA, Zocchi L, Milic-Emili J. Interruption technique for measurement of respiratory mechanics in anaesthetized cats. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1984; 56: 681-690
8. Bates JHT, Rossi A, Milic-Emili J. Analysis of the behaviour of the respiratory system during constant inspiratory flow. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1985; 58: 1840- 1848

9. Bates JHT, Bacconier P, Milic-Emili J. A theoretical analysis of interrupter technique for measuring respiratory mechanics. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1988; 64: 2204-2214
10. Bates JHT, Ludwig MS, Sly PD, Brown K, Martin JG, Fredberg JJ. Interrupter resistance elucidated by alveolar pressure measurement in open-chest normal dogs. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1988; 65: 408-414
11. Bates JHT, Abe T, Romero PV, Sato J. Measurement of alveolar pressure in closed-chest dogs during flow interruption. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1989; 67: 488-492
12. Liistro G, Stanescu D, Rodenstein D, Veriter C. Reassessment of the interruption technique for measuring flow resistance in humans. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1989; 67:933-937
13. Chowienczyk PJ, Lawson CP, Lane S, Johnson R, Wilson N, Silverman M, Cochrane GM. A flow interruption device for measurement of airway resistance. *Eur Respir J* 1991; 4: 823-826
14. Shee CD, Ploysongsang Y, Milic-Emili J. Decay of inspiratory muscle pressure during expiration in conscious humans. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1985; 58: 1859-1865
15. Kolouris NG, Valta P, Lavoie A, Corbeil C, Chassé M, Braidy J, Milic-Emili J. A simple method to detect expiratory flow limitation during spontaneous breathing. *Eur Respir J* 1995; 8: 306-313
16. Knudson RJ, Slatin RC, Lebowitz MD, Burrows B. The maximal expiratory flow volume curve. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113: 587-600
17. Standardized Lung Function Testing. Quanjer PH, ed. *Bull Eur Eur Physiopat Resp* 1983; 19, Suppl. 5: 7-10
18. Melissinos CG, Mead J. Maximum expiratory flow changes induced by longitudinal tension on trachea in normal subjects. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1977; 43: 537-544
19. Milic-Emili J, D'Angelo E. Role of viscoelastic properties of respiratory system in respiratory dynamics. In: Jones NL, Killian KJ, eds. *Breathlessness*, Hamilton, Ontario, Canada, 1992; pp. 96-102
20. Bates JHT, Milic-Emili J. The flow interruption technique for measuring respiratory resistance. *J Crit Care* 1991; 6: 227-238
21. Jaeger MJ. Effect of the cheeks and the compliance of alveolar gas on the measurement of respiratory variables. *Respir Physiol* 1982; 47: 325-340
22. Reinoso MA, Gracey DR, Hubmayr RD. Interrupter mechanics of patients admitted to a chronic ventilator dependency unit. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 127-131
23. Altena van R, Gimeno F. Respiratory resistance measured by flow-interruption in a normal population. *Respiration* 1994; 61: 249-254.
24. Jonson B, Beydon L, Brauer K, Mansson C, Valind S, Grytzell H. Mechanics of respiratory system in healthy anaesthetized humans with emphasis on viscoelastic properties. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1993; 75:132-140
25. D'Angelo E, Robatto FM, Calderini E, Tavola M, Bono D, Torri G, Milic-Emili J. Pulmonary and chest wall mechanics in anaesthetized paralysed humans. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1991; 70: 2602-2610
26. Wheatley JR, Pare PD, Engel LA. Reversibility of induced bronchoconstriction by deep inspiration in asthmatic and normal subjects. *Eur Respir J* 1989; 2: 331-339
27. Eidelman DH, Lei M, Ghezzi RH. Morphometry of methacholine-induced bronchoconstriction in the rat. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1993; 75: 1702-1710
28. Loring SH, Drazen JM, Smith JC, Hoppin Jr. FG. Vagal stimulation and aerosol histamine increase hysteresis of lung recoil. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1981; 51: 477-484
29. Ding DJ, Martin JG, Macklem PT. Effects of lung volume on maximal methacholine-induced bronchoconstriction in normal humans. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1987; 62: 1324-1330

30. Bates JHT, Decramer M, Zin WA, Harf A, Milic-Emili J, Chang HK. Respiratory resistance with histamine challenge by single-breath and forced oscillation method. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1986; 61: 873-880
31. Permutt S. Airway hyperresponsiveness in asthma: A problem of limited smooth muscle relaxation with inspiration. Lecture, from the proceedings of the Annual Congress of European Respiratory Society, Barcelona, Spain, September 16-20, 1995
32. Prandi E, Tavola M, Calderini E, Milic-Emili J. Interrupter resistance of the chest wall in humans. *Eur Respir J* 1993; 6, Suppl. 17: 406s
33. McIlroy MB, Mead J, Selverstone NJ, Radford EP. Measurement of lung tissue viscous resistance using gases of equal kinematic viscosity. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1955; 7: 485-490

**Fig. 1**

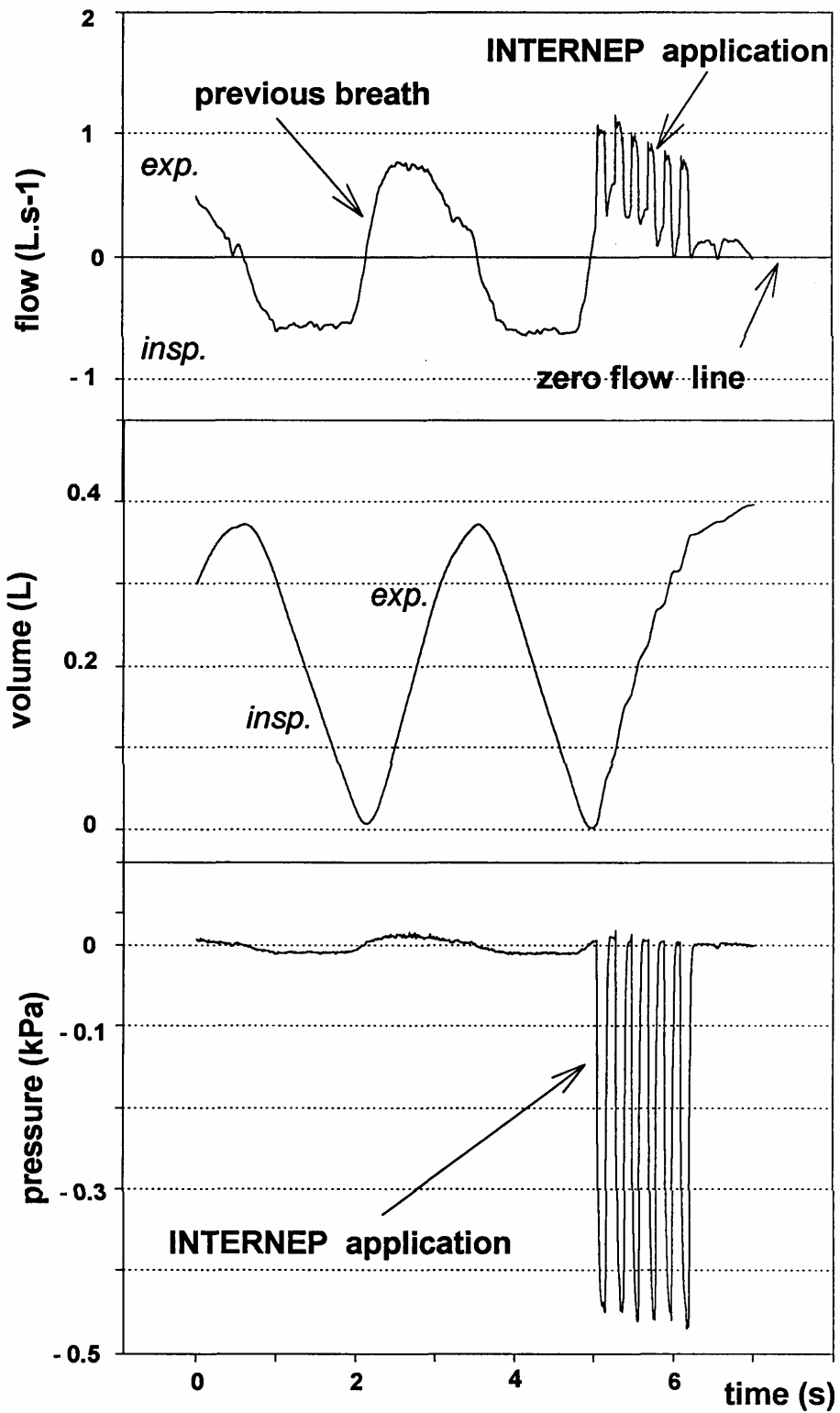
**Flow - volume curve**



Flow - volume curve of subject # 1 in PBS condition. Note an increase of airflow trace during a test breath (i.e., during INTERNEP application). The airflow trace reached the zero flow line close to the end of INTERNEP application (i.e., close to FRC level).

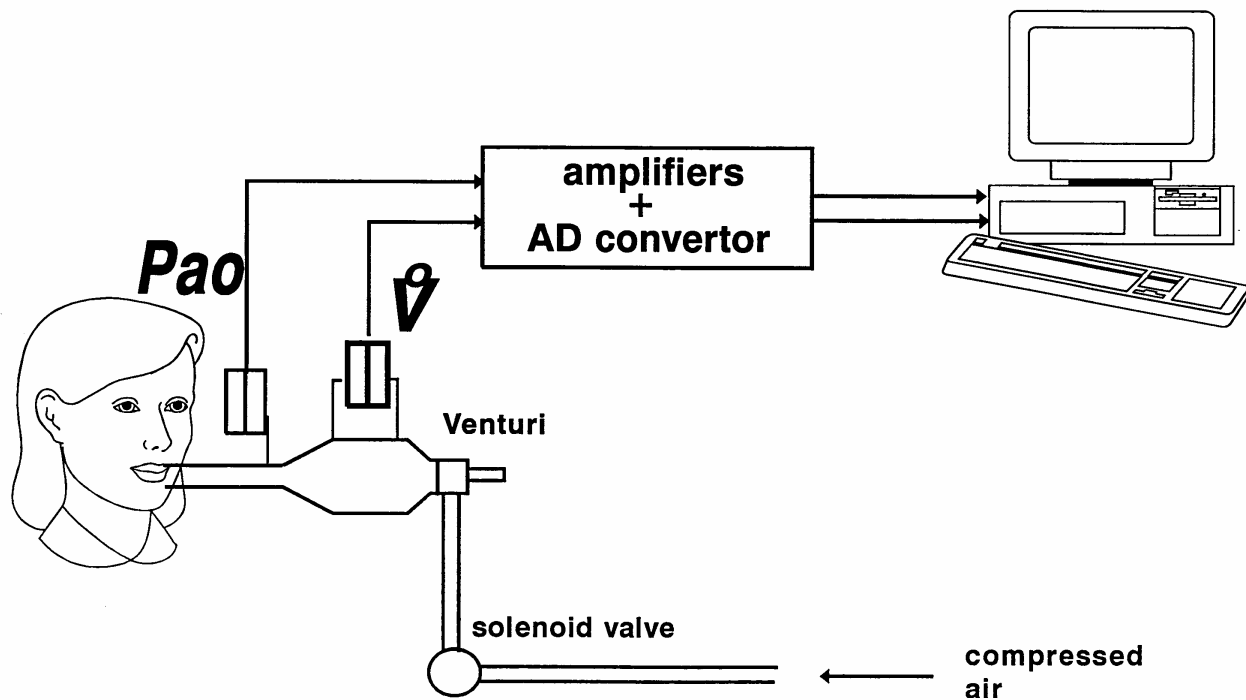


## Flow, volume and pressure changes during INTERNEP application



Flow, volume and pressure changes during normal and test breath (the same ones as in **Fig. 1**) of subject # 1 in PBS condition. Note, when airflow drops to zero and the volume of the respiratory system does not change, i.e. the respiratory system reveals its volume plateau.

## Experimental setup



Experimental setup. For precise information, please, see the section Materials and methods.

### Adresa pro korespondenci:

MUDr. Jan Šulc, CSc  
Kardiocentrum,  
Fakultní nemocnice v Motole  
V úvalu 84,  
150 18 Praha 5, Czech Republic  
tel: 420-2-2443-2960  
fax: 4202-2443-2920  
e-mail: jan.sulc@lfmotol.cuni.cz

Scripta medica	70	Supplementum 4	125-127	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

I.interní klinika FN Olomouc

přednosta Doc.MUDr.J.Lukl, CSc.

**Marek D., Lukl J., Heinc P., Fiala M.**

## **Using of TDI in arrythmia diagnosing - first experience with Toshiba Power Vision system**

### **Možnosti TDI v diagnostice arytmií - první zkušenosti se systémem Toshiba Power Vision**

#### **Souhrn**

Tendence řešit maligní tachyarytmie definitivně, tedy radiofrekvenční ablací arytmogenního substrátu, vedla k explozi invazivní elektrofyziologie. Mapování arytmogenního substrátu trvá většinou dlouho. Diagnostické a terapeutické katetry jsou vedeny pod rentgenovou kontrolou. TDI jako nová metoda znázorňující postup aktivace myokardu by mohla sloužit jako orientační guiding metoda zkracující dobu radiační expozice pacienta a personálu. Autoři referují o 3 pacientech s tachyarytmií, u nichž se podařilo při simultánním elektrofyziologickém a TDI vyšetření dosáhnout zásadní diagnostické shody.

#### **Summary**

There is a tendency to treat malignant tachyarrhythmias by using invasive electrophysiologic procedures - radiofrequency ablation. Electrophysiologic catheter mapping of the arrhythmogenic substrate is a time consuming procedure, using an X-ray as a guiding method.

TDI as a new method for imaging of a myocardial activation is supposed to become a possible guiding method that could cut the radiation doses of the patient and the staff. The authors present 3 cases of patients with tachyarrhythmias, in which the diagnosis set by simultaneous TDI and electrophysiologic study well correlated.

#### **Úvod**

Dnes je tendence řešit maligní arytmie selektivní katetrovou ablací ektopického ložiska či přídatné dráhy radiofrekvenčním proudem, takže pacient je po úspěšném výkonu uzdraven a nemusí již brát celoživotně antiarytmika. Poloha diagnostických a ablačních katetrů se kontroluje rentgenem. Podmínkou úspěchu je ovšem přesně lokalizovat tzv. arytmogenní substrát, tj. například ektopické ložisko nebo přídatnou dráhu u WPW syndromu. Takové diagnostické a terapeutické (ablační) výkony v komplikovaných případech mohou trvat i 6 a více hodin.

Použití TDI v arytmiologii

TDI je echokardiografická metoda zobrazující barevně pohyb myokardu, která se svými 30-60 obrázky za sekundu dostatečně názorně zobrazuje dynamiku a synergiu kontrakce sinusového stahu a naproti tomu asynergiu aktivace ať už u komorových ektopií nebo preexcitovaných stahů u WPW. Teoreticky tak umožňuje rychlou orientaci o uložení fokusu anebo přídatné dráhy. Při lokalizování samozřejmě nemůže být přesnější než elektrofyziologie, ale teoreticky může napomoci ke zkrácení doby elektrofyziologického mapování, a tedy celkové doby výkonu a doby rtg ozařování pacienta a personálu. Na tomto poli byly již některé studie publikovány: Sutherland referoval již v r. 1994 o souboru několika desítek pacientů s dvoudutinovou stimulací, raménkovými blokádami, preexcitacemi či ektopiemi, vyšetřených TDI. Touto metodou bylo velmi dobře možné sledovat postup depolarisace myokardu. Nakayama (1995) demonstroval pomocí TDI preexcitaci u 24 z 29 pacientů s levostrannou akcesorní dráhou a u 4 ze 13 pacientů s pravostrannou dráhou a syndromem WPW, dokonce byl schopen metodou TDI rozlišit i částečný efekt radiofrekvenční ablace.

Vlastní zkušenosti:

Od června 1996 je na I.interní klinice FNOL, která se zabývá arytmiologií, nový echokardiografický přístroj Toshiba Power Vision, který umožňuje poměrně kvalitní zobrazení aktivace myokardu metodou TDI. Po určité době studia TDI metody byla provedena konfrontace výsledků elektrofyziologické studie s TDI analýzou u některých pacientů indikovaných k invazivnímu vyšetření pro dokumentovanou nebo suspektní tachyarytmii. Tito pacienti byli za klidových podmínek vyšetřeni TDI a poté simultánně elektrofyziologicky a echokardiograficky metodou TDI na katetrizačním sálku při vyvolání tachyarytmie. Sdělení, které je doplněno dokumentací elektrofyziologických nálezů a videoprojekcí záznamů TDI, se zabývá analýzou fyziologické elektrické aktivace při sinusovém rytmu a třemi pacienty, kteří byli i v podmínkách katetrizačního sálku dobře vyšetřitelní echokardiograficky:

Pacientka č.1: symptomatická tachyarytmie se širokými QRS komplexy, dle povrchového EKG pravděpodobně WPW syndrom s pravostrannou akcesorní dráhou (RAP). Při programované stimulaci síní (PSS) byla při frekvenci 240/min. vyvolána setrvalá tachykardie se širokými komplexy. Na TDI obraze byla jednoznačná změna postupu aktivace pravé komory (PK) - místo aktivace septa kodované červeně se jako první objevovala aktivace hrotu PK, kodovaná v modré barvě - nález svědčící pro jdoucí k hrotu PK. Elektrofyziologickým mapováním byla potvrzena atrioventrikulární reentry tachykardie při pravostranné spojení, s její insercí spíše v proximální části pravé komory. Byla provedena úspěšná radiofrekvenční ablace akcesorní dráhy.

Pacientka č.2: dokumentovaná supraventrikulární tachykardie, dle povrchového EKG suspektní atrioventrikulární nodální reentry tachykardie (AVNRT). Programovanou stimulací byla vyvolána setrvalá supraventrikulární tachykardie. V TDI obraze byl zřetelný nejčasnější pohyb v oblasti atrioventrikulární junkce, s prográdní aktivací po komorovém septu a simultánní retrográdní aktivací síňového septa s následnou aktivitou proximální a laterální síně, tedy nález očekávaný u AVNRT. Elektrofyziologicky byla potvrzena diagnosa AVNRT a byla dokumentována i odpovídající elektrická aktivace. Následně byla provedena úspěšná radiofrekvenční ablace v oblasti atrioventrikulárního uzlu.

Pacient č.3: dokumentovaná supraventrikulární arytmie nejasného původu, refrakterní na všechna dostupná antiarytmika. Při programované stimulaci byly TDI metodou zobrazeny 2 typy tachyarytmie, 1 s origem v oblasti sinusového uzlu, tedy horní pravé síně, a 1 s nejčasnější aktivací v oblasti AV junkce. Elektrofyziologickým mapováním byly identifikovány celkem 4 typy fokální

síňové tachykardie s různým místem vzniku v pravé síni a různou frekvencí. Vzhledem k tomuto komplikovanému nálezu pacient nebyl indikován k pokusu o ablací.

### **Diskuse**

Jde o iniciální zkušenost, snažili jsme se prokázat, že diagnosa stanovená těmito dvěma metodami se může v zásadě shodovat. Levostranná dráha, se kterou zatím zkušenosti nemáme, by měla být ještě vděčnějším předmětem studie. Elektrofyziologie je v lokalisaci substrátu přesnější. TDI je pomocnou metodou zrychlující vyšetření a teoreticky snižující dávky radiačního záření. Je otázka, zda se TDI ukáže být metodou, použitelnou pro rutinní praxi. Simultánní echo vyšetření s elektro vyšetřením je ve stísněných podmínkách katetrisačního sálku limitováno řadou faktorů: omezený prostor kolem pacienta, sterilní pole (katetrisována v. subclavia a v.femoralis), rtg lampa nízko nad hrudníkem, poloha pacienta na zádech, tachyarytmie, omezený čas pro echo vyšetření, event. pravostranná lokalisace akcesorní dráhy. Nicméně naše první zkušenosti jsou pro nás povzbuzující.

### **Literatura**

viz příspěvek Tissue doppler imaging - možnosti praktického použití (D.Marek)

Scripta medica	70	Supplementum 4	128-130	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

2.interní klinika, fakultní nemocnice U sv.Anny,Pekařská 53

**Špác, J., Němcová H., Hlinomaz O., Blaha M., Dvořák I.**

## **New possibilities of echocardiography in the diagnosis of the left ventricular dysfunction**

### **Nové možnosti echokardiografie v diagnostice levokomorové dysfunkce**

#### **Souhrn**

Cílem studie bylo hodnocení toku v plicních žilách pomocí transesofageální dopplerovské echokardiografie.

U 58 nemocných s ischemickou chorobou srdeční jsme hodnotili toky v plicních žilách s cílem posoudit, jestli rychlosti toku v těchto cévách mohou sloužit pro neinvazivní odhad enddiastolického tlaku levé komory (LVEDP).

Dopplerovské měření toku v plicních žilách je bezpečné, relativně neinvazivní a jednoduché. Tato metoda umožňuje rychlý vizuální odhad enddiastolického tlaku v levé komoře srdeční.

**Klíčová slova:** Transesofageální echokardiografie. Funkce levé komory srdeční.

#### **Summary**

The purpose of the present study was to evaluate the pulmonary venous pattern as assessed by transesophageal Doppler echocardiography (TEE).

To determine whether pulmonary venous flow velocities might be used as an index of left ventricular enddiastolic pressure(LVEDP) we evaluated venous flow in the upper left pulmonary vein in 58 patients with coronary artery disease(CAD).

The Doppler measurement of pulmonary venous flow is safe, relative noninvasive and simple. This method allows rapid visual evaluation of enddiastolic pressure in the left ventricle.

#### **Úvod**

V 80tých letech ukázaly experimentální práce možnost využití toku v plicních žilách pro neinvazivní odhad levokomorového plnicího tlaku a tím i hodnocení diastolické funkce levé komory.(1,2)

Soubor nemocných a metoda

Soubor vyšetřených nemocných tvoří 29 nemocných ve skupině N s průměrným LVEDP 8.21 mmHg a 29 nemocných ve skupině P se zvýšeným LVEDP s průměrnou hodnotou 17.5 mmHg. TEE hodnocení bylo provedeno 1 den před invazivním vyšetřením .

TEE záznamy byly provedeny sondou 5MHz firmy ATL. Ze záznamů průtokových křivek v plicních žilách byly potom hodnoceny vrcholové rychlosti toku v systolické (PVs), diastolické části (PVd) křivky a poměr vrcholové rychlosti v systole/vrcholová rychlosti v diastole (index PVs/PVd)

### **Výsledky**

Zjistili jsme velmi dobrou korelaci mezi LVEDP a poměrem vrcholových rychlostí v systole/vrcholové rychlosti v diastole s korelační koeficient 0.88.(viz obr.1 ).

### **Rozprava**

V roce 1985 Keren se spolupracovníky (2 poprvé využili možnosti transtorakální echokardiografie pro hodnocení toku v plicních žilách . Transesofageální echokardiografie (TEE) poskytuje vynikající možnost záznamu toku v plicních žilách.

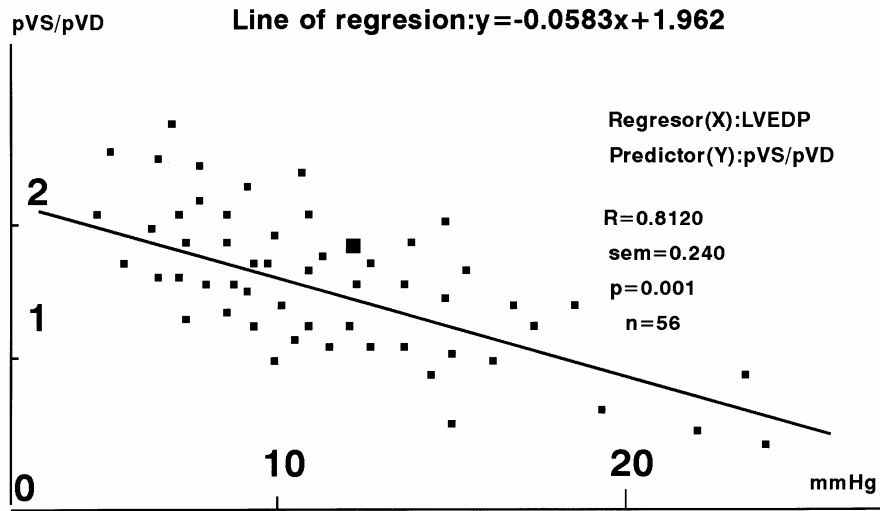
Teoreticky je průtok krve v plicních žilách určen tlakovým gradientem mezi plicní arterií a levou síní. Plicní žilní tok má ve většině případů 4 fáze(obr.2 ). Dva dopředné vrcholy během komorové systoly (S<sub>1</sub>-časný systolický tok, S<sub>2</sub>-pozdní systolický tok), jeden dopředný tok během diastoly (D) a jeden obrácený tok během kontrakce levé síně(A). Pokud střední tlak v levé síní není zvýšený , během komorové systoly a relaxace levé síně dosahují rychlosti toku v plicních žilách vyšší rychlosti než v diastole. Pokud je střední tlak v levé síní zvýšený, plicní venosní tok má nižší rychlosti systolického proudění. Naopak vrcholová rychlost diastolického proudění je vyšší, což znamená, že většina krevního průtoku do levé síně probíhá v diastolické části křivky toku v plicních žilách,tj.během diastoly levé komory (1,3).

Hodnocení toku v plicních žilách je užitečným ukazatelem doplňující mosaiku řady dalších funkčních parametrů používaných v echokardiografii pro hodnocení levokomorové funkce.

### **Literatura**

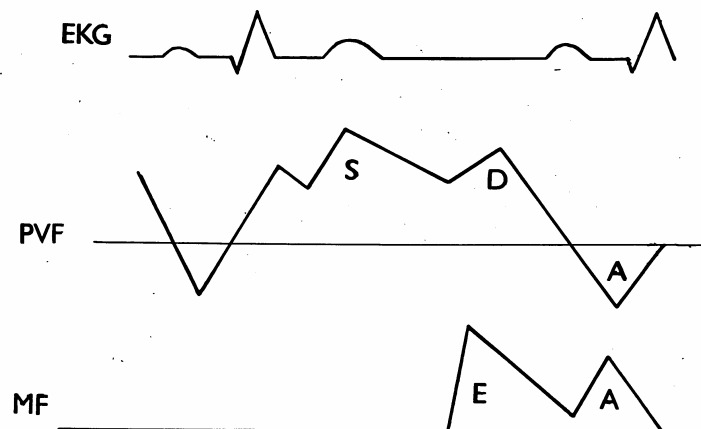
- 1.Kuecherer,H.F., Muhiudeen,I.A., Kusumoto,F.M., Molinier,L.E., Cahalan,M.K., Schiller,N.B.: Estimation of mean left atrial pressure from transesophageal pulsed doppler echocardiography of pulmonary venous flow. *Circulation*, 82, 1990, 4, 1127-1139.
- 2.Keren,G.,Sherez,J.,Megidish,R.,Levitt,B.,Laniado,S.: Pulmonary venous flow pattern - its relationship to cardiac dynamics.*Circulation*,71,1985,6,1105-1112.
- 3.Špác,J., Němcová,H., Blaha,M., Dvořák,I., Černý,J.:Význam toku v plicních žilách pro odhad plnicího tlaku levé komory srdeční. *Vnitřní lékařství*,39,1993,4,353-358

obr.1



Korelace mezi poměrem vrcholové rychlosti v systole/vrcholová rychlosti v diastole (index PVs/PVd) na ose X a LVEDP měřeným invazivně na ose Y.

obr.2



Schématické znázornění toku v plicních žilách (PVF) a vztahu k EKG křivce a toku na mitrální chlopni (MF). Písmeno S označuje systolickou fázi toku, D diastolickou fázi toku v plicních žilách, A zpětný tok při síňové systole. E-fáze rychlého plnění levé komory, A-fáze plnění levé komory při systole síně



Scripta medica	70	Supplementum 4	131-133	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

I.interní klinika FN Olomouc

přednosta Doc.MUDr.J.Lukl, CSc.

**Marek D.**

## **Tissue doppler imaging - možnosti praktického použití**

### **Tissue doppler imaging in clinical practice**

#### **Souhrn**

Tissue doppler imaging je metoda barevně zobrazující dynamiku srdeční kontrakce a její poruchy u různých patologických stavů. Autor v přehledném referátu diskutuje možnosti použití této nové metody v klinické praxi.

#### **Summary**

Tissue doppler imaging is a method for a colour coded imaging of the dynamics of cardiac contraction in normal and pathologic states of myocardium. Using of this method in clinical practice is discussed in this article.

#### **Úvod**

Tissue doppler imaging (TDI) je poměrně nová metoda, která dovoluje zobrazit dopplerovskou metodou barevně pohyb srdečních struktur, tedy pomalé pohyby, zatímco vysoké rychlosti krevního toku jsou filtrovány. Rozlišení je dáno především amplitudou signálu, neboť signál odražený od tkání je mnohonásobně silnější než signál vracející se od krevních elementů. Je zachováno klasické základní barevné kodování, tj. červená - směr k sondě, modrá - směr od sondy. Rozvoj TDI je umožněn konstrukcí přístrojů s vysokou snímkovací frekvencí barevného dopplerovského modu (při optimálním nastavení parametrů barvy a zúžení sektoru až 60 Hz). TDI přináší některé nové poznatky o dynamice srdečního stahu, jiným starším objevům dodává lesku a elegance tím, že je oděje do barvy (například komplexnost pohybu srdečních stěn, do kterého se nutně promítá i pohyb celého srdce v hrudníku, nebo transparietální gradient, byly známy už v éře Mmodu, ale nyní se těmto faktům dostává mnohem větší popularity.

Jaké nové informace tedy dává TDI oproti klasické echokardiografii?

- TDI umožňuje měřit rychlost kontrakce v kterémkoliv bodě srdeční stěny, což klasický Mmode prakticky neumožňoval. Díky tomu se stal populárním tzv.

- transparietální gradient rychlosti při kontrakci (TPG), česky řečeno: vnitřní, subendokardiální vrstvy myokardu se kontrahují v systole rychleji než vnější, subepikardiální. (Tento objev je původně více než 10 let starý, autoři originální práce implantovali endo- a epikardiální rtg kontrastní markery do srdce psů.)

Dále se zpřesnilo i vědomosti o dynamice stahu, ví se, že

- maximální diference v rychlostech jednotlivých vrstev má své maximum v pozdní systole
- systola subendokardiálních vrstev je asi o 5% delší než kontrakce subepikardu.
- Pro klinickou diagnostiku je cenné zjištění, že
- ztráta TPG je velmi citlivým markerem poruchy jak diastolické, tak systolické funkce komory (například ischemií postižený segment TPG nevykazuje, zatímco nepostižené oblasti myokardu u téhož pacienta mají TPG zachován. Stejně tak u pacientů s dilatační kardiomyopatií chybí TPG. Navíc při hodnocení ischemie je při barevném TDI vyšetření velmi názorně vidět asynergie, která je v klasickém dvourozměrném obraze poměrně špatně hodnotitelná a vyžaduje zkušené oko, zvláště při vyšších frekvencích srdce (zátěžové echo).
- Ztráta TPG se projeví i u diastolické dysfunkce. Například postižené myokardiální segmenty u hypertrofické kardiomyopatie, přestože mají zachovanou systolickou funkci, nevykazují TPG, kdežto nepostižené segmenty téhož pacienta mají fyziologický TPG.
- Vcelku bez velkého překvapení souhlasí s našimi představami o poruše diastolické funkce myokardu poznatek, že
- rychlost pohybu srdečních stěn u zdravého jedince je nejvyšší v časně diastole (srovnání s dopplerovskými toky na mitrální chlopni), a analogicky
- při poruše diast. fce LK se snižuje rychlost pohybu stěny ve fázi rychlého diastolického plnění a naopak rychlost expanse stěn komory je nejvyšší ve fázi síňové kontrakce (vysoká A vlna ve spektrální anlyze).
- Kromě toho bylo vcelku snadno dokumentováno, že TDI je velmi citlivá metoda pro
- znázornění celkového snížení rychlosti kontrakce nemocného myokardu (například u dilatační kardiomyopatie nebo u akutní rejekce transplantátu - zde jde dokonce o nejcitlivější známku).
- Důležitým aspektem celé věci je to, že zatímco doposud jsme při hodnocení poruchy kontraktility byli odkázáni buď na subjektivní odhad vyšetřujícího nebo na velmi pracné off-line počítačové hodnocení segmentární kinetiky traceováním, máme nyní poměrně názorné
- objektivní on-line vyjádření rychlosti kontrakce jednotlivých segmentů v barevné škále. Na druhé straně si však musíme být vědomi toho, že chceme-li získat skutečně objektivní absolutní hodnoty rychlosti pohybu, je nutno používat korekční úhel, neboť standardně je barva vyjádřením pohybu vzhledem k sondě a nikoliv k fyziologickému těžišti, které, jak je známo již od 80. let, leží zhruba ve 2/3 osy od anulu cípatých chlopni k apexu. Na druhé straně, při hodnocení TPG se tato nevýhoda ztrácí - TPG je totiž na dopplerovském úhlu nezávislý.
- Pozoruhodné je i použití TDI v arytmiologii. TDI je metoda, která se svými 30-60 obrázky za sekundu - dostatečně názorně zobrazuje synergii kontrakce sinusového stahu a naproti tomu asynergii aktivace u různých arytmií (ektopických či preexcitovaných stahů, ramíkových blokad ap.). V jiném sdělení referujeme o našich vlastních zkušenostech s použitím TDI v diagnostice arytmií.

## Literatura

1. Erbel R., Nesser H.J., Drozd J.: Atlas of Tissue Doppler Echocardiography TDE. Darmstadt: Steinkopf 1995
2. Gorcsan J., Katz W.E., Mandarino W.A. et al. Heterogeneous left ventricular septal and posterior wall velocities: quantitative temporal assessment by myocardial color doppler imaging (abstract). Circulation 90, 1994: I-327
3. Stewart M.J., Groundstroem K.W., Sutherland G.R. et al.: Myocardial imaging by color doppler coded velocity mapping - a new method for the assessment of myocardial contractility. Eur Heart J 14, 1993, p 467

4. Uematsu M., Miyatake K., Yamagishi M. et al.: Myocardial velocity gradient as a new method to quantitate regional left ventricular wall motion abnormalities (abstract). *Circulation* 90, 1994: I - 326
5. Wallbridge D.R., Bruck C., Buck T. et al.: Tissue doppler echocardiography: a new perspective on the assessment of diastolic function in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 92, 1995 (Suppl.I) I - 734
6. Nakayama K., Kematsu M., Tanaka N. et al.: An enhanced method for evaluation of results after radiofrequency catheter ablation in Wolf-Parkinson-White (WPW) syndrome: application of tissue doppler imaging technique. *Circulation* 90, 1994 (abstract): I - 327
7. Sutherland G., Pons-Lladó G., Carreras F. et al.: Doppler myocardial imaging in the evaluation of abnormal ventricular depolarisation. *Circulation* 92, 1995 I-735 (abstract)

Ostatní literatura a odkazy u autora

Scripta medica	70	Supplementum 4	134-141	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

**Krusová D., Ševela K., Mejzlík V., Pecová J., Svojanovský J.**

## **Možnosti monitorování nefrotoxických účinků**

### **Souhrn**

Pro detekci časného stadia poškození ledvin ještě ve fázi reverzibilních změn je nutno využívat v klinické praxi stále častěji močové markery nefrotoxicity. Hlavními procesy, které se hodnotí jsou filtrace/eliminace a reabsorpce/sekrece. Po mnoho let je hlavní pozornost v této oblasti soustředěna na proteiny - buď abnormální v typu nebo v množství - a na enzymy. Nové techniky aplikace monoklonálních protilátek umožňují porozumět roli cytokinů, růstových faktorů, kolagenní matrix a lipidových mediátorů, což rychle rošiřuje pole nových kandidátů na močové biomarkery.

### **Summary**

It is necessary to use up the urine biomarkers in the clinical practice for the detection of early renal changes in the reversible period. The principle processes to be evaluated are filtration/elimination and reabsorption/secretion. Proteins, either abnormal in type or amount, and enzymes have possessed dominant interest in this field for many years. New techniques of applying monoclonal antibodies allow to understand the role of cytokines, growth factors, collagen matrix and lipid mediators, which expands rapidly the field of new candidates for urinary biomarkers.

### **Význam biomarkerů pro klinickou praxi**

Ledviny jsou zranitelný orgán. Jsou vysoce vaskularizovány, dostávají 25% srdečního výdaje. Kontaktní plochy mezi strukturami nefronu a xenobiotikem jsou rozsáhlé, jak pro povrch glomerulárního endotelia, tak i tubulárního epitelia.

Protože jsou ledviny místem četných metabolických transformací, vyžadují normální perfuzi, dostatek energeticky bohatých substancí a konstantní přívod kyslíku. Ledviny jsou rovněž citlivé na inzult zvnějšku.

Proto je důležité mít na paměti možnou nefrotoxicitu řady látek, mezi něž patří organické i anorganické chemické látky a v neposlední řadě i léky. Léky indukované nefropatie jsou četné a často nebývají diagnostikovány. Ještě před 30 lety byly málo známé, nyní mají důležité místo v nefrologii. U všech typů renálního selhání, ať už akutního nebo chronického, ať glom., tub., intersticiálního nebo vaskulárního, by měla být brána v úvahu možnost nefrotoxicity medikamentózní. Je proto velice nezbytné snažit se diagnostikovat renální postižení obecně, nejen u lékového postižení, co možná nejdříve, v nejčasnějších stádiích, protože jen tak lze předejít přechodu v chronicitu nebo dokonce v renální selhání. Abychom včasnou diagnostiku mohli uskutečnit, je třeba využívat v klinické praxi více markerů pro detekci nefrotoxického účinku v časných stádiích.

Biomarkery reprezentují měřitelné změny v biologickém systému nebo sebraném biol. materiálu, které korelují se změněnými biochemickými nebo buněčnými funkcemi. Biomarker je definován jako exogenní substance nebo její metabolit nebo produkt interakce mezi xenobiotickým agens a cílovou molekulou nebo buňkou, který je měřitelný uvnitř kompartmentu organismu (Stengel, B., et al., 1995)

Jsou rozříděny podle místa léze na nefronu. Rozeznávají se tak markery s působením na úrovni glomerulů: proteinurie vysokomolekulár. (albuminy), markery s účinkem na úrovni tubulů: proteinurie nízkomolekulární (beta-2-mikroglobulin, transportní protein pro retinol, alfa-1-mikroglobulin) a enzymurie (N-acetyl-beta-D-glukosaminidáza, alanin aminopeptidáza). Jsou dobře známy také vlivy více faktorů - jak fyziologických (věk, pohlaví, váha, diuréza, cirkadiánní rytmus, pH moče), tak i určitých patologických podmínek (DM, hypertenze arteriální, nefrotoxické léky) na vylučování těchto markerů do moče.

### **Základní mechanismy renálního postižení**

Postižení ledvin je způsobeno 2 mechanismy - přímým toxickým efektem a působením ve své podstatě imunologickým (Cameron, S., et al., 1992).

#### **a/ Nefropatie způsobené toxickým mechanismem**

Bylo prokázáno, že sfingilipidy hrají důležitou roli pro integritu a funkci buněčné membrány, nutnou pro zajištění její permeability, a dovolují tak norm. funkci membránových enzymů.

Dochází ke zvýšení hydrolýzy fosfolipidů a ke zvýšení degradačních produktů fosfolipidů - lysofosfolipidů - a volných mastných kyselin, které mají vlastnosti membránových detergentů. Selhání plasma membránových pump jako jsou Na,K-ATPáza a Ca-ATPáza vede ke vzniku velkých, potenciálně škodlivých změn v kationtové homeostáze buněk. Takto změněné plochy mají i porušenou schopnost transportu.

Během buněčného inzultu, ať už toxického nebo ischemického je časnou a obecnou změnou akumulace Ca v buňkách. Zvýšení intracelulárního Ca může modifikovat permeabilitu vnitřní membrány mitochondrií, a tím i změnu elektrochemického gradientu, což vede ke ztrátě enzymů a nukleotidů.

#### **b/ nefropatie způsobené imunologickým mechanismem**

Protilátky proti bazální membráně, hlavně glomerulární bazální membráně, jsou odpovědné za vznik řady glomerulonefritid (GN), nejlépe prostudován je model GN indukovaný solemi Hg. Tyto protilátky vykazují lineární fixaci, po dvou měsících dochází k přeměně lineárních depozit do granulárních. Granulární depozita IgG se nacházejí v mnoha orgánech. Tyto protilátky proti bazální membráně mají antilamininovou a antiprokolegen IV aktivitu. Průvodním nálezem je současná detekce CIK a snížení komplementu (aktivovaného klasickou patol. cestou, jak ukazuje snížení C2 a C4). Antigen, který tvoří část těchto imunitních komplexů, je stále neznámý.

Také tubulointersticiální nefropatie mohou být způsobeny imunitním mechanismem, postižení bazální membrány je zde obtížnější. Tubulointersticiální nefritida nebude však indukována produkcí protilátek, ale vzniká v závislosti na zprostředkované buněčné imunitě. T buňky - více T4. méně T8 - jsou aktivovány také pod vlivem léků nebo jejich metabolitů. -např. methicilin, nesteroidní antirevmatika, cimetidin.

### **Koncentrace moče a proteinurie**

Ledviny mají mnoho funkcí, jednou z nich je vylučování odpadů. Hrají rovněž rozhodující roli v udržování homeostázy vnitřního prostředí prostřednictvím multifaktoriálních procesů a jsou schopny diluce nebo koncentrace moče ve srovnání s plasmou. Koncentrační schopnost ledvin může mít i škodlivé následky, když vede k akumulaci toxických látek v ledvinném intersticiu.

Tím, že selhává schopnost koncentrace moče, vzniká polyurie s redukcí osmolality, což předchází často změnám v rychlosti glomerulární filtrace, jako je kreatininová clearance. Koncentrace moče může představovat senzitivní marker renálního poškození. Bylo prokázáno, že schopnost koncentrace moče je zhoršena prioritně před jakýmkoli změnami v exkreci kreatininu močí (např. u zvířat léčených fumonisinem B) (Suzuki, C., et al., 1995)

Při normálních renálních funkcích glomerulární filtrační bariéra provádí selekci transferu plasmatických proteinů o molekové velikosti menší než albumin, tj. cca 40.000 Da do lumina nefronu. Tyto volně filtrovatelné nízkomolekulární proteiny jsou dostatečně reabsorbovány proximálními tubuly. Za jistých patol. okolností je porušena buď filtrační bariéra nebo reabsorpce proximálního tubulu a je zvýšeno množství určitých proteinů, které mohou být měřeny v moči.

Zvýšená proteinurie reflektuje perturbanci renálních funkcí, a tak může být detekována jako první ještě před zhoršením filtrační rychlosti. Představuje tedy lepší indikátor časných postižení ren. funkcí než kreatininová clearance.

Rozlišení mezi **glomerulární proteinurií**-ztrátou selektivity propustnosti filtrační bariéry a **tubulární proteinurií**-snížením reabsorpční kapacity nefronu, je založeno na rozdílné kvalitě a kvantitě proteinů měřených v moči (Porter, G., 1994).

### **Glomerulární proteinurie**

Z klinických pozorování u pacientů s nefrotickým syndromem vyplývá, že glomerulární proteinurie je suspektní, když množství proteinu v moči je vyšší než 2.5g/24h. Navíc, při větším postižení, je glomerulární proteinurie neselektivní, obsahuje spektrum molekových velikostí.

V poslední době technické vymoženosti dovolují měření miligramových množství albuminu v moči. Izolovaný vzestup exkrece albuminu je projevem poklesu nebo zániku účinnosti elektrostatické repulze glomerulární stěny a indikátorem selektivní glomerulární poruchy. **Mikroalbuminurie** (20-250mg/24h) je nejčasnějším markerem rozvoje diabetické nefropatie a je konečným bodem pro možnost terapeutické intervence. Možnost vyšetřování mikroalbuminurie spojené s časnou detekcí různých onemocnění glomerulů tak posouvá definici glomerulární proteinurie z kvantity do kvality (Porter, G., 1994).

**Index selektivity** vyjadřuje procentuální podíl clearance bílkovin o vyšší molekové hmotnosti (IgG) na clearanci referenční plasmatické bílkoviny s menší molekul. hmotností (albumin, transferin). Hodnota menší než 0,1 (10%) znamená vysokou selektivitu u nefrotického syndromu s minimálními změnami. Hodnota větší 0,2 (20%) představuje neselektivní proteinurii (Schuck, O., et al., 1995).

**Transferin** může předcházet změnám v exkreci albuminu v nečasnějších fázích vývoje glomerulární proteinurie, a je proto některými autory doporučován jako citlivější indikátor poruchy funkce elektrostatické repulze.

Vzestup exkrece **imunoglobulinu IgG** je nejčastěji projevem glomerulární neselektivity při strukturálních změnách glomerulární stěny (např. u GN) nebo při funkční aktivaci bazální membrány. V obou případech se exkrece IgG zvyšuje souběžně a proporcionálně s exkrecí albuminu.

## Tubulární proteinurie

Naopak tubulární proteinurie je často menší než 1.0g/24h a je složena z nízkomolekulárních bílkovin. Třída nízkomolekulárních proteinů zahrnuje velkou šíři proteinů různých vlastností a funkcí, jako jsou enzymy (ribonukleáza, lysozym), hormony (inzulin, růstový hormon), nosné nebo vazebné proteiny (beta 2-mikroglobulin) nebo cytokiny (interleukiny). Všechny tyto proteiny mají velmi malou velikost, a tak jsou rychle eliminovány z plasmu s eliminačním poločasem okolo několika hodin (cca 2h u beta 2-m) a odbourávány tubulárními buňkami. Vyskytují se ve stopovém množství v plasmě, moči a jiných tekutinách. Když selhává renální funkce, jejich eliminace se posouvá z intratubulárního katabolismu k močovému vylučování, které může být prokazatelně zvýšeno. U pacientů se závažným tubulárním poškozením může vzrůst koncentrace některých nízkomolekul. proteinů (CC16, beta 2-m) až na tisícinásobek koncentrace v plasmě (Bernard, A., et al., 1995).

Nízkomolekulární proteiny mají jisté vlastnosti spojené s jejich malou vahou, které jim dávají potenciální možnost sloužit jako markery nefrotoxicity. Když se objeví v plasmě ve své volné formě, mohou být senzitivní vůči akutním i chronickým postižením. Renální odstranění nízkomolekulárních proteinů se děje hlavně v proximálních tubulech, to je v segmentu nejvíce citlivém na toxické trauma. Buňky proximálního tubulu mají opravdu schopnost transportu, akumulace nebo aktivace množství xenobiotik a jsou také velmi citlivé na ischemii.

Tubulární odstraňování nízkomolekulárních bílkovin postupuje v několika krocích, které jsou potenciálními cíly xenobiotik:

a/ adsorpce na kartáčovém lemu membrány formou elektrostatické vazby bílkovin na membránové receptory tubulárních buněk

b/ endocytóza

c/ digesce proteinu - proteolýza lysozomálním systémem a

d/ recyklace membránou. Defekt kteréhokoli tohoto kroku může vést ke zmenšení reabsorpční kapacity proteinů (nejčastější situace), ale také v případě nemetabolizovatelných proteinů k intratubulární akumulaci, která může vést k cytotoxicitě (Bernard, A., et al., 1995).

Tento typ proteinurie zvaný tubulární a obsahující široké množství nízkomolekul. bílkovin (ale málo albuminu) byl poprvé popsán v r.1950 u lidí s chron. otravou cadmiem. To vedlo k objevu post-gama-proteinu, nyní zvaného cystatin-C, v r.1961, beta 2-m v r.1968 a alfa 1-mi, alfa 2-mi v r.1975 a v r.1980 protein 1, čerstvě identifikovaný jako Clara cell protein (CC16).

Moč pacientů s tubulární proteinurií je stále nejlepším zdrojem pro purifikaci těchto nízkomolekulárních proteinů a předpokládá se, že obsahuje i jiné orgánově specifické mikroproteiny, které by mohly sloužit jako biomarkery toxicity (Bernard, A., et al., 1995).

**Beta-2-mikroglobulin**, jehož stanovení je významně ovlivňováno preanalytickými faktory (dekompozice při změně pH moče, vlivem proteolytických enzymů z leukocytů v moči, teplotou), je proto

někdy nahrazován vyšetřením alfa-1-mi a RBP. B-2-mi se však stále jeví jako lepší marker po alkalizaci moče pro precizaci pohledu na tubulární funkce.

Močový **poměr B-2-mi / mikroalbuminurie** by mohl zajímavě přiblížit rozdíl mezi glomerulární a tubulární proteinurií (Porter, G., 1994).

**Alfa-1-mikroglobulin** je metodou volby při hodnocení změn rezorpce tzv. volně filtrovatelných plasmatických bílkovin při diagnostice tubulintersticiálních lézí.

**Alfa-2-mikroglobulin = retinol binding protein (RBP) = transportní**

**protein pro retinol** vhodně doplňuje stanovení alfa-1-mi, protože při tubulointersticiálních lézích se změny v exkreci volně filtrovatelných bílkovin nevyvíjejí proporcionálně. Specifita a senzitivita obou se liší.

V normální moči je přítomen **Tamm-Horsfall protein** (THP) v největší koncentraci a je sekretován buňkami ascendentního raménka Henleovy kličky. Jeho unikátní místo vzniku umožňuje považovat ho za biomarker renální tubulární dysfunkce. V poslední době byla vyvinuta jednoduchá senzitivní RIA metoda pro lidský THP.

Ze studie bioptických nálezů chronické glomerulonefritidy byl evidentní inverzní vztah mezi rozsahem tubulárního poškození a zmenšenou exkrecí THP. Předpokládá se také, že hlavním faktorem pro zmenšenou sekreci THP u renálních onemocnění je pravděpodobně redukce počtu funkčních buněk distálního tubulu (Porter, G., 1994).

**Clara cell protein** (CC16), objeven v r.1980, je produkován neciliárními buňkami převážně terminálních bronchiolů a také u mužské populace v urogenitálním traktu. CC16- gen byl prokázán v plicích a reprodukčních orgánech, zejména v prostatě. Jeho fce zatím není zcela jasná. Zdá se, že jako uteroglobulin je přirozeným imunosupresorem nebo protizánětlivým činitelem downregulace imunitního systému, zejména v respiračním a urogenitálním traktu.

Vyskytuje se ve velmi vysoké koncentraci zejména v tekutinách odvozených z respiračního traktu, tj. sputu, bronchoalveolární laváži. Pasivně difunduje do séra, ze kterého pokračuje glomerulární filtrací a tubulární reabsorpcí jako ostatní nízkomolekulární proteiny. Jeho hladiny v séru stoupají, když klesá glomerulární filtrace a je vylučován ve zvýšeném množství, když dochází k dysfunkci proximálních tubulů. CC16 lze využít tedy jako marker plicní toxicity a stejně tak plní významnou roli jako marker toxicity ledvin: je stabilní v moči, vykazuje lepší rezistenci vůči hydrolýze kyselými proteázami než RBP. Proto by mohl být užitečným markerem dysfunkce proximálního tubulu. Bylo dokázáno, že CC16 je velmi citlivý index renální dysfunkce a dovoluje detekci i minimálních defektů v reabsorpční kapacitě, které by nebyly poznány při screeningu založeném jen na B-2-mi, RBP nebo alfa-1-mi.

Jediněčná senzitivita CC16 při proximální tubulární dysfunkci je však limitována jeho velmi nízkou koncentrací v tubulární tekutině, (50x méně než RBP a alfa-1-mi), což kombinováno s jeho aniontickým charakterem - za přítomnosti dalších proteinů do značným brání jeho přístupu k vazebným místům řasinkového lemu (Bernard, A., et al., 1995)

## **Enzymurie**

S omezením přijímají nefrologové měření enzymatické aktivity v moči jako výrazu stupně renální tubulární dysfunkce. Důvodem jsou různé faktory, které ovlivňují aktivitu, která je nezávislá na celulární integritě - např. pH moče, osmolarita, poměr inhibitory/aktivátory. Přesto pro snadnost sběru moče a významné zlepšení technických aspektů ve vyšetřování močové enzymatické aktivity je zvýšený zájem o její aplikaci jako ukazatelů akutního nebo chronického poškození ledvin.

Interpretace titru močových enzymů je založena na premise, že základním zdrojem vysokomolekulárních enzymů jsou poškozené tubulární buňky. Navíc vedle normálních buněčných ztrát, se může zvýšit jejich množství v moči změnou permeability buněčné membrány a zvýšenou rychlostí syntézy enzymů. Samozřejmě se musí vyloučit i jiné zdroje aktivity enzymů v moči, včetně plasmatických enzymů, sekrece z gastrointestinálního traktu, úniky do moče z nerenálních buněk a efekt léků, jako jsou např. salicyláty zapříčiňující deskvamaci renálních buněk (Porter, G., 1994).



Rozdíly v distribuci enzymů umožňují přesnou identifikaci místa postižení. Bylo izolováno přes sto močových enzymů. Ty, které jsou dobře definovány a široce určovány, jsou **N-acetyl-beta-D-glukozaminidáza (NAG)**, nacházející se na S3 segmentu proximálního tubulu a v distálním nefronu a **alanin-amino-peptidáza (AAP)**, vázána k proximálnímu tubulu.

Zvýšené vylučování obou těchto enzymů je podmíněno jak regresivními změnami tubulárních buněk, tak i jejich zvýšenou metabolickou aktivitou (např. při jejich regeneraci nebo intenzivní rezorpci bílkovin ultrafiltrátu u nefrotických PU). Nacházejí se u množství renálních onemocnění, včetně pyelonefritidy, glomerulonefritidy, urologických karcinomů a rejekcí transplantátu, navíc bývají zvýšené ve spojení s množstvím dobře definovatelných nefrotoxinů (expozice Cd, Hg, Pb, cisplatinou, aminoglykosidy, cyklosporiny, fumonisin B, nesteroidní antiflogistika, radiokontrastní látky).

Zkušenosti s NAG a AAP ukazují, že žádný není specifický s ohledem na určení vyvolávajícího onemocnění, ale jsou velmi senzitivní k akutnímu tubulárnímu postižení.

V současné době jsou ve středu zájmu dva močové enzymy: **intersticiální alkalická fosfatáza (IAP)** a **nespecifická tkáňová alkalická fosfatáza**, jako segment-specifické markery lidského nefronu. V sebrané moči vhodně konzervované zůstávají stabilní pět měsíců. Klinické studie předpokládají, že kombinací těchto zkoušek lze rozlišit S1-S2 segment oproti S3 při studiu jak profesního screeningu, tak při klinických farmakologických studiích (Porter, G., 1994).

**Glutathion-transferáza** je široce se vyskytující enzym, jehož maximum se nachází v rozpustné formě v cytoplasmě. Existují tři hlavní třídy označované alfa, pí a mí o molekulové váze od 47 do 53 kDa. Bylo dokázáno, že močová hladina alfa izoenzymu se významně zvyšuje jeho uvolněním ze specifické lokalizace v buňkách proximálního tubulu. Toto zvýšení se týká zejména časných stadií nefrotoxicity indukované cyklosporinem A. Toto zvýšení se netýká pí izoenzymu, neboť v iniciální fázi jsou postiženy jen proximální tubuly, v jejichž buňkách pí izoenzym chybí. Vyskytuje se v epiteliálních buňkách distálního nefronu, a je zvýšen v moči v časných fázích rejekce alograftu. Tyto dva markery umožňují rozlišení těchto dvou patologických stavů, a navíc jsou časnějším markerem existující nefropatie, ještě před nárůstem sérového kreatininu (Sundberg, A., et al., 1994).

### **Nové možnosti v diagnostice nefrotoxicity**

Noví kandidáti moč. biomarkerů zahrnují **cytokiny, růstové faktory, komponenty kolagenní matrix, lipidové mediátory**.

**Epidermální růstový faktor (EGF)** se zdá být výhradně ledvinného původu. Pro klinické využití jsou však nutné další studie.

Obrat buněk lemující tubulární lumen tvoří konečné množství celulární debris ve finální moči. Získáním **monoklonálních protilátek** vůči membráně a jiným antigenům odvozeným od buněk je možno získat nové, senzitivní, specifické a snadno dostupné biomarkery renálního postižení. Muti et al. 89 detekoval exkreci tubulárního antigenu spojeného s nefropatiemi při expozici Cd, hydrocarbonátem, cisplatinou a kontrastními látkami.

**Antigeny kartáčového lemu-brush border antigens-BBA, BB 50, HF 5** představují markery postižení proximálního tubulu (Fels., L., et al., 1994).

Jako další markery postižení glomerulární funkce se jeví **prostanoidy**. Močová exkrece obou -jak vasodilatátoru 6-ketoprostaglandinu 1-alfa (stabilní metabolit prostacyklinu) a vazokonstriktoru tromboxanu B<sub>2</sub> (stabilní metabolit tromboxanu A<sub>2</sub>) jsou vyšší u expozice Pb,Cd. Nutno současně eliminovat externí - seminální - zdroj prostaglandinů. (Fels., L., et al., 1994)

**Fibronectin (Fc)**, tj. glykoprotein (440 kDa), existuje v rozpustné formě v plasmě a v nerozpustné formě v mnoha extracelulárních matrix. V ledvinách je hlavní komponentou mesangiální matrix. Fragmety Fc nalezené v moči jsou původu ledvinného. Pokud není přítomna masivní glomerulární proteinurie, nejsou původu plasmatického. Mikropunkční studie ma krysách ukazují, že glomerulus je zdrojem močového Fc. Únik renálního Fc do moče může zobrazovat metabolické procesy mesangiálních buněk, což jsou syntéza nebo enzymatická degradace fibronektinu. Fc jako marker změn v metabolismu nebo morfologii renální extracelulární matrix se vždy s progresí onemocnění nachází u diabetických pacientů, dokonce je zjištěna zvýšená exkrece strukturálního proteinu ještě před začátkem mikroalbuminurie (Fels, L., et al., 1994).

### **Závěr**

Závěrem je možno shrnout, že v praxi je v současné době nutno stále častěji myslet na eventuální nefrotoxické účinky řady látek, a proto je potřeba využívat dostupných markerů časného renálního postižení. Aby se spektrum těchto biomarkerů doplňovalo ve své senzitivitě a také pro jejich širší zavedení do klinické praxe, jsou zapotřebí ještě další studie dobře definovaných pacientů v korelaci s ostatními parametry renálních funkcí.

### **Literatura**

- Bernard, A., Lauwerys, R.: **Low-molecular-weight proteins as markers of organ toxicity with special reference to Clara cell protein**, Toxicology letters, 77, 1995, 145-151
- Cameron, S., Davison, A., Grunfeld, J., Kerr, D., Ritz, E.: **Oxford textbook of clinical nephrology**, Suffolk, 1992, 993-1036
- Fels, L., Herbort, C., Pergane, M., Jung, K., Hotter, G. et al.: **Nephron target sites in chronic exposure to lead** Nephrol Dial Transplant, 9, 1994, 1740-1746
- Porter, G.: **Urinary Biomarkers and Nephrotoxicity** Miner Electrolyte Metab., 20, 1994, 181-186
- Schuck, O., Tesař, V., Teplan, V. a kol.: **Klinické nefrologie** Medprint, Praha, 1995, 19-20
- Stengel, B., Chouquet, C., Céné, S., Philippon, C., Michard, D., Hémon, D.: **Marqueurs précoces de néphrotoxicité: facteurs de variation et reproductibilité** Revue epidémiol. et Santé Publique, 43, 1995, 494-503
- Sundberg, A., Appelkvist, E., Backman, L., Dallner, G.: **Urinary - Class Glutathione Transferase as an Indicator of Tubular Damage in the Human Kidney**, Nephron, 67, 1994, 308-316
- Suzuki, C., Hierlihy, L., Barker, M., Curran, I., Mueller, R., Bondy, G.: **The Effects of Fumonisin B<sub>1</sub> on Several Markers of Nephrotoxicity in Rats**, Toxicology and applied pharmacology, 133, 1995, 207-214
- Ševela, K., Gajdůšková, V., Havránková, V., Havlát, F., Krifta, P., Jarošová, A.: **Klinické použití infuzní pumpy s rotorem v okluzní dráze**, Vnitřní lékařství, Vol 42, No. 6, 1996, p. 400-403.
- Ševela, K., Gajdůšková, V.: **Estery kyseliny ftalové a lidský organismus**. Čas. Lék. Čes., Vol 135, No. 21, 1996a, p. 679-682.
- Ševela, K., Siegelová, J., Havlát, F., Havránková, V., Zahradníček, L.: **N-acetyl-beta-D-glukosaminidase (NAG) in urine of patients with nephrogenic hypertension treated with nitrendipin**. Scripta medica, Vol 69, No. 7, 1996b, p. 343-350.

Scripta medica	70	Supplementum 4	142-142	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Drug Research Institute, Modra, Slovakia

Výskumný ústav liečiv, Modra, Slovensko

**Faberová V., Juranová D.**

## **Effect of VULM 993 on turnover of cholesterol in aorta of cholesterol-fed rabbit**

VULM 993, a original calcium antagonist of the dihydro- pyridine type, has been implicated as an inhibitor of dietary induced atherosclerosis in rabbits. In this study we examined the effect of VULM 993 on transfer of plasma cholesterol into aorta and its metabolism. We used a dual isotope method based on an application of homologous serum labeled with 3H- and 14C-cholesterol to cholesterol-fed rabbits. VULM 993 suppressed the influx of free and esterified cholesterol from plasma into aortic intima and media, and simultaneously increased hydrolysis of cholesteryl ester in aorta. This result may be elucidated the mechanism the influence of VULM 993 on regression of atherogenesis in rabbit aorta.

Vplyv VULM 993 na akumuláciu cholesterolu v aorte hypercholesterolemického kráľika.

VULM 993, originálny kalciový antagonista dihydropyridínového typu, preukázal inhibičný účinok na indukovanú aterosklerózu u kráľikov. V tejto práci sme sledovali účinok VULM 993 na vstup plazmového cholesterolu do aorty a jeho metabolizmus. Použili sme duálnu izotopovú metódu, ktorá je založená na aplikácii homologizovaného séra značeného 3H- a 14C-cholesterolom, kráľikom kŕmených cholesterolovou diétou. VULM 993 potláča vstup voľného a esterifikovaného cholesterolu z plazmy do intimy a média aorty a súčasne zvyšuje hydrolýzu esterov cholesterolu v aorte. Tieto výsledky by mohli objasňovať mechanizmus účinku VULM 993 na rozvoj aterogenézy v aorte kráľika.

Literatura u autora

Scripta medica	70	Supplementum 4	143-145	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Ústav experimentálnej farmakológie SAV, Dúbravská cesta 9, 842 16 Bratislava

**V. Jančinová, R. Nosál'**

## Účinok antihistaminika bromadrylu na ľudské krvné doštičky

### Súhrn

Antihistaminikum Bromadryl inhiboval v podmienkach *in vitro* funkcie ľudských krvných doštičiek. Stredné účinné koncentrácie potrebné na inhibíciu agregácie ako aj produkcie tromboxánu B<sub>2</sub> a malondialdehydu sa pohybovali medzi 7 a 29 mol/l. Prezentované výsledky naznačujú, že inhibícia doštičkovej agregácie po Bromadryle súvisí so zásahom liečiva do metabolizmu kyseliny arachidonovej.

### Summary

The H<sub>1</sub>-antagonist Bromadryl inhibited, under *in vitro* conditions, stimulated aggregation as well as thromboxane B<sub>2</sub> and malondialdehyde formation. Calculated mean effective concentrations varied between 7 and 29 mol/l. Presented results indicated that Bromadryl may inhibit platelet aggregation by interaction with arachidonic acid pathway.

### Úvod

Antagonista H<sub>1</sub>- receptorov Bromadryl, patrí do skupiny halogénovaných kationických amfifilných liečiv, pretože jeho molekula sa skladá z lipofilného aromatického kruhu a hydrofilného kladne nabitého bočného reťazca. Látky s takouto štruktúrou výrazne interagujú s membránami buniek [1] a inhibujú ich funkcie. V našich predchádzajúcich experimentoch sme zistili, že Bromadryl znižuje agregáciu, tvorbu malondialdehydu a tromboxánu v potkaních krvných doštičkách stimulovaných trombínom [2]. Navyše, u gravidných potkaních samíc Bromadryl významne inhiboval agregáciu doštičiek stimulovanú ADP aj po perorálnom podávaní 18 dní v dávke 1 mg/kg [3]. V tejto práci sme sledovali účinok Bromadrylu na ľudské krvné doštičky.

### Materiál a metódy

Bromadryl (Embramine hydrochloride): Liečiva Praha, Česká Republika; Ca<sup>2+</sup>-ionofor A23187: Calbiochem, Švajčiarsko; ľudský trombín: Imuna, Slovenská Republika; RIA kit na stanovenie <sup>125</sup>I-tromboxánu: Ústav izotopov, Maďarsko; kyselina tiobarbiturová: Serva, Nemecko.

Krv zdravých dobrovoľníkov (mužov vo veku 20 - 50 rokov) sme centrifugovali 15 min pri 200xg a získanú plazmu s doštičkami 10 min pri 450xg. Potom sme doštičky jemne resuspendovali v Tyrodeho roztoku [4] obsahujúcom 5,4 mmol/l EDTA, premyli 6 min centrifugáciou pri 450xg v tom istom roztoku bez EDTA a ich počet sme upravili na 1x10<sup>4</sup>/ l (tromboxán), 2x10<sup>5</sup>/ l (agregácia) a 7x10<sup>5</sup>/ l (malondialdehyd).

Agregáciu doštičiek sme sledovali turbidimetricky, na stanovenie tvorby tromboxánu B<sub>2</sub> sme použili RIA metódu a obsah malondialdehydu sme určili fluorometricky po reakcii s kyselinou tiobarbiturovou [4].

## Výsledky

Na obrázku 1-A je dávková závislosť účinku Bromadrylu na stimulovanú agregáciu krvných doštičiek. V koncentrácii 20 a 50 mol/l Bromadryl významne inhiboval agregáciu stimulovanú trombínom (o 60,6 ± 10,1% a 90,4 ± 7,3%) a Ca<sup>2+</sup>-ionoforom A23187 (o 49,0 ± 10,4%, 83,6 ± 7,5%). Vypočítané stredné účinné koncentrácie Bromadrylu boli 18 mol/l (agregácia po trombíne) a 29 mol/l (agregácia po A23187).

Syntéza tromboxánu B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) v doštičkách stimulovaných trombínom (9,32 ng TXB<sub>2</sub>/107 doštičiek/5 min) bola významne znížená účinkom 10 mol/l Bromadrylu o 60,52 ± 4,54 % a v prítomnosti 100 mol/l koncentrácie liečiva až o 91,77 ± 2,92 % (obr.1-B). Po stimulácii látkou A23187 vyprodukovali ľudské doštičky 28,47 ± 2,47 ng TXB<sub>2</sub>/107 buniek a tento proces bol úplne inhibovaný účinkom 100 mol/l Bromadrylu. Hodnoty EC<sub>50</sub> boli 7 mol/l (trombín) a 24 mol/l (A23187)

Účinkom trombínu sa zvýšil obsah malondialdehydu v doštičkách zo 6,9 ± 5,1 na 137,5 ± 9,5 nmol/l/108buniek (obr.1 -C). V prítomnosti Bromadrylu (20, 50 a 100 mol/l) sa produkcia malondialdehydu znížila na 69,3 ± 8,5 nmol/l, 16,8 ± 8,1 nmol/l a 11,0 ± 8,8 nmol/l/108 buniek. Doštičky stimulované látkou A23187 vyprodukovali 151,5 ± 4,8 nmol/l malondialdehydu. Bromadryl (10, 20, 50 a 100 mol/l) znížil túto tvorbu na 117,9 ± 8,8 nmol/l, 94,0 ± 9,7 nmol/l, 39,5 ± 9,2 nmol/l a 12,2 ± 9,6 nmol/l. 50% inhibícia produkcie malondialdehydu nastala v prítomnosti Bromadrylu v koncentrácii 20 mol/l (trombín) a 25 mol/l (A23187).

## Diskusia

Inhibičný účinok Bromadrylu na funkcie krvných doštičiek, pozorovaný aj u iných H<sub>1</sub>- blokátorov [5,6], pravdepodobne nesúvisí s blokádou histamínových receptorov, pretože zníženie agregability doštičiek sme zistili aj v prítomnosti H<sub>1</sub>- agonistov (nepublikované výsledky) alebo H<sub>2</sub>-antagonistu cimetidínu [7]. Navyše podľa najnovších poznatkov [8] sú doštičkové histamínové receptory prevažne H<sub>2</sub>-typu.

S výnimkou tvorby tromboxánu stimulovanej trombínom, boli stredné účinné koncentrácie Bromadrylu potrebné na inhibíciu agregácie, produkcie malondialdehydu a tromboxánu prakticky rovnaké (18, 29, 20, 25 a 24 mol/l) a rovnaká bola aj účinnosť tohto liečiva pri oboch typoch stimulácie. To naznačuje, že Bromadryl pravdepodobne:

- inhibuje metabolizmus kyseliny arachidonovej (tromboxán B<sub>2</sub> a malondialdehyd patria medzi hlavné metabolity kyseliny arachidonovej v krvných doštičkách);
- účinkuje vo vnútri doštičiek, pretože stimulačný účinok ionoforu A23187 nie je sprostredkovaný membránovými receptormi na povrchu buniek;
- zasahuje proces alebo procesy, ktoré sa súčasne podieľajú na aktivácii doštičiek trombínom aj Ca<sup>2+</sup>-ionoforom A23187.

Jedným z pravdepodobných miest účinku Bromadrylu by mohla byť fosfolipáza A<sub>2</sub>. Bromadryl, podobne ako iné kationické amfifilné liečivá, môže prechádzať cez plazmatickú membránu a interagovať buď priamo s týmto enzýmom alebo môže znižovať jeho aktivitu väzbou na fosfolipidy (prostredníctvom zníženej dostupnosti substrátu alebo vápenatých iónov). Inhibícia fosfolipázy A<sub>2</sub> vedie k zníženému uvoľneniu kyseliny arachidonovej, k zníženej tvorbe malondialdehydu a najmä silného agregáčného stimulu tromboxánu A<sub>2</sub> a k následnej inhibícii doštičkovej agregácie [1,2].

Stimulované ľudské doštičky produkovali 4x viac malondialdehydu a tromboxánu ako potkanie. Okrem toho reagovali citlivejšie na stimuly, pretože 10-krát nižšie koncentrácie trombínu a A23187

stačili na ich maximálnu aktiváciu. Napokon, účinok Bromadrylu bol výraznejší na ľudských doštičkách, pretože stredné účinné koncentrácie sa pohybovali v rozmedzí 7 - 29 mol/l, v porovnaní s 25 - 184 mol/l u potkaních doštičiek.

### **PodĎakovanie**

Ďakujeme Dr. I. Muchovi z Ústavu izotopov v Budapešti za poskytnutie RIA kitov. Práca vznikla pri riešení úloh financovaných GAV 5 (projekt č.2/1019/94).

### **Literatúra**

- [1] Kodavanti UP, Mehendale HM. Cationic amphiphilic drugs and phospholipid storage disorder. *Pharmacol. Rev.* 1990; 42: 327-354.
- [2] Nosál R, Jančinová V, Petříková M. Antihistaminic drug bromadryl and stimulated platelet aggregation. *Agents Actions* 1994;41:C104-C105.
- [3] Jančinová V, Petříková M, Ujházy E, Nosál R. Effect of the antihistaminic drug Bromadryl on ex vivo platelet functions during gestation in rats. *Agents Actions* 1994;41:C101-C103.
- [4] Nosál R, Petříková M, Jančinová V. Alterations in lipid peroxidation of thrombin-stimulated rat platelets treated with beta-adreno-ceptor blocking drugs. *J. Lipid Mediators* 1993;8:121-132. [5] Townley RG, Okada C. Use of cetirizine to investigate non-H1 effects of second-generation antihistamines. *Ann. Allergy* 1992;68:190-196.
- [6] Masini E, Di Bello MG, Raspanti S, Sacchi TB, Maggi E, Mannaioni PF. Platelet aggregation and histamine release by immunological stimuli. *Immunopharmacology* 1994; 28:19-29.
- [7] Jančinová V, Petříková M, Nosál R. The antihistamine drug cimetidine and arachidonic acid metabolism. *Agents Actions* 1992; Special Conference Issue: C434-C436.
- [8] Launay JM, Bondoux D, Oset-Gasque MJ, Emami S, Mutel V, Haimart M, Gespach C. Increase of human platelet serotonin uptake by atypical histamine receptors. *Am. J.Physiol.* 1994; 266:526-536.

Scripta medica	70	Supplementum 4	146-148	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Ústav experimentálnej farmakológie SAV

<sup>1</sup>Katedra mikrobiol. a virol. PFUK, Bratislava

<sup>2</sup>Detská univ. klinika, Mníchov

**T. Mačičková, <sup>1</sup>M. Kettner, <sup>2</sup>D. Adam**

## **Mechanizmy rezistencie klinických izolátov gram-negatívnych baktérií voči aminoglykozidovým antibiotikám**

### **Súhrn**

Študovali sme mechanizmy rezistencie voči aminoglykozidovým antibiotikám v súbore 83 amikacín-rezistentných G- baktérií G- baktérií zo slovenských (60) a mníchovských kliník (23). Hlavným mechanizmom rezistencie voči amikacínu bola produkcia modifikujúcich enzýmov, predovšetkým AAC(6)-I, ktorá spolu s AAC(3)-V, resp. APH(2") podmieňovala súčasne aj rezistenciu voči tobramycínu, netilmicínu a gentamicínu.

### **Summary**

60 amikacin-resistant isolates of G- bacilli originating from hospitals in Slovakia (60) as well as 23 isolates from Munich were examined for their resistance mechanisms to amikacin and other aminoglycosides. The production of acetyltransferase AAC(6)-I, causing resistance to amikacin, tobramycin and netilmicin was observed to all isolates except those with permeability resistance. In isolates from Slovakia the most frequently encountered combination was the one with APH(2") conferring resistance to gentamicin. Germen isolates produced AAC(6)-I alone or with AAC(3)-V and all were susceptible to isepamicin and dactimicin.

### **Úvod**

Aminoglykozidové antibiotiká (AGAB) sú často používané v terapii ochorení vyvolaných G-baktériami a pričom rezistencia patogénnych baktérií voči antibiotikám predstavuje celosvetový problém (1). Vážne je to u kmeňov, kde je rezistencia regulovaná plazmidmi, ktoré sú schopné konjugatívneho prenosu. V prípade AGAB plazmidy kódujú enzýmy, modifikujúce AGAB na povrchu bunky. Molekula AGAB sa modifikuje tromi spôsobmi. Acetyláciou aminoskupín, alebo fosforyláciou, resp. nukleotidyláciou hydroxylových skupín. Výška rezistencie koreluje s rozdielnym používaním AGAB v rôznych krajinách (2, 3).

### **Materiál a metódy**

Stanovili sme citlivosť *in vitro* 83 amikacín-rezistentných (AMKr) izolátov G-baktérií čeľade *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp.* a Gram-negatívnych nefermentujúcich paličiek (GNFB) voči sérii AGAB. Izoláty pochádzali z bratislavských a západoslovenských (60), resp. z

mníchovských klinik (23). Minimálne inhibičné koncentrácie sme určili agarovou dilučnou metódou (4). Hraničné hodnoty rezistencie predstavovali v prípade gentamicínu (GEN) a tobramycínu (TOB) hodnoty vyššie ako 4 g/ml, netilmicínu (NET) a daktimicínu (DAK) vyššie ako 8 g/ml, u amikacínu (AMK) vyššiu ako 16 g/ml a u isepamicínu (ISE) vyššiu ako 32 g/ml. GEN, NET a ISE poskytol Schering-Plough Corp., AMK Bristol Lab., TOB Eli Lilly a DAK Meiji Seika Kaisha Comp. Stanovenie modifikácie AGAB sme robili pomocou rádioenzýmových metód (5).

## Výsledky

V súbore sme mali 83 AMK<sub>r</sub> klinických izolátov G- baktérií, z ktorých 60 bolo slovenských (S) a 23 nemeckých (N). Najčastejšie sa vyskytujúcimi zástupcami v S súbore boli *Klebsiella pneumoniae* (27%), *Pseudomonas aeruginosa* (18%), *Escherichia coli* (12%). U N izolátov to bol *Enterobacter cl.* a *Escherichia coli* (22%). Takmer všetky S AMK<sub>r</sub> izoláty mali súčasne *in vitro* vysoké hladiny rezistencie aj voči GEN, TOB a NET, predovšetkým sa jednalo o zástupcov *Enterobacteriaceae* (Tab.1). Príslušníci *Pseudomonas spp.* a GNNFB boli väčšinou rezistentní aj voči ISE a DAK. Naproti tomu spomedzi zástupcov *Enterobacteriaceae* 29% izolátov bolo citlivých voči ISE a 68% voči DAK. N izoláty s enzýmovým mechanizmom rezistencie boli voči ISE a DAK citlivé. U S izolátov bola hlavným mechanizmom rezistencie produkcia modifikujúcich enzýmov (ME), (Tab.2). Najčastejšie to bola acetyltransferáza AAC(6)-I, zodpovedná za modifikáciu AMK, TOB a NET a to hlavne s fosfotransferázou APH(2"), čo podmieňovalo súčasnú rezistenciu aj voči GEN, alebo s AAC(3)-V, resp. AAC(3)-I, modifikujúcou GEN a DAK. V prípade *Pseudomonas spp.* a GNNFB sa jednalo väčšinou o impermeabilitu u oboch súborov (Tab.2). U N izolátov hlavným mechanizmom rezistencie bola rovnako produkcia ME

## Diskusia

Amikacín sa používa v terapii vážnych infekcií vyvolaných najmä G- paličkami. Na S sa používa od r. 1982, pričom jeho spotreba sa v poslednom období až stornásobila. V dôsledku toho stúpol počet AMK<sub>r</sub> kmeňov (6, 7), čím sa potvrdila skutočnosť, že rezistencia voči antibiotikám úzko súvisí s ich spotrebou (3, 8). V r. 1991 AMK<sub>r</sub> vzrástla na 7,3% a to hlavne u *Pseudomonas aer.*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, o rok neskôr klesla na 6,4%, avšak vzrástla u *Serratia spp.* Je to potvrdenie údajov o 7% rezistencii voči AMK v strednej Európe (2), pričom v západnej a severnej Európe je to 3% a v južnej 15% (9). V N je AMK<sub>r</sub> menšia ako 1%. Výnimkou sú *Pseudomonas aer.* a *Serratia spp.* - 6,1%, *Proteus vulgaris* - 3,7% (10). V našom súbore pri izolátoch *Enterobacteriaceae* hlavným mechanizmom rezistencie voči AMK bola produkcia ME a to najmä acetyltransferázy AAC(6)-I, modifikujúcej AMK, TOB a NET a to tak u S, ako aj u N izolátov. Najčastejšie s fosfotransferázou APH(2"), čo podmieňovalo súčasne rezistenciu aj voči GEN. AAC(6)-I s AAC(3)-V, resp. s AAC(3)-I zodpovedala za modifikáciu všetkých štyroch AGAB.

Prevládajúci mechanizmus rezistencie u S izolátov, t. j. produkcia AAC(6)+APH(2") sa vyvinula aj u G- mikroorganizmov (11) zrejme zvýšeným používaním AMK a GEN, ktoré potom selektujú kmene produkujúce viaceré enzýmy (3, 7, 8). Tento mechanizmus umožňuje v nemocničnom prostredí selekciu kmeňov modifikujúcich všetky moderné AGAB produkciou jediného enzýmu.

V prípade ostatných mechanizmov sú nato potrebné minimálne dva enzýmy a to AAC(6) s AAC(3), alebo s ANT(2"). Veľký počet modifikujúcich enzýmov a vysoký selekčný tlak antibiotík naznačuje rýchle rozšírenie sa génov kódujúcich rezistenciu voči AGAB (12). Získané poznatky o výskyte a mechanizmoch rezistencie G- baktérií voči AGAB upriamujú pozornosť na kontrolu spotreby antibiotík, ako aj sledovanie hladiny rezistencie voči antibiotikám.

## Literatúra



- [1] Maes, P., Venhoof, R.: 1992, A 56-month prospective surveillance study on the epidemiology of aminoglycoside resistance in a Belgian general hospital. *Scan. J. Infect. Dis.* 24, 495-501.
- [2] Dornbusch, K., Miller, G. H., Hare, R. S., Shaw, K. J.: 1990, Resistance to aminoglycoside antibiotics in gram-negative bacilli and staphylococci isolated from blood: Report from a European collaboration study. *J. Antimicrob. Chemother.* 26, 131-144.
- [3] Gerding, D. N., Larson, T.A., Hughes, R. A., Veiler, M., Shanholtzer, C., Peterson, L.R.: 1991, Aminoglycoside resistance and aminoglycoside usage: ten years of experience in one hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 284-1290.
- [4] Ericsson, H. M., Sherris, J. C.: 1971, Antibiotic sensitivity testing. Report of on International collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect B, Suppl.* 217, 1-90.
- [5] Kettner, M., Navarová, J., Rýdl, Z., Knothe, H., Lebek, G., Krčméry, V.: 1981, Occurrence of aminoglycoside-modifying enzymes in resistant strains of Enterobacteria and Pseudomonas aeruginosa from several countries. *J. Antimicrob. Chemother.* 8, 175-185.
- [6] Krčméry, V. Jr., Kettner, M., Mačičková, T., Langšádl, L., Havlík, J.: 1989, Amikacin resistance of gram-negative bacilli isolates from multiclinic hospitals. *Int. J. Exp. Clin. Chemother.* 12, 181-185.
- [7] Milošovič, P., Mačičková, T., Kettner, M., Kallová, J.: 1994, Development of amikacin resistance in bacterial isolates in Slovakia (1990-1992). *Int. J. Antimicrob. Agents*, 4, 69-71.
- [8] Vanhoof, R., Hubrechts, J.M., Nyssen, J., Roebben, E.: 1988, Three-year survey of amikacin use and aminoglycoside resistance in general hospital in Belgium. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 7, 183-185.
- [9] Wagenvoort, J.H.T.: 1993, The value of new antimicrobial agents. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 12, Suppl.1, 49-54.
- [10] Grimm, H.: 1991, In Vitro-Empfindlichkeit gegenüber Ciprofloxacin in Klinik und Praxis. Aktueller Vergleich mit anderen Wirkstoffen S.233-251. In: Paul-Ehrlich- Gesellschaft. D.Adam, T. Bergan, G. Ruckdeschel (Hrsg.) Ciprofloxacin III. FAC 10-3. Fortschr. antimikr. antineoplast. Chemother. Futuramed Verlag, München.
- [11] Kettner, M., Krčméry, V., Mačičková, T.: 1990, Aminoglycoside-modifying enzymes AAC(6)+APH(2"), characteristic for staphylococci and streptococci found in gram-negative bacteria. *Int. J. Exp. Clin. Chemother.* 3, 49-51.
- [12] Silver, L., Bostian, K.A.:1993, Discovery and development of new antibiotics: the problem of antibiotic resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37, 377-383.

Scripta medica	70	Supplementum 4	149-151	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Ústav farmakológie, LF UPJŠ, Košice.

Dept. Pharmacol. Med. Faculty, Košice.

**Mirossay L., Mojžiš J., Nicák A., Kohút A.**

## **Role of peptidergic innervation in gastroprotection**

### **Úloha peptidergnej inervácie pri ochrane žalúdka**

#### **Souhrn**

Význam kontrakcie hladkého svalstva a krvné zásobenie žalúdočnej sliznice sú všeobecne akceptované v mechanizme rozvoja žalúdočného poškodenia. Do úpravy obidvoch procesov zasahuje peptidergná inervácia. V našom laboratóriu bol nedávno dokázaný gastroprotektívny účinok malotilátu. Mechanizmus účinku je však zatiaľ neznámy. Možný vplyv peptidergnej inervácie bol preto testovaný na potkanoch po kapsaicínom navodenej peptidergnej denervácii. Poškodenie žalúdka sme navodili 96% etanolom.

Malotilát pôsobil protektívne u intaktných aj deafferentovaných potkanov bez významných rozdielov. Predpokladáme preto, že peptidergná inervácia nie je inkorporovaná do gastroprotektívneho mechanizmu účinku malotilátu.

#### **Summary**

The importance of smooth muscle contraction and gastric mucosal blood supply in development of gastric mucosal injury is well accepted. Peptidergic innervation plays an important role in regeneration of both processes. Recently, the gastroprotective effect of malotilate was established in our laboratory. However, the mechanism of action is not known. The possible involvement of afferent peptidergic neurons in malotilate-mediated gastroprotection was tested on capsaicin-deafferented rats gastric injury was induced by 96% ethanol. Malotilate exerted the same protective effect in both intact and nerve degenerated rats.

We concluded that peptidergic innervation is not involved in malotilate-mediated gastroprotection.

#### **Úvod**

Úloha krvného zásobenia a adekvátnej motility hladkého svalstva žalúdka zohráva významnú úlohu pri vzniku a rozvoji poškodenia sliznice žalúdka rôznymi faktormi. Na regulácii prekrvenia a motility sa okrem iných fyziologických mechanizmov podieľa aj systém senzorických aferentných nervových vlákien, ktorých mediátormi sú látky peptidickej povahy. Tieto vlákna sú bohato zastúpené v myenterickom plexe a jednotlivých vrstvách hladkého svalstva gastrointestinálneho

traktu. Sú senzitivne na účinok kapsaicínu, ktorý sa využíva pri štúdiu ich funkcií (Buck a Burks 1986).

Na našom pracovisku bol dokázaný protektívny účinok malotilátu (hepatoprotektívum) na sliznicu žalúdka potkanov pri niektorých modelových defektoch (Mirossay a spol. 1995). Mechanizmus účinku malotilátu však nebol zatiaľ stanovený, preto sme sa v tejto práci zamerali na zistenie jeho účinku po ovplyvnení peptidergnej inervácie žalúdka.

### **Materiál a metódy**

V experimentoch boli použité potkany - samce kmeňa Wistar o hmotnosti 180 - 210g, chované za štandardných podmienok. Desať dní pred samotným pokusom boli zvieratá rozdelené do dvoch skupín. Jednej skupine bol aplikovaný kapsaicín v celkovej dávke 125 mg/kg subkutánne, za účelom ablácie senzorických aferentných nervov. Celková dávka kapsaicínu bola rozdelená do 3 dávok po 25 mg/kg (prvý deň ráno), 50 mg/kg (prvý deň poobede) a 50 mg/kg (druhý deň ráno). Kapsaicín bol rozpustený vo vehikule (10% etanol, 10% Tween 80, 80% fyziologický roztok). Toto vehikulum bolo aplikované kontrolnej skupine zvierat. Na desiaty deň po aplikácii bol účinok testovaný nakvapkaním 0.1 mg/ml roztoku kapsaicínu do oka každého zvierat'a (Holzer 1986). Dvadsaťštyri hodín pred indukciou žalúdočných defektov bola zvieratám odobratá potrava s ponechaním voľného prístupu k vode.

Skupina kontrolných a senzoricky deaferentovaných potkanov bola rozdelená na jedincov, ktorým bol aplikovaný samotný etanol (95%), alebo v kombinácii s malotilátom (50mg/kg), metylprostaglandínom E<sub>2</sub> (10 g/kg) a obidvoma týmito látkami súčasne. Poškodenie sliznice žalúdka bolo hodnotené makroskopicky 1 hodinu po aplikácii etanolu a vyjadrené v mm dĺžky defektov na potkana. Štatistické výsledky boli počítané pomocou Studentovho t-testu a ANOVA-testu.

### **Výsledky**

Aplikácia 0.5 ml/100g hmotnosti 95% etanolu intragastrickou sondou vyvolala po hodine pôsobenia zreteľne viditeľné makroskopické defekty na sliznici žalúdka potkanov. Rozsah týchto defektov sa významne nelíšil medzi skupinou intaktných a senzoricky deaferentovaných zvierat. Preventívna aplikácia malotilátu v dávke 50 mg/kg, ako aj metylprostaglandínu E<sub>2</sub> v dávke 10 g/kg (obidve látky p.o.), významne inhibovala ( $p < 0.01$ ) nekrotizačné pôsobenie etanolu (obr. 1). Podobne ako v prípade účinku samotného etanolu sme nezistili významné rozdiely medzi skupinou kontrolných a senzoricky deaferentovaných potkanov (obr. 2).

Kombinácia malotilátu s metylprostaglandínom E<sub>2</sub> u intaktných potkanov významne inhibovala tvorbu defektov v porovnaní s kontrolnou skupinou ( $p < 0.01$ ), ako aj v porovnaní s aplikáciou každej látky samostatne ( $p < 0.01$ ). Podobný efekt sme pozorovali aj u senzoricky deaferentovaných potkanov, pričom  $p < 0.05$  (obr. 1 a 2).

### **Diskusia**

Malotilát inhibuje poškodenie sliznice žalúdka potkanov, ktoré bolo indukované indometacínom alebo etanolom. Okrem tohto účinku má inhibičný vplyv na sekréciu HCl (Mirossay a spol. 1995). Znížená acidita intragastrického obsahu môže byť jedným z mechanizmov účinku malotilátu v prípade indometacínom indukovaných žalúdočných defektov. Nevysvetľuje však pozitívny efekt malotilátu u etanolom vyvolaného poškodenia žalúdočnej sliznice. Nakoľko adekvátny krvný prietok zohráva významnú úlohu v udržaní integrity sliznice žalúdka a na jeho regulácii sa podieľa aj peptidergny nervový systém (Lippe a spol. 1989) inkorporovali sme jeho ovplyvnenie aj do našich experimentov s malotilátom. Zistili sme, že pri porovnaní účinkov samotného etanolu nedochádza k rozdielom v poškodení sliznice žalúdka intaktných a senzoricky deaferentovaných

potkanov. Podobne nie sú signifikantné rozdiely ani v inhibičnom účinku malotilátu, metylprostaglandínu E<sub>2</sub> alebo kombinácie oboch aplikovaných látok. Predpokladáme preto, že malotilát nepôsobí gastroprotektívne prostredníctvom ovplyvnenia senzorických peptidergných nervových vlákien.

Zaujímavým výsledkom v prezentovanej sérii experimentov je aditívny inhibičný účinok malotilátu a metylprostaglandínu E<sub>2</sub> na rozsah poškodenia sliznice žalúdka. Nakoľko ani mechanizmus gastroprotektívneho účinku prostaglandínov nie je dodnes jednoznačne vysvetlený, nevieme na akej úrovni nami skúmané látky medzi sebou kooperujú. Z uvádzaných výsledkov je možné konštatovať, že protektívny efekt malotilátu v sliznici žalúdka:

1. nesúvisí s jeho vplyvom na peptidergný nervový systém
2. je aditívny s účinkom prostaglandínu.

Mechanizmus účinku však naďalej ostáva nevysvetlený.

## Literatúra

1. Buck S.H., Burks T.F.: The neuropharmacology of capsaicin: review of some recent observations. *Pharmacol. Rev.*38,179-226, 1986.
2. Holzer P.: Capsaicin-sensitive afferent neurones and gastrointestinal propulsion in the rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 332,62-65,1986.
3. Lippe J.T., Pabst M.A., Holzer P.: Intragastric capsaicin enhances rat gastric acid elimination. *Br.J.Pharmacol.* 96,91-100,1989.
4. Mirossay L., Mojžiš J., Šallingová Z., Kohút A., Nicák A.: Vplyv malotilátu na poškodenie sliznice žalúdka indometacínom a sekréciu HCl u potkana. *Slovakofarma Revue V*, 1,19-22,1995.

Scripta medica	70	Supplementum 4	152-154	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Ústav farmakológie, LF UPJŠ Košice

**Mojžiš, J., Pomfy, M., Kohút, A., Nicák, A., Sovičová R., Mirossay, L.**

## **Ochrana žalúdočnej sliznice pri postischemickej reperfúzii**

### **Souhrn**

Bola sledovaná schopnosť malotilátu ochraňovať žalúdočnú sliznicu pred poškodením indukovaným 30 minútovou ischémiou s nasledujúcou 30 minútovou reprefúziou žalúdočnej sliznice. Po I/R bolo zistené výrazné poškodenie žalúdočnej sliznice a nárast cievnej permeability. Taktiež aktivita neutrofilovej myeloperoxidázy bola signifikantne zvýšená po I/R u zvierat ktorým nebol podaný malotilát. Malotilát v dávke 200,0 mg.kg<sup>-1</sup> podaný perorálne 30 minút pred ischemizáciou žalúdočnej sliznice signifikantne redukoval poškodenie žalúdočnej sliznice. aj ostatné sledované parametre, cievna permeabilita a aktivita MPO, boli signifikantne znížené a hodnoty týchto parametrov boli porovnateľné s hodnotami u zvierat kontrolnej skupiny.

### **Summary**

The ability of malotilate to prevent gastric mucosal injury was tested in rat gastric ischemia induced by 30 min clamping of a. celiaca with subsequent 30 min. reperfusion. Serious injury of gastric mucosa, increase of microvascular permeability, and increase of neutrophil myeloperoxidase activity was found after ischemia/reperfusion in rats without malotilate. After pretreatment by malotilate (200.0 mg.kg<sup>-1</sup>/ 30 min before surgery/orally) development of gastric mucosal lesions and vascular permeability were significantly decreased.

### **Úvod**

V poslednom desaťročí priťahovala značnú pozornosť úloha kyslíkových radikálov (KR) ako mediátorov bunkového poškodenia spojeného s reperfúziou hypoxického tkaniva. Ako hlavný zdroj vzniku KR v posthypoxickom tkanive boli zistené xantínoxidázou produkované KR a aktivované neutrofilý. Účinkom KR vznikajú v plazme zápalové mediátory, ktoré aktivujú neutrofilý a tie sa kumulujú v postischemickom tkanive. Aktivované neutrofilý predstavujú nielen významný zdroj KR, ale majú aj tkanivovo-deštrukčný potenciál (hydrolytické enzýmy, proteinázy) (Granger 1988).

Cieľom tejto práce bolo zistiť schopnosť malotilátu, syntetickej látky s účinkami porovnateľnými s účinkami prírodných flavonoidov, redukovat' poškodenie žalúdočnej sliznice po ischémií navodenej oklúziou a. celiaca s nasledujúcou 30 minútovou reperfúziou.

### **Materiál a metodiky**

V pokusoch boli použité potkany, samce, kmeňa Wistar o hmotnosti 220-250 g. Zvieratám bola 24 hodín pred pokusom odobratá potrava. Ischémiia žalúdočnej sliznice bola spôsobená obliteráciou a. celiaca atraumatickými svorkami po dobu 30 minút, po ktorej nasledovala 30 minútova reperfúzia. U prvej experimentálnej skupiny bola vykonaná "sham" operácia - kontrolná skupina. U zvierat druhej skupiny bola urobená ischémiia/reperfúzia (I/R) bez farmakologického ovplyvnenia a zvieratám v tretej skupine bol 30 minút pred ischémiou podaný malotilát v dávke 200,0 mg.kg-1 perorálne.

Cievna permeabilita bola stanovená metódou podľa Ma a kol. (1993) v našej modifikácii. Evansová modrá bola podaná do chvostovej žily v dávke 20,0 mg.kg-1 na začiatku pokusu. Po ukončení reperfúzie boli zvieratá usmrtené a pylorus a ezofágus boli podviazané. Potom bola do žalúdka podaná destilovaná voda (2,0 ml). Po 5 minútach bola destilovaná voda zo žalúdka odobratá a centrifugovaná pri 3600 otáčkach 10 minút. Číry supernatant bol meraný spektrofotometricky pri 620 nm. Množstvo Evansovej modrej v lúmene žalúdka sa vypočítalo zo štandardnej krivky a je vyjadrené v g.ml-1 destilovanej vody.

Aktivita neutrofilnej myeloperoxidázy (MPO) bola stanovená metódou podľa Grisham a kol. (1990).

Výsledky sú vyjadrené ako priemerné hodnoty  $\pm$  SD. Údaje boli spracované štandardnými štatistickými postupmi a významnosť rozdielov medzi prímermi bola testovaná pomocou Studentovho t-testu.

## Výsledky

Zmeny žalúdočnej sliznice boli viditeľné už po makroskopickkej obhliadke. Špecifickým makroskopickým nálezom boli červeno-hnedé výrazne ohraničené okrúhle alebo podlhovasté ložiská vo fundálnej časti žalúdka potkanov.

Po preventívnej aplikácii malotilátu sme nepozorovali výrazné poškodenie žalúdočnej sliznice. Žalúdočná sliznica u kontrolnej skupiny bola naružovelá a bez poškodenia. Priemerná dĺžka lézií u potkanov je znázornená na obr. č.1. Malotilát v dávke 200,0 mg.kg-1 signifikantne redukoval rozsah poškodenia žalúdočnej sliznice ( $p < 0,001$ ).

Po ischémií/reperfúzii došlo k signifikantnému zvýšeniu koncentrácie Evansovej modrej v lúmene žalúdka v porovnaní s kontrolnou skupinou ( $p < 0,001$ ). Malotilát v použitej dávke signifikantne znižoval množstvo farbiva prenikajúceho z kapilár do okolitého prostredia ( $p < 0,001$ ) (obr.č.2).

Aktivita MPO u potkanov po I/R bola signifikantne zvýšená v porovnaní s kontrolnou skupinou ( $p < 0,001$ ). Malotilát znižoval aktivitu MPO na hodnoty zistené u kontrolnej skupiny (obr.č.3).

## Diskusia

Výsledkom nerovnováhy medzi lokálnou ochranou sliznice a agresívnymi faktormi je akútne poškodenie žalúdočnej sliznice. Medzi hlavné faktory zúčastňujúce sa poškodenia žalúdočnej sliznice po I/R patria produkcia voľných kyslíkových radikálov, aktivácia kaskády kyseliny arachidónovej a neutrofilmi sprostredkované poškodenie endotelu (Welbourn a kol.1991). Z toho vyplýva, že látky, ktoré zasahujú do týchto procesov môžu signifikantne redukovat' poškodenie tkanív.

Malotilát, ako už bolo povedané, je syntetická látka s účinkami podobnými ako majú prírodné flavonoidy, ktoré majú okrem iných účinkov aj účinky antioxidačné, antilipoperoxidačné a membránostabilizujúce. Je možné sa domnievať, že práve tieto účinky budú zohrávať významnú úlohu v gastroprotekcii malotilátu. Na antioxidačné vlastnosti malotilátu poukazuje jeho protektívny účinok pri poškodení hepatocytov vplyvom chloridu uhličitého (Katoh 1982).

Nemenej významným prvkom v protektívnom pôsobení malotilátu je jeho schopnosť ovplyvňovať aktivitu neutrofilov, ktoré podľa niektorých autorov sú hlavnou príčinou poškodenia tkanív po I/R (Hernandez a kol. 1987).

Výsledky našej práce sú v zhode s tvrdením, že v procese poškodenia tkanív po I/R je zapojených viac faktorov, ktoré vytvárajú reťazovú reakciu a látky, ktoré sú schopné prerušiť tento dej môžu výrazne znížiť poškodenie tkanív (Welbourn a kol. 1991).

## **Literatúra**

1. Granger DN: Am J Physiol 255, H1269-H1275, 1988.
2. Ma JJ a kol.: Dig Dis Sci 38, 2203-2208, 1993.
3. Grisham MB a kol.: Methods in Enzymol. 186, 729-33, 1990
4. Welbourn CRB a kol.: Br J Surg 78, 651-654, 1991.
5. Katoh M.: Folia Pharmacol Jap 80, 81-83, 1982.
6. Hernandez LA a kol.: Am J Physiol 253, H699-H703, 1987.

Scripta medica	70	Supplementum 4	155-155	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Výskumný ústav liečiv, Modra, Slovensko

Drug Research Institute, Modra, Slovakia

**Sadloňová I., Lazar J.**

## **Antiatherosclerotic effect of VULM 993 in arteries of cholesterol - fed rabbits. The morfological study.**

### **Antisklerotický účinok látky VULM 993, pozorovaný v artériách králikov na cholesterolovej diéte. Morfológická štúdia.**

#### **Súhrn**

Účinok látky VULM 993 sme sledovali v aorte a proximálnej časti koronárnych artérií u králikov na cholesterolovej diéte, ktorú sme podávali 8 týždňov. Aortu sme farbili Sudanovou červenou.

Plochu sklerotických plakov sme hodnotili planimetricky. Makroskopické pozorovania ukázali, že u neliečených zvierat je výskyt plakov častejší ako u králikov, ktorým bola podávaná látka VULM 993. Histologické rezy z hrudnej aorty a koronárnych artérií sme ofarbili hematoxilínom a eozínom. Hrúbku a charakter lézií sme hodnotili mikroskopicky v bežnom prechádzajúcom svetle. U liečených zvierat sme zaznamenali signifikantné zníženie sledovaných parametrov. Výsledky ukázali, že látka VULM 993 má inhibujúci účinok na tvorbu a vývoj aterosklerotických lézií v artériách cholesterolových králikov.

#### **Summary**

We studied the effect of VULM 993 in aorta and proximal coronary arteries at cholesterol - fed rabbits for 8 weeks. Aorta was stained with Sudan - red. The size of atherosclerotic plaques were valued planimetry. Macroscopical examination showed that the presence of atheromatous plaques were more in untreated animals than in treated group of the rabbits. The sections of the thoracic aorta and coronary arteries were stained with hematoxylin - eosin. The thickness and character of atheromatous plaques we observed by light microscopy. We stated that thickness of plaques in intima of aorta were significantly reduced all parameters. The findings of this study showed that the drug VULM 993 inhibits the development of fatty streaks in arteries of cholesterol - fed rabbits.

Literatura u autora



Scripta medica	70	Supplementum 4	156-156	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Drug Research Institute, Modra, Slovakia

Výskumný ústav liečiv, Modra, Slovensko

**L. Schmidtova, D. Juranova, R. Hozova, P. Noskovič**

## **Účinok VULM 993 na metabolizmus lipidov**

### **Influence of VULM 993 on lipid metabolism**

#### **Summary**

Our preliminary experiments indicated that VULM 993, a new dihydropyridine derivate, reduces cholesterol in aorta of cholesterol - fed rabbits. Now we analysed of each part of organ intima and media, respectively. The animals were treated with VULM 993 (dose: 40 mg/kg per day orally) simultaneously with 1 % cholesterol feeding for 8 weeks. Administration of VULM 993 significantly diminished of total cholesterol and cholesterol ester in intima ( $p < 0,01$ ), mean values in placebo and VULM 993-group averaging  $17,2 \pm 6$  to  $9,2 \pm 3$  mg per g tissue and  $9,8 \pm 3$  to  $2,8 \pm 1$  mg per g tissue, respectively. VULM 993 produced only small decreases in cholesterol content ( $2 \pm 0,5$  to  $1,5 \pm 0,3$  mg per g tissue) and cholesterol ester in media ( $0,6 \pm 0,3$  to  $0,4 \pm 0,1$  mg per g tissue). VULM 993 showed a significant inhibition in malondialdehyde produce in aortas when compared to non-treated group:  $0,4 \pm 0,05$  and  $0,27 \pm 0,03$  nmoles per mg protein ( $p < 0,05$ ). The drug had no effect on soluble collagen in aortic tissues. We observed the influence of VULM 993 on free cholesterol in the liver.

#### **Súhrn**

V predchádzajúcich experimentoch sme zistili, že látka VULM 993, nový derivát dihydropyridínov, redukuje cholesterol v aorte cholesterolom kŕmených králikov. V tejto práci sme analyzovali obe časti orgánu : intimu a médiu. Zvieratám bola podávaná látka VULM 993 (dávka: 40 mg/kg na deň p.o.) 8 týždňov paralelne s 1 % cholesterolovou potravou. Aplikáciou látky VULM 993 sa v intime signifikantne znižuje celkový cholesterol a esterifikovaný cholesterol ( $p < 0,01$ ), hodnoty v placebo a VULM 993 skupine sú  $17,2 \pm 6$  a  $9,2 \pm 3$  mg na g tkaniva a pre esterifikovaný cholesterol  $9,8 \pm 3$  a  $2,8 \pm 1$  mg na g tkaniva. Látka VULM 993 v médii prejavila slabý účinok v znížení celkového cholesterolu ( $2 \pm 0,5$  na  $1,5 \pm 0,3$  mg na g tkaniva) a esterov cholesterolu ( $0,6 \pm 0,3$  na  $0,4 \pm 0,1$  mg na g tkaniva). Látka VULM 993 preukázala signifikantnú inhibíciu tvorby malondialdehydu v aortách v porovnaní s neliečenou skupinou:  $0,4 \pm 0,05$  a  $0,27 \pm 0,03$  nmolov na mg bielkovín ( $p < 0,05$ ). Liečivo nemá účinok na rozpustý kolagén v tkanivách aorty. Pozorovali sme vplyv látky VULM 993 na voľný cholesterol v pečeni.

Literatura u autora

Scripta medica	70	Supplementum 4	157-159	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Farmaceutická fakulta UK, 832 32 Bratislava, SR

**Valentová, J., Gombošová, I., Švec, P.**

## **VLIV MONOHYDRÁTU N-SALICYLIDEN- $\beta$ -ALANINATOMĚDNATÉHO KOMPLEXU NA HEMOPOEZU U OZÁŘENÝCH MYŠÍ**

### **The effect of copper(II) N-salicylidene- $\beta$ -alaninate monohydrate on haemopoiesis in irradiated mice**

#### **Souhrn**

V předchozích experimentech byl dokázán výrazný radioprotektivní efekt některých měďnatých komplexů u letálně ozářených myší. Proto byl sledován účinek monohydrátu salicyliden- $\beta$ -alaninatoměďnatého komplexu na hemopoetické funkce po subletálním ozáření. Hodnotila se proliferační schopnost slezinných kmenových buněk myší metodou endogenních slezinných kolonií (CFU-E). Testovaná látka má výrazný ochranný účinek na krvetvorbu ozářeného organismu, který se projevuje zvýšením počtu (CFU-E).

#### **Summary**

We have previously reported that copper complexes significantly increased the survival of exposed mice to lethal irradiation. On the base of these results the effect of copper (II) N-salicylidene- $\beta$ -alaninate monohydrate was further investigated on haemopoietic function in spleen. Pretreatment of mice with copper complex before irradiation increased the number of multipotential haemopoietic stem cells in the spleen, measured by the *in vivo* assay of endogenous colony-forming units (CFU-E).

V patogenezi radiačního poškození hrají významnou roli volné kyslíkové radikály. Aerobní živé organismy mají proti jejich působení účinné obranné systémy. Úlohou enzymu superoxidismutázy (SOD) v tomto systému je rychlý rozklad superoxidového radikálu, který je hlavním prekurzorem ostatních reaktivních forem kyslíku<sup>1</sup>.

Měďnaté komplexy Schiffových bází vykazují superoxidismutáze podobnou aktivitu a s ní související radioprotektivní aktivitu<sup>2</sup>. Ze skupiny měďnatých komplexů Schiffových bází odvozených od salicylaldehydu a různých aminokyselin se předběžně jako nejúčinnější jeví monohydrát N-salicyliden- $\beta$ -alaninatoměďnatého komplexu (Cu-SBA)<sup>3</sup>. V rámci detailnějšího studia jeho působení byl sledován i jeho ochranný efekt na hemopoetické tkáně před radiačním poškozením. Jako indikátor poškození hemopoese se často sleduje proliferační schopnost slezinných kmenových buněk metodou endogenních slezinných kolonií.

#### **Experiment**

Testovaný komplex Cu-SBA byl připraven reakcí  $\beta$ -alaninu se salicylaldehydem za přítomnosti octanu měďnatého podle<sup>4</sup>.

Pro aplikaci byl rozpuštěn ve sterilním fyziologickém roztoku na koncentraci 2  $\mu\text{mol/ml}$  a aplikován s.c. imbredním myším kmene (C57xBL10)F<sub>1</sub> (samice, stáří 6-8 týdnů) v dávkách uvedených v tabulce. Kontrolní skupině myši byl aplikován stejným postupem fyziologický roztok. Jednotlivé skupiny byly složeny ze 7-10 myší a na statistické hodnocení výsledků byl použit Studentův t-test.

Ke sledování kmenových buněk krvetvorby byla použita metoda endogenních slezinných kolonií, kterou navrhli Till a McCulloch<sup>5</sup>. Premedikované myši byly celotělově ozářeny subletální dávkou 6 Gy (<sup>60</sup>Co, Chisobalt). Devátý den po ozáření byly vyjmuty sleziny, fixovány v Boin-Dubosq-Brasic fixačním roztoku a spočítány slezinné kolonie (FCU-E), které vytvářejí na povrchu sleziny makroskopicky viditelné bílé uzlíčky.

### Výsledky a diskuse

Endogenní slezinné kolonie (CFU-E) vznikají ve slezinách myši po ozáření subletálními dávkami proliferací vlastních kmenových buněk, které se zářením nepoškodily. Vliv Cu-SBA na počet CFU-E je uveden v tabulce.

aplikace	dávka (mmol/kg)	CFU-E x $\pm$ SEM
<b>48, 24 a 6 hod před ozářením</b>	0	9.1 $\pm$ 1.3
	0,01	11.8 $\pm$ 2.2
	0,02	14.6 $\pm$ 0.5*
	0,03	23.7 $\pm$ 1.6*
	0,04	20.9 $\pm$ 1.8*
<b>6 hod před ozářením</b>	0	11.2 $\pm$ 1.0*
	0,02	22.1 $\pm$ 1.7*
	0,04	26.7 $\pm$ 1.0*
<b>1 hod po ozáření</b>	0,04	17.3 $\pm$ 1.7*

\* p < 0.01

Po jednorázové premedikaci Cu-SBA v dávce 0.02 resp. 0.04 mmol/kg 6 hod před ozářením se počet endogenních slezinných kolonií (FCU-E) zvýšil o 90 resp. 140 % oproti kontrole. Trojnásobné podání Cu-SBA pokusným zvířatům 48, 24 a 6 hod před ozářením ve všech testovaných dávkách zvýšilo počet CFU-E oproti kontrolní nepremedikované skupině. Nejvýraznější zvýšení počtu CFU-E (až o 160%) nastalo po dávce 0.03 mmol/kg. Při aplikaci Cu-SBA v dávce 0.04 mmol/kg 1 hod po ozáření se počet FCU-E zvýšil pouze o 50%.

Získané výsledky dokazují, že studovaný měďnatý komplex působí ochranně na krvetvorbu ozářených pokusných zvířat. Je pravděpodobné, že za účinek je zodpovědná struktura této látky a ne jen přítomnost mědi. V opačném případě by účinek nebyl výrazně závislý na použitém ligandu (a-alaninový isomer je radioprotektivně prakticky neúčinný<sup>3</sup>). Opakovaná premedikace významně nezvyšuje ochranný účinek Cu-SBA, což je možno vysvětlit jeho postupným metabolizováním, vazbou mědi na bílkoviny, případně vylučováním z organismu. Destrukci volných radikálů, které vznikají v průběhu ozařování organismu, působí tedy s velkou pravděpodobností celá molekula Cu-SBA. Ochranný účinek způsobuje primárně menší poškození krvetvorných i jiných tkání a sekundárně větší schopnost hemopoezy, která se projeví zvýšeným množstvím funkčních

kmenových buněk a slezinných kolonií. Pokles účinnosti studované látky při vysokých dávkách může být způsoben její toxicitou, která se při nich začíná projevovat.

Podání Cu-SBA až po ozáření má na vznik slezinných kolonií a zlepšení hemopoézy podstatně menší vliv ve srovnání s premedikací před ozářením. V radioprotektivním účinku se mohou uplatnit i jiné farmakologické účinky Cu-SBA, zvláště jeho antiflogistická a imunomodulační aktivita.<sup>6,7</sup>

## Literatura

1. Petkau, A.: Scientific basis for the clinical use of super oxide dismutase. *Canc. Treat. Rev.*, **13**, 1987, 17.
2. Sorenson, J.R.J.: Copper complexes offer a physiologic approach to treatment of chronic diseases. *Comp. Ther.*, **11**, 1985, 49.
3. Valentová, J., Gombošová, I., Žemlička, M., Laginová, V., Švec, P.: Radioprotective activity of N-salicylideneamino-alkanoatocopper(II) complexes. *Pharmazie* **50**, 1995, 442.
4. Werner, P.E., Valent, A., Adelsköld, V., Švajlenová, O.: The crystal structure of aqua-bis(N-salicylidene-alaninato)dycopper(II) monohydrate. *Acta. Chem. Scand.*, **37**, 1983, 51.
5. Till, J.E., McCulloch, E.A.: A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat. Res.*, **96**, 1963, 96.
6. Sýkora, J., Sokolík, J., Tumorová, I., Švec, P.: Protizápalové účinky niektorých meďnatých komplexov Schiffových zásad N-salicylidénaminoalkanoátového typu. *Farm. Obzor*, **62**, 1993, 349.
7. Sýkora, J., Bukovský, M., Magnusová, R., Sokolík, J.: Imunologické účinky vybraných meďnatých komplexov Schiffových zásad N-salicylidénaminoalkanoátového typu. *Farm. Obzor*, **62**, 1992, 301.

Tato práce byla vypracována v rámci výzkumného programu podporovaného nadací A.Dubčeka University Complutense, Madrid.

Scripta medica	70	Supplementum 4	160-162	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Masarykova Universita, Brno

**Bilder J.**

## **Etika v chirurgii**

### **(Úvaha o pregraduální výuce etiky)**

Etika v chirurgii nemá zvláštní postavení ani mimořádné formy projevu, jež by se vymykaly rámci etiky lékařské a etiky všelidské. Je těžko předpokládat, že by se budoucí chirurg, ale i budoucí lékař, rodil s jinou etickou výbavou než ostatní lidé. Co je však lékařům a mezi nimi i chirurgům patrně dáno, je větší vnímavost a niternější vztah k živé přírodě, jež jsou rozvíjeny a fixovány výchovným prostředím již od dětství. Jsou tyto veskrze lidské vlastnosti posilovány v rodině, ve škole a ve společnosti cílevědomně? Domnívám se, že nikoli anebo nikoli dostatečně. Důvody jsou známy a spočívají v cílech a stylu života postmoderní společnosti. To ovšem neexkulpuje lékařské školy v tom, že předkládají svým studentům hekatomby encyklopedicky hromaděných informací a nuancí medicínské techniky a přitom chabě rozvíjejí jejich samostatné přemýšlení a vnímání etického rozměru lékařské práce. Ani bohem nadaný lékař, chirurga nevyjímaje, neučinil pro nemocného zdaleka všechno, jestliže sice úspěšně ošetřuje jeho choré tělo, ale neléčí přitom jeho bolavou duši. Humánní řešení tohoto dilematu je esenciálním principem lékařské etiky všech dob.

Medicínská etika se promítá ovšem i do konkrétní diagnosticko - léčebné praxe. Pod rouškou vědeckého a výzkumného entusiasmů nelze porušovat princip "nil nocere". Pokrok v terapii závažných chorob a traumat pochopitelně není možný bez klinické experimentální fáze. Riziko takového experimentu však musí být rozumně kalkulované a musí vždy vedle vědeckého přínosu sledovat i prospěch informovaného a spolupracujícího nemocného. To je neopominutelným postulátem i při uvádění nových operativních postupů a modifikací v chirurgii. Nevyžadujeme však od pacienta víc, než bychom byli ochotni unést sami. To co tu bylo naznačeno, je jen zlomkem úvah, s nimiž je konfrontován každý eticky založený a myslící lékař. Jakým způsobem lze toto vnímání medicínské etiky imputovat posluchačovi lékařské fakulty během pregraduální výchovy?

Šestileté studium lékařství se jeví jako doba dostatečně dlouhá pro pochopení a zvládnutí základů medicínské poznání. V tradičním pojetí rozvrhového kurikula to zřejmě platí pro preklinickou část studia, méně to již naplňuje cíle klinické fáze a nejméně pak je reflektována idea ucelené medicínské filozofie absolventa. Problém spočívá v oddělené výuce teoretických a klinických disciplín lékařského studia, kdy se student během prvních 4 až 5 semestrů setkává se skutečným pacientem jen letmo. Seznamuje se tak na začátku studia s medicínou především v prostředí neosobních laboratoří, experimentálních sálů a piteven. Zvyká si nezúčastněně pozorovat experimenty na drobných zvířatech, která pokusy většinou nepřežijí, a pokouší se často neobratně vypátrat na pitevním stole orgány a jejich topografické vztahy v mrtvém lidském těle. Není divu, že

se student medicíny hned na začátku své dráhy podvědomě brání oněm nezvyklým a pro mnohé stresujícím prožitkům jistou dávkou obranného cynismu. A to přece není v pořádku. Tyto nutné, ale nepřilíš povznášející zkušenosti ve výuce přece musí být současně kompenzovány přiměřeným poznáním úsilí kliniků o udržení života, obnovení zdraví a o návrat nemocného do touženého rodinného a sociálního prostředí. A o tom všem je medicínská etika. Ta se sice na různém místě studia vyučuje jako samostatný předmět, ale ne vždy v přímé vazbě na individuální a mezilidské problémy pacienta a zejména delikátní vztahy mezi lékařem a nemocným.

Jaké je řešení této situace, kdy se ještě do interakce mezi lékařem a pacientem nezadržitelně vsouvá medicínská přístrojová technika. Ta oba subjekty zákonitě od sebe odděluje a jejich přímý osobní kontakt povážlivě zkracuje. Tato otázka je předmětem seriózního zájmu většiny lékařských škol na celém světě. Pedagogové těchto výukových center se shodují v názoru, že výuka a výchova posluchačů na lékařských fakultách si dříve nebo později (ale raději dříve!) vynutí změny v kurikulech studia. Výčet možností a podrobností se vymyká účelu této úvahy - nicméně základní zásady jsou asi tyto:

Za prvé, je nezbytné zrušit stereotypní bariéru mezi teoretickými (preklinickými) obory a klinikou. Klinika musí pronikat uvážlivě do teoretických disciplín, aby student včas chápal, k čemu získávané teoretické poznatky směřují a k čemu jsou dobré. Naopak některé teoretické pasáže získávají na významu a srozumitelnosti až ve spojení s výkladem a hodnocením klinických fenomenů a souvislostí. Zde se již může projevit etika vysokoškolského pedagoga ve vztahu ke studentovi tím, že mu osvětlí interdisciplinární pojetí moderní medicíny sledující prospěch nemocného.

Za druhé, se studující lékařství má setkávat s ochořelým dětským, dospělým a starým lidským organismem co nejdříve. Pochopitelně, že vhodnou formou hospitací a bazálních ošetrovatelských úkonů, které od začátku posílí *raison d'etre* studentova rozhodnutí stát se lékařem a inspirují ho k individuální iniciativě při studiu. Student zde dříve pochopí význam empatie do rozpoložení člověka odevzdaného péči svého ošetrujícího.

Za třetí, studium musí být koncipováno tak, aby vytvářelo prostor a podmínky k samostatnému studiu a zpracování dnes již snadno dosažitelných informací. Talentovaným studentům je třeba dát inspiraci a příležitost k poznání vědeckých metodologií při hodnocení a využívání faktů, souvislostí a řešení teoretických i klinických problémů. Škola, která nebude pěstovat vědu a vychovávat další nástupnickou generaci vědeckých pracovníků a učitelů, bude sama sebe sterilizovat a degradovat na učiliště nedefinované úrovně. Tento aspekt ozřejmuje význam morálky ve studiu a etické zásady vědecké a výzkumné práce.

Za čtvrté, vytváří šestileté studium medicíny prostor k rozšíření nemocniční a ambulantní praxe mediků. Na renomovaných lékařských fakultách v Evropě je pro tuto praxi vyhrazena průměrná doba 10 měsíců. Během praxe (částečně definované školou, částečně volitelné podle zájmu studenta) je student v dlouhodobém kontaktu s nemocnými, proniká hlouběji do chorobných stavů a jejich léčení a zároveň může intenzivně vnímat psychiku jednotlivého nemocného a atmosféru nemocničního prostředí. Absolvent opouští fakultu rozhodně informovanější, zralejší a eticky vnímavější k fyzickým strastem a psychickým stresům pacienta. Konfrontuje se rovněž s etickými problémy vztahu lékař - pacient a lékař - sestra.

Konečně je třeba pochopit, že etika v pregraduální výchově není záležitostí jednoho předmětu ale procesem prolínajícím celé studium medicíny. Zásadní úlohu zde hraje vzor a příklad

učitele. Student medicíny je v zásadě velmi pozorný k chování lékaře a k jeho jednání s pacientem. Postoje lékařů studenti opakovaně analyzují a podrobují subjektivnímu i objektivnímu hodnocení a kritice. Etický a dobrý lékař zůstává vzorem pro celý život. Škola musí reagovat na etické hodnoty svých učitelů, neboť ti ovlivňují morální a odbornou úroveň absolventů fakulty více než si lze představit.

Úvahu o významu a vlivu etiky v medicíně a tím i v chirurgii lze uzavřít přáním, aby studium i výchova nových lékařů byla trvale prodchnuta nadčasovým etickým postulátem "Salus aegroti est suprema lex".

Literatura u autora



Scripta medica	70	Supplementum 4	163-164	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Clinic of Neurosurgery, Faculty of Medicine at Masaryk University,

University Hospital at Brno-Bohunice

**Cejpek, P., Fadrus P.**

## **ETHICAL PROBLEMS OF TRANSPLANTATIONS**

### **Summary**

Nowadays, there is the demand for a law on organ transplants in the Czech Republic that would correspond to current practice. In our opinion, the law should contain the obligation to inform relatives and make sure they have no objections against the intended organ transplantation, the obligation (informative consent) should dissipate all doubts referring to a rather imperfect legislation that the public can feel.

The decisive aspect for an integrity of organism is to keep the brain activity that controls a collection of other organ systems, since brain is a centre of thought and speech for communication between an individual and the environment.

In compliance with the Holy Bible, man is human being who is related to God, people and universe: Biological survival does not correspond with the above mentioned relation. Continuation of resuscitative therapy when brain death was confirmed should be regarded as unethical and unreasonable action that disturbs the rights of individual and his rest after death. The Holy Father Pius XII proclaimed at the meeting of anesthesiologists in 1957 that death is fully controlled by physicians (1,3).

The areas related to genetic engineering, responsible parenthood, relations between patients and dying persons are not only the subject of scientific discussions, but also parliaments and international congresses have focused on the topic. The Holy Father John Paul II emphasized the needs to respect ethical view during any introduction of new therapeutical methods in 1996 on the occasion of the 10th anniversary of the foundation of the Institute of Bioethics at the Catholic University in Rome.

Nearly almost all over the world the act was set that brain death is death of human being. From the medical point of view, the diagnosis of brain death must meet three basic criteria:

1. Evidence of cerebrum function loss,
2. Evidence of brain-stem function loss, mainly spontaneous respiration arrest,
3. Evidence of irreversible loss of both above-mentioned functions.

The evidence of structural brain affection (brain contusion, apoplexy, cardiac arrest, etc.) should usually be added to the above-mentioned criteria. In our country, neurologic brain death condition is proved by brain panangiography. The process is given by the Regulation no. 1/1984 Věst. MZ ČR that requires two different variants of brain panangiography (2,6).

Brain death is determined less strictly in other countries. In a number of states, for example in the U.S.A. or Great Britain, the diagnosis of death can be based on clinical neurological signs, if repeated neurological examination by two independent physicians was performed in the determined interval. Clinical neurological brain signs must be found, if the absence of CNS buffers, relaxancies or hypotermia is secured. Spinal activity can be retained. In the case of any doubts, an angiographic examination is carried out. One angiographic examination is needed in Sweden and German.

Organs are gifted during donor's life (paired organs of relatives of the first grade) or after donor's death. The donors who suffered from mortal brain damage are considered for unpaired organs, and their circulation could be maintained by artificial ventilation and intensive therapy in such condition that the function of transplanted organs is retained.

The basic assumption in transplantology is to achieve as high as possible immunological similarity between donor and acceptor. There are only 2 - 3 % of cases in our country when kidney transplants are ablated from living donors. In northern countries, this value moves about 30 percent (2, 4, 5 and 6)

Now, current possibilities to exploit organs of dead donors for saving patients are wide. Because of a number of social, ethical and medical reasons, the possibilities must be controlled by strict and exact laws. Now, the transplantation act is being prepared in the Czech Republic that corresponds to the current legal condition and that is tied to the problem of organ donors. When the act is accepted, it should be satisfactory that relatives are informed about the intended organ ablation (tissue) from dead person and they have not objectives (so-called informative consent).

The transplantation act should remove any possible doubts at the public about justification of current regulations.

Regardless of the fact that the acts of western countries contain the presumption of consent or disagreement of dead person (surviving dependants) with autopsy or organ ablation (tissue), physicians usually respect possible different wishes. Altruism is a prevailing factor in well-informed and social-orientated societies. Organ donation is a demonstration of love to the others, however it must be a gift of free will.

## References

Beneš, V., Zvěřina, E.: Comments to Evaluation of Consciousness Defects in Surgery. *Rozhl. Chir.*, 55, 1976, No. 5, pp. 297 - 303.

Drábek, P.: Neurological Symptomatics and Coma Condition Examination. *Čes. a Slov. Neurol. Neurochir., Supplementum*, 57/90, 1994, no. 1, pp. 3-30.

Leone, S. The Theological and Ethical Significance of Medical Care for Sick in Foreign Countries, *Dolentium Hominum* 27, 1994, č. 3, pp. 34-36.

Parkinson, D., The Evolving Care of Severe Head Injuries. *Crit. Rev. Neurosurg.* 6, 1996, No.1, pp. 26-32.

Urasaki, E., Tokimura, T., Kumal, J., et. al.: Preserved Spinal Dorsal Horn Potentials in a Brain-Dead Patients with Lazarus Sign. *J. Neurosurg.*, 76, 1992, pp. 710-713.

Urbánek, K.: The Rules for Adult Brain Death Determination. *Česk. a Slov. Neurol. Neurochir.*, 59/92, 1996, no. 2, pp. 105-106.

Scripta medica	70	Supplementum 4	165-169	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Chirurgická klinika LF MU Brno a FNŠP Brno Bohunice

Department of Surgery, Masaryk University Hospital, Brno - Bohunice.

**Jindřich Vomela**

## **LÉKAŘSTVÍ A ETIKA**

### **Medicine and Ethics**

#### **Souhrn**

Sdělení připomíná základní význam pojmů etika a etické vztahy v lékařství a společnosti. Poukazuje na rozpory ve výkladu tohoto pojmu v různých profesích a společenských vrstvách.

#### **Summary**

The article revokes original meaning of term ethics and ethical relations in medicine and society. Contradictions in using of this term in various professions and social levels are shown.

Klíčová slova: Etika, morálka

Key words: Ethics, Morality

Slovo etika se stalo v poslední době termínem dosti nadužívaným. Je však třeba chápat jak správný výklad, tak i správné užití pojmů etika a etický. Bohužel se s těmito termíny setkáváme v mnoha textech či hovorech laiků, lékařů, často pak i v projevech politiků jako s klišé nebo frází. Slovo etika tak slyšíme jako nic neříkající formulaci či jako pojem nebo termín, za který se schová cokoli a v případě potřeby i kdokoli.

Tak jak se v posledních letech stal termín - "filosofie" slovní vatou a konvenční formulací uplatňovanou i ve vazbách a textech naprosto nevhodných (filosofie výroby, předmětů apod.), hrozí se tímto bezpohlavním pojmem stát i význam slova etika.

Etikou se ohání pacient při výtkách lékaři, lékař při své obraně vůči pacientovi a pojišťovně, pojišťovna při jednání se zdravotníky, politik při zpochybňování požadavků zdravotníků apod. Slovo etika skloňují i laici, odvolávající se na různé pojmy nebo termíny, které často ani sami dobře neznají (například Hippokratova přísaha).

Kde je skutečnost, kde je pravda? Máme snad "více etik"? Je snad různý pohled pouze na lékařskou etiku? Má snad jiný význam chápání etiky z pohledu pacienta - laika a jiný z pozice odborníka - lékaře? Jaký může být výklad lékařské etiky z pohledu dětského onkologa, onkologa dospělé populace, teoretika společenských věd, všeobecného chirurga, právníka a psychologa?

Etika může však být vždy pouze jedna. Význam tohoto pojmu lze přeložit různě. Jednoduchým a asi nejvýstižnějším je výklad tohoto slova jako "**učení o mravnosti**". Obsahově lze etiku shrnout poměrně stručně do téměř biblického - "**co nechceš aby bylo činěno tobě, sám nečiň jiným**". Uvědomujeme si ale v praxi význam tohoto napomenutí, respektujeme jej při vztahu k pacientovi, ale i ve vztahu k lékaři kolegovi? Jsme schopni se chovat současně profesionálně, tržně a eticky? Je vůbec třeba rozšiřovat pojem etika o přídomek - lékařská? Nejde zde přece o nějakou etiku speciální, řídící se jinými zákony, dávající významu pojmu a jeho obsahu jinou formu či dimenzi.

Etika tedy zůstává skutečně pouze jedna. Pojmem "**zdravotnická etika**" jen vymezujeme oblast, kterou se zabýváme, aniž bychom základní význam daného pojmu jinak vykládali či jej formovali a vtěsnali do bílého pláště. Není proto vůbec na místě křičet: "o tempora o mores" při hledání lékařské etiky. Celé naší společnosti je totiž třeba se chovat mravně; tedy všeobecně a za všech okolností eticky!

Je rozhodně podstatným rozdílem etiku přednášet, eventuálně ji ustanovit zkušebním předmětem na vysoké či střední škole. Sami dobře víme co všechno se učí adept řídičského oprávnění v autoškole a jaký je pak jeho střet s realitou a s výkladem pravidel dopravního provozu v praxi. Tomuto obrazu běžného života pak dnes u nás odpovídají i vztahy v naší společnosti, i zdravotnictví.

Absolvent lékařské fakulty má medicínské znalosti všeobecně teoretické, někdy má i medicínsky praktické zkušenosti. Jsou jistě na různé úrovni, navíc i různě podložené výchovou v rodině a obecným působením společnosti. Tyto poznatky a zkušenosti jsou pak často brány za obecně platnou normu. Každý jedinec se však dále formuje podle svých vzorů. Tak vzniká, přenáší se a traduje tzv. "lékářská škola" - ať již chirurgická, interní, škola ošetrovací techniky, ale zejména obecně v přístupu k nemocnému. Zkusme tedy každý sam sobě položit otázku: jsme správnými učiteli lékařské etiky v každodenní škole života a praxe? Je nám samotným vždy jasné, co souvisí s lékařskou etikou, s právy pacienta, ale i s právy lékaře, zdravotní sestry; s požadavky společnosti na výkon zdravotnické profese obecně?

Respektujeme vždy to co je jakýmsi synonymem aplikované etiky - morálku. Respektujeme profesní etiketu? Dokážeme se sice ve prospěch pacienta často i obětovat; dokážeme se však zbavit profesních "klapek na očích" - ješitnosti? Byli jsme vlastně dobrými žáky v naší škole života?

Z předcházejících řádků nelze rozhodně činit závěr, že by se lékařský stav nebo zdravotníci v posledních letech obecně nechovali eticky. Lékařská etika byla a je u nás v praxi; je v našich zemích i humanismus. I dnes existuje v naší společnosti jen málo profesí, které by samy sobě tvořily etické komise, čestné rady, etické kodexy apod. Není mnoho povolání, která by se sama zabývala a upozorňovala na nutnost a potřebu výuky, i výkonu etiky ve svých řadách. Není mnoho profesí, které trpělivě čekají na své společenské, morální a ekonomické ocenění. Víme však o všeobecných defektech mravnosti postihujících celou naši společnost. A jejich dopad na společnost se v posledních letech bohužel někdy více výrazně manifestuje.

Každá společnost se ve svém vývoji utváří. Vliv na formování morálního profilu má celá řada faktorů - společenská formace, tradice státní, rodinná, způsob výchovy a působení rodiny, školy, okolí. Vliv má i osobní příklad, negativní postoj k amorálním jevům nebo naopak tolerování společenských a ekonomických afér. Každá komunita dbající na morální kodex uvnitř svého společenství musí občana loajálního - tedy respektujícího etiku společnosti nejenom ochránit, ale i podpořit tak, aby nebyl ohrožen jedincem nebo skupinami nerespektujícími pravidla společenských a morálních norem.

Měli bychom si však uvědomit, že přestože jsme odborníky ve své lékařské disciplíně, máme i mezery v psychologii vztahu lékař - pacient, lékař - lékař, lékař - zdravotní sestra, i zdravotník -

veřejnost vůbec. Namlouvali bychom si asi nereálné, tedy lhali bychom sami sobě, budeme-li tvrdit paušálně něco jiného.

Obrovským deficitem, který pociťují jak zdravotníci, tak celá společnost ve vztahu k otázkám zdravotnictví je absence daných norem, pravidel a podmínek respektujících a tím chránících skutečné potřeby pacientů a zdravotníků. Neurčitě formulovaná pravidla, která nahrazují definici zdravotní péče, jakýkoliv přesun zodpovědnosti o zdraví populace pouze na bedra poskytovatelů zdravotní péče, naprostá neinformovanost nebo spíše dezinformovanost veřejnosti o problematice zdravotnictví plodí své důsledky. Hovořit podrobněji o této problematice však není záměrem tohoto sdělení. Je však třeba si tyto skutečnosti uvědomit. Je třeba uvědomit si příčiny skryté či zjevné negace společnosti, ztrátu prestiže zdravotnického personálu. Je třeba počítat do budoucnosti i s možnými projevy agrese pacientů a jejich rodin. Jak reagovat na tyto známky svědčící o jistém selhání vlivu společnosti? Nelze se uchýlit ani k defenzivě, ani k netoleranci se strany zdravotníků. Oba tyto přístupy (byť extrémně krajního řešení) jsou nevhodné. Je třeba počítat s dlouhodobou výchovou, státem a námi podporovanou, která bude nemocného motivovat v péči o vlastní zdraví.

Nemoc je vzdor veškerému poznání a pokroku moderní medicíny mysterickým fenoménem. I když je kauzální řetězec mnoha nemocí znám, málokdy lze zodpovědět otázku, proč se daná nemoc nebo porucha objevila právě u konkrétního člověka a v určitý a nejiný čas. Pokud již nemoc propukla, není mnohdy jisto, jak dlouho potrvá. Rovněž náhled na chorobu je jiný z pohledu lékaře, než jak ji prožívá nemocný. Pro "léčícího" lékaře má obvykle charakter vědeckého problému nebo je pro něj nemocný "technickým" objektem, s nímž se dá či nedá manipulovat pomocí léčebných či jiných praktických a již vyzkoušených a osvědčených postupů".

Pohlédneme-li zpátky do historie léčitelství a novodobého lékařství pozorujeme převládající rys naprosté závislosti pacienta na lékaři. Pacient věřil lékaři a musel věřit jemu a jeho způsobu léčby, nebýval informován, ba často ani informaci nepotřeboval protože by jí ani nerozuměl. Byl proto plně závislý na svém lékaři. Asymetrii tohoto vztahu vnímal už Zákoník Chamurapiho, který tuto kompenzoval tresty za terapeutický neúspěch.

Největším problémem ve vztahu lékař - nemocný, přenášejícím se i do již výše vyjmenovaných oblastí, se pravděpodobně jeví **paternalismus** uplatňovaný až dosud se strany ošetřujících zdravotníků k nemocnému. I když si tuto skutečnost nepřipouštíme, chováme se k našim nemocným převážně paternalisticky (lékaři, i sestry). Za určitých okolností to vyhovuje nám, za určitých okolností i některému nemocnému.

"Je dosti pacientů, kteří doslova visí natom, co jim lékař řekne, ale i co jim naznačí nonverbálně, neboť vnímají intenzivně své "paranoidní" pocity a očekávají to "nejhorší". Bohužel nejlepším klíčem k pochopení nemoci a zdraví je obvykle vlastní zážitek.

Často tedy opomíjíme-li pacienta coby rovnocenného partnera, zejména budeme-li do důsledku respektovat článek 6 Listiny lidských práv, který praví: *"Každý má právo na to, aby byla všude uznávána jeho právní osobnost"*. Z tohoto pohledu pak je kontradikcí naše tendence nejenom řídit diagnostiku a léčbu, ale i míru informovanosti a vědomí o jeho vlastním zdravotním stavu pacienta, i o jeho případné další kvalitě života. Tím však limitujeme i jeho spolupráci při léčení. Rovněž zapomínáme, že v posledních desetiletích vzrostla všeobecná vzdělanost, i zdravotnická informovanost obyvatelstva. Rozdíl mezi vzdělaností lékaře a nemocného v obecné rovině se vytrácí. Vytrácí se proto i onen asymetrický vztah a místo něj nastupuje úroveň partnerská. Anderson uvádí již v roce 1971 vysoce emotivní text práv pacienta: *"Chci být léčen jako jedinec, nejsem číslo, ani kus papíru, nejsem zboží na prodej, nejsem ani někdo, s kým smlouváte. Nesloužím jako stroj na získávání neobvyklých informací, nejsem součástí souboru naprogramovaných dat. Jsem opravdu žijící bytost, jedinec obdařený vnímáním, obavami, tužbami a zábrany."*

Jistě si nemyslíme, že určujeme osud nemocného, ale někdy se tak chováme. Přitom nedokážeme (v našich zemích z minulosti přetrvávající přístup k nemocnému - podle staré německé školy) dotáhnout "otcovský a ochránářský přístup" k nemocnému vždy až do konce. Jen málo lékařů dokáže pravdivě a zodpovědně, ale i šetrně sdělit nemocnému jeho závažnou a fatální diagnózu. Většinou se obracíme k mlhavým pojmům a někdy se dokonce dopouštíme i nezodpovědného vyjádření (po operaci pro onkologické onemocnění) - vyléčili jsme vás (přitom sami víme, že tomu tak není).

Nakonec většinu nemocných ponecháváme samotnou s jejími problémy, s jejich nemocí, často zcela bez psychické pomoci. Je to snad proto, že chráníme nemocného? Nebo je to proto, že chráníme spíše sebe? Nebo jen protože neumíme či se bojíme říci nemocnému pravdu?

Položme sami sobě otázku: chtěl bych sám pravdivě znát vlastní fatální diagnózu nebo bychom si též hráli na slepou bábu? Nekonstruujeme svým postojem spíše skutečnost - nemám sílu říci pravdu! Je to etické?

Nemocný se často dovídá svoji diagnózu až jako poslední, obvykle náhodou, omylem nebo podceněním jeho inteligence a zvědavosti ošetřujícím personálem a příbuznými. Někdy se ji též dozví neomaleně, coby nežádoucí svědek, rádoby odborného rozhovoru. Pak nastává stav kdy jak nemocný, jeho okolí, tak ošetřující lékař jednájí a předstírají situaci v obrazu tzv. "milosrdné lži".

Občas je naopak o diagnóze i prognóze informována plně a do tristiálních detailů osoba, která se prohlásí za příbuznou, aniž víme, že tomu tak je, nebo že by si to nemocný tak opravdu přál.

Důsledkem je realita, ve které se pacient nemá komu svěřit, s kým sdílet své obavy, úzkost a strach. Všichni kolem hrají divadlo, naivně a neprofesionálně, ale podle své víry údajně ohleduplně. Nakonec nemocný přistupuje na tuto hru. Chtěl by někdo z nás lékařů, sester, být coby nemocný, hlavní postavou takového představení, po kterém si pozůstalí aktéři oddechnou až skončí?

Není rozumnější a lidštější vytvořit pro všechny zúčastněné (pacienta, lékaře, ale i zdravotní sestru) rovnocenný a profesionálně etický partnerský vztah? Vztah, který se bude odvíjet od **otevřené spolupráce, chceš vědět - vysvětlím, povím, pomohu, budu spolupracovat. Budu informovat z okolí pacienta jen toho, koho si nemocný sám určí. Nebudu z alibismu vynášet soudy pro okolí a nebudu přistupovat na jeho zvědavost. Neměl by být mimo lékaře (určujícího pravidla) hry rovnocenným partnerem i nemocný? Jeho je přece nemoc, on je jejím nositelem, vlastníkem a jej ona především postihuje a sužuje.**

Lékař na lůžkovém oddělení by si též měl vždy uvědomit, že se s nemocným často setkává pouze v podobě vizit, vyšetření a kontrol. Ten kdo se s pacientem nejčastěji setkává je zdravotní sestra. Ta je často přítomna při jeho základních lidských úkonech, ona nemocnému pomáhá při jeho toaletě, je s ním obvykle i v okamžiku největší úzkosti a strachu nemocného. Neklademe na tak na zdravotní sestry, které navíc často nejsou na tuto roli též teoreticky i prakticky připraveny příliš velké břemeno? Není to od nás - od lékařů, kteří jsme se na svoji profesi připravovali o něco déle a na vyšším stupni vzdělávání něco jako alibismus, netečnost či snad i zbabělost?

Žijeme v pluralitním společenství, ve kterém má každý právo na svůj názor a svůj postoj k životu. I etický kodex České lékařské společnosti uvádí: "Lékař se má vzdát paternalistických pozic v postojích vůči nemocnému a respektovat jej jako rovnocenného partnera...". Práva pacienta pak akcentují zejména svobodu a individualitu člověka. Z etického hlediska je pak třeba zejména napravit i vzájemnou úctu, respekt a důvěru jak mezi lékaři vzájemně, tak i ve vztahu mezi zdravotníky a pacienty.

Zdravotnictví vždy bylo a je mikrokosmem v okolním světě. Vstupují do něj a ovlivňují je vztahy vnější, které však medicína ovlivňuje též. Zkusme alespoň v tomto mikrosvětě, který však pro většinu lékařů tvoří podstatnou součást jejich bytí a existence, začít dbát na mravnost;

vyžadujeme ji nejdříve od sebe, pak od laiků, politiků a vůbec našeho okolí. Zkusme k mravnosti vést mladší nejenom doma, ale i v ambulanci, na oddělení či klinice a tak vlastně ovlivnit jak morálku, tak i ty starší kolem nás. Etika se pak už dostaví sama.

### **Literatura**

1. Všeobecná deklaráce lidských práv (přijata na Valném shromáždění OSN 10.12.1948
2. Etika v medicíně. Prakt. Lék. 75, 1995, Suppl2, 1-24
3. Haškovcová H.: problematika umírání a smrti. Medica Revue 25, 1995, 5, 28-29
4. Etický kodex České lékařské komory
5. Šebek M.: Nemoc jako psychická realita. Ami Report 7-8, 1994, 7-10

Doc. MUDr. Jindřich Vomela  
Jihlavská 20, 639 00 Brno

Scripta medica	70	Supplementum 4	170-171	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

III. chirurgická klinika, Londýnská ul., Praha 2

Third Department of Surgery, Charles University, Prague

**Pavel Pafko**

## **NĚKOLIK ETICKÝCH PROBLÉMŮ V CHIRURGII**

### **Some ethical issues in surgery**

#### **Souhrn**

Autor poukazuje na otázky týkající se práv pacienta na informovanost o způsobu diagnostiky, terapie a riziku možné komplikace. Rozebírá možnosti, způsob a nejčastější chyby při informovanosti nemocného, i problematiku definice tohoto pojmu. nejčastější chyby

#### **Summary**

The author refers to issues concerning patient's right of being informed about diagnostic procedures, therapy and risk of predictable complications. Ways how to make the patient known, and most frequent mistakes during this informing process are being analysed. Definition of the term "informed patient" is also discussed.

Klíčová slova: Informovanost nemocného

Key words: Informed patient

Základním vztahem mezi lékařem a pacientem je vztah rovnosti. Podle etického kodexu lékařské komory je nutné pacienta respektovat jako rovnocenného partnera.

Naše filozofie stojí na tomto principu, tedy na principu souhlasu nemocného z diagnostickým a léčebným postupem. Tento souhlas není potřebný podle zákona 20/66 pouze: jde-li o nemoce kde lze uložit povinné léčení, ohrožuje-li nemocný vzhledem k svému stavu okolí (např. intoxikace) a je-li nemocný stížen duševní poruchou. Samozřejmě je-li zbaven svéprávnosti. Zde je rozhodující názor opatrovníků a jeho stav je třeba řešit jako při ošetřování dětí. Naprosté respektování přání pacienta, který nespadá do žádné z výše zákonem jmenovaných skupin je pro nás základním principem při jeho ošetřování. Příkladem může být i ošetřování svědků Jehovových (§ 26 zák. 20 říká, že ani odběr krve nesmí být proveden živým osobám bez jejich souhlasu). Lékař je dále vázán etickým kodexem lékařské komory, který v § 3 odst. 2 říká, že lékař se nesníží k nemravnému jednání.

K tomu, aby se pacient - laik mohl kvalifikovaně rozhodnout potřebuje informace. Podle § 23 citovaného zákona je lékař povinen poučit vhodným způsobem nemocného popř. členy jeho rodiny o povaze onemocnění a o potřebných výkonech tak, aby se mohli stát aktivními spolupracovníky při poskytování léčebně preventivní péče. Vhodným způsobem - tedy zde



zákon ponechává na lékaři co považuje za vhodné a co za nevhodné. Zejména proto, aby se nemocný aktivně podílel na pozdější vlastní diagnostické a léčebné péči. Potud by se to zdálo zcela bezproblémové a také to podporuje etický kodex komory, který v § 3 odst. 5 říká, že "zadržení informací o nepříznivé diagnóze nebo prognóze je možné individuálně dle úvahy a svědomí lékaře.

Problém se však může vyskytnout ve chvíli stížnosti na tento v zákoně uvedený vhodný "způsob informování" a v etickém kodexu uvedené "zadržené" informace.

Dovolte příklad: žena středního věku při totální strumektomii utrpěla oboustranné porušení vratných nervů a stav po opakovaných neúspěšných laterofixacích hlasových vazů skončil permanentní tracheostomií. Jak měla být před operací tato pacientka informována? Jak informovat nemocného, který odmítá navrženou operaci pro asymptomatický karcinom plic? Naše stanovisko je jednoznačné, domníváme se, že vztah mezi lékařem a pacientem a vzájemné informace mezi nimi mezi to patří, je vztahem vysoce individuálním, neopakovatelným, který nemůže vyřešit žádná právní norma (proto je i stávající tak volná). Za důležité však považujeme informovat nemocného vůbec nějakým způsobem. V praxi se bohužel setkáváme s nemocnými, kteří jsou posíláni na kliniku k operacím, již s objektivně potvrzenou diagnózou karcinomu, kdy ani pacient, ani jeho blízcí příbuzní nevědí o této již mikroskopicky prokázané diagnóze.

Druhou skupinu nemocných tvoří ti, který jsou informováni přespříliš. Není vzácné, že pacientovi je sděleno: půjdete na chirurgii a tam vám odstraní plicní lalok, nebo plicní nádor apod. Každý si jistě umí představit nemocného, který si uvědomuje závažnost svého stavu a očekává od operace "uzdravení". Současně si, ale každý umí představit obtížnou situaci ve které se nalézá chirurg jenž zjistil, že operace je z různých důvodů kontraindikována. Sámí jsme takto předem informované pacienty zažili. Ve stejné situaci se nalézá pacient, kterému po amputaci chirurg slíbí protézu a protetik zjistí, že protéza indikována není. Domníváme se tedy, že informace - sliby týkající se činnosti jiného lékaře či pracovníka jsou chybné.

Závěrem tedy:

1. Informovanost nemocného je atributem vysoce individuálního vztahu lékaře a pacienta.
2. Současná legislativa i etický kodex komory to plně akceptují.
3. Nejhrubší a nejčastější chybou lékaře je neposkytnout žádné informace.
4. Sami si myslíme, že je nemožné definovat to co to je vhodný způsob informace. Pokud by to bylo legislativně možné je potřebné to definovat předem.

Literatura u autora

Scripta medica	70	Supplementum 4	172-175	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Chirurgická klinika LF MU a FNŠP Brno Bohunice

Department of Surgery, Masaryk University Hospital, Brno - Bohunice

**Jindřich Vomela**

## **PRÁVNÍ VĚDOMÍ**

### **Law awareness**

#### **Souhrn**

Sdělení poukazuje na nedostatky v praktickém přístupu absolventů lékařských fakult k pojmům právní vědomí v rovinách vztahů lékař pacient, lékař zdravotní sestra a v rovině interperzonálních vztahů

#### **Summary**

Insufficient familiarity of medical graduates with juridical background in relations physician - patient, physician - nurse and other interpersonal contacts is depicted.

Klíčová slova: Právní vědomí, poučení nemocného, informovaný souhlas

Key words: Law awareness, Informing the patient, Informed consent

V průběhu posledních let se projevovala (a u převážné většiny populace ještě stále výrazně projevuje) naprosto nedostatečná znalost právních informací a norem. Stále je, do jisté míry, u veřejnosti patrný, "laxní přístup k právním informacím" a k jejich užití, z čehož vyplývá poměrně vysoký stupeň právní neinformovanosti (neznalosti), tedy i nízký stupeň právního vědomí.

Tento jev můžeme ve zdravotnictví pozorovat ve dvou polohách. V prvním případě jde o postoje pacientů k jejich okolí a nemocničnímu prostředí, ve druhém pak jde o postoj zdravotníků k pacientovi a jeho rodině. Obecně jde o nerespektování a nedodržování Zdravotního a nemocničního řádu (někdy však bohužel i základních společenských norem a obecně platných právních předpisů) pacientem k okolí, i zdravotnického personálu vůči nemocnému a spolupracovníkům.

Absenci právního vědomí můžeme obvykle pozorovat jak se strany nemocných, tak zdravotnického personálu. Naopak právní vědomí se projevuje zatím pouze ojediněle (malá snaha vyžadovat to, na co má podle platných předpisů a norem nárok a co je jeho okolí povinno respektovat a dodržovat).

Složitá a problematická je však i situace, hodnotíme-li *právní vědomí* zdravotnického personálu. Jde o nedostatek, jehož dopad si jednotliví pracovníci vůbec neuvědomují. Ve vztazích lékař - pacient se tato skutečnost projevuje zejména při poučení nemocného, jeho informovanosti a "informovanosti rodiny". Tato zcela specifická oblast zdravotního práva je v současné době kodifikována v zákonné normě pojmem "přiměřené poučení nemocného, eventuálně jeho rodinných příslušníků".

Pojem přiměřeného poučení je velmi široký, formulaci, způsob informace, její rozsah a formu musí posoudit ošetřující lékař. Podat "přiměřenou informaci" je i pro zkušeného a dobrého lékaře v některých případech velmi obtížným a vyčerpávajícím úkolem (informace o závažném nevy léčitelném onemocnění, mutilujících operačních výkonech, náročné a zatěžující terapii, nevy léčitelnosti některých chorob, beznadějnosti terapie u poruch vitálních funkcí, sdělení o úmrtí apod.).

Samostatnou kapitolou je tzv. **informovaný souhlas**, pojem kolem kterého jsou vedeny diskuse po více než dvacet let. Jde o způsob a rozsah jak informovat nemocného o způsobu diagnostiky a léčby, o jejich rizicích a o možnostech případného jiného postupu. Přestože tyto diskuse nejsou ukončeny platí povinnost zdravotnického personálu přiměřeně a přijatelnou formou poučit nemocného o všech úkonech, postupech a metodách, které budou užity v souvislosti s plánovanou diagnostikou a léčbou. V praxi půjde o informaci o konkrétním terapeutickém nebo diagnostickém postupu (laparoskopické výkony a jejich konverze, angiografická vyšetření a míra rizika apod.). Toto poučení jednak svědčí o adekvátním přístupu k nemocnému, jednak poskytuje větší právní ochranu zdravotníkům než v současné době téměř nevýznamný (avšak tradující se) obecně platný pozitivní revers (souhlas nemocného s operací, nebo jiným úkonem).

Lékař je povinen seznámit nemocného i s rizikem jednotlivých metod a při plánovaném ošetření pak postupovat v duchu konkrétního informovaného souhlasu. Obdobná povinnost vyvstává i pro SZP, kdy je třeba vždy seznámit nemocného s úkony, které je třeba v souvislosti s vyšetřením nebo léčbou uskutečnit. Každý takový úkon by měl být nemocnému objasněn tak, aby jej tento chápal, akceptoval, prostě aby byl poučen a s úkonem souhlasil. V praxi jde o dva aspekty:

- právní (riziko postihu na základě stížnosti či žaloby nemocného)
- psychologický (ztráta důvěry a tím i spolupráce).

Pro zdravotnický personál, který ošetřuje nemocného, je třeba znát jakým způsobem a do jaké míry byl nemocný informován (pro další postup a jednání s ním). Zůstávají totiž velmi náročné okamžiky, kdy se nemocný po podání informace lékařem bude obracet na zdravotní sestru jako na člověka v té chvíli nejbližšího. Tato role je při zodpovědném a lidském přístupu sestry nesmírně náročná.

Je třeba si uvědomit, že nemoc je "majetkem nemocného", který má na informaci právo a lékař má povinnost jej informovat. Forma a způsob informace o zdravotním stavu je otázkou nejenom forenzní, ale i psychologickou.

Zásadně se vyvarujeme podávat informace po telefonu, může dojít ke zneužití, zkreslení či nepochopení informace. Informaci tak může vyžadovat i osoba neoprávněná! Telefonickou informaci je třeba slušnou formou odmítnout!

Stejně tak není **žádný zdravotní pracovník** oprávněn poskytnout informaci o zdravotním stavu jakékoliv instituci, organizaci nebo zaměstnavateli pacienta (vyjimku tvoří pouze okamžik, kdy je zdravotník zbaven mlčenlivosti rozhodnutím soudu nebo po jednoznačném souhlasu nemocného). Porušení tohoto předpisu je chápáno jako porušení zákonného předpisu o **povinné mlčenlivosti**, což může být postiženo jak v řízení majetko - právním (při poškození zájmů

pacienta), tak v řízení trestním, kdy žalobcem může být poškozený, zaměstnavatel nebo státní zástupce. I vyjádření o zdravotním stavu nemocného policií musí být (co se týká diagnózy se souhlasem pacienta).

#### **Vyjímkou z ustanovení o povinné mlčenlivosti tvoří:**

- písemný souhlas nemocného ke sdělení jeho zdravotního stavu. Tento souhlas si od nemocného musí vyžádat i orgány činné v trestním řízení (posudky pro vyšetřující orgány, soud, pojišťovnu, zaměstnavatele);
- povinné mlčenlivosti je zdravotnický pracovník zbaven při zjištění trestního činu závažné povahy. V těchto případech je povinen tuto skutečnost oznámit (v případě zdravotní sestry obvykle prostřednictvím jí nadřízeného lékaře) orgánům činným v trestním řízení (policie nebo státní zastupitelství);
- při podezření na trestní čin;
- povinné mlčenlivosti o zdravotním stavu v případech ostatních může zbavit zdravotnického pracovníka pouze soud.

Jako porušení povinné mlčenlivosti může být posuzováno i probírání zdravotního stavu pacienta ve společnosti osob, které se na terapii a péči o nemocného nepodílejí, neanonymní publikování údajů, dokumentace apod. (i v odborném tisku).

S informovaností nemocného souvisí i jeho poučení o všech úkonech v souvislosti s postupy diagnostickými, i terapeutickými u pacienta plánovanými. Nemocný **musí znát míru rizika vyšetření, medikace, i každého invazivního postupu** a má právo odmítnutí.

Z právního hlediska je důležitý i tzv. **negativní revers**. Jde o písemný doklad o odmítnutí určitého postupu v souvislosti s diagnostikou nebo terapií pacientem. V textu negativního reverzu je vždy třeba formulovat všechny skutečnosti, které pacientovi hrozí při daném postupu tak, aby bylo jasné, že nemocný byl "přiměřeným způsobem poučen".

Negativní revers je bezcenným tehdy, pokud by jej podepsala osoba, kterou lze (s ohledem na její věk, zdravotní a psychický stav) hodnotit jako **nesvéprávnou!** (Po úrazu hlavy s možností psychických, či organických změn, u duševně chorých, u osob opilých či pod vlivem omamných látek.) Negativní reverz nemá platnost též hrozí-li ohrožení zdraví nebo života (zejména u dětí), tedy u nemocného v bezvědomí, hypotenzi apod.

Text negativního reverzu formuluje vždy lékař. Je vhodné podepíše-li jej mimo nemocného dva svědci (nejlépe osoby nezainteresované na chodu zdravotnického zařízení). Odmítne-li pacient podepsat negativní revers, je třeba sepsat o této skutečnosti záznam, který by měl být podepsán přímými svědky jednání (obvykle je k této fázi přizveme).

**Součástí právního vědomí je i dodržování platných norem a předpisů** souvisejících s pracovní činností, kterou má konkrétní pracovník v popisu práce, včetně činnosti řídicí. V souvislosti s touto otázkou je třeba zdůraznit i odpovídající formu dokumentování těchto úkonů (vedení a ukládání předepsané zdravotnické dokumentace náležitou formou - chorobopis, dekurz, teplotka, hlášení sester, evidence nemocných apod.).

**Se zaváděním výpočetní techniky** je třeba upozornit, že z hlediska forenzního je předepsaným dokladem pouze písemný záznam. Nelze proto (v současné době) omezit vedení zdravotnické dokumentace pouze na záznamy na elektrotechnických médiích (paměť počítače).

Důležité je i poučení o platných předpisech a normách (nikoliv poučení formálního charakteru) zejména při nástupu nových pracovníků. Neméně potřebné je jejich dodržování v praxi.

Snad dojde k obecnému zlepšení právního vědomí mezi zdravotnickou veřejností dříve, než se stávající stav stane předmětem soudních sporů (motivovaných někdy i snahou získat

případné finanční částky "vysokého" odškodného) a z nich vyplývajících trestních a jiných postihů, jak je tomu v zemích s vyšší informovaností o právních otázkách (tedy s právním vědomím vyspělejším proti stávajícím poměrům v našich zemích).

### **Literatura**

1. Všeobecná deklaráce lidských práv (přijata na Valném shromáždění OSN 10.12.1948
2. Etika v medicíně. Prakt. Lék. 75, 1995, Suppl2, 1-24
3. Haškovcová H.: problematika umírání a smrti. Medica Revue 25, 1995, 5, 28-29
4. Etický kodex České lékařské komory
5. Šebek M.: Nemoc jako psychická realita. Ami Report 7-8, 1994, 7-10

Doc. MUDr. Jindřich Vomela  
Jihlavská 20, 639 00 Brno

Scripta medica	70	Supplementum 4	176-179	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

II. onkohematologická klinika LF MU a FNŠP Brno Bohunice

Department of Onco - Hematology, Masaryk University Hospital, Brno - Bohunice

**Jiří Vorlíček, Olga Rečtořiková**

## **SDĚLOVÁNÍ DIAGNÓZY ONKOLOGICKY NEMOCNÝM**

### **Making the cancer patient known with the diagnosis**

#### **Souhrn**

Sdělení pojednává o vlivu poučení onkologického nemocného na jeho další spolupráci při léčbě. Autoři na základě dlouholetých zkušeností stanovili tzv. Desatero zásad při sdělování onkologické diagnózy

#### **Summary**

The article deals with the influence of level of being aware of oncological diagnosis in cancer patient for his compliance during the treatment. The authors established "Ten rules for making the cancer patient familiar with his diagnosis" on the basis of their long term experience.

Key words: Informing the patient, oncological diagnosis, compliance of the patient.

Klíčová slova: Poučení nemocného, onkologická diagnóza, spolupráce nemocného

Léčbu onkologicky nemocných můžeme rozdělit na dvě skupiny, léčbu kurativní a léčbu paliativní. Kurativní léčba je radikální, má za cíl vyléčení nemocného. Při jejím vedení jsou používány léčebné postupy, které mohou dočasně zhoršit kvalitu života nemocného. Tyto radikální postupy vyžadují dobrou spolupráci pacienta a často i spolupráci jeho rodiny a přátel. Paliativní léčbu provádíme u nemocných, u kterých není naděje na vyléčení a často ani na dlouhodobé přežití. Jde o léčbu neradikální, která má za úkol zbavit nemocného pokud možno co nevíce všech obtíží, zlepšit jeho kvalitu života v období, které mu ještě zbývá.

Paliativní léčba nemocného zatěžovat a snažíme se jí co nejvíce provádět ambulantně, v domácnosti, v prostředí, na které je nemocný zvyklý. Významně se zde uplatňuje nově zaváděný systém domácí péče (home care), spolupráce s příbuznými a přáteli nemocného.

V obou případech, jak při léčbě kurativní, tak paliativní, je používána v onkologii řada léčebných metod. Jsou to chirurgická léčba, radioterapie (léčba zářením), chemoterapie (léčba cytostatiky, léky které ničí především rychle se množící buňky), imunoterapie (ovlivnění imunitních reakcí). Velmi důležitou součástí protinádorové terapie je léčba podpůrná. Tato léčba umožňuje úspěšné provedení výše uvedených protinádorových postupů tak, aby byly dostatečně účinné a současně nemocného zatížily co nejméně. Podpůrná léčba je důležitou součástí

i léčby paliativní. Do široké oblasti podpůrné léčby zahrnujeme například léčbu infekcí, útlumu dřeně včetně anemie, leukopenie a krvácivých projevů, předcházení a léčbu nevolnosti a zvracení, poškození různých tkání a orgánů jak nádorem, tak jeho léčbou, léčbu bolesti. Nedílnou součástí podpůrné léčby u onkologicky nemocných je jejich psychologická podpora.

Psychologická podpora nemocných v širokém slova smyslu má celou řadu aspektů, které se vzájemně prolínají. Je součástí informace o způsobu vyšetřování, o léčbě a jejich komplikacích, uplatňuje se při spolupráci s praktickým lékařem i týmem specialistů, úzce souvisí se spoluprací s rodinou a přáteli. Prolíná se průběžně celým průběhem péče o onkologicky nemocného ať už v nemocnici nebo při ambulantním léčení. Její součástí je i u nás dosud velmi zanedbávaná problematika umírání.

V naší úvaze se chceme blíže věnovat problematice informování o onkologické diagnóze.

Dřívější a v mnoha případech i do současné doby přetrvávající způsob informování nemocného o diagnóze nádoru se opíral o základní postulát - neublížit nemocnému (milosrdné oklamání, pia fraus). Vycházel z předpokladu, že sdělení pravdy o závažné, život ohrožující nemoci, je pro nemocného neúnosné a nepřijatelné. Informace o onkologické diagnóze byly poskytovány rodině nemocného, jeho přátelům, dokonce někdy i zaměstnavateli. Nemocnému byla jeho diagnóza sdělována jen zřídka, nesystematicky, neprofesionálně, často byla používána takzvaná náhradní diagnóza.

Tento postup neměl právní opodstatnění, nemotivoval nemocného ke spolupráci na onkologické léčbě a mohl ho i poškodovat. O svém nádorovém onemocnění se pacient často dozvídal náhodou a nevhodným způsobem ať už nahlédnutím do dokumentace, rozhovorem s příbuznými, nebo s ošetřujícím personálem. Personál byl navíc postavený do těžké situace, protože nesdělení pravdy nutně vedlo k řadě nejednotných a zkreslujících informací, které nemocného znepokojovaly a zatěžovaly. Vytvářely se problémy ve vztazích mezi nemocným a zdravotníky, příbuznými, přáteli a někdy i zaměstnavatelem. Zcela neuspokojivě byla řešena i majetkoprávní problematika nemocného, který při neznalosti své diagnózy, způsobu léčení a případné prognózy nemohl kvalifikovaně rozhodovat o svém postavení v povolání nebo o finančních záležitostech, například dědictví.

Od šedesátých let docházelo postupně v západní Evropě, v USA a Kanadě ke změnám v přístupu ke sdělování onkologické diagnózy nemocným. Tyto tendence se u nás začaly významněji uplatňovat až od roku 1990 po změnách ve společenském systému. Důvodů k tomu, aby nemocný znal pravdu o své diagnóze je celá řada. V první řadě jde o respektování osobnosti nemocného, který má nezadatelné právo znát informace, které se týkají jeho osoby a tedy i svoji diagnózu. Nezanedbatelná je i skutečnost, že pokroky v medicíně zlepšily výrazně naše léčebné možnosti u nemocných se zhoubnými nádory. Perspektiva většiny nemocných není beznadějná, ve vysokém procentu můžeme u zavčas zjištěných zhoubných nádorů předpokládat vyléčení. Velmi důležitým faktorem mluvícím pro sdělování diagnózy je nutnost spolupráce nemocného při léčbě. Těžko můžeme předpokládat souhlas s léčbou, která je dlouhodobá, zatěžující a často doprovázená závažnými nežadoucími účinky od nemocného, který si není vědom závažnosti své diagnózy. Jak bychom mu vysvětlili nutnost operace, ozařování, náročné chemoterapie doprovázené často zvracením a dočastnou ztrátou vlasů bez přiměřeného vysvětlení diagnózy a prognózy onemocnění? Samozřejmě je nutné si uvědomit, že i nesdělená pravda je určitým způsobem známá, je často chápána jako signál o závažnosti choroby a bez bližšího vysvětlení přináší psychické strádání z nejistoty. Významnou roli hraje již výše zmíněná majetkoprávní problematika.

Je řada významných faktorů, které souvisejí s problematikou pravdy na nemocničním lůžku.

Byla přijata Listina základních práv a svobod, byl vypracován etický kodex práv pacientů. Více než 140 organizací pacientů kritizuje takzvanou medicínu mlčení. A v neposlední

řadě je důležitá právní ochrana lékaře, který by měl i ve vlastním zájmu informovat nemocného o riziku diagnostických a léčebných postupů.

Celá problematika sdělování onkologické diagnózy je samozřejmě velmi citlivá a složitá. Ano nemusí být ekvivalentem plného sdělení, milosrdná lež může nemocného poškodit, nevhodně sdělená pravda také.

Zvláštní situace při sdělování onkologické diagnózy je u dětí a adolescentů, kde musíme postupovat v souladu s rodiči, u duševně nemocných a také u velmi starých lidí. Zvláště citlivě musíme jednat s nemocnými při pozdě zjištěném nádorovém onemocnění.

Sdělení onkologické diagnózy musí vždy provést ošetřující lékař, případně vedoucí oddělení či kliniky. O sdělení diagnózy včetně podrobností (nádor, zhoubný nádor, leukemie, lymfom) musí být proveden zápis do chorobopisu, případně i do onkologického dekursu a sesterské dokumentace. Tato informace musí být i součástí propouštěcí zprávy pro praktického lékaře či specialistu. Je naprosto nezbytné, aby o sdělení diagnózy nemocnému a o způsobu sdělení byl informován celý ošetřovatelský tým. Jen tak mohou mít lékaři a sestry oddělení v následujícím období optimální přístup k nemocnému a mohou mu pomáhat zvládat obtížné situace.

Sdělit onkologickou diagnózu bychom měli všem nemocným, pokud neexistuje závažný důvod proti. O některých důvodech jsme se zmínili výše.

Kdy máme diagnózu nemocnému sdělit? Nepochybně až po navázání vztahu vzájemné důvěry nemocného a lékaře. Domníváme se, že diagnózu je nutné sdělit až po naší rozvaze o léčebném postupu, který nemocnému současně se sdělením diagnózy navrhuje a o kterém s ním můžeme diskutovat.

Kde nemocnému diagnózu sdělujeme? Zásadně o samotě, je vyloučená přítomnost dalších nemocných. Nesmíme být rušení telefonem ani jinak, na sdělení diagnózy si musíme udělat čas. Pokud máme možnost, je nejlépe s nemocným hovořit v civilně zařízené místnosti, v uklidňujícím prostředí. Nikdy nesdělujeme diagnózu večer, pravděpodobně bychom připravili nemocnému neklidnou noc.

Diagnózu sdělujeme vždy srozumitelně, na úrovni inteligence a vzdělání nemocného, vyhýbáme se odborným pojmům a lékařskému žargonu. Hovoříme vždy stručně, podle potřeby opakovaně. Nemocný musí mít možnost klást otázky a nesmí zůstat s pravdou sám.

Při sdělování diagnózy se vyhýbáme u nás obávaným pojmům (místo o rakovině hovoříme o zhoubném nádoru) a nebereme nemocnému naději.

Na základě literárních údajů a především našich zkušeností s léčením a ošetřováním nemocných s nádory jsme v roce 1990

vypracovali Desatero zásad při sdělování onkologické diagnózy na

II. interní klinice FNŠP v Brně Bohunicích.

1) Informace o podstatě nemoci poskytujeme všem nemocným s maligní chorobou, ale diferencovaně jak do obsahu, tak způsobu podávání informací.

2) Plné znění diagnózy sděluje lékař v případě přímého dotazu pacienta, nikdy ne spontánně.

3) Vždy, zvláště pak při sdělení diagnózy, zdůrazňujeme možnost léčitelnosti nemoci, ale neslibujeme vyléčení.

4) S podstatou nemoci, dalšími vyšetřovacími a léčebnými postupy, je nemocný seznámen neprodleně, ještě před začátkem onkologické léčby.

5) Informace získává nejdříve pacient, pak s jeho souhlasem případně i rodina.

6) Nemocný sám rozhoduje, koho z rodiny či přátel informovat a do jaké míry, jeho přání vždy respektujeme.

7) Informace nemocnému o jeho nemoci a léčbě je nutné podávat opakovaně, nestačí jen jednorázový rozhovor. Věnujeme pozornost a čas i nepřímým avizovaným dotazům.



- 8) Jednotnou informovanost zajistíme důsledným předáváním informací mezi personálem navzájem ústně i písemně (chorobopis, sesterská dokumentace, propouštěcí zpráva).
- 9) Zásadně pacientovi nesdělujeme časové údaje o jeho možné délce života či pravděpodobné datum smrti.
- 10) Pacientovi nikdy nebereme naději.

S používáním výše uvedeného desatera máme pětileté dobré zkušenosti. Výhody ze správné informovanosti jsou jak pro personál, tak především pro nemocné. Pro ošetřující tým představuje dodržování desatera větší časové zatížení a někdy i větší krátkodobou psychickou zátěž, výhodou je nepochybně navozená důvěra mezi nemocným a personálem a především větší spolupráce nemocného a často i jeho rodiny a přátel. Otevřená a vstřícná atmosféra na odděleních, kde většina nemocných ve spolupráci s psychologem a všemi členy ošetřovatelského týmu dokáže vyjadřovat a řešit svoje problémy, je pak odměnou pro celý kolektiv.

Cílem sdělení onkologické diagnózy je získat nemocného ke spolupráci, osobně ho zainteresovat na léčbě. Nemocného nesmíme traumatizovat přímým sdělením diagnózy, které sice poskytlo podrobné informace o nemoci, ale postrádalo zdůraznění možnosti a smyslu dalšího života.

## **Literatura**

1. Boleloucký,Z., Bendová,M., Baštecký,J. a kol.: Psychosociální orientace v lékařství se zaměřením na klinickou onkologii. Čas. Lék. čes. 124, 1985, s. 806-909
2. Dostálová,O.: Psychoterapeutické přístupy k onkologickým nemocným
3. Dostálová,O.: Jak vzdorovat rakovině. Praha, Grada, 1993
4. Dostálová,O.: Léčba pokročilých stadií zhoubných nádorů, Praha, Dům medicíny, 1996, s. 244
5. Haškovcová, H.: Spoutaný život, Praha, Panorama, 1985
6. Kübler-Ross, E.: Odpovědi na otázky o smrti a umírání, Praha, EM Reflex, 1995, s. 288
7. Kübler-Ross, E.: On Death and Dying. London, Routledge, 1995
8. Vorlíček, J.: Klinická onkologie, Brno, LF MU, 1995

Scripta medica	70	Supplementum 4	180-184	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Chirurgická klinika VLA v ÚVN, Praha 6 - Střešovice,

přednosta prof. MUDr. Miloš Hájek, DrSc.

**M. Hájek**

## **Etika vztahů občanské společnosti ke zdravotníkům**

Slovo etika se dnes na veřejnosti skloňuje ve všech pádech a etiku ve zdravotnictví hodnotí téměř kdekdo. Je to asi proto, že "etika" je celkem libozvučný pojem, za který lze skrýt vedle tradičně uznávaných hodnot i některé blíže nespecifikované požadavky, které se vždy dají na někom bezbranném vyžadovat. Občanská společnost ani příliš neuvažuje, zda se tak děje právem anebo prostě jen z ošklivé totalitní tradice nebo jen podle zdejších zvyků.

Vzdělaní lidé se zabývají etikou při studiu filozofie, sociologie a teologie. Seznamují se s ní jako s filozofickou kategorií a ti ostatní, kteří ke studiu etiky neměli zatím příležitost, ji vnímají většinou správně, když ji ztotožňují s morálkou. Ale ani lékaři, kteří se s etikou již trochu seznámili ji neodlišují od morálky; nazírají však na ni diferencovaně od ostatních lidí. Vědí totiž, že je k mnohému zavazuje a na druhé straně jim současná společnost dává nesčetné důkazy o tom, že nevnímá etiku zpětnovazebně, tedy ve směru od veřejnosti k nim samotným. Také způsob, jakým je lékařská etika vyžadována a na veřejnosti prezentována není u nás ideální. O etice se na školách dosud málo ví a její výuka se dosti obtížně prosazuje. Má-li české zdravotnictví jakýkoliv problém, který se zdá úřadům těžko racionálně řešitelný, ihned se vynoří tvrzení o tom, že se na příslušnou kauzu musíme dívat eticky, tj. z pozice zastánců nebo i nositelů dobra, které by měl lékař a obecně každý zdravotník projevovat vůči všem nemocným. Neuvažuje se ale již o tom, že vždy existují i určité společenské podmínky pro etické jednání té které profese a že etiku nelze ztotožňovat s lidumilstvím. Veřejnost vůbec nedbá na to, že se i občanská společnost musí postarat, aby etika nebyla jen prázdným filozofickým pojmem a jednosměrně uplatňovaným požadavkem, ale aby měla fungující zpětnou vazbu - tedy nejen, jak je zvykem, prezentovat ji směrem od lékaře k nemocnému, ale i v obráceném směru od nemocného k lékaři, od organizátorů zdravotnictví ke zdravotníkům, od úřadů a zdravotních pojišťoven ke zdravotnickým zařízením, od ostatních zdravotníků k lékařům a konečně i od zájmových lékařských organizací k jednotlivcům, kteří v nich jsou sdružení.

Tento obrácený směr etického nebo neetického jednání je námětem této úvahy. Není třeba a není to ani možné, abychom hovořili do detailů o všem, co a jak by se mělo správně a eticky provádět. Je však žádoucí, aby bylo neustále upozorňováno na nejmarkantnější porušování etických principů i v opačném směru, než-li v jakém se to dosud děje, a to od občanské společnosti ke zdravotníkům, zejména k lékařům. Na nutnost uplatňovat také obrácený směr etických principů je třeba občany i samotné zdravotníky nejen upozorňovat, ale je potřebné je i motivovat, aby se touto problematikou aktivně zabývali a nacházeli uspokojivá řešení. V dalším bude upozorněno na pět nejčastějších profesních vztahů, které lékaři se svým okolím navazují a v nichž tak často dochází k neetickým situacím.

## 1. Vztah nemocného k lékaři

Předpokladem etického jednání lékaře s pacientem je vzájemná důvěra a porozumění lékaře pro obtíže nemocného, ale i pacientovo porozumění pro lékařovy léčebné možnosti a v našich podmínkách i pro některé provozní těžkosti a také pro jeho osobní vklad do služeb, které nemocnému poskytuje. Je rozšířeno mínění, že lékař musí z důvodů svého lékařského slibu a vázán etickými principy svého povolání udělat i pro své pacienty vše, co je možné a často je na něm požadováno i více. Pacient pak obvykle dělá jen to, co sám chce anebo co uzná za vhodné a není ve vztahu k lékaři vázán žádnými etickými principy. Takový jednostranně daný vztah při poskytování informací a odborné pomoci není pro většinu lékařů přijatelný. Lékaři od nemocných právem požadují poskytnutí pravdivých informací o všech potížích a chorobách, o rodinné zátěži a rodinných poměrech, o pracovním procesu a námaze při něm, o psychickém stavu a často i informace velmi důvěrné povahy. Požadují nezamlčování skutečností na něž se přímo dotáží a které jim mohou odkrýt nepoznaná onemocnění. Při chorobě, která je již poznána, musí lékaři vědět vše o jejím průběhu a o způsobu dosavadního léčení i o jeho úspěšnosti. Pacient by neměl lékaři zamlčovat ani skutečnost, že se někdy v zoufalství nebo z nevědomosti obrátil na lidového léčitele a bylo-li mu jimi snad pomoci, jak dlouho takové zlepšení trvalo a do jaké míry byla choroba příznivě ovlivněna. Pacient by ovšem neměl lékaři zmlčet ani to, že se třeba již sám inadekvátně léčil léky svých sousedů nebo přátel anebo že vyzkoušel prostředky lidového léčitelství, které mu nepomohly. Dále by měl lékaři sdělit je-li si vědom zanedbání některých svých obtíží, které mnohdy trvají déle než zpočátku přiznal.

Nemocný by se také měl vůči lékaři zdržet jakýchkoli projevů nedůvěry a samozřejmě i pomluv za to, že započatá léčba není snad hned úspěšná, což se někdy stává. Některé léčení nemůže být ani úspěšné, jestliže nemocný nedodrží lékařovy rady. Často to vidíme např. u kuřáků a u jiných návykových situací (alkoholismus, přejídání, při zanedbání správné životosprávy), když nemocní s lékaři nespolupracují a spoléhají se jen na komerčně proklamovaný účinek některých léků.

## 2. Vztah organizátorů zdravotnictví ke zdravotníkům

Jde většinou o vztah zaměstnavatelů k zaměstnancům, ale někdy se nejedná ani o problém služební podřízenosti jako spíše o určení obecně platných principů zdravotnické práce, které jedni vymýšlejí a od těch druhých vyžadují, aby je dodržovali. V tomto a ještě v dalším vztahu, o kterém bude následně pojednáno, se snad nejvíce odrážejí chyby uplynulých téměř 50 let nesvobody, která poznamenala naše občany. Patří sem i omyly posledních několika let již svobodného života, kdy naši zdravotníci pracovali bez koncepce, za organizačních zmatků a sociální nejistoty. Vždy se najde někdo kdo stanoví třeba i iluzorní cíle a jiní ctižádostivci se již postarají o to, aby se zdravotníci za jejich splnění angažovali. To, že se cestou za těmito představami napáchá sousta zbytečných chyb, nikoho příliš netrápí. Bohužel ne vždy jde o aktivity humánní s prospěchem pro nemocné.

V naší zemi platily i v minulosti určité, byť totalitní mocí okleštěné etické zásady, které je třeba pozvednout, podporovat a rozšiřovat jejich znalost. To se bohužel děje jen velmi zvolna. Mnoho novodobých konšelů se brzy po uvedení do svých funkcí soustřeďuje nikoliv na pomoc občanům, ale hledí si především vlastních zájmů. Upevňují si své pozice moci nad druhými, o nichž předpokládají, že je mohou i nadále ovládat. Objevila se dokonce velká skupina dřívějších organizátorů zdravotnictví, která dodnes zasahuje do zdravotnictví alespoň cestou ekonomickou a diriguje mnohá zdravotnická zařízení, která si již nestihla podrobit politicky.

Pokud jsou prokazatelné úspěchy transformace zdravotnictví, přisvojují si je pravidelně více organizátoři nežli lidé, kteří jich skutečně dosáhli. Mnozí do funkcí instalovaní ředitelé zapomněli po nástupu do úřadů na svůj slib sloužit obnově demokracie a někteří, jsouce lékaři, zapomínají často i na Hippokratovu přísahu. Namísto toho, aby se řídili etickými zásadami ve vztahu k nemocným, starají se jen o zisk svých zařízení, kterého je někdy dosahováno podivným způsobem. Vydělává se na nemocnosti spoluobčanů a někteří řídicí pracovníci postupně zkouší, co všechno si nechá naše společnost líbit. Mnozí ředitelé zdravotnických zařízení řídí příliš autoritativně a pokud jejich podřízení projeví svou vůli nebo uplatňují jiné pracovní představy, než mají oni sami, vede to ke konfliktům. Ve vzájemném styku zaměstnavatelů a zaměstnanců ubývá tolerance. Vše se podmiňuje hospodářským úspěchem a objem práce se měří jen mírou finančního zisku. Nikdo kromě lékařů se nepodivuje nad tím, že se nehodnotí úroveň léčebné péče anebo že ji hodnotí jen laici, kteří někdy z pozic ředitelů rozhodují o jmenování a odvolávání primářů odborných oddělení, aniž by znali jejich práci, výkonnost a mohli posoudit jejich kompetentnost. Někdy se nepřiliš kompetentně mluví o perspektivách nebo nefunkčnosti různých zdravotnických zařízení, aniž by se za nimi kromě budov a jejich výbavy také viděly kvalitní služby, která tato zařízení poskytují a dobré pracovní týmy, které v nich fungují. Výkonnost medicíny se většinou hodnotí jen čísly vztaženými na počty výkonů a počty ošetřených nebo hospitalizovaných nemocných a nikdo celostátně nekontroluje kvalitu zdravotnické práce, která je rozhodující.

Nebojuje se dostatečně s neetickými metodami zdvojovaného a často zbytečného vyšetřování ani se způsoby prodlužování některých onemocnění, což se někomu ekonomicky vyplácí. Způsob poskytování zdravotnických služeb je místo na odborné bazi postaven na ekonomice zdravotnických pojišťoven a zdravotnických zařízení. To není správné a popírá to principy, na nichž byla lékařská věda budována.

### 3. Vztah úřadů a zdravotních pojišťoven k lékařům

Vzájemné vztahy mezi úřady nebo jinými institucemi a lékaři vyplývají ze smluv, které jsou mezi nimi uzavírány. Měly by vždy vycházet z principů rovnoprávnosti. Pokud jde o zdravotnické zřízení, pak se jedná hlavně o pracovní smlouvy, uzavírané mezi zaměstnavatelskými organizacemi a lékaři. Zde je u mladých lékařů na závalu, že stát dosud uspokojivě nevyřešil podmínky jejich vstupu do zdravotnického povolání, neboť mladí lidé se těsně po dokončení studií nemohou ještě uplatnit na trhu práce tak, jako jejich starší a zkušenější kolegové, protože nemají potřebný praktický výcvik, který je obvykle při vstupu do zaměstnání požadován. Pro mladé lékaře není v nemocnicích dostatek vhodných míst a tito lékaři se také zatím nemohou privatizovat, protože nesplňují předepsané podmínky pro udělení pracovních licencí. Navazování pracovních smluv mezi nemocnicemi a lékaři vážně především pro omezené finanční prostředky mnoha zdravotnických zařízení a také proto, že nemocnice z ekonomických důvodů nemají zájem na tom, aby se staly výukovými centry pro mladé lékaře. Nebyl dosud vydán nový zákonný předpis o postgraduální výchově lékařů a nejsou vyjasněny otázky akreditovaných školících pracovišť.

Zdravotní pojišťovny si sami regulují síť poskytovaných zdravotnických služeb v regionech a je-li někde již více soukromě pracujících lékařů, odmítají navazovat s dalšími lékaři nové pracovní smlouvy - čímž vlastně omezují hospodářskou soutěž, a to odporuje svobodě podnikání. V některých regionech navazují zdravotní pojišťovny smluvní vztahy jen na určité, přesně definované služby a jiné odmítají. Některé zdravotní pojišťovny neplní včas anebo vůbec smlouvy, které se zdravotnickými zařízeními navázaly a neplatí za výkony, které lékaři na základě smluvních vztahů již provedli. To vede k vážným finančním obtížím u mnoha soukromě pracujících lékařů, ale je to i příčinou nedostatečné solventnosti velkých nemocnic vůči jejich dodavatelům.

Ani přístup lékařů do soukromého sektoru není vždy tak snadný, jak byl slibován a jak je veřejnosti prezentován. Mají jej ztížen zejména ti, kteří potřebují k vybavenosti svých pracovišť

značné investiční prostředky (pracoviště rentgenová, radioizotopová, chirurgická). Nedodržují se dané sliby o výhodných bankovních úvěrech a nezohledňuje se diferencované odměňování těch výkonů, u nichž je třeba použít nákladnou zdravotnickou techniku. Všichni lékaři jsou při odměňování za svou práci závislí na úředním stanovení hodnoty bodu, která se po dlouhou dobu neměnila a nebyla valorizována tak, jak bylo zdravotníkům slíbeno. Již déle než 5 let se pracuje podle sazebníku výkonů, který po stejně dlouhou dobu nevyhovuje. A přitom již 3 roky kompletně připravený nový sazebník dosud nevyšel, ačkoliv byl panem ministrem zdravotnictví opakovaně přislíben. Po léta rostou ceny všech tzv. vstupů, tj. nájmy, energie, cena vody, plynu, úklidových prací, telefonů, poštovního i ceny nejčastěji používaných zdravotnických pomůcek a až do jara r. 1996 se nezvýšila hodnota výkonového bodu. Ale i tak se jedná o nedostatečnou valorizaci bodu při vzrůstajících cenách všeho zboží a služeb, což vlastně znamená pokles odměn za zdravotnickou práci. Formy spolupráce zdravotnických úřadů - Ministerstva zdravotnictví a okresních zdravotních radů jsou většinou lékařské veřejnosti vnímány jako nedobré a nedostačující. Mluvčí zdravotnických úřadů informují lékaře nepravdivě, mění se a střídají různá rozhodnutí, nedodržují se závazné sliby a chybí základní zákonné normy pro zdravotnickou práci a pro postgraduální výchovu lékařů.

#### 4. Vztah zdravotníků k lékařům

Ideální poměry tohoto vztahu by předpokládaly i existenci ideálních lidí. Protože tento základní předpoklad nelze pro zmíněné vztahy nikdy zajistit, budou vždy vztahy zdravotníků - nelékařů k lékařům odpovídat míře jejich vzájemných sympatií, intenzitě spolupráce a také vážnosti osobností. Lékaři požadují od zdravotníků - nelékařů, aby je v rámci profesních vztahů vždy pravdivě informovali, aby spolehlivě pečovali o nemocné a aby přesně plnili zadané úkoly. Míra jejich pracovitosti, pečlivosti, ochoty, vlídnosti, přizpůsobivosti a tolerance patří k důležitým atributům jejich povah, stejně jako smysl pro čistotu, hbitost a důkladnost v práci.

Chybuje se např. v tom, že zdravotní sestry někdy nerespektují názory a rozhodnutí lékařů, s nimiž spolupracují, že některé lékaře mezi sebou a před nemocnými pomlouvají a že nedodržují tajemství o skutečnostech, které se během své práce dověděly.

Vztah lékařů ke kolegům je často zatížen neochotou k užší spolupráci, přetahováním nemocných, závistí a pomluvami, které ovšem vybočují z norem etických vztahů lékařů mezi sebou. Dostí často je porušován Etický kodex České lékařské komory (ČLK). Někteří lékaři snižují význam práce nebo vzdělání svých kolegů, zamlčují jim některé podstatné údaje o nemocných, zlehčují metody jejich léčení a někdy o druhých lékařích hovoří před nemocnými neuctivě, což vzbuzuje pochybnosti o jejich odborné výkonnosti.

#### 5. Vztah lékařských organizací k lékařům

Z několika hlavních lékařských organizací (ČLK, ČLS JEP, SČL, SZSPZ, LOK) je nejvýznamnější a ze zákona jedinečně povinnou organizací Česká lékařská komora. Měla by plnit úkoly, které pro ní ze zákona vyplývají. Ze dvou hlavních jde zejména o ochranu lékařské cti podle Etického kodexu a pak o garanci lékařské odbornosti a kvality medicínské práce. Bohužel, ačkoliv ČLK oba tyto své hlavní úkoly neustále proklamuje, nedaří se jí prozatím pracovat tak, aby mohla proklamované úkoly také absolutně garantovat. Na jedné straně nedokáže vždy obhájit práva lékařů při jejich napadání a připustí někdy hrubé neetické jednání, které sice procesně stíhá, ale nepotrestá a nevymýtí a na druhé straně, ač vnímá nedokonalost norem pro postgraduální lékařské vzdělávání, strpí, aby se vydání zákonných norem neúnosně zpožďovalo. Proto je ČLK mnoha lékaři vnímána spíše jako partner pro jednání s MZ ČR a se zdravotními pojišťovnami, ale nikoliv jako skutečný ochránce lékařských práv.

Česká lékařská společnost J.E. Purkyně je na rozdíl od ČLK nepovinnou organizací, sdružující přes 25 tisíc členů. Pracuje na základě členění do odborných lékařských společností a Spolků lékařů, které jsou ustavovány na regionálním principu. ČLS JEP je hlavním garantem odbornosti lékařské profese a partnerem odborných mezinárodních lékařských organizací. Plní především odborné a vědecké úkoly.

Ostatní lékařské organizace, jako Svaz českých lékařů, Svaz pracovníků sociální péče a zdravotnictví a Lékařský odborový klub jsou převážně odborové organizace. Všechny se hlásí k ochraně lékařského stavu a slibují pracovat pro usnadňování výkonu lékařského povolání. Protože mají, podobně jako ČLS JEP a na rozdíl od ČLK, nepovinné členství, je spíše na jejich členech, aby hodnotili jejich veřejně prospěšnou práci a míru profesní ochrany lékařů. Jedině členové těchto odborových organizací se mohou kvalifikovaně vyslovit o tom, zda jsou tyto organizace schopny uhájit práva lékařů, poskytnout jim pravdivé informace o stavu zdravotnictví a zajistit jim sociální jistoty. Většina lékařů stojí dnes mimo odborové organizace a vnímá jejich minulou podporu jako nedostatečnou. Mnohé sliby těchto organizací byly dříve spíše proklamativní povahy a někdy byly i těžko splnitelné již při vyslovení.

Vztah lékařských organizací k lékařům je jistě odrazem dnešní doby a způsob, jakým se tyto organizace lékařů zastávají, neodpovídá ještě představám lékařské komunity. Mnoho lékařů svým stavovským organizacím nevěří a své členství v nich, pokud je dobrovolné, udržuje jen ze setrvačnosti a v naději, že někdy přece jen dojde ke slibovanému zlepšení lékařské existence.

Literatura u autora

Scripta medica	70	Supplementum 4	185-187	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Praha 4, Sedlčanská 8/1102

**H. Haškovcová**

## **O lékařské etice, zejména v chirurgii**

Etika je věda o mravnosti a většina lidí asociuje obsah pojmu pravost s dobrem. Potíží tkví v tom, že dobro není objektivní, ale výrazně subjektivní kategorií. Člověk vždy znovu a znovu zvažuje vzniklou zpravidla rozporuplnou situaci a posléze z hlediska mravnosti vybírá praktické řešení, které zpětně hodnotí on nebo jiní lidé, jako dobré nebo zlé.

Některé dilematické situace se v běžném životě objevují opakovaně a neudivuje, že vznikl celospolečenskou dohodou model, yjadřující v obecné rovině to, co je všeobecně pokládáno za mravné a co nikoliv. Souhrn takových uznávaných pravidel, kterými se nakonec lidé řídí, se nazývá morálka. Morálka společnosti však není jednou a pro vždy dána, nýbrž se obsahově proměňuje, a to historicky i aktuálně. Příkladem mohou být i základní mravní kategorie jako je dobro a zlo, pravda a lež, spravedlnost a nespravedlnost a pod.

Jistě jsou odsouzeníhodná rozhodnutí a následné jednání v intencích programového zlého úmyslu, Jistě není vhodné lhát a jistě je žádoucí usilovat o spravedlnost, ale položme si zcela vážně otázku, co tedy v konkrétních podobách znamená, konat dobro, nelhat a nebýt nespravedlivý a odpovědně hledejme odpověď. Není to snadné, neboť proměny obsahů uvedených základních pojmů jsou v historickém kontextu pravidelné a jsou ve vztahu k aktuálně vyznávané hodnotové ... a vzdělanostní úrovni dané společenské formace. Vysokou ... reprezentují konkrétní podmínky, které následně výrazně modifikují rozhodovací procesy jednotlivců. Naznačenou, zajímavou a náročnou problematikou proměn vnitřních obsahů základních mravních kategorií se zabývá tzv. srovnávací etika. Určité obecné pojetí dobra a zla má vliv na konkrétní rozhodovací procesy a opačně, všechna konkrétní rozhodnutí se promítají ve výsledném celospolečenském mravním klimatu.

Lékař je ve zvláštní situaci, neboť se pravidelně rozhoduje nejen v intencích obecné, ale také specializované mravnosti. Lékařská etika je příkladem fungování obecných mravních principů ve speciální disciplíně. Bylo by vítané, kdyby bylo možné od obecně vyznávaných obsahů základních kategorií mravnosti vždy jednoduše odvodit akceptovaná rozhodnutí v klinické praxi. Situace je podstatně složitější a lékař se musí často uchýlit k variantě, která je skutečně nebo částečně v rozporu s obecně uznávaným obsahem určité mravní kategorie.

Příkladem může být náročná, komplikovaná kategorie pravdy na nemocničním lůžku. Lhát se jistě nemá, mluvit pravdu je mravné. V současné době obecně vítězí strategie pravdivého sdělování informací o zdravotním stavu. Pia fraus (milosrdná lež) jako většinová strategie je na ústupu. Návaznosti na akcentaci lidských práv a tedy i právo na sebeurčení, jsou zřejmé. V žádném případě však nelze bez odpovědné úvahy "automaticky" použít jeden nebo druhý model rozhodování a následného chování. V případě zcela konkrétního pacienta je třeba mít na mysli jeho individuálně zabarvený prospěch. Je vhodné a někdy nutné říkat pravdu a nic než pravdu, je žádoucí se někdy

uchýlit ke strategii sdělování polopravdy po kapkách a v odůvodněných případech je dokonce projevem vrcholné mravnosti kultivovaná lež.

Vzhledem k tomu, že obecné i konkrétní pojetí mravnosti jsou v přímoúměrném vztahu, nelze spoléhat pouze na improvizaci. Je třeba dohodnout se na základních pravidlech hry a odůvodněné individuální improvizaci ponechat jen určitý prostor. V medicíně existuje velmi mnoho klasických dilematických situací, jejichž obecně přijímané řešení nutně podléhá korekci obou vyhraněných forem. Každá z extrémních ... tak musí být prakticky účastna koncenzu. Vzhledem k osobnímu přesvědčení to není zdaleka snadné.

Příkladem mohou být interrupce. Z hlediska obecného lze interrupce považovat za nežádoucí jev. Na tom se víceméně shodnou všichni občané. Realita lékařského přístupu k věci je pragmatická. Je dostatečně známo, že každý restriktivní interrupční zákon bývá příčinou mnoha neblahých důsledků: kriminální potraty, potratová turistika a pod. Je mimořádně důležité, aby zákonodárci i veřejnost znali argumenty i protiargumenty a prosadili takovou verzi zákona, která činí interrupci dostupnou a profesionálně bezpečně prováděnou metodou. Současně má být velkoryse vymezen prostor k prevenci. V konkrétní lékařské praxi pak může docházet k "střetu zájmů". To tehdy, když lékař je zastáncem restrikce a žadatelka o interrupci je reprezentantka liberálního přístupu. Lékař má právo odmítnout z morálních důvodů účast na interrupčním výkonu. Častěji právě proto, že ví o neblahých důsledcích extrémních řešení výkon provede, ale v jeho svědomí může rezonovat rozlada. Tento příklad je "klasický" a "jednoduchý". Jednoduchost spočívá v základním a správném pohledu na interrupce jako nežádoucí jev, snadnost řešení nabízí inteligentně pojatý zákon a možnost vyvážit se osobně z úkolu, který odporuje svědomí. Mnohem složitěji se lékař rozhoduje tam, kde chybí legislativa, kde není dosaženo ani odborného ani veřejného konsenzu a kde k dovršení všeho není ani dostatečně zřejmé, co je dobré a co nikoliv. Takových příkladů zná každý lékař ze své praxe mnoho a neudivuje, že touží po zákonné nebo alespoň konsenzuální podpoře či profesionálním projevu souhlasu.

Chirurgické obory nepochybně "oplývají" četnými dilematickými situacemi a nezdá se, že by to bylo takovými, kde každé řešení je sporné. Východisko z nepřehledné situace lze spatřovat v několika rovinách. Především je třeba se seznámit s obecným pohledem na řešený problém, pokud je artikulován. Součástí této obecné polohy je znalost legislativní úpravy dané věci. Následuje znalost problému v rámci oborové etiky a po té je nutné zvážit variantu, která je nejen konkrétní, ale i reálně uskutečnitelná.

Často si lékaři kladou otázku, jak správně přistupovat k nemocnému a jaké psychologicky vhodné techniky volit. Tato otázka je legitimní, ale její řešení předpokládá nejen znalost psychologie a psychologických technik, ale také znalost "věci o kterou běží". Zvládnutá technika vhodného psychologického přístupu je vždy přínosem, ale nemusí sama o sobě znamenat nic méně než vstřícnou slušnost. Aby byl nemocný uspokojen ve svých nárocích na mravní řešení svého problému (pokud tento aspekt v jeho ... existuje), pak je naléhavé soustředit se nejen na psychologickou stránku věci, ale také na onu mravnost. Lékař si může být navrhovaným a zvoleným řešením jist a pak snadno nebo obtížněji získá pacienta pro svůj názor a konkrétní plán. V takových případech je technika psychologického přístupu rozhodující. Tam kde existuje jedno nebo více řešení, nebo tam, kde není zřejmé, které z možných je to dobré a nejlepší je třeba navázat ... spolupráci s nemocným na straně jedné a s členy etické komise na straně druhé.

Pokládám za velmi významné, že se lékaři chirurgických oborů začali zcela vážně zabývat i nechirurgickými aspekty své profese, tedy etikou a psychologii. Přimlouvám se za systematický rozvoj oborové etiky, k němuž nedílně patří nejen obecné úvahy, ale také rozborů zajímavých kazuistik. Etická interpretace konkrétních případů chirurgických nemocných je u nás zatím neobvyklá. Věřím, že v blízké budoucnosti bude tento deficit saturován.



## **Literatura**

1. Haškovcová H.: Lékařská etika. Praha, Galén 1994 (reedice vyjde v r. 1997)
2. Haškovcová H.: Práva pacientů, komentované vydání. Havířov, naklad. A. Krtilové, 1996.

Scripta medica	70	Supplementum 4	188-193	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Klinika dětské onkologie FNM a 2. LF UK v Praze

**Josef Koutecký**

## **ÚVODNÍ ÚVAHA O PSYCHOLOGICKÝCH A MRAVNÍCH PROBLÉMECH SOUČASNÉ CHIRURGIE**

Pochybnost o právu onkologa, navíc onkologa dětského uvést soubor článků o psychologických, morálních, ev. legislativních problémech současné chirurgie, o přístupu chirurga k nemocnému, o stále nesnadnějších otázkách komunikace mezi lékařem a pacientem, ale i mezi lékaři navzájem, se mohou pokusit vyvrátit několika skutečnostmi. Předně jsem byl dlouhá léta aktivním chirurgem příslušné kvalifikace. Druhou okolností je úzká vazba oborů chirurgie a klinické onkologie v lege artis prováděné komplexní péči o onkologicky nemocné. Třetí pak skutečnost, že pediatrický onkolog musí být (nebo by být měl) příkladem „specialisty na lidskou bytost jako celek“ (modifikováno podle Paul de Kruifa). Podstata onemocnění která léčí, odborné, mravní a právní nároky, které musí pro všechny své na životě ohrožené pacienty bez rozdílu dodržet, jsou mimořádné. Po dlouhé zkušenosti ho přivádějí k nutnosti vytvořit si zvláštní, od ostatních oborů lišící se filosofii - života, medicíny, onkologie, završenou osobním kodexem etickým. Usiluji o jeho dosažení 42 let.

Mnohokrát, asi častěji než kdokoliv jiný, jsem se díval do očí trpících a umírajících dětí a dospívajících jedinců. Děti, které si - v úrovni věku uvědomovaly vlastní zlý a někdy beznadějný osud. Mnohokrát jsem odečítal z jejich pohledu úzkost a bolest, i touhu a naději, ale také naléhavou výzvuprosbu o pomoc. A také výraz prchajícího života, to zamlžení pohledu tajemným neznámým nedefinovatelné, majestátní hranice, která dělí život a smrt.

Hranice za kterou nikdy, přes veškerý pokrok a veškeré vědění, nedohlédneme. Co zoufalství jsem četl v očích vyděšených rodičů. Kolik v nich bylo otázek, na které jsem nemohl a ani nedovedl odpovědět. Kolik pochybností jsem v takových situacích prožil, kolikrát jen jsem se za takových okolností cítil bezmocným, jakoby provinilým - ač zcela bez viny!

Následující články se musejí do značné míry překrývat, protože mají jediného společného jmenovatele - nemocného člověka, který se k nám utíká se svými bolestmi, se svým utrpením a strachem. Přístup chirurga k nemocnému je jenom jednou, samozřejmě významnou složkou z mnoha ostatních, které skládají problematiku psychologie a morálky v chirurgických oborech. Obsah tématu je natolik široký a složitý, že ho není možné shrnout v jednom sdělení. Následující odstavce proto přijměte spíše jenom jako heslovitý výčet některých současných a budoucích problémů, v něčem možná provokativní, zaměřený více k uvědomění si situace ve které se medicína, a v jejím rámci i naše oba úzce spolupracující obory, nacházejí.

Vycházím ze skutečnosti, a současné poměry to dokládají, že zdravotnictví je citlivý systém, ve kterém se zřetelně odráží celkový stav společnosti, ne tedy jen její ekonomická, sociální, ale také

mravní úroveň. Všichni by si měli uvědomit, a to nekonstatuji právě rád, že medicína nemůže být lepší než společnost, ve které se nachází.

Je příliš mnoho nových okolností, které vstupují do lékařské praxe, ovlivňují její psychologickou a morální sféru a nastolují naléhavé otázky jaká bude medicína 21. století, resp. co bude společnost budoucího období od medicíny a od lékařů vyžadovat. Nebude toho málo:

Potlačit osobní prestiž. Nikdy ji nelze zaměnit za odmítnutí pro riziko při sebenepatrnější naději pro nemocného.

Úctu k nemocným, která vychází z niterného pochopení, že nemoc je zvláštní situací lidské nouze, která opravňuje zvláštní nároky pacientů. Podmínkami pro jejich splnění jsou: a) vysoká odbornost, b) schopnost řešit nesnadné situace mravních dilemat.

Povinnost zabezpečit co nejlepší bytí nemocného, tj. maximalizovat prospěchy a minimalizovat jeho poškození, vybalancovat zisky a rizika. Každý člověk vtiskuje nemoci své individuální vlastnosti a příznaky. Každý pacient - i s toužou chorobou - stůně jinak, po svém a ode všech ostatních se liší. Proto je nutné každou jedinečnou osobnost chránit proti jakémukoliv schematismu a proti neosobní šablonovitosti a dobročinnosti.

Povinnost zbavit nemocného bolesti - což je ostatně odedávna základním úkolem lékaře a mohlo by se zdát zbytečné, že to zmiňuji. Dojem zbytečnosti mizí při konstatování WHO, že denně trpí na světě 3 miliony lidí krutými bolestmi způsobenými nádory. O bolestech jiného původu nevím. A o bolesti duše se nehovoří už vůbec.

Úsilí odstranit ekonomické limitace, tj. poskytnout nejmodernější diagnostickou i terapeutickou technologii

nesmírně nákladnou - co největšímu počtu nemocných.

Vyřešit otázky neléčitelných pacientů v terminálním stadiu.

Vyrovnat se s problémy superspecializace.

Superspecializace má pro lékařskou praxi negativní důsledky - omezenost v oboru a únik představy o člověku jako celku, odlidštění vztahu k nemocnému (převaha technizace a automatizace medicíny). „Přespecializování vede k úbytku inteligence a mozky široce založené a silné jsou vzácnější než mozky přesně pracující v úzkém oboru“ (Alexis Carrel). Řešení spočívá ve: spojení specializace s všestranností, mezioborové, týmové spolupráci a vytváření mezioborových disciplín (integrace oborů).

V souvislosti s úvahami o tom, jak se mají lékaři chovat, připomínám terminologické a pojmové chyby, které se sice vžily, ale jsou nesprávné a které, ať se to komu líbí nebo ne, mají celospolečensky podstatně širší dopad (na nemocné, jejich rodiny, širší laickou veřejnost, spolupracovníky všech úrovní a studenty).

Etika (morální filosofie) = věda o mravnosti: Je teoretickou disciplínou zabývající se otázkou co je morálně dobré a co zlé, co správné, co špatné. Etiku je vhodné přednášet a studovat z knih. Ovšem v praxi je to morálka (vlastní mravnost) = soubor pravidel a norem života, které usměřňují chování a jednání lidí ve všech oblastech jejich bytí, jejich povinnosti a vztahy jednoho k druhému a ke společnosti. Praktická morálka je jenom jedna - buď dobrá nebo špatná. V rámci klasifikace etiky se zmiňuje stavovská (profesní) etika - užší pojmové vyjádření mravnosti, která je předmětem zájmu speciálních disciplín. Její součástí je lékařská etika - souhrnná problematika etických problémů v lékařství. Zapomínat nesmíme na tzv. nursing ethics - etické problémy ošetrovatelské aktivity. Někdy si vůbec neuvědomujeme, jak velkému tlaku jsou vystaveny sestry, které provádějí kontinuální péči, zejména na pracovištích zatížených nejen fyzickou námahou, ale zejména psychicky, resp. emocionálně (JIP, transplantačních, onkologických a pod.).

Chci zdůraznit osobní přesvědčení, že morálku může mít každý člověk jen jednu, že nelze oddělit morálku profesní (u chirurgů bývá zaměňována s chirurgickou dovedností) od té zbývající. Lidé jsou buď mravní nebo nemravní. Morálně nelze být polovičatý - to samo by totiž už bylo

nemravností. Je to jako s nádory - tzv. semimaligní nádor musíme léčit vždycky jako nádor zhoubný.

Samostatnou kapitolu vytvářejí morální vztahy onkologie a chirurgie. Tu zastávám názor, že v rámci dnes všeobecně přijatého pojetí nádoru jako onemocnění celého organismu (a ne tedy onemocnění orgánu) je operace jen jednou, byť jakkoliv významnou součástí komplexní onkologické péče (zdůrazňuji péče, ne tedy jenom léčby), a že se této strategii, řízené onkologem, musí podřídit, právě tak jako řada ostatních diagnostických i terapeutických oborů, i chirurgie. Musí tu nabýt vrchu problémový přístup proti oborovému, tj. prospěch nemocného proti ješitnosti oboru. Je to otázka úzké, zasvěcené týmové spolupráce, vytváření mezioborových vztahů či dokonce disciplin, jejíž součástí musí být i psychologická starost o pacienta a mravné jednání s ním i s členy jeho rodiny - včetně jednotných, nerozporuplných informací. Ani tady nelze morální odpovědnost diferencovat a tříštit. Současný stav medicíny morální aspekt mnohdy narušuje. Vztah lékaře a pacienta se významně změnil. Dříve to byl vztah jedince k jedinci. Dnes je to vztah několika k jednomu. Je příliš mnoho „stínových lékařů“, těch, kteří pacienta vůbec nevidí, nebo vidí jen málo. Ubývá lékařů, kteří s nemocnými „žijí“, kteří s ním „prožívají“ jeho utrpení. „Nový“ lékař, orientovaný na řízený výzkum na lidech, navíc vyzbrojený novými technologiemi, zaměnil zhusta lékaře, léčícího lidské nemoci. Mimo mnoha dalších důvodů je to jedna z příčin obliby a narůstajícího vlivu tzv. alternativní medicíny (která samozřejmě vůbec žádnou medicinou není) v laických kruzích.

Z odborného, ale stejně významně i z morálního hlediska spočívá hlavní potíže života, a medicíny zvláště v tom, že člověk (lékař) musí neustále volit mezi více možnostmi. A abych toto konstatování poněkud zlehčil, dovoluji mi citovat Rudinův zákon z půvabné krůžky Murphyho zákon od Arthura Blocka: „Dostane-li se člověk do krizové situace, v níž se musí rozhodnout pro jednu z cest, vybere si většinou tu nejhorší“.

Chceme-li vrátit medicíně a lékařskému stavu značně pokleslou prestiž, musíme přes všechna příkoří a nespravedlnosti přijmout, že medicína musí zůstat profesí, ne se stát obchodem. Aby nám naši pacienti a jejich rodiny věřili, musejí si nás vážit - jací jsme, jak se chováme, jak vystupujeme, jak vypadáme a samozřejmě co a jak děláme. Bohužel musím konstatovat, že se mnohde a mnohdy užívají zastaralé metody, že se stává problémem správná indikace, otázka přeléčování a naopak podléčování a že někdy doslova žasnu nad zvolenými postupy a jindy se stydím za to, že patřím ke stavu, jehož někteří příslušníci se chovají nedůstojně. Tady se mi jeví úkol šéfu, odborných společností a zejména České lékařské komory jako naléhavý a nezastupitelný. Při novinářských obviněních a zprávách a jednáních v soudních síních už je na to příliš pozdě, Aristoteles kdysi napsal: „Kdo pokračuje ve vědách, ale upadá v mravnosti, více upadá než pokračuje“. A když si představím, že někdo nepokračuje ani v těch vědách, čímž samozřejmě upadá i v mravnosti, je mi z toho smutno. Proto je nezbytné objektivně, bez povyšování, střízlivě a pravdivě posuzovat možnosti a výsledky - at' jsou jakékoliv. Nejen bezprostřední, ale i pozdní. Žáci (studenti i mladí lékaři) mají čerpat dlouho z vědění učitelů, přebírat nejen jejich vědomosti, ale i zásady lékařského umění a mravů a přístupu k vědecké práci. Těmi učiteli ovšem musejí být uznávané autority. Jestliže člověk není autoritou, nezaslouží si, aby se k němu ostatní chovali, jako kdyby jí byl. Ostatně to platí i pro vztah laiků pacientů k lékařům. Přitom nelze obětovat zásadu, aby byl zachován mír.

Považuji ovšem za stejně nutné nahlédnout současnou a budoucí situaci vztahů lékařů a pacientů i z druhé strany. Neustále hovoříme o etice, správně morálce lékařů - o jejich rozhodování, činech, pochybení. Ale etika (morálka) musí mít vždycky alespoň dva subjekty. A v tomto smyslu by měla být nastolena

i v široké (laické) veřejnosti - otázka morálky pacientů. Je načase zahájit diskusi o etiketě ve zdravotnictví, tedy o souhrnu pravidel uznávané formy společenského chování. Etiketa v lékařství = formy chování mezi lékařem a pacientem, ale také mezi lékaři navzájem. Jsou ritualizované.

Otázky vzájemných vztahů mezi lékaři by měly být významným předmětem naší profesní diskuse. Všichni víme, že nejsou ideální. „Dva monology ještě totiž netvoří dialog“ (De Neversův zákon diskuse). Samozřejmě, že někdy musí rozhodnout lékař sám, častěji se však rozhoduje v týmu - tam vzniká dialog. Bez dialogu to není možné ani v rovině lékař - nemocný. Ovšem jde o to, aby debata byla skutečně dialogem.

Pokud se týká lékařů, musí současný dialog, jak už jsem zmínil, vycházet z problémového pojetí. Jeho předmětem je nemocný, jeho nemoc a nejvhodnější diagnosticko-terapeutický postup, včetně psychologicko-sociálního. Oborový přístup je zavrženíhodný. Nejde vůbec o prioritu toho kterého oboru, z medicíny už musí konečně vymizet onen u slepic známý „peck order“, kdy slepice výše postavená může klovat slepici níže postavenou. Jde opravdu jen a jen o prospěch nemocného a ne o hierarchii oborů. Každý obor musí přispět tím nejvhodnějším a nejdokonalejším, co dokáže. Na pořadu současné a budoucí medicíny (včetně její výuky) je integrace. Někdo ji musí koordinovat. V oblasti nádorových onemocnění to musí být klinický onkolog, protože péče o onkologicky nemocného není péčí lokální, ale celistvou a multidisciplinární.

V tomto okamžiku mohu obrátit úvahu směrem k otázce informovanosti nemocného o podstatě jeho nemoci, o způsobech léčby a o prognóze. To základní, co chci zdůraznit, je skutečnost, že na otázku neexistuje uniformní odpověď - vylučuje ji jedinečnost každého pacienta, ale i jedinečnost každého lékaře. Na jednotnou odpověď, na jakousi šablonu, nemá lékař ani objektivní podklady (my zkušenější jsme mnohokrát prožili opak předvídaných prognóz v obou směrech), ani mravní právo. Ono jde totiž o to, z jakého úhlu se na tzv. pravdu (a ona absolutní pravda v této rovině či sféře skutečně neexistuje) díváme.

Stále důrazněji převládá názor říkat pacientovi holou pravdu (i když mám informace, že ve Spojených Státech amerických, kde se takový přístup prosazoval nejdůrazněji, je od něho ústup), ať jakkoliv tvrdou. Problém ovšem spočívá v tom, že pro každého jedince je hodnocení a sdílení pravdy různorodé. Jde o to, komu pravdu říci (jak dostatečně známe při tom sdělení osobnostní rysy nemocného? kolik jsme jejich poznání věnovali pozornosti, úsilí, času?), jakou formou mu ji říci, kde mu ji říci a za jakých podmínek. Těžce nemocný člověk se v tísní obrací o informaci na více lékařů a je přece jasné, že se tyto informace vědomostmi, zkušenostmi i osobním laděním každého z nás velice liší, uvědomujeme si, do jakých rozporů se dostává mysl nemocného? Velmi pochybuji, že na konci následujících statí najdeme klíč jak postupovat. Není to prostě možné, tím spíše, že jsem zmiňoval integraci a tedy začlenění většího počtu lékařů do procesu tak složitého, jaký představují nádorová onemocnění.

Dovolte mi, abych byl v následujícím odstavci otevřený a upřímný, byť moje upřímnost nebude příjemná. Pravda z pohledu pacienta nespočívá jenom ve sdělení pravdivé diagnózy a v určení prognózy - a bohužel se opakovaně setkávám s informacemi, které mě z odborného i morálního aspektu děsí. Připomínám, že ač jsem dětský onkolog, nemine den, abych nebyl žádán o nejrůznější pomoc pro dospělé onkologicky nemocné. Jednověťá, nesmlouvavá informace chirurga bez jakéhokoliv dalšího vysvětlení, ale i bez konzultace jeho samého s onkologem či jiným odborníkem, je v mém přesvědčení občas nehorázným a zhusta nepravdivým verdiktem, který nemocného těžce poškodí.

Z pohledu pacienta je ovšem stejně významná i pravda o tom, co se s ním děje a dít bude, ale i ta co udělal chirurg při operaci. A ruku na srdce - kolik té pravdy, pokud se něco nezdaří, operující nemocnému nebo jeho rodině sdělí? Každý chirurg, ostatně tak jako každý jiný lékař, takové situace zná. Prosím, aby bylo jasno. Chybovat je lidské a není možné, aby se výkonný chirurg vyhnul chybám. Jsou-li nezaviněné, nejsou-li způsobené hrubou neznalostí, neschopností, lajdáctvím, jsou neodmyslitelnou, nevyhnutelnou a pochopitelnou součástí konání tak složitého, jakým je operace. Ale jsou i takové, které se stát neměly a nesměly. A kde je v té chvíli ona proklamovaná

pravdivost? To jsem chtěl připomenout v zájmu spravedlnosti a mravnosti. A tu mi dovozte použít slov profesora Arnolda Jiráska, který se o podmínkách, které chirurg musí splňovat, rozepsal v jedné z úvodních semestrálních přednášek.

„Chirurg má mít schopné, dovedné ruce. První je čistě fyzická vlastnost, do druhé už značně vyznačuje duševní schopnost. Jeho ruka musí být schopna výcviku.... Hlavním činitelem tu je přísná sebevýchova chirurga k lehké, šetrné činnosti ruky, její odhmotnění a zjemnění bdělou a silnou vůlí.... Chirurga ruka musí být oduševnělá. Není to jen zručnost, ale je to způsob operačního chování a jednání, které mám na mysli. Je to ctění rázu všech tkání, je to ustavičný ohled na operovaného člověka. Ruka musí jednat s každou tkání, jak vyžaduje její osobitost, i chovati se v každé krajině, jak si žádá její ráz.... Oduševnělá ruka je tedy také ukázněná. Nedovoluje si nikde toho, co je spojeno s nebezpečím pro tkáň a případně i pro život operovaného. Postupuje soustavně, opatrně a odpovědně. Jde jen po zralé úvaze, nepředbíhá rozhodnutím a závěrům chirurgovým. . . .

Dál se musí chirurg umět celkově ovládat. Dvojí okolnosti jej často přivádějí z rovnováhy: překvapující nález nebo náhlá příhoda, nepředvídaný obrat v operačním poli, nečekané nehoda a za druhé technicky nesnadná situace, vzdorující jeho určité snaze. První hrozí vyvolat leknutí a zmatenost, druhá zlost. Chirurg, mající se v moci, ani první ani druhou nesmí být vyšinut z rovnováhy....

Jsou ruce, které v ráně působí dobře a takové, které tam dělají zle. Když si připomínám první, vždycky se mi vynoří ruce mého učitele profesora Kafky (parafráze autora), které v pravém slova smyslu běžely lehce ranou, jakoby se jí nedotýkaly, a když myslím na druhé, jde mi na mysl, že jsou lidé, v jejichž rukou květiny brzy vadnou.“

Platí-li Jiráskova slova obecně, platí v mém přesvědčení ještě důrazněji v onkochirurgii. Operace je pro pacienta z největších rizik ve vývoji celého onemocnění. Nádory musí operovat chirurg nejzdatnější, nejzkušenější, odvážný, ale současně uvážlivý, zejména však mravný a znalý obecných principů onkologie. Operace může pacienta zachránit nebo mu významným způsobem prospět, ale stejně tak uškodit. Sám jsem kdysi operoval nádory, které byly v rukou chirurga operujícího přede mnou, inoperabilní. Přesto, byť v pokročilejším stadiu jejich vývoje, jsem je odstranil.

Samostatnou problematikou, která stojí na pomezí vztahů lékař - pacient, je kvalita života - v pojetí pacienta i lékaře často odlišně vnímaná. Definice kvality života v podstatě neexistuje. Kvalita života je pojem velice vágní, jakási nadzemská jednotka vymykající se měření a posouzení, o které mnoho lidí hovoří, ale nikdo neví jak s ní zacházet. Faktory určující kvalitu života jsou naprosto neohraničené, individuální a jen nepřesně definovatelné pro každého jedince v určitém času. Navíc námi lékaři hodnocená kvalita života se naprosto nemusí shodovat s názorem konkrétního hodnoceného jedince, ani s názorem jeho rodiny.

Cílem lékařství je poskytovat pacientům stále lepší péči a zachovat jim co nejlepší kvalitu života. Pak musíme připustit, že šablonovitá medicína není medicínou dobrou, právě tak jako skutečnost, že integrání součástí komplexní péče musí být snaha po psychické normalizaci a sociální reintegraci. A tu se podruhé střetávám s jednou z kardinálních psychologických a morálních otázek onkologie a v jejím rámci také onkochirurgie, s otázkou „pravdy či milosrdné lži“, protože i ona sehrává mimořádně významnou úlohu v kvalitě života at' už nemocného, který je léčen a někdy vyléčen, či pacienta nevléčitelného a umírajícího. Nehodlám ji rozebírat, jen důrazně připomínám, že chceme-li říkat holou pravdu, musíme pro její přijetí veřejnost nejprve vychovat. To se, bohužel, neděje.

Konečně nemohu vynechat zmínku o odborných a morálních principech klinického pokusu, i když, a to musím našim chirurgům vytknout, jsou randomizované pokusy v chirurgické léčbě nádorů využívány jen málo. V mém přesvědčení je klinický pokus eticky únosný tehdy, vznikne-li nejistota, která ze dvou dvou možností je lepší. Je-li jedna zřetelně lepší, stává se pokus neetickým.

Pokrok klinické onkologie - a není malý, zvláště právě v onkologii dětské, je závislý výhradně na klinickém pokusu. Mezinárodní randomizované studie, nikterak ve stanovených podmínkách snadné, splňují to, co jsem uvedl už dříve maximalizují efekt a minimalizují rizika a poškození. Je zřejmé, že „pokrok ve vědě (ale i v klinické medicíně) lze měřit počtem přibývajících výjimek z doposud platných zákonů (či postupů)“. Všechny ovšem musejí být odborně podložené a mravně opodstatněné. Protože stále platí Duhamelovo: „Nenosí-li člověk civilizaci ve svém srdci, pak není nikde“.

Literaura u autora

Scripta medica	70	Supplementum 4	194-196	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Chirurgická klinika VLA v ÚVN Praha 6 - Střešovice, přednosta prof. MUDr. M. Hájek, DrSc.

## I. Malý

### Informovaný souhlas s plánovanou operací

#### Informed consent with planned surgery

#### **Souhrn**

Sdělení pojednává o významu tzv. informovaného souhlasu nemocného před plánovanou operací a o praktickém dopadu tohoto aktu

#### **Summary**

The article deals with importance of giving the patient's informed consent before planned surgery and practical implications of this act.

**Klíčová slova:** Informovaný souhlas nemocného, poučení nemocného

**Key words:** Informing the patient, Informed consent

V současné době je u nás stále ještě hojně používaná praxe podepisování tzv. reverzu nemocným před plánovanou operací. Tento krátký text, navíc předkládaný nemocnému středně zdravotnickým personálem, neodpovídá již současnému chápání práv nemocného a ostatně ani lékaře.

V minulosti lékaři většinou odmítali plně informovat pacienty o léčbě, jistě v dobrém úmyslu, a patrně proto, aby se nemuseli před nemocným zmiňovat o riziku operační léčby. Sdělovali pacientům jen to, co pro ně považovali za nejlepší a nemocní to většinou akceptovali.

Od r. 1972, kdy Asociace amerických nemocnic uveřejnila - Listinu práv nemocničních pacientů - je např. ve Spojených Státech informovaný souhlas (informed consent) významným dokumentem, potvrzujícím rozsah poskytované péče.

Coleman v r. 1974 napsal, že informovaný souhlas je "zákonem", který ochraňuje lékaře od právních zástupců nemocných. (2) Nezmínil se však vůbec o tom, že má ochraňovat obě strany. Ještě větší nepochopení a špatnou interpretaci uváděl v téže době Kaplan se svými kolegy, když popisovali dva nemocné s neprokázaným onemocněním srdce, kteří prodělali 12 hodin po informovaném souhlasu infarkt myokardu a paroxysmální srdeční arytmií. Uváděli, že idea kompletní informovanosti pacientů nemá medicínské oprávnění. (3) Brody k tomu podotkl, že stejný efekt by bylo možné připsat vypití sklenice mléka 12 hodin před infarktem myokardu a okolnost, že byl článek ještě v této době otištěn, ukazovala na míru nepochopení informovaného souhlasu. (1)

K tomu, jak by měl informovaný souhlas vypadat se vyjadřovali i další autoři. Laforet jej považoval za "noční můru" lékařů a zamýšlel se nad jeho účelností. Uvádí však v závěru velmi detailní návrh informovaného souhlasu s operačním řešením nemoci. Souběžně doporučuje více kontrolovat morální kvalitu lékaře, než-li vyžadovat fiktivní informovaný souhlas s léčbou. (4)



Vzdor všem minulým a částečně i současným pochybnostem, je dnes zdravotníky přikládána informovanému souhlasu velká vážnost.

Uveďme, jak by měl takový dokument všeobecného a úplného souhlasu mezi nemocným a lékařem v ideálních podmínkách vypadat. (1)

1. Nemocnému musí být poskytnuta kompletní informace o všech faktech, která mají vztah k jeho případu.
2. Nemocný musí použít tyto údaje při vlastním výběru a logickém zdůvodnění svého rozhodnutí.
3. Nemocný musí být emočně vyrovnaný bez jakýchkoliv psychických tlaků, které by mohly ovlivnit jeho rozhodnutí.
4. Lékař musí být naprosto neutrální a nesmí směřovat nemocného k žádné alternativě.
5. Po provedené léčbě musí být nemocný schopen zpětného pohledu na své rozhodnutí a retrospektivně souhlasit s tím, že vše, co bylo provedeno, bylo pro něho to nejlepší.

Tento soubor pravidel pro získání informovaného souhlasu nemocného s léčbou je ideálním a maximalistickým požadavkem. Ke každému bodu lze vznést připomínku.

1. Nelze předpokládat, že má každý nemocný znalosti, odpovídající studiu medicíny a zároveň nelze tvrdit, že medicína se vždy zabývá zcela evidentními jevy.
2. Lékaři se obávají, že při poznání všech rizik výkonu může nemocný odmítat i velmi jednoduché operační výkony.
3. Určitý počet literárních sdělení uvádí, že někteří nemocní projevují svoji vůli nezávisle na předkládaných faktech.

Robinson např. zjistil, že někteří nemocní nejsou schopni si uvědomit, co řekli v určité době po rozhovoru s lékařem, který je informoval o jejich chorobě a někteří i takový rozhovor odmítli. (6)

4. Nemocný, který léčení nutně potřebuje, může být těžko v ideálním emočním stavu a provádět neovlivitelný výběr z různých léčebných možností.
5. Ať se lékař sebevíc snaží, nemůže být striktně neutrálním. Vždy si bude myslet, že má jedna alternativa léčby přednost a bude chtít tuto skutečnost nemocnému sdělit, často k tomu bude i aktivně vybízen. I při snaze o neovlivňování nemocného to může udělat změnou hlasu či frazeologií.

I přes všechny tyto a ještě i další námitky je nanejvýše nutné se co nejvíce přiblížit k maximálnímu pochopení nemocným a k docílení souhlasu mezi lékařem a jeho pacientem.

Informovaný souhlas, neboli oboustrannou dohodu, lze na základě hlubšího poznání souvislostí léčby charakterizovat jako skloubení svobodné vůle nemocného s opačnou non-maleficiencí, či spíše beneficiencí ze strany lékaře. (5)

Předně je třeba, aby si lékař zjistil a sám dobře vnímal všechny dosažitelné informace o svém pacientovi a o jeho chorobě a aby při svém rozhodování vycházel z celkového kontextu určitého případu. Do těchto obecnějších souvislostí choroby určitého jedince zapadá pochopitelně i zjištění charakteru a vyzrálosti jeho kompetence v rozhodování i jeho představy do budoucna. Je třeba zdůraznit, že kompetence v rozhodování není pro všechny dimenze jednání stejnorodá a že i ten, kdo není v jiných oblastech schopen se rozhodovat, může rozhodovat o výkonech na sobě samém. Nikdo není zcela bez této schopnosti. Proti tomu může pacient na lékaři požadovat, aby mu byly sděleny veškeré relevantní údaje a informace o dané chorobě, včetně budoucího vývoje této choroby bez eventuálních zásahů a konsekvencí oněh zásahů. teprve na základě všech těchto poznatků se může nemocný efektivně rozhodovat.

Bez získání informovaného souhlasu by se dnes již neměl žádný výkon s nemocným ani zahajovat. Přitom se ovšem dá jít při informovaném souhlasu do různé hloubky - a je třeba poznat, kdy skončit s rozpravou. Takový postup je dilematickou situací, která vybízí k etickému rozhodování, pochopitelně se šancí kdykoliv v rozpravě opět pokračovat.

Je zřejmé, že v poznání práva pacientů svobodně rozhodnout o rozsahu své léčby, dospěli lékaři v některých státech k dalšímu stupni poznání na základě svých praktických zkušeností. Je tak možno charakterizovat hlavní body, které mají být při utváření informovaného souhlasu použity.(1)

1. Základním účelem informovaného souhlasu je chránit pacientovu autonomii a ne mu umožnit výběr z toho, co pro něho lékař považuje za nejlepší.

2. Informovaný souhlas by neměl být považován za nezbytný ve vztahu lékař - nemocný. Pacient si může vybrat možnost nebýt informován o některých nálezech během léčby a může si vybrat i možnost, aby bylo rozhodnuto místo něho.

3. Lékařovou povinností je odhalit nemocnému všechny informace, které bude potřebovat k rozumnému výběru. Toto bude odvislé od vlastní volby pacienta. Všeobecně to bude zhrnovat úvahu o riziku předpokládané léčby a o riziku a zisku každé alternativní terapie.

4. Jednou uzavřený informovaný souhlas, může být eventuálně zase zrušen.

5. Emoční stres, nebo duševní choroby nemusí vylučovat možnost informovaného souhlasu.

Tyto zásady jsou již logickým vyústěním zkušeností s aplikací všeobecného souhlasu mezi pacientem a lékařem. Zároveň je nutné zdůraznit, že vůli nemocného nemůže nahradit ani vyjádření jeho právního zástupce ani příbuzných nebo citově na něho vázaných lidí.

Může to být přínosné pouze při konečném rozhodnutí. Toto se však nevztahuje na bezodkladnou léčebnou péči a ani na péči o děti.

Návrh textu informovaného souhlasu s léčbou na chirurgickém oddělení.

1. Z vlastní vůle jsem byl podrobně informován o výsledcích vyšetření mého onemocnění.

2. Byl jsem seznámen se všemi způsoby možné léčby mého onemocnění a o jejich rizicích.

3. Uvědomuji si, že určitá rizika existují při každé léčbě a že je nelze vždy a přesně určit.

4. Po rozmluvě s lékařem a po vlastní rozvaze souhlasím se zvoleným způsobem operace a anestezie.

5. Pokud změním své stanovisko k předpokládané léčbě, sdělím včas tuto skutečnost lékař.

Datum

Pacient

Svěděk

a čas

(zákonný zástupce)

Zcela jiná situace vznikne tehdy, odmítne-li se nemocný aktivně účastnit na rozhodování o způsobu své léčby.

Pak je postačující tento text:

Prohlašuji, že ponechávám z vlastní vůle veškerá rozhodnutí o způsobu své léčby na lékařích oddělení, na němž jsem léčen.

## Literatura

1. Brody, H.: Ethical Decisions in medicine Second Edition, Boston 1981.

2. Coleman, L., L.: Terrified Consent. Physician's World, 2, May, 1974, 5-7

3. Kaplan, S.,R., Greenwald, R., A., Rogers, A., I.: Neglected Aspects of informed Consent. New England J.M., 296, 1977, 1127-1129

4. Laforet, E., G.: The Fiction of informed Consent Jama, Apr., 15, 235, 1976, 1579-1585.

5. Payne, J.: Klinická etika nonogr. Triton, Skalpel, 1992, Praha

6. Robinson, G., Meray, A.: Informed Consent: Recall by Patients tested postoperatively Thor. Surg., 22, 1976, 209-212.

Scripta medica	70	Supplementum 4	197-199	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Katedra epidemiologie, VLA JEP, Hradec Králové, Česká republika

**Prymula, R., Beran, J., Šplího, M.**

## **Virová hepatitida B - vybrané aspekty vakcinace**

### **Viral hepatitis B - selected aspects of vaccination**

#### **Souhrn**

Virová hepatitida B je jednou z nejdůležitějších onemocnění, kterých se můžeme vyvarovat prevencí. Různé preventivní strategie jsou diskutovány s ohledem na současné praktické a teoretické problémy imunizace. Zdůrazněna je jak pasivní tak zejména aktivní imunizace. Nové trendy ve vakcinologii jsou v polyvalentních vakcínách (kombinace Di, Te, Pe, HiB, iPV, VHA s VHB).

#### **Summary**

Viral hepatitis B is one of the most important preventable diseases. Various preventive strategies are discussed with regard to current practical and theoretical issues of immunisation. Both passive and active immunoprophylaxis are stressed. New trends in vaccinology are in polyvalent vaccines (combinations of Di, Te, Pe, HiB, iPV, hepatitis A with B).

#### **Úvod**

Virová hepatitida B zůstává nadále významným zdravotnickým, ale i ekonomickým problémem. WHO udává alarmující počty jedinců (300-350 milionů), kteří jsou nosiči viru. Nepoměrně více je případů vlastního akutního onemocnění. Protože je VHB považována za onemocnění s možnou budoucí celosvětovou eradikací, diskutuje se možná otázka zavedení plošného očkování, ať již kojenců či adolescentů, do rutinního očkovacího kalendáře ve všech zemích světa. Tomu doposud brání ekonomické možnosti řady zemí.

Jaké jsou však teoreticko-praktické aspekty profylaxe proti VHB? U VHB se již řadu let používá i pasivní profylaxe specifickým hyperimunním globulinem (HBIG). U nás se dlouho používal osvědčený preparát HEPAGA B. V důsledku ukončení jeho výroby jsme však nuceni hledat možnosti používání jiných zahraničních přípravků. Doporučován je zejména AUNATIV (Kabi-Pharmacia) a HEPATECT (Biotest-Pharma). V současnosti a v blízké budoucnosti bude zřejmě nejdostupnější právě AUNATIV, ale i HYPERHEP. Značným úskalím však je vysoká cena, ale i ne vždy jasné otázky přesné indikace podání.

Aktivní imunizace skýtá podstatně lepší možnosti zejména z hlediska ochranné doby. V současnosti se používají na kvasinkách derivované rekombinantní DNA vakcíny obsahující purifikovaný povrchový antigen (oblast S). Po aplikaci klasického schématu 0, 1, 6 měsíců dochází k žádoucí serokonverzi u více než 97 % responderů bez rozdílu věku. U novorozenců a kojenců se tato hodnota blíží 100 %. Podle výše hladiny protilátek po ukončení schématu odlišujeme (tabulka 1):

**Tab. 1****Kategorizace odpovědi podle výše vytvořených protilátek**

<b>non-responder</b>	<b>&lt;10 mIU/ml</b>
<b>partial responder</b>	<b>10-100 mIU/ml</b>
<b>high responder</b>	<b>&gt;100 mIU/ml</b>

V případě nedostatečné odpovědi opakujeme podávání dávek v celkovém počtu do 3. Možností je opakování kompletního schématu 0, 1, 6 měsíců, i když nejvíce je současně ve světě preferován systém podávání jednotlivých dávek s odstupem 3 měsíců a kontrolou odpovědi. Maximální počet dávek takto podaných je tři. Pokud však dojde k nárůstu hladiny protilátek na požadovanou hladinu již po první z nich, dále se nepokračuje. Úspěšnost takového postupu je přibližně padesátiprocentní.

**Tab. 2****Přehled používaných preparátů**

Engerix-B (10 ug, 20 ug, 40 ug)
Gen HB-Vax, HB-Vax II
Recombivax
Heberbiovac
Heptavax
Bimmugen

Tabulka 2 zobrazuje základní přehled používaných preparátů. Kromě těchto celosvětově nejčastěji používaných preparátů se začínají objevovat první zmínky o vakcínách tzv. III. generace, které zahrnují kromě oblasti S i preS1, preS2. Zástupcem je Bio-hep-B/Sci-B-Vac, kde výrobce uvádí rovnost mezi 2,5 ug Bio a 10 ug Engerix B. Rovněž udává i 95 % serokonverzi u nonrespondérů na klasické vakcíny II. generace. Doposud však nebyly provedeny dostatečně velké srovnávací studie, které by tyto údaje plně verifikovaly.

Diskutována je rovněž otázka screeningu. Prevakcinační screening nepřináší v zemích s nízkou endemicitou kýžený cost/benefit, a proto se neprovádí. K těmto zemím se může směle řadit i Česká republika. Post vakcinační screening však již nepochybně svůj význam má. Je indikátorem, zda-li očkování přineslo očekávaný efekt. Provádí se však téměř výhradně pouze u pracovníků v riziku (hlavně zdravotníků) 1-3 měsíce po dokončení základního schématu.

Velice aktuální je rovněž otázka vytvořené postvakcinační imunity. Ví se, že po 4 letech v případě neodůvodněného podávání půlené dávky tak, jak se u nás toto opatření donedávna aplikovalo, dojde v řadě případů k poklesu protilátek pod detekovatelné hladiny. Dnes se však předpokládá, pokud vakcinujeme klasickou dávkou 20 ug pro dospělé a po třetí dávce dojde k dostatečné odpovědi, že ochrana očkováného bude podstatně delší dobu než 5 let, původně inzerovaných pro revakcinaci. Klíčovým faktorem je imunitní paměť navzdory ztrátě detekovatelných anti-HBs, jejíž působení je odhadováno na dobu minimálně 10 let. Tato imunitní paměť chrání proti klinickému onemocnění a nosičství. V několika případech však byly prokázány

protilátky anti-HBc svědčící o proběhlém onemocnění. Proto je zřejmě zatím nezbytné používat booster dávku po 5 letech u osob, které jsou vystaveny zvláště vysokému riziku nákazy.

Budoucí trendy ve vakcinaci nejen proti VHB, ale obecně jsou jednoznačně v přípravě polyvalentních kombinovaných vakcín. To, že tato cesta je správná ukazují například již připravené kombinace VHA a VHB pod komerčním názvem TWINRIX firmy SmithKline Beecham nebo DTPw-VHB (celobuněčná vakcína proti diftérii, tetanu a pertusi kombinovaná s virovou hepatitidou B) či DTPa-VHB (a-aceulární). TWINRIX je vakcína, která vykazuje minimálně shodnou (ale spíše vyšší) odpověď jako při podání obou složek odděleně. K serokonverzi dochází až v 99 % případů. Místní ani celkové reakce se neodlišují od srovnatelných vakcín, případně od jednotlivých složek podaných odděleně. Místně dominuje bolest po vpichu - 42%, v 7% zarudnutí, v 6% otok. Z celkových reakcí v 11 % bolest hlavy, v 10 % únava. Dávkování je přizpůsobeno dávkování Engerixu-B tedy klasické 0, 1, 6 měsíců, a protože tomuto schématu vyhovuje Havrix 720 E.U., je použit na úkor Havrixu 1440 E.U.

Připravovány jsou rovněž koktejlové vakcíny sestávající z řady dalších složek. Kromě již zmiňovaných se jedná o HiB (haemophilus influenzae B) a iPV (parenterálně aplikované polio). Tak jsou syntetizovány různé sexta- a heptavakcíny.

## **Literatura**

André, F.: HAV: current status and future use, IX. Triennial international symposium on viral hepatitis and liver disease, Roma, Italy, 21.-25.4.1996.

Davies, H.: DNA-based vaccines for viral hepatitis, IX. Triennial international symposium on viral hepatitis and liver disease, Roma, Italy, 21.-25.4.1996.

Ding-Shinn Chen: HBV vaccine: status report, IX. Triennial international symposium on viral hepatitis and liver disease, Roma, Italy, 21.-25.4.1996.

Purcell, R.H. : Hepatitis vaccines: overview, IX. Triennial international symposium on viral hepatitis and liver disease, Roma, Italy, 21.-25.4.1996.

Viral hepatitis prevention board: Viral hepatitis, 4, 1993, s.1-11.

Scripta medica	70	Supplementum 4	200-203	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Katedra epidemiologie, VLA JEP, Hradec Králové, Česká republika

**Prymula, R., Beran, J., Špliňo, M.**

## **Virová hepatitida G (VHG)**

### **Viral hepatitis G**

#### **Souhrn**

Virus hepatitidy G (HGV/GBV-C) je současně charakterizovaný Flavivirus, který může způsobovat akutní a chronickou hepatitidu. Ačkoliv běžnější než infekce virem hepatitidy C, infekce virem hepatitidy G bývá „klinicky němá“ a téměř vždy chronická. Přejít do jaterní cirhózy je však pravděpodobně velmi nízký. Virus se zdá být vnímavý vůči interferonu, pokud je pacient léčen, všechny případy však po ukončení terapie relabují.

#### **Summary**

The hepatitis G virus (HGV/GBV-C) is a recently characterized Flavivirus that may cause acute and chronic hepatitis. Although more common than hepatitis C virus infection, hepatitis G virus infection is usually „clinically silent“ and nearly always chronic. However, progression to cirrhosis is probably very low. The virus appears to be sensitive to interferon whilst the patient is on treatment, but all cases relapsed on cessation of therapy.

VHG je hepatitida s parenterálním mechanismem přenosu, jejíž existence byla poprvé naznačena již před 30 lety. Dr. Deinhardt ji popsal jako post-transfúzní hepatitidu s označením GB. GB byl 34-letý chirurg, který onemocněl hepatitidou. Viry z jeho séra byly schopné nakazit opice a GB agens bylo takto po léta pasážováno. Potvrdilo se, že se nejedná o žádný z doposud známých hepatálních virů A-E. Analýzy ukázaly, že toto agens obsahuje dvě flavivirové sekvence příbuzné, ale odlišné od VHC. Následně, v letech 1995-1996, byly identifikováni tři původci GBV-A, GBV-B a GBV-C. GBV-A a GBV-B jsou pravděpodobně viry tamarinů. GBV-C může infikovat člověka. Při srovnání genomických sekvencí se ukázalo, že GBV-C je pravděpodobně totožný s virem hepatitidy G (HGV).

#### **Původce**

Původce VHG můžeme zařadit do skupiny flavivirus-like. Doposud byla provedena parciální sekvenace. Genom, který obsahuje 9392 nukleotidů, kóduje polyprotein sestávající z 2873 aminokyselin (Schéma 1).

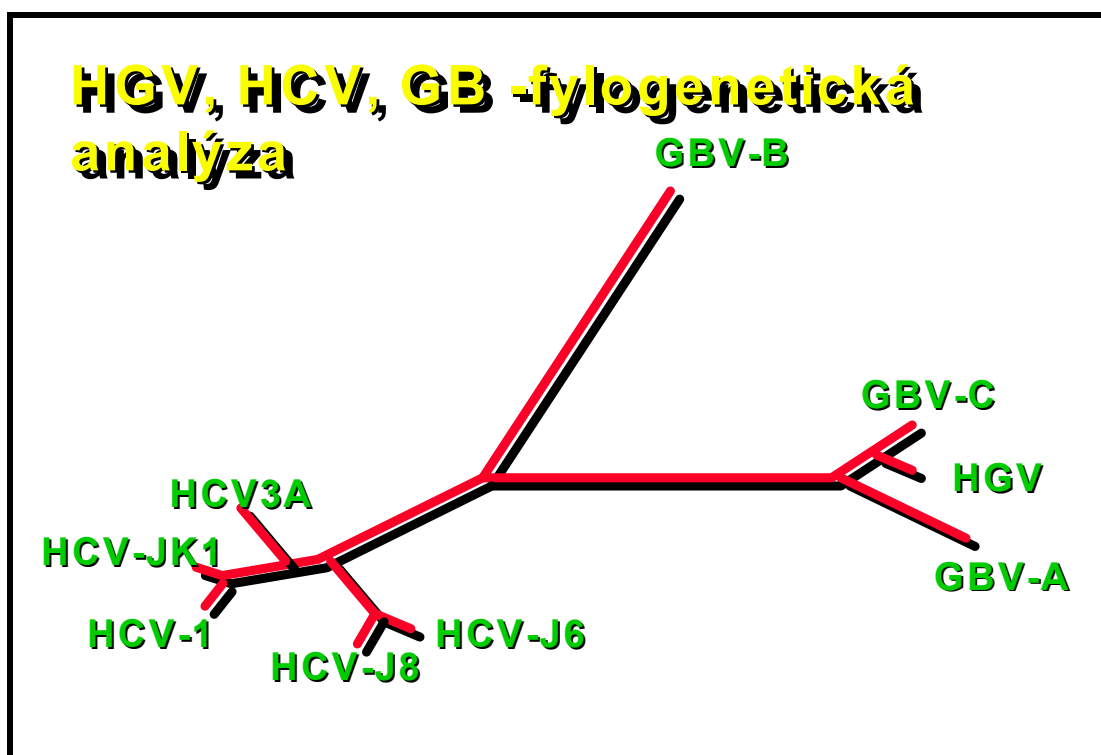
Schéma 1

## Struktura HGV



Příbuznost s virem hepatitidy C je možno vyjádřit 26% homologií aminokyselin. Fylogenetický strom je patrný z následujícího schématu. Čím kratší je vzdálenost mezi jednotlivými viry, tím je větší jejich příbuznost a naopak.

Schéma 2



Inkubační doba - je pravděpodobně srovnatelná s ostatními typy parenterálně přenášených hepatitid, i když validní údaje doposud nejsou k dispozici.

Zdrojem je člověk, může jím být ale i tamarin, cynomolgus, makak nebo šimpanz.

Cesta přenosu - typicky parenterální s dominujícím transfúzním mechanismem. Virémie může perzistovat měsíce až roky. Vzhledem k naprosto identickým mechanismům přenosu, je však možno identifikovat rizikové skupiny shodně jako u ostatních parenterálně přenášených hepatitid.

### Epidemiologické charakteristiky

Pravděpodobný je celosvětový výskyt. Světové údaje o seroprevalenci mezi dárci se pohybují mezi 1.5-1.7 %.

Poměrně častý je výskyt duální infekce s VHG u chronické VHB či VHC. Údaje podle různých studií kolísají mezi 6 a 10 %, jsou však zmínky i o až 23 % duálních nákaz. Podstatně vyšší je výskyt duálních infekcí VHB či VHC s VHG u i.v. narkomanů, homosexuálů - 50-67 %, u opakovaných příjemců krevních transfúzí - 21 %. ALT je u duálních infekcí podle očekávání vyšší než v případě infekce jediným virem.

Pokud budeme analyzovat skupinu klasických virových hepatitid a vyloučíme známe původce, pouze 7 % non-A-E hepatitid je způsobeno virem hepatitidy G. To znamená, že na cestě hledání dalších hepatotropních agens ještě zdaleka nejsme u konce.

### **Diagnostika - klinická**

Klinický obraz je obdobný jako u VHC. Průběh onemocnění je však ještě mírnější. Zatímco u VHC se anikterický průběh objevuje přibližně v 70 %, u VHG je pravidlem. Byla již popsána rychlá i pomalá úzdrava, perzistence i chronicita. Perzistence HGV RNA byla sledována minimálně 1 rok. Leckdy bývá jedinou známkou hepatitidy elevace ALT, častěji však chybí i ta (HGV byl detekován u 14 % recipientů s elevací ALT bez jiných známek hepatitidy). Doposud není zcela znám vztah normálních jaterních testů k nosičství či klidovému stádiu choroby. Rovněž nejasná je role původce v případě fulminantní hepatitidy a PHC. Pravděpodobnost progresu v cirhózu je zřejmě velmi nízká.

### **Diagnostika - laboratorní**

Doposud existuje jediná cesta specifického testu, kterou je amplifikace jednotlivých prumerů nezávislá na sekvenci (vysoce senzitivní PCR). I v naší republice je již komerčně využitelná. Cena kolem 1000 Kč zatím limituje masovější použití. Značně se liší údaje v jednotlivých studiích o elevaci ALT u HGV pozitivních jedinců. Zatímco někde jsou uváděna elevace ALT pouze u 59 %, což by znamenalo, že téměř polovina má normální jaterní testy!!!, jiné studie hovoří o normálních hladinách pouze u 25 % pozitivních. Obecně se dá říci, že hodnoty ALT jsou přibližně poloviční než u HCV. Pozitivita HGV RNA u dárců je udávána velmi variabilně 1.5-1.7 % (1-4 %).

### **Terapie**

V případě duálních infekcí již byl opakovaně testován alfa-interferon. Po dramatickém poklesu či vymizení HGV RNA v průběhu terapie však došlo k návratu na výchozí hodnoty po jejím ukončení. Pokles či vymizení HGV RNA bývá v asociaci s ALT.

Protiepidemická opatření jsou shodná jako u ostatních hepatitid s parenterálním mechanismem přenosu.

### **Závěry**

VHG je zcela novou jednotkou, kde řada skutečností ještě nebyla spolehlivě prokázána. Doposud byl potvrzen přenos HGV transfúzí, klinicky mírný průběh s možností perzistence a chronicity, perzistující koinfekce s HBV a HCV, sporný vztah klinického obrazu a ALT. Skutečností, která alarmuje, je vyšší prevalence VHG u dárců než u VHC. Tento fakt je však nutné dále analyzovat zejména vzhledem k dosud ne zcela zmapovanému riziku akutního i chronického onemocnění, ale i jeho závažnosti.

### **Literatura**

1. Aikawa, T., Sugai, Y., and Okamoto, H.: Hepatitis G infection in drug abusers with chronic hepatitis C (letter). New England Journal of Medicine. 1996, 334, s. 195-196.



2. Alter, H. J.: The cloning and clinical implications of HGV and HGBV-C. *New England Journal of Medicine*. 1996, 334, s. 1536-1537.
3. De Lamballerie, X., Charrel, R. N., and Bussol, B. : Hepatitis GB virus C in patients on hemodialysis. *New England Journal of Medicine*. 1996, 334, s. 1549.
4. DiBisceglie, A. M.: Hepatitis G virus infection: a work in progress. *Annals of Internal Medicine*. 1996, 125, s. 772-773.
5. Linnen, J., Wages, J., Jr., Zhang-Keck, Z.-Y., Fry, K. E., Krawczynski, K. Z., Alter, H., Koonin, E., Gallagher, M., Alter, M., Hadziyannis, S., Karayiannis, P., Fung, K., Nakatsuji, Y., Shih, W.-K., Young, L., Piatak, M., Jr., Hoover, C., Fernandez, J., Chen, S., Zou, J.-C., Morris, T., Hyams, K. C., Ismay, S., Lifson, J. D., Hess, G., Fong, S. K. H., Thomas, H., Bradley, D., Margolis, H., and Kim, J. P.: Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. *Science*. 1996, 271, s. 505-508.
6. Masuko, K., Mitsui, T., Iwano, K., Yamazaki, C., Okuda, K., Meguro, T., Murayama, N., Inoue, T., Tsuda, F., Okamoto, H., Mitakawa, Y., and Mayumi, M. : Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. *New England Journal of Medicine*. 1996, 334, s. 1485-1490.
7. Simons, J. N., Leary, T. P., Dawson, G. J., Pilot-Matias, T. J., Muerhoff, A. S., Schlauder, G. G., Desai, S. M., and Mushahwar, I. K.: Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nature Medicine*. 1995, 1, s. 564-569.
8. Simons, J. N., Pilot-Matias, T. J., Leary, T. P., Dawson, G. J., Desai, S. M., Schlauder, G. G., Muerhoff, A. S., Erker, J. C., Buijk, S. L., Chalmers, M. L., Van Sant, C. L., and Mushahwar, I. K.: Identification of two flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* 1995, 92, s. 3401-3405.
9. Tanaka, E., Alter, H. J., Nakatsuji, Y., Shih, W.-K., Kim, J. P., Matsumoto, A., Kobayashi, M., and Kiyosawa, K. Effect of hepatitis G virus infection on chronic hepatitis C. *Annals of Internal Medicine*. 1996, 125, s. 740-743.
10. Yoshida, M., Okamoto, H., and Mishiro, S.: Detection of the GBV-C hepatitis virus genome in serum from patients with fulminant hepatitis of unknown aetiology. *Lancet*, 1995, 346, s. 1131-1132.

Scripta medica	70	Supplementum 4	204-206	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Praktická lékařka Brno

**Heclová S., Sponar Jar.**

## **Considerations on Opportune Treatment of AIDS**

### **Úvahy o včasné léčbě AIDS**

#### **Souhrn**

Rozšíření prevence AIDS, odzkoušení mikroskopické magnetické rezonance, výměny a ovlivnění mimotělního i lymfatického oběhu, perfuze orgánů vhodnými roztoky.

#### **Summary**

At present AIDS is taken for a multi-factor system disease. As in other hardly curable diseases (tumors etc.) combined physical and chemotherapeutic treatment can be used. Usually, the organism reacts on an entering infection by increasing the body temperature. The question is whether prevention can be extended, apart from using a condom and opportune diagnoses, also to observing the body temperature (past history) or to applying the PMPA medicine developed in CR recently. Up to now, in opportune diagnoses of AIDS, no objectivization of the state has been carried out using the nuclear magnetic resonance. Out of physical interventions, the HIV virus is not affected by UV and, as of today, there is little information on the treatment by IR, heat, laser, magnetotherapy, ultrasound, X-rays, radioactivity bring along risks. Latest technology enables micro-wave, radiation for thermotherapy used also in oncological and urological practice. On manifestations of an acute HIV infection, thermotherapy enables a treatment with little risk. A reliable diagnosis of HIV could enable a non-specific impulse therapy which causes increased body temperature or even rigor as a protective reaction.

Considerations on more progressive stages of HIV require further basic research to be carried out also with perfusion of organs allowing more dangerous interventions with modifications of pH, redox potential, destructive ultrasound, X-rays, radioactive radiation, circulating volume exchange (Fluosol, dextran etc.).

Even though the considerations are based only on a part of accessible information and lack practical verification, they can provide a wider scope of suggestions for improving opportune treatment of AIDS.

Klíčová slova: HIV, magn. reson., termoterapie, výměna krve, lymfy, perfuze orgánů.

#### **Úvod**

Při AIDS se uplatňují: malá infekční dávka 10 až 100 virionů, ochranné faktory hostitele, místo úchyty infekce v organismu, varianty přestavby obalů viru HIV, další vlivy vnitřního i vnějšího prostředí a faktory ne ještě určené.

Obdobně jako u jiných obtížně léčitelných chorob (rakovina aj.), spojení fyzikální a chemoterapeutické léčby má větší pravděpodobnost postihnout proměnlivost podmínek, za kterých relativně variabilní virus HIV působí. Okamžité nasazení AZT již v počátečním stadiu v té době ještě obtížně diagnostikovatelné infekce, je pro svou vedlejší zátěž organismu rozporné.

Za 1 až 6 týdnů i později po expozici virem HIV se asi u 50 % infikovaných projeví akutní HIV infekce příznaky začínající chřipky tj. zvýšenou teplotou až horečkou aj., někdy připomínajícími akutní mononukleózu; většinou odezní bez komplikací. Je otázkou zda lze rozšířit oblast prevence kromě užívání kondomu a včasné diagnostiky HIV, také na dlouhodobé sledování výskytu zvýšené teploty s ohledem na kontakt a typ infekce v anamnéze. Napříště je vhodné rozšířit prevenci také o aplikaci velmi málo toxického přípravku /R/-PMPA vyvinutého Akademií věd ČR Praha a podávaného před nebo do 24 hodin po expozici virem HIV.

Z fyzikálních zásahů - ultrafialové, popř. ionizační záření viru HIV vadí málo, o výsledcích s infračerveným zářením (diatermie, solux), stejně jako přímé aplikaci tepla (potní kůry vlhké, suché, vyhřívací bedny), sauně, dále o použití laseru, magnetoterapie, destruktivního ultrazvuku máme t.č. poměrně málo informací; rtg, radioaktivita přináší rizika. Novější technika nám nabízí mikrovlnou termoterapii pracující při zdokonalené kontrole teploty. Zařízení jsou již několik let vyráběna, zkoušena a dodávána k terapii adenomu prostaty a řady tumorů. Při podezření na expozici virem HIV, umožňuje tato terapie nepříliš riskantní ošetření potenciálního pacienta. Mělo by spočívat v: podrobné anamnéze, kontrolním HIV testu před zahájením ošetření a intervalově opakovaném mikrovlnném prohřívání celého těla v rozsahu postupně upřesňovaném podle stavu vycházejícího z obvyklé diferenciální imunologické diagnostiky (1), doplněné sledováním změn lymfatických uzlin a dalších tkání magnetickou rezonancí. Již dosavadní technika MR registrující rozdíly 0,2 mm v prostoru může zachytit morfologické změny probíhající v lymfatické tkáni a uzlinách. Pro přímou vizualizaci úchyty HIV viru na buňku a dalšího jeho rozvoje až k tvorbě proviru a virionů chybí dosavadní diagnostické MR zvětšení přibližně o 3-4 řády. Rozdíl snad překlene vývoj neinvazivní mikroskopické MR, příp. invazivní elektronové mikroskopie bez pokovení preparátu (AV ČR Brno). Samozřejmě je respektování známých kontraindikací MR. Ve vztahu k HIV neověřenou možností je lymfoscintigrafie nebo ovlivnění Hedových zón v segmentolitografii. Jde hlavně o neinvazivní diagnostiku HIV v údobí od vstupu infekce do organismu do doby jejího záchytu běžnými testy.

Spolehlivá diagnostika HIV nás směřuje k lákové aplikaci nescifické popudové terapie s cílem vyvolat zvýšení teploty až třesavku jako obrannou reakci organismu po injekcích pyrogenní vody a komerčních přípravků tohoto typu. Je nezbytné připomenout, že pokud dobře neznáme faktory ovlivňující přechod viru z asymptomatické existence v organismu do další rozvojové fáze AIDS, stále přetrvává riziko, že jakýmkoliv terapeutickým zásahem můžeme vyvolat spuštění mechanismu vybuzejícího aktivitu viru k dalšímu rozvoji choroby, změny obalu viru, vzniku rezistence apod.

Úvahy o pokročilejších stádiích AIDS vyžadují zaměřit se na technické zdokonalení mimotělního i lymfatického oběhu, perfuze orgánů, což má dovolit účinnější fyzikální i chemické zásahy, výměnu cirkulujícího objemu syntetickými roztoky přinášejícími kyslík (Fluosol, dextran etc.), makromolekuly ztěžující povrchové uchycení viru na buňkách, úpravu pH, redox potenciálu, chemoterapii.

Přestože naše úvahy vycházejí pouze z malé části dostupných poznatků a postrádají praktická ověření, není vyloučeno, že mohou poskytnout širší oblast námětů k prohloubení komplexního přístupu včasné léčby AIDS.

## **Literatura**

1.Šejda J. aj.: Prevence, léčba a další aspekty nákazy HIV/AIDS. Galén 1993 str. 268.

Scripta medica	70	Supplementum 4	207-208	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Klinika pracovního lékařství Fakultní nemocnice Plzeň

**J. Kohout**

## Contemporary problems of occupational rhinitis

### Současná problematika profesionálních rhinitid

#### Souhrn

Provedli jsme analýzu souboru 21 nemocných s profesionální rhinitidou, hlášenou v letech 1985 - 1995. Třikrát se jednalo o iritační rhinitis, 18x o alergickou rhinitis. Nejčastěji byli postiženi zemědělci (42,8 %), následovali potravinář (19,0 %), z prokázaných alergenů byly nejčastější prach ze stodoly, mouka pšeničná a seno (4x), prach kravský a sláma 3x).

Klíčová slova: alergická rhinitis, iritační rhinitis, zemědělci, potravináři

#### Summary

We analyzed the group of 21 patients with occupational rhinitis, notified in years 1985 - 1995. three times was notified irritative rhinitis, 18 times allergic rhinitis. Most often were afflicted agriculturists (48,8 %), then workers in foodstuff operations (19,0%), from verified allergens were most often the barn dust, wheat flour and hay (4 times), cow dust and straw (3 times),

Key words: allergic rhinitis, irritative rhinitis, agriculturists, workers in foodstuff operations

#### Úvod

Zpracovali jsme dokumentaci 21 nemocných, u nichž jsme v letech 1985 - 1995 hlásili profesionální rhinitidu jako jiné poškození zdraví z práce. 10 bylo mužů ve věku 17 - 58 let (průměrný věk 33,2 let), 11 bylo žen ve věku 17 - 49 let (průměrný věk 36,4 let). Průměrný věk celé sestavy byl 34,9 let. U nemocných jsme vyšetřili rodinnou, osobní a pracovní anamnézu, provedli fyzikální vyšetření, dále bylo provedeno alergologické vyšetření (včetně prickového a intrakutánního testování), otorhinolaryngologické vyšetření, rtg plic a funkční vyšetření plic. Před rozhodnutím o profesionalitě jsme vyžadovali hygienické šetření.

#### Výsledky.

Alergické onemocnění v rodině uvádělo 5 nemocných, v osobní anamnéze uváděl 1 nemocný sennou rýmu. Podle pracovního zařazení se jednalo o ošetřovatele hovězího dobytka 3x, o krmičku prasnic 1x, o ošetřovatelku drůbeže 2x, o dělnici ve výrobě krmných směsí 1x, o traktoristu 1x, o pekaře 2x, o cukráře 1x, o laborantku 1x, o zámečníka ve sladovně 1x, o hudebního nástrojaře 1x, o truhláře 1x, o hlídače 1x, o dělnici při výrobě izolátorů 1x, o malíře pokojů 1x, o topiče 1x, o přadlenu 1x. Podle sídla pracoviště byl okres Domažlice zastoupen 6x, Cheb 1x, Klatovy 3x, Plzeň-město 4x, Plzeň-jih 4x, Plzeň-sever 3x,

okresy Karlovy Vary, Rokycany, Sokolov a Tachov nebyly zastoupeny. Doba expozice alergizující nebo iritující látky se pohybovala mezi méně než rokem (nejčastěji - 6 nemocných) a 16 lety (průměr 2,5 let), doba od vzniku obtíží do prvního vyšetření na naší ambulanci se pohybovala mezi méně než rokem (nejčastěji - 9 nemocných) a 10 lety (průměr 2,3 roku). U 3 nemocných byla kromě rhinitis přítomna i alergická konjunktivitida, u 1 nemocného byl současně přítomen kontaktní ekzém, u 2 se záhy vyvinulo bronchiální astma.

U 3 nemocných se jednalo o iritační rhinitis - 1x v důsledku expozice epichlorhydrinu, 1x v důsledku expozice ředidlu, 1x v důsledku expozice siřičitanu sodnému, fosforečnanu sodnému, hydroxidu sodnému a fenolftaleinu. U ostatních nemocných se jednalo o alergickou rhinitis. Testování bylo pozitivní na prach obecně 3x, na prach kravský 3x, na prach ze stodoly 4x, na mouku pšeničnou 4x, na kukuřici 2x, na seno 4x, na slámu 3x, na peří obecně 2x, na S vakcinu 4x. 1x bylo pozitivní testování na prach domácí, prach z přípravny, prach krysí, prach mlýnský, mouku žitnou, krmnou směs MKP, krmnou směs VUL, krmnou směs pro drůbež, peří slepičí, pyl smíšený, bojíněk, sladový květ, dřevo obecně, dřevo "brazil", dřevo "fernambuk", javor-pupen, vlnu, plísně domácí, plísně venkovní, roztoče, směs bakterií HCD, zlatého stafylokoka. Na 1 alergen bylo pozitivní testování u 5 nemocných, na 2 u 4 nemocných, na 3 u 3 nemocných, na 4 u 2 nemocných, na 5 u 1 nemocného, na 6 u 2 nemocných, na 9 u 1 nemocného.

## Diskuse

V souladu s literaturou převažují v našem souboru zemědělci (42,6 %), následují potravináři (19,0 %), objevují se však i pracovníci dalších odvětví, kromě již známých alergických mechanismů je nutno počítat i s mechanismy iritačními, zejména v důsledku nově zaváděných technologií. V literatuře uváděný vzestup alergických rhinitid nepotvrzujeme, může se zde však uplatňovat změna struktury závodní zdravotní péče. O rozdílném přístupu lékařů primární péče svědčí i nerovnoměrné rozdělení našich hlášených nemocných podle okresů.

Donedávna mohla být profesionální rhinitis jako nemoc neuvedená v seznamu nemocí z povolání hlášena pouze jako jiné poškození zdraví z práce a sociálně právní nároky nemocných nebyly často respektovány. Nový seznam nemocí z povolání znamená zlepšení situace.

Na závěr je třeba připomenout význam správného pracovního zařazení pracovníků s alergózami - v současném souboru je možno mluvit o pochybení u nemocného se sennou rýmou v anamnéze. I naše zkušenosti potvrzují, že rhinitis je nutno chápat jako preastmatický stav a z tohoto hlediska přistupovat k nemocným.

## Literatura

1. Kaláš D.: Profesionální alergická rhinitis - klinický obraz a možnosti průkazu profesionality. Pracov.Lék. 36, 1984, č.6, s.212-215.
2. Kaláš D.: Alergické rhinitidy profesionálního původu. Přednáška na 7.celostátních pracovních dnech závodních lékařů v Peci pod Sněžkou 30.dubna 1986.
3. Kohout J., Týrová R.: Profesionální alergózy dýchacích cest u pracovníků v potravinářství. Pracov.Lék. 41, 1989, č.1, S.15-17.
4. Kohout J., Černá R., Lazovová D.: Choroby z povolání u pracovníků v zemědělství. Pracov.Lék. 44, 1992, č.2, S.49-53.
5. Mainerová J., Bejčková H., Kohout J.: Profesionální alergózy dýchacích cest u zemědělců. Pracov.Lék. 39, 1987, č.7, s.298-300.

Scripta medica	70	Supplementum 4	209-211	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Klinika pracovního lékařství LF Masarykovy univerzity, FN U sv. Anny, Brno

**Brhel, P.**

## **Profesionální sinonasální karcinom z expozice prachu dřeva (Occupational sinonasal cancer in woodworkers)**

### **Souhrn**

Příspěvek se zabývá novou položkou seznamu nemocí z povolání, t.j. rakovinou sliznice nosní nebo vedlejších dutin nosních z expozice prachu ze dřeva, kterou lze v České republice považovat od 1. ledna 1996 za nemoc z povolání. Autor rozebírá údaje o expozici prachu dřev, rizikových profesích i pracovních operacích, histologickém typu profesionálního nádoru, době expozice, posuzování a prevenci.

### **Summary**

Occupational exposure to wood dust is associated with an increased risk of developing of the nasal cavity and paranasal sinuses. Adenocarcinoma has been the major tumor type. Cancer has been observed in workers who use hard woods, which are defined as angiospermae or deciduous trees such as beech, oak, ash, and mahogany. No specific chemical or physical agent, or combination of agents, has been directly associated with the development of nasal cancer in wood workers. Specifically, a high risk of adenocarcinoma has been associated with employment in furniture and cabinet making, factory joinery, and carpentry work. Workers who sand and fit wooden parquet floors, barrel makers, pattern makers, and wheelwrights have also been shown to be at increased risk for sinonasal cancer. The latency period for cancer development averages 40 years but shows great variation, range 7 - 70 years. Protection of the worker include effective reduction of inhalation and ingestion of wood dust.

**Key words:** Occupational disease, sinonasal cancer, occupational exposure, wood dust

### **Úvod**

Dne 1. ledna 1996 vstoupil v České republice v platnost nový seznam nemocí z povolání, který tvoří přílohu k nařízení vlády č. 290/1995 Sb. Tím je nám nově legislativně umožněno zvažovat profesionalitu některých nádorových onemocnění (1). V kapitole III pod položkou číslo 8 je nyní uvedena rakovina sliznice nosní nebo vedlejších dutin nosních, vzniklá při práci, u níž je prokázána taková expozice prachu dřeva, která je podle současných lékařských poznatků příčinou nemoci.

Tumory dutiny nosní a paranasálních sinusů nejsou obecně příliš četné, tvoří jen 0,2 % všech humánních karcinomů. V USA udávají incidenci 0,75 na 100 000 obyvatel. V roce 1991 bylo v České republice hlášeno 29 nových onemocnění mužů a 19 u žen. Střední věk postižených mužů byl 67 let a 72 let u žen. V téže roce zemřelo na novotvary uvedené lokalizace 20 mužů, t.j. 0,4 na 100 000 mužů a 18 žen, t.j. 0,3 na 100 000 žen. Údaj ÚZIS pro Českou republiku je jen orientační, protože zahrnuje nejen zhoubné novotvary dutiny nosní a paranasálních sinusů, ale současně i novotvary sluchové trubice.

IARC (International Agency for Research on Cancer WHO, Lyon) zhodnotila veškeré poznatky o zmíněné problematice a potvrdila, že dřevěný prach způsobuje zvýšený výskyt rakoviny nosu a paranasálních dutin, a to u exponovaných převážně tvrdým dřevům. Považuje ho za nepochybný humánní karcinom skupiny 1 (3). V našem střeoevropském regionu bude zřejmě převládat v etiologii profesionálních sinonasálních karcinomů prach z tvrdých dřev dubů a buků.

Rizikovou profesi představují především truhláři, zvl. pracující v nábytkářském průmyslu, kde se užívá dubové dřevo a na ohýbaný nábytek dřevo bukové. Méně rizikové je stavební nebo umělecké truhlářství. Bednáři, koláři, parketaři (dubové a bukové dřevo), tesaři na stavbách, dělníci na pilách a další zpracovatelé užitkového dřeva onemocní méně často. Rizikovou pracovní operací je především broušení tvrdých dřev, méně vrtání a hoblování.

V pražských provozech nábytkářského průmyslu kolísá prašnost od 1 do 99 mg.m<sup>-3</sup> podle druhu opracovávaného dřeva, počtu a rozmístění dřevoobráběcích strojů a účinnosti odsávacího zařízení. Extrémní hodnoty dosahují až 300 mg.m<sup>-3</sup>. Koncentrace prachu v halách se strojním parkem s lokálním odsáváním i bez něj se pohybují v průměru 40-50 mg.m<sup>-3</sup> s maximem 90 mg.m<sup>-3</sup>(2).

Příčina karcinogenního účinku prachu dřeva není dosud objasněna. Diskutuje se úloha fyzikálního mechanického efektu prachu samotného, který se deponuje na nosní sliznici, poškozují mukociliální clearance ztrátou řasinek, vede k chronickému poškození sliznice, mukostáze, zvýšené citlivosti ke karcinogenům, indukci buněčné metaplasie a karcinomu. Zvažuje se role inhalovaných potenciálně karcinogenních chemických látek vyskytujících se ve dřevu jako jsou taniny nebo produkty odbourání (např. dimethoxybenzochinon, trimethoxycinnamaldehyd) některých nenasycených aldehydů, jež vznikají při odbourávání ligninu či látek užívaných při ochraně a zpracování dřeva; hypoteticky se předpokládá také kombinace obou uvedených faktorů.

U profesionálně podmíněných případů jde histologicky nesporně především o adenokarcinomy. Jejich zjištění v sinonasální lokalizaci by mělo v praxi vést vždy ke zvažování etiologické účasti profesionálních faktorů, a proto k doplnění podrobné pracovní anamnézy. Je pravděpodobné, že typ dřeva, jehož prachu je pracující exponován, určuje predominantní histologický typ tumoru. Tvrdá dřeva způsobí adenokarcinom, měkká dřeva spinocelulární nebo anaplastický karcinom; při expozici směsi obou prachů byly popsány také epidermoidní a anaplastické karcinomy (3).

Profesionální nádor nosní dutiny je nejčastěji lokalizován na laterální stěně a střední skořepě u přechodu ke kosti čichové. Jedná se o relativně pomalu rostoucí karcinom. Hlavní směr šíření je kraniálně přes kost čichovou směrem do přední jámy lební, i když také může prorůst do čelistní dutiny. K důležitým příznakům zhoubných nádorů nosní dutiny patří jednostranná porucha nosní průchodnosti, epistaxe, výtok z nosu, bolest. Někdy nacházíme nehojící se vředy. Pátráme po deformitách zevního nosu. Klinická symptomatologie postižení vedlejších dutin nosních se projevuje až relativně pozdě, po dosažení určité velikosti nádoru. Jde o bolest ve tváři a otok nebo projevy šíření do dutiny ústní, orbity či fossa pterygoidea.

Nejkratší expozice u adenokarcinomu považovaného za profesionální, byla dle literárních údajů 1,5 roku, nejdelší 50 let, střední délka expozice se pohybuje kolem 30 roků. Střední doba latence, která uběhne od prvního vystavení rizikové noxe až do stanovení diagnózy, je zhruba 40 roků. Nejvíce profesionálních případů je diagnostikováno u padesátiletých a šedesátiletých.



Preventivně je třeba dodržovat hygienické limity celosměnové koncentrace prachu. NPK-P (celkový prach) pro tvrdá dřeva buku, dubu a jasanu je stanovena na 10 mg.m<sup>-3</sup>, což je vzhledem k riziku vzniku karcinomu hodnota příliš vysoká. Domníváme se, že podle současných lékařských poznatků není opodstatněné posuzovat uvedená dřeva jako biologicky málo účinná. Přinejmenším je nutno považovat tato dřeva za biologicky účinná a trvat na používání limitu 5 mg.m<sup>-3</sup>.

Na pracovišti je třeba oddělit hlavní zdroje prašnosti a zabezpečit účinné místní odsávání a ev. i používání osobních ochranných prostředků.

Tam, kde není orgánem hygienické služby vyhlášena riziková práce, by měly být u pracujících dřevozpracujícího průmyslu preventivní prohlídky alespoň doporučeny. Pracovníky exponovaných profesí je třeba seznámit s možným rizikem a příznaky onemocnění.

Při vstupních prohlídkách je náplní anamnéza, fyzikální vyšetření dle předpokládaného profesního zařazení a ORL vyšetření zaměřené na lokální nález v dutině nosní. Pro přehled je nutná přední a zadní rhinoskopie, doporučena je také endoskopie. Periodické prohlídky jsou např. v SRN doporučeny až po patnácti až dvacetiletém trvání expozice prachu ze dřeva, a to optimálně v jednoletých intervalech. Náplň je prakticky identická jako u vstupu. V nejasných případech nebo při podezření na tumor doporučujeme opakování endoskopie, biopsie k histologickému vyšetření, CT, ev. rtg vyšetření paranasálních dutin, ultrazvukové vyšetření. Následné preventivní prohlídky jsou nutné vzhledem k dlouhé době latence nádorového onemocnění u těch bývalých pracujících dřevozpracujícího průmyslu, kteří byli exponováni prachu z tvrdých dřev.

Při posuzování profesionální rakoviny sliznice nosní nebo vedlejších dutin nosních ohodnotíme bolestné dle tabulky III, položky 41.a) v rozmezí od 800 do 1000 bodů a ztížení společenského uplatnění analogicky dle tabulky IV, položky 77 přílohy k vyhlášce č. 32/1965 Sb. počtem 1500 až 2000 bodů.

## Literatura

1. Brhel, P.: Profesionalita nádorových onemocnění. Klinická onkologie, 9, 1996, č. 2, s. 71.
2. Švábová, K., Švandová, E.: Zdravotní stav pracovníků nábytkářského průmyslu. Pracov. Lék., 42, 1990, č. 7, s. 300-304.
3. International Agency for Research on Cancer (IARC). Wood dust and formaldehyde. Lyon: IARC, 1995. ( IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; vol. 62.)

Scripta medica	70	Supplementum 4	212-214	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Klinika nemocí z povolání FNŠP, Ostrava

Interní klinika FNŠP, Ostrava

**Slepička, J., Tesař, Z.**

## **Pneumokonióza ze svařování v severomoravském regionu**

### **Welders' pneumoconiosis in the region of North Moravia**

#### **Souhrn**

V severomoravském regionu jsme zjistili v letech 1968 až 1995 42 případů pneumokoniózy elektrosvářečů. Ke kontrolnímu vyšetření v roce 1996 se dostavilo 26 osob (muži) průměrně po 9 letech od diagnostikování nemoci a ukončení rizikové expozice. HRCT vyšetření má dobrou korelaci s klasickým rtg vyšetřením plic. Změny rtg nálezů po ukončení rizikové expozice jsme nezjistili. Naopak obstruktivní poruchy se u 40% osob zhoršují.

#### **Summary**

In region of North Moravia during the years 1968-1995 we observed 42 cases of electric arc welders' pneumoconiosis. Invitation for the follow up examination in 1996 was accepted by 26 persons (men). Average period of time that elapsed from the diagnosis and discontinued risk was 9 years. HRCT examination are in good correlation to X-ray changes. We found no changes of X-ray findings after interruption of risk exposure. On the contrary the predominantly obstructive respiratory disorder show deterioration almost in 40% persons.

**Klíčová slova:** pneumokonióza elektrosvářečů, nemoci z povolání, rentgenologické změny, funkční testy plic

**Key words:** welders' pneumoconiosis, occupational diseases, X-ray changes, lung functional tests.

#### **Úvod**

Pneumokoniózou elektrosvářečů se soustavně zabýváme od 1968 (7). Poté jsme vyšetřili soubor 522 elektrosvářečů (8,10). Nálezy pneumokonióz byly nejčastější a nejzávažnější u elektrosvářečů v polouzavřených prostorách. U méně než 1% vyšetřených jsme našli generalizované nodulace. Významně vyšší byla prevalence syndromu chronické bronchitidy a obstruktivní poruchy dýchání. Histologickým vyšetřením jsme prokázali intersticiální ložiskovou koniózu se zřetelnou novotvorbou retikulinových a kolagenních vláken. Železo bylo prokázáno i difusně v plasmatu koniofágů (5,7,8,10). Za příčinu lehké reaktivní fibrózy jsme považovali SiO<sub>2</sub> v amorfní formě a křemičitany v aerosolech svařování (8,10), kdy i v pokusu na zvířeti byl prokázán mírný fibrogenní

účinek (4,10). Nyní jsme studovali vývoj elektrosvářečských pneumokonióz po vyřazení z práce v riziku.

### **Materiál a metodika**

V letech 1968-1995 jsme našli v našem regionu 42 pneumokonióz elektrosvářečů, hodnocených jako "jiná poškození na zdraví z práce". V 5 případech (1 nekropsie, 4 biopsie) byla histologicky prokázána intersticiální ložisková konióza (5,7,8,10). V roce 1996 jsme pozvali celý soubor ke kontrolnímu vyšetření. Dostavilo se 26 osob, 3 zemřely. Průměrný věk byl při kontrole 55,8 +/- 10,3 let. Riziková expozice byla 22,1 +/- 6,9 let. Interval mezi základním a kontrolním vyšetřením byl 8,9 +/- 6,5. Kuřáků bylo 30,7%.

### **Výsledky**

Rentgenogramy jsme přehodnotili podle nyní platné rtg klasifikace (11). Nenalezli jsme malé pravidelné opacity "p", neboť nebyly dříve hodnoceny jako typická pneumokonióza. Našli jsme malé okrouhlé opacity "q" s četností 2/1-46,0%, 2/2-31,0%, 2/3-7,7%, 3/2-3,8% a 3/3-11,5%. Neprokázali jsme malé okrouhlé opacity "r", ani velké opacity. Vedlejšími nálezy byly malé nepravidelné opacity "s" (23,0%) a "t" (50,0%). Od vyřazení z rizika jsme neprokázali ani progresi ani regresi rtg nálezů. Sedm HRCT vyšetření odpovídá klasickým rentgenogramům. U subjektivních potíží dušnosti (NYHA I-IV) u 58,0% se potíže nezměnily, u 38,4% se zhoršily o jeden stupeň, u 3,6% o dva stupně. Při funkčním vyšetření plic dominovala obstrukční porucha ventilace, s progresí z normálních nálezů do lehké až střední poruchy u 24%, z lehké do těžké u 15,0%, beze změny bylo 61,0% nálezů. Spastickou bronchopulmonální složku jsme zjistili bronchodilatačním testem u 26,9% pacientů. Celková plicní difusní kapacita ověřená CO metodou "single breath" byla mírně snížena u 15,3% osob.

### **Diskuse**

Pneumokonióza u elektrosvářečů (1) s holými elektrodami byla siderózou s areaktivním ukládáním oxidů železa, s možnou regresí(2). U obalovaných elektrod je nacházena i reaktivní fibróza (cit.u 8,9), ale nikoli další vývoj ložisek a vznik fibrohyalinních uzlíků(5,7,8,9). K rtg progresi dochází během rizikové expozice(3,8,10). Regrese nálezů nebývá prokazována (3). Nebyl popsán vznik velkých opacit. Vývoj poškození po vyřazení z rizika nebyl dosud vyřešen, neboť vyřazení z rizika nebylo striktní (9). Vyvinutý obraz onemocnění se po vyřazení z rizika nebude pravděpodobně dále měnit(9). Vyšetřením našeho souboru jsme tento předpoklad plně potvrdili.

### **Závěr**

Pneumokonióza elektrosvářečů je nekolagenní pneumokoniózou s relativně beginním průběhem - nevznikají fibrohyalinní uzlíky ani větší fibrózní ložiska. Po vyřazení z rizika rtg nálezy se dále nemění. Provedená HRCT vyšetření potvrdila nálezy, zjištěné klasickým rtg vyšetřením. Přínos HRCT spatřujeme především pro diferenciální diagnostiku. V našem souboru dominují nálezy malých okrouhlých opacit typu "q" podle ILO, velké opacity ve vývoji pneumokoniózy ze svařování nevznikají. Zákonodárce pojal od 1.1.1996 onemocnění do Seznamu nemocí z povolání (12). Nemoc lze diagnostikovat od četnosti znaků "p"3, "q"2 a "r"2 a výše. Autoři vypracovali návrh metodického návodu pro posuzování pneumokoniózy elektrosvářečů.

### **Literatura**

1. Doig,A.T.,Mc Laughlin,A.I.G.: X-ray appearances of the lungs of electric arc welders. Lancet,1,1936,s.771

2. Doig,A.T.,Mc Laughlin,A.I.G.: Clearing of x-ray shadows in welder's siderosis. Lancet,1,1948,s.787-791
3. Krutý,F.,Šimáček,I.,Maňka,J.:Magnetometrické stanovenie miery kontaminácie pľúc magnetickými látkami.Pracov.Lék.,25,1973, č.4, s.161-165
4. Kyselá,B.,Škoda,V.,Holuša,R.:Sledování fibrogenity elektrosvářečských aerosolů pokusem na zvířeti.Pracov.Lék., 25,1973, č.10, s.417-421
5. Miřejovský,P.:Plicní změny u elektrosvářečů,Čs.Patol.,25,1973, s.57-67
6. Navrátil,M.:Přehled mezinárodních rtg klasifikací pneumokonióz z roku 1958, 1968 a 1971.Pracov.Lék.,24,1972,č.7,s.262-264
7. Slepíčka,J.,Kadlec,K.,Tesař,Z.,Škoda,V.,Miřejovský,P.:Beitrag zur Problematik der Elektroschweisserpneumokoniose.Int.Arch. Arbeitsmed.,27,1970,s.257-280
8. Slepíčka,J.,Tesař,Z.,Miřejovský,P.:Vliv svařování elektrickým obloukem na dýchací orgány svářečů.Pracov.Lék., 26,1974,č.8.,s.295-302
9. Spáčilová,M.:Příspěvek k posuzování pneumokoniózy ze svařování Pracov. Lék.,33,1981,č.8,s.278-281.
10. Tesař,Z. ,Slepíčka,J. ,Škoda,V. ,Kyselá,B. ,Holuša,R., Miřejovský,P., Útrata,R., Kadlec,K.: Výskum vplyvu zvaračské práce na dýchací orgány elektrosvářečů. Závěrečná zpráva. Ostrava, KHS 1971, 120s.
11. Guidelines for the use of ILO International Classification of Radiographs of Pneumoconioses. Revised edition 1980. Occupational Safety and Health Series 22 (Rev.80). Geneva, International Labour Office, 1980, 48s.
12. Příloha k nařízení vlády č.290/1995 Sb. (Seznam nemocí z povolání).

Scripta medica	70	Supplementum 4	215-217	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Klinika nemocí z povolání, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

**Monika Kneidlová, Evžen Hrnčíř**

## **Podmínky vzniku nemocí z povolání přenosných a parazitárních**

### **Souhrn**

Přenosná a parazitární onemocnění jsou uvedena v seznamu nemocí z povolání. Podmínkou pro vznik nemoci z povolání je práce, u níž je prokázáno riziko nákazy. Průkaz rizika nákazy není specifikován a může se jevit různě závažný z pohledu zainteresovaných odborníků (t.j. pracovních lékařů, epidemiologů, infektionistů, soukromých praktických lékařů, neurologů, hepatologů, atd.). Uvedená formulace umožňuje volnost při hodnocení infekčních nemocí z povolání.

### **Summary**

Communicable and parasitic diseases are introduced in the list of professions diseases. Occupational diseases are defined as there that originate in a workplace where there is a risk of infection. The nature of the risk has not been specified and specialists in various field may differ in their definition of it (i.s. occupational physicians, epidemiologists, infectionists, private general physicians, neurologists, hepatologists, etc.) This lack of definition leads to a subjective approach to the classification of infections occupational diseases.

Klíčová slova: nemoci z povolání, přenosná a parazitární onemocnění

Key words: occupational diseases, communicable and parasitic diseases

### **Úvod**

V posledních letech došlo ke znatelnému poklesu celkového počtu nemocí z povolání (vyjimku tvoří rok 1991, kdy ještě pokračovala reklasifikace z roku 1990) - jak uvádí tabulka 1. - "Vývoj počtu nemocí z povolání hlášených v ČR v letech 1986-1995" (1,2,3)

K poklesu absolutních čísel (počtu onemocnění) došlo i u nemocí přenosných a parazitárních, především podmíněných snížením výskytu virové hepatitidy typu B, díky zavedení - i když ne plošně - preventivnímu očkování. Do popředí se však v této položce dostávají onemocnění probíhající v "malých epidemiích" - např. scabies, keratokonjunktivitida a pod.. Kriteria pro přiznání profesionalitu onemocnění přenosných a parazitárních (interhumánní přenos) byla všeobecně známá a akceptovaná všemi odborníky našeho oboru.

Podle seznamu nemocí z povolání, který byl součástí vyhlášky č. 149/1988 Sb. s platností do 31.12.1995, byla tato onemocnění uváděna pod položkou 24 (4). Následující tabulka 2 shrnuje "Nejčtenější nemoci z povolání v ČR v letech 1991-1995". Vzhledem k tomu, že celkový počet položek byl 44 - je 5. místo velmi významné a varovné. V novém seznamu uvedeném v příloze k nařízení vlády č. 290/1995 Sb., platném od 1.1.1996, jsou uvedena v kapitole V., položka 1 (5).

V obou citovaných dokumentech jsou tato onemocnění uvedena zcela shodně, t.j. "Onemocnění přenosnými a parazitárními nemocemi". Zcela odlišné jsou však podmínky, za kterých lze připustit přímý vztah mezi vykonávanou profesí, resp. pracovní činností a vzniklým infekčním onemocněním (4,5). Pro upřesnění uvádíme doslovnou citaci:

Vyhl. č. 149/1988 Sb.: - onemocnění vzniká v organizacích, ve kterých se vyšetřují nebo ošetřují osoby, a kde prokazatelný styk s infekčně nemocnými nebo infekčním materiálem je součástí výkonu zaměstnání.

Sb. zákonů č. 290/1995: - podmínky vzniku nemoci z povolání: nemoci vznikají při práci, u níž je prokázáno riziko nákazy.

Právě významná změna ve formulaci a první osobní zkušenosti nás vedou k otevření celého problému, t.j. k diskusi ohledně současných kritérií. Nová formulace podmínky, která je podstatná z hlediska přiznání profesionality onemocnění, je složena ze dvou aspektů - jedním je vznik onemocnění při práci, druhým je průkaz rizika nákazy. "Průkaz " vzniku onemocnění při práci nebude v mnohých případech snadný. "Průkaz" rizika nákazy není nijak specifikován a může se jevit různě závažný z pohledu různých odborníků - např. epidemiologa, infekcionista, neurologa, hepatologa, praktického lékaře, ale samozřejmě i odborníka našeho oboru.

Je to pravděpodobně zbytečné, ale připomínáme, že i při předchozích podmínkách, které vymezovaly výskyt přenosných a parazitárních onemocnění prakticky do zdravotnictví, byly dodržovány určité úpravy a dohody, které činily přiznání profesionality onemocnění přehlednějším vzhledem k jejich četnému výskytu v populaci (např. vyhledání konkrétní osoby ve vztahu k inkubační době posuzovaného onemocnění a pod.)

Nová formulace podmínek v uvedeném zákoně může přispět k nejednotnosti v posuzování profesionality přenosných a parazitárních onemocnění. Zatím v současné době nemá ani odborná, resp. medicínská obec, ani laická - rozumějme - postižení a právníci, o této významné změně povědomost. Je to jen otázka času a do té doby bychom měli mít zcela jasno v posuzovacích kritériích (což je běžné i pro jiné položky!). Zajisté dojde v brzké budoucnosti k nárůstu žádostí o přiznání profesionálních přenosných a parazitárních onemocnění a i k následným soudním sporům. Nejednotnost v posuzování a hodnocení humánních infekčních onemocnění, která mohou mít velmi závažný průběh, a ev. i dopad na další pracovní způsobilost postiženého člověka, by jistě nepřispěla k prestiži našeho tak velmi zajímavého oboru.

## Literatura

- 1) Vejlupková, J., Urban, P.: Stručný přehled nemocí z povolání hlášených v České republice v roce 1993. Prac. Lék., 46, 1994, č. 3, s. 102-105.
- 2) Vejlupková, J., Urban, P.: Přehled nemocí z povolání hlášených v České republice za rok 1994. Prac. Lék. 47, 1995, č. 3, s. 99-104.
- 3) Vejlupková, J.: Nemoci z povolání a profesionální otravy 1995. Zdravotnická statistika, ÚZIS ČR, 1996, s. 31.
- 4) Seznam nemocí z povolání, Příloha č. 1 k vyhlášce 149/88 Sb.
- 5) Seznam nemocí z povolání, Příloha k nařízení vlády č. 290/1995 Sb., s. 3969-3978.

Tab. 1. Vývoj počtu nemocí z povolání hlášených v ČR v letech 1986 - 1995

<b>Rok</b>	<b>Počet</b>	<b>Rok</b>	<b>Počet</b>
1986	4226	1991	8593
1987	3895	1992	3406
1988	3729	1993	3062
1989	3805	1994	2707
1990	11307	1995	2806

Tab. 2. Nejčtenější nemoci z povolání v ČR v letech 1991 - 1995 (absolutní počty)

<b>Položka</b>	1991		1992		1993		1994		1995	
	<b>Pořadí</b>	<b>Počet</b>	<b>Pořadí</b>	<b>Počet</b>	<b>Pořadí</b>	<b>Počet</b>	<b>Pořadí</b>	<b>Počet</b>	<b>Pořadí</b>	<b>Počet</b>
22 „dermatózy“	4	1163	3	619	2	504	1	631	1	552
24 „infekce“	6	276	5	302	5	325	5	278	5	288
26 „zoonózy“	7	150	6	154	6	165	6	164	6	175
28 „vibrace“	3	1280	1	734	1	658	2	507	2	509
29 „přetížení“	5	806	2	626	4	450	3	428	4	460
33 „silikóza“	1	2553	4	580	3	492	4	334	3	466
Celkový počet		8593		3406		3062		2707		2806

Scripta medica	70	Supplementum 4	218-220	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Klinika nemocí z povolání, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

**Evžen Hrnčíř, Monika Kneidlová**

## **Nemoci z přetlaku nebo podtlaku**

### **Souhrn**

Osob exponovaných biologicky významnému přetlaku nebo podtlaku je v České republice málo. Je to přibližně 30 profesonálních potápěčů, kteří se potápějí pravidelně, dalších asi 200 potápěčů, kteří se potápějí jen příležitostně, a dále okolo 4000 sportovních amatérských potápěčů. Skutečná expozice asi 60 osob, které obsluhují přetlakové komory, je v praxi velmi malá. Podtlaku mohou být vystaveni zejména letci a osoby obsluhující podtlakové komory. V souvislosti s působením přetlaku nebo podtlaku mohou vznikat barotraumata a dekompresní nemoc. Přetlak může kromě toho způsobit intoxikaci kyslíkem nebo inertními plyny a vést k dalším postižením zdravotního stavu. Seznam nemocí z povolání platný od 1.1.1996 (příloha k nařízení vlády č. 290/1995 Sb.) obsahuje položku II/5, která zahrnuje nemoci z povolání způsobené přetlakem a podtlakem. Její formulace není dokonalá a bylo by vhodné uvažovat o její revizi.

### **Summary**

There are few persons in the Czech republic exposed to the action of biologically significant overpressure or underpressure. Some 30 professional divers are regularly exposed to overpressure, another 200 divers are occasionally engaged in diving activities and approximately 4000 sportsmen pursue amateur diving. The exposure to overpressure among about 60 workers operating hyperbaric chambers is very small in practice. Exposure to underpressure may occur in particular in airmen and workers operating altitude chambers. In conjunction with the action of overpressure or underpressure barotraumas and decompression disease may develop. Overpressure can cause moreover intoxication with oxygen or inert gases and lead to some other affections of the health status. The list of occupational diseases valid from January 1, 1996 (appendix of Government decree no. 290/1995 Sb.) contains item II/5 which includes occupational diseases caused by overpressure and underpressure. Its formulation is not perfect and it would be useful to revise it.

### **Klíčová slova**

nemoci z povolání, nemoci způsobené přetlakem nebo podtlakem

### **Key words**

occupational diseases, diseases caused by overpressure or underpressure

### **Úvod**

Zdravotnická problematika práce v hyperbarickém prostředí stojí v České republice poněkud stranou lékařského zájmu. Zřejmě to souvisí se skutečností, že osob exponovaných přetlaku je u nás poměrně málo. Ve Svazu potápěčů Čech a Moravy je sice registrováno asi 4000 sportovních



potápěčů, ale jen 30 pracovníků vykonává potápění jako svou hlavní pracovní činnost a dalších asi 200 se věnuje pracovnímu potápění příležitostně. Osob, které obsluhují léčebné přetlakové komory a mohou být v souvislosti s tím exponovány zvýšenému tlaku, je u nás asi 60, avšak jejich skutečná expozice bývá v praxi velmi malá. Biologicky významnému podtlaku mohou být vystaveny osoby, které pobývají v podtlakových komorách, a posádky vojenských letadel; v civilní letecké dopravě je naproti tomu expozice podtlaku z medicinského hlediska nevýznamná.

V souvislosti s působením přetlaku nebo podtlaku lze pozorovat zdravotní postižení, s nimiž se za jiných okolností v medicíně nesetkáváme. Přetlak i podtlak může způsobit barotraumata nebo vyvolat dekompresní nemoc či embolizaci plynu do oběhu (1,2,3,4,6,7). Přetlak může navodit intoxikaci kyslíkem nebo některými inertními plyny, nervový syndrom z vysokého tlaku i jiné odchylky od normálního zdravotního stavu (3,4). Vzniknou-li tato postižení při práci, je třeba uvážit, zda by neměla být hodnocena jako pracovní úrazy nebo nemoci z povolání.

Seznam nemocí z povolání, který platí v České republice od 1.1.1996 (příloha k nařízení vlády č. 290/1995 Sb.), obsahuje v kapitole II (Nemoci z povolání způsobené fyzikálními faktory) položku č. 5: "Nemoc způsobená atmosférickým přetlakem a podtlakem. Nemoc vzniká při práci v prostředí atmosférického přetlaku nebo v podtlakových komorách". Jsou odstraněny některé nedostatky předchozího znění (2,4,5), přesto lze k formulaci položky č. II/5 vznést několik připomínek.

Nelze považovat za správné, že v textu je výslovně zmiňován "atmosférický" přetlak a podtlak. Přetlak, v němž potápěči nebo jiní pracovníci pobývají, není možné označovat jako atmosférický. V největším procentu případů jde o tlak hydrostatický, případně o přetlak navozený kompresory (kupř. v barokomorách). Pojem atmosférický tlak (nebo přetlak) je přesně vymezený technický termín, který nelze používat pro tlak existující v hloubce pod hladinou nebo uvnitř tlakových nádob.

Za zmínku též stojí, že mezi slova "přetlakem" a "podtlakem" v definici nemoci z povolání by namísto spojky "a" mělo být použito alternativní spojky "nebo". Z hlediska výrokové logiky představuje spojka "a" tzv. konjunkci, dalo by se tedy namítat, že k přiznání nemoci z povolání je třeba, aby choroba vznikla současným působením obou okolností, tedy přetlaku i podtlaku zároveň.

Podle znění položky č. II/5 nového Seznamu nemocí z povolání by se za profesionální mohly přiznávat výhradně jen ty nemoci způsobené podtlakem, které vznikly v souvislosti s expozicí pracovníka podtlaku v podtlakové komoře. Naproti tomu onemocnění navozená kupř. u letců poklesem tlaku uvnitř kabiny letadla by při důsledném respektování znění Seznamu nemocí z povolání nebylo možné hlásit jako profesionální, což jistě není správné.

Lze tedy uzavírat, že formulace položky II/5 Seznamu nemocí z povolání není z věcného hlediska zcela správná. Navrhujeme, aby její znění bylo změněno do následující podoby: "**Nemoc způsobená přetlakem nebo podtlakem okolního prostředí. Nemoc vzniká při práci v takovém přetlaku nebo podtlaku okolního prostředí, který může být podle současných lékařských poznatků příčinou nemoci**".

Změnu existujícího znění položky č. II/5 Seznamu nemocí z povolání doporučujeme i přesto, že realizace takové změny je obtížná a že praktický význam profesionálních nemocí z přetlaku nebo z podtlaku je u nás vzhledem k jejich nepatrnému výskytu poměrně malý. Právní předpis by měl být formulován velmi přesně.

## Literatura

- 1) Bason, R., Yacavone, D.W.: Loss of cabine pressurization in U. S. Naval Aircraft, 1969-1992. Aviat. Space Environ. Med., 63, 1992, č. 5, s. 341-345.
- 2) Hrnčíř, E.: Dekompresní nemoc. Pracov. Lék., 45, 1993, č. 5, s. 213-216.

- 3) Hrnčíř, E., Černoch, O.: Zdravotnická problematika potápění. Státní pedagogické nakladatelství, Praha, 1990, 79 s.
- 4) Hrnčíř, E., Novotný, Z., David, A.: Choroby z povolání vzniklé v souvislosti s pobytem v přetlaku. Pracov. Lék., 45, 1993, č. 3, s. 119-122.
- 5) Hrnčíř, E., Šulc, J.: Jak posuzovat onemocnění a poškození zdraví způsobená podtlakem. Pracov. Lék., 45, 1993, č. 5, s. 217-218.
- 6) Kayser, B., Jean, D., Herry, J-P., Bärtsch, P.: Pressurization and acute mountain sickness. Aviat. Space Environ. Med., 64, 1993, s. 928-931.
- 7) Kindwall, E.P.: Medical aspects of commercial diving and compressed-air work. In: Occupational Medicine. C. Zenz. (ed), Year Book Medical Publishers, Chicago, 1988, s. 383-425

Scripta medica	70	Supplementum 4	221-225	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>Štátny zdravotný ústav Slovenskej republiky, Bratislava

<sup>1</sup>State Institute of Public Health, Bratislava

<sup>2</sup>Ústav preventívnej a klinickej medicíny, Bratislava

<sup>2</sup>Institute of Preventive and Clinical Medicine, Bratislava

**Hubáčová, L.<sup>1</sup>, Borský, I.<sup>2</sup>**

## **Analysis of musculo-skeletal disorders of the female health personnel from two Bratislava's hospitals**

### **Analýza ťažkostí muskuloskeletálneho systému u zdravotníckych pracovníčok z dvoch bratislavských nemocníc**

#### **Súhrn**

U 466 stredných zdravotníckych pracovníčok z dvoch bratislavských nemocníc sa robila osobná anamnéza. Osobitná pozornosť sa venovala prekonaným chorobám a ťažkostiam muskuloskeletálneho systému. Zistil sa vysoký výskyt vertebrogénneho bolestivého syndrómu ( u sestier v 31,2 %, u pomocného personálu v 31,4 %, u laborantiek v 22,2 %). Rozdiely neboli štatisticky významné. Lokalizácia bolesti bola predovšetkým v lumbálnej oblasti. Najviac boli postihnuté pomocné pracovníčky - 22,1 %, na 2. mieste boli laborantky - 14,8 % a na 3. mieste boli zdravotné sestry - 2,4 %. Rozdiely vo výskyte bolesti medzi 1. a 2. a medzi 1. a 3. skupinou pracovníčok boli štatisticky významné ( $p < 0,01$ , resp.  $p < 0,001$ ). Bolesti chrbtice sa vyskytovali najmä po telesnom zaťažení. V práci sa uvažuje o súvislosti vplyvu pracovných i mimopracovných faktorov na choroby podporno - pohybového ústrojenstva u zdravotníckych pracovníčok a o možnosti ich prevencie.

**Kľúčové slová:** vertebrogénny algický syndróm, sestry, pracovné podmienky.

#### **Summary**

The anamnesis was performed in 466 health personnel by the personal interview. Special attention was devoted to the overcome diseases and disorders of the musculo-skeletal system. It was found the high occurrence of vertebrogenic algic syndrome (nurses 31.2 %, auxiliary staff 31.4 % and laboratory workers 22.1 %). The differences were not statistically significant. Localization of the pain was first of all in the lumbal area. Auxiliary staff was mostly afflicted (22.1 %), on the 2nd place were laboratory workers (14.8 %), and on the 3rd place were nurses (2.4 %). The differences

in the occurrence of musculo-skeletal disorders were statistically significant. Pain of the spine occurred mostly after the physical strain. In the paper the relationships between working and out-off-work factors with musculo-skeletal disorders in health personnel and prevention possibilities are considered.

Key words: Vertebrogenic Algic Syndrome, Nurses, Working Conditions.

## Úvod

Práca v lôžkových oddeleniach nemocníc je spojená okrem výraznej neuropsychickej záťaže aj so značnou fyzickou námahou. Tak napríklad Smulders (4) uvádza, že profesia zdravotných sestier sa po stránke fyzickej záťaže zaraďuje na druhé miesto v poradí, a to za prácu v priemysle.

Výraznejšia fyzická námaha zdravotných sestier má za následok vznik ťažkostí, a to predovšetkým muskuloskeletálneho charakteru.

Väčšina štúdií, ktoré sa venujú tejto problematike, sa zameriava najmä na tzv. "low - back pain problems" (bolesti v krížoch), napr. Arad (2) a iní.

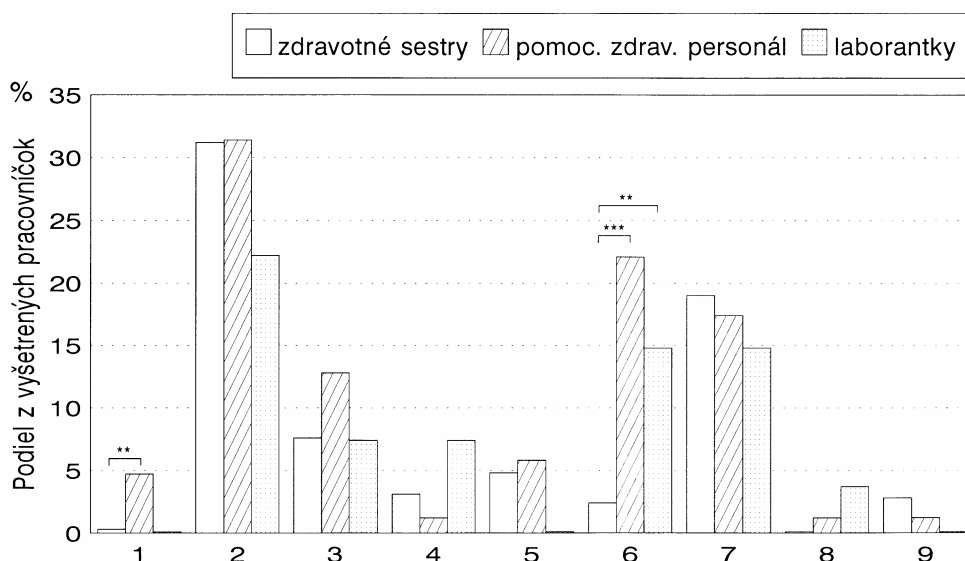
Autori uvádzajú, že ich príčinami sú pravdepodobne nepriaznivé pracovné polohy a namáhavé aktivity ako napríklad zdvíhanie a prenášanie pacienta. Metodika

U 466 stredných zdravotníckych pracovníčok z dvoch bratislavských nemocníc sa robila ich anamnéza pomocou osobného interview. Osobitná pozornosť sa venovala prekonaným chorobám a ťažkostiam muskulo-skeletálneho systému (kódy Medzinárodnej štatistickej klasifikácie chorôb a príbuzných zdravotných problémov M 00 - M 99) t.j. artropatie, choroby spojivového tkaniva, dorzopatie, osteopatie a chondropatie (1).

Súbor pozostával z 353 zdravotných sestier (priemerný vek 31 rokov), 86 pracovníčok z pomocného zdravotníckeho personálu (42 rokov) a 27 laborantiek (33 rokov).

Na porovnanie rozdielov medzi skupinami zdravotníckych pracovníčok sa použil chi-kvadrát test v štvorpolových tabuľkách. V prípadoch, že očakávané početnosti boli menšie ako 5, sme použili Fisherov test.

## Výsledky

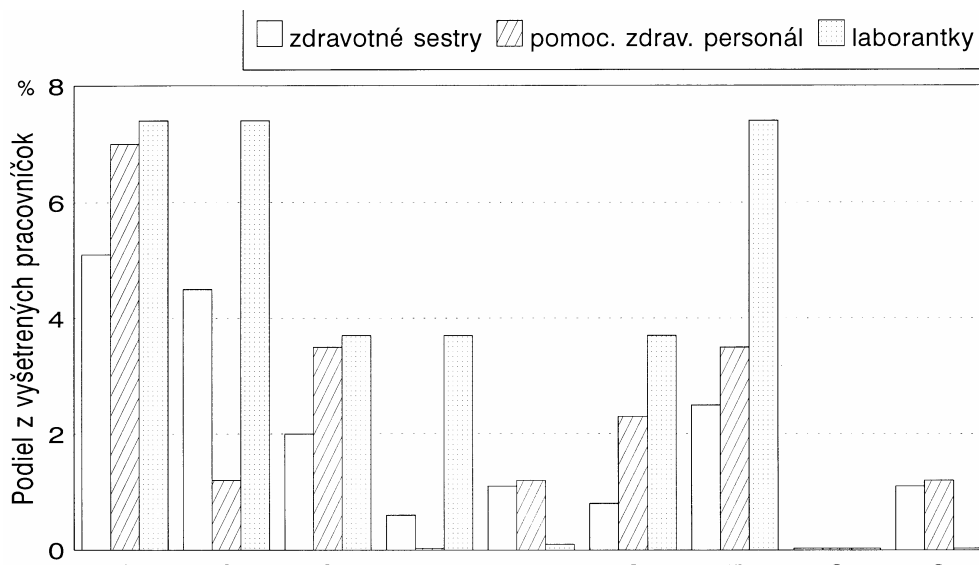


Obr.1 Výskyt poranení, chorobných zmien chrbtice a bolesti chrbtice súboru zdravotníckych pracovníčok z 2 bratislavských nemocníc; 1-poranenie chrbtice, 2-vertebrogénny bolestivý syndróm. Lokalizácia bolesti: 3-šija, 4-hrudná chrbtica, 5-drieková chrbtica, 6-kríže. Bolesť sa prejavuje: 7-po telesnom zaťažení, 8-pri voľných pohyboch, 9-v pokoji.

Na obr. 1 je znázornený výskyt prekonaných poranení chorobných zmien chrbtice a bolesti chrbtice vo vyšetrovanom súbore. Poranenia sa zistili najviac u pomocného zdravotníckeho personálu (4,7 %). Rozdiel je významný v porovnaní s 2 ostatnými skupinami pracovníčok ( $p < 0,01$ ).

Zaujímavé je, že výskyt vertebrogénneho bolestivého syndrómu je takmer rovnaký u sestier (31,2 %), a u pomocného personálu (31,4 %). Najmenej sa vyskytoval u laborantiek (22,2 %). Lokalizáciu bolesti uvádzali ženy predovšetkým v oblasti stavcov L5 - S1, najviac pomocné pracovníčky (22,1 %), na 2. mieste v poradí boli laborantky (14,8 %). Rozdiel bol štatisticky významný v porovnaní so sestrami ( $p < 0,01$ , resp.  $p < 0,001$ ).

Bolesti chrbtice sa vyskytovali najviac po telesnom zaťažení vo všetkých 3 skupinách žien (najviac u zdravotných sestier - 19,0 %, najmenej u laborantiek - 14,8). Rozdiely neboli štatisticky významné.



Obr.2 Výskyt poranení, chorobných zmien horných končatín a bolestí horných končatín súboru zdravotníckych pracovníčok z 2 bratislavských nemocníc; 1-poranenia horných končatín, 2-choroby svalovej, kostrovej sústavy a spojivového tkaniva v oblasti hornej končatiny. Lokalizácia bolesti: 3-rameno, 4-lakeť, 5-zápästie, 6-ruka. Bolesť sa prejavuje: 7- po telesnom zaťažení, 8-pri voľných pohyboch, 9-v pokoji.

Obr. 2 ilustruje výskyt poranení, chorobných zmien a bolestí horných končatín v súbore zdravotníckych pracovníčok.

Chorobné zmeny horných končatín uvádzalo 7,4 % laborantiek, na 2. mieste boli sestry (4,5%), na 3. mieste pomocný personál (2,2 %). Bolesť sa u nich prejavovali predovšetkým po zaťažení (v 7,4 %). Zistené rozdiely neboli štatisticky významné.



Obr.3 Výskyt poranení, chorobných zmien dolných končatín a bolestí dolných končatín súboru zdravotníckych pracovníčok z 2 bratislavských nemocníc; 1-poranenia dolných končatín, 2-choroby svalovej, kostrovej sústavy a spojivového tkaniva v oblasti dolnej končatiny. Lokalizácia bolesti: 3-bedrá, 4-kolená, 5-členky, 6-nohy. Bolesť sa prejavuje: 7- po telesnom zaťažení, 8-pri voľných pohyboch, 9-v pokoji.

Na obr. 3 je znázornený výskyt poranení a chorobných zmien dolných končatín u zdravotníckych pracovníčok. Prekonané poranenia dolných končatín boli približne rovnaké u všetkých skupín (6,8 - 8,1 % žien). Chorobné zmeny uvádzali najviac laborantky (11,1 %) a zdravotné sestry (10,2 %). Výskyt týchto zmien bol vyšší - na hranici významnosti ( $p < 0,05$ ) v porovnaní s pomocným zdravotníckym personálom (3,5 %).

## Diskusia

Problémami práce zdravotných sestier sme sa už zaoberali z viacerých aspektov. Boli to otázky chorobnosti a pracovnej neschopnosti, spokojnosti sestier s prácou a s pracovnými podmienkami, pracovného zaťaženia, atď. Ako vyplýva z našich predchádzajúcich štúdií, muskulo-skeletálne choroby boli na 2. mieste v poradí pracovnej neschopnosti stredného zdravotníckeho personálu, a to za chorobami dýchacieho ústrojenstva. Toto zistenie je porovnateľné s pracovnou neschopnosťou pracovníčok v priemysle v SR, kde sa taktiež choroby muskulo-skeletálneho systému zaradili na 2. miesto v poradí pracovnej neschopnosti žien.

Práca stredného a nižšieho zdravotníckeho personálu je charakterizovaná okrem námahy neuropsychickej aj výraznou námahou fyzickou. Percentuálny podiel času pracovnej smeny, pripadajúci na chôdzu a státie nášho súboru zdravotníckych pracovníčok pri práci, bol priemerne 76 % pracovnej smeny. Na hygienu a manipuláciu s pacientmi pripadalo priemerne 11 % pracovného času. Väčšina manipulácií s pacientom i s materiálom sa vykonávala bez akýchkoľvek mechanizmov.

Herdtmann (3) zdôrazňuje, že problémy chrčtice, ktoré vyplývajú z poškodenia prácou, môžu byť zapríčinené fixovanými a forsírovanými polohami, ťažkou fyzickou námahou a klimatickými faktormi. Vo väčšine prípadov ide o kombináciu viacerých faktorov. Odporúča, aby sa nepriaznivým pracovným polohám predchádzalo individuálnym úspôsobením pracoviska. Uvádza, že technický pokrok znižuje počet miest a pracovísk, ktoré vyžadujú ťažkú fyzickú prácu. Tam, kde to nie je možné, treba uvažovať o technike zdvíhania bremien. V súčasnosti sa ukazuje aj dôležitosť prevencie lézií, vyvolaných v dôsledku dlhodobého sedenia. Pri analýze ťažkostí muskulo-skeletálneho systému treba brať do úvahy aj mimopracovnú záťaž žien (práca v domácnosti, práca v záhradách, chatách, starostlivosť o deti, o ťažko chorých rodinných príslušníkov a pod.).

## Literatúra

1. Medzinárodná klasifikácia chorôb a príbuzných zdravotných problémov. 10. revízia, Obzor, 1993, 171 s.
2. Arad, D., Ryad, M. D.: The incidence and prevalence in nurses of low backpain: a definitive survey exposes the hazards. Aust. Nurs. J., 1986, s. 44 - 48.
3. Herdtmann, A.: Prophylaxe von Wirbelsaulenschaden am Arbeitsplatz. Orthopade, 19, 1990, č. 3, s.150 - 157.
4. Smulders, P. G. W.: Arbeitssituaties en bedrijfsgerondheidszorg in ziekenhuizen. Report. Netherlands Institut voor Preventive Geneeskunde. Leiden NIPG.

Scripta medica	70	Supplementum 4	226-231	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Klinika nemocí plicních a tuberkulózy, FNsP Brno, Bohunice

Dept. of Lung Diseases and Tuberculosis, University Hospital, Brno-Bohunice, Czech Republic

**Pokorný A.**

## **Smoking Habit: A Risk Factor Affecting the Ventilatory Function of the Lung in Surviving and Deceased Men.**

### **Kuřácký návyk, rizikový faktor ovlivňující ventilační plicní funkci u přežívajících a zemřelých mužů**

#### **Souhrn**

Byl analyzován kuřácký návyk a změna plicní funkce u mužů brněnské aglomerace výchozího věku 40 - 64 roků, kteří byli sledováni v dlouhodobé epidemiologické studii chronické bronchitidy. Byly porovnány údaje od žijících mužů s těmi, kteří po dvou vyšetřeních během dalšího sledování zemřeli.

Mezi žijícími byla o polovinu vyšší četnost nekuřáků než mezi zemřelými, a naopak, nejvíce současných kuřáků bylo mezi zemřelými. Četnost bývalých kuřáků se výrazně nelišila. Nejvíce současných kuřáků bylo mezi zemřelými na plicní onemocnění.

Při sledování VC a FEV<sub>1</sub> ve vztahu ke kouření se prokázalo, že kuřáci měli horší výchozí hodnoty než nekuřáci. Zemřelí pak měli hodnoty nižší. Průměrný roční pokles obou funkčních hodnot byl větší ve skupinách kuřáků.

Výsledky prokazují, že kuřácký návyk výrazně spolupředurčuje kondici i délku života nejen daného jedince, ale i celé populace.

**Klíčová slova:** kuřácký návyk, ventilační funkce plic, srovnání přežívajících a zemřelých

#### **Summary**

Smoking habits and changes in pulmonary function were analysed in men from Brno agglomeration, aged 40-64 years on first examination and followed up in the framework of long - term epidemiological study of chronic bronchitics. Data from the surviving men were compared with those who died during the follow-up, completing only two examinations.

Among survivors, the number of non-smokers was twice as large as among the deceased; on the other hand, most smokers were among the deceased. The number of ex-smokers did not differ considerably. Smokers were most frequently found among those who died of lung diseases.

Smokers had worse VC and FEV<sub>1</sub> values at the beginning than had non-smokers; the deceased had the value lower. The average yearly decrease in both parameters was greater among the smokers.



The results prove that smoking habit significantly determines both the condition and the length of life not just in individual, but also in the whole population.

Key words: Smoking habit, ventilatory function of the lung, comparison between surviving and deceased men.

## Úvod

Inhalace tabákového kouře je jedním z rizikových faktorů, které ovlivňují nejen individuální zdravotní stav jedince, ale i celé populace. U chronicky probíhajících onemocnění dýchacího ústrojí může mít zásadní úlohu v etiopatogeneze a nebo nepříznivě působit na jejich průběh a léčbu. Vyhodnotili jsme vliv kuřáckého návyku a ventilační funkci plic u mužů, kteří byli sledováni v longitudinální epidemiologické studii.

## Materiál a metoda

Podrobný popis souboru vyšetřených osob a metodiky longitudinální studie epidemiologie chronické bronchitidy byl publikován (1).

Podklady byly získány od mužů brněnské aglomerace, výchozího věku 40 - 64 roků, pomocí standardního dotazníku BMRC (British Medical Research Council). Funkční vyšetření bylo provedeno na suchém spirometru (zn. Vitalograph). Pro výpočet náležitých hodnot VC a FEV<sub>1</sub> bylo použito norem, které publikoval Quanier (2).

Do studie bylo zařazeno 2736 mužů, ke kontrole po 10 letech se dostavilo 1113 osob a při třetím vyšetření, s odstupem dalších 14 let bylo možno z původního souboru vyšetřit ještě 330 osob.

V centrálním registru obyvatelstva bylo zjištěno, že mezi druhým a třetím vyšetřením zemřelo 455 osob. Příčina úmrtí byla objasněna z úmrtních listů a údajů v matrice u 326 mužů. Údaje od těchto zemřelých osob z prvních dvou vyšetření byly porovnány s odpovídajícími údaji od mužů, kteří se dostavili k třetímu vyšetření. Na kardiovaskulární onemocnění zemřelo 121 (37,1%), na plicní choroby 85 (26,1%) a na jinou příčinu 120 (36,8%) mužů.

Sledované osoby byly rozděleny dle kuřáckého návyku.

## Výsledky

Při porovnávání kuřáckého návyku u žijících a zemřelých mužů bylo mezi zemřelými o polovinu méně nekuřáků, a to jak při prvním (22,7% oproti 41,9%), tak i při kontrolním vyšetření (21,5% oproti 40,7%). Naopak, četnost kuřáků byla ve skupině zemřelých mužů v porovnání se žijícími statisticky významně vyšší jak při prvním (56,1% oproti 40,7%), tak i při vyšetření po 10 letech (45,7% oproti 29,8%). Četnost bývalých kuřáků se v obou skupinách statisticky významně nelišila. Při prvním vyšetření bylo mezi žijícími muži 17,4% bývalých kuřáků a mezi zemřelými 21,2%, po deseti letech 29,5%, resp. 32,8%.

Nejvyšší četnost kuřáků byla mezi zemřelými na plicní onemocnění (67,1% při prvním a 60,0% při vyšetření s odstupem 10 roků. Tato četnost byla statisticky významně vyšší jak v porovnání se zemřelými na kardiovaskulární onemocnění (47,8% resp. 36,4%), tak i se skupinou zemřelých na

jiná onemocnění (56,7% resp. 45,0%). Naopak, nejnižší četnost nekuřáků byla ve skupině zemřelých na plicní onemocnění (15,3% resp. 12,9%).

Četnost mužů, udávajících produktivní kašel, splňující epidemiologická kritéria chronické bronchitidy se mezi žijícími a zemřelými probandy statisticky významně nelišila, a to jak při prvním vyšetření (27,9% oproti 25,8%), tak i po deseti letech (23,9% oproti 27,0%). Nejvíce bronchitiků bylo mezi kuřáky zemřelými na plicní onemocnění (31,3%).

Dušných osob bylo nejvíce mezi zemřelými muži. Dušnost třetího nebo čtvrtého stupně uvádělo v této skupině 11,7% při prvním a 22,2% při vyšetření s odstupem 10 let. Mezi žijícími jsme zaznamenali dušnost u 7,3%, resp. 15,8% mužů. Rozdíly mezi žijícími a zemřelými jsou statisticky významné. Nejčastěji byla dušnost uváděna bývalými kuřáky, a to v obou sledovaných skupinách. Dušnost byla zřejmě jedním z dominantních důvodů pro zanechání kouření. Nebylo významnějších rozdílů v četnosti dušných osob ve vztahu ke kouření a příčině úmrtí.

Při vyšetření plicní funkce byly zaznamenány nižší hodnoty u zemřelých mužů, a to již při prvním vyšetření. U zemřelých byla průměrná hodnota VC 4037 ml a FEV<sub>1</sub> 3149 ml, u žijících VC 4403 ml a FEV<sub>1</sub> 3517 ml. Za 10 roků hodnoty VC a FEV<sub>1</sub> poklesly o 11,9%, resp. 15,4% u zemřelých, a o 9,8%, resp. 10,8% u žijících. Průměrný roční pokles VC byl u zemřelých 48,6 ml, u žijících 42,8 ml, u FEV<sub>1</sub> 48,7ml, resp. 38,2 ml (tab. č. 1).

Tabulka č. 1:

Změna funkčních hodnot - kuřácký návyk							
	Žijící			Zemřelí			
	N	BK	K	N	BK	K	
VC I.studie	4 494	4 313	4 255	4 116	4 052	4 000	ml
Pokles VC	8,3	9,2	11,6	11,1	12,2	15,4	%
FEV <sub>1</sub> I.studie	3 582	3 523	3 448	3 310	3 148	3 086	ml
Pokles FEV <sub>1</sub>	8,1	11,1	13,9	11,0	14,7	18,0	%
Průměrný roční pokles VC	37,3	39,1	49,6	45,5	49,5	61,4	ml
Průměrný roční pokles FEV <sub>1</sub>	28,9	38,9	48,1	36,5	46,2	55,6	ml

Při sledování VC a FEV<sub>1</sub> ve vztahu ke kouření se prokázalo, že kuřáci měli horší výchozí hodnoty než nekuřáci. Zemřelí pak, jak zachycuje tab. č. 2 měli ve všech skupinách hodnoty nižší.

Tabulka č. 2:

Změna funkčních hodnot - celá populace			
	Žijící		Zemřelí

VC I.studie	4 403	4 037	ml
Pokles VC	9,8	11,9	%
FEV <sub>1</sub> I.studie	3 517	3 149	ml
Pokles FEV <sub>1</sub>	10,8	15,4	%
Průměrný roční pokles VC	42,8	48,6	ml
Průměrný roční pokles FEV <sub>1</sub>	38,2	48,7	ml

VC poklesla u žijících nekuřáků za desetileté období o 8,3% a u zemřelých o 11,1%, avšak u kuřáků o 11,6%, resp. 15,4%. Hodnoty FEV<sub>1</sub> poklesly u žijících nekuřáků o 8,1% a u zemřelých o 11%. Ve skupině současných kuřáků byl pokles FEV<sub>1</sub> významnější, u žijících o 13,9%, u zemřelých o 18%.

Průměrný roční pokles obou funkčních hodnot byl větší ve skupinách kuřáků. U žijících současných kuřáků dosáhl hodnoty 49,6 ml u VC a 48,1 ml u FEV<sub>1</sub>, u zemřelých současných kuřáků 61,4 ml, resp. 55,6 ml. Při porovnání s nekuřáky, jak zachycuje tabulka byly tyto hodnoty až o 19,2 ml vyšší.

## Diskuse

Při analýze vývoje plicní funkce u populačních vzorků je nutné zohlednit věk, pohlaví, čistotu ovzduší, prašné pracovní prostředí, infekce v dětství, sociálně ekonomické vlivy i zvyklosti a další. Z nejvýznamnějších faktorů ovlivňujících vývoj plicní funkce je inhalace tabákového kouře (3).

Změny plicní funkce obstrukčního charakteru lze prokázat bezprostředně po vykouření cigarety. Existuje názor, že neuroendokrinní buňky jsou zodpovědné za individuální vnímavost na cigaretový kouř a tak hrají důležitou roli v rozhodnutí, u kterého z kuřáků cigaret se vyvine obstrukce dechových cest nebo jiné onemocnění ve spojitosti s kouřením (4).

Závažnost bronchiální obstrukce je ovlivňována délkou kuřáckého návyku, denním množstvím vykouřeného tabáku, způsobem inhalace, ale i pasivním kouřením (5). Většina prací zabývajících se plicní funkcí v závislosti na kouření se soustřeďuje na změnu FEV<sub>1</sub>.

Xu a spol. (6) prokázali u obou pohlaví větší pokles FEV<sub>1</sub> u kuřáků, a to v závislosti na denní zvyklosti konzumace cigaret. V našem souboru bylo 48% mužů středně silných kuřáků, vykouřili 15 - 24 cigaret denně, ale 7,2% mužů kouřilo denně více než 40 cigaret. Pozorovali jsme vyšší četnost obstrukční nebo kombinované poruchy u těžkých kuřáků, ale bližší rozbor jsme neprováděli.

Vzájemné srovnání mezi publikovanými změnami FEV<sub>1</sub> je obtížné, neboť soubory nejsou kompatibilní dle výše uvedených faktorů, ovlivňujících vývoj plicní funkce. Významnou roli má věk, od kterého se odvíjejí další faktory, jako je délka a závažnost kuřáckého návyku, profesionální prašná expozice a její délka i další. Některé studie sledují probandy již od věku 15 let. Pro analýzu se ukazuje prospěšné rozdělit soubor na osoby mladší a starší 45 roků. V období do 45 let je průměrný roční pokles FEV<sub>1</sub> větší než u osob starších, přičemž pokles v mladší věkové skupině nemá lineární charakter (6).

V dřívějších studiích jsme prokázali, že mezi osobami pracujícími v profesích s vysokou expozicí prachu je v porovnání se zbývající populací větší četnost kuřáků. Zjistili jsme kumulativní účinek obou rizikových faktorů, kouření a prašné expozice na ventilační plicní funkci (7).

Při dlouhodobém sledování plicní funkce se uplatňuje i četnost osob postižených kardiovaskulárním nebo respiračním onemocněním v populaci. I když takto nemocné osoby se vyskytují i mezi nekuřáky, mezi kuřáky je prevalence takto postižených osob větší. Pro tento předpoklad svědčí i naše pozorování. Nejvyšší četnost kuřáků při obou vyšetřeních byla ve skupině osob, které zemřely na plicní onemocnění. Ve srovnání se skupinou zemřelých na kardiovaskulární onemocnění nebo na jiná onemocnění byl rozdíl v četnosti statisticky významný. Největší četnost mužů, kteří zanechali kouření, byla mezi zemřelými na kardiovaskulární onemocnění (38%). Dá se předpokládat, že počínající kardiovaskulární onemocnění se podílelo na zhoršení plicní funkce, vnímané postiženými osobami jako dušnost, která vedla k zanechání kouření.

Zkušenosti nám ukázaly, že zařazení do skupiny podle příčiny úmrtí není i při ověření diagnózy z úmrtního listu přesné. Lékař vystavující úmrtní list není často obeznámen s klinickým stavem před úmrtím a při náhlém úmrtí nemocného s respirační chodobou uvádí jako příčinu smrti kardiovaskulární onemocnění. Enarson (8) uvádí, že polovina zemřelých na chronickou obstrukci dýchacích cest je nesprávně diagnostikována i při pitevním nálezu.

Při porovnání souborů přežívajících a zemřelých mužů jsme našli u zemřelých nižší průměrné hodnoty VC i FEV<sub>1</sub> o 8,1%, resp. 10,5%, již při prvním vyšetření. U zemřelých mužů byl průměrný roční pokles VC o 10,3ml a FEV<sub>1</sub> o 9,9 ml větší než u žijících.

Skupina zemřelých osob měla vyšší věkový průměr, ale v porovnání se žijícími nebyl rozdíl statisticky významný.

U žijících i zemřelých mužů jsme zaznamenali v porovnání s nekuřáky větší průměrný roční pokles VC a FEV<sub>1</sub> ve skupinách současných i bývalých kuřáků. U zemřelých mužů byl pokles větší. Lze uzavřít, že kuřácký návyk předurčuje již před 40 rokem života zdravotní stav nejen daného jedince, ale výsledně i celé populace. Zanechání kouření i v pozdějším věku může příznivě ovlivnit plicní funkci, o čemž svědčí lepší funkční plicní hodnoty u bývalých kuřáků v porovnání se současnými kuřáky.

## Literatura

- 1 Pokorný, A.: Dvacetičtyřleté sledování výskytu vleklého zánětu průdušek u mužů městské populace. Stud. pneumol. phtiseol. cechoslov., 52, 1992, č.2, s. 105-113.
- 2 Quanier, Ph.H.: Standardized lung function testing. Report working party "Standardisation of lung function tests". European community for coal and steel, Luxembourg, 1982.
- 3 Holland, W.W.: Chronic obstructive lung disease prevention. Chest, 82, 1988, č.1, s. 32-44
- 4 Aquayo, S.M.: Determinants of susceptibility to cigarette smoke. Potential roles for neuroendocrine cells and neuropeptides in airway inflammation, airway wall remodelling, and chronic airflow obstruction. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1994, č.6. s.1693-1698..
- 5 Dayal, H.H., Khuder, S., Sharrar, R., Trieff, N.: Passive smoking in obstructive respiratory disease in an industrialised urban population. Environ. res., 65, 1994, č.2. s. 161-171.

- 6 Xu, X., Weiss, S.T., Rijcken, B., Schouten, J.T.: Smoking, changes in smoking habits, and rate of decline in FEV<sub>1</sub>: new insight into gender differences. *Eur. Respir. J.*, 1994, č.7, s. 1056-1061.
- 7 Pokorný, A.: K problematice vlivu kouření na výskyt vleklého zánětu průdušek u mužů profesionálně exponovaných prachem. *Stud. pneumol phtiseol. cechoslov.* 51, 1991, č. 6, s. 33-44.
- 8 Enarson, D.A., Newman, S.C., Fran, R.L.: Chronic airways obstructive leading to chronic hypoxemic respiratory failure: an estimate of the size and trend of the problem in Canada. *Bull. Int. Un. Tuberc. Lung.Dis.*, 66, 1991, č.2/3, s. 113-123.

Scripta medica	70	Supplementum 4	232-237	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Vojenská lékařská akademie JEP,  
Katedra epidemiologie, Hradec Králové  
Vojenský zdravotní ústav, České Budějovice

**Beran J., Douša P., Prymula R., Šplího M., Grál P., Rychlý R.**

## **České U.N. jednotky - séroprevalence anti-HAV protilátek v letech 1991 - 1994**

### **Souhrn**

Virová hepatitida A je časté onemocnění především v rozvojových zemích. Všichni pracovníci a jednotky U.N. (Organizace spojených národů) jsou očkováni proti VHA vakcinou HAVRIX. České jednotky, které působily a působí na území bývalé Jugoslávie, nejsou dosud vakcinováni proti této přenosné chorobě.

Hlavním cílem studie bylo získat data o promořenosti VHA mezi českými vojáky U.N. jednotek před jejich odjezdem do místa působení. Séra byla vyšetřována metodou MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) v plně automatizovaném systému IMx ve Vojenském zdravotním ústavu České Budějovice. K vyšetření jsme použili sety HAVAB od firmy ABBOTT.

Celkem bylo získáno 667 vzorků sér, z nichž 19 muselo být vyřazeno pro malé množství (méně než 50 ul) nebo hemolýzu. Na pozitivní titr "totál" protilátek, který byl nastaven 35 mIU anti-HAV, bylo tedy vyšetřováno celkem 648 vzorků v letech 1991 - 1994 (1991-65, 1992-296, 1993-265, 1994-22). Z nich 249 (38,4%) bylo pozitivních a 399 (61,6%) negativních. Vyšetřované osoby jsme rozdělili do čtyř věkových kategorií po deseti letech (20-29), 30-39, 40-49, 50-59), kde přibližná distribuce vzorků byla 23%, 50%, 25%, 2%. Poměr negativních a pozitivních vzorků v jednotlivých věkových kohortách byl 1:0,3, 1:0,6, 1:1, 1:2,7.

Séroprevalence anti-HAV protilátek narůstá od 25,3% v první věkové kohortě (v druhé 37,9%, ve třetí 49,5%) až po 72,7% v poslední věkové kohortě, tj. ve věku od 50 do 59 let věku. Výsledky ukazují velmi nízkou promořenost v nižších věkových kategoriích a nutnost očkovat před odjezdem.

### **Klíčová slova**

Promořenost, Séroprevalence, České U.N. jednotky, Anti-HAV, Očkování, Havrix

### **Úvod**

Virová hepatitida A vzniká infekcí virem hepatitidy A (6, 16, 22), který se řadí mezi Picornaviry s jednovláknovou RNA a je většinou přenášen fekálně orální cestou. Toto onemocnění je endemické především v rozvojových zemích, a je vždy spojeno s nízkou úrovní hygienického standardu (8, 9). Česká republika se často ve statistikách vykazuje jako země s nízkou endemicitou. Pro ni je typická séroprevalence anti-HAV protilátek vyšší než 80% ve věku na 50 let (6, 11, 14, 18, 19, 26, 27).

Všichni pracovníci jednotek OSN, kteří pracují v ohniscích konfliktů, kde se objevuje nízká úroveň sanitace, jsou preventivně očkováni proti VHA. Očkování je možné provádět podle několika schémat, vždy podle toho, kolik času zbývá do odjezdu U.N. jednotky do místa působení.

V Armádě České republiky je jednotka vytvořena teprve 5 týdnů před odjezdem. Ve vysokém procentu (mezi 90 až 95%) sem vstupují civilisté. Oba faktory jsou významnou limitací pro možné kompletní očkování proti virové hepatitidě A.

Dalším velmi významným omezením pro očkování je to, že jednotka v místě konfliktu působí pouze po dobu 6 měsíců a původní civilisté se vracejí zpět do civilu. Proto bude postačovat, aby v případném vakcinačním schématu přetrvával dostatečný titer protilátek (20 mIU) (21, 24) pro ochranu proti hepatitidě A po tuto dobu.

V případě našich kontingentů, které působily a působí na území bývalé Jugoslávie se vakcinace proti VHA Havrixem dosud neprovádí.

## **Cíle**

Hlavním cílem studie bylo získat data o promořenosti VHA mezi českými vojáky U.N. jednotek před jejich odjezdem do místa působení. Protože mnozí z nich přicházejí do armády z civilu (v naší studii 92,8%), nejsou výsledky vnitřně validní jen pro vyšetřovaný soubor, ale je možno některé poznatky o promořenosti aplikovat na běžnou mužskou populaci České republiky (15, 19, 20).

## **Metodika**

Vzorky sér byly získávány náhodně (každý druhý) v průběhu vstupního šetření ve Vojenské nemocnici České Budějovice ještě před odjezdem vojáků. Počet vyšetřených v nemocnici kolísal podle roku vytvoření jednotky (1991 \_ 1994), protože především v posledních letech byla vyšetření prováděna i v jiných vojenských nemocnicích. Séra byla vyšetřována v průběhu prosince 1994 ve Vojenském zdravotním ústavu České Budějovice. Vyšetření byla prováděna metodou MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) v plně automatizovaném systému IMx za použití vyšetřovacích setů HAVAB firmy ABBOTT. Ty jsou vhodné především pro zjištění přirozených protilátek (4). Pozitivní titer "totál" protilátek byl nastaven 35 mIU anti-HAV.

Vyšetřované osoby jsme rozdělili do čtyř věkových kategorií po deseti letech (20-29, 30-39, 40-49, 50-59), kde byla distribuce vzorků 23,3%, 50,0%, 25,0%, 1,7% (graf č. 1, tabulka č. 1). V těchto věkových kategoriích jsme zjišťovali počty anti-HAV pozitivních a negativních vzorků. Jejich poměrem pak byla určena séroprevalence anti-HAV protilátek v kohortách.

Celkem bylo získáno během čtyř let 667 vzorků sér, z nichž 19 muselo být vyřazeno pro malé množství (méně než 50 ul) nebo hemolýzu. Celkem bylo tedy vyšetřováno 648 vzorků. Ty byly získány v letech 1991 - 1994 (1991-65, 1992-296, 1993-265, 1994-22). Rozložení vzorků ukazuje graf č. 2.

## Výsledky a diskuse

Přehled absolutních počtů vyšetřených vzorků ve věkových kohortách uvádí tabulka č. 1. Vyšetřením bylo určeno 249 vzorků pozitivních (38,4%) a 399 vzorků negativních (61,6%). Séroprevalence protilátek anti-HAV u českých vojáků U.N. jednotky uvádí poslední sloupec této tabulky. Ta narůstá od 27,8% v první věkové kohortě až po 72,7% v poslední věkové kohortě, tj. ve věku od 50 do 59 let věku (též graf č. 3). To koresponduje s údaji v Německu a Holandsku (19, 23), kde byla séroprevalence zjišťována v identických věkových kohortách. Z tabulky i grafu č. 3 je jasně vidět nárůst séroprevalence s věkem. Průměrná promořenost v jednotce byla 38,4% a je téměř shodná s údaji v populaci USA (15, 20). Tyto výsledky byly zjištěny v průběhu studie NHANES II (National Health and Nutrition Examination Survey) v letech 1976 - 1980. Byl vybrán rozsáhlý reprezentativní soubor, kde celková prevalence anti-HAV byla kolem 38%. V jednotlivých věkových kohortách postupně narůstala a v poslední nad 50 let dosahovala 74% (15, 20).

Výsledky naší studie ukazují velmi nízkou promořenost v nižších věkových kategoriích. Promořenost, neboli poměr pozitivních a negativních vzorků v celém souboru byl 1:1,4. Poměr negativních a pozitivních vzorků v jednotlivých věkových kohortách byl 1:0,4, 1:0,6, 1:1, 1:2,7.

Kromě doporučení OSN očkovat všechny pracovníky působící v oblasti válečných konfliktů proti hepatitidě A existují v našich podmínkách ještě další důvody. Především je to námi prokázána velmi nízká séroprevalence anti-HAV hlavně v nižších věkových kategoriích. Muži přicházejí do jednotky především z civilu (92,8%) a do služby nastupují 5 týdnů před odjezdem jednotky. Neexistuje tedy možnost aktivní imunizace klasickým schématem HAVRIX 3x720 EU (0,1,6 měsíců) (1, 2, 3, 9, 22, 23, 27). Navíc je toto schéma velmi drahé. Kompletní očkování stojí v České republice přibližně 2400 Kč. Vojáci opouštějí jednotku po 6 měsících a proto kompletní schéma vakcinace s protektivitou 10 let je zbytečné. Dále je nutné uvést, že jednotky UNPROFOR jsou skupinou s vysokým rizikem získání virové hepatitidy A (3, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 17, 28).

Je jisté, že při uvedení těchto argumentů je očkování nutno provádět. Je tedy otázkou jak očkovat. Vzhledem k vysoké ceně jedné dávky vakciny se vyplatí provést ihned po nástupu do jednotky v Českém Krumlově prevakcinační screening (25). V našich podmínkách jedno vyšetření stojí okolo 200 Kč. Proto pokud séroprevalence neklesne pod 20%, vždy se ekonomicky vyplatí provést prevakcinační vyšetření "totál" anti-HAV protilátek. To prokazováno i jinými autory (25). Oba přístupy (Havrix 2,720 EU, Havrix 1x1440 EU) očkování podle dosavadních literárních údajů (3, 7, 8, 9, 10, 17, 20, 21, 24, 26) přinášejí séropozitivitu od 96% do 100,0% a dostatečně ochranný titer protilátek (minimálně 20 mIU) po celých 6 měsících služby.

V současné době bylo rozhodnuto přistoupit k vakcinaci Havrixem u českých U.N. jednotek. Prozatím bude použito schéma 2x720 EU, protože registrace Havrix 1440 nebyla prozatím v České republice ukončena.

## Závěry

1. Séroprevalence anti-HAV protilátek na základě výsledků naší studie je v běžné české mužské populaci velmi nízká. Ve výše uvedených čtyřech věkových kohortách roste s věkem od 27,8% v první věkové kohortě do 72,7% v poslední věkové skupině.



Na základě výsledků séroprevalence anti-HAV protilátek ve studii, literárních údajů a limitujících faktorů očkování proti VHA byl doporučen postup dvoudávkového schématu při použití vakciny HAVRIX 720 EU v jednom dni do dvou aplikačních míst (m.deltoideus).

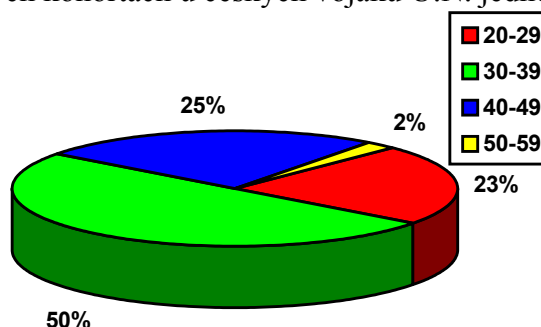
Tabulka č.1:

Počty vyšetřených vzorků sér na přítomnost „totál“ anti-HAV a séroprevalence ve věkových kohortách u českých vojáků U.N. jednotek:

Věk	Pozitivní	Negativní	Celkem	Procento	Promořenost
20-29	41	110	151	23,3	27,8
30-39	120	204	324	50,0	37,9
40-49	80	82	162	25,0	49,5
50-59	8	3	11	1,7	72,7
Celkem	249	399	648	100,0	38,4

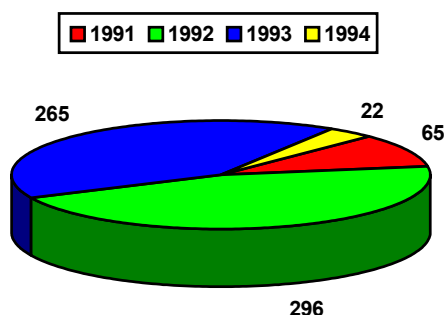
Graf č. 1:

Rozložení vzorků sér ve věkových kohortách u českých vojáků U.N. jednotek



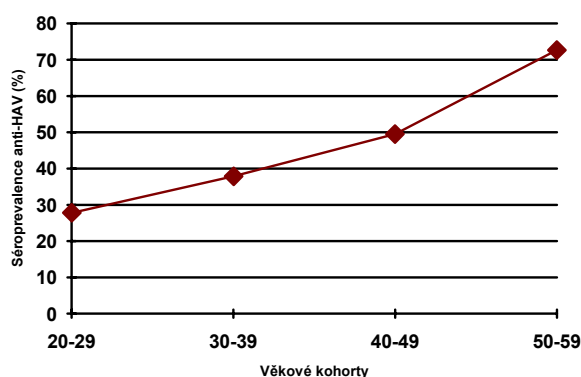
Graf č. 2:

Počty vzorků sér získaných v průběhu let 1991-1994 od českých vojáků U.N. jednotek



Graf č. 3:

Séroprevalence „totál“ anti-HAV protilátek ve věkových kohortách u českých U.N. jednotek



## Literatura

1. André F.E.: Approaches to a Vaccine against Hepatitis A: Development and Manufacture of an Inactivated Vaccine. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S33-S39.
2. Clemens R. et al.: Clinical Experience with an Inactivated Hepatitis A Vaccine. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S44-S49.
3. DeFraités R.F. et al.: Immunization of US Soldiers with a Two-Dose Primary Series of Inactivated Hepatitis A Vaccine. Early Immune Response, Persistence of Antibody, and Response to a Third Dose at 1 Year. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S61-S69.
4. Delem A.D.: Comparison of Modified HAVAB and ELISA for Determination of Vaccine-Induced Anti-HAV Response. *Biologicals*, 20, 1992, 289-291.
5. Dhondt E. et al.: Efficacy of an Inactivated Hepatitis A Vaccine in Pre- and Postexposure Conditions in Marmosets. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S40-S43.
6. Gust I.D.: Epidemiological patterns of hepatitis A in different parts of the world. *Vaccine*, 10, Suppl. 1, 1992, S56-S58.
7. Hoke C.H. et al.: Hepatitis A in the US Army: epidemiology and vaccine development. *Vaccine*, 10, Suppl. 1, 1992, S75-S79.
8. Hoke C.H. et al.: Administration of Hepatitis A Vaccine to a Military Population by Needle and Jet Injector and With Hepatitis B Vaccine. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S53-S60.
9. Hollinger F.B. et al.: Discussion: Who Should Receive Hepatitis A Vaccine? A Strategy for Controlling Hepatitis A in the United States. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S73-S77.
10. Horng Y.-Ch. et al.: Safety and immunogenicity of hepatitis A vaccine in healthy children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 12, 1993, 5, 359-362.
11. Hwang L.-Y. et al.: Incidence of hepatitis A virus infection in children in Taipei, Taiwan. *Intervirology*, 20, 1983, 149-154.
12. Iwarson S.: New Vaccines against Hepatitis A Enter the Market - But Who Should Be Vaccinated? *Infection*, 20, 1992, 4, 192-193.
13. Iwarson S.A.: Vaccination Strategies for the 1990s. *Vaccine*, 11, Suppl. 1, 1993, S4-S5.
14. Klimenko S.M.: Viral hepatitis in the USSR. Working group on the control of viral hepatitis in Europe. Munich 1991, 22.-25. April.
15. Koff R.S.: Seroepidemiology of Hepatitis A in the United States. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S19-S23.
16. Melnick J.L.: History and Epidemiology of Hepatitis A Virus. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, suppl. 1, S2-S8.
17. Nalin D. et al.: Inactivated hepatitis A vaccine in childhood: implications for disease control. *Vaccine*, 11, Suppl. 1, 1993, S15-S17.
18. Nordenfelt E.: Hepatitis A in Swedish travellers. *Vaccine*, 10, Suppl. 1, 1992, S73-S74.

19. Papaevangelou G.: Epidemiology of hepatitis A in Mediterranean countries. *Vaccine*, 10, Suppl. 1, 1992, S63-S66.
20. Shapiro C.N. et al.: Epidemiology of hepatitis A: seroepidemiology and risk groups in the USA. *Vaccine*, 10, Suppl. 1, 1992, S59-S62.
21. Shouval D. et al.: Single and booster dose responses to an inactivated hepatitis A virus vaccine: comparison with immune serum globulin prophylaxis. *Vaccine*, 11, Suppl. 1, 1993, S9-S14.
22. Stapleton J.T.: Host Immune Response to Hepatitis A Virus. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S9-S14.
23. Steffen R.: Hepatitis A in Travelers: The European Experience. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S24-S28.
24. Tong M.J., CO R.L., Bellak C.: Hepatitis A Vaccination. *West. J. Med.*, 158, 1993, 6, 602-605.
25. Turner P.C. et al.: Screening before hepatitis A vaccination. *Lancet*, 340, 1992, 7, 1160.
26. Victor J. et al.: Hepatitis A vaccine. A new convenient single-dose schedule with booster when long-term immunization is warranted. *Vaccine*, 12, 1994, 14, 1327-1329.
27. Wolfe M.S.: Hepatitis A and the American Traveler. *J. Infect. Dis.*, 171, 1995, Suppl. 1, S29-S32.
28. Havrix 1440, Hepatitis A Vaccine - The One Step Approach. SmithKline Beecham. Firemní materiál, 1994.

Scripta medica	70	Supplementum 4	238-242	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Státní zdravotní ústav, Šroubárova 48, Praha

**Drahoňovská H., Hostičková M., Gajdoš P., Šrůtková P., Andresová E., Špelina V.**

## **Chemické látky, bakterie a plísně na novorozeneckých odděleních**

### **Souhrn**

Kvalita vnitřního prostředí má vliv jak na zdravotní stav pacientů, tak na spokojenost zdravotnického personálu. Desinfekce a chemická sterilizace používaná k snížení kontaminace povrchu, nástrojů a zařízení mikroorganismy, může být významným zdrojem těkavých organických látek (VOC<sub>S</sub>) v ovzduší. Vliv těchto látek, včetně formaldehydu, na počet mikroorganismů v ovzduší na novorozeneckých odděleních a v inkubátorech jsme sledovali ve třech pražských porodnicích v únoru 1995.

Z výsledků vyplynulo, že nejvyšší koncentrace těkavých organických látek a formaldehydu byly nalezeny na oddělení s nejvyšším počtem mikroorganismů v ovzduší. Nejnižší koncentrace chemických látek i mikroorganismů jsme prokázali na oddělení s účinnou klimatizací. Koncentrace všech měřených škodlivin v inkubátorech byly nižší, ale korespondovaly s hodnotami v místnostech, ve kterých byly inkubátory umístěny. Hlavním zdrojem chemických látek a formaldehydu v inkubátorech byly prokazatelně zařízení a přístroje lékařské péče po chemické sterilizaci.

Novorozenci v inkubátorech jsou vystaveni většinou krátkodobému, ale významnému riziku expozice chemickým látkám a formaldehydu, vyšším než nacházíme běžně v jiných vnitřních prostředích. Výsledky naší práce poukazují na možné následky nesprávného používání desinfekčních prostředků a upozorňují na jejich další, dosud pomíjený aspekt - vliv na kvalitu vnitřního ovzduší v nemocnicích.

### **Summary**

The premature infants in the incubators are exposed to a risk of a higher cocentration of chemicals and formaldehyd. The authors refer to a possible effects of uncorrect cleaning, disinfection and sanitation, and their unfavourable influence upon the quality of the indoor enviroment.

### **Úvod**

Desinfekční a čisticí prostředky jsou používány k snížení rizika přežívání a množení bakterií a jiných mikroorganismů v nemocničním prostředí a k zabránění šíření nosokomiálních nákaz. V odděleních s vysokými požadavky na kvalitu prostředí, např. na novorozeneckých odděleních, zejména JIP a ARO, kde jsou umístěni novorozenci s nízkou porodní vahou, jsou často desinfekční

prostředky používány v nadměrném množství. Existující předpisy a kontrola používání desinfekčních prostředků se týká především jejich účinnosti, další faktory prostředí, zejména způsob větrání, teplota a vlhkost vzduchu jsou často opomíjeny a podceňovány (1).

Předčasně narozené děti a děti s nízkou porodní hmotností jsou vůči prostředí velmi citlivé. Nezralý imunitní systém může být predispozicí k vzniku závažných infekčních onemocnění způsobených nejen patogenními, ale i nepatogenními mikroorganismy. Novorozenci s nedostatečnou vrstvou podkožního tuku, s omezenou regulací tělesné teploty i sníženou vitalitou, dochází u nich k nižší tvorbě tělesného tepla a k jeho zvýšeným ztrátám. Inkubátory, do kterých se umísťují, mají umožnit, aby se vývoj nezralých fyziologických funkcí odehrával za co nejmenšího stresu prostředí (2).

Prostor inkubátorů může být zdrojem velkého množství nejrůznějších chemických látek užívaných pro desinfekci. Přídavná zařízení a přístroje mohou být zdrojem formaldehydu po předchozí sterilizaci. Děti samotné jsou významným zdrojem bakterií, osidlujících zejména jejich respirační, zažívací trakt a kůži.

Zdravotnický personál, lékaři a jejich aktivity jsou jiným důležitým zdrojem vzdušných bakterií a plísní. Také pracovní plochy, nábytek a stěny místností mohou tvořit vhodný substrát pro růst a množení mikroorganismů. Venkovní vzduch je zdrojem nejen pevných prachových částic, chemických látek, ale i plísní, zatímco množství bakterií je v prostorách s pobytem lidí vždy vyšší než venku (3).

Cílem naší studie bylo měřit, analyzovat těkavé organické látky a stanovit množství vzdušných bakterií a plísní na odděleních intenzivní péče na novorozeneckých odděleních.

## **Metody**

Ve třech největších pražských porodnicích byla vybrána oddělení JIP a ARO pro sledování některých parametrů vnitřního prostředí. Oddělení A bylo umístěno ve staré budově, před plánovanou rekonstrukcí, bez klimatizace, pouze s přirozeným větráním okny. Oddělení B v částečně rekonstruované budově bylo vybaveno zastaralým mechanickým větracím systémem. Oddělení C bylo nově upraveno s funkční klimatizací s účinnými filtry a recirkulací vzduchu. Měření bylo prováděno v únoru 1995.

Vzorky vzduchu byly odebírány v místnostech s inkubátory, ve výši 150 cm nad podlahou uprostřed místnosti a uvnitř inkubátorů. Novorozenci netrpěli v době odběru vzorků žádným prokázaným infekčním onemocněním ani jeho symptomy. Provoz a režim na oddělení nebyl žádným způsobem omezován. Současně s odběry vzduchu byla měřena teplota a vlhkost vzduchu a prováděny odběry vzduchu venkovního.

Vzduch pro analýzu formaldehydu byl odebírán každou hodinu během tříhodinového intervalu. Použita byla standardní odběrová souprava skládající se z dvou impingerů, spojených za sebou, rotometru a čerpadla. Vzduch proudil skrz čisté skleněné impingry s absorpčním roztokem obsahujícím tetrachloromerkurát sodný. Absorpční roztok byl smíchán s pararosanilinem. Kvantitativní stanovení formaldehydu bylo na spektrofotometru SPEKOL 11 provedeno měřením absorpce při 570 nm a srovnáním s kalibrační křivkou získanou ze standardních roztoků formaldehydu.

Odběrové zařízení pro analýzy organických chemických látek se skládalo z hadic (Tygon), vzorkovací trubičky, rotametru a čerpadla. Organické látky byly sorbovány na trubičku s aktivním uhlím. Absorbované organické látky byly následovně desorbovány sirouhlíkem a identifikovány pomocí GC-MS. Kvantifikace byla provedena srovnáním s individuálními kalibračními křivkami získanými z standartními roztoky analytů.

Vzorky vzduchu k určení počtu vzdušných bakterií a plísni byly odebírány aeroskopem Biotest Hycon přímo na živná media. Objem vzduchu byl 100 l. Kultivační stripky byly kultivovány při 37 st. C 24-48 hodin pro identifikaci bakterií, při 25 st. C 3-5 dní k určení vláknitých hub - plísni. Počty kolonií byly přepočítány a vyjádřeny v jednotkách CFU<sub>m</sub><sup>3</sup>.

## Výsledky a diskuse

Výsledky měření jsou sumarizovány v tabulce 1

Koncentrace chemických organických látek byla prokazatelně nejvyšší na oddělení A, spolu s nejvyšším počtem bakterií. V počtu plísni jsme neprokázali mezi odděleními významné rozdíly. Hodnoty naměřených parametrů v inkubátorech závisely na kvalitě ovzduší v místnostech, ve kterých byly umístěny.

Teplota v místnostech během měření byla velmi vysoká - více než 26°C. Nejvyšší byla v oddělení A 26.6°C - 26.9°C. Teplota vzduchu může být proto považována za faktor související s vysokými koncentracemi chemických látek i bakterií v ovzduší.

Toulen, terpeny, C 13 alkany, di - butylftalát, xylen a limonen byly hlavními analyzovanými chemickými sloučeninami (tabulka č. 2).

K převládajícím typům plísni patřily *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. a *Alternaria* spp., mezi bakteriemi se nejčastěji vyskytovaly kmeny *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp. a *Bacillus* spp. Převládající kmeny *Staphylococcus* spp. jsou ukazatelem toho, že zdrojem vzdušných bakterií jsou především lidé. Za indikátor environmentální, např. neudržovaného klimatického zařízení je považován kmen *Enterobacter* spp. (5).

Nejvyšší venkovní koncentrace organických chemických látek i formaldehydu byla nalezena ve vzorcích venkovního ovzduší v oddělení A.

Laboratorní analýza zařízení pro resistutační péči - respirátor, maska a hadice před a po jejich sterilizaci prokázala, že jsou zdrojem velmi vysokých koncentrací formaldehydu - až 3515 ug/m<sup>3</sup>.

U použitého materiálu těchto zařízení - pryžové hadice, které ještě nebyly sterilizovány, nebyla prokázána zvýšená emise formaldehydu - 24 ug/m<sup>3</sup>. (tabulka č. 3).

Nálezy počtu plísni byly stejné nebo nižší s porovnáním s jejich množstvím v jiných prostředích. Odpovídá tomu i skutečnost, že nikde v měřených místnostech jsme nenašli viditelné známky jejich růstu. Pro tyto poměrně nízké hodnoty je obtížné odhadnout míru rizika poškození zdravé expozice plísním, i když je jim vystaven vnímavý organismus novorozence. *Aspergillus* spp. může způsobovat u imunologicky oslabených a deficitních jedinců, mezi které nedonošení novorozenci

patří, závažná systémová infekční onemocnění, přesto, že je běžně identifikován ve vzduchu nejruznějších vnitřních prostorů. (5).

Pro kvalifikovanější odhad rizika výskytu vzdušných bakterií, plísní a dalších mikroorganismů se zdá vhodnější stanovovat biomasu v ovzduší, včetně endotoxinů a alergenů. (6). Při používání hodnocení kvality ovzduší na základě počtu a identifikace mikroorganismů by bylo vhodné prokázat dlouhodobým sledováním jejich vliv na výskyt infekčních onemocnění a komplikací.

### Závěry

1. Množství bakterií a plísní v ovzduší interiérů závisí na způsobu větrání a dalších fyzikálních parametrech prostředí spíše než na frekvenci používání desinfekčních prostředků. Naopak desinfekční a sterilizační procesy mohou být významným zdrojem chemických látek, včetně formaldehydu v ovzduší interiérů.

2. Kvalita ovzduší v inkubátorech je závislá na kvalitě ovzduší v místnosti.

3. Při hodnocení vhodnosti použití desinfekčních prostředků je kromě jejich účinnosti třeba brát v úvahu jejich vliv na zhoršování kvality vnitřního prostředí.

4. Novorozenci v inkubátorech mohou být vystaveni vysokým koncentracím organických chemických látek a formaldehydu, jejichž zdrojem jsou zejména přístroje lékařské neodkladné péče po chemické sterilizaci.

Tabulka č. 1:  
Výsledky měření

	Oddělení A		Oddělení B		Oddělení C	
	místnost	inkubátor	místnost	inkubátor	místnost	inkubátor
t VOC <sub>s</sub> (μg/m <sup>3</sup> )	676-1220	86-423	37-54	47-85	14-23	10-18
Xyleny	63-126	57-81	5-19	19-50	8-13	10-46
Bakterie (FU/m <sup>3</sup> )	680-860	150-390	250-350	50-160	90-150	14-330
Plísně (CFU/m <sup>3</sup> )	30-40	10-30	0-180	0-30	0-10	0-20
Teplota (°C)	29,5-32,1	32,5-33,5	26,6-27	29-35,1	25,5-28,2	32,9-35,1
Venkovní VOC (μg/m <sup>3</sup> )	70,0		14,0		23,0	
Venkovní formaldehyd (μg/m <sup>3</sup> )	14,0		5,0		3,0	

Tabulka č. 2:  
Výsledky měření

	Oddělení A	Oddělení B	Oddělení C
--	------------	------------	------------

	místnost	inkubátor	místnost	inkubátor	místnost	inkubátor
Toluen	5-33	8-23	4-14	4-30	5-8	11-31
Xyleny	-	-	-	1-14	1-4	7-25
Terpeny	77-479	118-292	12-19	1-42	5-14	4-12
C9-C13						
Alkany	5-182	6-91	2-25	8-31	-	9-41
Limonen	-	-	0-12	6-13	5-14	4-12
Jiné	10-227	6-50	13-26	8-40	0-6	0-14

Tabulka č. 3:  
Koncentrace formaldehydu

Koncentrace formaldehydu ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )						
Typ přístroje (jeho část)	Po otevření	Po 1 hod.	Po 24 hod.	Nepoužitý	Před sterilizací	Po sterilizaci
Respirátor - celý	1283	1052	-	-	-	1283
Maska	-	-	85	-	-	-
Hadice	-	-	3516	-	-	-
Kohoutek	-	-	113	-	-	-
Balonek	-	-	259	-	-	-
Hadice k vent. okruhům	-	-	-	24	19	23

## Literatura

1. Tarvainen K., Wirtanen G., Sandholm T.M., Preventing airborne microbial risk in rooms with special hygiene requirements. In: Proc. of the Conference Healthy Buildings 94, Budapest 217-222, (1994).
2. Catlett, Holdicht, Environmental stimulation on the ill premature infant physiological effect and nursing implications. Neonatal Network 8, 19-26 (1993).
3. Mouilleseaux A., Enchantillonnage des contaminants bacteriens dans l'air des locaux. In: Livre de conference Controle de la qualite de l'air, Société française d'aérobiologie, Paris, (1992).
4. Ligugnana R., Microbiological monitoring of ventilation system in indoor environment the importance of correct cleaning and sanitation. In: Proc. the conference Indoor air quality problems, Warsaw, 337-344, (1993).
5. Laurenti P., Damiani G., Capelli G., Vaniny G.C., Environmental pollution by saprophytic hyaline hyphomycetes in a hospital high risk department. In: Proc. of the Conference Healthy Buildings<sup>94</sup>, Budapest 217-222, (1994).
6. Poirot JL, Feuilhade M: Contamination fongique dans les hopitaux. In: Livre des conferences Air et contamination biologique, Institut Pasteur, (1991).



Scripta medica	70	Supplementum 4	243-247	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Státní zdravotní ústav, Praha 10, Šrobárova 48

**Hostičková M., Mahmoodová T., Louda L., Jandák Z., Stuchlík V.**

## **Vliv hluku a vibrací inkubátorů na zdravotní stav dětí narozených s nízkou porodní hmotností**

### **Souhrn**

Autoři sledují vliv hluku inkubátorů a přídatných zařízení na výskyt sluchových vad a dětí s nízkou porodní hmotností. Srovnávají 3 typy inkubátorů na 3 odd. JIP. Ze sledování vyplývá, že hluk inkubátoru se nepodílí na vzniku sluchových vad.

### **Summary**

The authors follow up the influence of the noise produced by incubator on the occurrence of auditory defects in immature newborns. In the conclusion the authors demonstrate no significant effect of the noise in intensive care units.

Vliv hluku a vibrací inkubátorů na zdravotní stav dětí narozených s nízkou porodní hmotností bylo vytyčeno proto, že odborníci v oboru dětského lékařství v ČR již dlouhodobě poukazovali na negativní jevy, které s sebou přináší intenzivní zdravotní péče o tyto děti. Mezi negativní jevy této péče patří především hluk inkubátorů, hluk přídatných zařízení, nutných k zachování základních životních funkcí, a hluk z provozu oddělení.

Podle zahraničních studií je četnost sluchových vad u rizikových dětí v rozmezí 4 - 16%. Největší počet těchto dětí tvoří novorozenci s nízkou porodní hmotností.

V rámci našeho úkolu jsme sledovali:

V oblasti zdravotní

1. Výskyt sluchových lézí u dětí narozených s nízkou porodní hmotností a hospitalizovaných ve 3 odděleních JIP nedonošených dětí v období 1991-94 na území Prahy.
2. Pre, peri, postnatální rizika

V oblasti technické

Hluk v pokojích s inkubátory, hlukové údaje o inkubátorech, popř. o vyhřívaných lůžkách. Hlukovou zátěž dětí umístěných v inkubátorech a ve vyhřívaných lůžkách na základě měření hluku v těchto zařízeních po dobu 24 hodin.

Vibrace u dvou typů inkubátorů.

Měření hluku bylo provedeno ve 3 odděleních JIP nedonošených dětí za různých provozních podmínek.

Obr. č. 1 Měřeno bez přítomnosti dítěte

Měření hluku inkubátorů	D L <sub>1</sub>	M L <sub>1</sub>	D L <sub>Acq</sub>	M L <sub>Acq</sub>	D son	M son
Hluk v místnosti JIP	62,3		62			
Vnější nárazy na inkubátor	86	86,8	72,5	73,8		
Hluk uvnitř inkubátoru - inkubátor vypnutý	51,5	52,5	43,3	45,5		
Zapojený inkubátor - bez přídavných zařízení	55,5	53,8	51,3	50,9	17	6,5
Inkubátor + masážní vibrátor	77	76,5	74,6	75,2		
Inkubátor + odsávačka	67,5	66,3	62	59,3		
Inkubátor + tonometr s alarmem	63,8	63	55,3	55,9		
Inkubátor + ventilátor	55,3	56,3	52,3	54,2		
Inkubátor + kyslík		59,5		57,3	16	16
Inkubátor + přídavný kyslík	69,5	64,3	67,3	60,5		16
Inkubátor + kompresor		60,3		57,1		
Inkubátor + přídavné zařízení - odsávačka, tonometr s alarmem, ventilátor, kyslík, kompresor	70,5	70,3	68,5	66,8		51

V tomto oddělení JIP byla změřena hladina hluku v pokoji s inkubátory a uvnitř prázdných inkubátorů dvou typů Medisor a Drager.

L<sub>Aeq</sub> v pokoji byla 62,0 dB/A/ a L<sub>Aeq</sub> v inkubátorech zapnutých do sítě byla v rozmezí 50,9-51,3 dB/A/ a je v nízkých frekvencích. Zpojením přídavných zařízení nutných k zachování základních životních funkcí jako jsou ventilátor, kyslík, monitor Corometrics s alarmem, odsávačka, masážní vibrátor, se zvyšuje hladina hluku o cca 15-20 dB/A/ a přesun je do vyšších frekvencí.

Obr. č. 2 a 3 Měřeno za přítomnosti dítěte

Měření hlukové zátěže za dobu 24 hodin v inkubátorech - oddělení JIP nedonošených dětí						
typ	hladina hluku [dB (A)]					Poznámka
	L <sub>1</sub>	L <sub>10</sub>	L <sub>50</sub>	L <sub>90</sub>	L <sub>eq</sub>	
DRÄGER 7500	63,8	61,1	57	54	57,3	dítě napojeno na ventilátor, monitor Corometrics s alarmem
Vyhřívané lůžko	72	66,6	64,5	63,4	65,4	zapojený ventilátor a kompresor

Měření hlukové zátěže za dobu 24 hodin v inkubátorech - oddělení JIP nedonošených dětí						
typ	hladina hluku [dB (A)]					Poznámka
	L <sub>1</sub>	L <sub>10</sub>	L <sub>50</sub>	L <sub>90</sub>	L <sub>eq</sub>	
OHMEDA OHIO	60,5	55,8	52,5	52,9	56,9	dítě napojeno na monitor Corometrics s alarmem

V dalším oddělení JIP byla změřená hluková zátěž po dobu 24 hodin v inkubátoru typu Ohmeda, který má dvojí kryt z plexiskla.  $L_{Aeq}$  56,9 dB/A/.

Na žádost primáře jednoho oddělení JIP byl změřen hluk jakoby byl simulovaný jednak zdravotnickým personálem (hlasité hovory, bouchání dveřmi, nešetrné otvírání a zavírání dvířek inkubátorů, pokládání kovových a skleněných předmětů na plexisklo krytu atd., jednak hlukem způsobeným zdravotní technikou (monitorovací zařízení s alarmy, nebulizátor (pro přípravu inhalačních směsí, odsávačky).

Obr. č. 4

Měření hluku v oddělení JIP nedonošených dětí - Pokoj č. 1 s inkubátory					
č.	Měřená situace	$L_{Amax}$	$L_{Amin}$	$L_{Aeq}$	Poznámka
1	ticho	76,3	44,5	58,3	
2	zapnuté rádio (maximálně)	79,2	51,9	71,4	
3	běžný provoz rádia	75,2	49,7	62,6	
4	spuštění 4 ALARM systémů	77,9	58,4	73,9	
5	spuštění 2 ventilátorů s alarmem	71,6	47,7	62,1	
6	běžný provoz	73,2	47,6	59	
7	běžný provoz - 2 ventilátory v provozu	67,1	54,8	57,1	
8	běžný provoz - 2 ventilátory v provozu + alarm	69	59,8	65,1	
9	bouchnutí dveřmi v chodbě	64,7	47,5	55,3	
10	bouchnutí dveřmi v chodbě	65,7	-	-	
11	běžný provoz	62,5	49,5	53,7	
12	běžný provoz + alarm	62,4	52,6	56,9	
13	zvonění telefonu	61,9	50,4	60,5	
14	spuštěné všechny alarmy	76,5	63	71,1	
15	volání sester	81,1	52,1	67,3	
16	provoz nebulizátoru	62,8	46,3	54,3	bez nebulizátoru
		67	57,5	60,3	měřeno 1,5 m od zapnutého zdroje
17	provoz odsávačky	64	-	-	typ DU-O-VAC (USA)
		72			typ ALFA MEDIC - redukční ventil
18	odpojení tlakové hadice	94	52,7	77,5	

Maximální hladina hluku v pokoji s inkubátory při spuštění 4 alarmů je 77,9 dB/A/, při spuštění 2 ventilátorů s alarmem 71,6 dB/A/, při spuštění nebulizátoru 67,0 dB/A/, při použití odsávačky typu DU-O-VAC USA 64,0 dB/A/ a 72 dB/A/ u typu Alfa Medic (redukční ventil).

Obr. č. 5

Měření hluku v oddělení JIP nedonošených dětí - Pokoj č. 2 s inkubátory					
č.	Měřená situace	$L_{Amax}$	$L_{Amin}$	$L_{Aeq}$	Poznámka
1	zapnut BILLI-Blanket (modré světlo)	54,8	51,7	52,7	
2	bouchnutí dveřmi	74,2	45,5	58,8	
3	zaklapnutí skříňky	81,9	42,3	66,5	

4	inkubátor OHMEDA OHIO (dvoustěnný kryt)	84,5	(pod rozsah)	66,8	měřeno uvnitř - při zavírání dvířek inkubátoru
5	inkubátor OHMEDA OHIO (dvoustěnný kryt)	80	(pod rozsah)	69,3	měřeno uvnitř - při otvírání dvířek inkubátoru
6	inkubátor OHMEDA OHIO (dvoustěnný kryt)	88,6	(pod rozsah)	71,4	poklep na inkubátor
7	inkubátor OHMEDA OHIO (dvoustěnný kryt)	94,2	(pod rozsah)	76,5	pokládání skleněné lahvičky
8	inkubátor OHMEDA OHIO (dvoustěnný kryt)	90,4	(pod rozsah)	76,3	měřeno uvnitř inkubátoru
9	inkubátor DRÄGER (jednostěnný kryt)	98,2	(pod rozsah)	82,3	uzavření dvířek
10	inkubátor DRÄGER (jednostěnný kryt)	99,8	(pod rozsah)	83,2	otevření dvířek
11	inkubátor DRÄGER (jednostěnný kryt)	82,2	45,6	69,2	poklep
12	inkubátor DRÄGER (jednostěnný kryt)	88,9	77,8	74,9	pokládání skleněné lahvičky
13	inkubátor DRÄGER (jednostěnný kryt)	90	42,8	76,1	položení tácku na inkubátor
14	pokoj s postýlkami dětí	45,5	30,7	35,9	8 postýlek
15	pokoj s postýlkami dětí + provoz rádia	67	37,2	50,8	8 postýlek

V inkubátoru Ohmeda byla změřena max. hladina hluku 84,5 dB/A/ při nešetrném zavírání dvířek, při otvírání dvířek 80,0 dB/A/, při poklepu na inkubátor 88,6 dB/A/ a při pokládání skleněné lahvičky 94,2 dB/A/. Obdobná situace se změřila v inkubátoru typu Drager, který má jednostěnný kryt, při prudším zavření a otevření dvířek byla maximální hladina hluku 98,2 dB/A/ a 99,8 dB/A/, ostatní hodnoty byly přibližně shodné.

Jde o hluky, kterým se dá ukázněností zdravotnického personálu předejít a patří mezi zbytečné.

Pro stanovení nejvyšší přípustné hladiny hluku v inkubátorech se zatím využívalo v západních státech usnesení Výboru pro plod a novorozence Americké pediatričké akademie, jež doporučuje 75 dB/A/ jako maximální ještě bezpečnou hladinu hluku při dlouhodobé expozici novorozence. V pokojích požaduje max. hladinu hluku 58 dB/A/.

Limitní hodnoty vibrací nebyly splněny u inkubátoru Ohmeda (základní hladina zrychlení vibrací je 71 dB/A/ re 10 m<sup>-6</sup>. s<sup>-2</sup>).

Audiologická vyšetření sluchu u dětí předčasně narozených provádí Foniatričká klinika 1. LF UK, Praha 2, Žitná 24.

Jde o první preventivní prohlídky u těchto dětí, které se doposud neprováděly na území ČR.

Audiologicky bylo vyšetřeno celkem 112 dětí. V tomto souboru byla prokázána sluchová vada u 4 dětí, z toho u 3 šlo o těžké oboustranné vady, u 1 dítěte o těžkou jednostrannou vadu.

V jednom případě šlo o vadu, která byla součástí genetického postižení se současnou kraniofaciální dysplasií.

Dvě suspektně těžké vady nebyly jednoznačně verifikovány pro komplikace ve vyšetřování, jejich suspekce byla vysoká.

Čtyři sluchové vady představují 3,6%, což je o něco více než v normální populaci, kde je výskyt sluchových vad 2%. Zohledníme-li i fakt, že další 2 vady jsou vysoce suspektní, můžeme naši bilanci výskytu uzavřít s tím, že počet zjištěných lézí se nachází v dolní hranici výskytu, jak uvádějí zahraniční studie. (4-16%).

Podrobnější analýzou rodinné anamnézy, termínu porodu, porodní hmotnosti, přítomnosti pre, peri a postnatálního rizika bylo zjištěno, že rizikové faktory jsou v zásadě obdobné, jaké se vyskytovaly u ostatních dětí, u nichž nebyla prokázána sluchová vada.

Všechny děti s NPH byly vystaveny kombinaci 3-5 rizikových faktorů, především respirační dystres syndromu, anemii novorozenců, infekčnímu stavu od systémového zánětu, až po novorozeneckou sepsi a hluku inkubátorů, včetně hluku přídatných zařízení nutných k zachování základních životních funkcí.

Přímý podíl hluku se neprokázal na výskytu sluchových vad

Touto studií se také potvrzují i zahraniční studie, že resistance sluchu vůči ototoxickým ATB je zřejmě vyšší, než bylo předpokládáno, přestože jejich indikace je zcela běžná v ranném postnatálním období. Z jejich aplikace tedy nelze apriori usuzovat na přítomnost sluchové vady.

## Literatura

1. Abramovich S.J., Gregory S., Stewart A.: Hearing loss very low birthweight infants treated write neonatal intensive care. Arch. Dis. Child, 1979, č.6, s.54
2. Albrecht W.: Ober die Vererbung der konstitutionell sporadischen Taubstummheit, der hereditären Labyrinthshhörigkeit und der Otosclerose. Arch. Ohr. Nas. - u.Kehlk. - Heilk. 110, 1922, s. 15-24
3. Douek E., Bannister L.H.C., Asheroft P., Humphries K.N.: Effects of incubator noise on the cochlea of the newborn. Lancet 2, 1976, č. 7995, s. 1110-11130 LH 3
4. Havránek J. a kol.: Hluk a zdraví, Avicenum, 1990

Scripta medica	70	Supplementum 4	248-252	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>LF MU Brno

<sup>2</sup>Baťova nemocnice Zlín

**<sup>1</sup>Kolářová M., <sup>2</sup>Kareš I., <sup>1</sup>Sekaninová G.**

## **Mikrobiologické sledování provozu inkubátorů**

### **Souhrn**

Ve svém sdělení kladou autoři důraz na vytvoření správného mikroklimatu inkubátoru tak, aby respektoval deficit imunologického systému novorozence.

### **Summary**

Premature infants have an increased susceptibility to infection. The authors stress on the necessity to create an optimal microclimate in the incubator, with a view to respect insufficiency of the immunity of the newborns.

Novorozené dítě je na matku odkázáno z hlediska uspokojení svých základních životních potřeb. Je však také téměř bezbranným a vysoce vnímavým jedincem z hlediska imunologického a imunodeficiency je doložena v každé oblasti lidského imunitního aparátu.

Nevyzrálé kožní a slizniční bariéry jsou reálným místem vstupu infekčního agens u novorozenců a obzvláště u nedonošených dětí. Před 26. týdnem gestace není vyvinuté stratum corneum. Bariéra proti exogenním antigenům je jen několik buněk silná, chudě keratinizovaná a permeabilnější. Po 2. týdnu života (bez ohledu na gestační věk) kůže dozrává a stratum corneum se vyvíjí.

Abnormality jsou evidovány v migraci polymorfonukleárních leukocytů k místu exogenního antigenu a ingesci cizí substance. Intracelulární usmrcení pohlcených mikroorganismů je však na odpovídající úrovni u zralých i u nedonošených dětí.

Mateřské IgG jsou tranferovány fétu transplacentárně v zanedbatelných množstvích až do 2. trimestru těhotenství. Během 3. trimestru gravidity se hladiny IgG u fétu významně zvyšují, protože dochází k aktivnímu transportu. Signifikantní vlastní syntéza IgG začíná okolo 6. měsíce extrauterinního věku a v 1. roce dítěte dosahují IgG množství 60% hladiny IgG dospělých. Výrazná esenciální hypogamaglobulinemie je u dítěte mezi 3. - 6. měsícem života.

Imunoglobulin M je první imunoglobulin tvořící se u fétu ve 30. týdnu gestačního věku, ale je i hlavní protilátka syntetizovaná během 1. měsíce extrauterinního života jako výsledek stimulace kolonizovaného zažívacího traktu. Průměrné hladiny IgM v 1. roce života dosahují asi 80% hladiny

dospělých. Vyšší titry IgM u novorozenců signalizují fetální antigenní stimulaci a intrauterinní infekci.

Studie kvality funkce komplementárního systému prokazují snížení klasických aktivit u novorozenců. Nejvýznamnější nedostatečností je výrazné snížení opsonizační aktivity ve srovnání s dospělými.

Retikuloendoteliální systém, zvláště pak slezina u novorozenců vykazuje nedostatky ve vychytávání exogenních antigenů z cirkulující krve.

Zdroje infekcí pro novorozence jsou v prvním období života různé. Sterilní fetální prostředí je nahrazeno mikroorganismy z neživého okolního prostředí, od matky, nemocničního personálu, návštěv apod. Kolonizace zdravých novorozenců narozených v termínu je běžně dokumentována 2. nebo 3. den života. Nos a pupečník jsou fyziologicky kolonizovány kmeny rodu *Staphylococcus* a alfa hemolytickými streptokoky. V gastrointestinálním traktu nacházíme *E.coli*, laktobacily a anaeroby.

Novorozenci přijatí na jednotky intenzivní péče novorozeneckého oddělení mají však odlišné mikrobiologické nálezy v kolonizovaných systémech. U těchto dětí prokázali autoři Goldman et al. opožděnou kolonizaci až po uplynutí 8 dnů a rozdílné spektrum mikroorganismů. Kmeny různých rodů jako např. *Klebsiella*, *Enterobacter* nebo *Citrobacter* nahrazují fyziologickou střevní mikroflóru a často také kolonizují nos, hrdlo a umbilicus. Pravidelně všechny děti pobývající na JIP měsíc nebo déle bývají intenzivněji kolonizovány neobvyklou mikroflórou. Gastrointestinální trakt novorozenců je významným infekčním rezervoárem a epidemické kmeny mohou být šířeny rukama nemocničního personálu.

Uvedené skutečnosti zdůvodňují pozornost věnovanou specifickému mikroprostředí, kterému jsou exponováni novorozenci v inkubátorech.

Mikroklimatické podmínky v omezeném prostoru inkubátorů demonstrují interiérové zákonitosti v miniaturizované podobě. Nabízí se možnosti perspektivního definování optimálních hodnot jednotlivých komponent mikroklimatu.

Obecná definice optimálních mikroklimatických podmínek i pro dospělé je nesnadná pro jejich multifaktoriální charakter a souvisí i s tím, že fyziologická termoregulace je otevřený systém a mění se s věkem, zdravotním stavem, výživou, oblečením apod.

Mikroklimatické podmínky, zejména vlhkost vzduchu a prašnost prostředí mají úzkou souvislost s mikrobiálním osídlením interiéru a tím i šířením infekčního agens.

Vyjádření komfortu a dyskomfortu pro novorozence je postaveno na sledování prospívání a nemocnosti a jejich vztahu ke konkrétně vyhodnoceným faktorům.

Pokusili jsme se vytvořit dotazník v programu EPI INFO, který zohledňuje podle našeho názoru důležité faktory inkubátorového mikroklimatu (viz příloha). Při šetření inkubátorů jsme postupovali standardně podle dotazníku. Vznikl soubor 86 inkubátorů, který se podle vybavení místností klimatizačním zařízením dal rozčlenit do 4 kategorií.

Z předběžného hodnocení výsledků jednotlivých ukazatelů vyplynulo, že existují výrazné rozdíly v používaných hodnotách všech sledovaných faktorů (např. rozmezí rH od 40,5% do 95%, naměřené teploty uvnitř inkubátorů od 23,8°C do 37,6°C) a v informovanosti obsluhujícího personálu jak o imunologických zvláštностech nedonošených novorozenců, tak o technických parametrech inkubátorů.

Naše šetření je podnětem pro vypracování standardních podmínek pro vytvoření indoor air komfortu.

Pořadí: \_\_\_\_\_

Název zařízení: \_\_\_\_\_

Oddělení: \_\_\_\_\_

Klimatizace: \_\_\_\_\_

Datum měření: \_\_\_\_\_

Počet lůžek celkem: \_\_\_\_\_

Počet obsazených lůžek: \_\_\_\_\_

Počet inkubátorů celkem: \_\_\_\_\_

Počet obsazených inkub.: \_\_\_\_\_

Počet inkub. v péči sestry: \_\_\_\_\_

Personál denní směna: \_\_\_\_\_

Lékař: \_\_\_\_\_

SZP: \_\_\_\_

NZP: \_\_\_\_

PZP: \_\_\_\_

Provozní řád: \_\_\_\_ - datum souhlas.

Inkubátor č. \_\_\_\_

typ: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Teplota: \_\_\_\_\_

rH: \_\_\_\_\_

Kožní teplota: \_\_\_\_\_

Jméno: \_\_\_\_\_

Datum nar.: \_\_\_\_\_

Por. váha: \_\_\_\_\_

Por.délka: \_\_\_\_\_

Apgar.sc.: \_\_\_\_\_

Počet dnů v inkub.: \_\_\_\_\_



Od: \_\_\_\_\_  
Diagnóza: \_\_\_\_\_

Mikrobiolog. nález: \_\_\_\_\_

ATB. léčba: \_\_\_\_\_

Důvod uložení v inkubátoru: \_\_\_\_\_

Předchozí dítě:

Jméno: \_\_\_\_\_

Datum nar.: \_\_\_\_\_

Datum uložení od: \_\_\_\_\_ do: \_\_\_\_\_

Celkový počet dnů: \_\_\_\_\_

Diagnóza: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Mikrobiologie: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

ATB. léčba: \_\_\_\_\_

Dekontaminace dat: \_\_\_\_\_

Frekvence: \_\_\_\_\_

Způsob dekontaminace: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Výsledky šetření, stěry: \_\_\_\_\_

Vrchní deska poklopu vně: \_\_\_\_\_

Vrchní deska poklopu uvnitř: \_\_\_\_\_

vstupy na ruce, pravý: \_\_\_\_\_

vstupy na ruce, levý: \_\_\_\_\_

podložka-hlava: \_\_\_\_\_

podložka-nohy: \_\_\_\_\_

ústí zvlhčovače: \_\_\_\_\_

nádobka na vodu: \_\_\_\_\_

voda - druh: \_\_\_\_\_

zásobní voda ze dne: \_\_\_\_\_

stěr z kanystru: \_\_\_\_\_

sestra - ruce, pravá: \_\_\_\_\_

levá: \_\_\_\_\_

zástěra okolo kapes: \_\_\_\_\_

přebal. stůl při manipul.

mimo: \_\_\_\_\_

zásobní pleny: \_\_\_\_\_

sterilizované \_

žehlené \_

hodina předchozího úklidu: \_\_\_\_\_

hodina měření: \_\_\_\_\_

ST 1 \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

ST 2 \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Literatura u autorů

Scripta medica	70	Supplementum 4	253-257	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Státní zdravotní ústav, Praha

**Paříková J.**

## **Mykotické infekce a dezinfekce**

### **Souhrn**

Výskyt nosokomiálních nákaz mykotického původu stoupl na 12 % . Autoři se zabývají dezinfekcí jako jedním z preventivních opatření.

### **Summary**

The occurrence of the mycotic nosocomial infection has risen to 12 %. The authors are engaged in disinfection as one of the preventive methods.

Původci mykotických infekcí jsou mikromycety-mikroskopické kvasinkovité houby (kvasinky) a mikroskopické vláknité houby (starší název plísně). Od konce 60 let je zaznamenáván rozvoj závažných infekcí způsobených oportunními mikromycety. Mikromycety, které byly dříve pokládány za neškodné saprofyty nebo slizniční epifyty jsou současnými vyvolávateli mykóz komplikujících průběh a léčeni řady základních onemocnění.

Mezi nejčastější mykotické infekce vyskytující se u nás patří kandidóza, kryptokokóza, aspergilóza a mukormykóza (tabulka č. 1), (1). Nejen, že dnes komplikují z 1/4 - 1/3 klinicky závažné onemocnění, ale jsou často nalézány i jako původci nozokomiálních nákaz (tabulka č. 2), (1). Výskyt nozokomiálních nákaz mykotického původu stoupl ze 4% (uváděno před 5 lety ze statistického přehledu) na 12%.

Je nutné se problémem mykotických infekcí zabývat a zajímat se zvláště o to, jakým způsobem jsme schopni těmto infekcím předcházet. Dezinfekce je jedním z preventivních opatření. Je však nutné si uvědomit, že bez dokonalé čistoty nemůže být dezinfekce účinná. V případě mikroskopických hub to platí dvojnásob, neboť pro svůj způsob výživy jsou tyto mikroorganismy odkázány na přítomnost organických látek. Přítomnost organických látek v nemocničním prostředí je většinou indikátorem nedostatečně prováděné mechanické očisty ploch a povrchů, které mohou být substrátem pro další rozvoj těchto organismů. Produkují značné množství nejrůznějších spór, které se vířením prachu dostávají do ovzduší a kontaminují nejen vzduch v místnostech, ale i další plochy a povrchy. Zdrojem kontaminace houbových mikroorganismů je:

- 1) prostředí vně budov zdravotnických zařízení (stavební práce, rekonstrukční práce)
- 2) plochy znečištěné trusem ptáků (balkony, parapety)
- 3) zemina v kbudovách a na pokojích (květináče, atria)
- 4) zbytky potravin (kuchyňky, kuchyně, ledničky)

- 5) organický odpad
- 6) úklidové pomůcky špatně ošetřené a uskladněné
- 7) použité nemocniční prádlo
- 8) ruce zdravotnického personálu
- 9) tělo pacienta
- 10) nedostatečně ošetřené a uložené zdravotnické instrumentarium, roztoky.

Proto je nutné věnovat pozornost důsledně prováděnému sanitárnímu úklidu spolu s vhodným výběrem dezinfekčních postupů. Dezinfekční postupy jsou chemické a fyzikální. Z fyzikálních postupů je suché teplo na spóry hub málo účinné. Fungicidní účinek je zajištěn při teplotě 180°C, expozice 60 minut. Kultury hub se nejlépe usmrtí v autoklávu (teplota 121°C, expozice 30 minut), nebo horku proudící párou (teplota 100°C, expozice 3 hodiny).

UV záření vzhledem ke značnému mutagennímu efektu je pouze doplňkovou dezinfekcí a záleží na intenzitě a vzdálenosti od zdroje. Fungicidní účinek je vysvětlován zásahovou teorií.

Chemický postup dezinfekce se provádí aplikací účinných dezinfekčních přípravků. Při správné aplikaci (dodržení doporučené koncentrace a doby působení) podle návodu výrobce je zaručeno zničení mykotických infekčních agens. Účinnost v dezinfekčních přípravcích zajišťují chemické aktivní látky. Světový vývoj dezinfekčních přípravků vedl od jednosložkových (založených na jedné aktivní látce) k vícesložkovým (obsahuje dvě, tři i více chemických aktivních látek). Vhodná kombinace chemických látek v přípravku buď potencuje účinek na široké spektrum mikroorganismů a nebo preferuje účinek na určitý typ mikroorganismu. Proto máme dnes k dispozici i přípravky s výrazně fungicidním účinkem. I když je rozdíl v citlivosti mycelia hub a spor hub k chemickým látkám, je zapotřebí posuzovat citlivost k dezinfekčním látkám houbového organismu jako celku. Na etiketě každého přípravku má být uvedena deklarovaná účinnost a obsah účinných chemických látek. Na spóry hub působí nejlépe formaldehyd, chlor v anorganicky vázané formě (chlornany), peroxidy a peroxoslučeniny, ethanol (70%), na mycelium hub kromě výše uvedených působí dobře kvarterní ammoniové sloučeniny a jód. V tabulce č. 3, 4, je uveden fungicidní účinek chemických látek na houbové organismy.

Každý dezinfekční přípravek, který je doporučen k používání do zdravotnických zařízení musí být schválen hlavním hygienikem. Podklady pro schvalovací řízení vypracovává NRL, SZÚ, Praha podle vlastních laboratorních testů dezinfekční účinnosti a podle dokumentace, kterou předkládají výrobci dezinfekčních přípravků, zástupci firem a distributoři. Dezinfekční testy provádí referenční laboratoř standardními metodikami a na standardních kmenech mikroorganismů. K testování fungicidní účinnosti na mikroskopické vláknité houby používá kmen *Candida albicans* a k testu účinnosti na mikroskopické vláknité houby používá kmen *Aspergillus niger*. Dle potřeby se doplňují testy na další zástupce vláknitých hub. Seznam schválených dezinfekčních přípravků je pravidelně publikován v přílohách k periodiku AHEM. Fungicidní účinnosti na mikroskopické kvasinkovité houby je označena pod písmenem A. Fungicidní účinnost na mikroskopické vláknité houby bude označena písmenem V v aktuálním seznamu vašech dosud schválených přípravků, které bude publikováno v příštím roce.

Tabulka č. 1:

Hlavní systémové oportunní mykotické infekce u imunodeficitních nemocných - charakteristika

	<b>Kandidy</b>	<b>Aspergily</b>	<b>Kryptokoky</b>	<b>Mukory</b>
<b>nejčastější výskyt</b>	chirurgie JIP neuropenie TPN popáleniny novorozenci diabetes mell. kortikoidy i.v. drogy AIDS	neutropenie lymfomy transplantace kortikoidy popáleniny chronická granulomatóza	AIDS lymfomy transplantace kortikoidy sarkoidóza	diabetes mell. desferoxamin neutropenie i.v. drogy popáleniny
<b>nejčastější akvizice infekce</b>	endogenní nozokomiál. - kontaktem hematogenně	aspirace, často nozokomiální	aspirace	aspirace
<b>převažující orgánové postižení</b>	játra, slezina ledviny, plíce endoftalmitis endokarditis meningitis GIT, kost ezofagitis	plíce CNS ORL - sinusy kůže kosti	meningitis plíce, krev ledviny kůže uzlíky	ORL, CNS plíce GIT ledviny kůže

JIP = jednotka intenzivní péče

TPN = totální parenterální výživa

Tabulka č. 2:

Klasifikace a příklady nozokomiálních mykotických infekcí

<b>Exogenní zdroj</b>	<b>Endogenní zdroj</b>	
<b>typ I</b>	<b>typ II A</b>	<b>typ II B</b>
<b>Primární akvizice</b>	<b>Endogenní</b>	<b>Latentní infekce</b>
Aspergillus spec. Mucoraceae: Mucor, Rhizopus Absidia, Rhizomucor Fusarium spp. Candida spp. (+) Pseudoalleschera boydii Coccidioides imm. (!) Histoplasma capsulatum Cryptococcus neoformans (*) Blastomyces dermatidis (*) Dermatophytes (*)	Candida spp. Trichosporon spp. Malassezia furfur Trichophyton rubrum Saccharomyces cerevisiae	Histoplasma caps. Coccidioides imm. Cryptococcus neof.
(+): vzácně epidemický výskyt (!): labor. akvizice, obvazy (*): přenos nemocničním personálem, laboratorní akvizice		

Poznámka: Dle epidemiologické studie z USA (1980-1990):

1. celkový počet NN vzrostl ze 2,0 na 3,8/1000 propuštěných
2. houby byly příčinou 7,9% všech NN ve všech typech nemocnice

Tabulka č. 3:

Účinek chemických látek na mikroorganismy

Látka	Bakterie kvasinkové houby	Vláknité houby	Viry	Spóry bakterií
(Aktivní sloučenina) KAS	+	0	0	-
Fenoly	+	±	0	-
Peroxidy, (H <sub>2</sub> O)	++	+	++	0
Eroxosloučeniny	++	++	++	+
Halogeny:				
org. vázaný Cl	++	0	++	0
anorg. vázaný Cl	++	++	++	0
J (PVP - jod)	++	0	++	0
Alkoholy	++	++	+	±
Aldehydy (formaldehyd)	++	++	++	++

Vyjádření účinku:

- + dobrý účinek (závisí na koncentraci a expozici)
- ++ velmi dobrý účinek
- 0 pouze spec. případy (závisí na koncentraci a expozici)
- ± špatný účinek
- neúčinkuje

KAS kvarterní ammoniové sloučeniny

PVP-jod polyvinylpyrolidin jodid

Tabulka č. 4:

Účinek chemických aktivních látek v desinfekčních přípravcích na houby

Chem. aktivní látka	Účinnost	Použití
Alkohol 70% (ETOH, IPA)	+ K + V	kožní desinfekce + složka DP
Formaldehyd	+ K + V	složka DP
Glutaraldehyd	+ K 0 V	složka DP
Cl (chlornan)	+ K + V	DP
Cl (chloramin)	+ K 0 V	DP
J	+ K 0 V	DP
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , org. peroxidy	+ K	DP

KAS	+ V + K 0 V	+složka DP
Fenol + deriváty + cyklické sloučeniny	+ K 0 V	složka DP

#### Vysvětlivky:

- + účinkuje
- 0 spec. případy
- J jod
- KAS kvarterní ammoniová sloučenina
- K kvasinkové houby
- V vláknité houby
- DP desinfekční přípravky

#### Literatura

- 1) Haber J. et al.: Systémové mykózy a jejich léčba. Galén, Praha, 1995
- 2) Kneiflová J., Melicherčíková V., Paříková J.: Seznam desinfekčních přípravků schválených hlavním hygienikem ČR k 30.9. 1994. Příloha č. 2, AHEM, Praha, SZÚ, 1995
- 3) Rippon J. W.: The new opportunistic fungal infection: Diagnosis, isolation, identification and impact on mycology. Fear of fungi. Mycopathologia 99: 143-146, 1987
- 4) Terleckyj B., Axler D.A.: Quantitative neutralization assay of fungicidal activity of disinfectants. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 31, 5, 1987, 794-798 s.

Scripta medica	70	Supplementum 4	258-264	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Okresní hygienická stanice Nový Jičín

**Pazdziora E.**

## **Dekontaminace nemocničních odpadů**

### **Souhrn**

Autoři referují o novém způsobu dekontaminace nemocničních odpadů pomocí sterilizačního konvertoru Bravo Hospital. Tento způsob zpracování specifického nemocničního odpadu zaručuje dekontaminaci na úrovni sterilizace s dostatečnou bezpečnostní zárukou, s ohledem na původní počet mikroorganismů i jejich odolnost.

### **Summary**

The authors report about a new method of hospital waste decontamination using a steriliser convertor Bravo Hospital. This manner of processing of specific hospital waste guarantees decontamination on the level of sterilisation with sufficient safety guarantee with regard to the primary number of microbes and their resistant.

Odpady ze zdravotnických zařízení dělají starosti všem producentům. Podle kategorizace a katalogu odpadů, částka 69/1991 Sb. opatření FU ŽP je specifický odpad ze zdravotnických zařízení zařazen mezi odpad nebezpečný (N) ve smyslu zákona č. 238/1991 Sb. o odpadech.

Zatím jsme se setkávali pouze s jednou metodou zneškodňování specifického zdravotnického odpadu a tou je spalování.

Zdánlivě nejjednodušší způsob likvidace má již dnes četná úskalí - z mnoha uvedu to, že spalovací proces musí respektovat zastoupení různých druhů plastických hmot v odpadu, z nichž při nedodržení spalovací teploty vznikají toxické zplodiny.

Proto je ve světě tendence specifický nemocniční odpad znečištěný škodlivinami zneškodňovat v přístrojích pro dekontaminaci odpadů tak, aby byl odpad po tomto zpracování vhodný k uskladnění jako odpad komunální.

Jsou známy v podstatě 3 druhy dekontaminace zdravotnického odpadu:

1. v parních přístrojích - metodou autoklávování
2. v parních přístrojích s drticím zařízením
3. v přístrojích s mikrovlnným ohřevem.



Budu se zabývat způsobem novým, který se blíží typu 2. Jedná se o sterilizační konvertor BRAVO HOSPITAL nabízený i zde na MEFĚ italskou firmou Medical Jet v pavilonu E, stánek 045.

Jde skutečně o unikátní způsob zneškodňování specifického nemocničního odpadu, který je i z hlediska teorie sterilizačního procesu natolik zajímavý, že považuji za nutné seznámit s jeho principem odborníky v naší sekci probíhajícího kongresu.

Konvertor BRAVO HOSPITAL sestává z pracovní komory tvaru svislého válce s objemem 600 l, v níž se u dna pohybuje vysokou rychlostí rotor opatřený dvěma noži, které v těsné blízkosti 2-3 mm při svém otáčivém pohybu míjejí 6 nožů umístěných pevně na stěně komory.

Nemocniční odpad bez třídění se v pytlích vkládá do komory v dávce 50 kg v jedné šarži a po uzavření víka je rotorem a noži postupně drcen a po 30 min. zcela dezintegrován. Třením a nárazy o plastickou hmotu, sklo, kov a další odpad dochází k ohřevu na teplotu 155°C a 170°C, což vede k devitalizaci přítomných mikroorganismů a ke ztavování rozdrčeného odpadu zahřátou plastickou hmotou do tvaru granulí. Pracuje tedy na přímé přeměně kinetické energie v tepelnou bez nutného přívodu sterilizační páry. Teplota směsi se měří na principu infračerveného záření.

Podívejme se pro představu nejprve na diapozitivy:

Na schematických řezech vidíme zvedací zařízení, válcovou komoru s rotorem a víkem, absorpční kolonu pro zneškodňování použité vody a pro odvod vzniklé páry.

Celkové rozměry 2,26 x 4,48 x 2,32 výška. Spotřeba vody je 250-500 l/hod., příkon elektromotoru 40 kW a ve špičkách 75 kW.

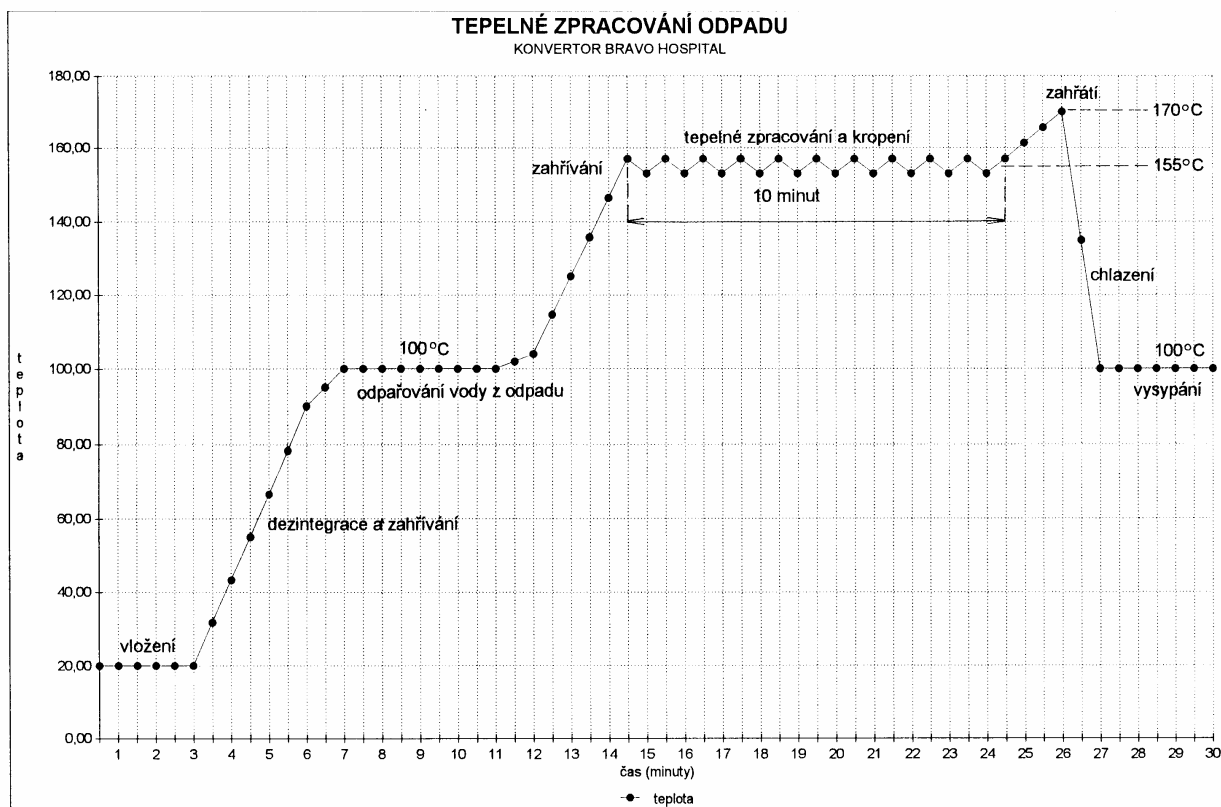
Schéma 4 ukazuje složení přístroje. Dva pohledy na ovládací panel informují o automatickém řízení procesu a o pracovní teplotě. Další obr. ukazuje obsluhu vybavenou pouze ochrannými rukavicemi. Přístroj se dá umístit na dvoře nemocnice - jak to vidíte na obr. do plechové větší garáže.

Poslední obrázek je záběr vstupního nádvoří jedné nemocnice v Torině, kde jsem odebíral vzorky zpracovaného odpadu a testoval na přítomnost bakterií. Vzorek odpadu nechávám kolovat.

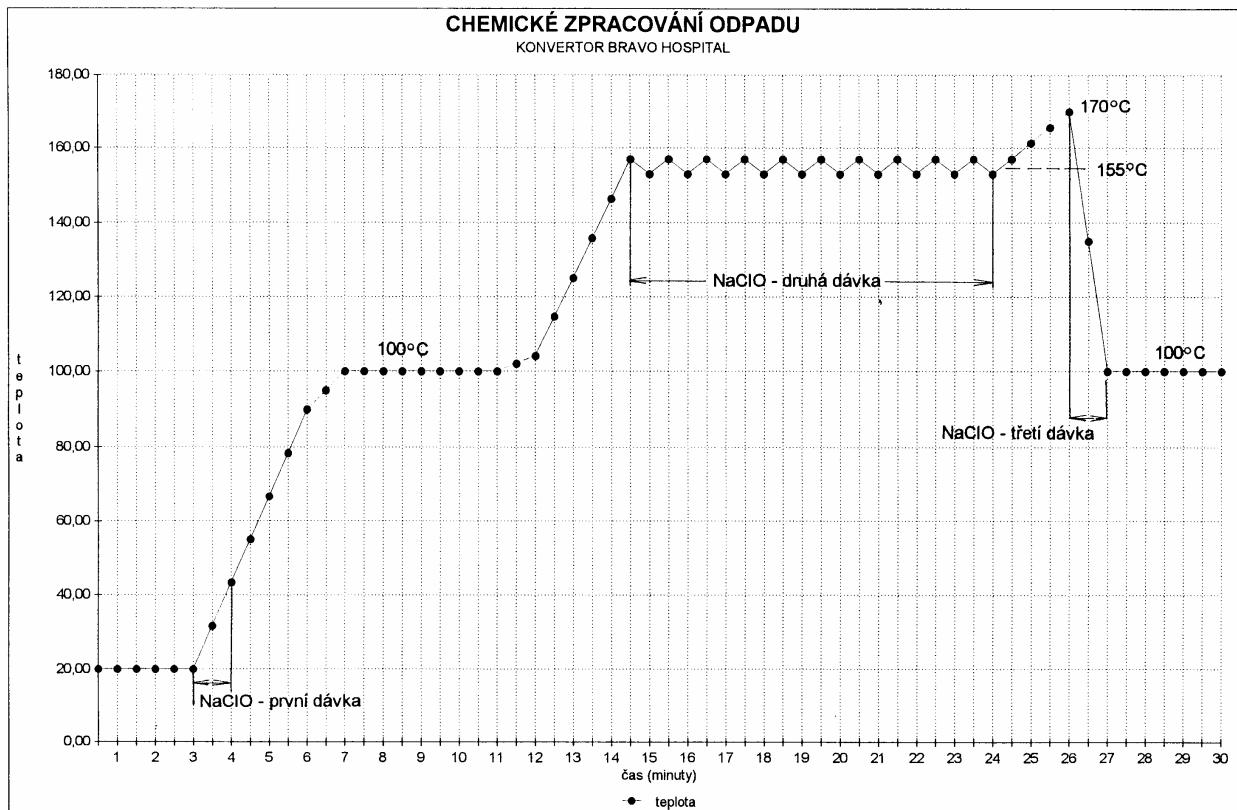
Podívejme se nyní na funkci přístroje z našeho pohledu. Cheme-li dosáhnout záruky sterility předmětu, můžeme připustit pouze 1 předmět nesterilní z 1,000.000 sterilizovaných. U specifického nemocničního odpadu se požaduje jen fyzikální dezinfekce, nikoliv sterilizace.

Jaké procesy probíhají v konvertoru - jde o dezinfekci nebo sterilizaci?

Výrobce požaduje kontrolovat úspěšnost denkontaminace bioindikátorem *Bacillus stearothermophilus* s denzitou spór  $10^5$  - jako jsme zvyklí u parní sterilizace.



Graf ukazuje podmínky tepelného zpracování nemocničního odpadu: Vidíme, že zahříváním dochází k odpařování vody z odpadu a vzniku páry. Po 14 min. dosáhne teplota 155°C a aby dále nestoupala, do komory se vstříkují malé dávky vody, které zároveň zvlhčují materiál. Devitalizační teplota 155°C trvá 10 min., pak se materiál opět třením zahřeje na 170°C - v tom okamžiku dojde k přetavení termoplastických hmot do tvaru granulí, sníží se rychlost otáček rotoru na 1/2, dojde k ochlazení na 100°C a při této teplotě se materiál vysypává do zásobníků. Původní objem se snižuje na 1/5. Granulát je suchý, bez zápachu, podle všech dosavadních výsledků sterilní.



Termické zpracování je doplněno souběžným chemickým zpracováním pomocí roztoku chlornanu sodného v koncentraci 14-15% aktivního chlóru. Na grafu vidíme, že se přidává 3x:

- při míchání směsi odpadu,
- při tepelné devitalizaci,
- před vysypáváním zpracovaného odpadu.

K jakým procesům při kombinaci termického a chemického zpracování dochází?  
Výsledek termického procesu se v každé šarži sleduje vloženým bioindikátorem *Bac. stearothermophilus*. Víme, že při denzitě spór na nosiči  $10^5$  je odolnost živých spór vyjádřená hodnotou D při uvedených teplotách následující:  
Pro připomenutí - hodnota D značí snížení původního počtu přítomných mikrobů na 1/10. To znamená při denzitě  $10^5$  snížení na  $10^4$  atd.

Co to v praxi znamená? U bioindikátoru  $10^5$  vypočítáme redukční faktor a dobu nezbytnou pro sterilizaci:

při teplotě 121°C - 20-40 min. (při autoklávování). Stačí snížit teplotu o 1°C a doba potřebná k zaručené sterilizaci se prodlouží na více než dvojnásobek. Tady vidíme nevýhodu autoklávování odpadu.

Autoklávování nebude nikdo zpochybňovat u předem mytých a čištěných lékařských nástrojů a pomůcek.

Použití páry při běžné autoklavační teplotě 121°C nebo 143°C je však při zpracování odpadu zrádné:

a) princip sterilizace párou je předávání tepelné energie kondenzací na povrchu předmětů - v případě odpadů se vyskytují různé tepelně vodivé materiály, kapaliny

- b) při sterilizaci v parním sterilizátoru nesmí být přítomny těkavé látky - éter, alkohol - ty však v odpadu jsou
- c) množství mikrobů v odpadu je nesrovnatelně vyšší i vlivem pomnožování nežli na běžných zdravotnických předmětech připravovaných ke sterilizaci.

Odhaduje se, že počet bakterií v nemocničním odpadu může být o 9 logaritmických řádů vyšší nežli je bioindikátor - tj.  $10^{14}$ . Vyjpočteme redukční faktor a podíváme se na dobu nutnou k bezpečné sterilizaci - při autoklávování odpadu kontaminovaného takto masivně mikroby by bylo třeba 38-76 min. k jejich zničení (zvažte energetické náklady např. na páru). Při sterilizaci při  $155^{\circ}\text{C}$  stačí 2 minuty. Přístroj udržuje sterilizační teplotu 5x déle.

V odpadu však působením  $\text{NaClO}$  probíhají i další reakce, které vedou k chemické přeměně složek všech buněk.

Disociací  $\text{NaClO}$  a dalším štěpením dostáváme ionty chlóru a atomární kyslík.

Disociací  $\text{H}_2\text{O}$  uvolněný vodík reaguje s chlornanovým iontem za vzniku kyseliny chlorné.

Přítomnost  $\text{CO}_2$  ze vzduchu vede k dalším reakcím a v konečné podobě vidíme plynný oxid chlorný (anhydrid kyseliny chlorné), který je silným chlorečným reagentem.

Důležité je, že všechny plynné složky z chlornanu i z vlastního odpadu jsou jímány v absorpční koloně a v neškodné podobě odcházejí do kanalizace. Odpadní voda odpovídá kvalitě vody z chlorovací stanice.

V neposlední řadě nutno zdůraznit, že výsledné granule neobsahují rezidua chlornanu a všechny testy potvrzují, že takto zpracovaný odpad lze vyvézt na skládku komunálního odpadu, poněvadž je schopen biodegradace v přírodě.

### **Závěr**

Popsaný způsob zpracování specifického nemocničního odpadu zaručuje dekontaminaci na úrovni sterilizace s dostatečnou bezpečnostní zárukou s ohledem na původní počet mikroorganismů i jejich odolnost.

### **Tabulky**

1. DIN EN 290 z března 1992

STERILNÍ = je stav bez organismů a virů schopných rozmnožování

$$\text{STERILNÍ} = 10^{-6}$$

Předmět může být považován za sterilní, když pravděpodobnost výskytu jednoho organismu nebo viru schopného rozmnožování je menší nebo rovna  $10^{-6}$ .

Nesterilní předmět se může vyskytnout jeden jediný mezi 1.000.000 sterilizovaných předmětů.

2. Termická sterilizace ve vlhkém médiu

*Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953

- denzita spór v bioindikátoru  $10^5$

Odolnost k teplotě:

teplota ve °C	hodnota D v minutách
120	$8 \pm 1$
121	$3 \pm 1$
122	$1,5 \pm 1$
132	0,4
150	< 0,1
170	< 0,05

Redukční faktor = denzita x hodnota D

$$10^5 \cdot \frac{1}{10^{-5}} = 10^5 \cdot \frac{1}{10^5} = 10^5 \cdot \frac{10^5}{10^5} = 10^{10}$$

Nezbytná doba sterilizace = hodnota D x 10

při 121°C:  $3 \pm 1 \times 10 = 20 - 40$  min.

při 120°C:  $8 \pm 1 \times 10 = 70 - 90$  min.

### 3. Počet bakterií v nemocničním odpadu

Je vyšší o  $10^9$  CFU/ml nežli v bioindikátoru  
- celková denzita bude  $10^{14}$  CFU/ml

$$\text{Redukční faktor } 10^{14} \times \frac{1}{10^{-5}} = 10^{19}$$

Nezbytná doba sterilizace = hodnota D x 19

při 121°C:  $3 \pm 1 \times 19 = 38 - 76$  až min.

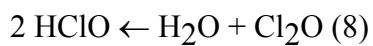
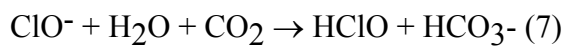
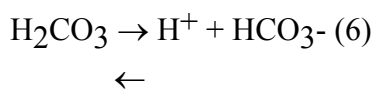
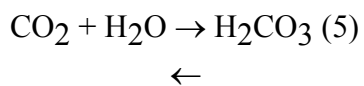
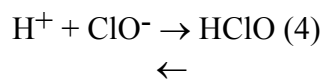
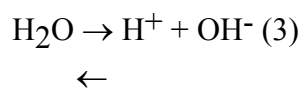
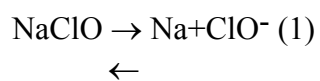
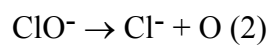
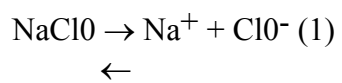
při 155°C:  $0,1 \times 19 = 1,9$  min.

při 170°C:  $0,05 \times 19 = 0,95$  min.

### 4. Chemická přeměna buněčných složek

NaClO v koncentraci 14 - 15% aktivního chlóru

Průběh reakcí v konvertoru:



Literatura u autorů.

Scripta medica	70	Supplementum 4	265-269	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Regionální zdravotní pojišťovna REZAPO

**Tomek M., Tomková V.**

## **Možnosti kvantifikace rizikových faktorů pomocí statistických metod**

### **Souhrn**

Autoři ve svém sdělení zdůrazňují význam zjišťování ukazatelů relativního a atributivního rizika na vznik nemoci. Tímto způsobem lze účelně využít finančních prostředků pojišťovny.

### **Summary**

The authors emphasize in this article the importance of the indices of relative and attributive risk. By using this indices is possible to effectively utilize the financial means in the health insurance company.

### **Úvod**

Aktuální otázkou pro zajištění prosperity zdravotní pojišťovny je problematika určování a měření "sily" rizikových faktorů. Rizikovým faktorem (markérem, determinantou nemoci) pro lidské zdraví rozumíme jakýkoliv znak zevního či vnitřního prostředí, u něž předpokládáme nebo jsme se empiricky přesvědčili, že přispívá ke vzniku morbidního stavu nebo k předčasnému úmrtí. Nejde tedy o příčinu, ale pouze o determinantu s mechanismem kauzálních vztahů, které přesně neznáme. Za současného stavu poznání, kdy často chybí náležité vědomosti o příčinách vzniku či zhoršování mnoha nemocí, nabývají informace o rizikových faktorech na významu. Snižování jejich výskytu v populaci slibuje reálnou možnost snížení incidence, prohlubování kontroly následných nemocí a tím i předcházení ekonomickým ztrátám. - Bráno pragmaticky, je pro každou zdravotní pojišťovnu výhodnější, má-li mezi svými klienty co nejmenší počet takových, kteří jsou rizikovým faktorům vystaveni.

Stejně důležité, jako samotné určení, je i měření velikosti rizika jednotlivých faktorů, neboť dovoluje stanovit pořadí jejich závažnosti. Měření je souhrnný pojem, pod který bývá obecně zahrnuta klasifikace a kvantifikace určitého jevu. Již roku 1889 Lord Kelvin prohlásil: "Jestliže to, o čem mluvíš, dokážeš změřit a vyjádřit to čísly, pak o tom něco víš. Jestliže to však nemůžeš měřit ani kvantifikovat, pak jsou tvé znalosti chudé a neuspokojivé (Panenborg, Ch. O. et al. 1984).

Propracované měření z hlediska čistě medicínského by znamenalo dokonalejší jak preventivní, tak i kurativní zásahy.

Z pohledu ekonomické strategie pojišťovny by umožnilo lepší prognózování, kam směřovat finanční prostředky a v budoucnu snad i diferencovat pojistné částky.

## **Materiál a metodika**

V současné době je známo velké množství rizikových faktorů biologických, chemických, fyzikálních, somatických, sociálních i demografických, které ovlivňují morbiditu, případně i mortalitu.

Většina jevů, se kterými se v medicínské každodenní praxi setkáváme, se na první pohled jeví jako systém vztahů a procesů, které jistě mají vnitřní souvislosti, avšak my je do detailu neznáme. K jejich poznávání máme dvě možnosti: pokus a pozorování.

Zvolíme-li pokus, potom záměrně měníme kvalitu nebo kvantitu "vstupu" do pozorovaného systému a sledujeme "výstupy", zda se i zde projeví kvalitativní či kvantitativní změny. Vytváříme nový systém informací, který má deterministický charakter. Je to přímá cesta k poznání zákonitých příčinných vztahů.

V pojišťovnické praxi je ovšem pokus nepřijatelný z etických důvodů. Máme tedy k dispozici pozorování, při němž jevy uměle neovlivňujeme, pouze sledujeme vzájemné vztahy zúčastněných činitelů, což však nedovoluje hledat ve vztazích přísnou determinovanost. Jestliže však pozorované jevy mají náhodnou povahu, potom teorie pravděpodobnosti dovoluje studovat přísnými matematickými metodami jinou jejich objektivní vlastnost - determinovanost statistickou.

Odhalování a měření statistických korelací pro znaky měřitelné nebo asociací pro znaky neměřitelné, vytváří teoretickou základnu, abychom mohli nepřímým způsobem usuzovat na povahu zákonitostí, kterými se řídí vztahy mezi sledovanými jevy (Gerylovová A., Holčík J. 1985, Kubánková V., Hendl J. 1986, Tomek M. et al. 1984).

V prezentované práci jsme vyšli z poznání, že vedle prokázání závislosti mezi nemocí a sledovaným znakem, je změřeni, jak velká je "patogenní síla" markéru vzhledem ke sledované nemoci.

Přímými kvantitativními mírami jsou ukazatelé, nazývaní v odborné literatuře relativní riziko a atributivní riziko (Lilienfeld A.M., Lilienfeld D.M. 1980, Tomek M. et al. 1984, Tomek M. et al. 1987, Tomková V. et al. 1989).

Přibližme si výpočet a vypovídací schopnost jmenovaných ukazatelů na příkladu z praxe.

### **Studovaný a kontrolní soubor**

Uvažovaným rizikovým znakem v našem dnešním sdělení je nepřítomnost optimální dávky sloučenin fluóru do organismu a sledovanou nemocí zubní kaz.

Otázka, na níž hledáme odpověď zní: v jaké míře se absence přívodu fluoru do organismu projeví jako determinanta vzniku zubního kazu?

Studovaný soubor tvořilo 73 devítiletých dětí, které žijí v lokalitě s přirozeně nízkými hodnotami sloučenin fluóru a ani jim nebyl fluór uměle dodáván. Kontrolní soubor tvořilo 70 devítiletých dětí, kterým byla strava od batolecího věku fortifikována tabletami Natrium fluoratum Spofa.



Do sledování byly zařazeny pouze ty děti, u nichž nebyla v anamnéze zjištěna systémová onemocnění, z lokalit, kde žijí v obdobných sociálně ekonomických podmínkách i s obdobnou dostupností stomatologické péče. Osobní hygienické návyky, které mohly ovlivňovat vznik zubního kazu, byly v obou souborech podobné. Taktéž se jednalo o děti s obdobnými výživovými faktory i stravovacím režimem. Pitná jvoda ve sledovaných lokalitách neobsahovalaj přirozeně zvýšené množství minerálních látek, které by se mohly podílet na ovlivnění vzniku zubního kazu.

Výrazný rozdíl byl mezi oběma soubory v příjmu optimálního množství fluóru do organismu.

### Populační šetření

Úkolem populačního šetření, o kterém referujeme i jakéhokoli jiného - a pojišťovny ve vlastním zájmu by je měly provádět - je určit jak velká je patogenní síla rizikového znaku vzhledem ke sledované nemoci. K prokázání rizika, slouží velikost statistické asociace. Jestliže sledovaný znak nemá žádný "příčinný" význam, hodnoty incidencí sledované nemoci v souboru studovaném i kontrolním se neliší více než připouští teorie pravděpodobnosti. Je-li však sledovaný znak skutečně "patogenní", je rozdíl mezi oběma incidencemi statisticky významný (Kubánková V., Hendl J. 1986, Reisenauer R. 1965).

### Výsledky

Zjištěné rozdíly v počtech dětí s intaktním chrupem, v počtu kazů, výplní a extrakcí mezi jednotlivými soubory vyjádřené v hodnotách indexu KPE byly posouzeny statisticky t-testem:

Průměrné hodnoty indexu KPE připadající na jedno dítě

Soubor A (F přítomen)			Soubor B (F nepřítomen)			p
n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	
70	6,17	8,65	73	13,31	10,84	p < 0,01

Výsledek je vysoce statisticky významný ve prospěch souboru, kde byl fluór dodáván. Takto prokázaná významnost, ovšem nic nevyovídá o velikosti protektivního účinku fluóru. Kvantitativního vyjádření bylo dosaženo pomocí ukazatelů relativní riziko a atributivní riziko (Lilienfeld A.M., Lilienfeld D.E. 1980, Tomek M. et al. 1986, Tomek M. et al. 1987, Tomková V. et al. 1989, Žáček A. 1984).

### Určení velikosti relativního rizika

Relativní riziko (RR) vypočítáme jako podíl pravděpodobnosti výskytu nemocí (úmrť) v souboru vystaveném působení rizikového znaku a souboru kontrolním.

Pro ilustraci náš konkrétní případ, na kterém si ukážeme postup výpočtu:

A) Roztřídíme údaje o celkovém počtu vyšetřených a z toho počtu nemocných v jednotlivých souborech

Soubor A	Soubor B
----------	----------

<b>(F přítomen)</b>		<b>(F nepřítomen)</b>	
vyšetřených celkem 70	z toho s nemocí 29	vyšetřených celkem 73	z toho s nemocí 55

B) Vypočítáme pravděpodobnost výskytu nemoci v souboru, který není vystaven rizikovému znaku a v souboru, na který rizikový znak působil

<b>Soubor A (F přítomen)</b>	<b>Soubor B (F nepřítomen)</b>
$29 : 70 = 0,4143$	$55 : 73 = 0,7534$

C) Vlastní výpočet hodnoty relativního rizika spočívá v podílu zjištěných pravděpodobností

$$0,7534 : 0,4143 = 1,82$$

Hodnota RR vyjadřuje kolikrát je vyšší pravděpodobnost onemocnění v souboru vystavenému rizikovému znaku, než v souboru bez působení rizika.

Určení velikosti atributivního rizika

Atributivní riziko se vypočítá jako rozdíl zjištěných pravděpodobností výskytu onemocnění (úmrť) v souboru zatíženém rizikovým znakem a v souboru bez působení rizika.

Soubor B (F nepřítomen)	-	Soubor A (F přítomen)	=	0,3391
0,7534		0,4143		

Výslednou hodnotu atributivního rizika je možno vynásobit např. stem. Získáme tak informaci o kolik více dětí ze sta bude nemocných v souboru, na nějž působí rizikový znak, oproti souboru, který není riziku exponován.

Atributivní riziko je ta část incidence exponované populace, která může být připsána výhradně na konto působení sledovaného rizikového znaku.

### Diskuse

"Rub a líc též mince" je samostatné prokázání vztahu mezi rizikovým faktorem a sledovanou nemocí a současně i změření, jak velká je "patogenní síla" takového vztahu.

Moderní statistické metody, spolu s populačním přístupem k řešení problému, dovolují velikost takových vzájemných vztahů kvantifikovat. Přímými mírami jsou ukazatelé relativní riziko a atributivní riziko.

Pomocí ukazatele relativní riziko lze určit, kolikrát je větší pravděpodobnost onemocnění v souboru jedinců vystavených působení rizika, než v souboru jedinců bez rizika.

Pro pojišťovnu je jistě dobré vědět, kolikrát je větší pravděpodobnost určitých onemocnění v souboru jedinců zatížených určitou determinantou nemoci.

Dále se kvalitní a prosperující pojišťovací praxe těžko obejde bez validních podkladů, které signalizují, jako budou nároky na potřebnost a rozsah poskytované péče. Věrohodnou odpověď dává ukazatel atributivní riziko, neboť je přesným odhadem o kolik více lidí bude postiženo určitým onemocněním jprávě v důsledku působení sledovaného rizikového znaku.

## **Závěr**

Ukazatelé relativní a atributivní riziko mají vysokou vypovídací hodnotu a lze si jen přát - především v zájmu našich klientů - aby byly v pojišťovací praxi využívány ve větší míře než je tomu doposud.

## **Literatura**

1. Gerylovová, A., Holčík, J.: Základy statistické metodologie v lékařském výzkumu. Avicenum, Praha 1985, 224 s.
2. Kubánková, V., Hendl, J.: Statistika pro zdravotníky. Zdrav. aktuality č. 208, Avicenum, Praha 1986, 280 s.
3. Lilienfeld, A.M., Lilienfeld, D.E.: Foundation of Epidemiology New York, Oxford University Press 1980, 375 s.
4. Panenborg, Ch.O. et al.: Reorienting Health Services. New York, Plenum Press 1984, 374 s.
5. Reisenauer, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace, SNTL, Praha 1965, 210 s.
6. Tomek, M. et al.: The Effect of Water Fluoridation on the Frequency of Dental Caries in Children. Scripta medica, 57, 1984, č. 7, 399-404 s.
7. Tomek, M., Tomková, V.: Použití ukazatelů relativní riziko a atributivní riziko v populačních šetřeních. Čs. hygiena, 35, 1987, 556-561 s.
8. Tomková, V. et al.: Podíl fluóru při ovlivnění kazivosti stálého chrupu školáků. Čs. stomatologie, 39, 1989, č. 5.
9. Žáček, A.: Metody studia zdraví a nemoci v populaci. Avicenum, Praha 1984, 404 s.

Scripta medica	70	Supplementum 4	270-276	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Ústav hematologie a krevní transfuze, \* II. dětská klinika FN Motol, Praha

**Z. Siegllová, R. Brdička, P. Lemež, J. Sajdová, J. Starý\***

## **Metylační změny regulačních oblastí DNA - možný univerzální marker maligního klonu u akutních leukemií**

### **Methylation alterations of 5 regions of DNA - promising universal marker of blast cells in acute leukemia**

#### **Souhrn**

Ve snaze o definování co nejuniverzálnějšího molekulárního markeru AML se naše pozornost zaměřila na *de novo* metylaci CpG ostrovů, lokalizovaných v 5 oblastech genů. Důsledkem abnormální metylace supresorových genů je jejich progresivní epigenetická inaktivace.

U našeho souboru pacientů s různými subtypy AML jsme sledovali metylační změny promotoru genu pro kalcitonin A, který je markerem genomové oblasti 11p15, kde je lokalizováno několik genů, regulujících buněčný růst. DNA izolovaná z mononukleárních buněk kostní dřeně z různých stádií nemoci, byla po štěpení metylsenzitivní restriktázou HpaII, kvantitativně analyzována metodou SPPE.

Naše předběžné výsledky potvrzují hypermetylaci promotoru genu pro kalcitonin A v myeloblastických buňkách, která se tak zdá být nadějným univerzálním markerem minimální reziduální nemoci AML.

#### **Summary**

In the effort to define an universal molecular marker of blast cells in AML, our interest has been focused on *de novo* methylation of CpG islands located in 5 regions of genes. Consequences of such abnormal methylation, which is one of the earliest events in multistep process of malignant transformation, result in silencing of tumor supressor genes, thus giving rise to a novel pathway to cause their progressive epigenetic inactivation.

In AML patients were studied methylation alterations of calcitonin gene promoter, located in 11p15 region, where also several growth regulatory genes have been identified. Samples of DNA extracted from mononuclear fraction of bone marrow aspirates taken at various stages of the disease, were after their restriction with methylsensitive enzyme HpaII quantitatively analyzed by SPPE method. Our preliminary results confirmed hypermethylation of calcitonin gene as a very common feature of myeloblastic cells, and that why a promising universal molecular marker of minimal residual disease in AML.

#### **Úvod**

Ve snaze definovat co nejuniverzálnější molekulární marker blastických buněk myeloidní řady, jsme se s ohledem na velkou heterogenitu strukturálních genomových změn i jejich poměrně nízké zastoupení u různých subtypů AML, zaměřili na regulační úroveň, konkrétně na *de novo* metylační změny specifických genů. Změny metylační hladiny DNA představují významnou, fylogeneticky

velmi starou epigenetickou kontrolu genové exprese, působící na nejvyšší regulační úrovni. K metylaci dochází v tzv. CpG ostrovech, které tvoří asi 1% obsahu genomu a jsou lokalizované převážně v promotorech a kódujících sekvencích na 5' koncích genů. Jedná se o u DNA metyltransferázou zprostředkovanou kovalentní adici CH<sub>3</sub> skupiny na 5. pozici uhlíku cytozínového jádra za vzniku 5- metylcytozínu (5-meC), ke které dochází po ukončení replikační S fáze buněčného cyklu. 5-meC se může udržovat v průběhu mnoha generací buněčného cyklu a inhibovat transkripci metylovaného genu. Způsob této inhibice není v současnosti ještě zcela objasněn, avšak v podstatě je v metylované DNA znemožněná vazba domén transkripčních faktorů na signální sekvence a je iniciovaná tvorbou transkripčně neaktivního heterochromatinu (*Boyes et Bird, 1991, Counts et Goodman, 1994*). Podle *Makose (1993)* mohou změny struktury chromatinu ovlivnit genovou expresi i replikaci chromozómů, o čem svědčí koincidence mezi CpG metylací a vznikem chromozomálních aberací. Zmíněné metylační modifikace CpG dinukleotidů jsou nezbytné pro normální embryonální vývoj, protože jsou součástí regulačního mechanismu růstu a diferenciaci buněk, kdy programovaná demetylase a *de novo* metylace zabezpečuje časově a tkáňově specifickou expresi a inhibici genů. V postnatálním vývoji jsou CpG ostrovy v normálních somatických buňkách bez metylace, resp. metylace se udržuje na nízké fyziologické hladině. Známé výjimky z tohoto pravidla jsou zejména geny na transkripčně neaktivním X chromozómu žen, geny s jednou parentálně specifickou alelou funkčně utlumenou genomovým imprintingem (*IGF2, H19, WTI*) a imprintované geny odpovědné za vznik některých syndromů (PWS, BWS, fragilní X). Podle nejnovějších poznatků se zdá, že metylace specifických elementů DNA (LINE a Alu sekvence) v normálních buňkách je součástí obranného systému genomu (*Bestor et Tycko, 1996, Jones, 1996*). Jednou z raných molekulárních změn v mnohostupňovém procesu maligní transformace buněk je *de novo* metylace CpG ostrovů i demetylase ojedinělých CpG dinukleotidů, převážně se vyskytujících na 3' koncech genů. Metylační nerovnováha pak spoluovlivňuje aktivitu onkogenů a supresorových genů je dispozicí nestability genomu, projevující se zvýšeným výskytem tranzicí v metylovaných CpG a též expanzí mikrosatelitních repetitivních sekvencí DNA. Důsledkem hypermetylace 5' konce supresorových genů je inhibice jejich transkripční aktivity, a parentálně specifická ztráta aktivní alely (LOH), vedoucí k selektivnímu růstu maligního klonu buněk. Hypermetylace v tumorových buňkách byla potvrzena např. u supresorových genů *p16* pro inhibitor CDK4 (*Merlo et al, 1995, Jamal et al, 1996, Lo et al, 1996*), *Rb* (*Sakai et al, 1991*) a dalších.

Zdá se, že z hlediska inhibice genové transkripce v hypermetylované DNA v kontextu s maligní transformací buněk je obzvlášť významná genomová oblast 11p. Platí to zejména pro telomerický pruh 11p15, který obsahuje supresorové geny (*WT2, KIP2*) i celé oblasti spojené s neoplázií (*MTACR1, ST5*), embryogenezi ( imprintované geny *IGF2, H19*) i lokusy kontrolující normální růst a vývoj (*Nowak et al, 1995*). Z nich např. produkt supresorového genu *KIP2 (p57)* je součástí signální kaskády buněčného cyklu, konkrétně inhibuje aktivitu cyklin dependentních kináz. Vhodným markerem metylačních změn ve zmíněné genomové oblasti je gen pro kalcitonin A (*CALCA*) s CpG ostrovy v promotoru a přilehlých úsecích na 5' konci genu. Jejich *de novo metylace* se zdá být charakteristická pro blastické buňky myeloidní i lymfoidní řady. Předchozí výzkumy prokázaly, že až 95 % pacientů s akutními leukémiemi (AML a ALL) má ve floridním stadiu hypermetylovaný *CALCA* gen v blastických buňkách kostní dřeně (*Baylin et al 1991*) a že pozitivní nález v 1. kompletní remisi je signálem brzkého relapsu nemoci (*Palotie et Syvanen, 1993*). Naproti tomu v chronické fázi CML vykazuje *CALCA* gen v buňkách kostní dřeně normální hladinu metylace, k hypermetylaci dochází až při eskalaci nemoci, přechodu do akcelerační fáze a blastického zvratu (*Ihalainen et al, 1994*).

## Soubor a metody

U části našeho souboru pacientů byla stanovena hladina metylace dvou úseků promotoru *CALCA* genu ve vzorcích DNA izolovaných z mononukleárních buněk kostní dřeně. 43 vzorků pocházelo od 15 dospělých a 4 dětských pacientů s různými subtypy AML, 7 od 5 pacientů s MDS (RA, RAEB, CMML) a 2 vzorky od pacienta v blastickém zvratu CML. Z toho 5 pacientů bylo sledováno longitudinálně - při stanovení diagnózy, v průběhu indukční léčby, v kompletní klinické remisi i v relapsu. Negativní kontroly, potřebné pro stanovení hranic referenčního intervalu normálních hodnot metylační hladiny tvořily vzorky kostní dřeně, získané od zdravých dárců. Podstatou námi prováděné detekce metylace v regulačních 5 oblastech genomu je PCR amplifikace vybraných úseků DNA obsahujících CpG ostrovy, po jejím štěpení metylsenzitivní restriktázou Hpa II, které musí být dokonalé, aby nedocházelo k falešně pozitivním výsledkům. Tento restriktivní enzym totiž štěpí cílový palindróm *CCGG* pouze v případě, když centrální cytozín není metylován, v opačném případě k rozštěpení nedojde. Protože pro správnou interpretaci výsledků je obzvláště důležitý způsob kvantifikace PCR produktu, zvolili jsme u nás dosud nepoužívaný metodický přístup - **polymerázovou reakci na pevném podkladě** (metoda **SPPE** - **Solid Phase Primer Extension**, obr. 3). Analýza metodou SPPE (*Palotie et Syvänen, 1993, Heiskanen et al, 1994*) je, dle našeho názoru, nejen dosud nejexaktnějším způsobem kvantitativního stanovení stupně metylace specifických oblastí genomu s možností ověřování průkaznosti individuálních rozdílů mezi fyziologickou a patologicky změněnou hladinou metylace, ale je vhodná i pro rutinní analýzu vzorků pro klinickou praxi. Výsledky jsou vyjádřeny v podobě R indexu, kterého hodnota je v přímé závislosti na stupni metylace. Jedná se o poměr intenzity radioaktivního signálu 3H inkorporovaného do HpaII štěpeného vzorku k radioaktivitě stejného neštěpeného vzorku -  $R_4$  pro úsek 4, resp.  $R_5$  pro úsek 5 *CALCA* genu). Přesnější vyjádření ve formě procenta metylovaných alel není možné s ohledem na typický znak metylačních změn DNA, totiž varianci metylační hladiny mezi jednotlivými buňkami. Na tomto místě je třeba připomenout, že maligní transformaci hemopoetických buněk je třeba chápat jako klonální proces, a tedy zjišťované hodnoty R indexu daného vzorku vyjadřují úměrné zastoupení buněk patologického klonu s předpokládanou vysokou hladinou metylace k normálním buňkám v něm obsažených. Protože i v netransformovaných somatických buňkách se vyskytuje určitá fyziologická hladina metylace, je obtížné odhadnout i absolutní senzitivitu metody, nakolik chybějí standardy, které by měly všechny templátové molekuly DNA ve vzorku buď metylované nebo nemetylované. **Výsledky** Průměrná hodnota R indexu a směrodatná odchylka negativních kontrol je  $R_4 = 0.148 + 0.026$ , resp.  $R_5 = 0.175 + 0.050$  a horní hranice negativních hodnot (průměr+2 směrodatné odchylky) dosahuje výše  $R_4 = 0.200$  a  $R_5 = 0.275$ .

U všech dosud vyšetřených pacientů ve floridním stadiu AML byla prokázána hypermetylace promotoru *CALCA* genu. Průměrná hodnota 9 pacientů při diagnóze AML dosahuje výše  $R_4 = 0.578 + 0.117$ ,  $R_5 = 0.599 + 0.179$  a průměrná hodnota 3 pacientů v relapsu onemocnění je dokonce ještě vyšší:  $R_4 = 0.751 + 0.073$ , resp.  $R_5 = 0.601 + 0.107$ .

11 vyšetřených pacientů s různými subtypy AML, kteří dosáhli po indukční léčbě kompletní klinickou remisi, je možné rozdělit podle tohoto kritéria do tří skupin. U 4 z nich byla hodnota R indexu negativní. ( $R_4 = 0.167 + 0.029$ ,  $R_5 = 0.172 + 0.034$ ). U dvou z nich dosud trvá, jeden pacient je po allogení TKD bez obnovy původní krvetvorby a u pacientky M.S., s negativní hodnotou před TKD, došlo 150 dní po TKD k obnovování původní krvetvorby, relapsu a exitu. 2 pacienti měli v jednom úseku slabě pozitivní, či hraniční hodnoty ( $R_4 = 0.250$ ,  $R_5 = 0.260$ ), zatímco druhý úsek byl bez metylace ( $R_4 = 0.160$ ,  $R_5 = 0.195$ ). U pacienta A.P. (AML-M3), který byl v době vyšetření v 2. ČR před TKD (0.8 % blastů v KD), pak došlo k relapsu onemocnění a exitu po 7 měsících, kdy byla na základě molekulárně genetického vyšetření prokázána i obnova jeho původní krvetvorby. Pacientka V.B. je dosud v CR. U dalších 5 pacientů v morfologické CR byla prokázána hypermetylace promotoru *CALCA* genu ( $R_4 = 0.319 + 0.097$ ,  $R_5 = 0.386 + 0.156$ ), 2 z nich však

nedosáhli cytogenetické remise - J.K. (2x -Y/20 mit.), u kterého nastal klinický relaps a exitus po 1 měsíci a A.P. (2x 5q-/20 mit). U pacientky V.H. byl prokázán po 81 dnech od vyšetření relaps onemocnění , exitus. Pacient J.Š., který dosáhl CR po 2. indukční léčbě (3.5 % blastů) měl slabě pozitivní hodnotu R indexu (0.274), exitus však nastal krátce po allogení TKD jako následek postransplantačních komplikací.

### Longitudinální průběh metylačních změn

Průběh metylačních změn u longitudinálně sledovaných pacientů vykazuje jednoznačný trend. Koreluje s jejich klinickým stavem v tom smyslu, že v průběhu indukční léčby se vysoké hodnoty indexů stanovené ve floridním stadiu při diagnóze postupně snižují, až po hodnoty v intervalu normálních hodnot, či na jejich horní hranici, dosažené v kompletní klinické remisi (grafy č. 1,3,4). Naopak R indexy vyjadřující normální metylaci v CR se zjevně zvýší v relapsu nemoci (graf č. 2)

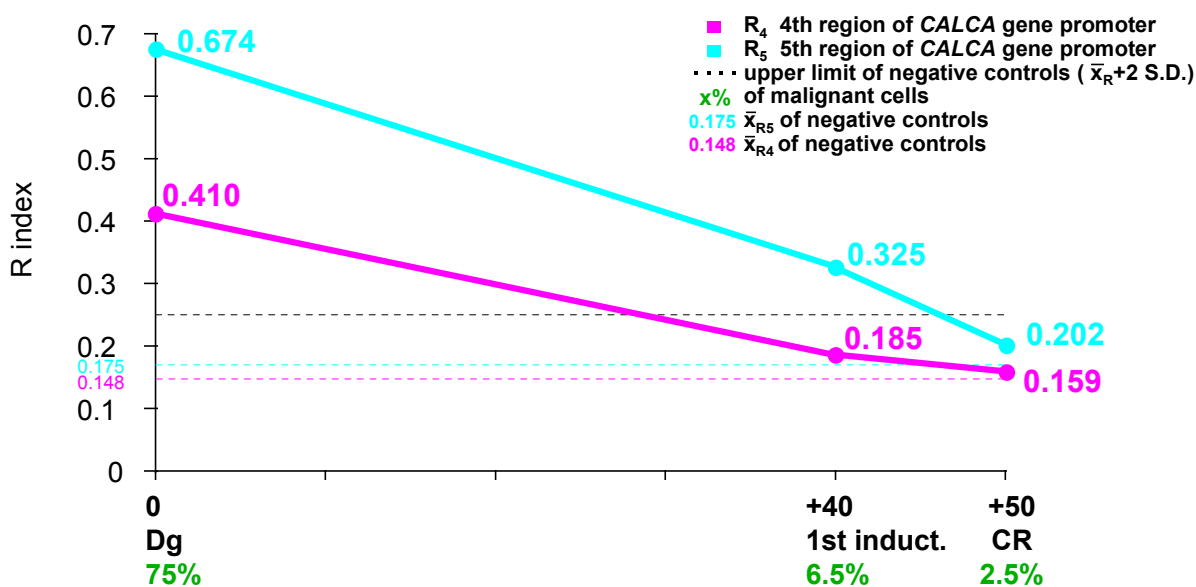
**Závěr** Nejen doposud publikované údaje, ale i naše výsledky naznačují, že spolehlivě kvantitativně stanovená hladina metylace promotoru *CALCA* genu je nadějným univerzálním markerem AML , přičemž pozitivní nález hypermetylace v 1. remisi, se zdá být signálem brzkého relapsu nemoci. Kromě toho může být též potencionálním markerem klonality prognostickým faktorem MDS a signálem blastického zvratu CML. V neposlední míře je zkoumání fenoménu metylace DNA i příspěvkem k objasnění molekulárních změn, vedoucích k maligní transformaci hemopoetických buněk

### Poděkování

*Dovolujeme si vyslovit poděkování autorům SPPE prof. dr. Aarno Palotie a jeho spolupracovníkům z Univerzitní kliniky a Dr. Ann-Christine Syvänen z Ústavu národního zdraví v Helsinkách za jejich cenné rady a pomoc při zavádění metody a p. Markétě Kubálkové za laboratorní práce.*

## ALTERATIONS IN *CALCA* GENE (11p15) PROMOTER METHYLATION

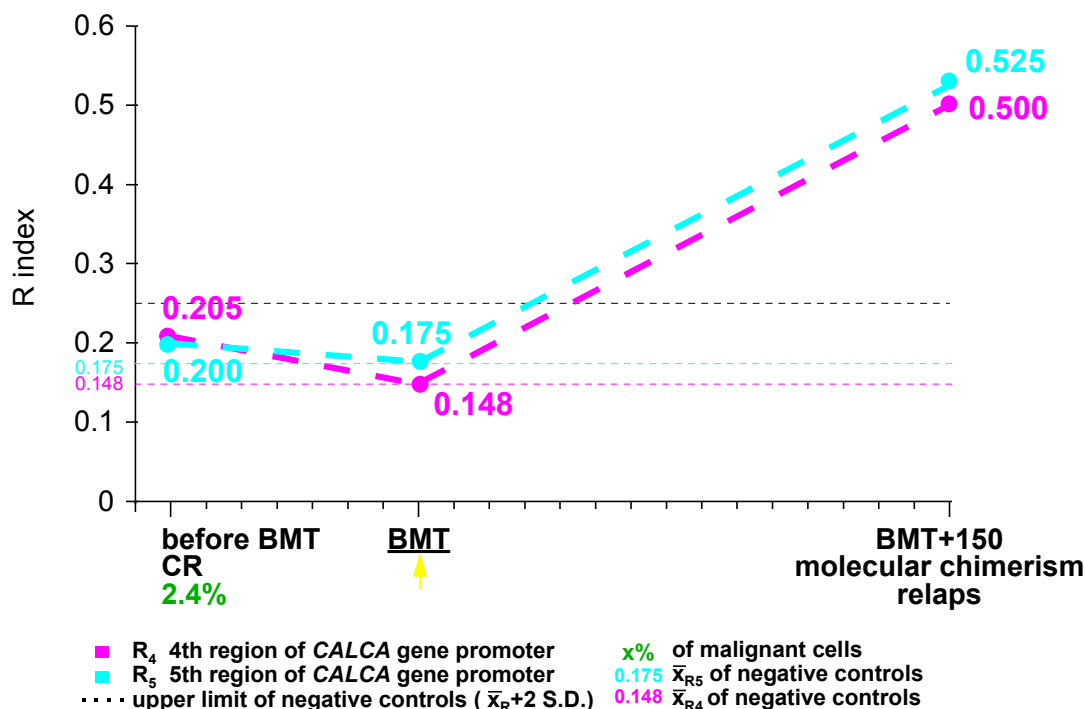
PATIENT: J.M. Dg: AML - M2



Graf č.1 Změny metylační hladiny 2 úseků promotoru *CALCA* genu - J.M. (AML-M2)

## ALTERATIONS IN CALCA GENE (11p15) PROMOTER METHYLATION

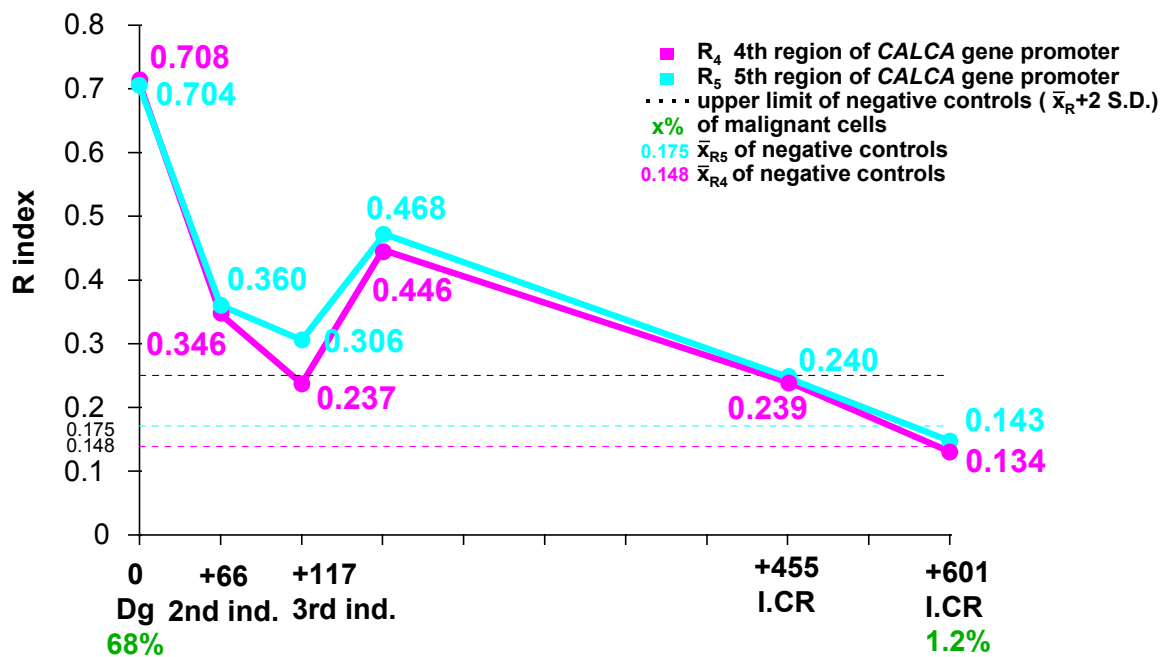
PATIENT: M.S. Dg: AML - M1



Graf č.2: Změny metylační hladiny 2 úseků promotoru CALCA genu - M.S. (AML-M1)

## ALTERATIONS IN CALCA GENE (11p15) PROMOTER METHYLATION

PATIENT: E.H. Dg: AML - M4

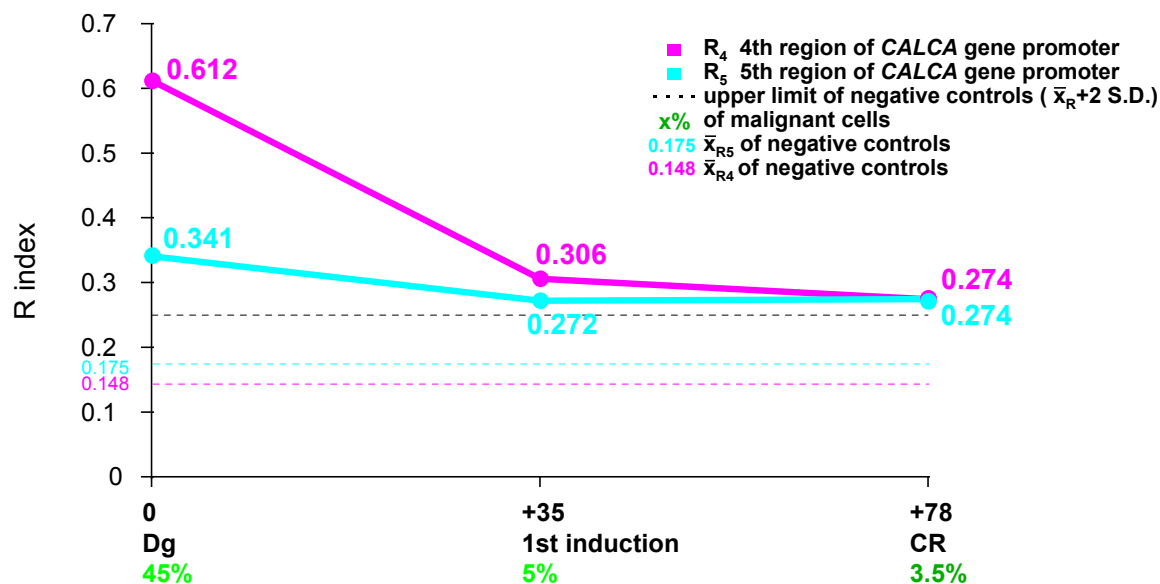


Graf č.3: Změny metylační hladiny 2 úseků promotoru CALCA genu - E.H. (AML-M4)



## ALTERATIONS IN *CALCA* GENE (11p15) PROMOTER METHYLATION

PATIENT: J.Š. Dg: AML - M2



Graf č.4: Změny metylační hladiny 2 úseků promotoru *CALCA* genu - J.Š. (AML-M2)

### Literatura

1. Boyes, J., Bird, A.: DNA methylation inhibits transcription indirectly via a methyl-CG binding protein. *Cell*, 64, 1991, s. 185-188
2. Counts, J.L., Goodman, J.A.: Hypermethylation of DNA: An epigenetic mechanism involved in tumor promotion. *Mol. Carc.*, 11, 1994, s. 185-188
3. Makos, M.: Distinct methylation patterns occur in altered chromosome loci in human lung and colon cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 89, 1992, s. 1929-1933.
4. Bestor, T.H., Tycko, B.: Creation of genomic methylation patterns. *Nature Genetics*, 12, 1996, s. 363-367
5. Jones, P.A.: DNA Methylation Errors and Cancer. *Cancer Research*, 56, 1996, s. 2463-2467
6. Merlo, A., Herman, J.G., Mao, I., Lee, J., Gabrielson, E., Burger, P.C., Bazlin, S.B., Sidransky, D.: CpG Island Methylation is Associated with Transcriptional Silencing of the Tumor Suppressor p16/CDKN2/MTS1 in Human cancers. *Nat. Med.*, 1, 1995, s. 686-692
7. Jamal, R., NSB. Thomas, Gale, R.E. Linch, D.C.: Variable Expression of p16 Protein in Patients with Acute Myeloid Leukemia without Gross rearrangements at the DNA Level. *Leukemia*, 10, 1996, s. 629-636
8. Lo, K.W., Cheung, S.T., Leung, S.F., Vanhasselt, A., Tsang, Z.S., Mak, K.F., Chung, Z.F., Woo, J.K.S., Lee, J.C.K., Huang, D.P.: Hypermethylation of the p16 Gene in Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer Research*, 56, 12, 1996, s. 2721-2725
9. Sakai, T.: Allele-specific hypermethylation of the retinoblastoma tumor suppressor gene. *Am. J. Hum. genet.*, 48, 1991, s. 880-888
10. Nowak, J., Shows, T.B.: Genetics of Chromosome 11: Loci for Pediatric and Adult Malignancies, Developmental Disorders, and Other Diseases. *Cancer Investigation*, 13, 1995, s.

646-659

11. Baylin, S., Fearon, E., Vogelstein, B., de Bustros, A., Sharkis, Burke, P.J., Staal, S.P., Nelkin, B.D.: Hypermethylation of the 5' region of the Calcitonin Gene Is a Property of Human Lymphoid and Acute Myeloid Malignancies. *Blood*, 70, 2, 1991, s. 412-417

12. Palotie, A., Syvänen, A.C.: Development of molecular genetics method for monitoring myeloid malignancies. *Scand. J. Lab. Invest.*, 1993, s. 29-38

13. Ihalainen, J., Juvonen, E., Savolainen, E.R., Ruutu, T., Palotie, A.: Calcitonin gene methylation in chronic myeloproliferative disorders. *Leukemia*, 8, 2, 1994, s. 230-235.

14. Heiskanen, M., Syvänen, A.C., Siitari, H., Laine, S., Palotie, A.: A novel method to quantitate methylation of specific genomic regions. *PCR Methods and Applications*, 4, 1994, s. 26-30

*Tato práce je součástí grantového projektu reg. č. 1921-4 a vznikla za finanční podpory IGA MZ ČR.*

Scripta medica	70	Supplementum 4	277-280	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>II. interní klinika FN Brno-Bohunice

<sup>3</sup>Hematologické odd., Nemocnice FD Roosevelta, Banská Bystrica

<sup>1</sup>Faber E., <sup>1</sup>Indrák K., <sup>2</sup>Penka M., <sup>2</sup>Krahulcová E., <sup>3</sup>Mociková K., <sup>3</sup>Kuviková A.,  
<sup>1</sup>Jarošová M., <sup>1</sup>Pikalová Z., <sup>1</sup>Slezák P.

## Perspektivy použití interleukinu - 2 v imunoterapiích akutních leukémií

### Souhrn

Celulární nescifická imunita hraje významné místo při likvidaci minimálního leukemického postižení po transplantaci kostní dřeně (TKD) nebo v kompletní hematologické remisi (KHR). Její účinek může být pozitivně ovlivněn podáním interleukinu-2 (IL-2), což bylo prokázáno dosažením KHR vysoce dávkovaným IL-2 u relabovaných nebo rezistentních AML. IL-2 lze také prodloužit trvání 2.KHR vůči první. Vymezení přesných indikací, načasování a dávkování IL-2 v konsolidační imunoterapii AL po chemoterapii nebo TKD bude možno provést až po vyhodnocení dalších klinických studií.

### Summary

Non-specific cellular immunity has found to be important in elimination of minimal leukemic disease after bone marrow transplantation (BMT) or in complete hematological remission (CHR). Its' effect can be amplified by the application of interleukin-2 (IL-2), that was proved by achievement of CHR with high-dose IL-2 in relapsed or resistant AML. Moreover, second CHR can be prolonged in comparison with first one by means of IL-2. More clinical trials should be finished in order to establish the actual indications, timing and dose-schedules of IL-2 in consolidation immunotherapy of AL after chemotherapy or BMT.

Klíčová slova: interleukin-2, akutní leukémie, imunoterapie

Základním terapeutickým cílem v léčbě akutních leukémií (AL) je dosažení a následné udržení kompletní hematologické remise (KHR). U akutní myeloidní leukemie (AML) vede současná indukční chemoterapie ke KHR u 60 - 70% nemocných (5). Z dlouhodobých teritoriálních studií však vyplývá, že více než osm let přežívá pouze 5 - 10% pacientů (15). Lepší výsledky uTKD nejsou podmíněny pouze intenzitou podané chemoterapie, vše svědčí pro významnou účast imunitních mechanismů známých v tomto kontextu jako reakce štěpu vůči leukémii (GVL) (14). Přímý důkaz o roli buněčné imunity při eliminaci nádorové populace poskytuje zvládnutí relapsů AML po alogenní TKD podáním transfuzí dárcovských lymfocytů (14). U nemocných s floridní

AML byly zjištěny defekty celulární imunity v počtu a aktivitě lymfokiny aktivovaných zabíječských (LAK) lymfocytů, které se mohou upravit v remisi (10).

První zprávy o inhibičním účinku IL-2 a LAK buněk na leukemické blasty in vitro a v pokusu na zvířatech se datují do poloviny 80-tých let. Fierro prokázal, že růst leukemických blastů izolovaných z krve i kostní dřeně je inhibován normálními LAK efektorů, potencovanými IL-2 (8). Thomas v pokusech na myších zjistil, že aplikace vysoce dávkovaného IL-2 vede ke blokáde proliferace leukemické linie (22). Pokud jsou NK buňky defektní a k lýze blastů nedochází, dá se aplikací IL-2 jejich funkce obnovit (17). Dalším výzkumem byly poskytnuty z hlediska klinického použití důležité důkazy o tom, že i když leukemické blasty někdy exprimují receptor s nízkou afinitou pro IL-2, aplikace IL-2 nevede k proliferační odpovědi leukemického klonu (9, 23). Lze tedy shrnout, že preklinické studie potvrzují efektivitu IL-2 aplikovaného s nebo bez NK efektorů na ovlivnění růstu leukemických elementů in vitro, při transplantaci tumoru imunosuprimovaným myším a v podmínkách transplantátu periferních kmenových buněk i kostní dřeně. Mechanismus tohoto účinku není doposud úplně objasněn, nicméně uvažuje se jednak o přímém účinku IL-2 na blasty, ale také o nepřímých účincích přes cytokinovou síť.

Klinická aplikace IL-2 u AL se opírá nejen o výsledky výše zmíněných experimentů in vitro a na zvířatech, ale zejména o humánní studie popisující imunitní změny (generace efektivních LAK elementů) po podání IL-2 (10). První pilotní studie byly provedeny koncem 80-tých let. Intravenózní podání vysoce dávkovaného režimu dokázalo u několika nemocných s relapsem AML navodit kompletní remisi onemocnění (18). Tyto remise však byly ve většině případů krátkodobé a vysoce dávkovaný IL-2 vedl k závažným vedlejším účinkům. Nejlepší výsledky byly dosaženy u nemocných s omezeným počtem blastů v kostní dřeni, kdy 5 z 8 těchto nemocných se 7 - 24% blastů v kostní dřeni dosáhlo KHR (19). Závěry této a dalších studií vedly k odpovídající změně strategie pro podání IL-2, kdy jako nejvýhodnější se považuje situace minimální residuální nemoci. Bergmann publikoval výsledky, podle nichž IL-2 může u části nemocných prodloužit druhou KHR AML vůči první (3). Jednou z mála randomizovaných studií IL-2 u AML je německá studie srovnávající účinek nízce a vysoce dávkovaného IL-2 v konsolidační imunoterapii u nemocných s vysoce rizikovou AML nebo MDS v první KHR, o které referoval Hoelzer na setkání EBMT v roce 1996 (11). Doposud bylo randomizováno přes deset nemocných v každém ramenu a průběžné výsledky nezjišťují rozdíl v přežití obou skupin nemocných. To by mohlo znamenat buď neúčinnost IL-2, nebo naopak efektivitu nízce dávkovaného režimu. Laboratorní poznatky o tom, že monocyty mohou blokovat účinnost NK buněk a že tento efekt lze odstranit podáním histaminu se uplatnily ve studii, ve které bylo 12 nemocných s AML v první až třetí remisi léčeno s dobrými výsledky kombinací IL-2 a histaminu (6).

Pokud se týká léčby nemocných s ALL, dá se říci, že i když se někdy podaří navodit nebo udržet remisi onemocnění, resp. vyvolat příslušnou imunologickou odezvu na podání IL-2, odpověď je u převážné většiny léčených nedostatečná. Příčinou je snad těžší imunodeficience ve srovnání s AML, nebo menší senzitivita lymfoblastů vůči NK efektorům. Německá studie zkoumající vliv kombinace IL-2 a interferonu v udržení KHR u Ph pozitivní ALL byla pro neefektivnost zastavena (13).

Poměrně největší zkušenosti s imunoterapií IL-2 jsou u TKD. Autologní TKD je z hlediska aplikace IL-2 nejvýhodnější - eliminace nádoru je maximální, nespecifická celulární imunita se obnovuje po výkonu jako první a samotný štěp představuje výhodný cíl pro imunitní manipulace. Alogenní TKD je z hlediska využití IL-2 nebezpečná možností vyvolání GVHD. Jsou však zprávy o tom, že právě IL-2 může za určitých podmínek oddělit nežádoucí GVHD od kýženého GVL efektu, jak uvedl Sykes (21). Nedávné experimenty Xuna potvrdily, že GVHD a GVL jsou ve svých mechanismech odlišné (24). Soiffer a spol. podávali IL-2 po alogenní TKD, zbavené T lymfocytů, u nemocných s rizikovými hematologickými malignitami bez toho, aby vyvolali GVHD. Naopak,

dosáhli výrazných imunologických změn, které se pravděpodobně podílí na tom, že polovina nemocných transplantovaných v KHR žije bez projevů onemocnění (20).

Další zprávy Benyunes, Fefera a Hamona se týkají více než 30 nemocných transplantovaných pro AML, kdy bylo dosaženo výsledků, které opodstatňují provedení prospektivních randomizovaných studií (2, 7, 12). Doposud největší multicentrickou studii provedenou u 50 nemocných s AML a ALL prezentoval v roce 1996 Blaise (4). Nemocní byli léčeni různými dávkami IL-2 v intravenózním režimu v průběhu 5 cyklů. Infuze IL-2 vedly k vysoké imunitní odezvě, ale také vedlejším účinkům, pro které 2 pacienti zemřeli. Tato studie nepotvrdila redukci relapsů ani zlepšení přežívání léčených pacientů vůči historickým kontrolám. Obdobně Attal nezjistil v randomizované studii u 30 nemocných s ALL léčených IL-2 snížení relapsů vůči stejně velkému souboru neléčených (1). Klingemann provedl autologní transplantaci kostní dřeně u 23 nemocných s vysoce rizikovou AML, když štěp před podáním 8 dní kultivoval s IL-2 a následně v potransplantačním průběhu nemocným aplikoval nízké dávky IL-2. Po 3 letech je 41% pacientů z tohoto souboru v kompletní remisi (16).

Z uvedených fakt je zřejmé, že místo IL-2 v léčbě akutních leukémií není zdaleka vymezeno. Je potřeba urychleně provést další podle možnosti randomizované klinické studie, které by přinesly informace potřebné k vymezení indikací, optimálního načasování a dávkování imunoterapie IL-2. S cílem přispět k uvedenému autoři sdělení provádějí multicentrickou randomizovanou studii zkoumající účinek nízké dávkovaného IL-2 na udržení 1. KHR u nemocných s AML. Do studie bylo podosud zařazeno 24 nemocných, avšak délka jejich sledování prozatím neumožňuje konečné shodnocení.

Práce byla podpořena grantem IGA Ministerstva zdravotnictví České republiky č. 2634-3.

## Literatura

1. Attal, M. et al. : Consolidation treatment of adult acute lymphoblastic leukemia : a prospective, randomized trial comparing allogeneic versus autologous bone marrow transplantation. *Blood*. 86, 1995, č. 4, s. 1619 - 1628.
2. Benyunes, M. C., et al. : Interleukin-2 with or without lymphokine-activated killer cells as consolidative immunotherapy after autologous bone marrow transplantation for acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 12, 1993, s. 159 - 163.
3. Bergmann, L., et al. : Interleukin-2 bolus infusion as late consolidation therapy in second remission of acute myeloblastic leukemia. *Leuk. Lymphoma*. 16, 1995, s. 271- 279.
4. Blaise, D., et al. : The use of R IL 2 after autologous BMT in 50 patients with acute leukemia in CR1 do not improve leukemia free survival. *Brit. J. Haematol.* 93, 1996, Suppl. 2, s. 158.
5. Bloomfield, C. D., Baer, M. R., Herzig, G. P. : Acute myeloid leukaemia in adults : an update. Educational Sessions of the Second EHA. 29 May - 1 June 1996, Paris, France. Blackwell Science Ltd. Oxford, England, 1996, s. 91 - 96.
6. Brune, M., Mellqvist, U. H., Hellstrand, K. : Histamine and interleukin-2 in AML. *Brit. J. Haematol.* 93, 1996, Suppl. 2, s. 158.
7. Fefer, A., et al. : Interleukin-2 therapy after autologous bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Semin. in Oncol.* 20, 1993, Suppl. 9, s. 41 - 45.
8. Fierro, M. T., et al.: In vitro and in vivo susceptibility of human leukemic cells to lymphokine activated killer activity. *Leukemia*. 2, 1988, č. 1, s. 50 - 54.
9. Foa, R., et al.: Interleukin 2 does not promote the in vitro and in vivo proliferation and growth of human acute leukaemia cells of myeloid and lymphoid origin. *Brit. J. Haematol.* 75, 1990, č. 1, s. 34 - 40.

10. Foa, R., et al.: Peripheral blood and bone marrow immunophenotypic and functional modifications induced in acute leukemia patients treated with ineterleukin 2: evidence of in vivo lymphokine activated killer cell generation. *Cancer Res.* 51, 1991, s. 964 - 968.
11. Ganser, A., et al.: Aggressive chemotherapy combined with G-CSF and maintenance therapy with interleukin-2 for patients with advanced myelodysplastic syndrome, subacute or secondary acute myeloid leukemia - initial results. *Ann. Hematol.* 66, 1993, č. 3, s. 123 - 125.
12. Hamon, M. D., et al.: Immunotherapy with interleukin-2 after autologous bone marrow transplantation in acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 11, 1993, č. 5, s. 399 - 401.
13. Hoelzer, D. : Acute lymphoblastic leukaemia in adults. Educational Sessions of the Second EHA. 29 May - 1 June 1996, Paris, France. Blackwell Science Ltd. Oxford, England, 1996, s. 86 - 90.
14. Horowitz, M. M., et al.: Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantations. *Blood.* 75, 1990, s. 555 - 562.
15. Johnsen H. E., et al.: Acute myeloid and lymphoblastic leukemia in adults - the course of the disease in 315 patients from one region, during a ten-year period. *Dan.Med.Bull.* 36, 1989, s. 189 - 93.
16. Klingemann H.G.: Role of postinduction immunotherapy in acute leukemia. *Leukemia*, 10, 1996, Suppl. 1, s. S 21 - S 22.
17. Lotzová, E., et al. : Generation of cytotoxic NK cells in peripheral blood and bone marrow of patients with acute myelogenous leukemia after continuous infusion with recombinant interleukin-2. *Am. J. Hematol.* 37, 1991, s. 88 - 99.
18. Maraninchi, D., et al.: High-dose recombinant interleukin 2 and acute myeloid leukemias in relapse. *Blood*, 78, 1991, s. 2182 - 2187.
19. Meloni, G., et al. : Interleukin-2 may induce prolonged remissions in advanced acute myelogenous leukemia. *Blood.* 84, 1994, s. 2158 - 2163.
20. Soiffer, R. J., et al.: Clinical and immunologic effects of prolonged infusion of low-dose recombinant interleukin-2 after autologous and T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Blood.* 79, 1992, č. 2, s. 517 - 526.
21. Sykes, M., et al.: Interleukin-2 inhibits graft-versus-host disease-promoting activity of CD4+ cells while preserving CD4- and CD8-mediated graft-versus-leukemia effects. *Blood.* 83, 1994, č. 9, s. 2560 - 2569.
22. Thompson, J. A., et al. : Eradication of disseminated murine leukemia by treatment with high dose interleukin-2. *J. Immunol.* 137, 1986, s. 3675 - 3680.
23. Weidmann, E., et al. : AML blasts variably express interleukin-2 receptors alpha, beta or gamma chains without measurable effects on proliferation, cytokine message expression or surface expression of adhesion molecules upon stimulation with interleukin-2. *Leuk. Res.* 19, 1995, č. 7, s. 469 - 476.
24. Xun, C. Q., et al. : The effect of human IL-2-activated natural killer and T-cell on graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia in SCID mice bearing human leukemia cells. *Transplantation*, 60, 1995, č. 8, s. 821 - 827.

Scripta medica	70	Supplementum 4	281-287	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>3.interní klinika VFN a 1.LF UK

<sup>2</sup>ÚHKT, U nemocnice 1,12808 Praha

**<sup>1,2</sup>Kyra Michalová, <sup>1</sup>Zuzana Zemanová, <sup>2</sup>Jana Březinová**

## **FLUORESCENČNÍ IN SITU HYBRIDIZACE (FISH) V DIAGNOSTICE HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT**

## **FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION (FISH) IN DIAGNOSIS OF HEMATOLOGIC MALIGNANCIES**

### **Souhrn**

Cytogenetika se v posledních letech stala významnou součástí klinického hodnocení hematologických nemocných. Chromosomové analýzy přinášejí důležité informace pro diagnózu a prognózu nemocného, mohou pomoci při sledování remise nebo relapsu, pomáhají monitorovat účinky léčby jak chemoterapeutické tak i transplantační. V onkocytogenetice byly zavedeny speciální molekulární metody, které zvýšily citlivost a přesnost klasických technik a vhodně je doplňují. Jsou založeny na hybridizaci neradioaktivně značených sond DNA s buňkami fixovanými na mikroskopickém preparátu. Průkaz navázaných sond na chromosomech se provádí pomocí nejrozličnějších fluorochromů ve fluorescenčním mikroskopu. Metoda umožňuje i sledování chromosomového vybavení nedělících se jader buněk v interfázi. Fluorescenční in situ hybridizaci (FISH) používáme úspěšně při:

- (1) Studiu karyotypu buněk v metafázi i interfázi
- (2) Určování početních a strukturních chromosomových odchylek
- (3) Detekci leukemických buněk a minimální reziduální choroby
- (4) Sledování remise či časného relapsu
- (5) Sledování proliferační výhody in vitro buněk s chromosomovým markerem jako je např. translokace t(9;22), trisomie 8, 12 a další

Uvádíme stručný princip metody, popis používaných sond a stručný přehled získaných výsledků.

Tato studie byla podpořena grantem IGA MZČR 2309-3.

### **Abstract**

During the last few years cytogenetics has become important part of clinical evaluation of hematologic patients. Chromosomal analyses brought important informations for diagnosis and prognosis of leukemias, helped to follow remission or relapse and enabled monitoring of chemotherapeutic and/or bone marrow transplantation treatment. Special molecular methods which improved sensitivity and precision of cytogenetic analyses were introduced. These methods are based on hybridization of non-radioactively labelled DNA probes to specimen fixed on microscopic

slides. The detection of probes is done by different antibodies conjugated with fluorochromes in fluorescence microscope. FISH enables also examination of chromosomal complement of non-dividing nuclei in interphase. In our laboratories we are using FISH to:

- 1) Study the karyotype of the cells in metaphase and/or interphase
- 2) Determine numerical and structural chromosomal aberrations
- 3) Detect leukemic cells and minimal residual disease
- 4) Examine remission or early relapse of the disease
- 5) Determine in vitro proliferation of the cells with chromosomal marker (for example translocation t(9;22), trisomy 8, 12 and many others)

We present principle of FISH method, description of DNA probes used for different modifications of the technique and their detection. Short review of our results obtained by FISH is given.

This work was supported by grant IGA MZCR 2309-3.

## Úvod

Pro většinu zhoubných nádorů jsou typické specifické chromosomové změny. U hematologických malignit jsou tyto změny charakteristické pro určitý subtyp leukemií a lymfomů s odpovídajícími morfoloickými, imunofenotypickými a klinickými nálezy (Le Beau 1993). Cytogenetické vyšetření se stalo důležitou součástí při stanovení diagnózy u nemocných se všemi typy leukemií a s myelodysplastickým syndromem (MDS). Na základě cytogenetických a molekulárně biologických studií je popsána celá řada chromosomových změn a přestaveb, především typu translokací, které zřejmě hrají základní roli při vzniku neoplazií (Rabbits 1994). V současnosti jsou známa přesná zlomová místa na chromosomech, byly popsány postižené geny, které jíb byly klonovány a byly rovněž prostudovány produkty hybridních genů, které při určitých typech translokací vznikají. Jsou dva základní typy translokací. Při prvním typu translokace je zlom uvnitř genu na každém ze zúčastněných chromosomů a nový fuzovaný gen koduje chimerický protein. Z nejčastěji se vyskytujících můžeme jmenovat translokaci, při které vzniká Ph chromosom u chronické myeloidní leukemie (CML) a která je podle mezinárodní cytogenetické nomenklatury (ISCN 1995) zapisována t(9;22)(q34; q11), dále translokace t(15;17)(q21;q11) u akutní promyelocytární leukemie, t(8;21)(q22;q22) u akutní myeloidní leukemie (AML), t(4;11)(q21; q23) u akutní lymfatické leukemie (ALL) a dlouhou řadu dalších. Při druhém typu translokací se gen pro T-buněčný receptor nebo imunoglobulinový protein dostanou do blízkosti protoonkogenu, který tak aktivují. Tento typ chromosomových přestaveb je typický pro akutní a chronické lymfatické leukemie a z těch nejfrekventovanějších lze uvést t(8; 14)(q24;q32), t(1; 14)(p32; q11), t(1;7)(p34;q34) u ALL a mnoho dalších.

Karyotyp jakéhokoliv nádoru není neměnný, ale ve většině případů je podroben postupným změnám (Gilbert 1993). Většina chromosomových změn, které nacházíme v nádorových buňkách má klonální charakter. Podle mezinárodně uznávané definice považujeme v onkocytogenetice za klonální změnu nálezy dvou mitóz se stejnou odchylkou ve smyslu chromosomové přestavby (translokace, inverze, inserce, amplifikace) nebo stejným nadpočetným chromosomem, nebo tří mitóz ve kterých stejný chromosom chybí (Heim a Mitelman 1987). Kromě patologického klonu může být v nádorech přítomen i klon buněk s normálním karyotypem. U solidních nádorů mohou mít normální karyotyp např. buňky fibroblastů, které jsou ve vzorku přítomny. U hematologických maligních onemocnění mohou být získanou chromosomovou změnou postiženy jen některé řady zrajících buněk a proto mohou vedle sebe existovat buňky s normálním a abnormálním karyotypem jak v kostní dřeni tak i v periferní krvi.



Z přehledných nálezů u velkých skupin nemocných se stejným typem leukemie vyplývá, že abnormální karyotyp nacházíme jen u určitého procenta z nich. Na příklad asi 95% pacientů s CML má v buňkách kostní dřeně Ph chromosom, u AML je patologický cytogenetický nález u 60-70% nemocných a chromosomové změny se liší podle subtypu leukemie. U myelodysplastického syndromu (MDS) najdeme odchylku u 50-60% nemocných, opět podle subtypu MDS.

Při analýze jednoho vzorku kostní dřeně můžeme najít jednu nebo více strukturních nebo početních chromosomových změn. V průběhu onemocnění, při progresi maligního procesu, můžeme u některých pacientů zachytit klonální vývoj, kdy k původní jednoduché změně přibývají další chromosomové aberace.

Se zlepšujícími se technikami kultivace buněk, synchronizace dělení a buněčného cyklu a barvení chromosomů je oproti dřívějším údajům procento patologických nálezů popisovaných u všech studovaných hematologických neoplazií stále vyšší. Ale i přes tento trend není klasickými cytogenetickými metodami možné najít každou chromosomovou představbu. Je to dáno součtem rezolucí cytogenetických technik a světelného mikroskopu. Dále tento fakt potvrzují i teoretické výpočty. Haploidní sada lidských chromosomů obsahuje asi  $3 \times 10^9$  genů. Genetické změny postihující  $10^6$ - $10^7$  bp nemusí měnit morfologii chromosomů viditelnou na úrovni rezoluce mikroskopu. Obvyklé techniky přípravy preparátů a jejich barvení umožňují nalézt 300-450 pruhů na chromosomech získaných z kostní dřeně, jeden pruh pak odpovídá přibližně  $10^6$  bp a s pomocí techniky s vysokou rezolucí (z angl. high resolution technique - HRT), kterou lze získat až 850 pruhů na chromosomech, se citlivost metody zvýší jen třikrát (Heim a Mitelman 1987). V tomto směru přineslo další výrazné zvýšení rezoluce zavedení molekulárně-genetických metod do cytogenetiky. Kromě zvýšení technické úrovně metody při sledování chromosomových změn ve stadiu buněk v mitóze, přinesly modifikace technik molekulární cytogenetiky i možnost sledovat numerické i strukturní odchylky chromosomů v nedělících se maligních buňkách. Rezoluční možnosti cytogenetické analýzy se tak rovněž posunuly nejméně o jeden řád.

#### Molekulárně cytogenetické metody.

Základem molekulární cytogenetiky je lokalizace určitých DNA sekvencí na chromosomech nebo v jádrech v interfázi. Metody, které se v molekulární cytogenetice používají jsou odvozené od původní verze hybridizace in situ (HIS). Princip HIS je založen na schopnosti jednořetězcové, určitým způsobem značené sondy DNA, vázat se za přesně definovaných podmínek s komplementárními úseky cílové DNA. Ve všech modifikacích metod HIS je cílová DNA fixovaná na mikroskopickém preparátu, připraveném pro histologickou, cytologickou, hematologickou nebo cytogenetickou analýzu. Sondy DNA jsou značeny buď radioaktivně pomocí tří nukleotidů, nejčastěji triciem, nebo neradioaktivně pomocí biotinu, digoxigeninu nebo některých haptenu. Detekce signálu navázané DNA se u radioaktivně značených sond provádí autoradiografií. Při neradioaktivním značení prokáže přítomnost signálu nepřímá imunofluorescence nebo enzymatická barevná reakce.

Největší význam a využití získala v posledních letech metoda zvaná fluorescenční in situ hybridizace (FISH) s řadou modifikací, které zvyšují specifitu a citlivost stanovení chromosomových odchylek. V poměrně krátké době existence FISH byla tato technika v cytogenetice hematologických onemocnění úspěšně využita při:

- (1) Studiu chromosomového vybavení buněk v metafázi i interfázi
- (2) Lokalizaci a přesném mapování genů na chromosomech
- (3) Určování početních a strukturních chromosomových změn
- (4) Přesném zjištění míst zlomů při translokacích, delecích a inverzích chromosomů, které jsou velmi často primární změnou při vzniku maligního procesu
- (5) Detekci minimální reziduální choroby případně časného relapsu

- (6) Zjištění typu buněk zahrnutých v neoplastickém procesu
- (7) Detekci klonální evoluce, případně benigní proliferace.

Princip FISH metody.

Zahříváním dvoušroubovicové molekuly DNA na vyšší teplotu (okolo 100°C) zanikají vodíkové vazby a vlákna DNA se od sebe oddělují (denaturace). Za mírnějších teplot nebo v přítomnosti labilizujících činidel (alkalie, formamid) může dojít jen k částečné denaturaci. Pokud se jednotlivá vlákna setkají se svými komplementárními partnery, mohou za příznivých podmínek (teplota, vlhkost, molarita) vytvořit zpětně dvojistou šroubovici DNA. Je-li komplementární vlákno označeno radioaktivní látkou, prokážeme signál navázané sondy autoradiografií, pokud je značeno neradioaktivně (biotin, digoxigenin), můžeme vzniklou molekulu prokázat fluorescencí nebo kolorimetrickou enzymatickou reakcí. V posledních letech převažuje u všech modifikací HIS metody neradioaktivní značení sond, které vyniká především jednodušším a ekologičtějším postupem, který nezatěžuje ani laboratorní pracovníky ani vnější prostředí. Senzitivita těchto metod je na úrovni několika kilobází (kb).

Mikroskopický materiál a sondy DNA.

Metody HIS byly úspěšně aplikovány na nejrůznější biologický materiál t.j. histologické řezy, tkáňové preparáty připravené z rozdílně zpracovávaných kultivovaných i nekultivovaných buněk, izolovaná buněčná jádra a především chromosomové preparáty připravené konvenčním způsobem z buněk nejrůznějších tkání.

Sondy používané k určení chromosomových odchylek můžeme rozdělit do tří hlavních skupin (LeBeau 1993):

(1) Sondy, které hybridizují se specifickými chromosomovými strukturami, což jsou obvykle centromerické oblasti obsahující - a -satelitní sekvence DNA. Satelitní DNA přítomná v centromerické oblasti je pro většinu chromosomů specifická, je vysoce repetitivní a tandemové uspořádání zasahuje oblast až 4 000 kb velkou. Proto je signál většiny sond velmi specifický, silný a dobře odečitatelný v mikroskopu i bez další amplifikace. Centromerické sondy je možné používat při sledování chromosomového vybavení dělicích i nedělicích se buněk, t.j. signál je přítomen na chromosomech v metafázi i v nedělicím se jádře.

(2) Sondy, které hybridizují s jedinečnými sekvencemi DNA. Jsou to obvykle genomické klony, které se liší velikostí v závislosti na klonovacím vektoru, kterým může být plazmid (500bp-5 kb), kosmid (20-50 kb), bakteriofág lambda (8-15 kb) nebo umělé kvasinkové chromosomy (z angl. yeast artificial clones - YAC klony 50-1000 kb). Tyto sondy umožňují sledování lokalizace jednotlivých genů, jejich přestavbu při translokacích, změnu polohy při inverzích a ztrátu při delecích. Sondy jsou využitelné jak na chromosomech v mitóze tak i v interfázi.

(3) Sondy, které hybridizují s mnohočetnými chromosomovými sekvencemi. Tyto sondy jsou obvykle připraveny ze specifických knihoven DNA, můžeme jimi označit celý chromosom nebo dlouhá či krátká ramena a jsou uváděny jako malovací sondy (chromosome painting - malování chromosomů). Dále mohou být připraveny i mikrodisekcí určité části chromosomu, t.j. cíleně odebranou částí chromosomu pod mikroskopem pomocí mikromanipulátoru z fixovaných preparátů. Získaná DNA je pak dále amplifikovaná metodou tzv. DOP PCR, což je polymerázová řetězcová reakce s degenerativními oligonukleotidy. Celochromosomové sondy jsou používané při sledování translokací chromosomů, při posuzování původu tzv. marker chromosomů a rovněž při studiu delecí či genových amplifikací.

Sondy pro FISH je možné připravovat v laboratoři nejrůznějšími metodami. Nejvíce využívané jsou však komerčně dostupné kity, které obsahují značenou sondu i s detekčním systémem. V

současnosti se prodávají sondy na centromerickou oblast všech lidských chromosomů, celochromosomové malovací sondy, sondy DNA pro jedinečné genové kopie vhodné k detekci řady vrozených a získaných chromosomových změn.

#### Vizualizace DNA sond.

Fluorescenční mikroskop, se rtuťovou výbojkou 50 nebo 100W musí být vybaven sadou filtrů odpovídající vlnové délky a mikrofotografickým zařízením. V současné době je možné zakoupit dvojité nebo trojitě filtry pro nejrůznější kombinace barev. Tyto filtry umožňují detekce signálů v různých spektrech a vlnové délce a proto je můžeme využít ke sledování translokací, početních odchylek, ale i k lokalizaci genů na chromosomech. Nevýhodou kombinovaných filtrů je značná ztráta intenzity signálu a tím i jeho nezbytná amplifikace. Výhodou je snazší mikrofotografická technika. Využíváme barevné filmy od citlivosti 400 ASA.

#### Simultánní znázornění DNA sond in situ hybridizací.

Kombinované značení několika různých sond různými hapteny zvyšuje počet cílových sekvencí, které je možné současně sledovat a detekovat FISH metodou. Při sledování více než dvou signálů lze použitím epifluorescence, digitální kamery a počítačové analýzy se speciálním programem pro pseudobarvení a slučování obrazů rozlišit detailně až sedm různých sond kombinací jen tří fluorochromů. V pokusech s -satelitními sondami, malovacími sondami pro různé chromosomy a se sondami pro unikátní geny použil Ried a kol. (1992) biotin, digoxigenin a dinitrofenol s třemi fluorochromy (fluorescein isothiocyanat - FITC, rhodamin a AMCA). Při použití čtyř značících a detekčních systémů je možné rozlišit až 15 různých barev. Princip těchto pokusů je založen na různých koncentracích, případně směsích fluorochromů, používaných jako čisté fluorochromy nebo v poměru 50:50, nebo 33:33:33. Podle různých autorů existují mnohé modifikace metod mnohobarevné fluorescence bez nutnosti vyhodnocení signálu pomocí počítače. Princip jejich metody je opět postaven na různé koncentraci haptenu (AMCA, TRITC a FITC), které použili při detekci celochromosomových sond značených biotinem a digoxigeninem. Tímto způsobem je možné sledovat až 12 párů homologů v mitóze a zjistit případné malé přestavby, které jsou velmi časté u nádorových buněk.

Mnohobarevná (multiparametrální) fluorescence není jen pouhým rozvinutím fluorescenčních technik, ale je především určena k výzkumu mnohočetných změn chromosomů, které tak často nalzáme u nádorových buněk. V cytogenetických laboratořích III.interní kliniky VFN, Praha, a Ústavu hematologie a krevní transfuze, Praha, v současné době prokazujeme dvoubarevnou fluorescencí přítomnost reziduálních leukemických buněk u nemocných léčených transplantací kostní dřeně (Michalová a kol.1995). Používáme centromerické sondy X značené biotinem a detekované TRITC (Texas Red isothiocyanát) a sondu pro distální část dlouhých ramen chromosomu Y (pY34), kterou značíme digoxigeninem a detekujeme FITC. V nedělicích se jádrech kostní dřeně tak můžeme sledovat přítomnost X a Y chromosomu u dárců a příjemců kostní dřeně opačného pohlaví. Dvoubarevnou fluorescencí jsme zvýšili senzitivitu metody, odstranili pochybnosti u falešně negativních jader a můžeme posoudit cytogenetický výsledek transplantace i v případě, kdy nenajdeme dělicí se buňky v mitóze.

Dále používáme dvoubarevnou fluorescenci u dětských i dospělých nemocných ke studiu translokací chromosomů u CML, akutní lymfatické leukemie (ALL) a u akutní promyelocytární leukemie (APL). U CML jsme kosmidovou sondou firmy ONCOR prokázali částečně případně úplné vymizení t(9;22)(q34;q11) s přestavbou BCR/ABL u nemocných léčených interferonem nebo transplantací kostní dřeně. U APL jsme t(15;17)(q22;q11) zjišťovali opět komerčně dostupnou sondou firmy ONCOR před léčbou a v průběhu léčby kyselinou cis-retinovou. Těmito sondami lze sledovat translokace v mitózách i nedělicích se jádrech. Sledujeme přítomnost reziduálních

leukemických buněk, jejich význam a proliferaci in vivo i in vitro a monitorujeme případnou odezvu na terapii.

Dvoubarevnou fluorescenci jsme zavedli i ke sledování translokací a delecí spojených s komplexní přestavbou. Používáme celochromosomové malovací sondy a potvrzujeme a velmi často doplňujeme výsledky pruhovacího konvenčního barvení. Zjistili jsme původ řady marker chromosomů, dořešili některé translokace a další komplexní přestavby. Z našich dosavadních výsledků vyplývá, že změny chromosomů u hematologických neoplazií jsou daleko rozsáhlejší, než bylo doposud prokazováno. Zvláště některé chromosomy vstupují častěji do dalších přestaveb. V našem souboru nemocných s MDS a s delecí dlouhých ramen chromosomu 5 (del 5q) jsme zjistili nenáhodné translokace s deletovaným 5q chromosomem. Rozsah del 5q určujeme pomocí kosmidových sond a YAC klonů (Michalová a kol. 1996), translokace pomocí celochromosomových malovacích DNA sond metodou dvoubarevné FISH. Tyto a mnohé jiné translokace (např. t(12;21) u velkého počtu případů ALL) nejsou zjištělné klasickými metodami, protože segmenty chromosomů které do translokace vstupují jsou velmi malé (okolo 1 Mb) a neodlišitelné pruhovacími technikami barvení. Molekulárně-biologickými metodami se při těchto přestavbách dokazuje přítomnost genů jejichž přestavbu lze dát do přímého vztahu ke vzniku onemocnění.

Početní odchylky chromosomů sledujeme centromerickými sondami. Nejčastější sledovanou změnou je trizomie 8 u myeloidních leukemií, monozomie 7 u dětských i dospělých nemocných s MDS. Nové možnosti přináší metoda FISH u nemocných s chronickou lymfatickou leukemií. Studie Lichtera a kol. (1996) prokázaly, že až 35% nemocných s CLL má v buňkách kostní dřene klon s trizomií 12. Tento klon lze jen velmi obtížně zachytit při klasickém cytogenetickém vyšetření, protože proliferace leukemických buněk u nemocných s CLL je v kultivačních systémech in vitro velmi snižena. Metodou FISH s -satelitní sondou pro centromerickou oblast chromosomu 12 jsme i my v několika případech u nemocných s CLL zjistili trizomické buňky, které se v kultivacích nedělily, ale byly přítomny jako poměrně velký buněčný klon ve sternální punkci.

### **Závěr**

Uvedli jsme jen několik příkladů možností využití molekulární cytogenetiky v hematologii a tento přehled jsme doplnili našimi výsledky. Nové modifikace metody FISH kromě zvýšení citlivosti a možnosti sledovat chromosomové vybavení nedělicích se buněčných jader přinášejí neustále nové přístupy ke studiu změn chromosomů. Naše výsledky potvrzují nezbytnost metody FISH pro onkocytogenetická vyšetření, pro sledování rezidualních leukemických buněk a pro studium karyotypu proliferujících i neproliferujících nádorových buněk.

Tato práce vznikla při řešení grantu IGA MZČR 2309-3.

### **Literatura**

- LeBeau M. M.: Fluorescence in situ hybridization in cancer diagnosis. Important advances in oncology. J.B.Lippincott, Philadelphia, s. 29-45, 1993  
Rabbits T.H.: Chromosomal translocations in human cancer. Nature 372: 143 - 149, 1994  
Gilbert F.: Chromosomes, genes and cancer: A clasification of chromosome abnormalities in cancer. JNCI 71 : 1107 - 1114, 1983  
Heim S., Mitelman F.: Cancer cytogenetics. A.Liss, New York 1987  
Michalová K.: Fluorescenční in situ hybridizace (FISH ) v klinické cytogenetice. Čas. lék. čes. 134: 73-76, 1995

Ried T., Baldini A., Rand C.T., Ward D.C.: Simultaneous visualization of seven different DNA probes by in situ hybridization using combinatorial fluorescence and digital imaging microscopy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1388 - 1392, 1992

Michalová K., Zemanová Z., Michalová V., Březinová J.: Detection of donors and recipients cells after bone marrow transplantation by double-color fluorescence in situ hybridization. Int.J.Oncol. 7 Suppl.: 968, 1995

Michalová K., Zemanová Z., Březinová J.: Translocations involving chromosome 5q found in patients with myelodysplastic syndrome (MDS). Br.J.Haematol.93 Suppl.2: 331, 1996

Lichter P., Bentz M., Dohner H., Mathieu U., Werner C., Baudis M., Beverloo B., Hagemeijer A., Trumper L., Pfreundschuh M., Moller P., Joos S.: Comparative genomic hybridization in hematologic malignancies. Abstract European Conference on CGH, Austria 1996

Scripta medica	70	Supplementum 4	288-290	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Ústav hematologie a krevní transfuze, U nemocnice 1, Praha

**Haškovec C., Pechová R., Lemež P., Schwarz J.**

## **Detekce zbytkové choroby u akutní promyelocytární leukemie**

### **Souhrn**

Reverzní polymerázová řetězová reakce (RT-PCR) genu PML/RARA byla užita pro verifikaci diagnózy a monitorování reziduální choroby u akutních promyelocytárních leukemií (APL) = AML M3. Z 10 pozitivně určených nemocných bylo, dle místa štěpení (bcr) v genu PML, 8 případů s bcr 1,2 a 2 případy s bcr 3. (Jeden nemocný s bcr 3 byl mikrogranulární variantou APL (AML M3v).

Většina ze sledovaných nemocných byla v kompletní hematologické remisi a byla též negativní v testu RT-PCR. Jeden nemocný, který opakovaně relaboval, byl i RT-PCR pozitivní a to nejen v době relapsů, ale i v období, které jim předcházelo. Toto ukazuje na možnost předpovědi relapsu metodou RT-PCR.

### **Summary**

Reverse polymerase chain reaction (RT-PCR) of PML/RARA gene has been used for verification of diagnosis and monitoring of residual disease for acute promyelocytic leukemia (APL) = AML M3. According to the breakpoint (bcr) in the PML gene, there were among 10 positive patients, 8 patients with bcr 1,2 and 2 patients with bcr 3. (One of the bcr 3 patients was the microgranular variant of APL - AML M3v.)

Most of the monitored APL patients were in a complete hematological remission and these patients were also RT-PCR negative. One of the patients, who repeatedly relapsed, was RT-PCR positive both during the relapses and at least one month before the relapses. This shows a possibility to predict relapse by the RT-PCR method.

K verifikaci diagnózy akutní promyelocytární leukemie (APL) a ke sledování reziduálního onemocnění na našem ústavu užíváme metody dvoustupňové (seminested) reverzní řetězové polymerázové reakce (RT-PCR) dle Biondi et al. 1992 modifikované na naše podmínky (snížení koncentrace Mg na 1mM, zvýšení anelační teploty na 56o C a především užití tepelně aktivovatelné polymerázy AmpliTaq Gold Perkin Elmer). Citlivost našeho vyšetření je 10<sup>-4</sup> - 10<sup>-5</sup>, což odpovídá maximální citlivosti publikované v zahraniční literatuře a je dostatečná pro sledování reziduálního onemocnění.

Z celkem 10 pozitivně určených nemocných s APL bylo, dle místa štěpení v genu PML (bcr), 8 případů s bcr 1 a 2 a 2 případy s bcr 3. Jeden z případů s bcr 3 měl mikrogranulární variantu APL. (Někteří autoři spojují případy s bcr 3 s horší prognózou onemocnění a mikrogranulární varianta APL bývá častější u bcr 3.)

Publikované výsledky monitorování reziduální choroby u nemocných s APL metodou RT-PCR ukázaly, že samotná indukční terapie retinovou kyselinou (ATRA) nenavozuje PCR negativitu a že teprve současná nebo následná konsolidační léčba chemoterapií vede u většiny nemocných k PCR

negativitě (Workshop report 1996). Přetrvávající PCR pozitivita i po konsolidační léčbě u nemocných jinak v kompletní remisi, značí velké nebezpečí relapsu (Diverio et al. 1994 - viz tabulka) a může být indikátorem k transplantaci kostní dřeně (Degos et al. 1995 a Grimwade et al. 1996, Perego et al. 1996). Rovněž i znovuobjevení PCR pozitivity po PCR negativitě značí velké nebezpečí relapsu.

Tab.: Vztah mezi výsledkem vyšetření PCR po konsolidační léčbě a počtem relapsů do 6 měsíců

Výsledek PCR	celkem n (%)	relaps do 6 měsíců n (%)
+	36 (100%)	27 (75%)
-	86 (100%)	5 (6%)

*Dle Diverio et al. 1994*

Na našem ústavu jsme metodou RT-PCR opakovaně vyšetřili za poslední dva roky celkem 13 nemocných s diagnostikovanou APL na přítomnost genu PML/RARA. Většina nemocných, kteří byli v kompletní remisi, byli i PCR negativní. U jedné nemocné došlo celkem ke třem relapsům, které byly provázeny i PCR pozitivitou. Navíc byla u této nemocné zjištěna i PCR pozitivita v obdobích, která předcházela relapsům a kdy byla nemocná ještě v hematologické remisi - viz schéma průběhu onemocnění a výsledků PCR. Tyto nálezy potvrzují význam monitorování reziduálního onemocnění a možnost předpovědi nebezpečí relapsu v období, kdy se nemocný nachází ještě v hematologické remisi a indikovat tak včasné znovuzahájení léčby.

## Literatura

- Biondi A., Rambaldi A., Pandolfi P.P., Rossi V., Giudici G., Alcalay M., LoCoco F., Diverio D., Pogliani E.M., Lanzi E.M., Mandelli F., Masera G., Barbui T., Pelici G.: Molecular monitoring of the myl/retinoic acid receptor- fusion gene in acute promyelocytic leukemia by polymerase chain reaction. *Blood* (1992) 80: 492.
- Grimwade D., Howe K., Langabeer S., Burnett A., Goldstone A., Solomin E.: Minimal residual disease detection in acute promyelocytic leukemia by reverse-transcriptase PCR: evaluation of PML-RARA and RARA-PML assessment in patients who ultimately relapse. *Leukemia* (1996) 10: 61-66.
- Degos L., Dombret H., Chomienne C., Daniel M.-T., Micléa J.-M., Chastang C., Castaigne S., Fenaux P.: All-trans- retinoic acid as a differentiating agent in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* (1995) 85: 2643- 2653.
- Diverio D., Pandolfi P.P., Rossi V., Biondi A., Pelicci P.G., LoCoco F.: Monitoring of treatment outcome in acute promyelocytic leukemia by RT-PCR. *Leukemia* (1994) 8: S63- S65.
- Perego R.A., Marengo P., Bianchi R., Urbano M., Nosari A.M., Muti G., Morra E., Del Monte U.: PML/RARA transcripts monitored by polymerase chain reaction in acute promyelocytic leukemia during complete remission, relapse and after bone marrow transplantation. *Leukemia* (1996) 10: 207-212.
- Workshop report: RT-PCR in acute promyelocytic leukemia: second workshop of the European Retinoic Group. *Leukemia* (1996) 10: 368-371.

Schéma průběhu onemocnění, léčby a výsledků RT-PCR nemocného s APL.

		RT-PCR
--	--	--------

9.6.1994	Dg.	++
	ChT	
	ATRA	
	Cht	
16.12.1994	1.CR	-
28.3.1995	1.relaps	++
	ATRA	
8.6.1995	2.CR	-
	Cht	
25.7.1995	2.CR	-
15.2.1996	<b>2.CR</b>	<b>+!</b>
19.3.1996	2.relaps	++
	Cht	
16.4.1996	2.relaps	++
	ATRA	
20.6.1996	<b>3.CR</b>	<b>+!</b>
	ChT	
30.7.1996	3.relaps	++
7.9.1996	exitus	

Stav nemocného a jeho léčba : CR - kompletní remise, ChT - chemoterapie, ATRA - all trans retinová kyselina a odpovídající výsledky RT-PCR k příslušnému datu

Tato studie se uskutečnila za podpory grantů IGA MZ ČR č.: 3563-3 a 2819-3.



Scripta medica	70	Supplementum 4	291-297	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**J. Schwarz, R. Pechová, C. Haškovec**

## **Místo PCR vyšetření hybridního genu PML/RAR $\alpha$ v komplexní diagnostice AML**

### **The place of PML/RAR $\alpha$ hybrid gene examinations in the complex diagnostics of AML**

#### **Souhrn**

Tento souhrnný referát se týká diferenciální diagnostiky akutní promyelocytární leukemie (APL; AML FAB M3). Ta je nyní považována za zcela zvláštní klinicko-patologický syndrom, lišící se od ostatních subtypů AML: 1) vyšší náchylností k často fatální krvácivé diatéze v době záchyty a v indukční léčbě, 2) specifickými nálezy při vyšetření morfologie ("faggot cells"), imunofenotypu (většinou DR<sup>-</sup>, CD33<sup>+</sup>), cytogenetiky a molekulární biologie (t[15;17], jejímž následkem vzniká hybridní gen PML/RAR $\alpha$ ), 3) mimořádnou odpovídavostí na "diferenciační" léčbu kyselinou transretinovou (ATRA) a chemoterapii antracykliny, a konečně 4) nejlepší dlouhodobou prognózou po dosažení kompletní remise (při použití nejnovějších terapeutických protokolů se odhaduje možnost vyléčení až v 65% případů). Asi 5-25% případů v různých sestavách APL tvoří tzv. mikro-/hypo-granulární varianta onemocnění (FAB M3v). V praxi může být obtížné odlišit AML M3 a především M3v od AML M4, M2, někdy i od M1 a M0 a event. i od ALL nebo tzv. "hybridních" či "bifenotypových" akutních leukemií. Přitom i u M3v je ihned po záchyty plně indikována terapie ATRA, ať již samotnou, anebo spíše v kombinaci s cytostatikem. Ke včasnému záchyty všech AML M3, a tím spíše M3v, a ke včasnému zařazení pacienta na správný terapeutický protokol do 24 hodin od podezření na akutní leukemii, mohou přispět molekulárně biologická vyšetření, prokazující PML/RAR $\alpha$ : fluorescenční in situ hybridizace (FISH), anebo polymerázová řetězová reakce po reverzní transkripci (RT-PCR). Proto je vhodné indikovat molekulární vyšetření na PML/RAR $\alpha$  v každém případě akutní leukemie, kdy nelze spolehlivě vyloučit AML M3 včetně M3v.

#### **Summary**

This review deals with the differential diagnosis of acute promyelocytic leukemia (APL; AML FAB M3), which is currently regarded a unique clinico-pathological syndrome differing from other AML subtypes by: 1) high tendency to frequently fatal bleeding diathesis at diagnosis and during induction therapy, 2) specific findings upon examining morphology ("faggot cells"), immunophenotype (mostly DR<sup>-</sup>, CD33<sup>+</sup>), cytogenetics and molecular biology (t[15;17], resulting in formation of the hybrid gene PML/RAR $\alpha$ ), 3) extraordinary sensitivity to the "differentiating" therapy by all-trans retinoic acid (ATRA) and to anthracycline chemotherapy, and finally, 4) by the best long term prognosis, once complete remission is achieved (using the latest therapeutic

protocols, 65% of cases may be cured). In various APL series, 5-25% of APL's are the micro-/hypo-granular variant cases (FAB M3v). In practice, the differential diagnosis of AML M3 and M3v from other AML subtypes, such as M4, M2, and possibly from M1, M0 and even from the so called "hybrid" or "biphenotypic" leukemias, may be extremely difficult. Nevertheless, ATRA therapy (alone or in combination with cytostatic drugs) is warranted even in AML M3v from the onset. In order to diagnose all M3 and M3v AML's within 24 hours and to put the patient on the appropriate treatment protocol in time, it is possible to perform a molecular biology test to prove PML/RAR $\alpha$ : either a fluorescent in situ hybridization (FISH), or a reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) test. It is reasonable to indicate these tests in each case of acute leukemia, in which AML M3 and M3v cannot be reliably excluded.

APL se vyskytuje asi v 5-15% případů AML. APL byla popsána jako zvláštní klinicko-patologický syndrom v r. 1959.<sup>1</sup> Od ostatních subtypů AML se liší řadou znaků a vlastností: 1) mimořádnou náchylností k často fatální krvácivé diatéze, spojenou s výraznou defibrinací (při hyperkoagulačním syndromu a urychlené fibrinolýze) a hlubokou trombocytopenií v době záchytu a v indukční léčbě, což vede k vysokému procentu časných úmrtí,<sup>1-3</sup> 2) specifickými nálezy při vyšetření morfologie, imunofenotypu, cytogenetiky a molekulární biologie,<sup>4-8</sup> 3) typickou leukopenií v době záchytu onemocnění (asi v 60% případů), přičemž se do periferní krve vyplavuje jen málo leukemických blastů a promyelocytů,<sup>8-9</sup> 4) neobyčejnou odpovědí na léčbu antracyklinovými cytostatiky a kyselinou transretinovou (ATRA),<sup>8-11</sup> 5) nejlepší dlouhodobou prognózou po dosažení kompletní remise<sup>8-9</sup> (při použití nejnovějších terapeutických protokolů se odhaduje možnost vyléčení ve více než 65% případů<sup>12</sup>). 6) Nemocní s APL bývají v průměru mladší, než pacienti s jinými typy AML. Právě při lepší prognóze APL a odlišností v optimálním schématu léčby je mimořádně důležité onemocnění zavčas rozpoznat od jiných subtypů AML.

Morfologicky se rozlišují 3 formy APL: typická je 1) hypergranulární forma, méně typická je 2) forma mikro-/hypo-granulární, zvaná též variantní (označovaná M3v),<sup>13,14</sup> která bývá pozorována v 5-25% případů APL. Jako zvláštní typ byla některými autory popsána vzácná 3) hyperbazofilní hypogranulární forma onemocnění,<sup>15</sup> která zatím nebyla zařazena do FAB klasifikace. Přes značnou morfologickou rozdílnost jde nepochybně o varianty jednoho onemocnění, pro které je charakteristická společná molekulární léze - ve většině případů daná chromozomální translokací t(15;17).<sup>13-15</sup>

Rozpoznání typické hypergranulární formy APL většinou nečiní obtíže. Cytoplazma leukemických promyelocytů bývá hojná, plná hrubých granul (při panoptickém barvení růžovo-fialových až fialovo-černých), která mohou splývat a na rozdíl od jiných AML překrývat buněčné jádro. V cytoplazmě bývají poměrně hojné Auerovy tyče. Žádný z popsaných rysů však není pro APL patognomonický. Takovým nálezem však jsou buňky, u kterých se četné Auerovy tyče navzájem proplétají a tvoří otýpky. V angloamerické literatuře jsou označovány "faggot cells". Cytoplazma většiny leukemických promyelocytů nebývá příliš bazofilní. Excentricky uložená jádra buněk mají oválný či ledvinovitý tvar; lobulovaná i segmentovaná jádra nejsou vzácností. Chromatin bývá celkem jemný, jádérka bývají různých velikostí a v některých promyelocytech nemusí být jasně patrna.<sup>4,13,14,16</sup> Nicméně takovýto jasný diagnostický obraz nebývá u APL pravidlem. Při méně výrazné hypergranularitě může být morfologické odlišení od AML FAB M2, ale i od M4 dosti svízelné. Záměně s myelomonocytární AML M4 mohou nahrávat i další nálezy, neboť i u "pravé" APL může být při panoptickém barvení přítomno dosti monocytoidních blastů (s méně intenzivní granulací cytoplazmy a hodně nepravidelným tvarem jádra) a navíc se cytochemicky mohou prokázat blasty s pozitivní reakcí na nespecifickou esterázu blokovatelnou fluoridem sodným a při imunofenotypovém vyšetření CD14<sup>+</sup> blasty.<sup>17</sup> Naopak cytochemické metody mohou snáze odhalit přítomnost Auerových tyčí a event. "faggot cells", než vyšetření

panoptické.<sup>17</sup> Ve většině případů napomůže správné diagnóze průkaz HLA-DR negativních blastů (viz Tab. 1), pozitivních na myeloidní znak CD33.<sup>6,8,18-20</sup> Chceme však zdůraznit, že průkaz DR negativity není nikterak patognomonický pro APL a diagnóza by měla být potvrzena dalším vyšetřením - morfoloogickým, cytochemickým, cytogenetickým či molekulárně biologickým. Dále je nutno si uvědomit, že některé případy APL mohou být HLA-DR pozitivní. Na konferenci o APL v Římě v r. 1993 popsaly 3 různé italské skupiny incidenci DR<sup>+</sup> u APL ve 4%, resp. 14%, resp. 22% případů.<sup>18-20</sup> Je rovněž třeba mít na mysli, že reprodukovatelnost morfoloogických výsledků, alespoň pokud se týká typické hypergranulární APL, je poměrně vysoká, zatímco u imunofenotypových analýz může být naopak nižší, neboť může být zatížena technickými chybami. Z ostatních znaků bývá kromě CD33 pozitivní téměř vždy i CD13, cca ve 30-40% bývá přítomen i CD15, prokazovaný jen protilátkami proti sializovanému antigenu, a ještě méně často (ale přece!) jsou exprimovány CD34, CD14, CD11b, CD11c, CD2, CD7, CD9 a CD19.<sup>8,18-20</sup> Znak CD2 je typicky exprimován u variantní formy onemocnění.<sup>19</sup>

Podstatně složitější je morfoloogická diagnostika AML M3v. Ačkoli u každého případu APL se nachází několik relativně typických APL buněk, mohou být snadno přehlédnuty. Většina buněk totiž nemusí mít jasně zřetelná cytoplazmatická granula. Ta mohou tvořit jen málo výrazné "zaprášení" cytoplazmy, event. může cytoplazma vypadat ve světelném mikroskopu jako zcela agranulární. Auerovy tyče jsou méně hojné a otýpky Auerových tyčí nejsou přítomny vůbec. Tvar jádra bývá ještě nepravidelnější než u hypergranulární formy.<sup>13,14,16</sup> Proto je na základě morfoloogického nálezu takřka nemožné M3v diagnostikovat. Nejčastěji se AML M3v zaměňuje s M4,<sup>16</sup> ale je možná i záměna s M2, M1, M0, dokonce i s ALL a s hybridními a bifenotypovými akutními leukemiemi. V některých případech lze prokázat myeloidní typ granulace cytochemicky jako u hypergranulární APL, tj. blasty jsou pozitivní na peroxidázu, chloracetátesterázu a sudanovou černí B.<sup>16,17</sup> Jsou však případy, kdy tento průkaz chybí, a morfoloogicky pak lze prokázat drobná na peroxidázu pozitivní granula pouze na ultrastrukturální úrovni<sup>16</sup> (Tab. 1). Imunofenotyp bývá podobný jako u hypergranulární formy, zajímavá je mnohem častější pozitivita raného "T" znaku CD2.<sup>18,19</sup> Mikrogranulární varianta M3v se neliší od hypergranulární M3 jen morfoloogicky, ale i jinými klinickými, resp. biologickými charakteristikami: vyšší procento pacientů má v době záchytu onemocnění vysoké počty leukocytů, mezi nemocnými bývá více žen a osob jiné než bílé rasy (to patrně vysvětluje, proč bývají v amerických studiích udávána vyšší procenta nemocných s M3v, než v evropských), v době diagnózy je vyšší incidence infekcí.<sup>8,13,21</sup> Bonanad *a spol.* neprokázali vyšší incidenci choroby u ženského pohlaví, ale popsali nesignifikantní trend k menší incidenci hemoragií. Anemii však pozorovali u M3v signifikantně méně často.<sup>21</sup>

Tabulka 1. Diferenciální diagnostika mezi AML M3, M3v, jinými AML a ALL

	AML M3	AML M3v	Non-M3 AML	ALL
Auerovy tyče	+++ / -	++/-	++/-	-
"Faggot cells"	+/-	(+)/-	-	-
Cytoplazmatická granulace	+++	+/-	++/-	-
Peroxidáza	+++	+/-	++/-	-
Ultrastruktur. peroxidáza	+	+	+	-
HLA-DR	- (+)	- (+)	+ / +++	+ / +++ (-)
t(15;17)	+ (-)	+ (-)	-	-
PML/RAR $\alpha$	+ (-)	+ (-)	-	-

Podobné problémy představuje i diagnostika APL s hyperbazofilní cytoplazmou. Buňky při této variantě mají vysoký nukleocytoplazmatický index a v bazofilní cytoplazmě jsou jen sporá, event. i žádná granula. Byly pozorovány i pozoruhodné pupencovité cytoplazmatické výběžky ("budding"), které mohou připomínat mikromegakaryocyty.<sup>15,16</sup>

S posledně popsanou hyperbazofilní (vlastně hypogranulární) variantou, pojmenovanou podle reakce cytoplazmy, naprosto nesouvisí jiné pozorování, že u většiny případů APL lze prokázat určité procento buněk s bazofilními cytoplazmatickými granuly. Bazofilní granula se barví metachromaticky toluidinovou modří. Obvykle se jedná o méně než 10% buněk.<sup>16</sup> Naopak v některých případech APL jsou tyto buňky mnohem četnější, a někteří autoři se domnívají, že se jedná o zvláštní formu APL s bazofilní diferenciací. Pro ni jsou typická jádra s nepravidelnými konturami a cytoplazma plná hrubých granul, barvicích se toluidinovou modří.<sup>16,22-24</sup> Byl popsán případ nemocného s hypergranulární APL s bazofilními granuly, u kterého teprve po monoterapii ATRA došlo k vyplavení četných bazofilů do periferní krve a k rozvoji hyperhistaminemického šoku.<sup>25</sup> U většiny nemocných s APL s bazofilní diferenciací se zjistila translokace t(15;17), stejná, jako u ostatních typů APL. Zajímavé ovšem je, že u některých z těchto pacientů byla prokázána navíc další chromozomální aberace v proužku 12p13,<sup>24</sup> která je však typická pro AML M2 s bazofilní diferenciací.<sup>16</sup>

Nastínili jsme možné problémy diferenciální diagnostiky časté při rutinním morfologickém, event. imunofenotypovém vyšetření. Je zřejmé, že ve většině případů je potřebné zjistit či ověřit společnou podstatu naprosté většiny onemocnění APL, a to balancovanou reciprokou translokací t(15;17) (q22-23;q12-21), původně popsanou Rowleyovou *a spol.* v roce 1977.<sup>6</sup> Tato translokace je naprosto patognomonická pro APL, a naopak valná většina případů APL nese tuto aberaci. Ačkoli je cytogenetický průkaz t(15;17) někdy značně obtížný a translokace bývala prokazována jen v relativně nízkém procentu případů APL, Larson *a spol.* v polovině 80. let zjistili, že t(15;17) se vyskytuje téměř ve 100% onemocnění.<sup>26</sup> Standardní cytogenetické vyšetření se stalo běžným konfirmačním testem při suspekci na APL. Jeho relativní nevýhodou je značná pracnost a náročnost na čas, chromozomy je nutné proužkovat. Podle moderních cytogenetických prací jsou u APL známy ještě některé variantní translokace.<sup>27</sup> Jde buď o tří-, vzácně více-směrné komplexní translokace, postihující kromě č. 15 a 17 ještě další chromozom navíc (např. č. 1, 3, 4, 5, 11, 12, X), anebo jde o jednoduchou translokaci buď 15. anebo 17. chromozomu s nějakým jiným chromozomem. Mimoto byly popsány maskované neboli kryptické submikroskopické translokace chromozomů 15 a 17, a dále reciproké balancované translokace t(11;17) a t(5;17), postihující stále stejný gen na č. 17, jako u typické t(15;17).<sup>27</sup> Důležité je, že např. u posledně zmíněných reciprokových translokací není odpovídavost na léčbu ATRA.<sup>27</sup>

Při t(15;17) dojde na chromozomu č. 17 ke zlomu v místě nukleárního receptoru  $\alpha$  pro kyselinu retinovou (*RAR $\alpha$* ). Na chromozomu č. 15 jsou známa 3 alternativní zlomová místa uvnitř genu *PML* (původně nazývaného *myl*), označovaná *bcr1*, *bcr2* a *bcr3*. Následkem fuze materiálu z 15. a 17. chromozomu vznikají hybridní proteiny *PML/RAR $\alpha$* , *RAR $\alpha$ /PML* a různé aberantní proteiny *PML*.<sup>7</sup> Tato jediná translokace tedy dává vznik hned několika aberantním proteinům a stačí ke kompletní expresi leukemického fenotypu u APL. Aberantní RNA vzniklou přepisem *PML/RAR $\alpha$*  lze prokazovat pomocí dvoustupňové polymerázové řetězové reakce po reverzní transkripci (RT-PCR), na našem pracovišti používáme modifikaci metody Biondiho.<sup>28</sup> Z hlediska diferenciální diagnostiky akutních leukemií je pro klinika potřebné o ní vědět alespoň několik skutečností: 1) výsledek je pozitivní u naprosté většiny APL, přinejmenším v 95% případů APL a ve 100% případů s t(15;17), včetně zmíněných morfologických variant,<sup>16</sup> a naopak je naprosto negativní u všech ostatních tumorů, 2) metoda je vysoce citlivá - zachytí 1 buňku nesoucí translokaci t(15;17)

mezi  $10^4$  až  $10^5$  jiných buněk, takže se dobře hodí ke sledování minimální reziduální choroby. 3) Metodu jsme nyní zrychlili, takže v případě potřeby je možnost mít výsledek 1. stupně RT-PCR do 24 hod. po obdržení vzorku. Proto lze většinou počkat na výsledek před rozhodnutím, jaký léčebný protokol bude použit. 4) Vyšetření na *PML/RAR $\alpha$*  nenahrazuje, nýbrž doplňuje vyšetření cytogenetické, které má pro diferenciální diagnózu stále rozhodující význam, neboť pozitivně prokazuje mnohem širší paletu aberací spojených s různými typy leukemií. 5) Molekulárně biologické vyšetření fuzovaného materiálu *PML/RAR $\alpha$*  pomocí RT-PCR má z hlediska diferenciální diagnostiky alternativu v jiné molekulární metodě, a sice ve fluorescenční *in situ* hybridizaci (FISH). FISH provedená na interfázických chromozomech poskytuje podobnou možnost detekce minimální reziduální choroby jako RT-PCR.<sup>29</sup>

Jak již bylo řečeno, moderní terapie APL antracykliny a ATRA má nebývalé výsledky.<sup>12</sup> Bylo by tudíž neomluvitelnou chybou promeškat jediný případ APL. Z uvedeného přehledu je zřejmé, že diferenciální diagnostika méně typických případů zahrnuje takřka všechny ostatní položky FAB klasifikace. Proto i indikace k provedení molekulárního vyšetření na *PML/RAR $\alpha$*  jsou velmi široké a je vhodné ho indikovat ve většině případů suspekce na akutní leukemii. Z hlediska praktického postupu je vhodné provést vyšetření *PML/RAR $\alpha$*  již při první sternální punkci při podezření na AML. Dojde-li k podezření na leukemii, která by mohla být APL teprve při hodnocení sternální punkce, je možné provést následně vyšetření z opakované sternální punkce, anebo i z periferní krve, jelikož citlivost molekulárních vyšetření je dostatečná k záchytu APL i v případech, kdy se do periferní krve nevyplavují nezralé buňky. Upozornujeme však, že se množství odebíraného vzorku z periferní krve musí přizpůsobit počtu leukocytů, neboť u typických pacientů s APL s leukopenií by mohlo být vyizolováno málo buněk k vyšetření.

## Literatura

- Hillestad L.K.: Acute promyelocytic leukemia. *Acta Med. Scand.* 159, 189-194, 1959
- Rosenthal R.L.: Acute promyelocytic leukemia associated with hypofibrinogenemia. *Blood* 21, 495-508, 1963
- Tallman M.S. a Kwaan H.C.: Reassessing the hemoragic disorder associated with acute promyelocytic leukemia. *Blood* 79, 543-553, 1992
- Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A.G., Gralnick H.R., Sultan C., French-American-British (FAB) Co-operative Group: Proposal for the classification of the acute leukaemias. *Brit. J. Haemat.* 33, 451-458, 1976
- Paietta E., Andersen J., Gallagher R., Bennett J., Yunis J., Cassileth P., Rowe J., Wiernik P.H.: The immunophenotype of acute promyelocytic leukemia (APL): an ECOG study. *Leukemia* 8, 1108-1112, 1994
- Rowley J.D., Golomb H.M., Vardiman J., Fukuhara S., Dougherty C., Potter D.: Further evidence for a non-random chromosomal abnormality in acute promyelocytic leukemia. *Int. J. Cancer* 20, 869-672, 1977
- Grignani F., Fagioli M., Ferrucci P.F., Alcalay M., Pelicci P.G.: The molecular genetics of acute promyelocytic leukemia. *Blood Rev.* 7, 87-93, 1993
- Frankel S.R.: Acute promyelocytic leukemia. New insights into diagnosis and therapy. *Hemat. Oncol. Clin. N. Amer.* 7, 109-138, 1993
- Jones M.E. a Saleem A.: Acute promyelocytic leukemia. A review of literature. *Amer. J. Med.* 65, 673-677, 1978
- Bernard J., Weil M., Boiron M., Jacquillat C., Flandrin G., Gemon M.-F.: Acute promyelocytic leukemia: Results of treatment with daunorubicin. *Blood* 41, 489-496, 1973

- Huang M.-E., Ye Y.-C., Chen S.-R., Chai J.-R., Lu J.-X., Zhoa L., Gu L.-J., Wang Z.-Y.: Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 72, 567- 572, 1988
- Degos L.: Treatment of acute promyelocytic leukemia. Meet the Expert Sessions, Second EHA Meeting, s.50-51, Paříž 1996
- Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A.G., Gralnick H.G., Sultan C.: A variant form of hypergranular promyelocytic leukaemia (M3). *Brit. J. Haemat.* 44, 169-170, 1980
- Golomb H.M., Rowley J.D., Vardiman J.W., Testa J.R., Butler A.: "Microgranular" acute promyelocytic leukemia: a distinct clinical, ultrastructural, and cytogenetic entity. *Blood* 55, 253-259, 1980
- McKenna R.W., Parkin J., Bloomfield C.D., Sunberg S.D., Brunning S.D.: Acute promyelocytic leukaemia: a study of 39 cases with identification of a hyperbasophilic microgranular variant. *Brit. J. Haemat.* 50, 201-214, 1982
- Castoldi G.L., Liso V., Specchia G., Tomasi P.: Acute promyelocytic leukemia: morphological aspects. *Leukemia* 8, 1441-1446, 1994
- Lemež P.: Lidské akutní leukemie. I. Definice, etiologie, patogeneze akutních leukemií. Klasifikace akutních myeloidních leukemií. *Sborník lék.* 91, 368-384, 1989
- Guglielmi C., Fenu S., Rajnoldi A.C., Arrighini A., Aric M., Santostasi T., Cocito M.G., Saitta M., Tamaro P., Rosanda C., Basso G.: Immunophenotype of acute promyelocytic leukemia in children: the A.I.E.O.P. experience. In: *Acute Promyelocytic Leukemia - A Curable Disease?*, abstr. 25, s. 66, Roma 1993
- Specchia G., Mestice A., Mininni D., Carluccio P., De Paolis M.R., Pastore D., Brescia V., Palumbo G., Magno M., Liso V.: Immunophenotypic features in acute promyelocytic leukemia (APL). Correlation of CD2 expression with M3v. In: *Acute Promyelocytic Leukemia - A Curable Disease?*, abstr. 26, s. 68, Roma 1993
- Pagnucco G., Santagostino A., Livraghi A., Pastorini A., Vanelli L., Bellio L., Arrigo G., Castagnola C., Alessandrino E.P., Brusamolino E., Castelli G., Morra E., Canevari A., Lazzarino M., Bernasconi C.: Immunological phenotype in acute promyelocytic leukemia: a study of 38 cases. In: *Acute Promyelocytic Leukemia - A Curable Disease?*, abstr. 27, s. 70, Roma 1993
- Bonanad S., Sanz G.F., Martín G., Jarque I., Martínez J., Sempere A., García-Boyeró R., Tudela M., Palau J., López F., De la Rubia J., Sanz M.A.: Acute promyelocytic leukemia. A comparison between typical and variant forms in a series of 89 patients. In: *Acute Promyelocytic Leukemia - A Curable Disease?*, abstr. 29, s. 74, Roma 1993
- Liso V., Troccoli G., Grande M.: Cytochemical study of acute promyelocytic leukaemia. *Blut* 30, 261-268, 1975
- Invernizzi R., Iannone A.M., Bernuzzi S., D'Alessio A., Fiamenghi C., Ippoliti G.B., Scagliosi S., Ascari E.: Acute promyelocytic leukemia: morphological and clinical features. *Haematologica* 78, 156-161, 1993
- Tallman M.S., Hakimian D., Snower D., Rubin C.M., Reisel H., Variakojis D.: Basophilic differentiation in acute promyelocytic leukemia. *Leukemia* 7, 521-526, 1993
- Koike T., Tatewaki W., Aoki A., Yoshimoto H., Yagisawa K., Hashimoto S., Furukawa T., Saitoh H., Takahashi M., Li-bo Y., Ying W., Shibata A.: Severe symptoms of hyperhistaminemia after the treatment of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (all-trans-retinoic acid). *N. Engl. J. Med.* 327, 385-387, 1992
- Larson R.A., Kondo K., Vardiman J.W., Butler A.E., Golomb H.G., Rowley J.D.: Evidence for a 15;17 translocation in every patient with acute promyelocytic leukemia. *Amer. J. Med.* 76, 827-841, 1984
- Brunel V, Lafage-Pochitaloff M, Alcalay M, Pelicci P-G, Birg F: Variant and masked translocations in acute promyelocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma* 22, 221-228, 1996

Biondi A, Rambaldi A, Pandolfi PP, Rossi V, Giudici G, Alcalay M, Lo Coco F, Diverio D, Pogliani EM, Lanzi EM, Mandelli F, Masera G, Barbui T, Pelicci PG: Molecular monitoring of the myl/retinoic acid receptor- $\alpha$  fusion gene in acute promyelocytic leukemia by polymerase chain reaction. *Blood* 80, 492-497, 1992

Mancini M., Nanni M., Cedrone M., Diverio D., Avvisati G., Riccioni R., De Cuia M.R., Fenu S., Alimena G.: Combined cytogenetic, FISH and molecular analysis in acute promyelocytic leukaemia at diagnosis and in complete remission. *Brit. J. Haemat.* 91, 878-884, 1995

Podpořeno granty IGA MZd ČR č. 2819-3 a 3563-3, a grantem programu PECO Evropské komise BMH1-CT92-0755.

Scripta medica	70	Supplementum 4	298-302	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

UHKT, Praha

**A. Vitek**

## **Transplantace kostní dřeně u akutních leukemií**

### **Souhrn**

Transplantace autologních i alogenních krvetvorných progenitorů je běžně používaná metoda při léčbě akutních leukemií. Protože je však tento výkon spojen s nezanedbatelnou morbiditou i mortalitou, které jsou obzvláště vyjádřeny u nemocných, transplantovaných dřeně od nepříbuzného dárce, je tendence indikovat transplantaci jen u těch nemocných, u nichž je jen malá pravděpodobnost vyléčení samotnou chemoterapií. Hledání optimální indikace je úkolem pro probíhající i budoucí klinické studie.

### **Summary**

Transplantation of autologous as well as allogeneic blood progenitor cells is a procedure, routinely used for the treatment of acute leukemias. But because of the risk of morbidity and mortality connected with this procedure, especially in the patients, transplanted from matched unrelated donor (MUD) there is a tendency to indicate transplantation only for these patients who have very low chance to be cured by chemotherapy alone. To establish an optimal indication for transplantation is the tool for the clinical studies.

Přestože transplantace autologních i alogenních hemopoetických progenitorů je výkon, rutinně používaný při léčbě AL již řadu let, zůstává mnoho otázek, týkajících se správné indikace výkonu, otevřených. Je to způsobeno tím, že transplantace je spojena s určitou morbiditou a mortalitou a tak, přestože riziko relapsu AL je po alogenních transplantacích nejnižší ve srovnání s ostatními léčebnými postupy, neprojikuje se tento fakt z výše uvedených důvodů do signifikantně lepšího přežití.

Aby bylo možné zjistit skutečný význam transplantací u akutních leukemií, je třeba porovnat tento léčebný postup s výsledky ostatních léčebných postupů, jako jsou autologní transplantace nebo samotná chemoterapie. Obzvláště při rozhodování o indikaci transplantace od nepříbuzného dárce je třeba vzít v úvahu všechna rizika s tímto druhem transplantace spojená a zvážit, zda očekávaný přínos zákroku nebude převážen riziky, spojenými s transplantací.

**Akutní lymfoblastická leukemie:**

Více než 70% dospělých nemocných docílí kompletní remise po indukční léčbě. Na rozdíl od dětí, u nichž lze v současné době docílit dlouhodobé přežití bez známek onemocnění (DFS) u zhruba 70% pacientů, méně než 20% dospělých nemocných je vyléčených samotnou chemoterapií. Obzvláště nemocní s Ph+ ALL jsou chemoterapií prakticky nevléčitelní a tito nemocní jsou nepochybnými



kandidáty pro alogenní transplantaci a to i od nepříbuzného dárce, nemají-li HLA shodného příbuzného dárce, již v I.remisi. Přítomnost jiných, prognosticky nepříznivých faktorů u dospělých pacientů, jako je např. t(4,11) t(8,14), věk nad 30-35 let, extramedulární postižení, vysoké počty leukocytů, pozdní docílení remise, může být indikací k provedení transplantace dřeně od sourozence již v I.remisi.

Role alogenní transplantace v I.remisi u ostatních subtypů ALL je méně jasná. Přežití bez známkem onemocnění se po transplantaci od HLA shodného sourozence pohybuje mezi 45-60%, ale zatím jediná prospektivní studie, srovnávající přežití po transplantaci a po chemoterapii neprokázala výhodu transplantace. Autologní transplantace u ALL v I.kompletní remisi, s čištěnou i nečištěnou dřeně je spojena s dlouhodobým přežitím bez známkem nemoci u 32% - 50% nemocných 6-7 let po transplantaci. Statistika EBMT ukazuje 40% přežití u nemocných, transplantovaných v I.kompletní remisi s čištěnou dřeně. Tyto výsledky však až dosud nebyly porovnány s výsledky chemoterapie v kontrolované studii.

U dospělých pacientů, kteří zrelabovali, lze docílit II.kompletní remise u cca 30% nemocných, dlouhodobé přežití po standardní chemoterapii lze však docílit u méně než 10% pacientů. Po alogenní transplantaci v II. či další remisi lze docílit dlouhodobého přežití bez známkem nemoci u 22-58% nemocných. Není-li k dispozici shodný sourozenec, je indikována transplantace od nepříbuzného dárce.

Efekt autologní transplantace v II.remisi závisí na délce trvání I.remise. Trvá-li déle než 15 měsíců, lze autologní transplantací docílit dlouhodobého přežití u 35% nemocných. Při kratším trvání I.remise je toto přežití jenom asi 19%.

U dětských pacientů patří mezi rozpoznané rizikové faktory pozitivita Ph-chromosomu, onemocnění u dětí mladších 1 roku s pozitivitou t(4,11), docílení remise za déle než 4 týdny léčby, hybridní AML, téměř haploidní typ ALL. Tato skupina nemocných je indikována k provedení alogenní transplantace od sourozence a někteří i od MUD již v I.remisi. Pacienti s relapsem nemoci jsou indikováni k transplantaci a to i od nepříbuzného dárce, zejména dojde-li k relapsu za dobu kratší než 30 měsíců od diagnózy a nebo jedná-li se o relaps Ph1+ ALL či o relaps T-ALL.

### Akutní myeloidní leukemie

Podobně jako u ALL nebyla ani u AML až dosud definována optimální indikace k alogenní či autologní transplantaci. Podobně jako u chemoterapie je i u transplantací tendence indikovat transplantaci v závislosti na rizikových faktorech. Zvláště některé cytogenetické abnormality dobře korelují s prognosou onemocnění. Na základě analýzy výsledků studie MRC AML 10, nemocní s cytogenetickými změnami t(15:17), t(8:21) a inv.16 mají signifikantně lepší přežití než ostatní subtypy AML. DFS bylo pro tuto skupinu nemocných 71% v 5-ti letech. Ve skupině nemocných se standardním rizikem, (<20% blastů po první cytostatické kúře a nepřítomnost výše uvedených prognosticky příznivých cytogenetických změn) bylo DFS 45% při 5-ti letech sledování. Skupina se špatnou prognosou (>20% blastů po první cytostatické kúře + nepřítomnost prognosticky příznivých cytogenetických změn) měla 5-ti leté DFS pouze 16%. DFS pro skupinu nemocných s AML po alogenní transplantaci od sourozence je při 5-ti letech sledování cca 50%. Je tedy zřejmé, že pro skupinu nemocných s prognosticky příznivou cytogenetikou transplantace kostní dřeně nepřináší zlepšení v přežití a měla by být pro tuto podskupinu pacientů rezervována až pro případ relapsu.

Autologní transplantace provedená v I.kompletní remisi je spojena se zhruba stejným DFS jako transplantace alogenní jak vyplývá ze statistiky EBMT. 4 leté DFS bylo 55% pro allo a 48% pro autologní transplantace, zatímco samotná chemoterapie byla spojena s 30% DFS. Celkové přežití však bylo podobné, neboť část pacientů s relapsem po chemoterapii byla vyléčena následnou autologní transplantací.

Nemocní s relapsem AML jsou samotnou chemoterapií pravděpodobně nevléčitelní. Alogenní transplantace v I. neléčeném relapsu či v II. remisi vede k cca 40% DFS v 5-ti letech po výkonu, autologní transplantace k 20-45% DFS. Pro nemocné s relapsem AML přichází v úvahu i provedení transplantace od nepříbuzného dárce.

Výsledky transplantací od nepříbuzného dárce.

Na základě analýzy výsledků transplantace od nepříbuzného dárce z registru NMDP u 153 pacientů bylo zjištěno, že 2-leté DFS pro skupinu nemocných, transplantovaných v I. či II. CR bylo 45% (+13%) zatímco pro pokročilejší stadium nemoci to bylo pouze 19% (+8%)

Výsledky transplantací od nepříbuzného dárce ze Seattlu jsou následující: 3 leté DFS u 55% nemocných, transplantovaných v I. CR 31% pro II. CR a 26% pro III. či další remisi. DFS pro nemocné transplantované v relapsu se pohybuje v rozmezí 4-14%.

Srovnání výsledků 154 transplantací od nepříbuzného dárce s 308 transplantacemi autologními z registru EBMT ukazuje podobné 2-leté DFS pro obě skupiny (38% pro ABMT a 37% pro MUD-BMT). Celkové přežití bylo lepší pro ABMT (47%) oproti 39% pro MUD-BMT. Množství relapsů však bylo výrazně nižší ve skupině MUD-BMT (27%) než pro ABMT (56%). Tato výhoda však byla negována vyšší úmrtností z ostatních příčin (TRM)

TRM pro MUD-BMT byla 49% a pouze 13% pro ABMT. V této statistice se jeví výhodnější ABMT než MUD-BMT pro nemocné s AML.

### **Závěr**

Z výše uvedených výsledků je patrné, že nemocní s prognosticky příznivými typy akutních leukemií neprofitují z provedení alogenní transplantace v I. remisi. Pro tuto podskupinu nemocných by měla být rezervována transplantace až pro případ relapsu. Oproti tomu nemocní s prognosticky nepříznivým typem akutní leukemie by měli být indikováni k transplantaci již v I. remisi. Nezodpovězenou zatím zůstává otázka, pro které podtypy AL bude přínosná autologní transplantace a pro které naopak transplantace od nepříbuzného dárce. Odpovědi na tyto otázky mohou přinést pouze další klinické studie.

### **Literatura**

1/Hansen JA, Clift RA, Thomas ED, Buckner CD, Storb R, Giblett ER. Transplantation of marrow from an unrelated donor to a patient with acute leukemia. *N Engl J Med* 1980, 303, 565-567.

2/ Howard MR, Hows JM, Gore SM, et al. Unrelated donor marrow transplantation between 1977-1987 at four centers in the United Kingdom. *Transplantation* 1990, 49, 547-553.

3/Kernan NA, Bartsch G, Ash RC, et al. Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program. *N Engl J Med* 1993, 328, 593-602.

4/Gajewski JL, Ho WG, Feig SA, et al. Marrow transplantation using unrelated donors for patients with advanced leukaemia or bone marrow failure. *Transplantation* 1990, 50, 244-249.

5/Marmont AM, Horowitz MM, Gale RP, et al. T-cell depletion of HLA identical transplants in leukemia. *Blood*, 1989, 73, 606-613.

6/Anasetti C, Hansen J, Bone marrow transplantation from HLA-partially matched related donors and unrelated volunteer donors. In: Forman St, Blume KG, Thomas ED, eds. *Bone Marrow Transplantation*. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1994, 665-679.

7/Carella AM, Marmont AM. Autologous bone marrow transplantation in acute lymphoblastic leukemia. *Baillieres Clin Haematol* 1994, 7, 403-419.

- 8/Barret AJ. Bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Baillieres Clin Haematol* 1994,7,377-401.
- 9/Hoelzer D. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol* 1994,31,1-15.
- 10/Copelan EA, McGuire EA. The biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. *Blood* 1995,85,1151-1168.
- 11/Chessells JM, Bailey C, Richards SM. Intensification of treatment and survival in all children with lymphoblastic leukemia: results of UK Medical Research Council trial UKALL X. Medical Research Council Working Party on Childhood Leukaemia. *Lancet* 1995, 345,143-148.
- 12/Copelan EA, Kapoor N, Murcek M, Theil K, Tutschka PJ. Marrow transplantation following busulfan and cyclophosphamide as treatment for translocation (4,11) acute leukaemia. *Br. J. Haematol.* 1988,70,127-128.
- 13/Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R, et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. *N Engl J Med* 1995,332,217-223.
- 14/Schiller G, Feig SA, Territo M, et al. Treatment of advanced acute leukaemia with allogeneic bone marrow transplantation from unrelated donors. *Br J. Haematol.* 1994,88,72-78.
- 15/Busca A, Anasetti C, Anderson G, et al. Unrelated donor or autologous marrow transplantation for treatment of acute leukemia.
- 16/Gorin WC, Labopin M, Fouillard Ce. Autologous (ABMT) versus unrelated (MUD) marrow transplantation for acute leukaemia. A retrospective survey from the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood* 1995,86,617 (abstract)
- 17/Pinkel D. (1993) Bone Marrow Transplantation in children. *Journal of Pediatrics*, 122,331-341.
- 18/Borgmann A, Schmid H, Hartmann R, Baumgarten E, Hermann K, Kling T, Ebell W, Zintle F, Gadner H, Henze G, (1995) Autologous bone marrow transplants compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukaemia in a second remission: a matched - pair analysis. The Berlin- Frankfurt- Munster Study Group. *Lancet*, 346(8979),873-6.
- 19/Chessells J.M, Leiper A, Richards SM. (1994) A second course of treatment for childhood acute lymphoblastic leukaemia.. Long-term follow-up is needed to assess results. *British Journal of Haematology*, 86,48-54.
- 20/Weisdorf DJ, Woods WG, Nesbit ME, Uckun Jr.F, Dusenbery K, Kim T, Haake R, Thomas W, Kersey JH, Ramsay , NKC (1994) Allogeneic bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukaemia: risk factors and clinical outcome. *British Journal of Haematology*, 86,62-69.
- 21/Cornish J, Potter MN, Sewqard CG, Pamphilon D, Green A, Oakhill A, (1995) Unrelated donor bone marrow transplant for acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Blood*, vol 86,10,381 a.
- 22/Balduzzi A, Gooley T, Anasetti C, Sanders JE, Martin PJ, Peters D, Appelbaum FR, Buckner CD, Matthews D, Storb R, et al (1995) Unrelated donor marrow transplantation in children. *Blood*, 6(8) 3247-56.
- 23/ Wheeler K, Bailey C, Chessells J, a Richards S (1996) Comparison of bone marrow transplant and chemotherapy treatment for relapsed childhood ALL. *British Journal of Haematology*, vol.93, Supp.1,53.
- 24/Chessells JM, Bailey CC, Richards SM, (1992) Bone marrow transplantation for high-risk childhood lymphoblastic leukemia in first remission: experience in MRC UKALL X. *Lancet*, 340,(ii)565-568.
- 25/Chessells JM, Richards SM, Bailey CC et al (1995) Gender and treatment outcome in childhood lymphoblastic leukaemia: a report from the MRC UKALL trials. *British J. of Haematology*.,89,364-372.

26/Chessells JM,Eden OB,Bailey CC et al.(1994) Acute lymphoblastic leukaemia in infancy:experience in MRC UKALL Trials.Report from the Medical Research Council Working Party on Childhood Leukaemia.Leukemia,8,(8),1275-1279.

Scripta medica	70	Supplementum 4	303-306	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

II.interní klinika LF MU FNŠP Brno Bohunice

**Krahulcová E., Penka M., Vorlíček J.**

## **Vývoj diagnostiky a terapie AL**

První popis pacienta trpícího leukemií podal v roce 1827 Velpeau. Podrobnější kazuistiku publikovali nezávisle 2 skupiny autorů a to v roce 1845 Craig a Bennet v Edinburghu a Virchow v Berlíně. Craige pozoroval případ již v roce 1841, ale nerozpoznal jeho specifčnost až do doby, kdy byl přítomen při pitvě Bennetova prvního leukemického pacienta. Interpretace známek nemoci pak byly v řadě přednášek - Bennet referoval o obrovsky zvětšené slezině, kde je přítomen purulentní materiál z krve, zatímco Virchow popisoval jednoduše "bílou krev". Virchow byl také prvním, kdo tvrdil, že nemoc není důsledkem pyemie, ale zcela jiné etiologie a identifikoval tak zhoubný původ nemoci. Donne publikoval již mikroskopický popis v roce 1839 a pak v 1845. Na konferenci Královské lékařské a chirurgické společnosti v Londýně v roce 1846 Fuller popisoval opět enormní zvětšení sleziny v souvislosti s nálezem typických změn v krvi. Zkoumal 3x po sobě krev nemocného 8 dní před jeho úmrtím a ve všech případech našel kromě normálních krevních buněk ještě část abnormálních, granulovaných a nebarevných kulatých buněk. Později opět Bennet v roce 1852 publikoval v monografii *Leukocythaemia* 37 případů. O čtyři roky později v roce 1856 Virchow, který vlastně termín leukemie zavedl v roce 1847, publikoval velmi podrobné review "Die Leukämie". V roce 1857 Friedrich popsal akutní leukemii, v roce 1891 po objevení vitálního barvení Paul Ehrlich rozlišil leukemii na myeloidní a lymfoidní. Ehrlich byl také prvním, kdo vyjádřil představu, že by zde měla svou úlohu chemoterapie. Zkoušel ovlivnit maligní nemoci u zvířat použitím alkylačních agens tehdy dostupných, ale neuspěl a stal se známým díky chemoterapii syfilidy. Teorii následujících 20 let, byla počáteční domněnka, že hlavním postiženým a odpovídajícím orgánem je slezina. Tuto hypotézu změnila dvě následující publikace: Neumann v roce 1868 spojoval výskyt špinavě žlutavě zelené hmoty v kostní dřeni s etiologickou rolí. Z toho důvodu přidal další typ jako myeloidní leukemii k dosud dvěma formám a to slezinné a lymfatické. Jeho idea se dále vyvíjela a v roce 1878 publikoval review, kde jako první rozpoznal, že produkce buněk kostní dřeni je proces, který pokračuje po narození. Druhou klasickou prací po Neumannovi byla práce Bizzozera v roce 1868, autora pouze 22ti letého. Vycházející ze své dřívější práce se žábami a kuřaty, uzavřel, že kostní dřev pravděpodobně obsahuje aktivní místa produkce bílých a červených krvinek. Později obrátil svou pozornost na koagulační systém a zavedl termín krevní destička. V roce 1891 po objevu vitálního barvení Paul Ehrlich rozlišil leukemii na myeloidní a lymfoidní.

Lissauer nečekal až se objasní pathogeneza leukemie a publikoval léčbu 2 nemocných Fowlerovým roztokem, tekutým arsenitem draselným. Pacient byl léčen arsenikem, protože přednosta nemocnice Dr Rosenkranz, byl znám tím, že léčí koně arsenikem, po kterém následovala u zvířat úprava zažívacích chorob. Další nemocný, první popsaný případ priapismu spojený s leukemií, rovněž dostával arsenik s dobrým, ale krátkodobým efektem. Arsenik byl populárním

lékem pro léčbu chronické myeloidní leukemie po dalších 65 let, zejména doporučován Forknerem a Scottem.

Počátkem 20. století byl poznán lymfoidní účinek hořčičných plynů dichlorethyl sulfidu a B chlorethylaminu a sulfidu. Toxický efekt dichlorethylsulfidu na zvířata a člověka byl zjištěn na začátku první světové války a později publikován Pappenhaiemerem a Vancem. Prováděli studii na králících aplikací podkožních injekcí dichlorethylsulfidu. Králíci, kteří přežili 24 hodin ukazovali pokles leukocytů, zejména jejich granulocytární složky. Po válce poklesla výzkumná činnost, ale narůstající energie byla patrná opět s příchodem druhé světové války. První výsledky publikoval Gilman, armádní důstojník, a Goodman v roce 1944. Popisovali účinek stabilního nitrogen mustard ve formě hydrochloridové soli jako účinného léku u Hodgkinovy nemoci. Z dalších léků to byly steroidy, jejichž protinádorové účinky byly publikovány od roku 1944. Velkým přínosem bylo objevení cytostatik, kdy jako první do léčby leukemie zavedl Farber v roce 1948 antimetabolity, kdy prokázal antileukemický účinek antagonistů kys. listové. Od roku 1951 začala moderní éra chemoterapie objevením 6 merkaptopurinu Hitchingsem a Elionem. Kombinovaná chemoterapie začínala v 60. letech poznáním účinku cytosinarabinosidu a antracyklinů a rozvíjí se dosud.

Klíčem k rozvoji transplantace kostní dřeně a jejímu rozšíření byla první transplantace v roce 1968 provedená od HLA identického sourozence u dítěte s těžkým kombinovaným imunodeficitem. Toto dalo racionální podklad pro výběr dárců z nejbližší rodiny dle HLA typizace. Dřívější transplantace byly většinou neúspěšné, neboť se řídily shodou v ABO systému. Poohlédneme-li se ještě více do minulosti, již na přelomu století se snažili lékaři léčit krevní choroby s toutéž ideou a to podáváním syrové anebo vařené zvířecí sleziny perorálně. První pokusy o léčbu aplastické anemie podáním dřenových buněk stejné skupiny byly učiněny již v roce 1939. V roce 1950 pak Jacobson a Lorenz publikovali, že podání dřenových buněk může odvrátit smrt u ozářených zvířat. Po pokusech na zvířatech se pozornost obrátila k lidským pacientům. Impulsem bylo nečekané neštěstí výbuchu jaderného reaktoru v Jugoslávii. 6 lidí bylo převezeno do Paříže a léčeno týmem lékařů vedených Mathém a Jammetem. 5 pacientů dostalo kostní dřen od skupinově identických dárců. 4 přežili, jeden zemřel. V roce 1970 Bortin publikoval přehled o 203 transplantacích provedených mezi rokem 1950 a 1962. Výsledky nebyly vůbec povzbudivé. Z 203 nemocných 152 zemřelo, u 125 nejméně nedošlo k přihojení, chimerismus byl prokázán jen u 11 případů, a pouze 3 nemocní přežívali v době Bortinovy publikace. Do roku 1960 tedy transplantace kostní dřeně poutala velmi málo pozornosti a to pro svoje neúspěchy. Teprve po objevení HLA systému a zavedení testů histokompatibility se otevřela nová éra transplantace kostní dřeně. První úspěšná transplantace byla referována skupinou Roberta Goodse u dítěte s vrozeným imunodeficitem. V tomto případě byl jako dárcem vybrán HLA identický sourozenec. Výsledky se zlepšovaly a v roce 1970 byly definovány hlavní metody histokompatibilních testů, pokroky v podpůrné terapii aplastického syndromu po chemoterapii, rozvoj dekontaminace a izolace. V posledních desetiletích se transplantace přesunula z polohy metody poslední možnosti záchrany do pole kurativního a začala být prováděna v časných stádiích nemoci, bylo zavedeno frakcionované ozáření a vypracována účinná imunosupresivní terapie cyklosporinem. Transplantace kostní dřeně zaujala standardní místo v léčbě aplastické anemie, těžkých kombinovaných imunodeficitů, akutní leukemie a chronické leukemie. Na konci roku 1990 bylo ve světě provedeno na 40 000 transplantací, nyní se odhaduje asi 5000 transplantací ročně.

V historii léčby leukemie je tedy mnoho mílníků: první kompletní remise, první režimy kombinované terapie, první antimetabolity, perorální alkylační látky, první imunoterapie a první biologický protinádorový působek interferon, a dále auto a alogenní transplantace kostní dřeně a periferních kmenových buněk.

Primárním důvodem, že leukemie je tak zajímavou diagnózou je její unikátní klinická charakteristika, která je velmi vhodná pro systematické studování v klinice i v laboratoři. Zprv

jde o nemoc systémovou, lokální léčba zde tedy hraje minimální roli a je třeba systémové efektivní strategie. Snad ještě důležitější je fakt, že u leukemie je orgánem původu myeloidní kostní dřeň, lymfatická tkáň a krev, vzorky se dají tedy velmi snadno získat a získává se zároveň relativně čistá suspenze tumorozních buněk.

Fakt, že za posledních 40 let došlo k maximálnímu zlepšení jak paliativní tak kurativní strategie léčby, odhaluje enormní heterogenitu nemoci. Tato dovoluje základní klinické výzkumy v biologii choroby. U akutní leukemie například pacienti, kteří dosáhnou kompletní remise umožňují, že badatel má možnost srovnat tumorozní buňky nasbírané v době diagnózy s normálními během periody kompletní remise a opět původní buňky v době relapsu. Za posledních 40 let se udělali velké pokroky ve výzkumné činnosti, jsou zde excelentní zvířecí modely. Leukemické buňky a normální buňky mohou být pěstovány na kulturách a manipulovány v krátkodobých či dlouhodobých kultivacích. Byla objevena molekulární genetika, která objasnila mnoho v biologii maligní transformace.

V diagnostice a léčbě leukemie je několik oblastí, z nichž každá samostatně poskytuje obrovské výzkumné možnosti a je zde stále mnoho dosud neobjasněného.

První oblastí je historicky nejstarší strategie léčby a to je chemoterapie. Je jasné, že chemická agens jsou nejvíce zodpovědná za změnu v přirozeném průběhu leukemických onemocnění. Jsou spojena jak s nárůstem kvantity tak se zlepšením kvality života pacientů s touto chorobou. Tato oblast navzdory své již 40 ti leté historii se stále vyvíjí a jistě se pokrok bude objevovat i dále a v nejbližší budoucnosti ještě bude zastávat vedoucí roli v terapii.

Druhou fascinující oblastí je imunoterapie a obrana organismu proti malignitám. Tato oblast byla otevřena použitím nespecifické imunostimulace spojené s BCG vakcinací. Dnes ovšem leží spektrum v chemických, biologických a imunologických stimulacích. Stále přibývá informací o funkci NK buněk, přirozených zabíječů, o lymfokiny aktivovaných zabíječích LAK bunkách.

Třetí oblastí je oblast rekombinantní technologie, studium inhibice proliferace a diferenciací. Toto bude hrát jistě velkou roli v léčbě leukemií.

Čtvrtou oblastí je transplantace kostní dřeně, periferních kmenových buněk a buněk z pupečnickové krve.

A konečně poslední oblastí je oblast molekulární genetiky a cytogenetiky mající stále větší dopad na léčebnou strategii a monitoring nemoci.

Hlavním aspektem je ale schopnost těmito metodami porozumět či přiblížit se poznání genetické podstaty nemoci. Jsou objevovány nové geny, antionkogeny, supresorové geny, mutace jako RAS gen, které hrají roli ve vývoji nové strategie léčby a přibližují nás cíli zbavit toto onemocnění synonyma nevyléčitelnosti.

## Literatura

1. Velpau 1827
2. Craig D. Case of disease of the spleen in which death took place in consequence of the presence of purulent matter in the blood. *Edin Med Surg J.*, 1845(64), 400-401
3. Bennet JH: Case of hypertrophy of the spleen and liver in which death took place suppuration of the blood. *Edin Med Surg J* 1845(64), 413-415

4. Virchow R: Weisses Blut. N Notiz Geb Nat Heilk 1845,(36)151-153
5. Donné A.: Cours de Microscopie Complémentaire des Etudes Médicales, Anatomie Microscopique et Physiologique des Fluides de l'Economie. JB Bailliére, Paris 1844 pp 132
6. Barth J: Alteration du sang remarquable par la predominance des globules blancs ou muqueux:hyperthrophie considerable de la rate. Bull et Mem Soc Méd Hop Paris,1856(3) 5-56
7. Fuller HW. Particulars of a case in which enormous enlargement of a case in which enormous enlargement of the spleen and liver, together with dilatation of the blood vessels of the body were found coincident with peculiarly altered condition of the blood. Lancet 1846 (ii)43-44
- 8 Bennet JH: Leucocythemia, or White Cell Blood in relation to the physiology and pathology of the lymphocytic glandular system. Sutherland & Cox, Edinburg 1852
9. Virchow R: Die Leukaemie. Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichem Medizin, Meidinger Sohn & Comp.,Frankfurt 1856pp90
- 10.Neumann E. Ueber die bedeutung des Knochenmarkers fur die Blutbildung.Centrabl Med Wiss 1868,(6) 689-691
- 11.Neumann E. Ueber myelogene Laukaemie. Berliner Klin Wochenschr. 1878 ( 15) 69-71
- 12.Bizzozero G., Sulla funzione ematopoietica del midollo delle ossa R.C.R. Ist Lomb Sci Lett 1868 ,815-818
- 13.Bizzozero G. Su di un nuevo elemnto morfologico del sangue del mammiferi e della sua importanza nells trombosi e nella coagulazione. Osservatore 1882(17),785-787,
- 14.Tavassoli M.,Yoffey JM: Bone marrow Structure and Function.Alan R Liss Inc, New York 1883
15. Lissauer H. Zwei Falle von Leukaemie, Berliner Klin Wochenschr.,1865,403-404
16. Forkner CE and Scott TFM: Arsenic therapeutic agent in chronic myelogenous leukaemia.preliminary report. JAMA 1931
- 17.Steward MJ. Report on case of poisoning by mustard gas dichlorethyl sulphide with special reference to the histological changes and to the alterations on the leucocyte count. Report of the Chemical Warfare Commitee, Great Britain, Med Com, rep No 17,1918
18. Goodman LSD, Wintrob MM, Damashek W Nitrogen mustrad therapy:use of methyl bis ( B chloroethyl) amine hydrochloride and tris ( B chloroethyl) amine hydrochlorid for Hodgkin s disease, lymphosarcoma, leukaemia and certain allied and miscellaneous disorders.JAMA 1946,132,126-132.
19. Heilman FR and Kendall EC: The influence of 11 dehydro 17 hydroxycorticosterone ( Compound E) on the growth of malignant tumor in the mouse. Endocrionology 1944,34,416-420

MUDr E. Krahulcová  
II. int.klinika  
FNsP Brno Bohunice



Scripta medica	70	Supplementum 4	307-314	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Hemato-onkologická klinika FN v Olomouci

**K. Indrák**

## **Léčba akutních leukémií**

### **Souhrn**

Akutní leukémie (AL) jsou heterogenní skupinou chorob. Jejich léčba dosáhla v posledních 10ti letech významného pokroku. Přispěl k tomu zejména rozvoj imunofenotypizace, cytogenetiky, molekulární biologie a tkáňových kultur umožňující odlišení jednotlivých subjednotek choroby.

Zatímco u akutních myeloidních leukémií (AML) je indukční léčba již delší dobu poměrně standartizována, postremisní léčba jde cestou stále větší individualizace vycházející ze znalosti prognostických faktorů.

Tuto individualizaci lze u akutních lymfoblastických leukémií (ALL) sledovat již od zahájení léčby. Významného pokroku dosáhla podpůrná péče.

Zlepšení léčebných výsledků vychází z hluboké znalosti problematiky a dostupnosti velmi specializovaných a drahých diagnostických a léčebných metod. To umožňuje jen centralizovaná péče.

### **Summary**

Acute leukemias (AL) are heterogenous group of diseases. The treatment of AL has reached significant improvement in the last 10 years. The development namely of immunophenotyping, cytogenetics, molecular biology and tissue cultures enabling to distinguish among particular subgroups of disease contributed.

While the induction treatment of acute myeloid leukemias (AML) is more or less standardized for quite a long time, the post-remission treatment aims to greater individualization exploiting the knowledge of prognostic factors.

In ALL it is possible to follow this individualization even from the start of the treatment. Also the supportive care reached an important progress.

The improvement of treatment results from the deep knowledge of problems and accessibility of highly specialized and expensive diagnostic and treatment methods. Only centralized care enables this.

Akutní leukémie jsou heterogenní skupinou chorob charakterizovaných kumulací nevyzrálých, nádorově transformovaných hemopoetických buněk s postupnou redukcí normální hemopoesy a se

všemi z toho vyplývajícími důsledky. Podle původu leukemického klonu se leukémie dělí na **leukémie myeloidní a lymfatické**. Další s výhradami dosud platné rozdělení akutních leukémií navrhla v roce 1976 Francouzsko - Americko - Britská kooperativní skupina (FAB) na základě morfologických a cytochemických kritérií. Toto rozdělení bylo v posledním zhruba desetiletí doplněno o subimunofenotypickou klasifikaci a další poznatky přinesly cytogenetické studie a v posledních letech zvláště molekulární biologie.

**Akutní myeloidní leukémie** se vyskytují s incidencí 3 : 100 000 obyvatel/rok a tato se v posledních letech nemění. Akutní myeloidní leukémie tvoří méně než 20 % akutních leukémií dětského věku, ale 80 % akutních leukémií dospělých. Medián jejich výskytu je 63 - 65 roků.

Stanovení závažnosti onemocnění a rozhodnutí o intenzitě léčebného přístupu umožňuje znalost **prognostických faktorů**. K nepříznivým prognostickým faktorům patří (I) výskyt preleukemické cytopenie, věk nad 60 roků, více než  $100 \times 10^9/l$  blastických buněk v krevním obraze a některé cytogenetické změny, jejichž přehled uvádí tabl. 1.

Léčba akutních leukémií má 2 fáze. První, kterou nazýváme **indukční**, se snažíme dosáhnout **hematologické remise** choroby. Kompletní hematologická remise je charakterizována normalizací hodnot krevního obrazu, kde již nenacházíme blastickou populaci a výskytem méně než 5% blastických elementů v kostní dřeni. V této době však v organismu ještě přetrvává nádorová masa, obecně méně než  $10^9$  nádorových buněk, nazývaná **minimální zbytková choroba (MRD)**. Tu nejsme schopni detekovat rutinními hematologickými metodami, ale může zde pomoci imunofenotypizace, cytogenetika či molekulární biologie. Likvidaci MRD si klade za cíl 2. fáze léčby, tzv. **postremisní (konzolidační léčba)**, která by měla pacienta v ideálním případě vyléčit a zabránit **relapsu** t.j. znovuvzplanutí choroby.

V indukční léčbě AML se již mnoho roků užívá kombinace Cytosinarabiosidu (Ara - C) v kontinuální infúzi a antracyklinových antibiotik (tabl. 2). Zlatým standardem je Daunorubicin. Hledá se optimální dávka a zkoušejí se různé druhy antracyklinových antibiotik - někteří hovoří o větším počtu remisí po Idarubicinu (2), jiní poukazují na menší kardiotoxicitu Mitoxantronu atd. U vysoce rizikových nemocných se i v indukční léčbě zkouší vysoce dávkovaný Ara - C (3).

Se zlepšením úrovně podpůrné péče je u osob s AML mladších 60ti let dosahováno 65 - 80 % kompletních remisí (KR). Výsledky u starších osob (10-50% KR), stejně jako u sekundárních AML (20-40 % KR) jsou však, jak vidíte z tabl. 3., stále špatné.

**Postremisní léčba AML** se, na rozdíl od indukční léčby, vysoce **individualizuje** (tabl. 4). U nemocných starších 60 - 65 let, kteří vesměs vysoce dávkovanou léčbu špatně tolerují (5), se dává přednost konvenční a často ještě redukované chemoterapii. Přidání růstových faktorů zkracuje u těchto nemocných období pancytopenie a zlepšuje jejich prognózu (6). Vysoce dávkovaná konzolidační léčba Cytosarem, většinou v kombinaci s antracykliny, má přednost u nemocných s příznivými prognostickými faktory, zvláště u pacientů s t (8,21) a inv (16) (I), kteří tvoří 1/3 AML. Po ukončení konzolidační léčby provádíme odběr kostní dřene pro eventuelní autologní transplantaci v případě relapsu choroby. U nemocných s vysokým rizikem, splňujících indikační podmínky, tj. především věk, má přednost dle okolností příbuzenská nebo nepříbuzenská transplantace, resp. při nedostupnosti dárce či vyšším věku autologní transplantace "čištěných" nebo "nečištěných" hemopoetických progenitorů.

Při použití standardní postremisní léčby se po 4 letech pohybuje přežívání nemocných kolem 15%, při léčbě vysoce dávkovaným Cytosarem kolem 30%, po autologní transplantaci kostní dřene kolem 48% a po příbuzenské allogenní transplantaci kolem 55%.

Nedávno uveřejněné výsledky EORTC (7) srovnávající vysoce dávkovanou autologní a allogenní TKD uvádějí grafy č.1 a 2. Zde je nutno připomenout, že pro allogenní příbuzenskou transplantaci můžeme najít dárce přibližně jen pro 15-20% nemocných mladších 45 let.

Příčinou horších léčebných výsledků u osob starších 60ti let jsou vedle snížené regenerační schopnosti kostní dřene většinou i horší celkový stav, zhoršení fyziologických orgánových funkcí, vyšší výskyt nepříznivých cytogenetických změn, častější výskyt lékové rezistence a snížená odolnost organismu proti infekcím (tabl. 5). Zvláštní léčebný postup volíme u promyelocytární leukémie (PML). Cytogenetickým podkladem této leukémie je translokace mezi chromozómy t(15; 17) v pruzích q24; q21. Kritickým místem této translokace je vznik hybridního genu PML/RAR, na derivovaném chromozómu 15 (obr. 1). Jeho produktem je transkripční chimerický protein, který inhibuje myeloidní diferenciaci a apoptózu. Při podání vysoce dávkované kyseliny trans-retinové (ATRA) dochází k opětné indukci diferenciaci myeloidních buněk a k zástavě diseminované intravaskulární koagulace (DIC), která onemocnění často provází.

Po léčbě ATROU však nedochází k úplné eradikaci (likvidaci) patologického buněčného klonu. Proto se indukční i postremisní léčbě doplňuje o antracyklinová antibiotika a Cytosar a po dosažení molekulárně-biologické remise se odebírá kostní dřeň pro eventuelní transplantaci v případě relapsu choroby. Úloha udržovací léčby s intermitentním podáváním ATRY je ve stadiu výzkumů. Zavedení ATRY do léčby PML znamenalo zásadní obrat v prognóze nemocných s PML. Z původně prognosticky nejhorší AML s vysokou úmrtností se PML stala nejlépe léčitelnou AML s 95% KR a s 80% pacientů přežívajících 4 roky! V diferenciální diagnóze je však třeba vyloučit, že se nejedná o leukemickou jednotku klinicky zcela podobnou PML, ale způsobenou t(11; 17) (8). U této formy PML, která je však velmi vzácná (asi 1% ze všech PML) je léčba ATROU zcela neúčinná!

**Akutní lymfoblastické leukémie dospělých** se svými **prognostickými faktory** od AML poněkud liší. Věk nad 60 roků zásadně ztěžuje již dosažení KR. Pro délku přežití má nepříznivý význam leukocytóza nad  $30 \times 10^9/l$ , orgánové postižení, nález Ph<sup>+</sup> chromozómu a dosažení KR za více než 4 týdny od zahájení indukční léčby (tabulka 6) (9).

Základními léky pro indukční léčbu ALL jsou Vinkristin, Prednison a antracyklinová antibiotika doplněná v různých protokolech o L asparaginázu, Ara-C a Cyklofosfamid. Výsledkem indukční léčby je 63 - 86 % KR, ale u dětí až 95 % KR.

Nejvhodnější postremisní léčba se stále hledá. Zatím - co u dětí je dosahováno > 65 % vyléčení, u dospělých přežívá 3 roky jen 30 % nemocných a u osob starších 60ti let jen 10 % nemocných. Ke zlepšení vede individualizace léčby.

**Intenzifikace postremisní léčby u T - ALL** s vysoce dávkovaným Cytosarem (HiDAC) a vysoce dávkovaným Cyklofosfomidem (HiDCFA) zásadně změnila prognózu této skupiny nemocných. KR dosáhne více než 80 % pacientů a více než 45 % nemocných přežívá 3 roky bez příznaků choroby.

Se změnou léčebného přístupu se zásadně změnila i prognóza nemocných se **zralou B - ALL** (10). Vysoce dávkovaná chemoterapie střídající vysoce dávkovaný Cyklofosfomid (CFA), Methotrexát (MTX) a Ara-C s konvenčními dávkami antracyklinových antibiotik, teniposidu, vinkristinu, prednisonu a etoposidu umožňuje dosáhnout 77 % KR, a 3 roky přežívá 58 % nemocných. Zcela zbytečná se zde jeví udržovací léčba.

Bohužel nejmenší úspěchy má zatím léčba nejčtenější, tzv. **common ALL** (cALL), která představuje 55 % ALL dospělých. Neúspěšnost léčby je vysvětlována tím, že 45 % nemocných s c-ALL má Ph<sup>+</sup> chromozóm, který je nejhorším prognostickým faktorem. Po standardní indukční léčbě je dosahováno 75 % KR, většina pacientů, zvl. Ph<sup>+</sup> však v krátké době relabuje. HiDAC nezlepšuje přežití, naději na vyléčení poskytuje jen allogenní TKD, která však je vhodná jen pro omezený počet nemocných. Své místo zde má i udržovací léčba. U pacientů s Ph<sup>+</sup> chromozómem a se zlomem v M/bcr (p210) je nadějná udržovací léčba INF.

Přehled některých nových léčebných přístupů v léčbě akutních leukémií v posledních letech uvádí tabl. 7 a 8. Patří sem individualizace léčby, zavedení ATRY do léčby PML, zavádění přípravků na překonávání lékové rezistence, zlepšení úrovně podpůrné péče, růstové faktory a zavedení

transplantací kostní dřeně, které zásadně přispěly ke zlepšení prognózy nemocných s touto závažnou chorobou.

Ve své přednášce jsem vás schematicky seznámil s moderními přístupy k léčbě akutních leukémií a s výsledky, kterých je touto léčbou možno dosáhnout. Z časových důvodů jsem se nemohl blíže věnovat problematice transplantací ani podpůrné léčbě, která má pro prognózu nemocných zásadní význam. Z uvedeného je patrné, že akutní leukémie jsou heterogenní skupinou chorob, kde dosažení příznivého výsledku vyžaduje individualizaci léčby. Ta vychází z hluboké znalosti problematiky a dostupnosti velmi specializovaných diagnostických a léčebných metod. Nadějí pro nemocné s AL která, jak ukazují výsledky, je zcela opodstatněná, je tedy jen vysoce specializovaná a tedy i centralizovaná léčebná péče.

Doc. MUDr. Karel Indrák, DrSc.,  
Hemato-onkologická klinika FN  
I.P.Pavlova 6  
775 20 Olomouc

### **Nepříznivé prognostické faktory AML**

★ **Preleukemická cytopenie - sekundární AL**

★ **Věk > 60 roků**

★ **Le > 100 x 10<sup>9</sup>/l**

★ **Cytogenetické změny:**

**inv(3), 5q-, -7, 9q34, 12p, +21**

**Komplexní změny**

### AML - Indukce remise

**A:** Ara-C 100-200 mg/m<sup>2</sup>/den kontinuálně x 7 (5-10)

+ antracyklinová antibiotika:

Daunorubicin 30-60mg/m<sup>2</sup>/den x 3

nebo Idarubicin 8-12 mg/m<sup>2</sup>/den x 3

nebo Mitoxantron 8-12 mg/m<sup>2</sup>/den x 3

**B:** Ara-C 1-3 g/m<sup>2</sup> v 2 hod. infuzi 6-12x

± antracyklinová antibiotika

### AML - výsledky indukční léčby kompletní remise

De-novo AML	< 60 let	65 - 80%
	60 - 80 roků	40 - 50%
	> 75 roků	10%

Sekundární AML 20 - 40%

## AML - postremisní léčba

### ☆ Příznivá prognóza

< 60 let + [t(8;21); inv(16)] → HiDAC  
+ odběr kostní dřeně (PBPC)

### ☆ Nepříznivá prognóza

< 55 let → allogenní příbuzenská TKD  
< 45 let → allogenní příbuzenská ev. nepřibuzenská TKD  
> 45 let a < 60-65 roků + (nedostupný příbuzenský dárce) →  
autologní (čištěná x nečištěná) TKD

☆ > 60 - 65 let - konvenční chemoterapie ± růstové faktory

## ALL - nepříznivé prognostické faktory

- I. pro KR: věk > 60 roků
- II. pro délku přežití:  $Le > 30 \times 10^9/l$   
orgánové postižení (CNS, mediastinum)  
Ph<sup>+</sup> chromozom  
KR > 4 týdny

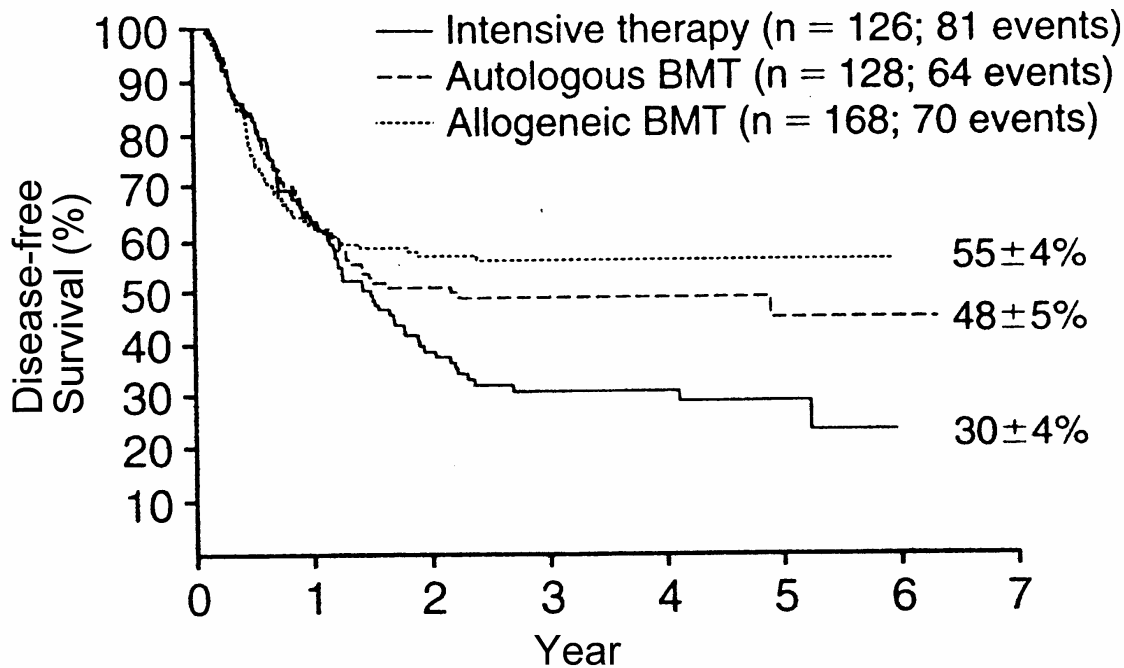
## Nové léčebné přístupy v léčbě AL

- ☆ individualizace léčby → přesná diagnostika
- ☆ ATRA v léčbě AML M3 (FAB) - PML
- ☆ přípravky překonávající lékovou rezistenci  
(Verapamil, Dexverapamil, Cyklosporin, PSC 833...)
- ☆ IL-2 v léčbě MRD
- ☆ zlepšení podpůrné léčby = sesterská péče + krevní deriváty,  
růstové faktory, anorektika, antibiotika, antimykotika, virostatika  
nutrice, analgetika, antidepresiva...

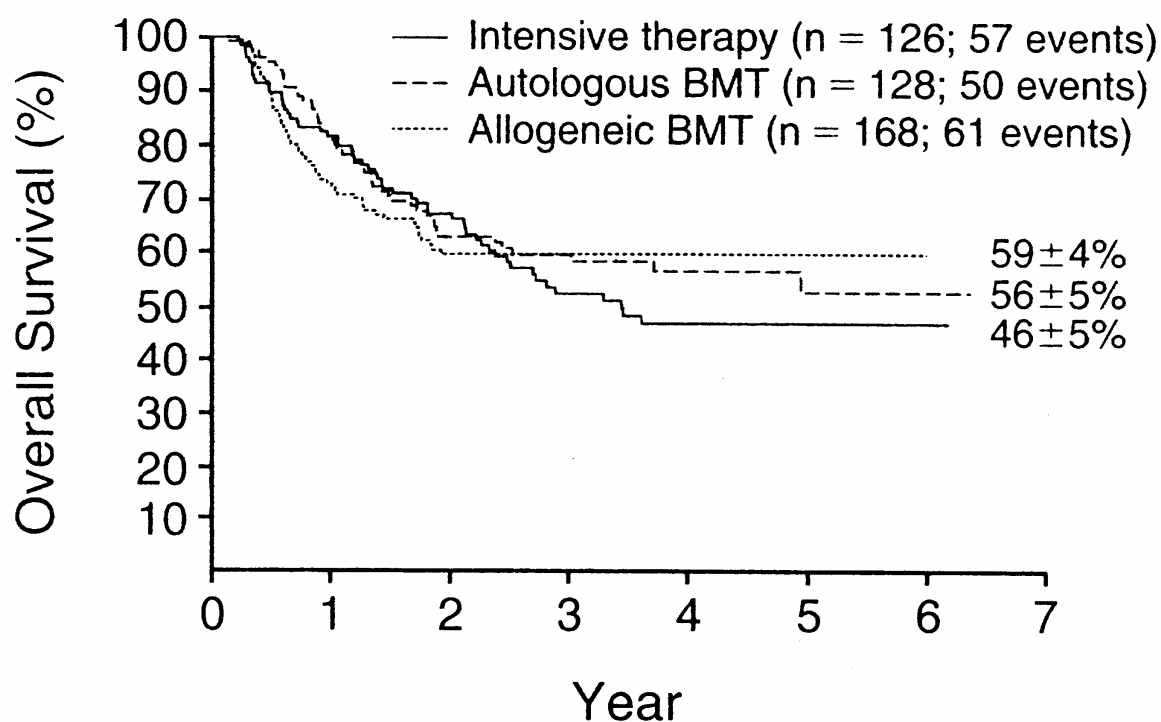
## Nové léčebné přístupy v léčbě AL

### Transplantace hemopoetických progenitorových buněk

- ★ TKD: allogenní - příbuzenské (HLA identické, částečně identické)  
- nepříbuzenské (registr dárců KD)  
autologní - intenzifikace léčby
- ★ PBPC: mobilizace (růstové faktory + cytostatika)  
separace x plná krev  
čištění štěpů (cytostatika, AbMo, IL-2, tkáňové kultury)
- ★ pupečnicková krev (banky pupečnickové krve)
- ★ GVL reakce (aplikace T-Ly dárce příjemci s relapsem po ATKD)



Zittoun R.A. et al.: N. Engl. J. 332: 217 - 223 1996



Zittoun R.A. et al.: N. Engl. J. 332: 217 - 223 1996

## Literatura

1. C.D. Bloomfield, M.R. Baer and G.P. Herzig: Acute myeloid leukaemia in adults: an update. Education session of the second EHA, 1996, Blackwell science Ltd. 91-96.
2. Berman E.: A review of idarubicin in acute leukemia. *Oncology* 1993, 17, 91-98.
3. Bishop J.F., Matthews J.P., Young G.A. et al.: A randomized study of highdose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood* 1996, 87, 1710-1717.
4. Baudard M., Marie J.P., Cadion M. et al.: Acute myelogenous leukaemia in the elderly: retrospective study of 235 consecutive patients. *Br. J. Haematol.* 1994, 86, 82-91.
5. Mayer R.J., Davis R.B., Schiffer C.A. et al.: Comparative evaluation of intensive post-remission therapy with difference dose schedules of ara-c in adults with acute myeloid leukemia (AML): initial results of a CALGB phase III study. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 1992, 11, 261.
6. Rowe J.M., Anderson J., Mazza J.J. et al.: Phaze III randomized placebocontrolled study of granulocyte - macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) in adult patients (55-70 years) with acute myelogenous leukemia (AML): a study of the ECOG. *Blood* 1993, 82 (1), 329.
7. Zittoun R.A., Mandelli F., Willemze R. et al.: Autologous or allogeneis bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N. Engl. J.* 1995, 332, 217-223.
8. Licht J.D., Chen A., Goy A. et al.: Clinical and molecular characterization of acute promyelocytic leukemia with translocation t (11; 17). *Blood* 1995, 85, 1083-1094.
9. Hoelzer D.: Acute lymphoblastic leukaemia in adults. Education sessions of the second EHA, 1996 Blackwell Science Ltd, 86-90.
10. Hoelzer D., Ludwig W.-D., Thiel E. et al.: Improved outcome in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996, 87, 495-508.



Scripta medica	70	Supplementum 4	315-319	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>Oddělení funkčního vyšetřování FNŠP Brno-Bohunice

<sup>2</sup>II. interní klinika MU FNŠP Brno-Bohunice

<sup>1</sup>Eibl L., <sup>2</sup>Hájek R., <sup>2</sup>Vášová I., <sup>1</sup>Chaloupka V.,  
<sup>2</sup>Krahulcová E., <sup>2</sup>Penka M., <sup>2</sup>Vorlíček J.

## Kardiologické komplikace protinádorové léčby antracykliny

### Souhrn

Antracykliny jsou významnou skupinou protinádorových léků, které byly vyvinuty z plísně *Streptomyces peucetius*. Jsou velmi účinné v léčbě řady nádorů v dětském věku i v dospělosti, podané v monoterapii nebo v kombinované léčbě. Jejich klinický přínos je ale omezen výskytem kardiotoxicity - akutním nebo chronickým postižením srdce. Výskyt kardiotoxicity souvisí s dosaženou kumulativní dávkou podaného léku.

Nejzávažnějším problémem je chronická kardiotoxicita, která se objeví po opakovaném podání dávek, obvykle po ukončení léčby. Příčina vzniku toxického účinku na myokard tkví ve vzniku toxických volných kyslíkových radikálů, které vznikají na podkladě vazby antracyklinů s intracelulárním železem.

Mezi faktory, které mohou ovlivnit vznik toxického poškození myokardu antracykliny patří faktory dané léčbou a faktory ovlivněné pacientem. Dosažená kumulativní dávka antracyklinů a způsob jejich podání mohou ovlivnit vývoj kardiotoxicity stejně tak jako věk pacienta, již existující srdeční onemocnění nebo provedená radioterapie hrudníku.

Existují tři pohledy na prevenci kardiotoxicity : úprava léčebného protokolu, vývoj méně toxických antracyklinů, podání kardioprotektivních látek.

Kardioprotektivní látky jsou léky, které podáme před aplikací antracyklinu za účelem snížení jeho kardiotoxicity. V současné době se podávají antioxidantní látky nebo látky s chelatačním účinkem. Nejslibnějším lékem je ICRF-187 (Cardioxan), chelatační látka, jejíž preventivní účinek je založen na zabránění vzniku vazby železo-antracyklin v myocyty a tím brání vzniku toxických volných kyslíkových radikálů.

Klíčová slova : antracykliny, kardiotoxicita, kardioprotekce

### Summary

The anthracyclines are a very important group of antitumour agents, derived from the mould-like bacteria, *Streptomyces peucetius*. They are very effective in treating of a number of tumor types given alone or in a large variety of combinations with other drugs. However, the clinical value of anthracyclines has been limited by a specific, irreversible cardiomyopathy - acute and chronic damage of the heart. This damage appears to be related to the total dose of the drug given both per cycle or cumulatively.

Much more dangerous is the chronic cardiomyopathy that appears after repeated doses of anthracyclines. The cause of the cardiotoxicity is the iron-dependent generation of oxygen free radicals following the binding anthracyclines to iron ions inside the cells, and or following a redox reaction. Free radicals cause severe damage of myocytes.

The factors that increase an individual's risk of developing anthracycline-induced heart damage are either therapy-related or patient-related. The former includes the cumulative dose of given drugs, treatment intensity and combination with other toxic drugs. The latter includes previous irradiation of the chest, age, preexisting heart disease.

There are three ways in which anthracycline-induced cardiotoxicity might be prevented: alteration of the drug administration schedule, the development of new less-toxic anthracyclines and the use of cardioprotective drugs.

Cardioprotective agents are drugs given before the chemotherapeutic drug with the aim of preventing its toxicity. At present these include antioxidants and metal chelators. The most promising of these seems to be ICRF-187 (Cardioxane), which acts by preventing the iron-dependent generation of oxygen free radicals.

Key words : anthracyclines, cardiotoxicity, cardioprotection

## Úvod

Kardiotoxicita je závažnou komplikací protinádorové léčby. Léčba cytostatiky může vyvolat řadu nežádoucích vedlejších účinků, které jsou představovány nekrotickými změnami v myokardu, arytmiemi, srdečním selháním, náhlým úmrtím nebo akcelerací stávajícího srdečního onemocnění. Jedno z nejzávažnějších postižení srdečního svalu v důsledku chemoterapie je vyvoláno léčbou antracyklinovými preparáty.

## Antracyklinová antibiotika a jejich deriváty

Antracykliny patří mezi nejčastěji užívaná cytostatika u hematologických malignit a řady solidních tumorů v dětském věku i v dospělosti. Skupina antracyklinových antibiotik byla do onkologie zavedena v 60. letech. *Daunorubicin* byl izolován v roce 1962 z plísně *Streptomyces ceruleorubidus* (rubidomycin) a *Streptomyces peuceotius* (daunomycin). V roce 1969 byl izolován z plísně *Streptomyces peuceotius* druhý zástupce dnes označované I. generace antracyklinů *doxorubicin*. Má na rozdíl od daunorubicinu podstatně širší uplatnění. Jejich klinické použití je limitováno právě kardiotoxicitou. Ve snaze snížit toxicitu antracyklinů byly připraveny antracykliny II. (*rubidazone*, *detorubicin aj.*) a III. generace (*epirubicin*, *idarubicin*) a antracénové deriváty (*mitoxantron*).

## Patofyziologie kardiotoxicity antracyklinů.

Toxické poškození myokardu bylo popsáno velmi podrobně u *doxorubicinu* i *daunorubicinu*. Nálezy na zvířecích i lidských histologických preparátech vykazují obdobná postižení. Poškození myocytů je komplexní a zahrnuje změny ve všech buněčných strukturách. Je prokázáno, že po aplikaci antracyklinu dochází ke změnám v buněčném jádře, které přetrvávají 24 hodin. Při opakovaných podáváníích se již stávají nevratnými. Pozdní změny jsou charakterizovány degenerací myocytů, které ztrácejí kontraktilní proteiny a jsou nahrazeny vazivem. Zánětlivé změny v myokardu nebo perivaskulární tkáni nebývají přítomny. U dětí lze na rozdíl od dospělých pozorovat i ztenčení stěny levé komory (LK) s úseky kompenzační hypertrofie zachovalého myokardu. Dodnes ještě přesně neznáme podstatu kardiotoxicity antracyklinů. Jedná se pravděpodobně o multifaktoriální proces zprostředkovaný řadou faktorů. Zdá se, že nejdůležitějším faktorem v tomto

procesu je uvolňování kyslíkových radikálů. Tkáň myokardu je poměrně chudá na antioxydační enzymy (superoxid dismutázu, glutathion reduktázu) a proto se toxický účinek kyslíkových radikálů projeví především zde.

### **Klinické projevy kardiotoxicity**

Kardiotoxicita se může manifestovat jako *akutní* již po prvních dávkách léku nebo kdykoliv v průběhu léčby. Akutní symptomy jsou charakterizovány arytmiemi, perikarditidou, akutním poklesem stažlivosti levé komory s klinickými známkami srdečního selhání. Byly též popsány případy náhlé smrti. *Subakutní* kardiotoxicita, někdy popisována jako perikarditis-myokarditis syndrom, se vyskytuje v průběhu několika dní až do dvou let po ukončení chemoterapie. Nejčastěji je popisována v období 1.-3. měsíce po léčbě a jejím projevem jsou známky srdečního selhávání. Největším problémem je *chronická* kardiotoxicita. Výsledky pediatrických studií ukázaly, že ke kardiálním komplikacím může dojít v období 4-20 let po skončené léčbě. Tato kardiotoxicita je charakterizována dilatací levé komory s difúzní poruchou stažlivosti a klinickým obrazem chronického srdečního selhání s vysokou úmrtností.

### **Rizikové faktory kardiotoxicity.**

Riziko kardiotoxicity zvyšuje řada faktorů. Patří sem použité dávkovací schéma. Nižší dávky nebo dlouhodobá infuzní aplikace léku mají nižší riziko. Dalším rizikem je vyšší věk pacienta (nad 65 let), současné srdeční onemocnění radioterapie mediastina, malnutrice. Toxicitu zvyšuje předchozí nebo současně podávání kardiotoxických léků (předchozí léčba antracykliny, cyklofosfamidem, bleomycinem, mitomycinem aj.). Významným rizikovým faktorem je dosažená kumulativní dávka antracyklinů. Zatímco výskyt akutní kardiotoxicity bývá v literatuře uváděn jen mezi 2-3%, výskyt pozdní kardiotoxicity je vyšší, ale v obou případech existuje dobrá korelace s dosaženou kumulativní dávkou léku. Např. u doxorubicinu je popsán výskyt kardiotoxicity po dosažené kumulativní dávce 300mg/m<sup>2</sup> 1-2%, při 500 mg/m<sup>2</sup> 5-10%. Při dosažení vyšších dávek je závislost již exponenciální. Kumulativní dávky kolem 1000 mg/m<sup>2</sup> jsou doprovázeny výskytem kardiotoxicity až v 50-80% případů. Pravděpodobnost srdečního selhání se zvyšuje za přítomnosti dalších rizikových faktorů o 15-20%. Tato zkušenost vedla k tomu, že byly doporučeny maximální kumulativní dávky antracyklinů, které se v terapeutických schématech nepřekračují.

U dětí patří mezi rizikové faktory pozdní kardiotoxicity věk (pod 4 roky), dosažená kumulativní dávka antracyklinů, radioterapie hrudníku a předchozí léčba kardiotoxickými cytostatiky. Nižší věk představuje vyšší riziko pro výskyt pozdní kardiotoxicity. Bylo zjištěno, že se na vzniku toxicity uplatňuje i pohlaví dítěte - byl popsán vyšší výskyt pozdních komplikací u děvčat.

### **Diagnostika a monitorování kardiotoxicity.**

Při léčbě antracykliny je třeba vzít v úvahu všechny rizikové faktory a nemocné pečlivě monitorovat. Základní klinické vyšetření, EKG a RTG nejsou dostačující. Opíráme se především o vyšetření ejekční frakce levé komory (EF) echokardiografií nebo pomocí radionuklidů. Postupná progredující dilatace LK s poklesem EF je typickou známkou antracyklinové kardiomyopatie. Byla proto zavedena kritéria pro monitorování funkce LK pomocí změn EF. Pokles EF o více jak 20% v rozmezí fyziologických hodnot nebo pokles o více jak 10% pokud je výsledná hodnota EF <50% považujeme za patologický. U pacienta se sníženou EF před léčbou (30-50%) pokles EF o více jak 10% nebo pod 30% považujeme za známku kardiotoxicity. U Pacienta s EF < 30% před léčbou by neměly být antracykliny podány.

V dlouhodobém sledování pacientů po skončení chemoterapie se uplatňují i zátěžové testy, které

stanoví funkční zdatnost organismu a srdeční rezervu. V poslední době se zavádějí do diagnostiky poškození myokardu antracykliny imunoscintigrafické metody na podkladě aplikace indium-111 značených antimyozinových protilátek, které se selektivně vychytávají v poškozeném myokardu. Přínos klidového EKG je velmi malý. Holterovo monitorování je přínosem pro diagnostiku arytmií. Slibné je vyhodnocování variability QT intervalu, RR variability a přítomnosti pozdních potenciálů.

Endomyokardiální biopsie je považována za zlatý standard v diagnostice antracyklinové kardiomyopatie. Nejlépe dokáže posoudit přítomnost a stupeň postižení myokardu. Jedná se ale o invazivní proceduru, která není běžně v této indikaci prováděna a nelze ji vždy provést u onkologicky nemocných.

### **Léčba a prevence kardiotoxicity.**

Léčba srdečního selhání je založena na stejném principu jako u jiných forem srdečního selhání. Spočívá v podávání digitalisu, diuretik a vazodilatační léčbě ACE-inhibitory. Přínos betablokátorů v léčbě srdečního selhání není ještě zcela jasný. Obvykle doporučujeme začít léčbu podáním ACE-inhibitorů s diuretiky a digitalis ponechat pro případy, kdy pacienti po terapii ACE-inhibitory zůstávají symptomatictí. Poslední možností v léčbě srdečního selhání je provedení transplantace srdce. Tento přístup je ale realizovatelný jen u nemocných s dlouhodobou dobrou onkologickou prognózou.

*Nejoptimálnějším řešením je minimalizace rizika vzniku kardiotoxicity. V praxi se uplatnily následující přístupy.*

1. Snížení kumulativní dávky léku.
2. Úprava podávání léku.
3. Podání méně kardiotoxických léků.
4. Podání kardioprotektivních látek.

Tento přístup se jeví v prevenci kardiotoxicity jako nejnadějnější. Za tímto účelem byla testována řada preparátů (kalcioví antagonisté, H<sub>1</sub> a H<sub>2</sub> blokátory, alfa a betablokátory, antioxidační látky, N-acetylcystein, L-karnitin, koenzym Q a pod.) Zatímco laboratorní výsledky byly povzbudivé, v klinických studiích se řada léků neosvědčila. V poslední době se vyhodnocuje kardioprotektivní efekt hypolipidemika probukolu. Možnost zvýšení terapeutického indexu a snížení toxicity řady léků (včetně antracyklinů) spočívá v jejich vazbě na liposomy. Jedním z důvodů, proč se tato metoda zatím více neuplatnila je vysoká cena takto upravených preparátů.

Zatím jediným lékem, který se v klinice osvědčil jako účinné kardioprotektivum je *dexrazoxan (ICRF 187, Cardioxane)*. Tuto látku řadíme mezi látky vychytávající volné kyslíkové radikály (free radical scavengers). V buňce podléhá hydrolyze na chelatační látku (ICRF 198), která je podobná EDTA (etylendiaminotetraoctové kyselině). Tato látka na sebe váže intracelulární železo, měď a zinek. Vyvázáním železa zablokuje dexrazoxan železem katalyzované reakce vedoucí ke vzniku kyslíkových radikálů. Je silně polární, velmi obtížně proniká buněčnou stěnou a tím je zajištěn prodloužený chelatační účinek.

Kardioprotektivní efekt dexrazoxanu byl prokázán v experimentu i v řadě klinických studií. Závěry těchto studií se shodují na tom, že u pacientů léčených antracykliny s dexrazoxanem je možno podat více léčebných cyklů a dosáhnout mnohem vyšších kumulativních dávek antracyklinů s minimálním výskytem kardiotoxicity.

Současná aplikace vitamínu A a E může potencovat kardioprotektivní účinky dexrazoxanu.

Dosud neexistuje jednotný názor na to, kdy začít léčbu dexrazoxanem. Domníváme se, že vzhledem k prokázaným subklinickým účinkům antracyklinů na myokard, které je možno diagnostikovat již po podání úvodních dávek, by mohlo být zahájení " pozdní " profylaxe málo účinné. Další doposud nezodpovězenou otázkou je, zda profylaktické podání kardioprotektiv

zabrání vzniku pozdní kardiotoxicity.

### **Závěr**

Výskyt antracyklinové kardiomyopatie je závažnou komplikací snižující konečný efekt protinádorové léčby. Profylaktická léčba dexrazoxanem by měla být součástí léčby antracykliny u dětí a u dospělých rizikových nemocných, kde zároveň očekáváme dlouhodobý příznivý efekt protinádorové terapie.

MUDr. Lubomír Elbl, CSc.  
Odd. funkčního vyšetřování  
FNsP, Brno-Bohunice  
Jihlavská 20

### **Literatura**

1. Adam Z., Elbl L., Vorlíček J. et al : Nižší kardiotoxicita kontinuálního podání adriamycinu u nemocných s refrakterním mnohočetným myelomem léčených cyklofosfamidem, vincristinem, adriamycinem a dexamethazonem (C-VAD). Vnitřní Lék., 40, 1994, č.8, s.506-512
2. Allen A. : The Cardiotoxicity of Chemotherapeutic Drugs. Semin. Oncol., 19, 1992, č. 5, s. 529-542
- Bricker J.T., Green D.M., D'Angio G.J. : Cardiac Toxicity after Treatment for Childhood Cancer. Wiley-Liss, Inc. 1. vyd. New York, 1993
3. Elbl L., Vášová I., Vorlíček J. et al : Zhodnocení kardioprotektivního účinku bispiperazinedionu ICRF-187 (CardioxaneR) u nemocných léčených antracykliny : Echokardiografická studie. Vnitřní Lék., 1996, 42, č.4, s.268-273
4. Hochster H., Wasserheit C., Speyer J. : Cardiotoxicity and cardioprotection during chemotherapy. Curr. Opin. Oncol., 7, 1995, s. 304-309
5. Klener P. : Protinádorová chemoterapie. 1. vyd. Praha, Galén 1996, 614 s.
6. Klener P. : Dexrazoxanum. Remedia, 4, 1994, č.2, s. 86-91
7. Speyer J.L., Green M.D., Zeleniuch-Jacquotte A. et al. : ICRF-187 Permits Longer Treatment With Doxorubicin in Women With Breast Cancer. J.Clin.Oncol. 10,1992,s.117-127.
8. Steinherz L.J., Steinherz P.G., Tan CH.T.C. : Cardiac Toxicity 4 to 20 Years After Completing Anthracycline Therapy. JAMA, 266, 1991, s.1672-1677.
9. Steinherz L.J., Graham T., Hurwitz R. : Guidelines for Cardiac Monitoring of Children During and After Anthracycline Therapy : Report of the Cardiology Committee of the Childrens Cancer Study Group. Pediatrics, 89, 1992, s. 942-948.
10. Vyzula R., Penka M. : Využití chronoterapie při intrahepatálním intraarteriálním podání floxuridinu. Klin. Onkol., 1996, č.3, s.75-79

Scripta medica	70	Supplementum 4	320-329	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>OKH FNŠP, Brno-Bohunice

<sup>2</sup>II.interní klinika FNŠP, Brno-Bohunice

**<sup>1</sup>Smejkal P., <sup>2</sup>Krahulcová E., <sup>1</sup>Buliková A., <sup>1</sup>Matýšková M., <sup>2</sup>Penka M., <sup>2</sup>Klabusay M.**

## Současné trendy v diagnostice akutních leukémií

### Souhrn

Autoři podávají stručný souhrn diagnostických možností akutních leukémií. Uvádí klasifikace používané v posledních 20 letech a diagnostické metody, o které se jednotlivé klasifikace opírají. Popisují FAB klasifikaci založenou na hodnocení morfologického a cytochemického nálezu, klasifikaci imunofenotypovou a cytogenetickou, zmiňují elektronovou mikroskopii a tkáňové kultury.

### Summary

The authors present a short review of the diagnostic possibilities in acute leukemias. They list classifications used in the last 20 years and diagnostic methods which are basic for each classification. They describe FAB classification based on morfologic and cytochemic interpretation and the immunofenotypic and cytogenetic findings. The authors also mention the usefulness of the electron microscopy and of the tissue cultures.

### Úvod

Akutní leukémie (AL) je nádorové onemocnění, jehož příčinou je somatická mutace v jedné kmenové krvetvorné buňce s následnou proliferací leukemického klonu. Buňka postižená leukemickou transformací může být multipotentní kmenová buňka schopná transformace do myeloidní i lymfoidní řady či buňka již zadaná pro určitou vývojovou řadu - B či T lymfocyty, granulocyty, monocyty, erytrocyty, megakaryocyty. Genetická alterace vedoucí k leukemické transformaci může být spojená s mikroskopicky zjištěnou změnou jednotlivých chromozomů při cytogenetickém vyšetření, nebo je prokazatelná jen na úrovni molekulárně genetické. Zřejmě však existují další genetické změny, které na současné úrovni našich poznatků nelze doposud stanovit.

Klasifikace akutních leukémií by měla postihnout biologické chování proliferujícího klonu, jež je závislé na výchozí mutované buňce a příslušné genetické změně. To je nezbytné k odhadu prognózy pacienta a volby adekvátní léčby. Měla by být vhodná a dostupná pro všechna pracoviště, dobře reprodukovatelná a rychle proveditelná.

Doposud jedinou celosvětově rozšířenou klasifikací je FAB (French-American-British) klasifikace z roku 1976, opírající se o morfologický nálezu a cytochemické vyšetření. Postupně byla rozšiřována a upřesňována (1981, 1985, 1991) a poměrně dobře byly akutní leukémie odlišeny od MDS. Na základě této klasifikace lze zařadit minimálně 70% akutních leukémií. V osmdesátých letech byla doplněna o průkaz některých specifických antigenů heterologními séry proti antigenům

HLA-DR, TdT, common ALL, T-lymfocyty asociovaným antigenům. Dosáhlo se tak zařazení 90% nemocných.

Dosažitelnost monoklonálních protilátek namířených proti jednotlivým antigenům hemopoetických buněk významně posunula možnosti určení typu leukémie. Lze klasifikovat až 99% případů ve spojení s FAB klasifikací či s morfologickým a cytogenetickým nálezem jako tzv. MIC klasifikace. Přispěla k určení AML M0, M7, bifenotypové a bilineární leukémie, rozčlenění akutních lymfoblastických leukemií (ALL) na jednotlivé typy.

## **FAB klasifikace ALL**

### **Cytologické nálezy u AL**

Diagnóza AL většinou nečiní problémy. Podmínkou je hypercelulární či alespoň normocelulární dřev s blasty nad 30% ze všech jaderných buněk, pro AML M3 přítomnost minimálně 50% blastů a promyelocytů, je-li nad 50% erytropoezy, pak přítomnost minimálně 30% blastů z non-erytroidních buněk.

Dle morfologických rysů, v kontextu s cytochemickými nálezy, lze při základním barvení May-Grünwald-Giemsa akutní myeloidní leukémie (AML) rozdělit do 8 skupin dle postižené prekurzorové řady a stupně vyžívání v případě proliferace granulopoezy (tab.1). Prognosticky nejméně příznivé jsou typy M0,6,7, příznivější prognózu po zavedení léčby trans retinovou kyselinou má typ M3, dále dle cytogenetického nálezu část typů M2,4.

Akutní lymfoblastické leukémie jsou klasifikovány podle vzhledu lymfoblastů do tří skupin. Typ L1, vyskytující se především u dětí, s malými lymfoblasty s minimem bledé plazmy, kondenzovaným chromatinem a nezřetelnými jádérky, typ L2 - heterogenní populace lymfoblastů s méně kondenzovaným chromatinem, zřetelnějšími jádérky, variabilním množstvím světlejší plazmy a typ L3 - velké blasty s vakuolizovanou, hojnou, bazofilní cytoplazmou, čitelnými jádérky. Problémy může činit odlišení typu L1/2, k čemuž lze užít skórovací systém, viz tab. 2. L3 většinou představuje ALL z B-lymfocytů se špatnou prognózou, typům L1,2 neodpovídá žádný specifický imunofenotypový ani cytogenetický nález.

### **Cytochemické nálezy u AL**

Morfologická diagnostika FAB klasifikace AL je doplněna cytochemickými nálezy. Ty jsou poměrně nespecifické u ALL. Charakteristická je především negativita myeloperoxidázy (MPO), která ovšem sama o sobě k odlišení ALL od AML nestačí. Diagnózu ALL podporuje granulární a bloková pozitivita „periodic acid-Schiff“ (PAS), negativita sudanové černě (výjmečně však může být i slabě pozitivní), fokální pozitivita nespecifických esteráz (NSE) a kyselá fosfatázy (KF) je charakteristická pro T-ALL (u obou negativní nález diagnózu ALL nevylučuje). Pozitivita dipeptidyl peptidázy (DPP) IV je specifická pro T-ALL, ovšem s malou sensitivitou.

Cytochemické nálezy jsou přínosnější u diagnostiky AML. Myeloidní blasty jsou charakteristické pozitivitou MPO, která narůstá s vyžíváním, podobně jako pozitivita chloracetát esterázy (ACE), která se objevuje ve vývoji granulopoezy s vyžíváním. Nespecifické esterázy - naftyl acetát esteráza (NAE) a butyrát esteráza (BE) jsou charakteristické pro monocytoidní řadu, resp. jejich silná pozitivita blokovatelná fluoridem sodným. Nálezy při barvení PAS jsou nedagnostické, převažuje negativita či slabá difuzní pozitivita, u monocytoidní řady a normoblastů až granulární pozitivita. Blíže tab. 3.

## **Nedostatky FAB klasifikace**

Výhodou je všeobecná dostupnost morfoloického a cytochemického vyšetření, která jsou základem této klasifikace. Nevýhodou je nemožnost odlišení AML s minimální diferenciací od ALL. AML M0 nutno potvrdit pozitivitou MPO v elektronové mikroskopii či monoklonálními protilátkami, imunofenotypovým nálezem myeloidních antigenů, event. nálezem bazofilních prekurzorů cytochemicky barvením toluidinovou modří či Astra modří, event. elektronmikroskopickým průkazem granulací. Diagnózu AML M0 podporuje i nález pod 3% MPO pozitivních blastů ve světelné mikroskopii, pokud jsou morfoloicky shodné s ostatními leukemickými blasty.

Někdy nelze odlišit AML M1/2 a M2/4 při nesourodosti morfoloického a cytochemického nálezu. Obdobně problémy dělá odlišení ALL L1/2.

Většinou nelze diagnostikovat AL bilineární (proliferující dvě různé blastické populace) a bifenotypické (My+ALL - ALL s myeloidními znaky, Ly+AML - AML s lymfoidními znaky), které lze diagnostikovat jen na základě imunofenotypizace.

Hlavní nevýhodou FAB klasifikace je to, že poměrně málo odráží prognostické markery charakterizující maligní potenciál leukemického klonu, které jsou dány především genetickými změnami, v menší míře pak imunofenotypovým nálezem.

### **Imunofenotypová diagnostika AL**

Získání monoklonálních protilátek proti antigením strukturám jednotlivých vývojových řad hemopoézy na různém stupni vyzrávání bylo zásadním přínosem pro diagnostiku AL. Lze tak určit původ a míru vyzrávání leukemického klonu. Tento není přesnou kopií jednotlivých vývojových stádií různých krvetvorných řad, ale jeví nejrůznější aberace. Jednotlivé fenotypové znaky se na maligních buňkách mohou objevovat v odlišném pořadí od normální krvetvorby, buňky jedné linie mohou vykazovat i markery jiné řady.

Dvoustupňový diagnostický panel imunofenotypových znaků AL je uveden v tab. 4. U znaků s největší specifitou pro základní vývojové řady (CD13, MPO, CD3, CD22) předchází jejich přítomnost v cytoplasmě jejich průkazu na povrchu buněk. Imunofenotypová diagnostika AML poměrně dobře koreluje s FAB klasifikací - viz. tab. 5. Pro ALL je imunofenotypová diagnostika mnohem přesnější a výstižnější, než-li FAB klasifikace. Vystihuje rozdělení lymfocytů do základních vývojových řad a stupeň vyzrávání proliferujícího klonu. V názorech na členění ALL do jednotlivých typů není jednotnost. B-ALL různí autoři dělí na 4-6 typů, T-ALL na typy 3-4. V tab. 6 a 7 uvádíme jednotlivé typy ALL schematicky, dle přítomnosti charakteristických CD markerů.

Některé imunofenotypy nelze do FAB klasifikace přesně zahrnout. Jedná se o bilineární a bifenotypové AL. My+ALL - 10-30% ALL s koexpresí CD13, CD33, CDw65. Ly+AML - 10-30% AML s koexpresí CD7, TdT, IgH a TCR rearrangementu u M0, CD19 u M2, CD2, CD9 u M3, CD4, CD7, CD2, CD19, CD16, CD56 u M4/5.

Expresi znaků jednotlivých hemopoetických řad využívá tzv. GEIL (French Groupe d' Etude Immunologique des Leucémies) imunofenotypová klasifikace. Jednotlivým antigenům je přiřazena určitá bodová hodnota dle míry specifity pro jednotlivé vývojové řady (tab. 8). Dle skórovacího systému lze AL rozdělit na nulové - skóre v každé třídě pod 2,0, monofenotypové - skóre v jedné třídě nad 2,0 a v ostatních třídách nulové, variantní - skóre v jedné třídě nad 2,0 a 0,5-1,5 v některé z dalších tříd, mnohofenotypové - alespoň ve dvou třídách skóre 2,0 a více.

Imunologická diagnostika AL částečně přispěla k odhadu prognózy AML. Pomohla odlišit AML se špatnou prognózou - bilineární a bifenotypové leukémie, AML M0,6,7. Ještě větším přínosem byla imunofenotypizace u ALL, kde také byly označeny typy s negativním prognostickým dopadem. Po zavedení intenzivních léčebných protokolů se však dochází k závěru, že délka přežití pacientů s



ALL při adekvátně zvolené terapii je, spíše než-li imunofenotypovým nálezem, dána cytogenetickými změnami.

### **Chromozomální a molekulárně biologická diagnostika AL**

Diagnostika změn na úrovni genomu posunula asi nejvíce vpřed, ze všech užívaných diagnostických metod, možnosti odhadu prognózy AL a tím volby vhodné léčby a prodloužení přežívání nemocných. Kromě prognózy onemocnění genetické změny dobře korelují i s jednotlivými morfologickými a imunofenotypovými typy AL. Genetické změny lze vyšetřovat na úrovni chromozomální klasickou karyotypizací s proužkovací technikou a fluorescenční in situ hybridizací (FISH) se senzitivitou  $10^{-1}$  -  $10^{-2}$  buněk, na úrovni molekulárně biologické se senzitivitou  $10^{-2}$  buněk u Southernova blottingu,  $10^{-4}$  -  $10^{-5}$  buněk u polymerázové řetězové reakce (PCR). Těchto metod lze využít nejen k diagnostice AL, ale i ke sledování minimální reziduální choroby.

Byla vypracována morfologická, imunofenotypová, cytogenetická (MIC) klasifikace, která je průběžně doplňována nálezem dalších specifických genetických změn. Tab. 9 udává základních 10 cytogenetických typů AML, z nichž příznivou prognózu mají t(8;16), t(15;17), inv(16), vliv nemají inv(3) a trisomie 4, ostatní pak předurčují špatnou prognózu. Mezi nepříznivé chromozomální změny nutno ještě zahrnout -5, -7, del 5q, del 7q, komplexní změny, které nejsou specifické pro žádný morfologický typ AML. Význam detekce chromozomálních změn odráží výstižně pětileté přežití z dánské HOVON AML studie. Pacienti s uvedenými příznivými genetickými změnami žili ve více než 60%, bez genetických změn žila přibližně 1/4, s jinými genetickými změnami žilo kolem 1/5 pacientů a s -5,-7 jen asi 15% nemocných s AML po pěti letech od stanovení diagnózy. Obdobně jako u AML, byla MIC klasifikace vypracována i u ALL. Základní typy uvádí tab. 10. Dobrou prognózu mají hyperploidní ALL, špatnou prognózu hypoploidní ALL, dále s t(4;11), t(9;22), t(1;19), t(8;14), event t(2;8), t(8;22).

### **Ostatní diagnostické postupy**

Pro běžnou praxi lze využít jen okrajově dalších dvou diagnostických možností - elektronové mikroskopie a tkáňových kultur.

Elektronmikroskopicky lze zjistit granulace neviditelné ve světelné mikroskopii a dle charakteru těchto granulací určit myeloblasty, monoblasty, prekurzory bazofilů, pozitivitu MPO (AML M0-5), destičkové peroxidázy (PPO) (AML M6,7), agregáty ferritinu (AML M6). Nevýhodou elektronové mikroskopie je malý počet vyšetřených buněk, maximálně několik desítek, což zabraňuje využití v běžné diagnostice AL.

Na tkáňových kulturách lze prokázat diferenciaci leukemického klonu k jednotlivým hemopoetickým řadám. Pro myeloidní vyžívání svědčí proliferace blastů po kultivaci s růstovými faktory G-CSF, GM-CSF, po kultivaci blastů s tetradekanoylforbol acetátem (TPA) jejich diferenciaci do makrofágů. Erytroidní vyžívání se prokazuje kultivací s butyrátem sodným. Pro B-ALL svědčí průkaz cy mlg po kultivaci s TPA. Pro technickou i metodickou náročnost a nutnost několikadenní kultivace se však tkáňové kultury v diagnostice AL v běžné praxi neuplatnily. Jsou vhodné spíše k hodnocení proliferační schopnosti dřene před transplantacemi.

### **Závěr**

Závěrem nutno uvést, že žádnou z diagnostických metod AL nelze použít pro klasifikaci AL jako metodu jedinou. Vedle klinického obrazu, základem pro diagnostiku AL stále zůstává morfologický a cytochemický nález, který je rychle a snadno dostupný. K upřesnění typu AL jsou nezbytně nutné i imunofenotypizace spolu s diagnostikou cytogenetickou a molekulárně biologickou, které pak nejlépe umožní předpovědět prognózu onemocnění a zvolit tomu odpovídající léčbu.

## Literatura

1. Babušíková O.: Klasifikácia akutných leukémií v roku 1995. Pulsus Plus 2/95, str. 8-9.
2. Bain B.J.: Leukaemia Diagnosis: A Guide to the FAB Classification. Gower Medical Publishing 1990, str. 1 - 43, 61 - 88.
3. Bauer K.D., Duque R.E., Shankez T.V.: Clinical Flow Cytometry: Principles And Application. Williams & Wilkins 1993, str. 235 - 245.
4. Hayhoe F.G.J. & Quaglino D.: Haematological Cytochemistry. Churchill Livingstone 1. 1988, str. 366 - 413.
5. Hoelzer D.: Acute Lymphoblastic Leukaemia. Bailliere's Clin. Haematology, Vol.7/Num.2, June 1994, str. 1 - 55.
6. Huber H., Löffler H., Pastner D.: Diagnostische Hämatologie. Springer-Verlag 1992, str. 223 - 282.
7. Huber H., Löffler H., Faber V.: Methoden der diagnostischen Hämatologie. Springer-Verlag 1994, str. 168 - 175.
8. Löwenberg B.: Acute Myelogenous Leukaemia And Myelodysplasia. Bailliere's Clin. Haematology, Vol.9/Num.1, March 1996, str. 1 - 55.
9. Mufti G.J., Flandrin G., Schaefer H.-E., Sandberg A.A., Kanfer E.J.: An Atlas of Malignant Haematology, Cytology, Histology and Cytogenetics. Martin Dunitz Ltd 1996, str. 1 - 134.
10. Penka M., Vyzula R., Krahulcová E., Bursa J., Vorlíček J., Žaloudík J.: Immunifentotyping in Acute Leukemi. Scripta medica (Brno), 69/1-2, January 1996, str. 3 - 14.

Tabulka č. 1

### FAB klasifikace AML

- M1** KD blasty  $\geq 90\%$  z NEB  
 $\geq 3\%$  blastů MPO pozitivních
- M2** KD blasty  $\geq 30\%$  a  $\leq 90\%$  z NEB  
KD monocytoidní buňky  $< 20\%$  z NEB
- M3** KD blasty a promyelocyty  $> 50\%$   
převaha promyelocytů
- M4** KD blasty  $\geq 30\%$  z NEB  
KD monocytoidní buňky  $\geq 20\%$  z NEB  
a/nebo monocyty  $> 5 \times 10^9/l$  v PK
- M5** KD monocytoidní buňky  $> 80\%$  z NEB
- M6** KD erytroblasty  $\geq 50\%$  z jaderných buněk  
a blasty  $\geq 30\%$  z NEB
- M7** KD megakaryoblasty  $> 30\%$  z jaderných buněk
- M0** KD blasty  $\geq 30\%$  z jaderných buněk

MPO negat. blasty ve světelné mikroskopii  
negat. lymfoidní, pozit. myeloidní markery

*MPO - myeloperoxidáza, KD - kostní dřev,  
PK - periferní krev, NEB - nonerytroidní buňky*

Tabulka č. 2

ALL morfologický skórovací systém pro odlišení L1 od L2

L1 skóre 0 - (+)2, L2 skóre (-)1 - (-)4

### MORFOLOGICKÉ ZNAKY

### SKÓRE

**A** nukleo-plazmatický poměr:

- velký minim. u 75% buněk +1

- malý minim. u 25% buněk -1

**B** okraj jádra:

- nepravidelný minim. u 25% buněk -1

**C** jádérka:

- minim. 75% buněk ne více než jedno malé +1

- minim. 25% buněk jedno nebo více  
snadno viditelných jáderek -1

**D** velikost blastů:

- nad 50% blastů min. dvojnásobek  
průměru malého lymfocytu -1

Tabulka č. 3

Cytochemické nálezy u AML

	<b>MPO</b>	<b>CAE</b>	<b>NSE</b>	<b>PAS</b>
<b>M0</b>	-,+<3%	-	-,±	-,+dif.

<b>M1</b>	+>3%	-,+	-,±	-,+dif.
<b>M2</b>	+>80%	+	-,±	-,+dif.
<b>M3</b>	++	++	-,+	-,+dif.
<b>M4</b>	+	-,+/Eo+	+/F-	-,+dif.,gr.
<b>M5</b>	-,+	-,±	++/F-	-,+dif.,gr.
<b>M6</b>	-,+	-,±	-,+	-,+gr.
<b>M7</b>	-	-	+NAE,-BE	-,+dif.

Tabulka č. 4

Imunofenotypová diagnostika AL

**Diagnostický panel - první krok:**

Nezralé antigeny: CD34, TdT, HLA-DR

Myeloidní: (c)CD13, CD33, CD117, MPO

T- lymfoidní: (c)CD3, CD7, TCR

B - lymfoidní: (c)CD22, CD19,CD10

Megakaryocytární: CD41, CD61

Erytroidní: glycophorin A

**Intralineární panel - druhý krok:**

Myeloidní: CD11b, CD14, CD15, CD36, lysozym

T - lymfoidní: CD1, CD2, CD4, CD5, CD8

B - lymfoidní: CD 20, Cy-uIg, S- Ig

Nespecifické: CD9, CD71

Tabulka č. 5

Imunofenotypové nálezy odpovídající FAB klasifikaci AML

<b>FAB</b>	<b>CD 13/33</b>	<b>CD11b</b>	<b>CD15</b>	<b>CD 36</b>	<b>GA</b>	<b>CD 41/61</b>	<b>HLA DR</b>	<b>Td T</b>	<b>CD3</b>	<b>CD 20</b>
<b>M0</b>	+	-	±	-	-	-	+	+	+	-
<b>M1</b>	+	±	-	-	-	-	+	+	+	-
<b>M2</b>	+	±	+	-	-	-	+	-	-	-
<b>M3</b>	+	-	±	-	-	-	-	-	-	+
<b>M4</b>	+	+	+	+	-	-	+	±	-	-

<b>M5</b>	+	+	±	+	-	-	+	±	-	-
<b>M6</b>	±	±	-	+36	+	-	±	-	-	-
<b>M7</b>	±	-	-	+36	-	+	+	-	±	+

GA - glycophorin A

Tabulka č.6

Imunofenotypová klasifikace non-T.ALL

		<b>HLA-DR</b>	<b>CD19</b>	<b>CD10</b>	<b>CD20</b>	<b>cIg</b>	<b>sIg</b>
<b>I</b>	null-ALL	+	-	-	-	-	-
<b>II</b>	pre-pre-B-ALL	+	+	-	-	-	-
<b>III</b>	common-B-ALL	+	+	+	-	-	-
<b>IV</b>	common-B-ALL	+	+	+	+	-	-
<b>V</b>	pre-B-ALL	+	+	+	+	+	-
<b>VI</b>	B-ALL	+	+	+/-	+	-	+

Tabulka č. 7

Imunofenotypová klasifikace T-ALL

		<b>TdT</b>	<b>CD7</b>	<b>cCD3</b>	<b>CD2</b>	<b>CD1</b>	<b>sCD3</b>	<b>CD4/8</b>
<b>I</b>	pre-T-ALL	+	+	+	-	-	-	-
<b>II</b>	časná-T-ALL	+	+	+	+	-	-	-
<b>III</b>	středně zralá-T-ALL	+	+	+	+	+	+/-	-
<b>IV</b>	zralá-T-ALL	+/-	+	-	+	-	+	+

Tabulka č. 8

GEIL - imunofenotypová klasifikace

(French Groupe D Etude Immunologique des Leucémies)

Znaky kmenových buněk: HLA-DR, CD34, CD117, CD71

<b>BODY</b>	<b>1,5</b>	<b>1,0</b>	<b>0,5</b>
<u>T lymfocytární:</u>	cCD3	CD8	CD1
	sCD3		CD2

	TCR		CD4
			CD5
			CD6
			CD7
<u>B lymfocytární:</u>	cCD22	CD20	CD10
	sCD22	CD24	CD21
	sIg		
	cIg		
	CD19		
<u>myeloidní:</u>	MPOenz	CD13	CD11b
	MPOag	CD14	CD15
		CD33	CD35
		CDw65	CD36

Tabulka č. 9

MIC klasifikace AML - asociace s FAB klasifikací

(morfologická, imunofenotypická, karyotypická)

<b>KARYOTYP</b>	<b>MORFOLOGIE FAB</b>	<b>MIC</b>
inv(3)(p21q26)	M1 (M2,M4,M7) s trombocytozou	M1/inv3
+4	M4 (M2)	M4/+4
t(6;9)(p23;q34)	M2 nebo M4 s basofilií	M2/t(6;9)
t(8;16)(p11;p13)	M5 s fagocytozou	M5b/t8;16)
t(8;21)(q22;q22)	M2	M2/t(8;21) t(9;22)(q34;q11)
	M1/t(9;22) t/del(11)(q23)	M5a (M5b,M4) M5a/t(11q)
t/del(12)(p11-13)	M2 s basofilií	M2Baso/t(12p)
t(15;17)(q22;q12)	M3, M3v	M3/t(15;17)
inv/del(16)(q22)	M4Eo	M4Eo/inv(16)

Tabulka č. 10

MIC klasifikace ALL - asociace s FAB klasifikací

(morfologická, imunofenotypová, cytogenetická)

<b>KARYOTYP</b>	<b>IMUNOFENOTYP</b>	<b>FAB</b>
t(4;11)	pre-pre-B,CD15,CDw65	L1,2
t(9;22)	pre-B, common	L1,2
t(1;19)	pre-B	L1,2
t(8;14),t(2;8),t(8;22)	Burkitts ALL	L3
t,del(9p)	TdT+,CD7+,CD2-	L1,2
t(11;14), 6q-	TdT+,CD7+,CD2+	L1,2

Scripta medica	70	Supplementum 4	330-332	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Radiodiagnostická klinika, FNŠP Bohunice, Brno

**Simonov, M.**

## **Diagnostika celiakie enteroklýzou**

### **Souhrn**

Autor popisuje využití enteroklýzy jako standardizovaného dvojkontrastního vyšetření tenkého střeva při diagnostice celiakie u dospělých pacientů s malabsorpčním syndromem neznámé etiologie. V rentgenovém obraze se celiakie kromě nespecifických projevů malabsorpce manifestuje také projevy s vysokou specificitou a senzitivitou (snížení počtu řas v jejunu, zmnožení řas v ileu, nodulární řasy v duodenu, obraz mozaiky v jejunu). Enteroklýzou lze zobrazit jak tyto změny, tak možné komplikace tohoto onemocnění (lymfom, karcinom).

Klíčová slova: Celiakie, Enteroklýza

### **Summary**

Enteroclysis in the diagnostics of coeliakia.

The value of enteroclysis, a standardized double-contrast examination technique of the small bowel is discussed as concerns diagnosis of coeliakia in adults afflicted with malabsorption syndrome of unknown aetiology. It is shown that, in addition to non-specific signs of malabsorption, roentgen manifestations of coeliakia include also signs with a high specificity and sensitivity such as reduced number of plicae in jejunal loops together with their increased number in ileum, nodular duodenal plicae and mosaic structure in jejunal portion. Enteroclysis reveals also the possible complications of the condition such as lymphoma or carcinoma.

### **Úvod**

V rámci úseku abdominální a gastrointestinální radiodiagnostiky se na našem pracovišti od roku 1989 intenzivně zabýváme technikou vyšetření tenkého střeva, především pak enteroklýzou. Za tuto dobu jsme vyšetřili více než 1500 pacientů.

Mezi hlavní indikace enteroklýzy patří vedle Crohnovy choroby, ileózních stavů a krvácení z trávicí trubice nejasného původu i malabsorpční syndrom (1,2,4,6). Pojem malabsorpční syndrom zahrnuje stavy, které vedou k poruše alespoň jedné z funkcí tenkého střeva, tj. digesce, resorpce, sekrece či motoriky (3,4).

Celiakie neboli gluténová enteropatie je onemocnění s poruchou na úrovni enterocytů. Malabsorpce postihuje více či méně všechny složky potravy. Celiakii proto definujeme jako primární generalizovaný malabsorpční syndrom (3,4). Materiál a metodika



Enteroklýzu provádíme jako vyšetření ve dvojitým kontrastu. Používanou pozitivní kontrastní látkou je Micropaque suspenze od firmy Guerbet naředěná s vodou v poměru 1:2. Teplota suspenze je 35 C, aplikační rychlost 75ml/min a podané množství 300ml. Jako negativní kontrastní látku používáme 0,5% roztok metyl- nebo karboxymetylcelulózy. Teplota roztoku je 37 C, aplikační rychlost 120 ml/min a podané množství 1500-2000 ml (7,8). Kontrastní látky podáváme tenkou, řiditelnou, jejunální sondou, zavedenou do oblasti duodenojejunální flexury pomocí automatické rotační pumpy. Doba trvání celého vyšetření, včetně zavedení sondy, je v průměru 36 minut (7).

Z našeho souboru byla s podezřením na primární nebo sekundární malabsorpční syndrom vyšetřena více než třetina pacientů (630). U 38 z nich jsme zaznamenali obraz celiakie (6%). Tito nemocní měli známky MAS (36 pacientů, 95%), snížený počet řas v jejunu (31 nemocných, 82%) a zvýšený počet řas v ileu (33 nemocných, 87%). Kombinace všech těchto změn byla u 31 pacientů (82%). V našem souboru pacientů s celiakií byla senzitivita enteroklýzy 87% a specificitou 76%. Karcinom tenkého střeva jsme v našem souboru nemocných s celiakií diagnostikovali enteroklýzou v jednom případě.

## Diskuze

Rentgenologické známky celiakie u dospělých nemocných jsou nespecifické a specifické (1,2,5).

A. Projevy nespecifické :

1. Zánětlivá iritace sliznice s edematózním zesílením řas, které tak ztrácí svou typickou konfiguraci.
2. Dysfunkce enterocytů vede k poruše resorpce a sekrece, zvyšuje se množství intraluminální tekutiny a dochází k redukci slizničního povlaku případně i k flokulaci kontrastní látky.
3. Motorická dysfunkce, která se manifestuje střevní dystonií a dysmotilitou. Enteroklýza umožňuje objektivně posoudit hyper a hypomotilitu, ať již generalizovanou či lokální.

B. Projevy specifické :

1. Snížení počtu řas v jejunu (méně než 3/inch), při současném rozšíření lumen tzv. "kolonizace jejunu".
2. Kompenzatorní zvýšení počtu řas v ileu (více než 4/inch), tzv. "jejunizace ilea".
3. Nodulární řasy v duodenu a obraz "mozaiky" v jejunu. Tyto změny souvisí s hyperplazií Brunnerových žláz v submukóze a lymfatických folikulů v lamina propria mucosae.

Enteroklýzou zobrazíme i některé z možných komplikací celiakie jako jsou lymfom a karcinom tenkého střeva a ulcerózní jejunoileitida. Z dalších radiodiagnostických metod má význam CT vyšetření, případně CT enteroklýza. Při tomto vyšetření můžeme posoudit šířku stěny tenkého střeva a vztah kliček tenkého střeva k okolním tkáňovým strukturám. Počítačová tomografie eventuálně ultrazvuk jsou potom nezbytné při diagnostice lymfadenopatie a hyposplenismu, které patří mezi možné průvodní nálezy celiakie.

## Závěr

Na základě našich zkušeností se ukazuje, že standardizované vyšetření tenkého střeva enteroklýzou je plně indikované při diagnostice celiakie u pacientů s malabsorpčním syndromem neznámé etiologie, stejně jako při vyloučení možných komplikací tohoto onemocnění, kdy další možnou eventualitou je CT enteroklýza.

## Literatura

- 1) Barlow, J.M., Johnson, D.C., Stephens, D.H.: Celiac Disease: How Common Is jejunoileal Fold Pattern Reversal Found at Small-Bowel Follow-Through? Amer. J. Rentgen., 1996, 166, s. 575 - 577.
- 2) Bova, J.G., Friedman, A.C., Weser, E. et al.: Adaptation of the ileum in nontropical sprue: reversal of the jejunoileal fold pattern. Amer. J. Rentgen., 1985, 144, s. 299 - 302
- 3) Drábek, J., Honsová, S., Náměšný, I., Kvapil, M.: Celiakie - další autoimunní onemocnění spojené s diabetes mellitus I. typu. Čes. a Slov. Gastroent., 50, 1996, No.1, p. 27-30
- 4) Gore, R.M., Levin, M.S., Laufer, I.: Textbook of gastrointestinal radiology, 1. vyd. Philadelphia, W.B.Sounders Company 1994, s. 2737
- 5) Marn, C.S., Gore, R.M., Ghahremani, G.G.: Duodenal manifestations of nontropical sprue. Gastrointest. Radiol., 1986, 11, s. 30 - 35
- 6) Válek, Vl., Benda K.: Naše zkušenosti s vyšetřením tenkého střeva metodou enteroklyze. Čs. radiologie., 44, 1990, NO.4, p.217-227., Praha
- 7) Válek, Vl., Benda, K.: Vyšetření tenkého střeva enteroklyzou ve dvojím kontrastu pomocí roztoku HP - 7000 (Guarkernmehl) Česká Radiologie, 49, 1995, s. 368 - 371
- 8) Válek, Vl. a kol.: Moderní diagnostické metody. I. díl. Kontrastní vyšetření trávicí trubice, 1996, IDVPZ v Brně, s.76.

Scripta medica	70	Supplementum 4	333-335	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Radiodiagnostická klinika FN Bohunice, Brno

**Ceralová, D.**

## **Diagnostický algoritmus ileosních stavů**

### **Souhrn**

Autoři ve svém sdělení srovnávají význam prostého snímku břicha vleže a ve stoje horizontálním paprskem pro přesnou diagnostiku ileosních stavů. Diskutují možnosti jednotlivých zobrazovacích metod a zdůrazňují význam serie prostých snímků břicha v různých polohách.

Cílem doporučovaného moderního postupu je racionálním využitím diagnostických postupů co nejlépe vyšetřit skupinu nemocných s překážkou v tenkém či tlustém střevě, lokalizovat tuto překážku a určit její etiologii a neomezit se pouze na konstatování, že na prostém snímku břicha horizontálním paprskem jsou vidět hladinky.

### **Summary**

Significance of the plain film roentgenography of the abdomen in prone and supine posture by horizontal beam for exact diagnosis of ileus is considered. The value of various imaging methods is discussed and the importance of serial plain films in various positions is emphasized.

The aim of the recommended up-to-date approach is to assess, as exactly as possible, an obstructive lesion in the small or large bowel, i.e. to show its site and to define its aetiology. This means to do more than the commonly issued report of presence of fluid levels on the abdominal plain film taken with horizontal beam.

### **Úvod**

Ileus představuje asi 20% náhlých příhod břišních (NPB). Je to patologický stav, při kterém se hromadí střevní obsah a rozpíná se střevní trubice a to buď pro nějakou překážku (mechanický ileus) nebo pro funkční poruchu střeva (paralytickém ileus).

Bližší charakteristika ileu je dána:

1. Časovým faktorem
2. Úplností překážky
3. Příčinou ileosního stavu
4. Lokalizací

Mimo klinické, laboratorní vyšetření pomáhá stanovit a upřesnit diagnózu radiodiagnostik. Při těchto závažných stavech by měl odpovědět na několik otázek:

1. Zda se jedná o obraz poruchy pasáže
2. O jaký typ poruchy pasáže se jedná (obstrukční= mechanický ileus nebo o neobstrukční= paralytický=adynamický ileus)

3. Kde je lokalizované místo překážky (jejunum, ileum, tlusté střevo) a zda se jedná o intraluminární, intramurální či extramurální proces

4. Zda-li je v dutině břišní přítomný volný plyn.

K zodpovězení těchto otázek je možno využít sérii prostých snímků, dále UZ, CT vyšetření a kontrastní vyšetření.

Nejdostupnější zobrazovací metodou je prostý snímek (PS) břicha, hrudníku.

Rentgenové hodnocení PS břicha musí obsahovat:

- identifikaci segmentů trávicí trubice, které obsahují plyn
- odhad kalibru lumen střeva
- odhad nejvíce aborálního úseku kam pronikl plyn
- popis mukózy, která je ohraničená plynem.

Nativní snímek břicha se provádí vleže na zádech, včetně malé pánve. Tato projekce je diagnosticky přínosnější než snímek břicha horizontálním paprskem. Můžeme z něho posoudit šířku lumen tenkého i tlustého střeva. Vzduch vytváří negativní kontrast, který umožní hodnotit šířku stěny střevní. Rozložení plynu je různé, vytváří např. obraz štaflí, šňůry perel, kávového zrna.

Snímek břicha horizontálním paprskem vstoje či vleže informuje o počtu a lokalizaci hladinek. Hladinka se dnes již nepovažuje za specifické znamení obstrukce, u které však bývá nejčastěji, ale vyskytuje se i u paralytického ileu a u pacientů bez známek ileosního stavu. Podle lokalizace a uspořádání můžeme odhadnout pravděpodobnou oblast překážky.

Třetím ze série snímků je zadopřední snímek hrudníku, který umožňuje vyloučit patologii v dutině břišní (např. pneumonii, pleuritidu) a přítomnost pneumoperitonea v subfrenických prostorech, které je známkou patologické komunikace trávicí trubice s dutinou břišní.

Na PS břicha jsou podbrániční prostory zobrazeny zespodu, šikmo a jsou sumovány s játry a plicní tkání. Malé množství plynu v subfreniu prokážeme tedy pouze na snímku hrudníku.

Další modalitou je CT vyšetření, které umožňuje provést topogram, posoudit šířku lumen a stěny střevní, šíři řas, posoudit stenózy, hodnotit patologické změny v okolí střeva, prokázat adheze, které jsou nejčastější příčinou ileosních stavů. Výhodou CT je kvalitní obrazová dokumentace. Nevýhodou je nesnadné hodnocení dynamického děje (peristaltika), cena a dostupnost vyšetření.

Ultrazukové vyšetření je šetrnou metodou, můžeme posoudit dilataci lumen tenkého a tlustého střeva, šíři stěny střevní, její edém. Nevýhodou je horší topografická orientace a dokumentace.

V neposlední řadě je možno využít i kontrastního vyšetření a to cestou antegrádních či retrográdní. Při antegrádním vyšetření se provádí enteroklýza. Indikací enteroklýzy je obstrukce tenkého střeva, subileosní stavy. Kontraindikací je podezření na perforaci střeva, akutní kompletní obstrukce, obstrukce tlustého střeva a strangulace. Vyšetření modifikujeme - upravujeme množství, koncentraci, rychlost k.l.

Při podezření na perforaci trávicí trubice, při extrémní obstrukci orálně a u adynamického ileu (terapeuticky) používáme místo baryové k.l. kontrastní látku ve vodě rozpustnou. Ta je u ostatních indikací nebezpečná, protože váže vodu a tím zhoršuje stav pacienta.

Retrográdní irrigografické vyšetření se provádí u pacientů s obstrukcí tlustého střeva, často monokontrastně, bez hypotonie. Kontrastní látka by se při těsné stenóze neměla dostat nad místo obstrukce.

## **Závěr**

Základním vyšetřením u ileosních stavů je série PS břicha, přičemž důležitější než snímek horizontálním paprskem je snímek vleže, který musí splňovat kritérium KUB (kidney, ureter, bladder). Dále je to snímek hrudníku, pokud možno vstoje. Z jiných metod pak využíváme UZ

vyšetření či CT vyšetření. Modifikovaná kontrastní vyšetření jsou další možností. Enteroklýza určí místo obstrukce v tenkých kličkách, irrigografie se užívá při obstrukci tlustého střeva.

## Literatura

- 1) Antes, G., Eggemenn, F.: Dünndarmradiologie-Einführung und Atlas. Berlin, Springer-Verlag, 1986.
- 2) Baker S. R.: The abdominal plain film. Radiologic Clinic of North America, 31, No 6, 1993, s. 1335-1344
- 3) Frager, D., Medwid, S.W., Baer, J.W., Mollinelli, B., Friedman, M.: CT of Small-Bowel Obstruction: Value in Establishing the Diagnosis and Determining the Degree and Cause. Amer. J. Radiol., 162, 1994, s. 37-41
- 4) Gore, R.M., Levin, M.S., Laufer, I.: Textbook of gastrointestinal radiology, 1. vyd. Philadelphia, W.B.Sounders Company, 1994, s. 2737
- 5) Herlinger, H., Maglinte, D. D. T.: Clinical radiology of the small intestine. Philadelphia. B. Saunders Company, 1989.
- 6) Miller, R. E., Nelson, S. W.: The roentgenographic demonstration of tiny amounts of free intraperitoneal gas: experimental and clinical studies. Amer. J. Roentgen., 1971, 112, s. 574 - 585
- 7) McCort J. J.: Abdominal radiology. Baltimor, Williams and Wilkins, 1981
- 8) Válek, Vl., Benda K.: Naše zkušenosti s vyšetřením tenkého střeva metodou enteroklyze. Čs. radiologie., 44, 1990, NO.4, p.217-227., Praha
- 9) Válek, Vl., Benda, K.: Vyšetření tenkého střeva enteroklýzou ve dvojím kontrastu pomocí roztoku HP - 7000 (Guarkernmehl) Česká Radiologie, 49, 1995, s. 368 - 371
- 10) Válek, Vl. a kol.: Moderní diagnostické metody. I. díl. Kontrastní vyšetření trávicí trubice, 1996, IDVPZ v Brně, s.76.
- 11) Welch J. P.: Bowel Obstruction: Differential Diagnosis and Clinical Management. Philadelphia, WB Saunders, 1990

Scripta medica	70	Supplementum 4	336-338	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Urologická klinika MFN a JLF UK Martin

<sup>1</sup>Detská klinika MFN a JLF UK Martin

**J. Svitač, J. Kliment, <sup>1</sup>M. Zibolen**

## **Diagnostika akútnej pyelonefritídy v detskom veku**

### **Súhrn**

Akútna pyelonefritída je závažné ochorenie, ktoré v niektorých prípadoch vedie k vzniku ireverzibilných jaziev v renálnom parenchýme. V prevencii trvalého poškodenia obličiek je podstatným faktorom správna diagnóza a okamžitá adekvátne liečba. Stanoviť diagnózu akútnej pyelonefritídy býva často problematické najmä v útlom detskom veku. Z uvedeného dôvodu predkladáme naše skúsenosti s diagnózou akútnej pyelonefritídy u detí pomocou moderných diagnostických metód.

**Kľúčové slová:** akútna pyelonefritída, diagnostika u detí

### **Summary**

An acute pyelonephritis is a serious disease which in several cases might result in forming of the scars in the renal parenchyma. In prevention of this irreversible damage the great importance is given to correct diagnosis and immediate adequate therapy. The diagnosis of acute pyelonephritis, especially in early childhood, may be very difficult. Because of this problem we are reporting our experience with diagnosis of acute pyelonephritis using modern diagnostic methods.

**Key words:** an acute pyelonephritis, diagnosis in early childhood

### **Úvod**

Nešpecifická infekcia močových ciest je častým ochorením v detskom veku. Ak je infekcia lokalizovaná len v dolných močových cestách, ide o cystitídu, v prípade postihnutia obličkového parenchýmu sa jedná o pyelonefritídu. Uvedená klasifikácia má bezprostredný klinický význam, pretože od lokalizácie infekcie závisí prognóza ochorenia i liečebný postup.

Pyelonefritída je omnoho závažnejším ochorením ako infekcia dolných močových ciest, je to najčastejšia príčina renálneho jazvenia v detskom veku (2). Jazvy sa vyvíjajú u 10-20% postihnutých. Rovnako u 10-20% detí s jazvami sa v neskoršom veku vyvíja hypertenzia. Chronická pyelonefritída je v dospelosti príčinou zlyhania obličiek asi u 15-20% pacientov.

Akútny intersticiálny zápal renálneho parenchýmu vzniká v dôsledku invázie baktérií do tubulov. Toxické enzýmy, uvoľňované v procese fagocytózy baktérií, spolu s fokálnou ischémiou okolitého tkaniva vedú k dysfunkcii až nekróze tubulárnych buniek, čo vedie k rozšíreniu zápalového procesu

až do interstícia (3). Ak nie je pyelonefritída včas a adekvátne liečená, môžu akútne zápalové zmeny postupne viesť k vzniku ireverzibilnej jazvy v renálnom parenchýme. Veľká väčšina jaziev vzniká počas prvého infektu v útlom veku dieťaťa.

V diagnostickom procese infekcií močových ciest bol v priebehu mnohých rokov pokus o využitie viacerých laboratórnych i invazívnych techník. Ani jedna z nich (C-reaktívny proteín, sedimentácia erytrocytov, beta 2 mikroglobulín, rôzne washout testy, stanovenie bakteriálnych protilátok, separovaná sondáž ureterov) si však nenašla v klinickej praxi širšie uplatnenie.

Spomedzi dostupných zobrazovacích diagnostických metód (obr.1) sa v poslednom období využíva najmä ultrasonografia a kortikálna scintigrafia pomocou <sup>99m</sup>Tc-DMSA (1,4,5). V diagnostickom procese febrilného infektu močových ciest je vhodné postupovať podľa schémy uvedenej na obr.2. Uvedeným postupom možno vylúčiť obštrukciu, určiť lateralizáciu procesu a potvrdiť zápalové postihnutie renálneho parenchýmu.

Väzba DMSA v renálnej kôre závisí priamo úmerne na krvnom prietoku a transportnej funkcii buniek proximálnych tubulov. Každý proces, ktorý negatívne pôsobí na jeden alebo oba faktory, sa prejaví vo fokálnom, eventuálne difúznom znížení vychytávania rádiofarmaka (4).

V období od mája 1995 sme vyšetřili 24 detí s klinickými známkami akútnej pyelonefritídy (telesná teplota nad 38,5 st. Celzia, leukocytóza viac ako 12 000, leukocytúria v močovom sedimente a viac ako 100 000 kolónií v strednom prúde moču). Vek detí bol 1-10 rokov, priemer 4,5 roku. Dievčat bolo 19, chlapcov 5. Ihneď po prijatí dieťaťa bolo indikované ultrasonografické vyšetřenie, v priebehu ďalších 24-72 hodín bola vykonaná scintigrafia pomocou DMSA. Porovnanie nálezov na sonografii a scintigrafii zachytáva obr. 3. Pri ultrasonografii sme našli charakteristické známky akútnej pyelonefritídy (zmena echogenity kôry, strata diferenciácie kortikomedulárneho rozhrania, zväčšenie objemu postihnutej časti obličky) len u 6 detí (25%). Výpad alebo zníženie vychytávania DMSA pri kortikálnej scintigrafii bolo prítomné u 20 detí (83%). Následnou cystografiou po zvládnutí akútneho zápalového procesu sme diagnostikovali vezikorenálny reflux u 5 detí (21%). Stupeň refluxu je uvedený na obr. 4. Pri kultivačnom vyšetření bola zistená infekcia E. coli u 80% pacientov, u 8% detí bol nález Kl. pneumoniae, u 8% Ps. aeruginosa. Proteus mirabilis bol prítomný u 4% pacientov.

Ako vyplýva z našich údajov, je kortikálna scintigrafia pomocou DMSA zvlášť výhodná v detskom veku, kedy je diagnostika akútnej pyelonefritídy často spojená s problémami. Ultrasonografia v uvedenej indikácii zostáva len skriningovým vyšetřením, ktoré dokáže citlivo vylúčiť možnú obštrukciu vo vývodných močových cestách. Po zvládnutí akútneho stavu treba vykonať mikčnú cystografiu za účelom vylúčenia vezikorenálneho refluxu.

Zápalové zmeny v obličkovom parenchýme sú reverzibilné, preto je potrebné ihneď po stanovení diagnózy započat' adekvátnu antibiotickú liečbu a zabezpečiť dostatočnú hydratáciu pacienta.

## Literatúra

1. Konda, R., Orikasa, S., Sakai, K., Ota, S., Kimura, N.: The distribution of renin containing cells in scarred kidneys. J. Urol., 156, 1996, č. 4, s. 1450 - 1454
2. Mackenzie, J. R.: A review of renal scarring in children. Nucl. Med. Comm., 17, 1996, č. 1, s. 176 - 190
3. Majd, M., Rushton, G.: Renal cortical scintigraphy in the diagnosis of acute pyelonephritis. Semin. Nucl. Med., 22. 1992, č. 2, s. 98 - 111
4. Patel, K., Charron, M., Hoberman, A., Brown, M. L., Rogers K. D.: Intra and interobserver variability in interpretation of DMSA scans using a set of standardized criteria. Pediatr. Radiol., 23, 1993, č. 3, s. 506 - 509

5. Rushton, G., Majd, M.: Dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy for the evaluation of pyelonephritis and scarring: a review of experimental and clinical studies. J. Urol., 148, 1992, s. 1726 - 1732



Obr. 1. Zobrazovacie metódy používané pri diagnostike akútnej pyelonefritídy



Obr. 2. Diagnostický postup pri akútnej pyelonefritíde v detskom veku

DMSA	20 (83%)
US	6 (25%)

Obr. 3. Porovnanie nálezov pri sonografii a scintigrafii (n=24)

Stupeň VUR (n=24)

1.	1
2.	3
3.	-
4.	1
5.	-

Obr. 4. Stupeň refluxu u detí s akútnou pyelonefritídou



Scripta medica	70	Supplementum 4	339-343	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

**Krejčová B., Buček J., Čada K., Smilek P.**

## **Problémy diagnostiky a léčby maligních melanomů v otolaryngologii**

### **Souhrn**

V oblasti hlavy a krku se vyskytují maligní melanomy ve formě kožní a slizniční. Slizniční forma je agresivnější, tvoří často satelitní ložiska, šířící se v submukóze a má velmi špatnou prognózu. V nose a paranazálních dutinách bývá diagnóza stanovena pozdě pro špatnou přístupnost a také primární histologická diagnóza je někdy obtížná u hypomelanotických a amelanotických forem, kde může být zaměněna za olfaktorický neuroblastom, neuroendokrinní nazální karcinom nízké diference, sinonazální nediferencovaný karcinom, nebo maligní lymfom. Užití elektronmikroskopické diagnostiky a řady monoklonálních protilátek u sporných případů vede ke správné diagnóze a k adekvátnímu léčebnému postupu. V práci jsou sděleny zkušenosti a výsledky léčby maligních melanomů v ORL oblasti s uvedením nových poznatků histopatologických s rozбором nesprávně stanovených diagnóz.

### **Klíčová slova**

Maligní melanom - slizniční forma v oblasti ORL - chirurgická léčba

### **Summary**

Problems of diagnosis and treatment malignant melanomas in Otolaryngology

In the head and neck region malignant melanoma occurs in a cutaneous and mucosal form. The mucosal form is more aggressive, it can often create satellite focuses spreading in submucosa. In this

cases the prognosis is very poor. In the nose and paranasal sinuses the diagnosis is often established very late for bad approach and also sometimes the primary histological diagnosis is difficult at hypomelanotic and amelanotic forms, where the diagnosis could be replaced by esthesioneuroblastoma, neuroendocrinologic nasal carcinoma nondifferentiated or lymphoma malignum. Usage of electron-microscopy evaluation and many monoclonal antibodies by difficult cases leads to correct diagnosis and treatment. The authors demonstrate experiences and results of treatment malignant melanoma

in ENT region, discuss new discoveries in histopathology and they make analysis of a wrong established diagnosis.

### **Key words**

Melanoma malignum - mucosal form in the head and neck region - surgical treatment

### **Úvod**

Maligní melanom (dále MM) tvoří 1,2% všech malignit (1). Jde o agresivní nádor s vysokým stupněm malignity. Jeho incidence v posledních desetiletích stoupá - v některých regionech více než dvojnásobně (5).

V oblasti hlavy a krku se MM vyskytují ve formě kožní (ve 20%) a slizniční (ve 2 - 8%) v pořadí postižení: nos a paranazální dutiny, dutina ústní a hltan, larynx, trachea, jícen (4).

Kožní MM vznikají v jedné třetině z pigmentovaných névů, v anamnéze nezfídka nemocní uvádí jejich traumatizaci. Je známa příčinná souvislost MM s typem kůže a UV zářením.

### **Soubor nemocných s MM léčených na ORL klinice v Brně v letech 1984 - 1994.**

Na ORL klinice v Brně bylo léčeno v letech 1984 - 1994 celkem 29 nemocných s maligním melanomem. Z toho slizniční forma MM byla u 6 nemocných, kožní u 22 nemocných. U jednoho nemocného šlo o metastázu. Nemocní byli ve věku 40 - 80 let, žen bylo 15, mužů 14.

Primární lokalizace maligního melanomu je shrnuta v tabulce č. 1. Složení souboru nemocných, pokud jde o formu maligního melanomu ukazuje přehledně graf č. 1. Nejčastěji byli na naší klinice léčeni nemocní, kteří byli reoperováni, nemohli jsme proto určit původní stadium nemoci, a nemocní s pokročilejším onemocněním (podrobně viz tabulka č. 2). Všichni nemocní byli léčeni chirurgicky (nejčastěji radikální excise ložiska s blokovou resekci), u některých byla použita kombinace s chemoterapií, aktinoterapií, u jednoho nemocného byly kombinovány všechny 4 léčebné možnosti (včetně imunoterapie). Při primární léčbě aktinoterapie doplnila chirurgickou léčbu pouze ve 4 případech, imunoterapie ve 2 případech. Způsob použité léčby je vyjádřen v tabulkách 3. a 4. Výsledky léčby vyjadřuje graf č. 2.

### **Diskuse**

Při léčbě nemocných MM se otolaryngolog setkává s následující problematikou:

Většina pacientů je odesílána z jiných pracovišť až s lokální recidivou, svědčící často pro nedostatečně provedenou předchozí operaci. S nádory většího rozsahu a evidentními metastázami. Není znám rozsah ani typ primárního nádoru. A tak zatímco v prvním stadiu superficiálně se šířícího nádoru je přežití v 93 - 100%, přichází na ORL pacient s promeškanou lhlutou a často depresivní prognózou.

Slizniční lokalizace MM mají nejhorší prognózu. Pětileté přežití je udáváno v 8%. Slizniční MM jsou více agresivní, mají větší sklon k recidivě a bilateralitě - šíří se bohatě cévně a lymfaticky zásobenou submukózou v satelitních ložiscích. Bývají postiženy retrofaryngeální uzliny a je nepříznivý vztah k bazi lební. Amelanotická forma bývá považována za benigní záležitost. Tradiční histologický staging systém je pro slizniční MM málo užitečný.

U hypomelanotické anebo amelanotické formy primárního sinonazálního melanomu může být primární histologická diagnóza obtížná, v úvahu přichází mimo jiné: sinonazální nediferencovaný karcinom, nízce diferencovaný neuroendokrinní karcinom, maligní lymfom a olfaktorický neuroblastom, který patří k poměrně vzácným nálezům a je patologem uváděn nesprávně nejčastěji. Je-li diagnóza dělána na specializovaném pracovišti, lze většinou těmto omylům v diagnóze zabránit stanovením správného imunoprofilu nádoru imunohistochemickými technikami s monoklonálními protilátkami a v některých zvláště sporných případech i použitím elektronmikroskopické diagnostiky. Nízce diferencované sinonazální mukózní nádory vyžadují vždy mimořádné pozornosti z hlediska histopatologické diagnostiky, zvláště též pro rozdílné terapeutické postupy a prognostické hodnocení (7,8,9).

Bezpečnostní lem bývá při excisích tumorů v některých lokalizacích limitován.

Radikální operace jsou provázeny funkčními a vzhledovými změnami, které musejí být řešeny (rekonstrukční výkony, epitézy apod.)

**Elektivní blokovaná disekce** zůstává otázkou kontroverzní. Nelze však opomenout 20% pozitivní výsledek těchto resekci. Podle Conleyho (2) je třeba v rámci bazální koncepce léčby u MM provést elektivní blokovanou disekci dříve, než se rozšíří přes oblast cervikální, či dojde ke generalizaci. Elektivní blokovaná resekce není ani mutilující a neohrožuje nemocného. Odstraňuje

současně s excízi primární léze všechny mikrometastázy v lymfatických uzlinách a cévách. Na základě velkých statistik udává Conley (2) pětileté přežití v 55% u pacientů, kteří měli provedenu elektivní blokovou disekci kdežto nemocní se srovnatelnou formou MM bez provedené operace přežívají v 38,5%. Všeobecně je přijato, že u lézí menších než 1,5 mm jsou mikrometastázy ve 2-5%, vzdálené ve 3%. Nárůst předpokládaných mikrometastáz a vzdálených metastáz pak enormě narůstá s velikostí primární léze nad tuto hranici, u 4mm již 60 - 70%. Záleží rovněž na lokalizaci primárního ložiska (hranice kůže - vlasatá část má horší prognózu).

U velkých tumorů v ORL oblasti a u terminálně nemocných se při chirurgické léčbě snažíme zachovat fyziologické funkce a zajistit lepší životní kvalitu (paliativní léčba, laser atd.).

### Závěr

V našem sdělení jsme se zaměřili pouze na chirurgické ORL hledisko v léčbě MM. Zásadně by měla však být dodržována spolupráce ORL lékaře, dermatologa, onkologa, plastického chirurga, stomatologa a patologa. V melanomové komisi, která tyto předpoklady splňuje, by měl být účasten při rozhodování o léčbě MM v oblasti hlavy a krku také otolaryngolog.

Měla by být vypracována závazná kritéria pro léčbu MM v ORL oblasti a především chirurgický výkon by měl zásadně provádět zkušený odborník. Dlouhodobá dispenzarizace s pravidelnými kontrolami je stejně důležitá.

Tabulka č. 1: Primární lokalizace maligního melanomu

Kožní		Slizniční	
Boltec	2	Nos	5
Krk	9	Oropharynx	1
Obličej	9		
Skalp	1		Bez primárního nálezu 1
Rameno	1		

Tabulka č. 2: Soubor nemocných s maligním melanomem (n = 29) - klasifikace

#### Kožní forma

T1 N0 M0 Cl II	1
T2 N0 M0 Cl III	1
T4 N1 M0 St III	4
T4 N1 M1 St. IV	2

#### Slizniční forma

T4 N1 M1 St. IV	1
Bez možnosti klasifikace	2

**Bez primárního nálezu** 1

**Reoperovaní (neklasifikováni)** 17

Tabulka č. 3: Terapie - léčebné modality

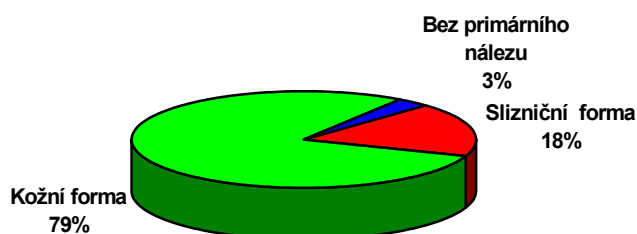
chir.+chemo+aktino	2
chir.	11
chir. + aktino	3
chir. + chemo	7

chir. + chemo+ imuno	4
chir. + imuno	1
chir.+ chemo+ aktino+imuno	1

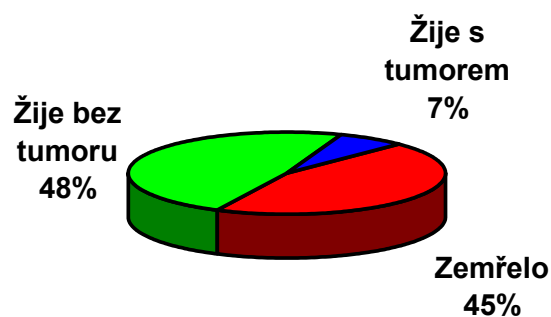
Tabulka č. 4: Druhy chirurgické léčby

Radikální (bloková resekce, rozšířený výkon)	22
Totální excise (ev. exstirpace uzliny)	6
Paliativní snesení laserem	1

Graf č. 1: Forma maligního melanomu (n = 29)



Graf č. 2: Výsledky léčby (n = 29)



## Literatura

1. Aydogan Barlas L. et al: Malignant Melanoma Metastatic to the Tonsil. Laryngoscope 106, 1996,s. 313 - 315
2. Conley J. : Melanoma of the Head and Neck, Georg Thieme Verlag 1990, 243 s.
3. Duwel V. and Michielssen P.: Primary malignant melanoma of the larynx. Acta oto-rhino-laryngologica belg., 50, 1996, s. 47 - 49
4. Lee S.P. et al.: Mucosal Melanoma of the Head and Neck: The Impact of Local Control on Survival. Laryngoscope 104, 1994, s. 121 - 126

5. Klener Pavel: Protinádorová chemoterapie, Galén,1996, 614 s.
6. Chrobok V., Pellant A., Ettler K., Jandová E., Šimáková E.: maligní melanom hlavy a krku. Suppl. Sbor. věd. Prací LF UK Hradec Králové, 36, 1993, s. 105 - 111
7. Franquemont, D.W., Mills, S.E.: Sinonasal Malignant Melanoma. A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of 14 Cases. Am.J. Clin.Pathol.,96, 1991, s. 689 - 697
8. Rosai, J.: Ackerman's Surgical pathology, Eighth edition, Mosby, 1966, vol. 1, s. 295-307  
Burger, P.C., Scheitauer, B.W.: Tumors of the Central Nervous System, A.F.I.P. Washington, 1994, s. 200 - 202.

Scripta medica	70	Supplementum 4	344-346	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Chirurgická klinika Bohunice, Jihlavská 20, Brno

**J. Melichar, Č. Neumann, A. Šín**

## **Zajištěné hřebování u zlomenin dolních končetin**

### **Locked Nailing of Fractured Lower Extremity**

#### **Souhrn**

Autoři prezentují své zkušenosti se zajištěným hřebováním dolních končetin u 35 pacientů. Kladou důraz na časné ošetření těchto zlomenin, tzn. během 6 - 8 hodin od úrazu. Většina těchto pacientů byla léčena pomocí staticky zajištěného hřebu, pouze u 4 pacientů použili pro defekt měkkých tkání dynamicky zajištěný hřeb. Autoři zdůrazňují výhody této metody a referují o dobrých funkčních výsledcích po této operaci.

Klíčová slova: zajištěné hřebování, operace, výhody

#### **Summary**

The authors present their experiences with operations on 35 patients with fractured tibia or femur. They try to perform the operation within 6-8 hours after the injury. The majority of these patients were treated with statically locked nails, only on 4 patients they used dynamically locked nails, because of local soft tissue defect. The authors advocate the advantages of this method and refer to good functional results after this operation.

Key words: locked nailing, operation, advantages

#### **Úvod**

Technika zavřeného hřebování, spolu se zajištěním splňuje kritéria „biologické“ osteosyntézy minimálně v rozsahu 3/5 rourovité kosti, což je důvodem zvýšeného zájmu o nitrodřeňovou fixaci. Výhodou tohoto typu osteosyntézy je neporušené periostální prokrvení a možnost dynamizace hřebu, k zajištění přirozeného sekundárního kostního hojení.

Metodou zajištěného hřebování lze ošetřit zlomeniny tříštivé, víceetážové i zlomeniny velmi nestabilní, za podmínek korektního zavedení hřebu, intaktní periferní pětiny kosti, k zaručení dobrého držení zajišťujících šroubů. Staticky zajišťujeme všechny fraktury, kde hrozí riziko kolapsu na hřebu nebo riziko rotační nestability. Pro svoje relativně malá rizika při správném provedení a ve správných indikacích metoda prakticky vytěsnila dlahovou osteosyntézu zlomenin diafýzy tibie.

## Metodika

K ošetření diafyzárních zlomenin dolních končetin používáme od roku 1994 na naší klinice metodu zajištěného hřebování, připoužití instrumentária firmy Russell - Taylor.

Touto technikou ošetřujeme jak zlomeniny zavřené, tak také otevřené, prvního, výjimečně druhého stupně /dle Tscherneho klasifikačního schématu/. Typ zlomeniny nebyl z hlediska indikacek použitím metody rozhodující, determinoval pouze způsob zajištění.

V naší sestavě je /do 5/96/ 35 pacientů. Nejčastější příčinou poranění byl dopravní úraz - 24 pacientů, 8x vedl ke zlomenině pád při chůzi, 3x pád z výšky, 2 poranění byli ošetřeni pro lyžařský úraz. Jak je pro dopravní úrazy charakteristické, převládá u našich pacientů přímý mechanismus vzniku zlomenin, jež způsobuje větší devastaci měkkých tkání končetiny, a je zatížen i větším rizikem vzniku a rozvoje komplikací, včetně kompartment - syndromu.

U 22 našich poraněných se jednalo o izolované poranění bérce či stehenní kosti, u 3 pacientů byl současně poraněn femur i bérce, 13 pacientů utrpělo další doprovodné poranění. 2x se jednalo o mozkovou kontuzi, 4x o poranění hrudníku a nitrohrudních orgánů, 6x o poranění horních končetin, u jednoho pacienta o současné poranění měkkého kolena.

Průměrný věk pacientů našeho souboru byl 43 roků /17 - 69/, přičemž 2/3 počtu poraněných, tj. 25, představovali muži.

Téměř výhradně jsme hřeby zajišťovali staticky, a to ve 12 případech pro nestabilní zlomeninu, u 19 pacientů pro frakturu relativně stabilní. Čtyři poranění byli ošetřeni dynamicky zajištěným hřebem, neboť v oblasti distálního, či proximálního zajištění byl defekt měkkých tkání, který nedovolil zavedení jisticího šroubu. U statického zajištění jsme v 18 případech provedli dynamizaci k urychlení hojení zlomeniny, po vytvoření provizorního fixačního svalku /průměrně za 6 - 8 týdnů/.

Naší snahou je ošetřit každé končetinové poranění do 6 - 8 hodin po úraze. Proto jsme v 22 případech operovali v tomto časovém rozmezí, v dalších 7 případech do 24 hodin od přijetí, u 6 pacientů jsme operovali odloženě. 1x z důvodu překlada pacienta z jiného pracoviště, 3x pro špatný celkový stav poraněného a 2x pro hrozící kompartment syndrom.

## Závěr

Metoda zavřené zajištěného hřebování diafyzárních zlomenin výrazně rozšířila možnosti operačního léčení těchto poranění. Výkon je pro pacienta kratší a šetrnější, a pro lékaře, majícího zkušenosti s hřebováním, zcela jistě jednodušší a pohodlnější. Metodou zajištěného hřebování lze ošetřit zlomeniny tříštivé, etážové, i velmi nestabilní, u kterých jsme dříve byli nuceni používat zevní fixaci, resp. sádrovou techniku, které byly pro pacienta nekomfortní a léčení bylo značně zdlouhavé.

Ještě výhodnější je metoda hřebování bez předvrtání, jež významně snižuje i tolik diskutované riziko poškození cévního zásobení z endostu.

## Literatura

1. Bone, L.,B., Johnson, K.,D. et al: Early versus delayed stabilisation of fractures. J. Bone Jt. Surg., Vol. 71, 1989, s. 336 - 339.
2. Habernek, H. et al: Complications of Interlocking Nailing for Lower Leg Fractures: A 3 - year follow up of 102 Cases. J. Trauma, 33, 1992, 6, s. 863 - 869.
3. Heim, D., Schlegel, U. et al: Intramedullary pressure in reamed and unreamed nailing procedur of the femur and tibia. Injury, Vol. 24, 3, 1993, s. 56 - 63.

4. Kempf, I.: Die Behandlung von Oberschenkelfrakturen mit dem Verriegelungsnagel. Operat. Orthop. Traumatol., 3, 1991, s.17 - 24.
5. Klemm, K., Schellmann, W.D.: Dynamische und statische Verriegelung des Marknagels. Mschr. Unfallheilk., 75, 1972, s. 568 - 575.
6. Tscherne, H.: Klassifizierung des Weichteilschadens. Hefte Unfallheilkd., 211, 1990, s. 4 - 10.



Scripta medica	70	Supplementum 4	347-350	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Urologická klinika 1.LF UK a VFN, Praha

**M. Babjuk, L. Jarolím, T. Hanuš, M. Janský**

## **Sigma rectum pouch (MAINZ pouch II): Prvních 50 operovaných pacientů**

### **THE SIGMA RECTUM POUCH (MAINZ POUCH II) - FIRST 50 OPERATED PATIENTS**

#### **Souhrn**

Od roku 1992 jsme na naší klinice provedli sigma rectum pouch u 19 žen a 31 muže. Indikací k operaci byla vezikovaginální píštěl (1), tumor pochvy (1), svrštělý tuberkulózní měchýř (1), inkontinence (1) a nádor močového měchýře (44). Ve dvou případech jsme konvertovali ureteroileostomii a modifikovaný rektální měchýř. Průměrný věk činil 56 let (18-75) a doba sledování 16,8 měsíce (4-48). Dva pacienti zemřeli krátce po výkonu na následky plicní embolie a ileu tenkého střeva, sedm dalších pak během sledování na generalizaci nádorového onemocnění.

Nejzávažnější pozdní komplikací byla stenóza v místě ureterointestinální anastomózy ve 3 případech. U jednoho muže se jednalo o bilaterální postižení, které bylo řešeno oboustrannou reimplantací. U jedné pacientky jsme jednostrannou stenózu ošetřili punkční nefrostomií, pacientka čeká na definitivní řešení. Ataka akutní pyelonefritidy se objevila u 4 nemocných. Pyelolithiáza u jednoho muže byla ošetřena perkutánní cestou.

Dvacet sledovaných mělo laboratorní známky acidózy, u dalších 15 vyžadovaly nálezy alkalizační léčbu k prevenci závažnějších změn.

Doposud jsme nazaznamenali vznik malignity v neovezice.

Dle našich zkušeností je sigma rectum pouch jednoduchou operační metodou s nízkým počtem komplikací a velmi dobrými výsledky.

#### **Summary**

From 1992 was sigma rectum pouch performed in 19 female and 31 male patients. Indications were vesicovaginal fistula (1), tumor of the vagina (1), contracted bladder after treated tuberculosis (1), incontinence(1) and bladder cancer (44). In two cases was performed undiversion from ureteroileostomy and modified rectal bladder.

Mean age was 56 years (range: 18 to 75 years). The follow-up ranged between 4 months and 4 years (mean 16,8 months). Two patients died after the operation due to small bowel ileus and lung embolism and 7 during the follow-up due to the progression of primary cancer.

The most important late complication was stenosis at the ureteral implantation seen in 3 ureterorenal units. In one male were stenosis on both sides, which required bilateral reimplantation. Another female is waiting with right nephrostomy for the same unilateral procedure. Acute pyelonephritis appeared during the follow-up in 4 patients. One male

presented with pyelolithiasis, that caused obstruction of the pyeloureteral junction. Stone was removed by percutaneous approach. 20 patients had signs of mild acidosis, another 15 required alkalinizing drugs to avoid more important changes.

Until now we haven't seen any pouch malignancy.

Sigma-rectum pouch is according to our experience simple procedure with low complications rate and excellent results.

**Klíčová slova:** Sigma rectum pouch - MAINZ pouch II - kontinentní derivace moči

Derivace moči po cystektomii nebo v situacích, kdy močový měchýř není schopen plnit svou funkci, je nesmírně složitou problematikou, která trápí urology již po celé generace. Stále větší důraz kladený na kvalitu pacientova života stál na počátku 80. let za snahou o nahrazení inkontinentních forem derivace moči nitrotělními, kontinentními rezervoáry. Ideální formou řešení z pacientova hlediska je úplná rekonstrukce močového traktu vytvořením kontinentní ortotopické neoveziky, kterou anastomozujeme na močovou trubici s ponechaným svěračovým mechanismem. Tento typ derivace je dnes upřednostňován většinou světových pracovišť. Problém nastává v situaci, kdy je uretru nutno z onkologického hlediska odstranit nebo kdy není svěračový mechanismus funkční. Heterotopické neoveziky s konstrukcí kontinentního cévkovatelného ventilu jsou technicky velmi náročné, zatížené množstvím komplikací a dosažené výsledky zatím nesplňují naše představy. Velmi jednoduchou formou řešení je využití kontinentního mechanismu análního svěrače. Od roku 1990 je na urologické klinice v Mainzu v SRN používána modifikace klasické ureterosigmoideostomie (1), která byla přejata řadou pracovišť v celé Evropě. V práci hodnotíme výsledky prvních 50 námi operovaných pacientů.

### **Soubor a metoda**

Od roku 1992 jsme na naší klinice provedli sigma rectum pouch u 50 nemocných (31 muže a 19 žen). Věk pacientů se pohyboval mezi 18 a 75 lety (průměr 56) a doba sledování mezi 4 a 48 měsíci (průměr 16,8 měsíce). Indikace k výkonu jsou uvedeny v tabulce č.1, ve většině případů byla derivace provedena po cystektomii pro nádor močového měchýře. Dvakrát jsme konvertovali jiný typ derivace, a sice ureteroileostomii a modifikovanou formu rektálního měchýře.

Používáme operační techniku popsanou Fischovou (1) s několika menšími modifikacemi (2). Pacienti jsou po výkonu 6 až 7 dní ponecháváni na parenterální výživě, cévku do neoveziky a ureterální katetry odstraňujeme mezi 8. a 12. dnem po výkonu. Pacient je obvykle propuštěn zhruba 14 dní po operaci do domácího ošetření.

Všichni nemocní jsou následně pravidelně sledováni ve specializované ambulanci poradně. Kontroly spočívají v klinickém vyšetření, hodnocení stavu horních močových cest sonograficky nebo vylučovací urografií, sledování vnitřního prostředí (acidobazická rovnováha, renální funkce, jonty) a u onkologických pacientů hodnocení stavu malignity (RTG plic, CT malé pánve, scintigrafie skeletu, případně ultrasonografie jater). Nezbytnou součástí je i pohovor s pacientem. Od třetího roku po operaci doplňujeme endoskopické vyšetření neoveziky k vyloučení případného střevního nádoru.

### **Výsledky**

Nejzávažnější pooperační komplikace jsou uvedeny v tabulce č.2. Jeden nemocný s plicní embolií exitoval 5. den po výkonu, jedna pacientka pak následkem metabolického rozkladu dva dny

po operační revizi pro obstrukční ileus tenkého střeva. Dehiscence neoveziky se projevila urinózní sekrecí ranou. V obou případech došlo ke spontánnímu zhojení do tří týdnů při pečlivé péči o dokonalou drenáž neoveziky.

Během dalšího sledování zemřelo 7 nemocných na progresi nádoru močového měchýře. Nejzávažnější pozdní komplikací byla stenóza v místě ureteroenterální anastomózy u dvou pacientů. V jednom případě byla stenóza oboustranná a vyžadovala si, po přechodné drenáži nefrostomickými drény, operační revizi s reimplantací. V druhém případě byla jednostranná hydronephrosa řešena založením punkční nefrostomie, která zatím zůstala, vzhledem k špatnému celkovému stavu pacientky, konečným řešením. Ataka akutní pyelonephritidy se objevila u 4 sledovaných a vždy ustoupila po hydrataci a antibiotické léčbě. Pyelolithiasa u jednoho muže 18 měsíců po operaci byla odstraněna perkutánní extrakcí.

Laboratorní známky metabolické acidózy jsme zaznamenali u 35 (70%) pacientů. Alkalizační léčba, kterou zahajujeme při poklesu BE pod -5,0, byla nutná u 15 (30%) nemocných. Hyperchlorémie byla laboratorně zjištěna u 21 (42%) sledovaných.

Zatím jsme nezachytili malignitu v neovezice.

## Diskuse

Ureterosigmoideostomie je nejstarší popsanou formou kontinentní močové derivace (3) a získala si v první polovině našeho století velkou popularitu. Počáteční nadšení však v 50. letech vystřídal zklamání způsobené řadou komplikací, zvláště poruchami elektrolytové a acidobazické rovnováhy (4,5), recidivujícími pyelonephritidami a poškozením renálních funkcí. Dokonalejší technika ureteroenterální anastomózy (6), moderní šicí materiály a nová antibiotika snížily riziko komplikací, což spolu s důrazem kladeným na kvalitu života vedlo k obnovení zájmu o tento typ derivace (7).

Snaha o dosažení úplné kontinence a zkušenosti s detubulizací střevních segmentů u ortotopických i heterotopických neovezik (8) přinesly myšlenku úpravy klasické metody ureterosigmoideostomie a použití stejného principu k vytvoření nízkotlakého rektosigmoidálního rezervoáru (1). Výsledkem je poměrně jednoduchá operační metoda, která při precizním provedení a dokonalé pooperační péči ohrožuje nemocného jen malým množstvím komplikací. Bezprostředně po výkonu zdůrazňujeme kromě běžné intenzivní péče i důsledné udržování průchodnosti katetru zavedeného konečníkem do detubulizovaného rektosigmatu. To je totiž nejlepší prevencí dehiscence sutury vaku, jejímž následkem je urinózní sekrece. I přes naši snahu se v hodnoceném souboru podobná komplikace objevila u dvou pacientů mezi 6. a 10. dnem po výkonu. V obou případech došlo během dvou týdnů ke spontánnímu zhojení.

Nejzávažnější pozdní komplikací je stenotizace v místě implantace ureterů do střeva. Příčinou může být nedokonalá operační technika nebo ischemie terminální části ureteru. Pouhé tři stenózy v našem souboru a minimum akutních pyelonephritid svědčí o spolehlivosti Goodwinovy metody implantace.

Procento metabolických komplikací je vyšší než u jiných forem kontinentních derivací, což je zřejmě způsobeno refluxem moči do orálnějších úseků tračníku (9). Přesto jsme nezaznamenali klinicky manifestní metabolický rozvrat. Podmínkou je samozřejmě dostatečná hydratace a přijatelné hodnoty renálních funkcí.

Příčiny pooperačního ileu tenkého střeva a funkční výsledky derivace jsou diskutovány v následujících sděleních tohoto sborníku.

## Literatura

1. M.Fisch, R.Wammack, S.C.Mueller, R.Hohenfellner: The MAINZ pouch II (Sigma rectum pouch) J Urol 149, 1993, 258
2. L.Jarolím, M.Babjuk, T.Hanuš, M.Janský, V Skřivanová: Kontinentní močová derivace s použitím detubulizovaného rektosigmatu (sigma-rectum pouch) Čas Lék Čes 135, 1996, 664
3. J.Simon: Ectropia vesicae (absence of the anterior walls of the bladder and pubis abdominal parieties), operation for directing the orifices of the ureters into the rectum, temporary success, subsequent death, autopsy Lancet 2, 1852, 568
4. D.O.Ferris, H.M.Odel: Electrolyte pattern of the blood after bilateral ureterosigmoidostomy J.A.M.A. 142, 1950, 634
5. J.Lapides: Mechanism of electrolyte imbalance following ureterosigmoid transplantatio Surg Gyn Obst 93, 1951, 691
6. W.E.Goodwin, A.P.Harris, J.J.Kaufman, J.M.Beal: Open, transcolonic ureterointestinal anastomosis. A new approach Surg Gynek Obst. 97, 1953, 295
7. R.Hohenfellner: Ureterosigmoidostomy - Revisite Akt Urol 21, 1990, 63
8. F.Hinman, Jr.: Selection of intestinal segments for bladder substitution: physical and physiological characteristics J Urol 139, 1988, 519
9. M.M. El-Mekresh, A.B. Shehab El-Din, S.M.Fayed, H.Brevinge, N.G.Kock, M.A.Ghoneim: Bladder substitutes controlled by the anal sphincter: A comparison of the different absorption potentials J Urol 146, 1991, 970

#### Tabulka č.1

Indikace	
Nádor moč. měchýře	44
Nádor pochvy	1
Urogenitální TBC	1
Stresová inkontinence	1
Veziko-vaginální píštěl	1
Konverze	2

#### Tabulka č.2

Pooperační komplikace	
Plicní embolie	2
Ileus tenkého střeva	2
Bronchopneumonie	1
Dehiscence vaku	2

Scripta medica	70	Supplementum 4	351-354	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Urologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

**M. Babjuk, L. Jarolím, T. Hanuš, M. Janský**

## **Kvalita života u pacientů se sigma rectum pouchem**

### **QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH THE SIGMA RECTUM POUCH**

#### **Souhrn**

Nelze-li provést ortotopickou náhradu močového měchýře, je derivace moči většinou řešena implantací ureterů do detubulizovaného a rekonfigurovaného rektosigmatu, tzv. sigma rectum pouchem. Cílem naší studie je posoudit vliv této metody na kvalitu pacientova života.

Hodnotíme výsledky u 41 pacienta (15 žen a 26 mužů), kteří vyplnili dotazník zabývající se kvalitou života.

Dotazník obsahuje 20 skupin otázek. Velká pozornost je věnována subjektivnímu hodnocení významu případných změn samotným pacientem. 37 nemocných je ve dne zcela kontinentních při tří až pětihodinovém intervalu mezi jednotlivými mikcemi. Jen 4 mají známky mírné stresové inkontinence, ale žádný z nich to nepovažuje za významný problém. V noci je 38 sledovaných bez úniku moči, většina však při 1 až 2 nycturiích.

86% nemocných pokračuje po operaci v nějaké sportovní aktivitě, 85% v návštěvách kin a divadel, všichni se mohou věnovat zálibám, 69% v produktivním věku pokračuje ve svém zaměstnání.

Doba nezbytná k navyknutí na „nový měchýř“ byla kratší, než po ortotopických náhradách a pohybovala se mezi 1 a 4 měsíci.

Výsledky operace považuje za vynikající 31 a za velmi dobré 10 pacientů, 32 dotázaných by rozhodně a 9 pravděpodobně opět souhlasilo se stejným typem výkonu.

Sigma rectum pouch je dle našich zkušeností metodou s výbornými výsledky z hlediska dosažené kontinence, což pacientům zajišťuje velmi dobrou kvalitu života.

#### **Summary**

If orthotopic bladder substitution is not feasible, the sigma rectum pouch is usually the procedure of choice after radical cystectomy. The goal of our study is to evaluate the impact of this procedure on the quality of life.

We have studied 41 patients (15 women and 26 men) after Mainz pouch II urinary diversion. They were asked to complete the quality of life assessment questionnaire. It contained 20 questions, special attention was devoted to the self-evaluation of the psychological importance of restriction in some activities and of the result of the operation.

37 patients are in the day-time continent with the interval between urination of 3-5 hours. Only four have sporadic signs of mild stress incontinence, but all of them don't consider it as an important problem for their life. 38 patients are at night completely continent, but with 1 - 2 nocturia in most of them.

86% of patients continue after the surgery some sport activities, 85% visit regularly theatre or cinema, all can continue their hobbies, 69% of patients in productive age continue their job.

The time necessary to accept the "new bladder" was shorter then after orthotopic bladder substitution and ranged between 1 and 4 months.

The result of the surgery is assessed as excellent by 31 and as very good by 10 patients, 32 would definitely and 9 probably again decide for this procedure.

Sigma-rectum pouch is according to our results the procedure with excellent continence rate and very good quality of life.

**Klíčová slova:** Sigma rectum pouch - kvalita života - kontinence

## Úvod

Hlavním motivem při použití kontinentních forem derivace moči je hledisko kvality pacientova života. Tvorba nitrotělních rezervoárů umožňuje odstranění zevních jímacích pomůcek a teoreticky nemocnému usnadňuje návrat do praktického každodenního života. Jedním z nejjednodušších a v poslední době velmi populárních typů derivace je sigma rectum pouch využívající kontinentního mechanismu análního svěrače (1). Mikce konečníkem a spojení střevního a močového traktu s sebou samozřejmě nese nutnost mikce v sedě a řady kompromisů a změn v osobním životě. Cílem naší práce bylo zhodnotit stav kontinence u námi operovaných pacientů a posoudit vliv nové životní skutečnosti na nejrůznější aspekty kvality života.

## Pacienti a metoda

Připravili jsme dotazník obsahující 20 skupin otázek. V prvním okruhu jsou dotazy zabývající se stavem kontinence ve dne a v noci, intervalem mezi denními mikcemi, počtem nycturií a v neposlední řadě pacientovým hodnocením subjektivního významu změny charakteru mikce a případné inkontinence. V dalším okruhu se pak dotazujeme na nejrůznější životní aktivity a jejich srovnání před a po operaci. Součástí je opět subjektivní hodnocení významu případného omezení. V posledních otázkách hodnotí pacienti délku pooperační rekonvalescence, svůj zdravotní stav, výsledek operace a diskutují výsledek teoretické možnosti opětovného rozhodnutí.

Vyplněný dotazník zaslalo zpět 41 (15 žen a 26 mužů) z 50 oslovených pacientů se sigma rectum pouchem. Průměrný věk sledovaných činil 57 let (22-75 let) a doba od operace 18,1 měsíce (6-48 měsíců). Indikací k výkonu byla cystektomie pro tumor močového měchýře u 37 nemocných, inkontinence u jedné, vezikovaginální píštěl rovněž u jedné pacientky a svráštělý tuberkulózní měchýř u jednoho muže. V jednom případě jsme konvertovali modifikovaný rektální měchýř u pacienta původně s exstofií měchýře.

## Výsledky

Třicet sedm pacientů je ve dne zcela kontinentních. Čtyři mají občasné úniky menšího množství moči, žádný z nich to však nepovažuje za významný problém. Interval mezi mikcemi se pohybuje v rozmezí 3 a 5 hodin. V noci mají známky občasné inkontinence pouze 3 sledovaní, jeden z nich to považuje za závažnou komplikaci pro běžný život. U většiny respondentů jsou pro dosažení kontinence nezbytné jedna až dvě nycturie.

Tabulky 1-6 ukazují odpovědi týkající se různých životních aktivit. Součástí je i subjektivní hodnocení významu případného pooperačního omezení samotným pacientem. Pohlavní život je hodnocen pouze u žen, jelikož u mužů je ovlivněn hlavně erektilní dysfunkcí spojenou s provedenou cystektomií.

Deset respondentů udává ve srovnání se situací před operací častější stavy únavnosti, 4 častější deprese, 7 stavů úzkosti a 5 předrážděnost.

Výsledek operace považuje za výborný 31 a za velmi dobrý 10 pacientů. Třicet dva dotázaných by v teoretickém případě možnosti opětovné volby rozhodně a 9 pravděpodobně souhlasilo s provedením stejného typu výkonu.

Doba nezbytná k adaptaci na nový měchýř se pohybovala mezi 1 a 6 měsíci, s průměrem 1,7 měsíce.

## Diskuse

Ještě před několika lety byla inkontinentní ureteroileostomie považována za zlatý standard, se kterým je nutno srovnávat výsledky všech moderních typů derivací. Tím, že se kontinentní formy derivací moči staly rutinními výkony, ztratilo toto označení do značné míry své opodstatnění. Hlavním důvodem pro přechod k derivacím kontinentním je hledisko kvality života. Té je v dnešní době přisuzován stále větší význam. Přestože se stala se jedním z hlavních parametrů při hodnocení výsledků léčby, nemáme dodnes její jednoznačnou definici a hlavně přesné kritérium stanovení.

V otázce srovnání inkontinentních a kontinentních derivací neexistuje žádná prospektivní studie a její vznik asi ani v budoucnosti nelze očekávat. Riedmiller ve své rozsáhlé multicentrické retrospektivní studii (2) našel signifikantní rozdíly ve prospěch kontinentních náhrad jen v některých parametrech. Domníváme se, že to souvisí s obecně dobrou akceptací nové životní situace pacienty s prodělanou malignitou - napovídá tomu i malý význam přisuzovaný omezením životních aktivit u našich pacientů.

Sigma rectum pouch zajišťuje nemocným obvykle velmi dobrou kontinenci ve dne i v noci. Ve většině případů umožňuje pokračovat v navyklém životním stylu. Velmi příznivá je rychlá akceptace nové situace, která je podstatně kratší, než u ortotopických neovezik, kde se pacient musí naučit naprosto novému vnímání a ovlivňování mikce. Tento fakt upřednostňuje sigma rectum pouch u pacientů s předpokládanou omezenou délkou budoucího života.

## Literatura

1. M.Fisch, R.Wammack, S.C.Mueller, R.Hohenfelner: The Mainz pouch II (Sigma rectum pouch) J Urol 149, 1993, 258
2. H.Riedmiller, E.W.Gerharz, H.D.Basler: Quality of life following cystectomy and urinary diversion. Results of a retrospective interdisciplinary study Akt Urol 27, 1996, 76 (Supplement)

**Tabulka č.1**

<b>Činnost v domácnosti</b>	
Beze změny	29/41
S omezením	12/41
- subjektivně významné	4/12

**Tabulka č.2**

<b>Návštěvy divadel, kin, výstav</b>	
Před operací	33/41
Po operaci	
- beze změny	21/33
- s omezením	7/33
- ukončení	5/33

-- subjektivně významné	2/5
-------------------------	-----

**Tabulka č.3**

<b>Sportovní aktivity</b>	
Před operací	29/41
Po operaci	
- beze změny	15/29
- s omezením	10/29
- ukončení	4/29
-- subjektivně významné	1/4

**Tabulka č.4**

<b>Zaměstnání</b>	
Před operací	26/41
Po operaci	
- beze změny	13/26
- s omezením	5/26
- ukončení	8/26
-- subjektivně významné	3/8

**Tabulka č.5**

<b>Záliby, koníčky</b>	
Beze změny	24/41
S omezením	17/41

**Tabulka č.6**

<b>Pohlavní styk u 15 žen</b>	
Před operací	8/15
Po operaci	
- beze změny	4/8
- s omezením	3/8
- ukončení	1/8



Scripta medica	70	Supplementum 4	355-357	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Urologická klinika 1.LF UK a VFN v Praze

Department of Urology, 1st Medical Faculty, Charles University and General Hospital, Prague

**L. Jarolím, M. Babjuk, T. Hanuš, M. Janský**

## **MATURATION OF THE ORTHOTOPIC BLADDER REPLACEMENT IN THE FEMALE**

## **MATURACE ORTOTOPICKÉ NÁHRADY MOČOVÉHO MĚCHÝŘE U ŽENY**

### **Souhrn**

V letech 1993 až 1996 byla zkonstruována ortotopická neovezika po cystektomii šetřící funkční uretru 28ti pacientkám s infiltrujícím karcinomem močového měchýře. Věk nemocných byl 32 až 72 let.

Časné pooperační období snášely nemocné velmi dobře. Překvapivě rychle se obnovila denní kontinence u 24 pacientek, u tří z nich se však v rozmezí 3 až 6 měsíců postupně rozvinula tzv. hyperkontinence s postmiktickým reziduem 250 - 300 ml. Tyto pacientky doplňují spontánní evakuaci intermitentní čistou autokatetrizací. Čtyři nemocné trpí stressovou inkontinencí.

Urodynamická vyšetření neprokázala u nemocných s hyperkontinencí významné rozdíly ve srovnání s ostatními pacientkami. Průměrná funkční délka uretry u nemocných s hyperkontinencí je 28 mm a u ostatních 25,3 mm. Maximální uretrální tlak u hyperkontinentních je v průměru 52,5 cm H<sub>2</sub>O a u ostatních 47 cm H<sub>2</sub>O. Předpokládáme, že se na rozvoji hyperkontinence může podílet maturace neoveziky ve smyslu růstu kapacity a změněné reflexní vztahy po cystektomii.

**Klíčová slova:** Ortotopická neovezika u ženy, kontinentní derivace, cystektomie u ženy

### **Summary**

In the years 1993 - 1996 orthotopic bladder replacement following functional urethra sparing cystectomy in 28 female patients suffering with infiltrating bladder cancer was performed. The age of the patients ranged from 32 to 72 years.

The early postoperative period underwent fluently. Diurnal continence restored surprisingly quickly in 22 patients. In 3 of them so called hypercontinence gradually developed during 3 to 6 months with postvoidal residual volume of 250 - 300 ml. These patients complete spontaneous micturition with intermitent clean selfcatheterization. The rest 4 patients suffer from stress incontinence.

Urodynamic studies did not show any significant differences in patients with hypercontinence comparing to other patients. Mean functional length of the urethra was 28 mm in patients with the hypercontinence and 25,3 mm in the others. Mean maximum urethral pressure was 52,5 cm H<sub>2</sub>O in the hypercontinent patients and 47 cm H<sub>2</sub>O in the others.

We suppose that a maturation of the neobladder in sense of capacity growth and changed reflex relations after cystectomy may influence a development of the hypercontinence.

Key words: Orthotopic neobladder in female, continent urinary diversion, cystectomy in female

## Úvod

Ortotopická neovezika po cystoprostatektomii je již dlouho metodou volby v léčbě infiltrujícího karcinomu měchýře u mužů. Velmi dobrá kvalita života mužů s ortotopickou neovezikou vedla k vypracování podobného postupu i u žen.

## Soubor nemocných

V letech 1993 až 1996 byla provedena cystektomie technikou šetřící uretru 28ti pacientkám s infiltrujícím karcinomem močového měchýře. Věk nemocných byl 32 až 72 let. Všechny pacientky byly před operací plně kontinentní bez postmikčního rezidua. V případě suspekce postižení uretry, nálezu tumoru v hrdle či bioptickém nálezu mnohočetného karcinomu in situ byl u nemocných indikován jiný typ derivace.

Radikální cystektomie šetřící ženskou uretru zahrnuje odstranění měchýře spolu s dělohou, adnexy a resekci přední stěny poševní. Podmínkou pro zachování funkce uretry je její celistvost včetně příslušné inervace a intaktní pánevní dno (1-3). Neovezika je konstruována z detubulizovaného střevního segmentu a anastomozována s uretrou.

## Výsledky

Denní kontinence byla dosažena u 24 pacientek, u 3 z nich se postupně vyvinula během 6 měsíců tzv. hyperkontinence s postmikčním reziduem 300 ml. Tyto pacientky doplňují spontánní mikci čistou intermitentní autokatetrizací. Čtyři nemocné trpí stressovou inkontinencí.

Urodynamické vyšetření zahrnuje hodnocení maximálního průtoku, reziduální moči, intravezikálního tlaku při prvním nucení a při cystometrické kapacitě a uretrální tlakový profil (funkční délka a maximální uzavírací tlak). Všechna urodynamická vyšetření byla provedena předoperačně a dva a šest měsíců po výkonu. Cystometrická měření ukázala nárůst kapacity neoveziky z průměrných 316 ml ve dvou měsících po výkonu na 405 ml v 6 měsících po operaci. V časném pooperačním období se objevovaly kontrakce s amplitudou do 30 cm H<sub>2</sub>O u 3 pacientek. Intravezikální tlak poklesl ve stejných intervalech po operaci z průměrných 25,2 cm H<sub>2</sub>O na 18,6 cm H<sub>2</sub>O.

Průměrná funkční délka uretry vykazovala mírné zkrácení z průměrných 29,2 mm na 28 mm u nemocných s hyperkontinencí a na 25,3 mm u ostatních pacientek. Maximální uretrální tlak poklesl z průměrných 53 mm u hyperkontinentních na 52,5 cm H<sub>2</sub>O a u ostatních na 47 cm H<sub>2</sub>O.

Funkční délka uretry měřená profilometricky před a po operaci vykazuje určité individuální rozdíly. Rozhoduje-li délka ponechané uretry o pozdější kvalitě kontinence mohou prokázat další prospektivní studie. Předpokládáme, že se na hyperkontinenci mohou podílet změnenné reflexní vztahy a nárůst kapacity neoveziky.

## Literatura

1. L. Jarolím, M. Babjuk T. Hanuš, M. Janský, V. Skřivanová: Ortotopická náhrada močového měchýře u ženy po cystektomii se zachováním funkční uretry. Rozhl.chir.,75,1996,4,222-226
2. L. Jarolím, M. Babjuk, T. Hanuš, M. Janský: 20 orthotopic neobladders in females. Eur.Urol.30 S2,1996,264

3. L. Jarolím, M. Babjuk T. Hanuš, M. Janský, V. Skřivanová: Female urethra sparing cystectomy and orthotopic bladder replacement. Eur.Urol., in press.

Scripta medica	70	Supplementum 4	358-360	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Urologická klinika 1.LF UK v Praze

Department of Urology, 1st Medical Faculty, Charles University, Prague, Czech Republic

**L. Jarolím., M. Babjuk**

## **OBSTRUCTIVE ILEUS IN A PATIENT WITH SIGMA-RECTUM POUCH**

### **Obstrukční ileus u nemocné se sigma-rectum pouchem**

#### **Souhrn**

V letech 1992 - 1996 byl vytvořen rektosigmoidální pouch u 50 pacientů. U 68-leté pacientky se 6 týdnů po propuštění (8 týdnů po výkonu) začal postupně vyvíjet obstrukční ileus.

Při operační revizi byl nalezen konvolut ilea hluboko v pánvi vlevo, jejunum bylo dilatované se ztlustělou stěnou. V pánvi vpravo bylo fixováno cécum. Obstrukci působily postupně se vyvíjející jizevnaté změny ve srůstech ilea s maximem v oblasti levostranné pánevní lymfadenektomie. Střevo bylo pevně přirostlé k zevní ilické žíle.

Celý konvolut ilea byl resekován včetně intaktního terminálního ilea a začátek ilea byl anastomozován end to side se vzestupným tračníkem. Cécum bylo ponecháno přirostlé v pánvi vpravo, jeho uvolňování by totiž mohlo ohrozit pouch nebo ureteroenterické anastomozy. Pasáž střevní se rychle obnovila a nemocná se zcela zhojila.

Po cystektomii se celý prostor pánve vyprázdní. Při použití rektosigmatu pro močovou derivaci se tento úsek střeva fixuje do výšky promontoria a uvolněný prostor v pánvi vyplní tenké střevo. Velká ranná plocha pánve nekrytá peritoneem představuje riziko střevních adhezí a obstrukčního ileu.

**Klíčová slova:** Sigma-rectum pouch, močová derivace, kontinentní mřová derivace, cystektomie, komplikace močové derivace

#### **Summary**

In the years 1992 - 1996 sigma rectum pouch in 50 patients was constructed with good results. An obstructive ileus in a 68-year female patient 6 weeks after discharge (8 weeks after the operation) begun gradually to develop.

During the operative revision a convolute of the ileum was found deep in the pelvis. Jejunum was dilated with thicked wall. The cecum was fixed in the right pelvis. The obstruction was caused by gradually developed scaring changes in ileal adhesions with the maximum in the area of the left side pelvic node dissection. The bowel was close growed on external iliac vein.

The whole convolute of the ileum was resected including the intact terminal ileum and the rest of the ileum was anastomozed end to side to the ascendent colon. The cecum was left adhered in the

right pelvis because its deliberation would endanger the pouch or the ureteroenteric junctions. The bowel function was restored quickly and the patient was discharged in a good condition.

During cystectomy a whole space of the pelvis is emptied. The rectosigmoid colon used for the urinary diversion is pulled cranial towards the promontorium and the freed space is filled by a small bowel. A large wound of the pelvis non-covered by the peritoneum means a risk of a bowel adhesions and an obstructive ileus.

Key words: Sigma-rectum pouch, urinary diversion, continent urinary diversion, cystectomy, complications of urinary diversion

## Úvod

Rektosigmoidální pouch je relativně jednoduchým typem kontinentní derivace moči (1). Jako mechanismus kontinence používá anální sfinkter. Močový trakt se připojí k traktu střevnímu na úrovni sigmatu. Střevo se podélně disciduje ve volné ténii v délce asi 25 cm. Konverze tubulární formy rektosigmatu na vak spočívá v tom, že se okraje podélně discidovaného střeva sešijí napříč (2). Antirefluxní implantace uretrů chrání horní močové cesty před infekcí a přetlakem. V letech 1992 - 1996 byl vytvořen na našem pracovišti rektosigmoidální pouch u 50 pacientů (3).

Přes relativní jednoduchost metody mohou vzniknout komplikace, mezi které patří obstrukční ileus. Následující kazuistika na takovou komplikaci upozorňuje.

U 68-leté pacientky se 8 týdnů po výkonu začal postupně vyvíjet obstrukční ileus. Během jednoho týdne postupně narůstala symptomatologie křečovitých bolestí v levém mezo- a hypogastriu. Kontrastní rtg vyšetření střevní pasáže ukázalo jen hypotonii tenkého střeva se zhrubělými řasami. Při irrigografii se plnil pouch bez refluxu do močových cest, junkce mezi descendens a pouchem byla o polovinu užší než sousední ascendens. Klinický stav nemocné se zhoršoval. Pacientka začala zvracet, přestaly odcházet plyny a moč byla bez příměsi stolice. Na nativním snímku břicha se objevilo několik hladinek v levém mezogastriu.

Při operační revizi byl nalezen konvolut ilea hluboko v pánvi vlevo, jejunum bylo dilatované se ztlustělou stěnou. V pánvi vpravo bylo fixováno cékum. Obstrukci působily postupně se vyvíjející jizevnaté změny ve srůstech ilea s maximem v oblasti levostranné pánevní lymfadenektomie. Střevo bylo pevně přirostlé k zevní ilické žíle.

Celý konvolut ilea byl resekován včetně intaktního terminálního ilea a začátek ilea byl anastomozován end to side se vzestupným tračnickem. Cékum bylo ponecháno přirostlé v pánvi vpravo, jeho uvolňování by totiž mohlo ohrozit pouch nebo ureteroenterické anastomozy. Pasáž střevní se rychle obnovila a nemocná se zcela zhojila.

Po cystektomii spojené u ženy i s panhysterektomií vznikne v pánvi velký defekt. Při použití rektosigmatu pro močovou derivaci se rektosigma fixuje do výšky promontoria a uvolněný prostor v pánvi vyplní tenké střevo. Velká ranná plocha pánve nekrytá peritoneem představuje riziko střevních adhezí a obstrukčního ileu.

Jednou z možností prevence poklesu kliček tenkého střeva a jejich fixace k velké ranné ploše pánevních stěn je transpozice omenta do uvolněného prostoru.

## Literatura

1. Fisch, M., Hohenfellner, R.: Der sigma-rectum pouch: eine modifikation der harnleiterdarmimplantation. Akt.Urol.,22, 1991,1-9
2. L. Jarolím, M. Babjuk, T. Hanuš, M. Janský, V. Skřivanová: Kontinentní derivace s použitím detubulizovaného rektosigmatu (sigma-rectum pouch). Čas.Lék.čes.,135,1996,664-667

3. L. Jarolím, M. Babjuk, T. Hanuš, M. Janský: One layer suture in Mainz pouch II - 50 cases.  
Eur.Urol.,30,S2,1996,755

Scripta medica	70	Supplementum 4	361-363	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Brno, Fakultní nemocnice u sv. Anny, urologické oddělení

Brno, Department of urology, "Sv. Anna University Hospital"

**Rovný F., Řehořek P., Rovný A., Kotek V.**

## **APENDIX JAKO MECHANISMUS KONTINENCE**

### **Appendix as a Mechanism of Continence**

#### **Souhrn**

Od roku 1992 do září 1996 jsme na urologickém oddělení FN u sv. Anny v Brně provedli celkem 92 střevních náhrad močového měchýře. Z tohoto počtu jde v 19 případech o náhradu orthotopickou (včetně augmentačních cystoplastik), kdy jsme použili nejen exkludovaného cékokolického segmentu, nýbrž i ilea, sigmoidea a žaludku. Heterotopických kontinentních neovesik je v našem souboru zatím 26 a z toho u 14 pacientů byl k vytvoření "suchého stomatu" použit apendix.

Autoři hodnotí pooperační výsledky s ohledem na princip mechanismu kontinence apendikostomie neovesiky a problematiku opakovaných autokatetrizací.

#### **Summary**

92 intestinal substitutions of urinary bladder have been executed on the department of Urology of Teaching hospital sv. Anna Brno since 1992 to september 1996.

In 19 cases it was orthotopic substitution (inclusive of augmentation cystoplasties) when we used not only excluded caeco-colic segment but so ileum, sigmoid colon, and stomach.

In this time we have 26 heterotopic continent bladder substitutions in our collection and appendix was used for making "dry stoma" in 14 cases of that.

Authors value postoperative results with respect for principle of continence mechanism of apendicostomy and problematic of repeated autocathetrizations.

#### **Úvod**

V období od ledna 1992 do září 1996 jsme na našem oddělení provedli 92 náhrad močového měchýře (do dnešního dne 96). Ve většině případů byla náhrada měchýře realizována pro zhoubný nádor. U 45 pacientů (do dnešního data 49) bylo použito náhrady kontinentní (51 %), u zbývajících, tj. 47 (49 %), inkontinentních.

U kontinentních náhrad jsme v 24,5 % případů volili cékokolickou neovesiku ortotopickou a v 55,1% neovesiku cékokolickou heterotopickou. Zbývajících podíl vytváří augmentační cystoplastiky.

Do statistiky jsme nezařadili 8 undiverzí. Jako mechanismus kontinence jsme použili v 55,6 % subserózně uloženého apendixu a ve 44,4 % ileální chlopně.

Apendixu jako mechanismu kontinence využíváme tam, kde nám to anatomické poměry v cékoapendikální krajině dovolí. Od první operace tohoto typu, realizované poprvé v r. 1993, jsme si zvykli s ohledem na možné pooperační komplikace vybírat pouze situace vhodné. Zásadou je nepřekračovat indikační kritéria, která jsou diktována poměry anatomickými. Nevhodná jsou atypická uložení apendixu, jeho délka a šíře lumina, u nichž lze pooperační komplikace předpokládat. Vlastní operace je elegantní a rychlá. Spočívá v izolaci apendixu, incizi stěny céka až na mukózu,

vytvoření příhodného submukózního kanálu, trpělivé preparaci v oblasti apendiko-cékálního spojení, bedlivém zachování cévního zásobení apendixu a posléze uložení apendixu submukózně s přešitím serózy.

V pooperačním průběhu ponecháváme dlahovací katetr individuálně. Zvykli jsme si k derivaci moče z neovesiky spoléhat v prvních dnech spíše na neocystostomii, než na cévku zavedenou přes apendix. Podle našeho názoru nejdůležitější etapou pooperační je nácvik katetrizace! V bezprostředním pooperačním průběhu jsme nezaznamenali žádné komplikace a ztratili jsme obavy před zánětlivými komplikacemi charakteru apendicitidy. Pozdější komplikace jsme pozorovali 4x a vždy byly podmíněny obtížnější autokatetrizací. Ve 2 případech jsme byli nuceni k perkutánní neocystostomii, v 1 případě jsme pozorovali po obtížné katetrizaci symptomatologii obdobnou apendicitidě, nemocný byl dále revidován na chirurgické klinice a ne zcela jasný operační nález hodnocen jako akutní cholecystitida a realizována cholecystektomie. K doplnění musíme uvést nemocného, kterého jsme po cystektomii a apendikostomii sledovali krátký časový interval na našem oddělení pro plíživě se vyvíjející ileózní stav, kdy při revizi na chirurgické klinice byla zjištěna ischemie krátkého segmentu ileální kličky, která zřejmě nesouvisela s urologickou operací. Všichni pacienti našeho souboru byli a jsou zcela kontinentní.

Derivace moči s využitím apendixu jako mechanismu kontinence byly v naší statistice dokonale funkční. Komplikace jsou způsobeny v našem souboru většinou obtížnou autokatetrizací. Nácviku jejího provedení je nutno věnovat větší pozornost a je otázkou, jak informovat lékaře, na něhož se nemocný při problémech obrátí.

Přes uvedené - ne zanedbatelné - problémy je evidentní velká výhoda využití apendixu jako mechanismu kontinence.

## Literatura

1. Hohenfellner R., Wammack R.: Continent urinary diversion. The Bath Press Ltd., Bath, Avon, 1992.
2. King L. R., Stone A. R., Webster G. D.: Bladder Reconstruction and Continent Urinary Diversion. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, 1991.
3. Mitrofanoff P.: Cystostomie continente transappendiculaire dans le traitement des vessie neurologiques. Chirurgie Pédiatrique, 21, 1980, 297-305.
4. Rovný F. et al.: Ileo-caecal urinary bladder. Scripta medica, 61 (5), 1988, 289-294, Brno.



5. Rovný F., Kotek V., Řehořek P., Šabacký I.: Příspěvek ke střešní náhradě močového měchýře metodou M nsson-Goldwasser. Sborník přednášek X. kongresu České urologické společnosti a Slovenské urologické společnosti s mezinárodní účastí, Karlovy Vary, 3. - 4. 11. 1994.

Tab. 1:

Přehled provedených střešních náhrad močového měchýře (za období leden 1992 - listopad 1996)

<b>Typ náhrady</b>	<b>Počet pacientů</b>	<b>Percentuální podíl</b>
kontinentní	45 (49)	51,0%
inkontinentní	47	49,0%
<b>Celkem</b>	<b>92 (96)</b>	<b>100%</b>

Tab. 2:

Přehled kontinentních typů střešních náhrad močového měchýře (za období leden 1992 - listopad 1996)

<b>Typ operace</b>	<b>Počet pacientů</b>	<b>Percentuální podíl</b>
céko-kolická neovesika ortotopická	11 (12)	24,5%
céko-kolická neovesika heterotopická	26 (27)	55,1%
augmentační cystoplastiky	8 (10)	20,4%
<b>Celkem</b>	<b>45 (49)</b>	<b>100%</b>

Tab. 3:

Využití kontinentního mechanismu appendixu u heterotopních neovesik (za období leden 1992 - listopad 1996)

<b>Mechanismus kontinence</b>	<b>Počet pacientů</b>	<b>Percentuální podíl</b>
apendikostomie	14 (15)	55,6%
ileální chlopeň	12	44,4%
<b>Celkem</b>	<b>26 (27)</b>	<b>100%</b>

Scripta medica	70	Supplementum 4	364-367	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>ORL oddělení FNŠP Brno-Bohunice

<sup>2</sup>II. interní klinika FNŠP Brno-Bohunice

**<sup>1</sup>Mechl Z., <sup>2</sup>Vyzula R., <sup>1</sup>Kostřica, R.**

## **První zkušenosti s léčbou nádorů hlavy a krku paclitaxelem v kombinaci s carboplatinou a následnou radioterapií**

### **The Initial Experience in the Treatment of Advanced Head and Neck Cancer by Paclitaxel /Taxol/ and Carboplatin Followed by Radiotherapy**

#### **Souhrn**

Taxany jsou novými důležitými chemoterapeutiky s protinádorovou aktivitou prokázanou hlavně u nádorů ženského prsu a vaječníků. Jejich protinádorová aktivita byla rovněž prokázána v řadě studií u pacientů s nádory hlavy a krku. Autoři uvádějí cíl, kriteria a první předběžné výsledky.

Klíčová slova: Paclitaxel - Taxol - Carboplatina - nádory hlavy a krku

#### **Summary**

Taxanes as an important new class of anticancer agents demonstrated substantial activity in women with breast and ovarian cancer. Promising activity has been referred also in several studies in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck.

The aim and criteria for enrolling the patients into the study and the preliminary results are discussed.

Key words: Paclitaxel - Taxol - Carboplatin - Head and Neck Cancer

#### **Úvod**

Taxany se staly novým důležitým protinádorovým chemoterapeutikem v léčbě nádorů ženského prsu a ovarií /1,2,3,4/. Jejich protinádorová aktivita byla rovněž prokázána v řadě studií v léčbě nádorů hlavy a krku /5,6,7,8,9/. Jedním z nich je paclitaxel /Taxol/, jehož mechanismus účinku je dán unikátní schopností bránit depolymerizaci tubulinu a tak tvořením stabilních a nefunkčních mikrotubulů interferovat s mitózou /7,10,11/. Tímto mechanismem Taxol způsobuje přechodnou akumulaci buněk v G2 fázi, která je velmi citlivá pro radioterapii /5,12,13,14,15/. Jelikož i carboplatina má radiosenzitivní účinky jeví se kombinace Taxolu s carboplatinou a následnou radioterapií /8,14,16,17,27/ v této indikaci velmi vhodná /18,19/. Na ORL oddělení v Brně-Bohunicích je od prosince 95 prováděna a průběžně hodnocena léčba Taxolem a carboplatinou s následnou radioterapií. Naším cílem bylo seznámení se s léčbou Taxolem a stanovení procenta léčebných odpovědí a toxicity uvedené chemoterapie.

## **Materiál a metoda**

Do studie byli zařazeni pacienti s nově diagnostikovaným spinocelulárním karcinomem hlavy a krku, histologicky verifikovaným, měřitelným, inoperabilním s rozsáhlým lokoregionálním nálezem nebo i vzdálenými metastázami. Dále pak pacienti s perzistujícími, nebo relapsujícími nádory i se vzdálenými metastázami po primární chirurgické nebo radiační terapii. U pacientů nebyla žádná chemoterapie podána v posledních 6 měsících. Klinicky u nich byl dobrý výkonostní stav: O-2 ECOG.

Premedikace a léčebný režim /délka trvání a dávka chemoterapie/: /TAB.č.1/. Radioterapie ve formě kobaltu pokračovala po ukončení chemoterapie do celkové dávky 60 Gy.

Předběžné výsledky:

Předběžné výsledky byly hodnoceny pomocí CT. Z celkového počtu 14 pacientů /charakteristika souboru viz tab. č.2/ byly tyto léčebné odpovědi : CR /kompletní remise/ 2, PR /částečná remise/ 5, SD /stabilizace onemocnění/ 4, PD /progrese onemocnění/ 1, No change / žádná odpověď /2, tab.č.3/. Sledované hlavní nežádoucí účinky byly: neutropenie 2x, trombocytopenie 2x, hyperzitivní reakce nebyla zaznamenána reverzibilní periferní neuropatie 1x./tab. č.4/. Z dalších pak byla nauzea 1x, vomitus 1x, artralgie 3x, myalgie 3x, alopecie prakticky u všech.

## **Diskuze**

Hodně je diskutována otázka délky trvání podání a dávky Taxolu. Původní 24 hod. podání bylo používáno i proto, že se předpokládalo nižší procento hypersenzitivních reakcí. Později se však ukázalo, že to nebylo jen důsledkem dlouhodobého podávání, ale i díky premedikaci /20,21/. Ukázalo se, že u 3 a I hod. podání je myelotoxicita nižší /23/. Zvolili jsme 3 hod. podání. V otázce sekvence podání bylo zjištěno, že aplikace Taxolu před carboplatinou má nižší myelosupresivní účinek. V řadě publikovaných prací je pak uváděna různá dávka Taxolu od 100 do 250 mg/m<sup>2</sup>. V nejpříznivějším světle se t.č. jeví dávka Taxolu 175mg/m<sup>2</sup> a carboplatiny až 500mg/m<sup>2</sup> /5,9,24,25,26,/. V našem případě jde o iniciální, pilotní studii, zvolili jsme proto nižší dávky 135 mg Taxolu a 300mg carboplatiny. /Tab.č.1: program terapie nemocných - premedikace, režim, kontroly/.

## **Závěr**

Naše první zkušenosti ukazují, že zvolený režim, dávka i délka trvání mají uspokojivé výsledky. U převážné většiny pacientů došlo ke zmenšení nádoru. Nežádoucí účinky byly dobře snášeny. I když ve studii je zatím málo pacientů, předběžné výsledky jsou srovnatelné s obdobnými zahraničními studiemi /6,12,25,26/.

Odpověď na naši otázku je tedy kladná: aplikace Taxolu je v našich podmínkách možná a nežádoucí účinky jsou dobře tolerované. V brzké době lze očekávat výsledky rozsáhlých mezinárodních studií, které by mohly určit, zda se Taxol stane součástí standardních chemoterapeutických kombinací v léčbě nádorů hlavy a krku. Studie, která byla započata v prosinci 95, stále pokračuje. Dále budou hodnoceny protinádorové odpovědi nejen po kombinaci chemoterapie a radioterapie, ale i po úvodní chemoterapii samostatně. Rovněž tak bude provedeno hodnocení protinádorových odpovědí po stratifikaci předchozí léčby. Výsledky budou průběžně referovány.

## **Literatura**

1. Rowinsky E.K., Onetto N., Canetta R.M. et al.: Taxol: The first of Taxanes an important new class

- of antitumour agents. *Seminars in Oncology* 19:646-662, 1992.
2. McGuire W.P., Rowinsky E. K., Rosenshein N.B. et al.:Taxol: A unique antineoplastic agent with significant activity in advanced ovarian epithelial neoplasm. *An Intern Med* 111:273-279, 1989.
  3. Holmes F. A., Walters R. S., Theriault R. L., et al.:Phase II trial of Taxol, an active drug in the treatment of metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 83:1797-1805,1991.
  4. Bookman M.A., McGuire W.P., Kilpatrick D., et al.:Phase I Gynecologic Oncology Group study of 3 h and 24h Paclitaxel with Carboplatin as initial therapy, for advanced epithelial ovarian cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 14:271, Abstract 755, 1995.
  5. Forastiere A.A.:Paclitaxel for treatment of head and neck cancer, *Seminars in Oncology* Vol.21, / 5 Suppl 8/ October 49-52, 1994.
  6. Forastiere A.A., and Susan G.Urba :Single-agent Paclitaxel and Paclitaxel plus Ifosfamide in the treatment of head and neck cancer. *Seminars in Oncology*, Vol 22,No 3, Suppl.5 /June/ 24-27, 1995.
  7. Roy E.Smith, Donald E. Thorton, Allen J.: A Phase II trial of Paclitaxel in squamous cell carcinoma of the head and neck with correlative laboratory studies.*Seminars in Oncology* Vol 22, No 3, Suppl 6/June/, 41-46, 1995.
  8. Donnehowe R.C.,Rowinsky E.K.,: An overview of experience with Taxol /paclitaxel/ in the U.S.A. *Cancer Treat Rev* 19 Suppl C :63-78,1993.
  9. Forastiere A.A.,:Use of Paclitaxel /Taxol/in squamous cell carcinoma of the head and neck, *Seminars in Oncology* 1993 Aug, 20/4 Suppl. 3/ 56-60, 1993.
  - 10.Wani M.C., Tayler H.L., Wall M.E., et al.: Plant antitumour agents VI. The isolation and structure of Taxol, a novel antileukemic and antitumour agent from *Taxus brevifolia* *J Am Chem Soc* 93, 2 325-7, 1971.
  11. Rowinsky E.K., Cazenava K.A, Donehover R.C., et al.:Taxol a novel investigational antimicrotubule agent. *JNCI*, 82, I 247-I 259 1990.
  12. Rosenthal D. I., Carbone D.P., :Taxol plus radiation for head and neck cancer *J Infus Chemoth* Spring 5/2:46-52,1995.
  13. Elomaa L., Joensuu H., Kulamla J., et al.: Squamous cell carcinoma is highly sensitive to Taxol, a possible new radiation sensitizer. *Acta Otolaryngol Stockh* 115/2/:340-4, 1995.
  14. Aisner J, Hiponia D. Conlea B., Jacobs M., et al.: Combined modalities in the treatment of head and neck cancer *Seminars in Oncology*, Vol 22, No 3, Supp 16 /June/pp.28-34,1995.
  15. Tishler R.B., Schiff P.B., Geard C.R.,:Taxol: A novel radiation sensitizer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 22: 613-617, 1992.
  16. Coughlin C. T., Richmond R.C.,:Biologic and clinical developments of Cisplatin combined with radiation: concepts, utility, projections, of new trials, and the emergency of Carboplatin. *Seminars in Oncology* 16:31-43, /Suppl 4/, 1989.
  17. Douple E.B., Richmond R.C.: Enhancement of the potentiation of radiotherapy by platinum drugs in a mouse tumour. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 5:1383-5, /suppl 4/ 1989.
  18. Eisenberger M., Van Exho DA, Aisner J: Carboplatin:The experience in head and neck cancer. *Seminars in Oncology* 16: 34-41,/suppl.15/, 1989.
  19. Joschko M.S.A., Webster L.K., Groves J., et al.:Radiation enhancement by Taxol in a squamous carcinoma of the hypopharynx /FaDu/ in nude mice. *Proc Am Assoc Cancer Res.*:35:647, 1994.
  20. Eisenhauer, E., Ten Bokkel Huinin, W.W., Swenerton, K.D. et al.:Europien-Canadien randomized trial of Paclitaxel in relapsed ovarian cancer: high - dose versus low dose - and long versus short infusion. *J Clin Oncol* 12, 1654-2666, 1994.
  21. Schiller, J.H., Storer, B., Tutsch, K. et al:Phase I trial of 3-hour infusion Paclitaxel with or without granulocyte colony-stimulating factor in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 12 241-248, 1994.

22. Rowinsky, E.K., Gilbert, M.R., Mc Guire W.P. et al: Sequences of Taxol and Cisplatin a phase I and pharmacologic study J Clin Oncol 9, 692-703, 1991.
23. Gatzmeier, U., Heckmayer, U., Neuhaus, R. et al: Phase II study with Paclitaxel for the treatment of advanced inoperable non - small cell lung cancer. Lung Cancer 12 /suppl.2/ 5 OOI-5 IO6, 1995.
24. Forastiere A.A., Neuberg D., Taylor S.G., et al.: Phase II evaluation of Taxol in advanced head and neck cancer: an Eastern Cooperative Oncology group trial. Monogr Natl CancerInst /15/:181-4, 1993.
25. Hanuske A.R., Schilling T., Heinrich B., et al.: Clinical phase I study of Paclitaxel followed by Cisplatin in advanced head and neck squamous cell carcinoma, Seminars in Oncology, Dec 22/6 Suppl 14/: 35-9, 1995.
26. Craven P., Raghavan D., Pendyla L., et al. : Phase I study of Palitaxel and Carboplatin: implications for trials in head and neck cancer. Seminars in Oncology. Oct 22 /5 Suppl 12/ 13-6, 1995.
27. Skácel. Z.,: Paclitaxel /Taxol/ v léčbě karcinomu prsu. Klinická onkologie 5/96, str.141-145, 1996.

Scripta medica	70	Supplementum 4	368-372	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie LF a FN, Olomouc,

Clinic for Maxillofacial Surg., Univ. Hosp. Olomouc

**Brázda, A., Paroulek, J., Pazdera, J.**

## **To Questions of the Mandible Alloplastic Reconstructions after Oncosurgery**

### **K problematice alloplastické rekonstrukce těla dolní čelisti po onkochirurgických operacích.**

#### **Souhrn**

Alloplastické rekonstrukce těla dolní čelisti po radikálních onkochirurgických výkonech musí splňovat funkční a estetické požadavky spojené s navrácením nemocného do občanského života. Autoři hodnotí rekonstrukční metody a materiály z hlediska hojení operační rány, funkce a komplikací. Nejlepších výsledků dosahují při použití titanových dlah a minidestiček. V této souvislosti upozorňují na závažné problémy spojené s ozařováním operované krajiny.

**Klíčová slova:** rekonstrukce dolní čelisti, titanové dlahy, minidestičky, radioterapie.

#### **Summary**

The techniques of the postoncosurgery reconstructions of the mandible should be suitable to both esthetical and functional requirements aiming to early return of patient back to the civil life. Authors evaluate various methods and materials from the point of view of healing, function and number of complications. The best results have been obtained when the titanium splints and miniplates were used. In this consequence the problem of complications connected with irradiation of operated area are discussed.

**Key words:** reconstruction of the mandible, titanium splints, miniplates, radiotherapy.

To questions of the mandible reconstruction after oncosurgery.

New techniques of antitumours treatment including surgery of the head and neck region have resulted in larger functional and cosmetic difficulties. The cardinal principle of head and neck surgery is to return the patient to a functional and acceptable postoperative condition. The techniques of reconstructive surgery offer a great number of methods. We put forward our experience with using AO and miniplate splints and wireosteosuture. Four patients are discussed

from various views such as indications, complications, relation to pre- and postoperative radiotherapy etc.

The occurrence of radionecrosis in surroundings of the alloplastic materials is the subject of the discussion. It has been appeared that titanium or titanium alloy have got better prognosis in the occurrence of the postradiation complications.

When dealing with a patient suffering from a cancer and decision to operate is made, the paramount objective is to cure him of his cancer - parallel principle.

## Úvod

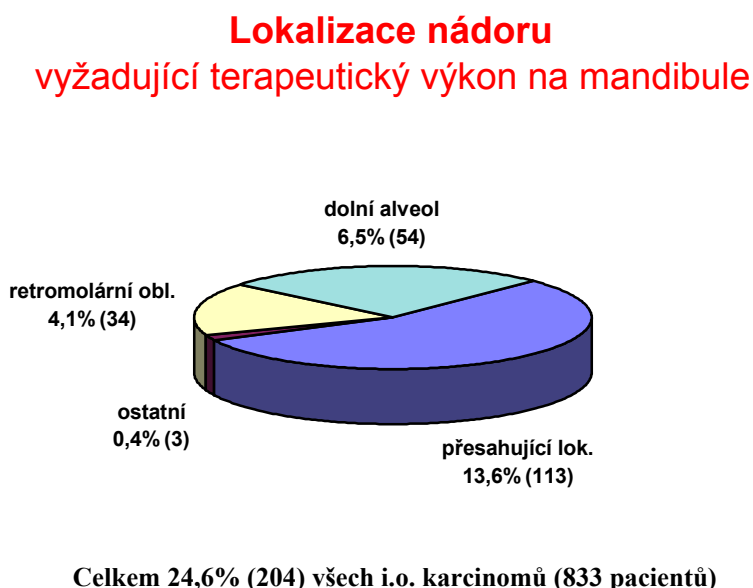
V současné době již nikdo nepochybuje o tom, že protinádorová léčba musí být komplexní. Zatímco dříve byl kladen důraz především na radikalitu v použití protinádorových metod chirurgie, radioterapie a chemoterapie, dnes je komplexnost léčby chápána širěji (9). V komplexní protinádorové léčbě se prosazují dva základní a paralelní principy. Jeden zachovává racionální radikalitu v ošetření onkologických nemocných v oblasti hlavy a krku, druhý princip spočívá v navrácení nemocného do občanského života v přijatelném funkčním a estetickém stavu (3,7,8,11).

V onkochirurgii hlavy a krku tato filosofie klade důraz na plastické či protetické řešení vzniklých defektů.

Problematikou rekonstrukce resp. replantace těla dolní čelisti při onkologických operacích se zabývala celá řada domácích i zahraničních autorů (1,3,4,6,8,10), kteří publikovali různé metody replantace, rekonstrukce a náhrady vzniklých defektů. Jejich výsledky byly přibližně stejné. Dominantní byl negativní výsledek rekonstrukce v případech kdy před, nebo po chirurgickém ošetření a rekonstrukci následovala ještě radioterapie (2,5,9).

## Charakteristika souboru, metody léčby

Aktuální soubor nemocných tvoří od roku 1978 1131 pacient s nádorovým onemocněním v orofaciální oblasti. Z tohoto základního souboru jsme vyčlenili nemocné s nádory které mohou do dolní čelisti dosahovat, a při jejichž chirurgickém odstranění bylo nutno provést výkon i na mandibule.



Ze všech intraorálních karcinomů odpovídalo této podmínce 204 pacientů (t.j. 24,6 %) z toho na dolním alveolu - 54 (6,5%), v retromolární oblasti - 34 (4,1%), z přesahující lokalizace - 113 (13,6%) a ostatních - 3 (0,4%). Výkony na dolní čelisti, které jsme provedli v souvislosti s ošetřením těchto pacientů můžeme rozdělit do dvou základních skupin: na terapeutické výkony na mandibule, a výkony umožňující přístup k nádoru.

## **Výkony na mandibule I.**

- **Terapeutické**
  - **alveolární resekce**
  - **subtotální resekce mandibuly (s ponecháním dolního okraje)**
  - **parciální resekce mandibuly (v celé výšce těla)**
  - **hemimandibulektomie (s exartikulací TMK)**

## **Výkony na mandibule II.**

- **Umožňující přístup k nádoru**
  - **mandibulotomie (s osteosyntézou)**
  - **parciální mandibulektomie s replantací**
  - **parciální mandibulektomie bez replantace**

Výsledkem operací kde byl ponechán defekt v dolní čelisti byly u 90% nemocných typické funkční a subjektivní potíže : porucha artikulace, bolest v kontralaterálním čelistním kloubu, kontraktura, neuralgiformní bolest, dyslalia, dysfagia. Dále se manifestovaly estetické poruchy: asymetrie obličeje, posun střední čáry dolní třetiny obličeje na operovanou stranu, propadlina v operované oblasti a pod. K rekonstrukci mandibuly jsme použili následující metody:

### **Výsledky a diskuse**

#### **Použité rekonstrukční metody (n)**

<b>Náhrada čelisti</b>	<b>10</b>
Miniplate dlaha	4
AO dlaha	3
Akrylátová dlaha 1	
Kostní štěpy	2
<b>Osteosyntéza čelisti</b>	<b>13</b>
Osteosutura	8
Miniplate	5
AO	0



Jednotlivé způsoby rekonstrukce jsme uplatnili u 23 nemocných nemocných a to náhradu čelisti u 10 a osteosyntézu u 13 pacientů.

Výsledky rekonstrukčních metod jsme hodnotili ve vztahu k uvedeným funkčním a estetickým poruchám a ve vztahu k použitým metodám léčby.

## Výsledky rekonstrukcí

	pozitivní	negativní
<b>Náhrada čelisti (10):</b>		
■ Miniplate dlaha	4	0
■ AO dlaha	1	2
■ Akrylátová dlaha	0	1
■ Kostní štěpy	1	1
<b>Osteosyntéza čelisti (13):</b>		
■ Osteosutura	2	6
■ Miniplate	5	0
■ AO	0	0

*Včetně radioterapie, časový interval 18 - 1 rok od operace*

Ve skupině pacientů, kde jsme nahrazovali dolní čelist, nebo její část, byly nejlepší výsledky při použití minidestiček nebo kostních štěpů. Naopak komplikace nastaly při použití AO dlah a pryskyřičné dlaha. Rovněž ve skupině nemocných, kde jsme v rámci získání přístupu k tumoru prováděli osteotomii osteosyntézou jsme zaznamenali nejlepší výsledky při použití minidestiček, a daleko nejhorší při osteosyntéze kostním stehem. Metodu AO fixace jsme v těchto případech nepoužili. Použití metod rekonstrukce neovlivnilo délku přežívání našich pacientů. Z výsledků našich pozorování vyplývá kromě jiného, že onkochirurgické výkony prováděné na dolní čelisti jsou mnohem častější u těch lokalizací nádorů, kde parciální mandibulektomie resp. mandibulotomie pouze umožňuje přístup k tumoru. Další zajímavý výsledek se týká výběru alloplastického materiálu pro rekonstrukci nebo osteosyntézu mandibuly. I na poměrně malém souboru jsou patrné lepší výsledky při použití titanových miniplatů.

Osteoradionekrózy jako komplikace radioterapie se podle literárních údajů vyskytují ve 2 -10 % případů (2,5,9). Můžeme předpokládat daleko vyšší výskyt komplikací u pacientů ošetřených alloplastikou. Z těchto důvodů je při plánování komplexní protinádorové terapie nezbytná úzká interdisciplinární spolupráce a dokonalé načasování léčby (3,5,7). Kromě standardní přípravy pacienta je nutno konzultovat radioterapeuta z hlediska rozsahu a zaměření plánovaného ozařovacího pole.

Rozhodujícím faktorem v předléčebné rozvaze je skutečnost, že přítomnost kovového materiálu je příčinou sekundárního záření, které poškozuje především tkáň v jeho bezprostředním okolí. Poměrně malá publicita věnovaná této problematice však ukazuje, že titan a jeho některé slitiny vykazují zřejmě menší sekundární záření než ostatní kovové materiály.

### Závěr

Vzhledem k vlastním výsledkům a zkušenostem ostatních autorů, je zřejmé, že rozhodující význam v problematice úspěšnosti alloplastických rekonstrukcí dolní čelisti mají především metody prevence a profylaxe. Ty jsou však v současné době omezeny nedostatečnou znalostí sekundárního

záření, a především jeho měření. Při dokonalém plánování komplexní léčby se lze některým nepříznivým účinkům terapie vyhnout. Je otázkou dalšího bádání a diskuse zda rehabilitace pacientů při komplexním ošetřování karcinomů hlavy a krku povede také cestou alloplastických rekonstrukcí.

## Literatura

1. Bowerman J. E., Conroy B.: A Universal Kit in Titanium for Immediate Replacement of the Resected Mandible. *British Journal of Oral Surgery* 6, 223, 1969.
2. Conley J.J., Lederman M.: *Complications of Head and Neck Surgery*. W.B. Saunders Comp., 1981, p.329.
3. Duncan M.J., Aran K., Lelow R.T. et al: Mandibular reconstruction in the radiated patient. *Plast. Reconstr. Surg.*, 76:829, 1985.
4. Fries R., Platz H.: Systematik der Primären Rekonstruktion der Mundspalte nach Karzinomextirpation. *Acta Stomatologica Belgica* 72,443,1975.
5. Konečný M.: Péče o dutinu ústní u ozářených nemocných. *Čs. Radiol.*, 35, 1981, č.6, s.403-407.
6. Kostřica R., Trnka A., Vomela J.: Rigidní monokortikální fixace při rekonstrukci obličejového skeletu. *Praktický lékař* 75, č. 7-8, str. 345-346, 1995.
7. Kostřica R., et al.: Možnosti použití nových léčebných konceptů u nádorů hypofaryngu a orofaryngu. *Klinická onkologie IX.*, 5, str. 156-157, 1996.
8. Kozák J., Voska P.: Rekonstrukce obličeje a krku muskulokutánními laloky. *Čs. Stomat.*, 86, 1986, No. 4, p. 261-267.
9. Mazánek J., Kvapil F., Haisová L.: Problematika komplexní protinádorové terapie v orofaciální oblasti. *Čs. Stomat.*, 87, 1987, No. 4, p. 273-279.
10. Schwartz H. C.: Mandibular reconstruction using the dacron-urethane prosthesis and autogenous cancellous bone: review of 32 cases. *Plast. Reconstr. Surg.*, 73:387, 1984.
11. Toman J., Mazánek J.: *Nádory úst a obličeje*. Avicenum Praha, 1982.

Scripta medica	70	Supplementum 4	373-375	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Ortopedická klinika FNŠP, Brno Bohunice

**Chaloupka, R., Vlach, O.**

## **SURGICAL MANAGEMENT OF CERVICAL SPINE TUMORS**

### **OPERAČNÍ ŘEŠENÍ TUMORŮ KRČNÍ PÁTEŘE**

#### **Souhrn**

Ze 293 pacientů s nádory páteře, operovaných v letech 1981 - 1996 bylo 56 s postižením krční páteře. Primárně maligních tumorů bylo 13, metastáz 24 (carcinoma mammae 11), benigních 7, nádorům podobných afekcí 12. Nejčastěji byl postižen 3. krční obratel (13krát). Krční páteř byla ošetřena 29krát předním, 19krát zadním a 8krát kombinovaným výkonem. Vždy usilujeme o kompletní odstranění nádoru a páteř stabilizujeme. Cílem operačního léčení je zlepšení kvality života, zmírnění bolestí, zlepšení nervového nálezu a časná mobilizace.

Klíčová slova: krční páteř - nádory - operační léčení

#### **Summary**

The authors discuss their experience with surgical treatment of spine tumors in 293 patients from 1981 to 1996. The cervical spine was affected in 56 cases. 13 patients were operated for malignant tumors, 24 for metastatic (carcinoma mammae 11times), 7 for benign tumors, 12 for tumor-like affections. The third cervical vertebra was affected most frequently (13times). The cervical spine was treated by anterior surgery 29times, posterior 19times, and combined surgery 8times. The authors emphasize the complete tumor removal and stabilization of the spine. The goals of surgical treatment are improving of life quality, pain relief, improving of neurological deficit and early mobilization. Key words: cervical spine - tumors - surgical management

#### **Úvod**

Primární nádory páteře nacházíme v několika procentech ze všech kostních nádorů, metastázy do páteře až u 62% zemřelých s kostními metastázami.

V souboru 293 pacientů s nádory páteře, operovaných v letech 1981-1996 byla krční páteř postižena 56krát (v 18%). Žen bylo 29, mužů 27, v době operace ve věku od 4 do 80 let. Primárně maligních tumorů bylo 13, benigních 7, metastáz 24, nádorům podobných afekcí 12. Nejčastěji byl postižen 3.krční obratel 13krát, čtvrtý 11krát, druhý 10krát, šestý 8krát, pátý a sedmý 7krát. Převažovalo ošetření tumorů z předního přístupu 29krát, 19krát jsme využili zadní, 8krát kombinovaný přístup. Cílem operačního léčení je zlepšení nervového nálezu, zmírnění bolestí, obnovení stability páteře a časná mobilizace.

Metastázy jsou nejčastěji v bederní páteři, kraniálně jejich počet klesá. Z počtu 132 pacientů byla krční páteř postižena 24krát (v 18%). Nejčastěji šlo o metastázu karcinomu mammy -

11krát, spinocelulárního 5krát, Grawitzova nádoru ledviny dvakrát. Průměrný věk v době operace byl 56 let (od 37 do 80 let). Bez nervového postižení bylo 13 osob, kořenová léze byla u 3, quadrupareza u 8. Převažovalo ošetření z předního přístupu - po odstranění tumoru radikálním nebo paliativním (totální nebo subtotální somatektomií) byla využita náhrada těla obratle kostním cementem, armovaným Kirschnerovými dráty 17krát. 48letý muž s metastázou Grawitzova tumoru do třetího krčního obratle byl ošetřen subtotální somatektomií, náhradou armovaným cementem, předán k nefrektomii a onkologické léčbě. Pacient je bez potíží, nervový nález zůstává neporušen.

K úmrtí do 1 roku došlo 8krát, do 4 let jednou, k progresi nádorového onemocnění dvakrát.

Ze 69 pacientů s primárně maligními nádory byla krční páteř postižena 13krát (v 19%). Nejčastější bylo postižení u mnohočetného myelomu - 7krát, 3krát šlo o chordom, dvakrát o chondrosarkom. Průměrný věk v době operace byl 48 let (od 14 do 69 let). Bez nervové léze bylo 7, kořenovou lézi měl jeden, quadruparezu 5 pacientů. Z předního přístupu byl k náhradě těla využit armovaný cement 4krát, k zadní stabilizaci byla 4krát využita Ransfordova klička ze systému Hartshill. V indikovaných případech (například u myelomu) byli nemocní předáni k onkologické léčbě. 60letá žena s myelomem, s postižením těla i zadních elementů C2 až C5 byla ošetřena zadní fúzí s Hartshillovým systémem occiput - C6 a předána k onkologické léčbě. Nervový nález zůstal neporušen.

Z celkového počtu 50 osob s benigními tumory byla krční páteř postižena 7krát (ve 14%). 3krát šlo o osteoblastom, 3krát o osteochondrom. Průměrný věk v době operace byl 24 let (od 4 do 50 let). Bez nervového postižení bylo 6, kořenovou lézi měl 1 pacient. Postiženy byly především zadní elementy, proto převažovalo ošetření ze zadního přístupu - 6krát po odstranění nádoru následovala fúze. 24letý muž s benigním osteoblastomem C5 byl ošetřen exstirpací tumoru, zadní fúzí a fixací podle Dewara, nervový nález byl fyziologický.

Nemocných s nádorům podobnou afekcí bylo 42, krční páteř byla postižena 12krát (ve 29%). 6krát šlo o aneurysmatickou kostní cystu, 4krát o eosinofilní granulom, dvakrát o kostní nekrozu. Operace byla ve věku od 6 do 23 let (průměrně v 15 letech). Bez nervové léze bylo 10, kořenové postižení měl jeden, quadruparezu jeden pacient. Nejčastější bylo přední odstranění afekce a náhrada autoštěpem - 5krát. 13letá dívka s aneurysmatickou kostní cystou C4 byla ošetřena exstirpací léze, zadní fúzí a instrumentací podle Dewara. Nervový nález zůstal fyziologický.

Prostou zadní dekompresi, častou na hrudní a bederní páteři indikujeme na krční páteři vzácně pro hrozící kyfotizaci. V našem souboru byla indikována jen třikrát (u 64letého muže s mnohočetnými metastázami spinocelulárního karcinomu byla oblast occiput - C2 ošetřena parciálním odstraněním tumoru, dekompresí, u 46leté ženy s chondrosarkomem C7 s quadruparezou s rozsáhlým tumorem, u 49leté ženy s osteochondromem zadních elementů C3, malého rozsahu). Proto často připojujeme zadní fúzi a instrumentaci. Jako stabilizace u maligních lézí je výhodná Ransfordova klička, s jejíž pomocí je možná i rozsáhlá occipitocervikální fixace se sublaminárními klíčkami. Po předním odstranění benigní léze následuje přední fúze autoštěpy. U primárně maligních tumorů a metastáz je přední výkon často jen paliativní, páteř stabilizujeme nejčastěji armovaným cementem. U rozsáhlých tumorů je nutný kombinovaný výkon. Chordomy a chondrosarkomy často recidivují, pro jejich pooperační sledování (výpočetní tomografií nebo nukleární magnetickou rezonancí) je vhodné použít titanové implantáty.

Typ výkonu určujeme podle věku a stavu pacienta a podle rozsahu tumoru. Vždy usilujeme o kompletní odstranění nádoru a páteř stabilizujeme. Při postižení obratlového těla operujeme z předního, zadních elementů ze zadního přístupu. Při postižení předních i zadních elementů nebo při rozsáhlém víceetážovém postižení použijeme kombinovaný nebo zadní výkon.

## Literatura

1. Krikler, S., J., Marks, D., S., Thompson, A., G., et al.: Surgical management of vertebral neoplasia: who, when, how and why? *Eur. Spine J.* (1994), 3: s. 342 - 346
2. Sjöström, L., Jonsson, H., Karlström, G., et al.: Surgical treatment of vertebral metastases. *Contemporary Orthopaedics*, March 1993, Vol. 26, No 3, s. 247 - 255
3. Vlach, O., Chaloupka, R., Horn, V.: Zásady chirurgického ošetření tumorů páteře. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 55, 1988, No 5, s. 407 - 417

Scripta medica	70	Supplementum 4	376-378	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Otorinolaryngologická klinika, chirurgie hlavy a krku FN, Hradec Králové,

Otorinolaryngologické oddělení, nemocnice Pardubice

**V. Chrobok, A. Pellant**

## **Benign neoplasms of the vagus nerve**

### **Benigní nádory nervové pochvy X. hlavového nervu**

#### **Souhrn**

Autoři hodnotí benigní nádory vycházející z pochvy X. hlavového nervu. V letech 1964 - 1994 bylo celkem operováno 5 nemocných, třikrát se jednalo o neurinom a dvakrát o neurofibrom. Po operaci byla u všech nemocných snížena pohyblivost hlasivky. K navrácení funkce hlasivky došlo pouze u jedné nemocné po jednom roce od operace.

Klíčová slova: neurinom, neurofibrom, n. vagus

#### **Summary**

The authors evaluate benign neoplasms of the vagus nerve. They operated five patients from 1964 to 1994, three patients had neurinoma and two patients had neurofibroma of the vagus nerve. All patients had vocal fold palsy after operation, only one female had normal mobility of vocal cords one year after operation.

Key words: neurinoma, neurofibroma, vagus nerve

#### **Úvod**

Tumory z nervové tkáně rozdělujeme na několik skupin dle typu buněk, z kterých nádor vychází /1/:

Nádory nervové pochvy vznikají ze Schwannových buněk. Mezi benigní tumory patří neurinom, solitární neurofibrom či mnohočetná neurofibromatóza. Neurinom (neurilemom, schwannom) je opouzdřený a vlákna nervu jsou lokalizována vně tumoru. Neurofibromy a neurofibromatózy jsou neopouzdřenné nádory a nervová vlákna prochází skrz tumor. Maligním nádorem vycházejícím z nervové pochvy je neurogenní sarkom. Není opouzdřen, roste do okolí a metastazuje do plic, jater a mozku.

Benigní nádor z gangliových představuje solidní a opouzdřený ganglioneurom, který vychází z krčního sympatiku. Naproti tomu maligní neuroblastom v důsledku rychlého růstu často nekrotizuje nebo dochází v jeho středu ke krvácení. Vyskytuje se především u dětí do dvou let věku.

Nádory paragangliových buněk (parasymptiku) vycházejí na krku ze dvou typických lokalizací. Prvou je pleteň paragangliových buněk v glomus vagale, druhou představují paragangliové buňky z glomus caroticum.

Benigní meningeom jako reprezentant sekundárních neurogenních tumorů prochází skrz foramen jugulare a šíří se inferiorně do parafaryngeálního prostoru. Jeho maligní forma - meningeosarkom - rychle roste, šíří se do okolí a metastazuje krevní cestou.

#### Soubor nemocných

V letech 1964 - 1994 bylo na ORL klinice v Hradci Králové celkem operováno 5 nemocných pro benigní tumor nervové pochvy X. hlavového nervu. Zastoupení žen a mužů bylo přibližně rovnocenné (2 muži, 3 ženy). Tumor se vyskytoval u nemocných ve středním věku, věk nemocných kolísal od 26 do 46 let.

Všichni naši nemocní byli léčeni chirurgicky. Velikost tumoru byla vždy do několika centimetrů, největší tumor měl rozměr 8 x 2,5 x 2 cm. Histologicky se jednalo třikrát o neurinom a dvakrát neurofibrom. Není nezajímavé, že u třech nemocných byla intratumorálně přítomna čirá tekutina. Jeden nemocný byl operován v místní anestezii a v průběhu manipulace s nervem měl nemocný opakované záchvaty kašle (publikováno jako kazuistika /2/). Pouze u jednoho nemocného byl n. vagus kompletně přerušen. Po operaci měli všichni nemocní dysfonické potíže v důsledku pooperační obrny hlasivky. K navrácení pohyblivosti hlasivky po jednom roce od operace došlo pouze u jedné pacientky.

#### Diskuse

Prvně popsal solitární neurofibrom v parafaryngeálním prostoru Figi v roce 1933 /dle 1/. V roce 1988 Green /3/ nachází v literatuře celkem 220 neoplazmat X. hlavového nervu, u 127 nemocných se jednalo o paragangliom, u 77 o neurinom, u 7 o neurofibrom a u 9 o neurogenní sarkom.

V naší literatuře uvádí Humhej /4/ případ neurinomu krčního sympatiku a Langrová /2/ nerinom n. vagi. Lörken /5/ popisuje 5 nemocných, Kehrl /6/ 2 nemocné s neurinomem X. hlavového nervu. Green /3/ hodnotí rozsáhlejší skupinu 18 nemocných, z nichž 12 mělo diagnostikovaný neurinom, 4 nemocní neurofibrom a 2 nemocní neurogenní sarkom.

#### Závěr

V našem sdělení jsme chtěli upozornit na vzácné benigní tumory nervové pochvy X. hlavového nervu, které jsme operovali u 5 nemocných. Přestože je konečná diagnóza potvrzena zpravidla až histologickým vyšetřením, je nutné na tyto nádory pomýšlet a v případě peroperačního podezření se snažit ušetřit celistvost periferního nervu. Toto je možné především u neurinomů, u nichž leží nervová vlákna na periférii tumoru. U neurofibromů probíhají vlákna středem tumoru a ušetření vláken je obtížné. V případě přerušení nervu je indikována mikrochirurgická sutura nervu end to end.

#### Literatura

1. Brandenburg J.H.: Neurogenic tumors of the parapharyngeal space. Laryngoscope, 82, 1972, 1292 - 1305.
2. Langrová V., Jindrák K.: Neurilemmoma n. vagi. Čs. Otolaryngologie, 18, 1969, 237 - 240.
3. Green J.D., Olsen K.D. et al: Neoplasms of the vagus nerve. Laryngoscope, 98, 1988, 648 - 654.
4. Humhej J.: Neurinoma colli. Čs. Otolaryngologie, 7, 1958, 27 - 29.

5. Lörken A., Kau R.J., Arnold W.: Benigne Tumoren des Nervus Vagus - Eine seltene Ursache für Dysphagie. Otorhinolaryngol. Nova, 5, 1995, 19 - 24.
6. Kehrl W., Hartwein J.: Zur Differentialdiagnose der parapharyngealen Tumoren des Vagus Neurinom. Laryng. Rhinol. Otol., 67, 1988, 389 - 391.



Scripta medica	70	Supplementum 4	379-381	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Otorinolaryngologická klinika, chirurgie hlavy a krku FN Hradec Králové

**Chrobok V., Vokurka J., Hybášek I., Pellant A.,**

## **The treatment of patients suffering from rhinogenic inflammatory orbital complications**

### **Léčebná taktika u nemocných se zánětlivou rinogenní očníkovou komplikací**

#### **Souhrn**

Je hodnocen soubor 159 nemocných s rinogenní očníkovou komplikací léčených na ORL klinice v Hradci Králové v letech 1966 - 1995. K rozdělení zánětlivé komplikace očnice je využito klasifikační schéma dle Chandlera, které je doplněno o dělení komplikací na I. a II. fázi, obdobně jako u intrakraniálních komplikací. Navíc je doporučeno nahradit název subperiostální absces termínem epiperiorbitální absces.

Klíčová slova: rinogenní zánět, očnice, komplikace, terapie

#### **Summary**

The authors evaluate a group of 159 patients with rhinogenic inflammatory orbital complications in Hradec Králové in 1966 - 1995. The classification according to Chandler is used for dividing the inflammatory complications, and, moreover, classification into the first and second phases, as used in the case of the intracranial complications. It is also recommended to replace the term subperiosteal abscess with the term epiperiorbital abscess.

Key words: rhinogenic inflammation, orbit, complications, therapy

#### **Soubor nemocných**

V letech 1966 až 1995 bylo na ORL klinice v Hradci Králové hospitalizováno celkem 159 nemocných (105 mužů, 54 žen) s rinogenní očníkovou komplikací. Častěji se vyskytovaly očníkové komplikace rinogenní etiologie u dětí a mladistvých.

K rozdělení zánětlivých komplikací v očníci jsme využili klasifikaci dle Chandlera /1/ a pro schematicnost jsme ještě tyto komplikace rozdělili na komplikace I. a II. fáze obdobně jako u nitrolebních komplikací /2/. Hranicí mezi I. a II. fází je periorbita. Jednotlivé typy komplikací jsou uvedeny v tabulce 1.

Z celého souboru 159 nemocných byla jedna třetina (56) nemocných léčena chirurgicky a dvě třetiny (103) konzervativně. Z 56 chirurgicky léčených nemocných byl u 44 nemocných volen zevní přístup, u 6 nemocných endonazální přístup, u 6 nemocných byly využity k ošetření obě chirurgické metody současně. Sedm nemocných bylo v průběhu komplikace pro dále se rozvíjející proces (a nebo nedostačující prvotní výkon) reoperováno vždy ze zevního přístupu.

Ze 42 histologických vyšetření sliznice vedlejších dutin nosních, byl pouze sedmkrát diagnostikován patologem akutní zánětlivý infiltrát, v ostatních 37 případech se jednalo o chronický či smíšený zánětlivý infiltrát. Je tedy zřejmé, že očníkové komplikace vznikly častěji na podkladě vleklého, akutně exacerbovaného zánětu.

Mezi převažující etiologické agens patřily *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta hemolyticus*, *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae*. U 114 nemocných byla v době první volby ordinována právě kombinace dvou antibiotik. Jedno antibiotikum bylo ordinováno pouze 45-krát. Mezi nejužívanější kombinaci antibiotik patří v současnosti Ampicilin a Oxacilin.

CT vyšetření, možné u nás po roce 1977, bylo provedeno u 33 nemocných. Mezi CT a peroperačním nálezem byla 7-krát neshoda, z toho 5-krát byl peroperačně zjištěn absces, který nebyl diagnostikován na CT vyšetření a 2-krát nebyl operací potvrzen absces popsáný na CT snímcích.

Z celého souboru 159 nemocných bylo zhojeno bez trvalých následků 145 nemocných. U 3 nemocných došlo k poruše visu, u 2 nemocných k amauróze a u 5 k poruše okohybnosti a u 4 zůstala diplopie. Jeden nemocný zemřel v důsledku dalšího šíření infekce na edém mozku první den po provedení etmoidektomie a sphenoidektomie.

## Diskuse

V otázce klasifikace jednotlivých typů očníkové komplikace si dovoluje upozornit na nezcela přesný název pro absces lokalizovaný mezi kostí a periorbitou (periostem), Chandler /1/ uvádí název subperiostální absces. Při zvážení terminologie při lokalizaci abscesu vzhledem k tvrdé plně mozkové (absces subdurální či epidurální) se domníváme, že by bylo vhodné zavést název epiperiorbitální absces (=absces mezi kostí a periorbitou).

Konzervativní terapie spočívá v antibiotické léčbě (většinou kombinace dvou antibiotik), v anemizacích sliznice dutiny nosní a v případných punkcích čelistních dutin.

Chirurgická léčba je indikována podle našich zkušeností, pokud jde o: 1. klinické či rentgenologické známky epiperiorbitálního (subperiostálního) abscesu, flegmóny či abscesu v očníci. 2. poškození zřakové ostroty. 3. progresi místních i celkových příznaků při adekvátní konzervativní terapii delší než 24 hodin. 4. chybění ústupu lokálního nálezu po 48 hodinách antibiotické konzervativní terapie. 5. známky trombózy kavernózního sinu.

Tabulka 1: Soubor nemocných dle typu zánětlivé komplikace očnice a způsobu léčby

Typ komplikace	Terapie	
	chirurgická	konzervativní
<i>1. fáze</i>		
zánětlivý edém	15	101
epiperiorbitální absces	33*	0
-----		
<i>2. fáze</i>		
orbitální celulitis	3	1
orbitální absces	4*	0
trombóza kavernózního sinu	2	1
celkem	56	103

Pozn.: \* jeden nemocný měl současně epiperiorbitální a orbitální absces

### **Literatura**

1. Chandler J.R., Langenbrunner D.J., et al.: The pathogenesis of orbital complications in acute sinusitis. Laryngoscope 80, 1970, 1414-1428.
2. Pellant A.,: Očnicové komplikace zánětů vedlejších nosních dutin. Čs.Otolaryng. 22, 1973, 283-286.

Scripta medica	70	Supplementum 4	382-385	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>Chirurgická klinika FNŠP Brno-Bohunice

<sup>2</sup>ORL oddělení FNŠP Brno-Bohunice

<sup>3</sup>ARO, FNŠP Brno-Bohunice

<sup>4</sup>Centrální operační sály FNŠP Brno-Bohunice

**<sup>4</sup>Bláhová J., <sup>1</sup>Vomela J., <sup>2</sup>Kostřica, R., <sup>3</sup>Čundrle, I., <sup>4</sup>Hakl. L.**

## **Hluboké krční infekce jako komplikace zánětů ORL oblasti**

## **Deep Neck Inflammation as a Complication of ENT Diseases**

### **Souhrn**

Je popsáno pět případů hlubokých krčních infekcí léčených ve spolupráci s ORL v posledních dvou letech. Jsou rozvedeny příčiny a základní zásady léčby nemocných s těmito závažnými stavy.

Klíčová slova: hluboké krční infekce - léčba

### **Summary**

Five cases of deep neck inflammation treated in the ENT department in the last two years are presented. Origin and main principles of treatment are discussed.

Key words: deep neck inflammation - treatment

### **Úvod**

Hluboké krční infekce jsou závažné a život ohrožující stavy, jejichž řešení nesnáší odklad. Jsou o to závažnější, že počáteční příznaky těchto hlubokých krčních infekcí nevypadají hrozivě po stránce místní a celkové příznaky jsou často dlouho mitigovány. Dojde-li z těchto důvodů k opožděnému zahájení adekvátní léčby, ať již chirurgické či farmakologické, snižuje se tím šance na přežití pacienta.

Původcem těchto onemocnění bývá nejčastěji polymikrobiální flóra, která se rychle šíří podél krčních fascií, což je dáno anatomickým uspořádáním krčních orgánů mezi třemi listy krční fascie. Existuje hypotetický předpoklad, že člověk je díky vzpřímenému postoji více ohrožen, než-li primáti pohybující se po čtyřech nohách. Životně důležité cévní a nervové struktury procházejí společně s jícnem a průdušnicí do mezihrudí a hrudníku a jsou též ohroženy nekrózou tkání provázející akutní zánět mezihrudí. V současné době sice antibiotická léčba snížila značnou měrou úmrtnost na tyto komplikace, ale přesto je tento druh onemocnění provázen značnou mortalitou a

nesporně dubiózní prognózou, pokud nejsou dodrženy všechny zásady diagnostického a terapeutického algoritmu. Dovolíme si uvést pět případů takovýchto komplikací z posledních dvou roků, na jejichž léčbě se podílel interdisciplinární tým odborníků FN Brno Bohunice.

1. Pacient L.M., nar. 1944, přeložen z infekční kliniky jako septický stav neznámého původu. Pacient byl podroben 10 dní před přijetím vícečetné extrakci zubů dolní čelisti. CT vyšetření prokázalo absces pod kývačem zasahující až do horního mediastina k aortálnímu oblouku. Dále byl zjištěn absces v pravé axile. Pacient ošetřován na chirurgické klinice FN Brno Bohunice. Na terapii se podílel interdisciplinární tým odborníků. Tento přístup si vynutil stav nemocného z toho prostého důvodu, že akutní zánět vzniknuvší v jedné oblasti, v tomto případě v krčních prostorách, nerespektuje uměle stanovené a pomyslné hranice mezi mezihrudím a okolím. Nemocný byl vyšetřen torakochirurgem, indikována diagnostická videotorakoskopie pravého hrudníku, při které zjištěna těžká purulentní mediastinitída, která byla hodnocena jako sekundární ložisko, do té doby neznámého primárního infektu. Následovala pravostranná torakotomie, mediastinotomie, revize, laváž a drenáž mediastina. Následovala kolární mediastinotomie, při které konstatováno těžké prosáknutí měkkých tkání, které proto široce otevřeny a lavážovány. Z evakuovaného hnisu byla vykultivována Klebsiella. Pacient po sanaci zánětlivých ložisek stabilizován a výrazně zlepšen. V důsledku chronické sepse však těžká dysbalance hemokoagulace. V pozdním pooperačním období recidivující difúzní krvácení, které se navzdory substituční terapii nedaří zastavit, proto je dále indikována dvakrát revize operačních ploch, vždy však beze zdroje chirurgického krvácení. Nemocný umírá po čtrnácti dnech od první operace na sekundární bronchopneumonii v důsledku prolomagovaného, irreverzibilního chronického septického stavu. Pitevní nález již neprokázal zánětlivá ložiska v mediastinu ani v krčních prostorách.

2. Pacientka M.K., nar. 1923, byla přijata pro zduření na straně krku s maximem pod úhlem dolní čelisti. V hltanu bylo patrné vyklenutí laterální stěny. Provedené CT prokázalo neostře ohraničený infiltrát retromandibulárně. Byla provedena incize z hypopharyngu s revizí parapharyngeálního prostoru ze zevního přístupu. Po počáteční úpravě došlo k opětovnému zvýšení bolestivosti s podezřením na trombózu hluboké krční žíly. Při revizi byly odstraněny zánětlivé uzliny při bifurkaci karotid. Trombóza nebyla prokázána. Po úpravě laboratorních hodnot pacientka byla propuštěna bez obtíží domů.

3. Pacient J.Ž., nar. 1939, diabetik. V diabetickém komatu byl přeložen z infekční kliniky se septickými teplotami a otokem příklopky a submandibulární krajiny vlevo. CT vyšetření prokázalo rozsáhlou infiltraci od baze lebni s přítomností volného vzduchu, svědčící pro rozsáhlé abscesové ložisko, sestupující podél aorty až po bránici. Opět ve spolupráci s torakochirurgy realizován operační výkon spočívající v kolární mediastinotomii, pravostranné torakotomii, revizi mediastina, evakuaci purulentních mas v separovaných ložiscích vyplněných smetanovitým hnisem s obsahem plynu. Přes náročnou léčbu využívající dostupných možností, antibiotické terapie, další farmakoterapie, arteficiální ventilace, parenterální nutrice, opakovaných chirurgických laváží se sanací nových dalších zánětlivých ložisek se nedaří zvládnout septický šok, kterému pacient podlehl.

4. Pacient Š.G., nar. 1963, byl po třítýdenních bolestech v krku přijat pro kolikovitě bolesti v pravém podžebří na chirurgickou kliniku. Pro náhle nastupující dušnost byla provedena bronchoaspirace. Při tomto vyšetření bylo zjištěno oboustranné supraklavikulární měkké těstovité zduření bez kožní reakce. Ihned zavedena antibiotická terapie, indikováno statimové CT vyšetření, které však nebylo realizováno pro akutní srdeční selhání, které vyžadovalo intenzivní péči.

Nemocný do několika hodin umírá. Sekční nález potvrdil předpokládaný sběhlý retrotonsilární absces, který indukoval akutní mediastinitidu a purulentní perikarditidu.

5. Pacient O.D., nar. 1925 byl přeložen z interní jednotky intenzivní péče se septickým stavem a zarudnutím na pravé straně krku přecházejícím na hrudník. V předchorobí udával jen týdenní teploty a bolesti v krku. Při překladu došlo k srdeční zástavě a po úspěšné resuscitaci byl zjištěn čerstvý infarkt myokardu. CT vyšetření prokázalo jen neostrou formaci v úrovni mezopharyngu. Při revizi byla zjištěna jen jantarová tekutina prostupující difúzně prosáklou tkání. Kultivačně byla zjištěna Klebsiella a Enterobakter. Přes veškerou intenzivní léčbu došlo k metabolickému rozvratu a následnému úmrtí.

### **Výsledky**

Z pěti pacientů byli čtyři operováni, u dvou pacientů bylo nutno provést jak revize krčních prostorů, tak i torakotomii. Tři pacienti trpěli dekompenzovaným diabetem. U čtyř pacientů, kde došlo k šíření infekce mimo oblast krku, skončilo onemocnění letálně. Statisticky je nejčastěji udáván odontogenní původ infekce, který však byl zjištěn u našich pacientů jen v jednom případě.

### **Diskuze**

Před zavedením antibiotik byly nejčastěji příčinou těchto komplikací hnisavé zánětlivé procesy hltanu /1/. S rozvojem antibiotické léčby stoupl podíl odontogenních infekcí, což neodpovídalo našemu malému souboru /3/. Z méně častých příčin jsou uváděny záněty velkých slinných žláz /4/. Ještě vzácnější jsou v současné době hluboké krční infekce z otogenních komplikací. Jako raritní je možno považovat infekce s původem v zánětlivém poškození kůže vlasaté části hlavy, či hnisání periorbity /4,5,6/.

### **Závěry**

Hluboké krční infekce jsou závažné, život ohrožující stavy. K jejich diagnostice přispívá výraznou mírou CT vyšetření. Chirurgická evakuace má být včasná a neposkytuje prostor pro časový odklad. Razantní antibiotická terapie zvyšuje šance na přežití, naopak diabetes, arteriosklerosa, imunodeficit, alkoholismus a špatný stav výživy snižují šance na přežití. Léčba takovýchto závažných stavů má probíhat na specializovaných pracovištích, kde je možno zajistit týmovou spolupráci otorinolaryngologa, hrudního chirurga a dalších specialistů erudovaných v péči o vnitřní prostředí /6, 7/.

### **Literatura**

1. Everts, E.C.: Diseases of the pharynx and deep neck infections. Otorinolaryngology, 2302-2322, 1980.
2. Maisel, R.H.: Cervical necrotising fasciitis. Laryngoscope, 104, 7, 795-798, 1994.
3. Moss, R.M.N.: Cervical necrotizing fasciitis: an uncommon sequela to dental infections. Ann Otol Rhinol Laryngol, 99, 8, 643-646, 1990.
4. Naumann, H.H.: Head and neck surgery, 1984.
5. Pazdera J., Brázda, A.: Méně obvyklá poranění očnice. Čs.Stomat., 95, 1995, š.3, s.82-88.
6. Sethi, D.S.: Deep neck abscesses-changing trends. The journal of Laryngology et Otolology, 108, 2, 138-143, 1994.

7. Vomela J. Mediastinitis acuta. Brno, 1993

Scripta medica	70	Supplementum 4	386-387	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>ORL oddělení FNŠP Brno-Bohunice

<sup>2</sup>Chirurgická knika FNŠP Brno-Bohunice

**<sup>1</sup>Kostřica, R., <sup>1</sup>Trnka, A., <sup>2</sup>Vomela, J.**

## **Přínos mediastinoskopie v diagnostice infiltrací mezihrudí**

### **Contribution of Mediastiscopy in the Diagnosis of mediastinal Tumors**

#### **Souhrn**

Je zdůrazněna nezbytnost mediastinoskopie při zhodnocení operability extrabronchiálně rostoucích karcinomů plic. Dále je podtržena nevyhnutelnost mediastinoskopie pro získání dostatečného materiálu k histologické subtypizaci lymfomů mezihrudí.

Klíčová slova: mediastinoskopie - operabilita extrabronchiálních nádorů

#### **Summary**

Contribution of mediastinoscopy for evaluation of operability in extrabronchially growing tumors of mediastinum is discussed. Except that need of mediastinoscopy for exact histological standarisation in lymphomas of mediastinum is pointed out.

Key Words: mediastinoscopy - operability of extrabronchial tumors - histological standarisation

Trendem poslední doby je snaha o minimálně invazivní chirurgické vyšetřovací a i léčebné metody. Mediastinoskopie jistě nepatří do neinvazivních vyšetřovacích metod, ale naopak vzhledem k intimnímu vztahu mediastinálního prostoru k životně důležitým strukturám je tato převážně vyšetřovací metodika prováděna až jako refugium ultimum. Proto se v poslední době objevuje snaha o náhradu mediastinoskopie zlepšenými radiodiagnostickými metodami /HRCT, NMR, sonografické, barevné doplerovské ultrazvukové vyšetření mediastina, ap./ Rovněž snaha o histologickou verifikaci bez nutnosti provést mediastinoskopie je často zmiňována ve vědecké literatuře, kde zejména punkční biopsie pod kontrolou CT začíná být zaváděna rutinně. Je známa celá řada prací srovnávajících výtěžnost histologické verifikace těchto punkčních biopsií s chirurgickou mediastinoskopií, kde obě metody poskytují dobrou procentuální výtěžnost. Zdálo by se, že po tomto úvodu je ztěží možno hovořit o profitu mediastinoskopií při pouhé diagnostice, nicméně jsou dva aspekty, které mluví pro toto invazivní vyšetření vyšetření.

1. Každý hrudní chirurg potvrdí, že operabilita bronchogenních karcinomů je zejména limitována vztahem nádoru k tracheobronchiálnímu stromu. Právě mediastinoskopie umožní přehlédnutí obou tracheobronchiálních úhlů a subkarinálního prostoru. Žádná jiná méně invazivní metodika dosud neumožňuje zhodnocení tohoto prostoru a zejména vztahu nádorového procesu ke stěně průdušnice



či obou hlavních bronchů tak, jak je tomu právě u mediastinoskopie. Z tohoto důvodu v průběhu mediastinoskopie se snažíme vždy u zhoubných extrabronchiálních lézí vizualizovat tento prostor a nabídnout orientaci hrudnímu chirurgovi, který by prováděl torakotomii. Považujeme za výhodu součinnost otolaryngologů a hrudních chirurgů na jednom operačním sále v průběhu tohoto vyšetřování. Můžeme shrnout, že mediastinoskopie je stále nejspolehlivější metoda v selekci pacientů s bronchiálním karcinomem pro torakotomii.

2. Rozvoj onkologické terapie lymfomů a specifikace léčby u jednotlivých druhů lymfomů klade stále větší tlak na přesnou typizaci toho kterého lymfomu. Vzhledem ke spolupráci s onkohematologickou léčbou je otolaryngolog často postaven před požadavek získat větší vzorek, nejlépe celou uzlinu k histologickému vyšetření i tam, kde je již známa diagnóza lymfomu. Tato předchozí histologická diagnóza stanovená většinou na základě v úvodu zmíněných metod je nedostatečná, a ani zkušený histopatolog nemůže provést požadovanou typizaci z punkční biopsie. V těchto případech jen mediastinoskopie umožní nabídnout histopatologovi celou, pokud možno málo zhmožděnou uzlinu k subtypizaci.

## Literatura

1. Haramati, L.B.: CT-guided needle biopsy of the chest. *AJR Am J Roentgenol.* 165 /1/ str.53-55, 1995.
2. Langen, H.J., Klose, K.C., Keulers, P.: Artificial widening of the mediastinum to gain access for extrapleural biopsy *Radiology* 196 /3/ str.703-706, 1995.
3. Rotte, K.H.: CT-gestützte Nadelbiopsie bei pulmonalen und mediastinalen Raumforderungen. *Aktuelle Radiologie* 5 /3/, str.136-139, 1995.
4. Sortini, A., et al.: La Mediastinoscopia videoassistita. *Applicazioni cliniche, G. Chir.* str.251-2, 1995.

Scripta medica	70	Supplementum 4	388-389	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>Clinic of Neurosurgery, Faculty of Medicine at Masaryk University,

University Hospital at Brno-Bohunice

<sup>2</sup>Clinic of Anesthesiology and Resuscitation, Faculty of Medicine at Masaryk University

University Hospital „U sv. Anny“

**<sup>1</sup>Cejpek, P., <sup>2</sup>Ševčík P.**

## **Secondary Brain Damage after CNS Injury**

### **Summary**

We can prominently improve patient prognosis after brain injury by preventing secondary brain damage. Pathophysiologic and biochemical mechanisms of secondary brain damage and their possible medical influence are described there.

Keywords: Brain injury, brain edema, neuroprotective therapy.

The primary brain injuries, for example brain contusion and diffusion axonal injuries, arise at the moment of injury and cannot be affected by therapy. The secondary brain damage arises as a consequence of the primary injury and can be affected by therapy very well. They are caused by both extracranial factors (most frequently hypoxemia as a consequence of respiratory insufficiency and pulmonary dysfunction) and hypotension during blood loss or shock. Moreover, they arise by intracranial factors to which intracranial hematoma, brain hyperemia (turgescence), brain edema, injury of afferent and brain arteria and intracranial infection can be included (1,4).

A clinical deterioration of consciousness, grow of focal symptomatology and development of central or lateral syndrome of craniocaudal deterioration during the secondary brain injury arise. The final result is either brain ischemia that leads to its infarct or brain shift, which causes hemorrhagic necrotic affection.

While CT examinations allow to determine the primary intracranial lesions, the secondary brain damage may be less apparent. The initial signs of transtentorial herniation at CT examination involve the following: pressure on lateral side of suprasellar cistern which happens by a shift of temporal lobe and that causes a flattening of normal pentagon cistern picture. A shift of the brain-stem and compression of lateral brain peduncle occur, too. The obliteration of parasellar and interpeduncular cisterns happens during combined uncal and hippocampal herniation. The adjacent subarachnoid structures are destroyed completely, because tentorial incisura is fully filled with tissue of herniated temporal lobe that is deformed by caudal hypothalamus and by pressed mesencephalon. Transtentorial descendent herniation can be complicated by hemorrhage or malacia of brain-stem and due to a closure of a. cerebri posterior that crosses a free margin of tentorium, infarct of occipital lobe may appear (1,2,3).

The mechanism of secondary brain damage consists in neurochemical and pathophysiological reactions after primary brain damage. Necroses of neurones and synaptic damage will occur by a release of glutamate and an activity of other aminoacids (NMDA-N-methyl D asparate). Free oxygen radicals are generated as a resultant reaction of lipid peroxidase, prostaglandin synthetase and 5 lipoperoxidase. If the pH-value inside a cell remains low, it blocks ATP production and closes circulus vitiosus. By depolarization and excitation of aminoacids voltage channels are opened and a calcium influx into a cell increases. With increasing intracellular calcium a sequestration of mitochondria and endoplasmic reticula, a collapse of protein and lipid metabolism, cellular and membrane functions are activated.

The secondary brain damage is a result of interaction of excitotoxicity of glutamate and aspartate, Ca influx into cells by oxygen radical release and lipid peroxidase (4,6).

The secondary brain damage can be affected pharmacologically by the administration of :

Glutamate release inhibitors,

NMDA and AMPA receptor antagonists,

a) competitive CGS 19755 (Ciba Geigy)

b) non-competitive MK 801(Merc)

Blockers of Ca channels (voltage dependent), Nicardipin, Nimodipin, Dihydropyridin (Bayer) 40 to 80 mg daily,

Inhibitors of superoxide production, i.e. inhibitors of synthetase prostaglandin, 5 lipoxigenase, synthetase xantin,

Absorbers of free radicals, SOD (dismuthase superoxide), alfa tocoferol, Tirilizad (Upjohn) 1.5 mg/6 hours within 6 - 10 days,

Xelators preventing Fe release,

Stabilisers of cellular membranes (a substance that reduces phospholipid mobility - Torilizad),

Neuroprotective substances, Nootropil (4,5,6)

The combination of all above mentioned preparations can affect a number of levels of the secondary brain damage much better than the administration of individual preparations.

## References

Mráček, Z.: Craniocerebral Injuries, Avicenum, Praha 1968

Osborn, A.: Diagnosis of Descending Transtentorial Herniation By Cranial Computed Tomography. Radiology 123, pp. 93-96, 1977

Kroupa, P., Pažourková, M.: Significance of CT in Traumatology of Temporal Bone. Čs. Radiologie, 1966

Hall, E.,D., Traystman, R.,J.: Secondary Tissue Damage after CNS Injury, Current Concept, A Scope Publication, the Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan, 1993.

Mizuno, Y., Mori,H. Kondo, T.: Potential of Neuroprotective Therapy in Parkinson's Disease. CNS Drugs, 1994, Vol. 1, No. 1, pp. 44-56.

Ikeda, Y., Long, D., M.: The Molecular Basis of Brain Injury and Brain Edema: The Role of Oxygen Free Radicals. Neurosurgery 1990, 27, pp. 1-11.

Scripta medica	70	Supplementum 4	390-393	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

<sup>1</sup>Neurosurgical Clinic, Teaching Hospital in Brno-Bohunice

<sup>2</sup>First Pathological-Anatomical Institute, St. Ann Teaching Hospital in Brno

**<sup>1</sup>Cejpek P., <sup>2</sup>Buček J., <sup>1</sup>Smrčka V.**

## **A Rare Case of Neurofibroma Calvae**

### **Summary**

The authors report on a rare case of bone neurofibroma calvae in a 9.5-year old girl. With a few exceptions, bone neurofibromas are connected with von Recklinghausen neurofibromatosis. In addition to bone neurofibroma the child was found to have skin lesions of the "café au lait" type, in the anamnesis dyslexia and dysgraphia. The child continues to be monitored, material has been taken for molecular analysis of DNK.

Keywords: bone neurofibromas, neurofibromatosis-1, neurofibromatosis-2

### **Introduction**

Neurofibromatosis has autosomally dominant heredity with an almost 100% penetration. Chromosome mutations are responsible for 50% of new cases. There is the more frequent neurofibromatosis-1 (NF1), formerly called peripheral or von Recklinghausen neurofibromatosis. The disease arises by gene mutation on chromosome 17. There is also neurofibromatosis-2 (NF2), earlier referred to as central neurofibromatosis, which arises by gene mutation on chromosome 22. Bone neurofibromas are, with a few exceptions, connected with von Recklinghausen neurofibromatosis.

### **Clinical findings**

Since July 1996 the mother has noticed behind the left earlobe of her 9.5-year girl slightly swollen and aching skin with a deepening bone disorder under the skin. The child comes from a second risky gravidity, suffers from a slight form of dyslexia and dysgraphia, occasional diffuse headache, and is allergic to pollen and dust. CT examination revealed a disorder in the occipital bone, retroauricularly to the left, of irregular round shape, 4 cm in diameter. On the borders of the disorder the bone narrows down regularly, above the disorder there is soft dense tissue swelling the subcutaneous layer and the skin.

On admission, the neurological finding is physiological, retroauricularly to the left there is a palpable disorder in the bone of 4 cm in diameter, the skin over the disorder is swollen, slightly aching, without symptoms of pathological efflorescence or inflammation. On the back, in the Th area of the spine, there is a "café au lait" spot of 3x4 cm in size.

On Jan. 3, 1996, the child was operated on, the fibrous tissue over the disorder of the occipital bone to the left was removed. The bone disorder of irregular thinned borders was clipped out to the healthy tissue, the fibrous tissue over the sigmoidal sinus course was also removed. The disorder of



## Discussion

Neurofibromatosis belongs to the diseases connected with the disorders of protein controlling the cell growth. There is type 1 neurofibromatosis (NF1), also called von Recklinghausen or peripheral neurofibromatosis, and type 2 neurofibromatosis (NF2), formerly referred to as central or bilateral neurofibromatosis of the statoacoustic [3,4,6,7,8].

In NF1 we have to do with an autosomally dominant hereditary disease with an occurrence of 1 in 3 000 [7]. Although 50% of the patients have a positive familial anamnesis, autosomally dominant transmission represents the remaining new cases. In hereditary cases the disease expressivity is markedly variable but the penetration is 100% [6,7].

The gene responsible for the appearance of NF1 is located on chromosome 17. It produces a protein called neurofibromin, which decreases the regulation function of the p23 oncoprotein [5]. In our case the familial anamnesis was negative so that we have to do with a new mutation occurring in up to 50% of new cases. Significant from the practical point of view are the clinical criteria of NF1, when at least two of the typical symptoms must be present. In the first place they are the "café au lait" skin spots, multiple neurofibromas, pigmented hamartomas of the iris (Lisch nodules), freckles in inguinal and axillar regions, bone dysplasia (scoliosis, spina bifida, distortion of the tibia) [2,3,4,7,8]. The risk of the occurrence of other tumors, in particular meningiomas, optic gliomas and the pheochromocytomas [6,7] is twofold to fourfold greater. In some patients there is also a tendency to reduced intelligence [1,4], in the case of our patient dyslexia and dysgraphia appear in the anamnesis. Also reported has been gastrointestinal obstruction or bleeding from the gastrointestinal tract due to the presence of neurofibroma. The narrowing of the renal artery by neurofibroma may induce hypertension [7].

Microscopically, neurofibromas are made up of elements of peripheral nerves, including nerve fibres, Schwann cells, fibroblasts, and multiple vessels. These elements are typically dispersed in the thin myxoid stroma. The thin microscopic architecture helps to distinguish these tumors from neurilemmomas (schwannomas). Neurilemmomas are made up completely of the Schwann cells and in fact they never undergo malign transformation while NF1 can become malign in up to 3% [6,7,8].

Macroscopically, neurofibromas form grayish-white nodules of 1 cm up to multilobar lesions of 20 cm over which the skin is frequently hyperpigmented. On rare occasions it forms in the skin a diffusive bulge which causes tissue deformation - elephantiasis neurofibromatosis. Diffusive swelling over the bone disorder and in the wider proximity could also be observed in our case.

The radiologic characteristic has an evident central translucent part, sometimes with sclerotic borders and swollen soft tissues over the translucent place. Most neurofibromas are related to the NF1 neurofibromatosis. The occurrence of solitary intraosseous neurofibromas is extremely low. They occur most frequently in the mandible. In the collection of Schajowicz [7] eight cases connected with neurofibromatosis were described, which were located in the tibia, the fibula, the spine, the sacrum, and only once in the calva.

Type 2 neurofibromatosis (NF2), formerly called central or bilateral acoustic neurofibromatosis is conditional on the gene located on chromosome 22. This is also a tumor-suppressor gene which encodes a protein called merlin or schwannomin. It participates in good regulation of cell differentiation and proliferation [5]. Type NF2 is less frequent than type NF1. Bilateral neurinomas VIII can occur together with or without skin neurinomas. The skin spots are rare and not numerous, and pigmented hamartomas of the iris do not occur with this type. Multiple meningiomas, including spinal meningiomas and neurofibromas, can be found here, and ependymomas also occur [1,4,6,7,8].

With a few exceptions, bone neurofibromas are connected with von Recklinghausen neurofibromatosis. The 9.5-year old girl we operated on and whom we follow observing has a bone

neurofibroma in the area of the calva, additionally a "café au lait" spot of 3x4 cm on the back, and in the neurological picture dyslexia and dysgraphia. Material was removed for molecular analysis of DNK, and the changes in the iris are monitored, which can also occur at a later age. Over the place where the bone neurofibroma was removed the parietooccipital swelling of soft tissues remains.

## References

1. Eliason, M.J.: Neuropsychological Patterns: Neurofibromatosis Compared to Developmental Learning Disorders. *Neurofibromatosis* 1988, 1, pp 17-25.
2. Goodman, R., M., Tiron, A., Katznelson, B.M., et al.: The Myth of Six "café au lait" Spots in the Peripheral Form of Neurofibromatosis. *Neurofibromatosis*, 1988, 1, p 54.
3. Haninec, P., Plas, J., Zvěřina, E., Houšťava, L.: Neurofibromatóza 2. typu z pohledu neurochirurga. *Čes. a Slov. Neurol. Neurochir.*, 58/91, 1996, 5, pp 240-243.
4. Kalita, Z., Houdek, M.: Neobvyklý případ spinálního postižení u neurofibromatózy 1. *Čes. a Slov. Neurol. Neurochir.*, 59/92, 1966, 6, pp 332-334.
5. Mac Collin, M., Mohni, T., Troffater, J., et al.: DNA Diagnosis of Neurofibromatosis 2. Altered coding sequence of the merlin tumor suppressor in an extended pedigree. *JAMA*, 270, 1993, pp 2316-2320.
6. Riccardi, V., M.: Von Recklinghausen Neurofibromatosis. *N. Engl. J. Med.* 1981, 305, pp 1617-1627.
7. Robbins, S., L.: *Pathologic Basis of Disease*. 5th edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, 1994, pp 148-149, 1353-1354.
8. Schajowicz, F.: *Tumors and Tumorlike Lesions of Bone*. 2<sup>nd</sup> edition, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1994, pp 453-459.

Scripta medica	70	Supplementum 4	394-395	Brno, 1996
----------------	----	----------------	---------	------------

Odbor revize zdravotní péče ÚP VZP ČR

**Lomíček M.**

## **Několik základních informací o projektech CASE MIX v rámci VZP**

### **Souhrn**

Jsou uvedeny základní informace o projektech CASE MIX a o jejich realizaci v rámci VZP ČR.

Klíčová slova: CASE MIX, DRG, PMC

### **Summary**

There is set out some basic information on CASE MIX projects and on realization in VZP of Czech republic.

Key words: CASE MIX, DRG, PMC

### **Úvod**

Ve zdravotnické veřejnosti zaznívají v poslední době termíny - CASE MIX, DRG, PMC. Týkají se jednoho problému - vztahení nákladových položek k diagnóze a dalším ukazatelům, které blíže charakterizují nemocného, onemocnění či léčebný postup.

CASE MIX - volně přeloženo znamená "případovou směs", DRG (diagnose related group) - skupiny vztahené k diagnóze, PMC (patient management category) - kategorie vedení / řízení léčby nemocného - platba za případ.

V systémech CASE MIX jsou nemocní (definovaní zadanými ukazateli) zařazováni do skupin s určitými znaky, vlastnostmi. Kromě věku a pohlaví nemocného jsou sledovány diagnózy, základní léčebný výkon (operativní, neoperativní), stav nemocného při propuštění a mnoho dalších údajů. Je hodnocena zejména délka hospitalizace, v určité fázi procesu zpracování jsou přiřazovány ekonomické parametry. Údaje, shromážděné od velkého množství nemocných, jsou dále matematicky zpracovány (jsou získány průměry, odchylky, "váhy", indexy atd.). Výsledky jsou pak využity k účelům statistickým, srovnávacím, plánovacím, rozpočtovým, regulačním či platebním. (Na jejich podkladě je tedy možno ovlivňovat mikro i makrostrukturu celé zdravotní péče.) Získané informace jsou využitelné na všech úrovních - od managementu nemocnic přes instituce s celostátní působností až k porovnávání údajů v mezinárodním měřítku.

Pro klasifikaci a zařazování nemocných se vytváří určitý rozhodovací strom. Systém počítačových programů, který tyto operace realizuje, se nazývá v angličtině zkráceně "grouper".

Systémy CASE MIX existují jak v ambulantní, tak v nemocniční sféře a svojí strukturou se liší podle účelu, ke kterému jsou vytvořeny a používány (upřednostněny mohou být různé



sledované parametry). U nás jsou nyní nejdiskutovanější dva z těchto systémů, týkající se nemocniční péče - DRG a PMC.

Možné jsou dva základní přístupy k řešení problému:

1) Z velkého množství dat (velkých četností) se snažíme podle zadaných ukazatelů vyčlenit skupiny nemocných, charakterizované určitými vlastnostmi ("cesta shora"). Představitelem této skupiny je DRG.

2) Lékaři definují medicínský případ a stanoví odborný léčebný postup. Následuje přiřazení dat (opět podle zadaných ukazatelů), včetně podrobně členěných ekonomických položek a zjištění vlastností obecných pro danou skupinu ("cesta zdola"). Představitelem této skupiny je PMC.

Oba systémy (DRG i PMC) byly vytvořeny v USA, prošly (a procházejí) určitým vývojem a jsou v odlišných modifikacích používány k různým účelům v Evropě i jinde ve světě. Některé země využívají současně jak DRG tak i PMC a vhodně jejich přednosti doplňují. Využití obou systémů je kromě jiného ovlivněno zákony, místními zvyklostmi a organizací zdravotnictví té které země.

Po zavedení DRG jako platebního mechanismu došlo v USA k zkrácení doby hospitalizace a přesunu řady zákroků z nemocniční do ambulantní oblasti. Systému DRG bylo vyčítáno snižování nákladů zejména na úkor neúměrného zkracování doby hospitalizace, což vedlo k předčasnému propouštění nemocných, zhoršení kvality zdravotní péče následované zvýšenou mortalitou a zvýšenému počtu rehospitalizací. Proti snížení kvality zdravotní péče však byly mezitím vypracovány a zavedeny do praxe četné pojistné mechanismy. Rehospitalizace v určitém časovém limitu pojišťovny v USA nehradí, byl zaveden propracovaný revizní systém, opírající se o pravidla, dohodnutá poskytovateli zdravotní péče i pojišťovnami. Jsou to zejména definovaná a uznaná kritéria přijetí do nemocnice, kritéria setrvání v nemocnici, kritéria propuštění z nemocnice (pozor - zde je významný prvek zachování kvality zdravotní péče!). Součástí těchto pravidel jsou i přesné indikace k provedení jednotlivých výkonů či vyšetření. Je jich používáno jak ve smyslu revize zbytečného zákroku ("proč provedeno, když nebylo indikováno"), tak ve smyslu revize kvality ("proč neprovedeno, když bylo indikováno")! Podrobnější diskuse bohužel přesahuje rámec tohoto sdělení.

Mezi klady CASE MIX systémů patří zjevně: lepší podklady pro plánování, tvorbu rozpočtu, efektivnější provoz nemocnic, regulaci nabídky a poptávky zdravotních služeb, zlepšení toku informací a další. U PMC přistupují navíc výhody stanovených standardních léčebných postupů.

V naší republice bylo po rozboru situace v rámci projektu ředitele VZP ČR "CASE MIX" přikročeno k pokusné realizaci obou zde zmiňovaných systémů. Projektů se zúčastní i zahraniční odborníci a MZ ČR. Velmi stručně - po důsledné přípravě byl proveden výběr nemocnic, jsou sbírána sledovaná data podle definovaných parametrů. Jsou prováděny úpravy s cílem minimalizovat vlivy vyplývající z rozdílných národních podmínek (organizace zdravotnictví, struktura a obsah lékař. výkonů, použitá mezinár. klasifikace nemocí), dále je prováděno přiřazování účtů, zpracování dat pro "grouper", testování správnosti výsledků a mnohé další. Užité zahraniční metody by měly časem poskytnout data plně použitelná a specifická pro naši republiku.

Nejen z pohledu těchto projektů je důležité již nyní uvádět správné kody diagnóz jak po stránce formální, tak obsahové. V blízké budoucnosti by pak mělo být cílem všech zainteresovaných - pojišťoven, státní správy, lékařských komor i odborných společností - vytvoření podkladů pro kontrolu kvality poskytované zdravotní péče nejlépe na základě odborných standardů celých lékařských postupů i jednotlivých vyšetření.

Úplným závěrem poznámku - CASE MIX jsou nástroje či prostředky (nikoli cíle) a důležité je jak, k čemu a za jakých okolností budou použity.

Literatura u autora