

ORIGINÁLNÍ PRÁCE

ÚČINNOST A TOXICITA CISPLATINY A VINOURELBINU V LÉČBĚ III. STADIA NEMALOBUNĚČNÉ PLICNÍ RAKOVINY

Špásová Irena, Hytych Vladislav, Petera Jiří

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta LF UK v Hradci Králové: Plicní klinika

Summary: Efficacy and toxicity of cisplatin and vinorellbine in the treatment of stage III non-small cell lung cancer.

The role of neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC) is still not yet determined. During the last decade, many new efficient cytotoxic drugs were introduced with a good response and an acceptable toxicity in NSCLC. Our study was undertaken to test whether marginally resectable stage IIIA-IIIB NSCLC patients (pts) could reach a complete resectability after induction vinorellbine and cisplatin chemotherapy (CT). The second objective was to determine the efficacy and toxicity of this combination. 16 pts with NSCLC stadium IIIa (n=5) and IIIb (n=11) were included into the study. Three cycles of neoadjuvant chemotherapy were applied: vinorellbin 30 mg/m² day 1 and 8, cisplatin 80 mg/m² day 1. Cycles were repeated every 21 days. 49 cycles were applied. At the completion of induction therapy pts assessed to be resectable underwent thoracotomy. Toxicity (WHO): leucopenia grade 3-4 in 6 pts, neutropenia grade 3-4 in 11 pts, with febrile episodes in 1 pt, anemia grade 3 in 1 pt, trombopenia grade 3 in 1 pt, tromboembolism grade 3 in 3 pts, dyspnoe grade 3 in 2 pt, AIHA grade 4 in 1 pt, anorexia grade 3 in 1 pt, skin general eruption grade 3 in 1 pt. No complete response was observed. 8 pts (50%) had partial response, 3 pts (19%) had stable and 5 pts (31%) had progressive disease. 5 pts underwent surgery, in 4 of them (25%) a complete resection was done. No complications of the surgery in connection with the previous chemotherapy occurred. Median survival of all involved pts was 508 days. We conclude that 50% of pts with marginally resectable stage IIIa-IIIB NSCLC could reach the partial response after the vinorellbine and cisplatin induction. 25% of pts could reach the complete resectability and the toxicity of CT was acceptable.

Key words: Neoadjuvant chemotherapy; Non-small cell lung cancer; Surgery

Souhrn: Role neoadjuvantní chemoterapie u lokálně pokročilého nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) zůstává neurčena. V posledním desetiletí byly zavedeny nové účinné cytostatické preparáty s dobrou odpovědí a přijatelnou toxicitou i u NSCLC. Naše studie měla za úkol ověřit, zda technicky inoperabilní nemocní s NSCLC stadia IIIa nebo IIIb mohou dosáhnout radikální resektability po aplikaci neoadjuvantní chemoterapie v kombinaci vinorelbin + cisplatina. Druhým cílem bylo zjistit účinnost a toxicitu této kombinace. Do studie bylo zařazeno 16 nemocných s NSCLC stadia IIIa (n=5) a IIIb (n=11). Nemocným byly aplikovány 3 cykly neoadjuvantní chemoterapie v kombinaci vinorelbin 30 mg/m² v den 1 a 8 a cisplatina 80 mg/m² v den 1. Cykly byly podávány v intervalu 21 dnů. Celkem bylo aplikováno 49 cyklů. Při hodnocení toxicity jsme leukopenii stupně 3-4 zjistili v 6 případech, neutropenii stupně 3-4 v 11 případech, z toho s febrilní epizodou v jednom případě, anémii stupně 3 v jednom případě, trombocytopenii stupně 3 v jednom případě, tromboflebitidu hlubokých žil dolních končetin stupně 3 ve třech případech, dušnost stupně 3 ve dvou případech, autoimunní hemolytickou anémii (AIHA) stupně 4 v jednom případě, anorexii stupně 3 v jednom případě a generalizovaný kožní exantém stupně 3 v jednom případě. Nezaznamenali jsme žádné smrtelné komplikace aplikované léčby. Při hodnocení odpovědi na aplikovanou chemoterapii jsme nezjistili žádnou kompletní odpověď, u 8 nemocných (50 %) jsme pozorovali parciální odpověď na léčbu, 3 nemocní (19 %) měli stabilní onemocnění a u 5 nemocných (31 %) došlo po aplikaci chemoterapie k progresi onemocnění. Pět nemocných se podrobilo operaci, u 4 z nich (25 %) se podařilo provést radikální resekci nádoru. Nevyskytly se žádné komplikace operační léčby v souvislosti s předchozí chemoterapií. Medián přežití celé skupiny nemocných činil 508 dnů. Závěr: Zjistili jsme, že u 50 % nemocných s technicky inoperabilním NSCLC stadia IIIa a IIIb bylo dosaženo parciální odpovědi po aplikaci neoadjuvantní chemoterapie v kombinaci vinorelbin a cisplatina. U 25 % se podařilo provést radikální resekci nádoru, přičemž toxicita aplikované chemoterapie byla přiměřená.

Úvod

Chirurgická léčba zůstává jedinou léčbou nemocných s nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC), která dává naději na dlouhodobé přežití. Tato léčba je však vyhrazena pouze pro nemocné diagnostikované ve stadiu I a II. Indikovat chirurgickou léčbu u nemocných ve stadiu III je možné rovněž, i když výsledky jsou obvykle špatné v důsledku progresu mikrometastáz (4). Úspěšná terapie lokálně pokročilého NSCLC závisí jednak na kontrole klinicky zřetelného nitrohruďního nádorového onemocnění, a jednak na kontrole klinicky němých nádorových mikrometastáz, které jsou u třetího stadia NSCLC v době diagnózy obvykle přítomné (9).

Na základě příznivých výsledků četných studií fáze II byla přijata chemoterapie nebo chemoradioterapie následovaná chirurgickou léčbou jako léčba vhodná pro operabilní nemocné ve stadiu IIIa. Doba přežití byla v těchto studiích prodloužena ve srovnání s historickými kontrolami (5,13,15). Výsledky dvou malých randomizovaných studií prokázaly, že přežití nemocných ve stadiu IIIa s patologicky potvrzeným postižením ipsi-

laterálních lymfatických uzlin (N2 disease) bylo signifikantně lepší ve srovnání s nemocnými léčenými samotnou chirurgickou léčbou (10,11).

Stadium IIIb NSCLC je obvykle považováno za inoperabilní a je léčeno buď samotnou radioterapií, nebo chemoterapií s následnou radioterapií. Pouze několik málo studií prokázalo možnost použít neoadjuvantní chemoradioterapii u nemocných ve stadiu IIIb (12,14).

V léčbě NSCLC bylo testováno mnoho cytostatických látek. Tato malignita je známa pro svou nízkou chemosenzitivitu. Teprve v průběhu posledních deseti let bylo zavedeno několik cytostatických preparátů účinných i u pokročilého NSCLC. Jedním z nich je vinorelbin, semisyntetický vinca alkaloid, po jehož aplikaci je v monoterapii dosažováno neobvykle vysoké odpovědi na léčbu (29 %) u nemocných ve stadiu III a IV (1). V jedné evropské randomizované multicentrické studii bylo dosaženo delšího mediánu přežití (40 týdnů) a vyšší odpovědi na léčbu kombinací vinorelbin+cisplatina ve srovnání s kombinací vindesin+cisplatina nebo s vinorelbinem v monoterapii. Tyto výsledky jsou velice slibné, neboť i toxicita vinorelbinu byla přijatelná (3).

Naše studie měla za úkol ověřit, zda technicky inoperabilní nemocní s NSCLC stadia IIIa nebo IIIb mohou dosáhnout radikální resektability po aplikaci neoadjuvantní chemoterapie v kombinaci vinorelbin+cisplatina. Druhým cílem bylo zjistit účinnost a toxicitu této kombinace.

Materiál a metody

Výběr nemocných

Do studie byli zařazeni nemocní s nemalobuněčným karcinomem plic stadia IIIa a IIIb, kteří byli technicky inoperabilní. Nádor byl mikromorfologicky ověřen, stadium nádorového onemocnění bylo stanoveno na základě výsledků klinických vyšetření. Určení TNM stadia bylo prováděno podle Mezinárodní TNM klasifikace plicních nádorů (7). Všichni zařazení nemocní měli lokálně pokročilé nádorové onemocnění v obraze počítačové tomografie (CT) hrudníku, definované buď jako výrazné postižení mediastinálních lymfatických uzlin, tj. byly zjištěny dvě nebo více ipsilaterálních, nebo kontralaterálních skupin lymfatických uzlin o velikosti 20 mm a více (N2, N3), nebo byly v CT obraze zjištěny známky nádorové invaze do mediastinálních struktur (T4) nebo hrudní stěny (T3), nebo byl bronchoskopicky ověřen nádor postihující centrální dýchací cesty (T3, T4).

Metody použité ke stanovení stadia onemocnění zahrnovaly skiagram hrudníku v zadopřední a boční projekci, bronchoskopické vyšetření, CT hrudníku a mozku, ultrasonografické vyšetření dutiny břišní a scintigrafické vyšetření skeletu. Pokud byl přítomen pleurální výpotek, byla provedena punkce pleurální dutiny a cytologické vyšetření výpotku. Laboratorní vyšetření zahrnovalo spirometrii, přičemž prediktivní pooperační hodnota FEV1 byla větší než 1,0 l/s. Nemocní měli náležité hematologické, ledvinové a jaterní funkce (počet leukocytů > 4000 x 10⁹, počet neutrofilů > 2000 x 10⁹, počet trombocytů > 100 000 x 10⁹, hodnoty kreatininové klirens > 1ml/s, celkový bilirubin, AST a ALT < 1,25 x horní hranice normy). Počáteční stav výkonosti (performans status podle Eastern Cooperative Oncology Group) byl hodnocen jako 0 nebo 1. Dalšími požadavky byly věk v rozmezí 18-75 let a měřitelná léze. Každý nemocný byl po ukonče-

ni vyšetřovacího procesu prezentován na společném semináři v přítomnosti pneumologa, onkologa, hrudního chirurga a radiodiagnostika. Na semináři bylo potvrzeno stadium onemocnění a zhodnocena operabilita onemocnění. Podruhé byl každý nemocný prezentován na semináři po ukončení neoadjuvantní chemoterapie, kdy byla zhodnocena odpověď na léčbu a nově i operabilita a na základě výsledků byl doporučen další postup, tj. buď chirurgická léčba, nebo léčba zářením.

Do studie nebyli zařazeni nemocní s postižením supraklavikulárních lymfatických uzlin nebo s maligními buňkami v pleurálním výpotku, nemocní s předchozím maligním nádorovým onemocněním, s předcházející chemoterapií nebo radioterapií, nemocní s aktivním infekčním onemocněním a nemocní s vážným interním nebo psychiatrickým onemocněním.

Léčebný plán

Zařazeným nemocným byly aplikovány 3 cykly chemoterapie ve složení vinorelbin 30 mg/m² 1. a 8. den a cisplatina 80 mg/m² v obvyklém hydratačním režimu 1. den. Cykly byly opakovány každých 21 dnů. Odpověď na aplikovanou léčbu byla hodnocena na počátku každého cyklu chemoterapie, kdy byl zhotoven skiagram hrudníku a klinické vyšetření. Toxicita chemoterapie byla hodnocena zvlášť pro každý cyklus. Konečné hodnocení odpovědi na léčbu bylo provedeno podle kritérií WHO 3 týdny po třetím cyklu chemoterapie (WHO). Toto vyšetření zahrnovalo skiagram hrudníku, bronchoskopické vyšetření, CT vyšetření hrudníku a ultrasonografické vyšetření orgánů dutiny břišní.

Nemocní, kteří byli hodnoceni jako operabilní, byli v průběhu 4–5 týdnů po ukončení chemoterapie podrobeni torakotomii. Během torakotomie, pokud to lokální nález umožňoval, byla provedena standardní kurativní resekce s disekcí mediastinálních lymfatických uzlin. Kompletní resekce byla definována jako odstranění všech známých nádorových ložisek s negativním histologickým vyšetřením okrajů resektátu a s negativním histologickým vyšetřením mediastinálních uzlin.

U nemocných s progresí nádorového onemocnění po aplikaci chemoterapie, u nemocných s závažnými toxickými projevy chemoterapie, u nemocných, kteří odmítali chirurgickou léčbu, a dále u některých nemocných se stabilním onemocněním podle rozhodnutí ošetřujícího lékaře nebyla indikována chirurgická léčba.

U všech nemocných, kteří se nepodrobili chirurgické léčbě, a také u všech nemocných s nekompletní (neradikální) resekci nádoru, byla indikována kurativní zevní radioterapie na oblast hrudníku. Profylaktická radioterapie na oblast mozku nebyla aplikována. Radioterapie byla prováděna na lineárním akcelerátoru. Na oblast primárního nádoru a mediastina bylo aplikováno 50 Gy ve 25 frakcích s následnou aplikací 10 Gy v pěti frakcích na primární nádor.

Kontrolní ambulantní vyšetření, které zahrnovalo fyzikální vyšetření, skiagram hrudníku a základní laboratoř, bylo prováděno každých 4–6 měsíců po ukončení léčby. Kontrolní CT vyšetření hrudníku bylo prováděno pouze na základě klinických obtíží.

Výsledky

Od února do října 1996 jsme do studie zařadili 16 nemocných. Základní údaje o nemocných shrnuje tab. 1. Toxicita chemoterapie byla hodnocena u 49 aplikovaných cyk-

lů. Dvěma nemocným jsme aplikovali 2 cykly, devíti nemocným jsme aplikovali 3 cykly a dalším dvěma nemocným jsme aplikovali 6 cyklů. U 21 cyklů (43 %) jsme aplikaci chemoterapie museli odložit o více než 7 dnů, nejčastěji z důvodu přechodné neutropenie.

Tab. 1: Charakteristika nemocných před léčbou.

	N
Věk (roky)	
Medián	60,9
Věkové rozmezí	50-73
Pohlaví	
Muži	15
Ženy	1
Histologie	
Epidermoidní ca	14
Adenoca	2
Klinické stadium	
T2N2	1
T3N2	4
T3N3	1
T4N0	2
T4N1	3
T4N2	5

V tab. 2 je podán přehled toxicity aplikované chemoterapie. Při hodnocení toxicity jsme leukopenii stupně 3-4 zjistili v 6 případech, neutropenii stupně 3-4 v 11 případech, z toho s febrilní epizodou v jednom případě, anémii stupně 3 v jednom případě, trombocytopenii stupně 3 v jednom případě, tromboflebitidu hlubokých žil dolních končetin stupně 3 ve třech případech, dušnost stupně 3 ve dvou případech, autoimunní hemolytickou anémií (AIHA) stupně 4 v jednom případě, anorexií stupně 3 v jednom případě a generalizovaný kožní exantém stupně 3 v jednom případě. Nezaznamenali jsme žádné smrtelné komplikace aplikované léčby.

Při hodnocení odpovědi na aplikovanou chemoterapii jsme nezjistili žádnou kompletní odpověď (tab. 3). U 8 nemocných (50 %) jsme pozorovali parciální odpověď na léčbu, 3 nemocní (19 %) měli stabilní onemocnění a u 5 nemocných (31 %) došlo po aplikaci chemoterapie k progresi onemocnění. Pět nemocných bylo operováno, u 4 z nich (25 %) se podařilo provést radikální resekci nádoru. Zbývající jeden nemocný, jehož onemocnění při restagingu bylo hodnoceno jako stabilní, stadium T3N2M0, se podrobil explorativní torakotomii. Při operaci byl zjištěn nádor prorůstající do velkých cév, stadium T4N2M0. Resekce proto nemohla být provedena. Průměrná doba od diagnózy do operace činila 96 dnů. Nevyskytly se žádné komplikace operační léčby v souvislosti s předchozí chemoterapií. Žádný nemocný v důsledku operace nezemřel.

Tab. 2. Toxicita chemoterapie (WHO kritéria) - 49 cyklů.

	G1(%)	G2(%)	G3(%)	G4(%)
Anémie	11 (22)	10 (20)	1 (2)	-
Leukopenie	13 (26)	1 (2)	5 (10)	1 (2)
Neutropenie	4 (8)	5 (10)	7 (14)	4 (8)
Febrilní neutropenie	-	1 (2)	-	-
Lymfopenie	3 (6)	4 (8)	1 (2)	-
Trombocytopenie	4 (8)	-	1 (2)	-
Krvácení	1 (2)	-	-	-
AIHA	-	-	-	1 (2)
Infekce	-	1 (2)	1 (2)	-
Nausea	8 (16)	2 (4)	-	-
Vomitus	1 (2)	1 (2)	-	-
Gastritida	1 (2)	1 (2)	-	-
Transaminasy	2 (4)	-	-	-
Alk. fosfatasa	1 (2)	-	-	-
Proteinurie	14 (28)	1 (2)	-	-
Retence moče	-	1 (2)	-	-
Hematurie	1 (2)	-	-	-
Kreatinin	3 (6)	2 (4)	-	-
Kreatinin. clearance	2 (4)	1 (2)	-	-
Anorexie	7 (14)	1 (2)	1 (2)	-
Dyspnoe	1 (2)	-	2 (4)	-
Kašel	2 (4)	-	-	-
Srdeční funkce	-	1 (2)	-	-
Srdeční dysrytmie	1 (2)	-	-	-
Perikardiální výpotek	1 (2)	-	-	-
Hypotenze	1 (2)	-	-	-
Tromboflebitida hluboká	-	1 (2)	3 (6)	-
Edémy	2 (4)	4 (8)	-	-
Bolest hlavy	-	2 (4)	-	-
Konstipace	3 (6)	-	-	-
Kůže	-	-	1 (2)	-
Parestézie	1 (2)	1 (2)	-	-
Flebitida povrch.	-	3 (6)	-	-
Febrilie	1 (2)	1 (2)	-	1 (2)
Váhový úbytek	1 (2)	-	-	-
Hyperglykemie	6 (12)	2 (4)	-	-
Hyponatremie	-	2 (4)	-	-
Hypokalemie	-	1 (2)	-	-
Hypochloremie	-	1 (2)	-	-

Tab. 3. Odpověď na chemoterapii (kritéria WHO).

	N (%)
Kompletní odpověď	-
Parciální odpověď	8 (50)
Stabilní onemocnění	3 (19)
Progrese	5 (31)

Další 4 nemocní, kteří byli po aplikaci chemoterapie hodnoceni jako operabilní, se operaci nepodrobili. Dva nemocní odmítli operační léčbu a druhí dva nemocní byli pro resekční léčbu kontraindikováni, jeden z důvodu přidružených interních onemocnění (obstrukční choroba bronchopulmonální) a druhý z důvodu komplikace chemoterapie (AIHA). U 2 nemocných se stabilním nálezem po aplikaci chemoterapie nebyla resekční léčba ošetřujícím lékařem indikována.

Medián přežití celé skupiny nemocných činil 508 dnů. Dva nemocní doposud žijí po dobu 1161 a 1292 dnů od stanovení diagnózy, oba jsou bez známek recidivy nádorového onemocnění.

Tab. 4. Výsledky chirurgické léčby.

	N
Neoperovaní	11 (69)
Operovaní	5 (31)
Pneumonektomie	2 (12,5)
Lobektomie	2 (12,5)
Explorace	1 (6)
Patologický staging	
pT1 N0 M0	1 (6)
pT2 N0 M0	2 (12,5)
pT4 N0 M0	1 (6)

Diskuse

Optimální metoda léčby u lokoregionálně pokročilého NSCLC doposud nebyla stanovena. NSCLC je slabě chemosenzitivní nádor. Se zaváděním nových účinnějších cytostatik, která indukují příznivou odpověď i u NSCLC, nabývá stále důležitějšího postavení neoadjuvantní chemoterapie s následnou resekční léčbou.

Nežádoucí účinky 3.-4. stupně jsme zaznamenali u 61 % aplikovaných cyklů, přičemž zdaleka nejčastěji (ve 22 %) se jednalo o přechodnou neutropenii, pouze u jednoho nemocného komplikovanou febrilním stavem s nutností parenterální aplikace antibiotik. Velmi pozitivní je zjištění, že se nevyklyly žádné nežádoucí účinky s trvalými následky, i u AIHA stupně 4 došlo po několika týdnech k normalizaci laboratorních hodnot. Toxicitu kombinace vinorelbínu s cisplatinou v uvedeném dávkování proto hodnotíme jako přijatelnou.

Dvě třetiny zařazených nemocných mělo onemocnění ve stadiu IIIb. Přesto se podařilo u 50 % z nich dosáhnout parciální odpovědi na úvodní léčbu cytostatiky a u dalších 19 % bylo onemocnění hodnoceno jako stabilní, tj. též potenciálně resekovatelné. Přetrvávání nezměněného rentgenového nálezu je u některých těchto nemocných způsobeno tvorbou fibrózní tkáně v místě likvidace nádorových hmot. Rusch z tohoto důvodu doporučuje indikovat operační léčbu i u nádorů hodnocených po aplikaci indukční chemoterapie jako stabilní, neboť radikální resekce se u mnohých těchto nemocných zdaří (12). Z 5 nemocných, u kterých jsme zjistili progresi onemocnění po aplikaci indukční chemoterapie, měli 3 nemocní NSCLC původně ve stadiu IIIa a 2 nemocní ve stadiu IIIb.

Jedenáct nemocných jsme po aplikaci indukční chemoterapie hodnotili jako potenciálně resekovatelné. Nicméně pouze 5 nemocných (31 %) se nakonec podrobilo operaci. Ze zbývajících 6 nemocných pouze u dvou byly přítomny racionální důvody kontraindikující resekování (závažné komplikace chemoterapie u jednoho nemocného a hraniční ventilační hodnoty při CHOPN u druhého). U dvou nemocných došlo k odmítnutí operace ze strany nemocného a u dvou dalších ze strany ošetřujícího lékaře. Je skutečností, že nové léčebné přístupy, v tomto případě kombinovaná onkologická a chirurgická léčba u pokročilého nádorového onemocnění, si někdy jen těžce hledají své místo v léčebné praxi.

Radikální resekci se podařilo provést u 4 (25 %) nemocných, přičemž u všech bylo v době diagnózy zjištěno stadium IIIb. Podle v současnosti platných doporučení, mimo klinickou studii, by tito nemocní vůbec nebyli k operaci indikováni. U všech resekováných nemocných bylo dosaženo zmenšení rozsahu nádorového onemocnění (downstaging). U žádného resekováného nemocného nebylo potvrzeno metastatické postižení mediastinálních uzlin, které je významným nepříznivým prognostickým ukazatelem (6). U žádného resekováného nemocného však nebylo dosaženo úplné eliminace nádorových buněk (pT0N0M0), jak ve svých výsledcích uvádějí někteří autoři (2,8).

Dle našich zkušeností by neoadjuvantní chemoterapie měla být indikována nejen u stadia IIIa, ale i u vybraných nemocných s NSCLC ve stadiu IIIb, týká se to především stadií T4N0-1, bez maligního výpotku. U těchto nemocných stejně jako u stadia IIIa existuje reálná šance na parciální odpověď na aplikaci neoadjuvantní chemoterapie s následnou možností radikální lokální terapie.

Naše studie prokázala, že i technicky inoperabilní NSCLC stadia IIIa a IIIb (T4N0-1) mohou ve 25 % dosáhnout radikální resekovatelnosti po aplikaci neoadjuvantní chemoterapie v kombinaci vinorelbín+cisplatina za přijatelné toxicity aplikovaných léků.

Literatura

1. Depierre A, Lemarie E, Dabouis G et al. A phase II study of Navelbine (vinorelbine) in the treatment of non-small-cell lung cancer. *Am J Clin Oncol* 1991;14:115-9.
2. Elias AD, Skarin AT, Leong T et al. Neoadjuvant therapy for surgically staged IIIA N2 non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 1997;17:147-61.
3. Le Chevalier T, Brisgand D, Douillard JY et al. Randomized study of vinorelbine and cisplatin versus vindesine and cisplatin versus vinorelbine alone in advanced non-small cell lung cancer: Results of a European multicenter trial including 612 patients. *J Clin Oncol* 1994;12:360-7.
4. Martini N, Flehinger B, Zaman M, Beattie jr. EJ. Results of resection in non-oat cell carcinoma of the lung with mediastinal lympho nodes metastases. *Ann Surg* 1983;198:386-97.

5. Martini N, Kris MG, Flehinger BJ et al. Preoperative chemotherapy for stage IIIA (N2) lung cancer: the Sloan-Kettering experience with 136 patients. *Ann Thorac Surg* 1993;55:1365-74.
6. Mathisen DJ, Grillo HC. Carinal resection for bronchogenic carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991;102:16-23.
7. Mountain CF. A new international staging system for lung cancer. *Chest* 1986;89(suppl 4):225-33.
8. Palackdharry CS, Durham SJ, Durzinski DS, Veltri S. Preliminary results of neoadjuvant paclitaxel and carboplatin in the treatment of early stage non-small cell lung cancer. *Semin Oncol* 1997;24(suppl 12):S12-34-S12-36.
9. Pantel K, Izbicki J, Passlick B et al. Frequency and prognostic significance of isolated tumour cells in bone marrow of patients with non-small-cell lung cancer without overt metastases. *Lancet* 1996;347:649-53.
10. Rosell R, Gomes-Codina J, Camps C et al. A randomized trial comparing preoperative chemotherapy plus surgery with surgery alone in patients with non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 1994;330:153-8.
11. Roth JA, Fossella F, Komaki R et al. A randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable stage IIIa non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:673-80.
12. Rusch VW, Albain KS, Crowley JJ et al. Neoadjuvant therapy: a novel and effective treatment for stage IIIb non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1994;58:290-5.
13. Strauss GM, Gernon JE, Sherman DD et al. Neoadjuvant chemotherapy and radiotherapy followed by surgery in stage IIIA non-small cell carcinoma of the lung: a report of a Cancer and Leukemia Group B phase II study. *J Clin Oncol* 1992;10:1237-44.
14. Thomas M, R(he Ch, Semik M, et al. Impact of preoperative bimodality induction including twice-daily radiation on tumor regression and survival in stage III non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:1185-93.
15. Weiden PL, Piantadosi S. Preoperative chemotherapy (cisplatin and fluorouracil) and radiation therapy in stage III non-small cell lung cancer: a phase II study of the lung cancer study group. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:266-72.
16. World Health Organisation. WHO handbook for reporting the results of cancer treatment. Geneva, Switzerland: WHO Offset Publication No. 48,1979.

*MUDr. Irena Špásová, CSc.,
Balbínova 6, 120 00 Praha 2.
e-mail: spasova@fnhk.cz*

41LETÁ ANAMNÉZA MANDIBULÁRNÍHO SUBPERIOSTÁLNÍHO IMPLANTÁTU

V kasuistickém sdělení je popisován subperiostální implantát, který byl v roce 1957 zaveden 37leté ženě s bezzubou dolní čelistí. Suprakonstrukci tvořil snímatelný můstek. První rok funkce implantátu proběhl bez komplikací, ale následujících 15 let se několikrát ročně objevovaly zánětlivé komplikace. V roce 1973 bylo doporučeno implantát odstranit. Pacientka však explantaci odmítla a souhlasila pouze s resekcí části implantátu perforující do úst. Poté přestala docházet na kontroly. Dostavila se teprve v roce 1998, tedy v 78 letech věku. Implantát z větší části perforoval mukoperiost, byl pokryt mohutným nánosem plaku, zubního kamene a pohyboval se ve všech směrech. Tělo dolní čelisti bylo v místě implantátu extrémně atrofované, a to zejména shora a labiálně. Implantát byl odstraněn.

V diskusi autoři uvádějí, že mnoho subperiostálních implantátů perzistuje v ústní dutině relativně dlouho (50–60 % jich přežívá 15 let), ale značnou část této doby již nesplňují kritéria úspěšnosti. Často jsou provázeny zánětlivými komplikacemi, které po léčbě antibiotiky zakrátko recidivují. Kost pod tělem implantátu výrazně atrofuje. Někteří implantologové jsou toho názoru, že subperiostální implantáty, stejně jako ostatní implantáty kotvené do měkkých tkání, by neměly být v dnešní době zaváděny.

Schou L, Pallesen L, Hjorting-Hansen E, Pedersen CS, Fibaek B. A 41-year history of a mandibular subperiosteal implant. Clin Oral Impl Res 2000;11:171-8.

D. Kopecká

Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové 2000;45(5-6):113-121

ORIGINÁLNÍ PRÁCE

VLIV TYPU DIALYZAČNÍ MEMBRÁNY NA FAGOCYTÓZU LEUKOCYTŮ V PRŮBĚHU HEMODIALÝZY

Roman Štílec¹, Petr Fixa¹, Doris Vokurková², Jan Krejsek²

Fakultní nemocnice v Hradci Králové: I. interní klinika¹, Ústav klinické imunologie a alergologie²

Summary: The influence of the type of hemodialysis membrane on the phagocytosis of white blood cells during hemodialysis.

The aim of this study was to analyze the influence of the type of hemodialysis membrane on the phagocytosis of white blood cells during one process of hemodialysis. The type of hemodialysis membrane influences significantly the number and the functional activity of phagocytic cells. The polysulphon membrane was considered as the most biocompatible membrane. Most changes (the fall of the number of phagocytic cells, and the increase of their phagocytic activity after the start of hemodialysis) were observed during hemodialysis with cuprophane and polymethylmetacrylate membranes.

Key words: Hemodialysis; Phagocytosis; Membranes

Souhrn: Práce hodnotí vliv typu dialyzační membrány na fagocytózu leukocytů v průběhu jednotlivé dialýzy. Byl shledán statisticky signifikantní vliv typu membrány na počet a funkční aktivitu fagocytů. Jako nejvíce biokompatibilní byla hodnocena membrána polysulfonová, naopak nejvyšší míru změn vyvolala membrána kuprofanová a polymethylmetakrylátová.

Úvod

Hemodialýza jako jedna z tzv. očišťujících metod krve je založena na fyzikálním principu difuze a ultrafiltrace. Polopropustná (semipermeabilní) membrána odděluje dva tekutinové oddíly (v klinické aplikaci krev a dialyzační roztok) a pomocí koncentračního a hydrostatického rozdílu cíleně přechází z krve do dialyzačního roztoku část v krvi rozpuštěných nízk- a středněmolekulárních látek a vody.

Kontakt krve s dialyzační membránou jako cizorodým materiálem však vyvolává v těle organizovanou zánětlivou odpověď spojenou s aktivací obranných mechanismů, z části namířených i proti vlastnímu organismu. Dříve byl k posuzování těchto interakcí užíván termín hemokompatibilita, jednalo se spíše o posuzování vlivu umělého materiálu na hemolýzu a trombogenitu. Později s poznáním větší šíře vzájemných reakcí mezi krevními součástmi a umělým materiálem byl termín hemokompatibilita nahrazen termínem biokompatibilita.

Definice biokompatibility

Biokompatibilita v hemodialýze vyjadřuje míru interakcí mezi krví (zejména krevními buňkami a proteiny) s vnitřním povrchem mimotělního oběhu (zejména dialyzátoru a jeho membránou). Problém definice biokompatibilního materiálu je spojen s tím, že dosud žádný klinicky užitečný materiál nebyl shledán jako plně biokompatibilní (tj. bez jakýchkoliv lokálních a celkových reakcí organismu). Tzv. záporná definice biokompatibility (5) vyjmenovává aspekty, které umělý materiál nemá vykazovat. Materiál nemá být trombogenní, vyvolávat toxické, alergické a zánětlivé reakce, destruovat formované krevní elementy, vyvolávat změny v plazmatických bílkovinách a enzymech, vyvolávat imunologické reakce, mít karcinogenní efekt a destruovat přilehlé tkáně. Z hlediska posuzování biokompatibility dialyzační membrány je za biokompatibilní dialyzační membránu považována „ta membrána, která vyvolává u pacientů nejmenší zánětlivou odpověď“ (3).

Typy dialyzačních membrán

Základní dělení dialyzačních membrán je do dvou skupin - membrány přírodního původu (na bázi celulózy) a membrány umělé (plně syntetické).

Základním zástupcem membrán na bázi celulózy je kuprofan (Cuprophan). Surovinou při jeho výrobě je přírodní bavlna, z chemického hlediska jde o polysacharidové řetězce s navázanými volnými hydroxylovými skupinami. Jde o historicky nejstarší, přesto doposud běžně užívanou membránu (zejména pro její nízkou cenu). Pro některé vedlejší nežádoucí účinky při dialýze s kuprofanovou membránou byl v dalším průběhu její povrch modifikován a vzniklé nové typy membrán jsou označovány jako membrány ze substituované celulózy. Na povrch celulózového polymeru je místo hydroxylových skupin chemickou esterifikací navazován jiný materiál (nejčastěji celulózoacetát). Příkladem je např. membrána celulózo-triacetátová. Další modifikací je skupina tzv. celulózo-syntetických (polosyntetických) membrán. Tekutá celulóza je modifikována přidáním syntetického materiálu (nejčastěji přidavkem diethylaminoethylu), tato membrána je označena jako hemofan (Haemophan).

Druhou velkou skupinu dialyzačních membrán tvoří membrány plně syntetické. Dělíme je na membrány hydrofilního charakteru povrchu (polyester, polykarbonát, polyamid) a membrány s povrchem hydrofobním nebo apolárním (polyakrylonitril, kopolymer s methaly-sulfonátem (AN69), polysulfon, polymethylmetakrylát a další).

Důsledky bioinkompatibility pro pacienty v pravidelném dialyzačním léčeni

Projevy bioinkompatibility (zejména dialyzační membrány) jsou zodpovědné za řadu akutních i dlouhodobých komplikací dialyzovaných nemocných. Jednou z těchto komplikací je vyšší výskyt infekčních komplikací a malignit, jejichž příčina je zčásti při-

suzována poruše imunity vzniklé v souvislosti s dialyzační léčbou. Jedním ze sledovaných parametrů imunity je fagocytóza polymorfonukleárních leukocytů a monocytů a její poruchy v souvislosti s dialyzační léčbou.

Literární údaje k fagocytóze polymorfonukleárních (PMN) leukocytů u dialyzovaných pacientů

Vyšetřování fagocytárních schopností PMN leukocytů (v přítomnosti uremického séra) u dialyzovaných pacientů přineslo nejednotné nálezy, mírně převažuje počet prací popisujících sníženou fagocytózu PMN leukocytů u dialyzovaných pacientů (6 prací), menší počet prací popisuje fagocytární schopnosti u těchto pacientů jako normální (5 prací) (2). Nálezy také zavisejí na typu použitých fagocytovaných částic (Staphylococcus epidermidis nebo aureus, Candida albicans, Escherichia coli, teplem inaktivované kvasnice). Mechanismus odpovědný za oslabenou fagocytózu není známý, je možný nepříznivý vliv chronické expozice zvýšených hladin parathormonu na PMN leukocyty (s akumulací kalcia do leukocytů) (1). Książek (6) popisuje signifikantní snížení schopnosti fagocytózy u pacientů v pokročilé chronické renální insuficienci (CHRI) a před zahájením pravidelného dialyzačního léčeni (PDL), po zahájení dialyzační léčby došlo u pacientů dialyzovaných s užitím kuprofanové membrány k dalšímu signifikantnímu poklesu fagocytózy oproti pacientům dialyzovaným s užitím polysulfonové membrány. V průběhu dialýzy bylo pozorováno snížení schopnosti fagocytózy při dialýze s kuprofanovou (6), acétáto-celulózovou, polysulfonovou a polymethylmetakrylátovou membránou (7). Vliv různých membrán na metabolickou funkci fagocytů zkoumal Vanholder (9) měřením produkce CO₂. Fagocyty získané během dialýzy s různými membránami nevykazovaly za bazálních podmínek pokles funkce. U polymethylmetakrylátu a opakovaně použitého (reuzovaného) kuprofanu bylo pozorováno signifikantní zvýšení metabolismu fagocytů po expozici partikulím latexu a zymosanu.

Cíl práce

Cílem této práce bylo pozorování vlivu typu dialyzační membrány na parametry fagocytózy v průběhu jednotlivé dialýzy.

Metoda a soubor nemocných

Studie byla provedena se souborem 17 pacientů v pravidelném dialyzačním léčeni. Průměrný věk pacientů byl 66 let (od 51 do 80 let), průměrná délka dialyzačního léčeni 2 roky (od 2 do 61 měsíců). Podmínkami k výběru bylo zařazení do pravidelného dialyzačního programu, nepřítomnost známek hematologického (kromě sekundární renální anémie), onkologického, systémového nebo chronicky infekčního onemocnění (kromě pozitivivity anti-HCV). Nebyl brán zřetel na léčbu rekombinantním erythropoetinem.

U každého pacienta byly provedeny 4 dialýzy s užitím 4 různých dialyzačních membrán (kuprofan (CU) - dialyzátor Gambro GFS 16, hemofan (HE) - dialyzátor Haidylena HL160H, polysulfon (PS) - dialyzátor Fresenius F8 HPS, polymethylmetakrylát (PM) - dialyzátor Torey B2-2.0). Záměrně nebyly užity dialyzátory sterilizované etylenoxidem.

Při každé dialýze byly nabrány 3 krevní vzorky - první před zahájením dialýzy (v 0. minutě) přímo z dialyzační jehly, druhý krátce po zahájení dialýzy (v 15. minutě)

z propichovacího terčiku tzv. arteriální části dialyzačního setu (tj. krve přitékající od pacienta před průchodem dialyzátorem) a třetí po ukončení dialýzy (ve 240. minutě) přímo z dialyzační jehly.

Laboratorní vyšetření materiálu

Počet fagocytujících buněk periferní krve byl stanovován vyšetřením fagocytózy kvasinek podle Kašíka (4). 0,45 ml heparinované krve (10 j heparinu/ml) bylo inkubováno s 0,05 ml teplem inaktivované suspenze *Saccharomyces cerevisiae* (2×10^8 buněk/ml) po 1 hodinu při 37 °C za promíchávání na roleru. Po inkubaci byly zhotoveny krevní nátěry a obarveny May-Gruenwald-Giemsou. Na nátěrech byl hodnocen počet fagocytujících buněk, které pohltily alespoň jednu kvasinku, nejméně ze 200 leukocytů.

Dále byl počítán počet všech buněk schopných fagocytózy a fagocytární aktivita jako poměr počtu fagocytujících buněk k počtu všech fagocytózy schopných buněk.

Statistické hodnocení

Statistické hodnocení bylo provedeno s pomocí programu NCSS. Jednotlivé skupiny dat (výsledky měření vybraného parametru určitého časového vzorku na jednotlivé dialyzační membráně u všech pacientů) byly testovány na normalitu rozložení, vzájemné hodnocení dat s normálním rozložením bylo provedeno metodou ANOVA (Scheffého test), data s nenormálním rozložením byla hodnocena Friedmannovým testem. Statisticky porovnána byla data získaná v průběhu dialýzy na jednotlivých membránách a dále vzájemné rozdíly v průběhu a na konci dialýzy mezi membránami vzájemně. Za statistickou významnost bylo považováno $p < 0,05$.

Naše výsledky

Změny počtu fagocytujících leukocytů

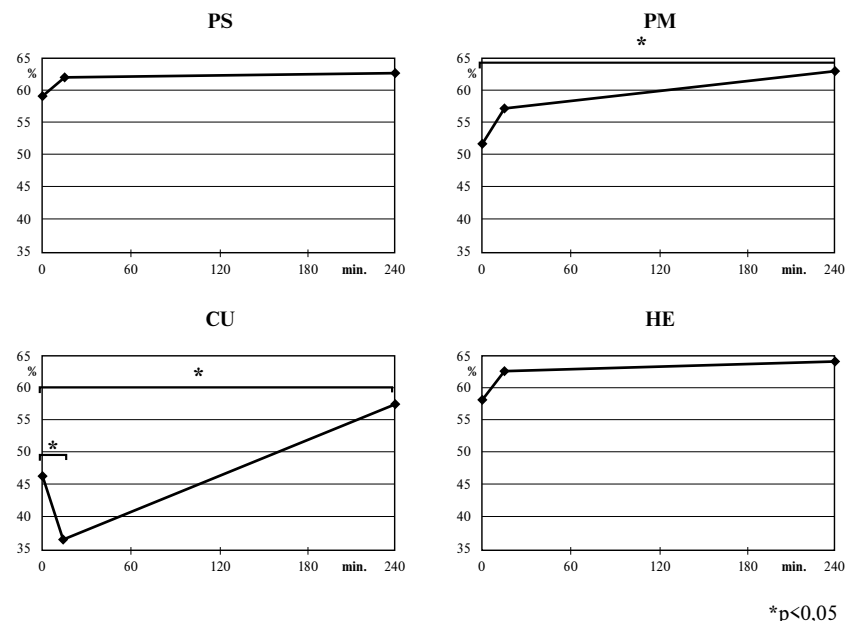
Po zahájení dialýzy došlo ke statisticky významnému poklesu počtu fagocytujících leukocytů při dialýze na CU membráně, na ostatních membránách došlo naopak k mírnému nesignifikantnímu zvýšení počtu fagocytujících leukocytů. Koncem dialýzy počet fagocytujících leukocytů na všech membránách stoupá, na PM a CU membráně je vzestup statisticky významný. Výsledky ukazuje graf 1.

Při vzájemném porovnání membrán je po zahájení dialýzy statisticky významný rozdíl (daný poklesem počtu fagocytujících leukocytů) mezi CU oproti PS, PM a HE. Na konci dialýzy je statisticky významný rozdíl mezi CU a HE. Výsledky ukazuje graf 2.

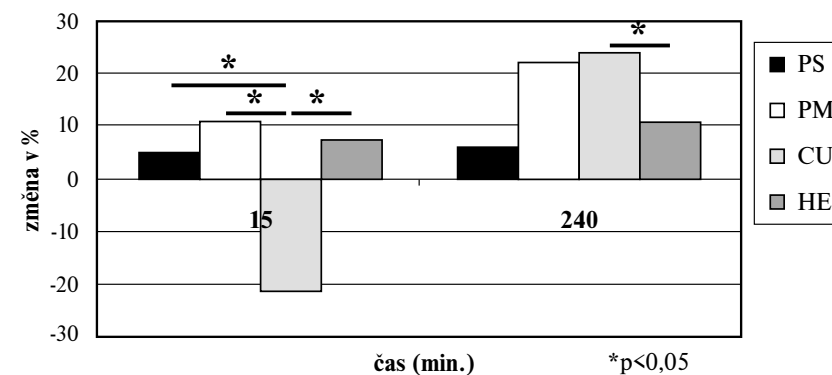
Změny počtu buněk schopných fagocytózy

Po zahájení dialýzy je statisticky významný pokles počtu buněk schopných fagocytózy při dialýze na CU membráně, na ostatních membránách jsou změny minimální, statisticky nevýznamné. Na konci dialýzy je počet buněk schopných fagocytózy na jednotlivých membránách zhruba stejný jako v úvodu dialýzy. Výsledky ukazuje graf 3.

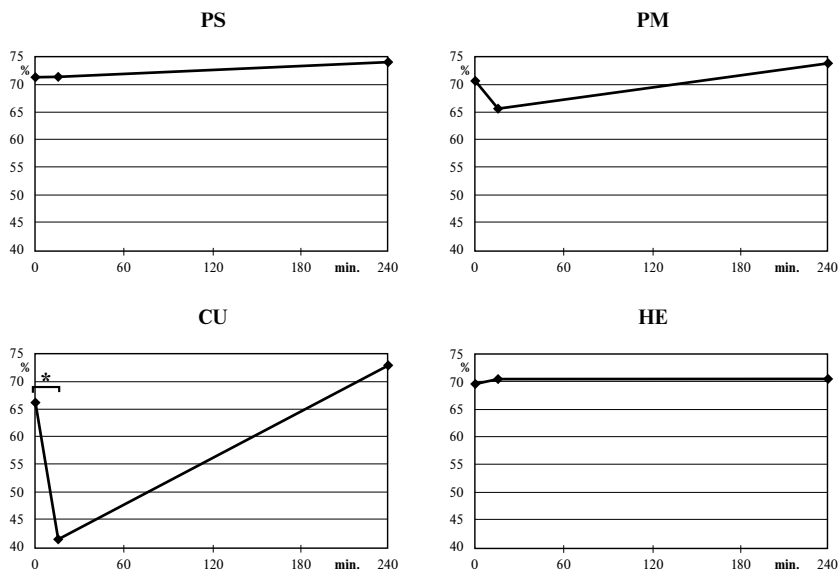
Při vzájemném porovnání membrán je po zahájení dialýzy statisticky významný pokles počtu buněk schopných fagocytózy při dialýze na CU membráně oproti PS, PM a HE membráně. Na konci dialýzy je statisticky významný vzestup počtu buněk schopných fagocytózy při dialýze na CU oproti PS a HE. Výsledky ukazuje graf 4.



Graf 1: Změny počtu fagocytujících leukocytů v průběhu dialýzy na jednotlivých membránách.

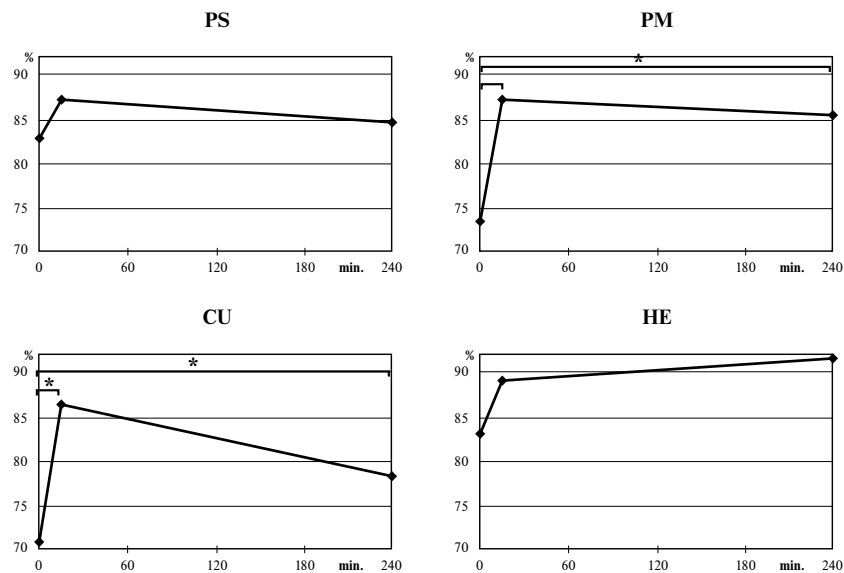


Graf 2: Změna počtu fagocytujících leukocytů v 15. a 240. min. dialýzy.



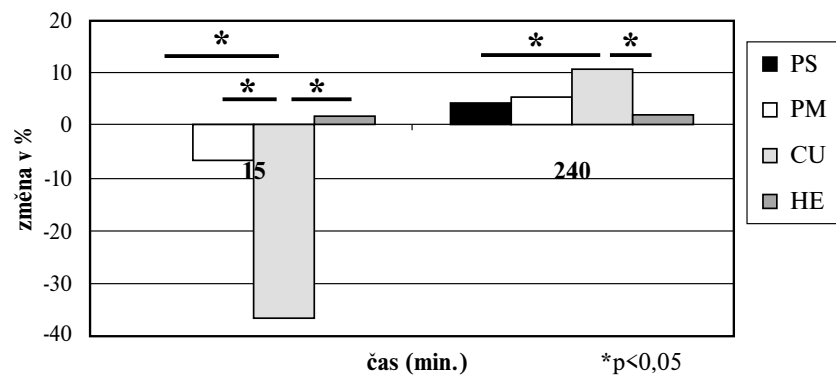
*p<0,05

Graf 3: Změny počtu buněk schopných fagocytózy v průběhu dialýzy na jednotlivých membránách.



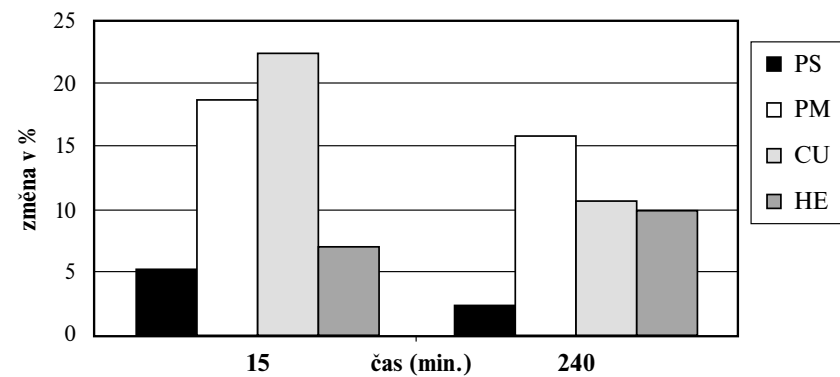
*p<0,05

Graf 5: Fagocytární aktivita v průběhu dialýzy na jednotlivých membránách.



*p<0,05

Graf 4: Změna počtu buněk schopných fagocytózy v 15. a 240. min. dialýzy.



Graf 6: Změna fagocytární aktivity v 15. a 240. min. dialýzy.

Změny fagocytární aktivity

Po zahájení dialýzy je statisticky významný vzestup indexu fagocytární aktivity při dialýze na PM a CU membráně, na PS a HE membráně je vzestup fagocytární aktivity po zahájení dialýzy nesignifikantní. Koncem dialýzy fagocytární aktivita na všech membránách mírně klesá, ale přesto je její vzestup oproti úvodu dialýzy na PM a CU membráně statisticky významný. Výsledky zobrazuje graf 5.

Při vzájemném porovnání změn fagocytární aktivity v průběhu dialýzy mezi membránami vzájemně jsou nejvíce vyjádřeny změny na PM a CU membráně, nejmenší změny vykazala PS membrána. Statistické zhodnocení vzájemného porovnání membrán nebylo možné pro statistickou rozdílnost dat z úvodu dialýzy.

Rozprava k výsledkům

Počet fagocytujících leukocytů byl u našich pacientů před zahájením dialýzy v normálním rozmezí. Po zahájení dialýzy došlo v 15. minutě ke statisticky významnému poklesu fagocytujících leukocytů a buněk schopných fagocytózy při dialýze na kuprofanové membráně, a to jak oproti úvodu kuprofanové dialýzy, tak vůči ostatním membránám. Tento rozdíl lze z části vysvětlit změnou diferenciálního rozpočtu leukocytů (signifikantnímu vzestupu lymfocytů) v 15. minutě dialýzy, který je u kuprofanové membrány nejprůkaznější (8).

Vzestup počtu fagocytujících leukocytů a buněk schopných fagocytózy na konci dialýzy s kuprofanovou membránou lze vysvětlit souvislostí se signifikantním vzestupem („přestřelením“) počtu leukocytů na konci dialýzy s kuprofanovou membránou, neboť vlastní změna relativního zastoupení lymfocytů na konci dialýzy již není významná (8).

Index fagocytární aktivity, ukazující na funkční schopnost fagocytů pohltit partikuli, byl u našich pacientů před dialýzou v normálním rozmezí. Po zahájení dialýzy došlo ke vzestupu fagocytární aktivity, na kuprofanové a polymethylmetakrylátové membráně byl vzestup signifikantní. Toto zvýšení lze vysvětlit akcentací aktivace buněk k fagocytóze, např. jedním z faktorů aktivace fagocytózy jsou produkty aktivace komplementu (C3a, C5a), jejichž hladina v souvislosti s dialýzou a typem membrány stoupá. Signifikantní vzestup indexu fagocytární aktivity trvá u kuprofanové a polymethylmetakrylátové membrány i na konci dialýzy. Lze vyvodit, že kontakt fagocytů s méně biokompatibilní membránou vede ke vzestupu aktivity fagocytů, naopak biokompatibilnější membrána aktivitu fagocytů nemění.

Závěr

Uvedené výsledky ukazují na významný vliv typu dialyzační membrány na kvantitativní i kvalitativní parametry fagocytózy v průběhu hemodialýzy. Nejvyšší míru změn vykazala kuprofanová a polymethylmetakrylátová membrána. Nejnižší míru změn vykazala membrána polysulfonová, kterou je možno v tomto parametru označit za nejvíce biokompatibilní.

Poděkování

Naše poděkování patří prof. MUDr. P. Stránskému, CSc., přednostovi ústavu lékařské biofyziky LF UK v Hradci Králové, za vydatnou pomoc při statistickém hodnocení dat.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR 4565-3.

Literatura

1. Alexiewicz JM, Smogorzewski M. Impaired phagocytosis in dialysis patients, studies on mechanisms. Am J Nephrol 1991;11:102-11.
2. Fixa P. Změny imunity hemodialyzovaných nemocných. Disertační práce, Hradec Králové, 1994:220.
3. Ismail N, Hakim R. Clinical consequences of hemodialysis membrane biocompatibility. In: UpToDate in Nephrology, 1999;7(3).
4. Kašlík J, Kočandrlé V, Hašková V. Některé možnosti objektivního hodnocení imunosuprese u pacientů po transplantaci ledvin. Prakt Lék 1979;59:297-301.
5. Kováč A. Hemodialýza v praxi. 1.vyd., Martin: Osveta, 1993:320.
6. Książek A, Koziol M. Phagocytic function of neutrophils during dialysis in relation to some immunological findings. Nephrol Dial Transplant 1991;suppl.2:91-5.
7. Schauer S, Stein G. Phagocytosis activity of polymorphonuclear cells of normal person and dialysis patients is influenced by different dialysis membranes. Nephrol Dial Transplant 1991;suppl.3:35-40.
8. Štílec R. Vybrané imunitní parametry jako marker biokompatibility dialyzačních membrán. Disertační práce, Hradec Králové, 1999:67.
9. Vanholder R, Van Landschoot N, Waterloos MA. Phagocyte metabolic activity during hemodialysis with different dialyzers not affecting the number of circulating phagocytes. Int J Artif Organs 1992;15:89-92.

MUDr. Roman Štílec,
Fakultní nemocnice v Hradci Králové,
I. interní klinika,
500 05, Hradec Králové.
e-mail: stilec@fnhk.cz

ORIGINÁLNÍ PRÁCE

**ZLOM VE VÝVOJI REZISTENCE KMENŮ KLEBSIELLA
PNEUMONIAE A PSEUDOMONAS AERUGINOSA
IZOLOVANÝCH NA JEDNOTCE INTENZIVNÍ PÉČE
NEUROCHIRURGICKÉ KLINIKY FN V HRADCI KRÁLOVÉ
V LETECH 1995 - 1999**

Ladislav Žabka¹, Pavel Čermák², Petra Šleszarová³, Zuzana Škrabková⁴

Fakultní nemocnice v Hradci Králové: Neurochirurgická klinika¹, Ústav klinické mikrobiologie²; Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta: Katedra sociální a klinické farmacie³; Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové: Ústav lékařské biofyziky⁴

Summary: Break in the development of resistance of *Kl.pneumoniae* and *Ps.aeruginosa* strains at Neurosurgical Intensive Care Unit (NSCU).

Objective: To study antibiotic resistance of *Kl.pneumoniae* and *Ps.aeruginosa*, outcome of patient care and antibiotic use. Methods: The data were obtained from all investigated specimens in years 1995 -1999. Identification of pathogens and susceptibility tests (disc diffusion method) were based on the NCCLS. Antibiotic consumption was observed in defined daily doses (DDDs). Results: 734 consecutive non repetitive strains of *Kl. Pneumoniae* and 572 of *Ps.aeruginosa* were tested. *Kl.pneumoniae* had invariably high resistance to ampicilin/sulbactam (APS) and amoxicilin/clavulanate (AMC) 64,0% - 92,0%. Resistance to cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ) and amikacin (AKN) increased to maximum in 1997 (CTX 55,9%, CAZ 64,2%, AKN 51,2%) and then decreased to 8,3% (CTX), 6,7% (CAZ) and 4,6% (AKN). Resistance to ciprofloxacin (CIP), piperacilin/tazobactam (TZP) and cefoperazon/sulbactam (CPS) had similar evolution. Resistance of *Ps.aeruginosa* to CAZ increased to 38,7% (1998) and then decreased to 12% (1999). Aminoglykosides and chinolons had similar results. Antibiotic consumption in 1998: APS + AMC (2256 DDDs), chinolons (190 DDDs), aminoglykosides (149 DDDs) and 3.rd gen cephalosporins (117 DDDs). Conclusions: The decrease of antibiotic resistance to all antibiotics was achieved with the introduction of rigorous antibiotic prophylaxis, coordinated antibiotic therapy, regular and indicated cultures, enhanced standartized patient care as well as with better technical and material equipment. A mar-

ked decrease of nosocomial infection number, lower expenditures for infections complications treatment and shortened hospital stay were observed.

Key words: Atibiotics; Resistance; Intensive care

Souhrn: Cíl práce: Studium rezistencí kmenů *Kl. pneumoniae* a *Ps. aeruginosa*, výsledků péče o pacienta a používání antibiotik. Metody: Data byla získána ze všech vyšetřovaných vzorků v letech 1995-1999. Identifikace patogenů a testy citlivostí difúzní diskovou metodou byly provedeny v souladu s předpisy NCCLS. Spotřeba antibiotik byla sledována v definovaných denních dávkách (DDD). Výsledky: Celkem bylo testováno 734 po sobě jdoucích neopakujících se kmenů *Kl. pneumoniae* a 572 kmenů *Ps. aeruginosa*. *Kl. pneumoniae* byla stabilně rezistentní na ampicilin/sulbactam (APS) a amoxicilin/kys. klavulanová (AMC) v rozmezí 64,0 % - 92,0 %. Rezistence na cefotaxim (CTX), ceftazidim (CAZ) a amikacin (AKN) stoupala na maximální hodnoty v roce 1997 (CTX 55,9 %, CAZ 64,2 %, AKN 51,2 %), poté klesla na 8,3 % (CTX), 6,7 % (CAZ) a 4,6 % (AKN). Rezistence na ciprofloxacín (CIP), piperacilin/tazobactam (TZP) a cefoperazon/sulbactam (CPS) měly podobný vývoj. Rezistence *Ps. aeruginosa* na CAZ vzrostla na 38,7 % (1998) a poté klesla ke 12 % (1999). Aminoglykosidy a chinolony měly podobný vývoj. Spotřeba antibiotik v roce 1998: APS + AMC (2256 DDD), chinolony (190 DDD), aminoglykosidy (149 DDD), cefalosporiny 3. gen. (117 DDD). Závěr: Snížení rezistence na všechna antibiotika bylo dosaženo především zavedením přísné antibiotické profylaxe, koordinovaným přístupem k terapii antibiotiky, pravidelnými a indikovanými odběry materiálu na kultivaci a citlivost, zvýšenou péčí o pacienta podle vypracovaných standardů a lepšími technickým zabezpečením. To se projevilo na výrazném snížení počtu nozokomiálních infekcí, nižšími náklady na léčbu infekčních komplikací a zkrácením doby hospitalizace.

Úvod

Nozokomiální infekce způsobené rezistentními kmeny bakterií jsou závažným problémem zejména na jednotkách intenzivní péče (1). Komplikují léčbu a podstatným způsobem zvyšují náklady na hospitalizaci (2). Nejčastějšími původci těchto infekcí jsou podle studie EPIC (3) enterobakterie, *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*. Jako jeden z rizikových faktorů podílejících se na rozvoji nozokomiální nákazy jsou uváděna antibiotika (4) vytvářející selekční tlak, na jehož základě se rozvíjí rezistence (5,6,7,8). Rezistence je často přenosná na další bakteriální kmeny (9,10,11). Vznik rezistence na cefalosporiny 3. generace byl pozorován u enterobakterií (12,13) a pneumokoků (14) již v průběhu terapie. Z těchto důvodů je velmi důležité neustálé monitorování rezistence nejčastěji se vyskytujících nozokomiálních patogenů a vyhodnocování účinnosti metod používaných k omezení vzniku a šíření nozokomiálních infekcí. *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* patří v posledních letech k problematickým patogenům vyskytujícím se na jednotce intenzivní péče neurochirurgické kliniky. V této

práci jsme se snažili nalézt vztah mezi výskytem těchto patogenů, vývojem jejich rezistencí a novými metodami péče o pacienta, které byly na tomto oddělení ve sledovaném období zavedeny do praxe.

Materiál a metody

Testované kmeny: Všechny kmeny zachycené z klinického materiálu sledovaného oddělení byly kultivovány a identifikovány standardními postupy.

Vyšetření citlivosti: K testům citlivosti byla použita standardní disková metoda na testovací půdě Mueller Hinton firmy Sanofi Pasteur. Jednotlivá antibiotika byla testována pomocí papírových disků rovněž od firmy Sanofi Pasteur. Provedení a hodnocení diskové metody bylo v souladu s předpisy NCCLS, USA.

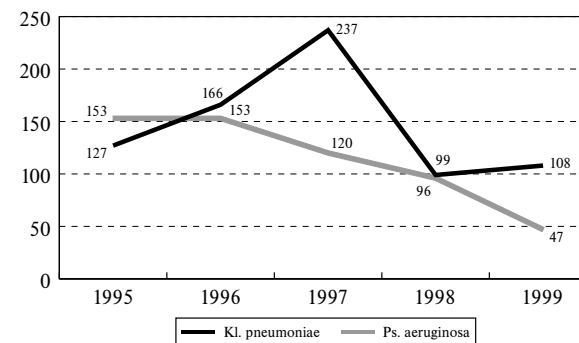
Zpracování dat: Vlastní programový systém pracující v prostředí Fox-Pro. Výběr dat byl prováděn na základě jednoznačného názvu patogenu. Za stejný kmen byly považovány všechny izolace stejného kmene od téhož pacienta, pakliže se jejich citlivost nelišila ve více než v jednom antibiotiku a mezi jejich záchytem neuplynula doba větší než padesát dní.

Spotřeba antibiotik: Antibiotika byla rozdělena na základě ATC klasifikace a spotřeba antibiotik byla hodnocena v definovaných denních dávkách (DDD) (15).

Statistické vyhodnocení: Statistická významnost změn rezistencí sledovaných bakteriálních patogenů na vybraná antibiotika byla hodnocena pomocí χ^2 testu, testu linearitý trendu a Armitageova testu.

Výsledky

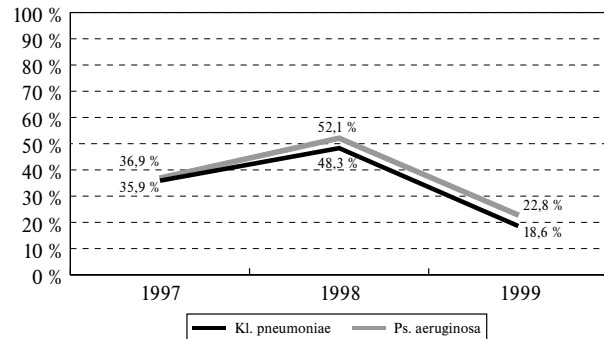
V období pěti let (1995-1999) bylo vyhodnoceno 734 kmenů *Kl. pneumoniae* a 572 kmenů *Ps. aeruginosa*. Jejich distribuci v čase zachycuje graf 1. Počet infekcí *Ps. aeruginosa* se od roku 1996 snižuje, s největším poklesem v roce 1999 (49 % hodnoty roku 1998). *Kl. pneumoniae* zaznamenala strmý nárůst s maximem v roce 1997 a vzápětí ještě prudší pokles v roce 1998 na pouhých 40 % této hodnoty.



Graf 1: Počet izolovaných kmenů.

Rezistence na antibiotika a chemoterapeutika:

Peniciliny: Ve standardních antibiotických sestavách byly testovány u těchto patogennů pouze potencované aminopeniciliny od roku 1997- ampicilin/sulbactam (APS), amoxicilin/kys. klavulanová (AMC) a piperacilin/tazobactam (TZP). *Ps. aeruginosa* je na APS a AMC prakticky stoprocentně rezistentní po celé sledované období, rovněž *Kl. pneumoniae* je na tyto preparáty vysoce rezistentní. Oba patogeny měly velmi podobnou rezistenci na TZP, která vzrostla ze 36 % v roce 1997 na 50 % v roce 1998 a poté prudce klesla až na hodnoty okolo 20 % v roce 1999 (graf 2).

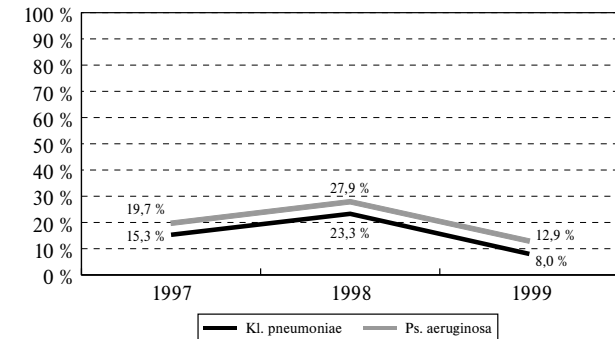


Graf 2: Rezistence na Piperacilin/tazobactam.

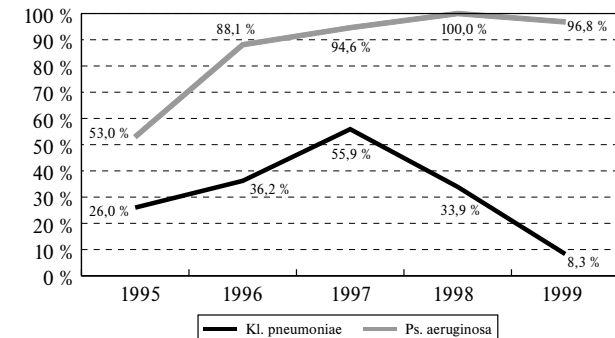
Cefalosporiny: V průběhu celého období byly u všech kmenů testovány cefotaxim (CTX) a ceftazidim (CAZ). Podobně jako potencované aminopeniciliny byl od roku 1997 testován cefoperazol/sulbactam (CPS). Vývoj rezistence obou patogenů na CPS (graf 3) je velmi podobný TZP, hodnoty rezistence jsou vždy přibližně o 10 % nižší. Výsledky CTX a CAZ zachycují grafy 4 a 5. Rezistence *Ps. aeruginosa* na CTX strmě vzrostla až na hodnoty blízké 100 % (1998, 1999). Podobně stoupala rezistence na CAZ až do roku 1998 (maximum 38,7 %), poté ale došlo k prudkému poklesu v roce 1999 až na třetinovou hodnotu (12 %). *Kl. pneumoniae* zaznamenala u CTX a CAZ podobný, ještě výraznější průběh. Na obě antibiotika byly velmi podobné hodnoty rezistence, které stoupaly z hodnot okolo 25 % až k maximům (55,9 % a 64,2 %) v roce 1997 a poté velmi prudce klesly pod 10 % v roce 1999.

Aminoglykosidy: Gentamicin (GEN), netilmicin (NET) a amikacin (AKN) byly testovány po celé období u všech kmenů. Rezistence *Ps. aeruginosa* na všechny tři preparáty postupně stoupala až k maximům - GEN 62,1 % (1998), NET 43,3 % (1997), AKN 30,8 % (1997), poté došlo k poklesu až na poloviční hodnoty (1999). *Kl. pneumoniae* byla po celé období vysoce rezistentní na GEN (>70 %). Rezistenci na NET a AKN zachycují grafy 6 a 7.

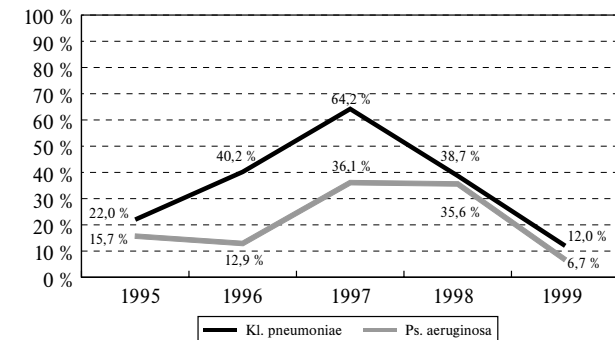
Ciprofloxacín byl testován v letech 1996-1999. Rovněž zde je prudký nárůst rezistence (graf 8) s maximy v letech 1997 a 1998, následovaný návratem na výchozí hladiny rezistence (1999).



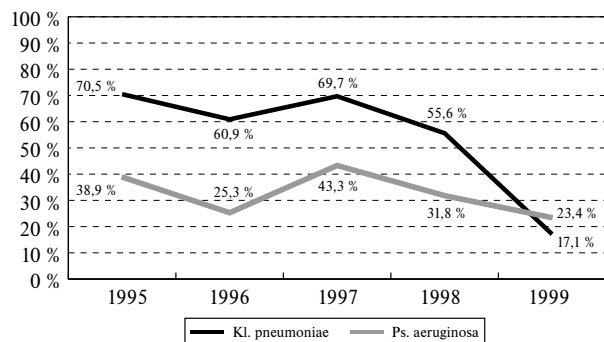
Graf 3: Rezistence na Cefoperazol/sulbactam.



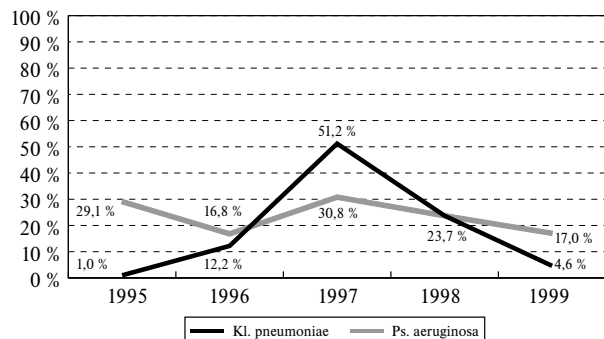
Graf 4: Rezistence na Cefotaxim.



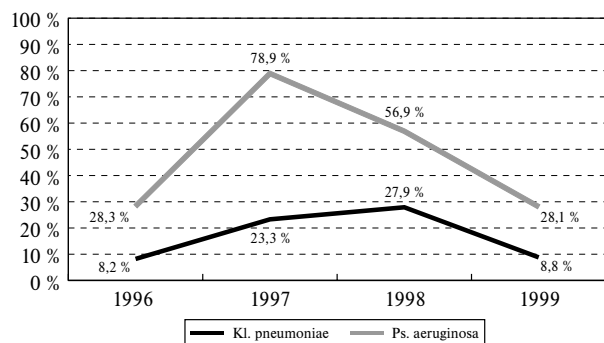
Graf 5: Rezistence na Ceftazidim.



Graf 6: Rezistence na Netilmicin.



Graf 7: Rezistence na Amikacin.



Graf 8: Rezistence na Ciprofloxacin.

Všechny změny rezistencí u *Kl. pneumoniae* byly statisticky významné na hladině 5% a nižší. U *Ps. aeruginosa* nebyla prokázána statistická významnost změn rezistencí u AKN, CTX a CPS v letech 1997-1999. Linearitu trendů rezistencí v časových obdobích 1995-1997 a 1997-1999 zachycují tabulky 1 a 2. Znak ↑, ↓ a O znamenají statisticky významný trend vzestupu, poklesu a žádný trend. Pro hodnocení CPS a TZP byl použit Armitageův test.

Tab. 1: Test linearity trendu.

	Ps. Aeruginosa		Kl. pneumoniae	
	1995 - 1997	1997 - 1999	1995 - 1997	1997 - 1999
CTX	↑	O	↑	↓
CAZ	↑	↓	↑	↓
AKN	O	↓	↑	↓
NET	O	↓	O	↓
CIP	↑	↓	↑	↓

Tab. 2: Armitageův test.

	Ps. Aeruginosa		Kl. pneumoniae	
	1995 - 1997	1997 - 1999	1995 - 1997	1997 - 1999
TZP	↑	↓	↑	↓
CPS	O	↓	O	↓

Diskuse

Naprostá většina změn rezistencí sledovaných patogenů na vybraná antibiotika a chemoterapeutika je statisticky významná včetně trendů změn. Výsledky rozboru ukazují na nepříznivý vývoj nozokomiálních infekcí na jednotce intenzivní péče neurochirurgické kliniky v letech 1995 až 1997. Největším problémem byly rychle se šířící kmeny *Kl. pneumoniae*, které začaly vytlačovat i do té doby dominantní kmeny *Ps. aeruginosa*. Prudce stoupající rezistence obou patogenů na potencované aminopeniciliny, cefalosporiny, amikacin a ciprofloxacin svědčí o vysokém antibiotickém tlaku, který byl vyvíjen k potlačení infekčních komplikací. Rok 1998 byl přelomem v činnosti oddělení. Došlo k personálním změnám vedení oddělení, zároveň byly přijaty zásadní změny v organizaci oddělení a v péči o pacienty. Dají se shrnout do těchto bodů:

1. Od r. 1998 přísně uplatňujeme algoritmus antibiotické profylaxe (protokol u autora).
2. Snažíme se o koordinovaný přístup k indikacím a terapii antibiotiky (přísně podle kultivace a citlivosti, v nejasných případech konzultace s antibiotickým centrem fakultní nemocnice).
3. Provádíme pravidelné odběry materiálu (pondělí, středa, sobota - sputum, pondělí, sobota - moč, dále vždy po zrušení vstupů, drenů apod.).
4. Jsou zajištěny indikované odběry materiálu (např. hemokultury při vzestupu teplot).
5. Proti minulým letům se výrazně zlepšila péče o pacienta po ošetřovatelské stránce (pravidelná toaleta podle předem vypracovaných standardů, přísně sterilitní zavádění vstupů apod.).

- Zásadně se zlepšilo a změnilo technické zabezpečení pracoviště (pomůcky na jedno použití, uzavřené systémy ventilace, odsávání a močové drenáže. Víceluminové katetry do centrálních žil. Rigorózní používání kombinovaných filtrů, zvlhčování a ohřívání kyslíku při otevřených dýchacích cestách – intubace a tracheostomie apod.).
- Samozřejmostí jsou periodické výměny vstupů (arterie – 5. den, centrální žilní vstup – 7. den, periferní žíly – 3. den dle stavu periferních žil, tracheostomie – 7. den, žaludeční sonda – 7.-10. den, močový katétr – 14. den, dýchací okruhy ventilátorů – 5. den atd.).

Přijatá opatření se ukázala jako velice efektivní a během krátké doby se promítla do oblasti nozokomiálních infekcí. Počet infekcí způsobených *Kl. pneumoniae* a *Ps. aeruginosa* se snížil o 60 %. V případě *Kl. pneumoniae* dokonce v průběhu jediného roku. Velmi zajímavý je pokles rezistencí obou patogenů. Rezistence na TZP a CPS klesly během posledního roku o více než 50 %, ještě markantnější je snížení rezistencí na CAZ, CIP a AKN. Kmeny *Kl. pneumoniae*, zejména produkující širokospektrou betalaktamazu (ESBL), byly v letech 1995 – 1997 nejdynamičtější se rozšiřujícím původcem nozokomiálních infekcí na jednotce intenzivní péče. I když produkce ESBL nebyla standardně testována, lze tak usuzovat jak z počtu izolovaných kmenů, tak ze vzestupu rezistence na cefalosporiny třetí generace na hodnoty převyšující 60 %. Následný pokles rezistence (hodnoty pod 10 %) svědčí o eliminaci většiny producentů ESBL. Mírný vzestup počtu izolovaných kmenů při současném poklesu rezistencí v roce 1999 byl nejspíše způsoben skladbou pacientů, kteří byli osídleni vlastní bakteriální flórou. Vysoká rezistence *Ps. aeruginosa* na CTX je pro tento patogen charakteristická.

Rezistence na antibiotika koreluje s jejich spotřebou. Bohužel jsou k dispozici pouze údaje z roku 1998, období reorganizace oddělení. Nejvíce aplikovanými léky byly potencionálně aminopeniciliny, vyhrazené pro profylaktické zajištění operačních výkonů. Tomu odpovídá vysoká rezistence, zjištěná u kmenů způsobujících infekční komplikace. Pro jejich terapii se nelze použít; jako peroperační zajištění mají stále svůj smysl, protože jsou podávány pacientům, kteří většinou ještě nejsou osídleni nemocniční flórou, ještě před příchodem na oddělení. S poměrně velkou spotřebou kotrimoxazolu by mohla souviset vysoká rezistence sledovaných patogenů na gentamicin, která je přenášena stejným plasmidem (16). Podstatně nižší spotřeba a pořadí ostatních skupin antibiotik svědčí o cílené terapii směřující k eliminaci nozokomiální infekce (*Kl. pneumoniae* – karbapenemy, *Ps. aeruginosa* – CPS).

Závěr

Výsledky práce zcela jednoznačně ukazují na skutečnost, že nozokomiální infekce, v tomto případě způsobené *Kl. pneumoniae* a *Ps. aeruginosa*, jsou závažným problémem všude tam, kde se pečuje o těžce postižené pacienty. Nekoordinovaný přístup k jejich terapii vede ke vzniku rezistencí bakteriálních patogenů, ztrátě účinnosti většiny antibakteriálních léků a následně ke vzestupu počtu nozokomiálních infekcí. Tento zdánlivě začarovaný kruh lze úspěšně rozetnout dostupnými prostředky, kterými jsou:

- Antibiotická profylaxe.
- Koordinovaný přístup k indikacím a terapii antibiotiky.
- Pravidelné a indikované odběry materiálů.
- Zvýšená péče o pacienta po ošetřovatelské stránce podle vypracovaných standardů.

- Přísně sterili zavadění vstupů a jejich periodické výměny.
- Technické zabezpečení – pomůcky a spotřební materiál na jedno použití, uzavřené systémy ventilace, odsávání, močové drenáže.
- Rigorózní používání filtrů, zvlhčování a ohřívání kyslíku při otevřených dýchacích cestách.

Zvýšené náklady na tuto péči se vrátí v nižších nákladech na terapii infekčních komplikací, výrazně sníženém počtu nozokomiálních infekcí, výrazně snížené rezistencí na antibiotika, a tím jejich lepší účinnosti, zkrácením doby hospitalizace a především v profitu pro pacienta.

Literatura

- Archibald L, Philips L, Monnet D et al. Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: Increasing importance of the intensive care unit. *Clin Infect Dis* 1997;24:211-5.
- Šrámková H a kol.. Nozokomiální nákazy. Praha: Maxdorf, 1995:156.
- Vincent JL, Bihari DJ, Suetr PM et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. *JAMA* 1995;274(8):639-44.
- Girou E, Stephan F, Novara A, Safar M, Fagon JY. Risk factors and outcome of nosocomial infections: Result of a matched case-control study of ICU patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1151-8.
- Frieland IR, Funk E, Khoosal M, Klugman KP. Increased resistance to amikacin in a neonatal unit following intensive amikacin usage. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36(8):1596-600.
- Villers D, Espanze E, Coste-Burel M et al. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections. *Microbiological and Clinical Epidemiology*. *Ann Intern Med* 1998;129:182-9.
- Troillet N, Samore MH, Carmeli Y. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Risk factors and antibiotic susceptibility patterns. *Clin Infect Dis* 1997;25:1094-8.
- Moellering RC. Interaction between antimicrobial consumption and selection of resistant bacterial strains. *Scand J Infect Dis* 1990; Suppl 70:18-24.
- Hanzen J, Bologová M, Babalová M et al. Přímý transfer rezistence na ceftazidim u nozokomiálních kmenů *Klebsiella pneumoniae* produkujících širokospektrové beta-laktamázy. *Remedia Klin Mikrobiol* 1998;8:273-6.
- Bláhová J, Králíková K, Krčméry V et al. Transfer rezistence na cefalosporiny 3.generace u kmenů *Enterobacter cloacae*, produkujících beta-laktamázy s rozšířeným spektrem účinku, z troch nemocnic. *Remedia Klin Mikrobiol* 1998;8:277-83.
- Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998;351:797-99.
- Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM et al. Enterobacter bacteremia: Clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med* 1991;115(8):585-90.
- Husni RN, Goldstein LS, Arroliga AC et al. Risk factors for an outbreak of multi-drug-resistant *Acinetobacter* nosocomial pneumonia among intubated patients. *Chest* 1999;115:1378-82.
- Buckingham SC, Brown SP, San Joaquin VH. Breakthrough bacteremia and meningitis during treatment with cephalosporins parenterally for pneumococcal pneumonia. *J Pediatr* 1998;132:174-6.
- WHO Collaborating Center for Drug Statistics and Methodology. Antimicrobial therapeutic chemical (ATC) classification index (including Defined Daily Doses (DDDs) for plain substances). Oslo WHO 1994;308.
- Wiener J, Quinn JP, Bradford PA et al. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA* 1999;281(6):517-23.

MUDr. Ladislav Žabka,
Fakultní nemocnice v Hradci Králové,
Neurochirurgická klinika,
500 05 Hradec Králové.
e-mail: zabkal@lfhk.cuni.cz

VYŽÁDÁNO REDAKCÍ

NOVÉ POZNATKY O KMENOVÝCH BUŇKÁCH

Jaroslav Mokrý

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové: Ústav histologie a embryologie

Summary: New pieces of knowledge about stem cells.

Stem cells are endowed with unique properties, which include e.g. unlimited capacity for proliferation and self-renewal as well as ability to produce the other types of differentiated cells in each tissue. Therefore stem cells represent a key element responsible for generation and regeneration of tissues in the course of life. The article brings a review on latest discoveries, which implicate a broad potential of stem cells for treatment of multiple human diseases.

Key words: Stem cells; Adult tissues; Embryonic stem cells; Differentiation potential

Souhrn: Kmenové buňky (KB) jsou nadány jedinečnými vlastnostmi, které zahrnují např. schopnost neomezené proliferace a sebeobnovy a schopnost produkce ostatních typů diferencovaných buněk v tkáni. Díky těmto vlastnostem představují KB klíčový element zodpovědný za tvorbu tkání i jejich regeneraci v průběhu života. Článek přináší přehled o posledních objevech, které přibližují KB pro biomedicínské aplikace.

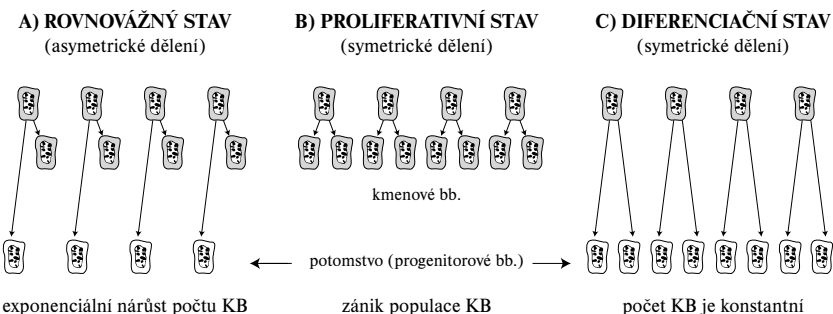
Kmenové buňky (KB) jsou buněčnou populací, která se svými vlastnostmi zcela odlišuje od všech ostatních buněk v tkáni. KB představují **relativně nezralé buněčné elementy** a jako takové jsou **obdařeny schopností vysoké (neomezené) proliferační aktivity**. Za normálních okolností se KB **dělí asymetricky**, tj. při tomto mitotickém dělení vznikají dvě nerovnocenné dceřiné buňky (obr. 1, 2). Jedna z nich je fenotypicky totožná s mateřskou KB a zaujímá v tkáni její místo, zatímco druhá, progenitorová buňka, je předurčena k diferenciaci ve zralé typy buněk tvořících danou tkáň. Díky tomuto způsobu dělení je **zásoba KB v tkáních nevyčerpateľná** - KB je schopna sebeobnovy! Přes schopnost neomezené proliferace vystupují **KB v dospělých tkáních jako relativně klidové buňky** - buňka vstupuje do buněčného cyklu jen tehdy, když je potřeba doplnit počet buněk

v tkáni na normální hodnotu (1). K masivní aktivaci KB dochází např. při poškození tkáně a KB tak představují hlavní **element zodpovědný za regeneraci tkáně**. Přestane-li aktivační signál působit, KB opět co nejrychleji přejdou do klidového stavu. Tato vlastnost činí KB značně odolnými vůči poškození radiací, cytostatiky atd. Obnovu většiny tkáně tedy nezprostředkují samy KB, ale progenitorové buňky, které několikanásobným dělením vytvoří potřebný počet buněk (obr. 3).

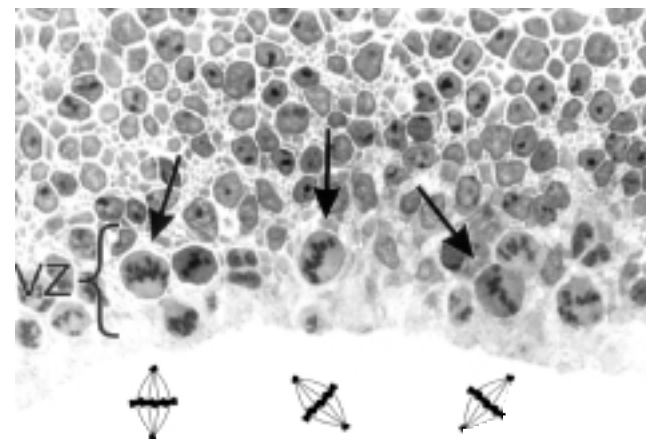
Za své unikátní vlastnosti vděčí KB skutečnosti, že jsou založeny v časných fázích ontogeneze. Buňky formující morulu jsou **totipotentní** (a tudíž prakticky identické). Z buněk embryoblastu vznikají buňky tvořící jednotlivé zárodečné listy - tyto KB lze charakterizovat jako **pluripotentní**. Z nich jsou v počátcích organogeneze odvozeny organotypické (**orgánové či tkáňově specifické**) KB, které se podle typu tkáně chovají jako multipotentní, bipotentní nebo unipotentní KB. Teprve tento typ KB je zodpovědný za vytvoření, růst a regeneraci tkáně daného orgánu. Z uvedených faktů vyplývá, že v organismech existuje více generací KB lišících se svým diferenciačním potenciálem. Další typickou vlastností **embryonálních KB** je, že **čile proliferují** (na rozdíl od relativně klidových KB dospělých tkání). Předpokládá se, že v časném období vývoje se počet KB zvětšuje symetrickým dělením (obr. 1). Vznikající orgán je tedy nejprve tvořen výhradně KB. Od určitého okamžiku přibývá diferencujících se buněk, přičemž počet KB zůstává nezměněn (tj. s růstem orgánu se procento KB relativně snižuje).

In vitro se podařilo izolovat první **linie totipotentních KB** z myších embryí v r. 1981 (6,14). Tyto buňky vykazují neomezený proliferační potenciál, přičemž i po dlouhodobé kultivaci si uchovávají fenotyp nediferencovaných buněk a jejich karyotyp zůstává stabilní (diploidní). Nejpozoruhodnější vlastností těchto KB je jejich schopnost začinit se (po jejich vpravení do blastocysty) do všech tkání vyvíjejícího se embrya. U těchto chimerických myší tvoří buňky odvozené od implantovaných KB dokonce i část (plně funkčních) pohlavních buněk. Linie totipotentních KB lze získat dvojím způsobem. První spočívá v pěstování buněk izolovaných z časné blastocysty; z tohoto důvodu se tyto KB označují jako **embryonální kmenové buňky** (ES - *embryonic stem cells*). ES buňky lze bez omezení expandovat *in vitro* pomocí cytokinu LIF (*leukaemia inhibitory factor*), který zabráňuje jejich vyžívání. Druhý způsob pro získání linie totipotentních KB používá prvopohlavní buňky izolované z *plica genitalis* časného embrya (15,20,22). Tyto buňky se *in vitro* exponují směsí faktorů, která obvykle zahrnuje fibroblastový růstový faktor -2 (FGF-2 - *fibroblast growth factor 2*), *stem-cell factor* a LIF. Jejich působením se prvopohlavní buňky dediferencují a přeprogramují v tzv. **embryonální zárodečné kmenové buňky** (EG - *embryonic germ cells*). ES a EG buňky jsou odvozeny z normálních tkání a nejsou geneticky modifikované.

Badatelé fascinovala zejména schopnost ES/EG buněk produkovat nejrůznější typy diferencovanějších buněk *in vitro*. K navození diferenciace je nezbytné odnětí LIF. Při agregaci ES buněk vznikají tzv. embryoidní tělíska, v nichž buněčná diferenciace napodobuje vyžívání buněk ve žlutkovém váčku a jednotlivých zárodečných listech. Tyto buňky lze převést na vhodný substrát a různými stimuly lze navodit jejich vyžívání v buňky kosterní či srdeční svaloviny, v endotelové buňky, adipocyty, keratinocyty, hematopoetické buňky, neurální prekurzory atd. Z kultur ES buněk se podařilo izolovat i organotypické KB, např. neurální kmenové buňky a prekurzory neuronálních i gliových buněk (17). Diferenciace potomstva ES buněk v podmínkách *in vitro* však není kom-



Obr. 1: Kinetika kmenových buněk. Při asymetrickém dělení vznikají dvě odlišné buňky; jedna z nich je totožná s mateřskou buňkou, a proto se při tomto způsobu mitotického dělení počet mateřských buněk (např. KB) nemění (A). Při symetrickém dělení vznikají z každé mateřské buňky dvě identické dceřiné buňky; počet těchto buněk v tkáni tedy vzrůstá (B). Pokud by se KB dělily symetricky, jejich počet by se v tkáni soustavně zvyšoval a diferencované elementy by nevznikaly. Pokud by se obě dceřiné buňky diferencovaly, populace KB by v dané tkáni zanikla (C).



Obr. 2: Asymetrické dělení neuroepitelových buněk. Asymetrické dělení, které zajišťuje nevyčerpatelnost zásoby KB, je zprostředkováno nerovnoměrnou segregací organel a cytoplazmatických molekul v průběhu buněčného dělení. Některé geny zodpovědné za tento způsob dělení byly již identifikovány (např. *inscuteable*, *numb*, *prospero*, *miranda* - 11,24,29). V epitelích lze buňky, které se dělí asymetricky, rozpoznat podle odlišné orientace osy dělicího vřeténka. Ve ventrikulární zóně neuroepitelu vyvíjejícího se mozku E14 potkanů lze zastihnout metafázické buňky, jejichž chromosomy seřazené v ekvatoriální rovině jsou orientovány odlišně (šípky).

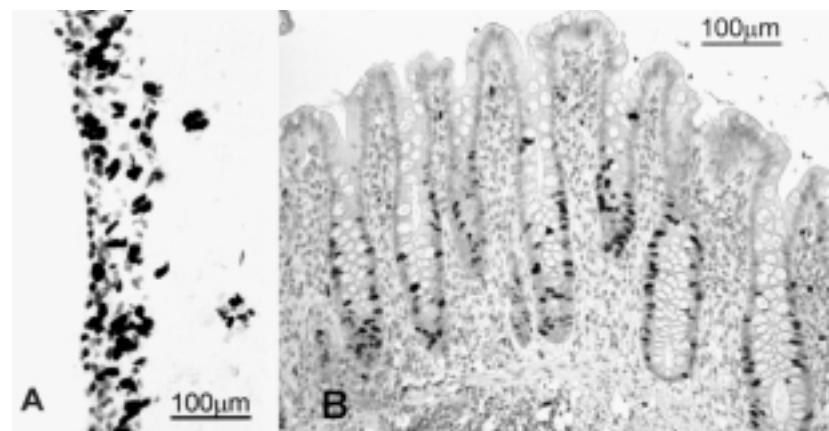
pletní - v kultuře vedle diferencovaných buněk přetrvávají, tak jak je tomu v dospělých tkáních, také KB, tj. elementy s fenotypem ES buněk. A právě tato skutečnost znemožňovala transplantovat vypěstované buňky zvířatům, neboť implantace ES buněk myším vede k formování teratomů až teratokarcinomů (26). V loňském roce bylo i v tomto směru dosaženo pokroku: cílenou expozicí ES buněk růstovým faktorům, které podporují proliferaci a přežití neurálních kmenových buněk (FGF-2 + EGF - *epidermal growth factor*), a následným dlouhodobým ošetřením dalšími faktory FGF-2 a PDGF (*platelet-derived growth factor*) byl usměrněn vývoj potomstva ES buněk v prekurzory oligodendroglie a astroglie (4). Po transplantaci těchto částečně vydifferentovaných buněk do míchy myelin-deficitních potkanů tyto buňky migrovaly neuropilem příjemce, integrovaly se do něj a myelinizovaly axony bílé hmoty. K navození tolerance xenotransplantovaných buněk (myši ES do CNS potkana) byli příjemci ošetřováni cyklosporinem; i po dlouhodobém přežívání transplantovaných zvířat nebyl pozorován vznik nádorů ani výskyt non-neurálních tkání.

Vedle testování potenciálu ES buněk pro náhradu buněk a tkání v různých biomedicínských aplikacích a získávání poznatků o regulaci vývoje tkání byly ES buňky hojně využívány k produkci transgenních myší (18). Tvorba *knock-out* myší postrádajících specifický gen je poměrně zdlouhavá (zahrnuje delecí genu v ES buňce, tvorbu chimérických myší, a teprve jejich potomstvo se použije k produkci *knock-out* myší). V r. 1999 byly přeneseny jádra ES buňky do enukleovaných oocytů vyklonovány první životaschopné organismy - myši, jak ve svém přehledném článku uvádí G. Vogelová (28). Životaschopnost vzniklých jedinců dokazuje, že i po mnohonásobném pasážování zůstává genotyp ES nepoškozený. Popsaný způsob mimo jiné umožňuje vytvořit transgenní zvířata hned v 1. generaci; urychlení celého procesu by umožnilo vytvořit více *knock-out* myší a prostudovat úlohu více genů.

Nejbouřlivěji diskutovaným tématem týkajícím se problematiky totipotentních KB však byla sdělení o izolaci **prvních linií lidských ES a EG buněk** publikovaná na sklonku roku 1998 (23,26). Obě sdělení vyvolala celou řadu dilemat, etických diskusí i emocionálně podbarvených reakcí žádajících zastavení podobného výzkumu, a to i dříve, než bude možné objektivně posoudit prospěšnost či nebezpečnost nové technologie.

Rok 1999 přinesl ve studiu KB též zvýšený zájem o KB dospělých tkání; patrně rovněž z důvodu nedořešených etických problémů ohledně použití lidských ES/EG buněk. Nové poznatky se pochopitelně objevily v hematologii, která využívá transplantaci **hematopoetických KB (HKB)** k léčbě řady krevních onemocnění. Izolace frakce krevních buněk obohacených o HKB byla tradičně zaměřena na CD34 pozitivní buňky (CD34 je marker hematopoetických progenitorových buněk). V loňském roce bylo prokázáno, že funkčním markerem umožňujícím odlišení HKB od progenitorových buněk je receptor pro vaskulární endotelový růstový faktor (VEGFR-2, označovaný též jako **KDR**; 31). Největším loňským překvapením však bylo zjištění, že formované krevní elementy mohou vznikat i z neurálních kmenových buněk (NKB) - viz níže.

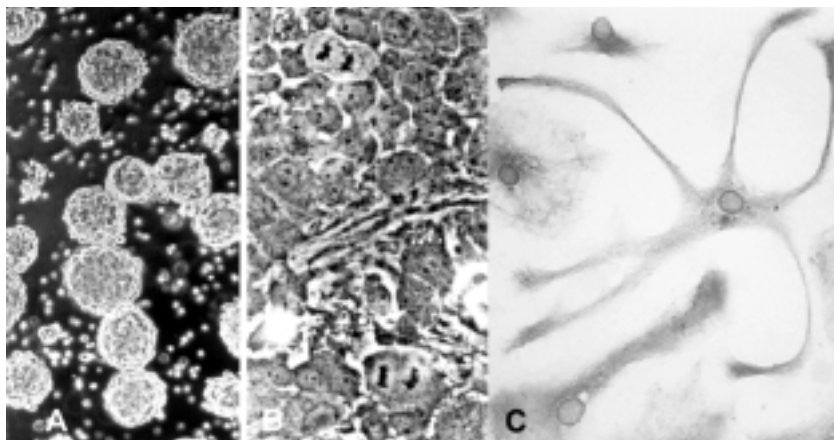
NKB se podařilo izolovat z mozků fetálních i dospělých savců různých živočišných druhů včetně člověka pomocí růstových faktorů EGF nebo FGF-2 (8,10,16,21,25,30). V mozku dospělých jedinců jsou NKB distribuovány především do oblasti subependymální zóny (obr. 3A). NKB subependymální zóny je zodpovědná za neurogenezi v mozku dospělých jedinců, např. produkci neuronů v *bulbus olfactorius* (9,13). V r. 1999 byla



Obr. 3: Regenerace dospělých tkání. Soustavnou obnovu dospělých tkání zajišťují KB. Imunohistochemická detekce buněčného antigenu PCNA (proliferating cell nuclear antigen) umožňuje vizualizovat dělící se a nově vyprodukované buňky v subependymální zóně dospělých potkanů (A); skupinky buněk tvořené progenitory pocházejícími ze stejného klonu jsou tvořeny jednou NKB. V processu vermiformis appendixu člověka (B) je tvorba nových buněk soustředěna do oblasti Lieberkühnových krypt, kde sídlí KB. Jádra dělících se buněk lze identifikovat podle silné exprese antigenu Ki-67.

tvorba nových neuronů prokázána i v neokortexu dospělých primátů (7). NKB nesoucí receptory pro EGF nebo FGF-2 jsou těmito mitogeny stimulovány k proliferaci. V závislosti na kultivačních podmínkách vytvářejí dělící se NKB buď trojrozměrné sfery (tzv. neurosféry) - jsou-li pěstovány na neošetřeném povrchu - nebo buněčný *monolayer* - v případě, že jsou buňky vysety na povrch povlečený polyornitinem a lamininem (obr. 4). Chronickou expozicí uvedeným růstovým faktorům lze uchovat nezralý fenotyp NKB *in vitro* a tyto buňky dlouhodobě pasážovat. Poté, když jsou růstové faktory v médiu nahrazeny sérem, NKB spontánně diferencují v buňky neuronální, astroglální a oligodendroglální linie (obr. 4C). Tuto schopnost si NKB uchovávají i po transplantaci do CNS. Bjornson a kol. (3) injikovali NKB získané z fetálních mozků a subependymální zóny dospělých zvířat intravenózně myším po celotělovém ozáření, které potlačilo přirozenou krvetvorbu v organismu zvířat. Toto prostředí stimulovalo novou krvetvorbu, přičemž velké procento novotvorených krevních elementů pocházelo právě z NKB dárce včetně lymfoidních a myeloidních buněk. Podle osobního sdělení dr. A. Vescoviho z univerzity v Miláně, který pracoval ve výzkumném týmu, jenž uskutečnil výše zmíněný experiment, NKB injikované ozářeným zvířatům se integrují i do jiných tkání jako např. sliznice střeva nebo trofoblastu placenty, kde si po diferenciaci osvojují fenotyp specifický pro danou tkáň. Uvedené nálezy dokazují, že **vývojový potenciál orgánově specifických KB je mnohem širší**, než se doposud předpokládalo, a že i tyto buňky lze vhod-

nými stimuly usměrnit k produkci zcela odlišných buněčných typů, než jaké osidluji tkáň, z níž byly tyto KB získány. Širší vývojový potenciál organotypických KB dokládají i další nálezy. Již dřívější sdělení poukázala na mimořádnou plasticitu KB odvozených z kostní dřevě a stromálních buněk kostní dřevě, které jsou schopny za určitých okolností tvořit např. astroglie či kostní tkáň (2,5,27). V r. 1999 byl širší diferenciální potenciál KB získaných z dospělých tkání potvrzen dalšími nálezy. Stromální buňky kostní dřevě, u nichž byla *in vitro* testy potvrzena schopnost tvorby buněk mezenchymálních tkání, jako jsou např. chondrocyty či adipocyty, vytvářely po transplantaci do mozku novorozenech myši neurony a astrocyty (12). G. Vogelová ve svém přehledu zmiňuje, že svalové KB jsou schopny produkovat krevní elementy a stromální buňky kostní dřevě jsou schopny tvořit kostní tkáň (27).



Obr. 4: Kultivace neurálních kmenových buněk (NKB). NKB lze pěstovat ve formě mnohobuněčných sferoidů (A). Druhý způsob pro izolaci a kultivaci spočívá v zakotvení NKB na povrchu povlečeném polyornitinem a lamininem; dělicí se buňky se šíří ve formě monolayeru (B). Potomstvo zdravých NKB vyžívá v buňky neurální, exprimující β -III tubulin a gliové, vyjadřující např. GFAP (C).

Zvýšený zájem o problematiku KB v r. 1999 vyžádal uspořádání dvou tematicky zaměřených mezinárodních konferencí („Stem Cells, Growth Factors and Cancer“ - Turín, Itálie 5.-10.10.1999 a „Stem Cells, Asymmetric Cell Division and Cell Fate“ - Keystone, Colorado, USA, 17.-22.1.2000). Na stránkách odborných časopisů se objevily inzeráty nabízející lidské KB; např. firma *Poietics* nabízí lidské mezenchymální buňky, které jsou schopny produkovat osteocyty, chondrocyty, myocyty, adipocyty, tenocyty a stromální buňky; banka fetálních tkání fungující 35 let v Seattle, USA, je schopna poskytnout požadované fetální tkáň. Ačkoli v současné klinické praxi se transplantace KB omezuje především na hematopoetické a epidermální KB, úspěšné experimenty provedené na zvířecích modelech naznačují, jak široké využití najdou KB v blízké budoucnosti.

Transplantace NKB do mozku myši postrádajících gen nezbytný pro myelinizaci vedla k tvorbě myelinizujících oligodendrocytů; transplantace svalových KB novorozenech myšim postrádajícím funkční gen pro dystrofin (model Duchennovy svalové dystrofie) vedla k obnově pohybu ošetřených zvířat (v přehledu uvádí Vogelová - 27). Soustavný nedostatek vhodných tkání pro orgánové transplantace (v USA lze každoročně uspokojit jen asi 5 % pacientů - 19) vyžaduje nalezení alternativních zdrojů - jedním z nich by mohla být tvorba umělých orgánů pomocí KB technologiemi vypracovanými tkáňovým inženýrstvím. Zatímco ES buňky představují neomezený zdroj nejrůznějších buněk k léčbě řady onemocnění buněčnou transplantací, KB získané z dospělých tkání zase nabízejí možnost produkce histokompatibilních buněk. Přestože v současné době lze z dospělých tkání *in vitro* kontinuálně propagovat a explantovat pouze NKB, schopnost těchto buněk produkovat i non-neurální buněčné typy předznamenává další dříve netušené biomedicínské aplikace.

Poznatky získané studiem KB otevírají novou éru v humánní medicíně; je téměř symbolické, že se tak děje na prahu do nového tisíciletí.

Práce vznikla za podpory grantu GAČR č. 304/00/0338.

Literatura

- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD (eds.). Differentiated cells and the maintenance of tissues. In: *Molecular Biology of the Cell*. London: Garland Publishing, Inc., 1994;1139-93.
- Azizi SA, Stokes D, Augelli BJ, DiGirolamo C, Prockop DJ. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats - similarities to astrocyte grafts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3908-13.
- Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli C, Vescovi AL. Turning brain into blood: A hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 1999;283:534-7.
- Brüstle O, Jones KN, Learosj RD et al. Embryonic stem cell-derived glial precursors: A source of myelinating transplants. *Science* 1999;285:754-7.
- Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:4080-5.
- Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292:154-6.
- Gould E, Reeves AJ, Graziano MSA., Gross CG. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* 1999;286:548-52.
- Gritti A, Paratt EA, Cova L et al. Multipotential stem cells from the adult mouse brain proliferate and self-renew in response to basic fibroblast growth factor. *J Neurosci* 1996;16:1091-100.
- Kaplan MS, Hinds JW. Neurogenesis in the adult rat: Electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* 1977;197:1092-4.
- Kilpatrick TJ, Bartlett PF. Cloned multipotential precursors from the mouse cerebrum require FGF-2, whereas glial restricted precursors are stimulated with either FGF-2 or EGF. *J Neurosci* 1995;15:3653-61.
- Knoblich JA. Mechanisms of asymmetric cell division during animal development. *Curr Opin Cell Biol* 1997;9:833-41.
- Kopen GC, Prockop DJ, Phinney G. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:10711-6.
- Lois C, Alvarez-Buylla A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* 1994;264:1145-8.
- Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:7634-8.

15. Matsui Y, Zsebo K, Hogan BLM. Derivation of pluripotential embryonic stem cells from murine primordial germ cells in culture. *Cell* 1992;70:841-7.
16. Mokřý J. Neurální prekurzorové buňky a jejich kultivace. Houdek L (ed.), Praha: Galén, 1999:171.
17. Mujtaba T, Piper DR, Kalyani A, Groves AK, Lucero MT, Rao MS. Lineage-restricted neural precursors can be isolated from both the mouse neural tube and cultured ES cells. *Developmental Biology* 1999;214:113-217.
18. Pirity M, Hadjantonakis AK, Nagy A. Embryonic stem cells, creating transgenic animals. *Methods in Cell Biology* 1998;57:279-93.
19. Platts JL. New directions for organ transplantation. *Nature* 1998;392:11-7.
20. Resnick JL, Bixler LS, Cheng L, Donovan PJ. Long-term proliferation of mouse primordial germ cells in culture. *Nature* 1992;359:550-1.
21. Reynolds BA, Weiss S. Clonal and population analyses demonstrate that an EGF-responsive mammalian embryonic CNS precursor is a stem cell. *Dev Biol* 1996;175:1-13.
22. Rossant J. Immortal germ cells? *Curr Biol* 1993;3:47-9.
23. Shambloott MJ, Axelman J, Wang S et al. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:13726-31.
24. Schober M, Schaefer M, Knoblich JA. Bozooka recruits Inscuteable to orient asymmetric cell divisions in *Drosophila* neuroblasts. *Nature* 1999;402:544-51.
25. Svendsen CN, Clarke DJ, Rosser AE, Dunnett SB. Survival and differentiation of rat and human epidermal growth factor-responsive precursor cells following grafting into the lesioned adult central nervous system. *Exp Neurol* 1996;137:376-88.
26. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
27. Vogel G. Capturing the promise of youth. *Science* 1999;286:2238-9.
28. Vogel G. Mice cloned from cultured stem cells. *Science* 1999;286:2437.
29. Wodarz A, Ramrath A, Kuchinke U, Knust E. Bozooka provides an apical cue for Inscuteable localization in *Drosophila* neuroblasts. *Nature* 1999;402:544-51.
30. Zhou FC, Chiang YH. Long-term nonpassaged EGF-responsive neural precursor cells are stem cells. *Wound Rep Reg* 1998;6:337-48.
31. Ziegler BL, Valtieri M, Porada GA et al. KDR Receptor: A Key Marker Defining Hematopoietic Stem Cells. *Science* 1999;285:1553-8.

*Doc. MUDr. Jaroslav Mokřý, Ph.D.,
Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta v Hradci Králové,
Ústav histologie a embryologie,
Šimkova 870, 500 01 Hradec Králové.
e-mail: mokry@lfhk.cuni.cz*

Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové 2000;45(5-6):141-147

VYŽÁDÁNO REDAKCÍ

HYPERTERMIE V ONKOLOGII

*Zdeněk Zoul, Josef Dvořák, Jiří Petera, Karel Odrážka, Miloslava Vaculíková,
Tereza Kohlová*

Fakultní nemocnice v Hradci Králové: Klinika radioterapie a onkologie

Summary: Hyperthermia in oncology.

Hyperthermia alone, or in combination with radiotherapy and chemotherapy, is one of promising approaches in the cancer treatment. In spite of numerous studies demonstrating effectiveness of this method in the treatment of solid tumors, hyperthermia is still used only in a minority of cancer centers. Present article summarizes contemporary options in the use of hyperthermia in the multimodality cancer treatment.

Key words: Hyperthermia; Radiotherapy; Chemotherapy; Multimodal treatment; Cancer

Souhrn: Mezi perspektivní modalitě onkologické léčby patří i hypertermie, především v kombinaci s radioterapií či chemoterapií. Přestože řada studií prokázala pozitivní přínos této metody, nedošlo prozatím k jejímu rozšíření do běžné klinické praxe. Cílem tohoto sdělení je upozornit na současné možnosti hypertermie v multimodální léčbě nádorů.

Úvod

Význam hypertermie jako součást multimodální léčby nádorů nejpřesvědčivěji dokumentují počty onkologických nemocných léčených touto metodou. Podle statistiky European Society for Hyperthermic Oncology (ESHO) bylo v letech 1977 až 1984 léčeno hypertermií asi 11 000 nemocných. V roce 1987 to bylo již více než 30 000 nemocných a dnes se počet onkologických nemocných léčených hypertermií v Evropě, USA a Japonsku odhaduje na více než 100 000.

Biologické základy hypertermie

Všechny živé tkáně jsou více nebo méně termosenzitivní. Tepelné poškození buněk může navodit až buněčnou smrt. Základní příčina buněčné smrti při hypertermii nebyla jednoznačně objasněna. Při hypertermii dochází k poškození buněčné membrány, cytoskeletu, cytosolu, buněčných organel a k změnám v jádře buňky (8,13,19).

Poškození buněk při hypertermii závisí na dvou hlavních faktorech: na teplotě a na délce ohřevu (8,19).

Všeobecně jsou nádorové tkáně citlivější na ohřev než tkáně zdravé. Vyšší citlivost nádorů k hypertermii je způsobena především chronickou hypoxií, nízkým pH a nutričním deficitem v nádoru. Rovněž novotvořené cévy v nádoru jsou významně citlivější na ohřev než cévy ve zdravých tkáních (3,18).

Hypertermie a imunitní systém

Předpokládá se, že celotělová hypertermie (neletální tepelný stres) kromě účinku tumoricidního indukuje přítomnost heat shock proteinu (HSP72) na povrchu nádorových buněk a aktivuje cytotoxické lymfocyty a přirozené zabijáky (NK buňky) (11). Malignity, které exprimují intracelulární adhezivní molekulu 1 (ICAM 1), by mohly být dobrými kandidáty pro kombinovanou termo-chemoterapii v rámci konsolidační léčby či léčby minimální reziduální nemoci (6).

Kombinace hypertermie a radioterapie

Při léčbě nádorových onemocnění má samotná hypertermie pouze omezený léčebný efekt. Při kombinaci hypertermie s radioterapií nebo s chemoterapií se výsledky léčby významně zlepšují (8,12,14).

Stejně faktory, které zvyšují radiorezistenci nádoru (hypoxie, acidita, nedostatečné krevní zásobení nádoru, S a G₀ fáze buněčného cyklu), způsobují současně zvýšenou termosenzitivitu. Klinický význam hypertermie proto spočívá nejen v přímém poškození buněk teplem, ale i v potenciačním účinku radioterapie. Hypertermie působí s radioterapií synergně a komplementárně (19).

Kombinace hypertermie a chemoterapie

Hypertermie v kombinaci s chemoterapií je rovněž perspektivní metoda v léčbě nádorů (5,6,7,8). Hypertermie zvyšuje transport cytostatik buněčnou membránou a inhibuje reparační pochody po cytostatické léčbě. V klinické praxi je nejvíce zkušeností s regionální termochemoterapií melanomu končetin a v léčbě sarkomů měkkých tkání léčených na končetinách (4,9).

Dle typu interakce mezi hypertermií a cytostatikem jsou rozlišovány 3 skupiny cytostatik (7):

1. cytostatika s nezávislým mechanismem účinku:
5-fluorouracil, metotrexát, actinomycin D, cytarabine, taxany,
2. cytostatika s aditivním mechanismem účinku:
doxorubicin, mitoxantron, cyklofosfamid, ifosfamid, melphalan, deriváty nitrosourey, gemcitabin,
3. cytostatika se synergním mechanismem účinku:
cisplatina, carboplatina, mitomycin C, bleomycin.

V současnosti probíhá celá řada studií II. klinické fáze kombinujících hypertermii s cytostatickou léčbou (7,8).

Základní fyzikální principy ohřevu

Ohřev cílového objemu v lidském těle je i přes značný technický pokrok stále obtížný a doposud používané principy ohřevu nelze považovat za zcela uspokojivé, především v případě hloubkové hypertermie.

V klinické praxi se nejčastěji pro ohřev cílového objemu využívá termických účinků vysokofrekvenčních proudů nebo ultrazvuku.

Mezi nejdůležitější faktory, které ovlivňují výši teploty ve tkáních, patří obsah vody ve tkáních, kmitočet elektromagnetické energie nebo ultrazvuku, teplotní pole aplikátoru, celková tepelná bilance ohřívání tkáně a pořadí tkáňových vrstev (19).

Dle rozsahu ohřevu a s tím související efektivní teplotou v prohříváném objemu lidského těla se hypertermie rozděluje (17):

1. lokální - teplota 42 až 45 °C,
2. regionální - teplota 42 až 43 °C,
3. celotělová - teplota 40 až 42 °C.

Zařízení pro hypertermii

Běžně komerčně dostupná zařízení pro hypertermii se skládají ze tří základních komponent.

Zařízení pro ohřev tkáně

Pro léčbu povrchově umístěných nádorů (do hloubky přibližně 3 cm) se používají k ohřevu mikrovlny, tj. elektromagnetické vlny o frekvenci vyšší než 300 MHz, především s frekvencí 434 MHz nebo s frekvencí 915 MHz. Při mikrovlnném ohřevu se používá nejčastěji jeden aplikátor, který je přes vak s destilovanou vodou přiložen těsně k ohřívání tkáni.

V poslední době do praxe přicházejí i ultrazvukové hypertermické systémy. Absorpci ultrazvuku se zvyšuje kinetická energie molekul, což je podstatou tepelných účinků ultrazvuku. Na rozdíl od mikrovlnného ohřevu nedochází při použití ultrazvuku ke zkrácení teplotního měření kovovými teplotními sondami. Mezi další výhody ultrazvukového ohřevu patří homogenita teplotního pole, nízké riziko pro personál a to, že na aplikátoru nevzniká elektromagnetické pole. Provoz je bezpečný také z hygienického hlediska (20).

Mezi nevýhody ultrazvukového ohřevu patří jeho neprostupnost přes kosti a dutiny vyplněné vzduchem.

Pro léčbu hlouběji umístěných nádorů se využívá kapacitního ohřevu elektromagnetickými vlnami o frekvenci nižší než 300 MHz, takzvaný radiofrekvenční ohřev. Při léčbě hluboce uložených nádorů se používají přístroje se 2, 3 nebo 8 elektrodami, které jsou uloženy kolem nemocného. Mezi tělem nemocného a aplikátory je vodou naplněný vak. Při použití 3 elektrod lze prohřát tkáň do průměru asi 25 cm, pokud není příliš silná tuková podkožní vrstva. Při použití 3 elektrod je možné ohřívání pouze konstantní objem tkáně a přenašení tepelného maxima při změně výkonu na jednotlivých elektrodách

je velmi omezené. Při použití více párů aplikátorů (osm) lze měnit rozložení energie a lokalizaci tepelného maxima dle cílového objemu volbou různé frekvence elektromagnetických vln na každém páru aplikátorů, posuvem fáze a regulací výkonu (18).

Ultrazvukovým aplikátorem při nižší frekvenci ultrazvuku lze prohrát tkáň do hloubky 7-10 cm, dle pořadí a tloušťky jednotlivých tkáňových vrstev.

Další možností ohřevu cílového objemu je intersticiální hypertermie, kdy do cílového objemu invazivně zavádíme v pravidelných intervalech duté aplikátory, do kterých zasouváme mikrovlnné antény. Tento způsob léčby lze kombinovat s brachyterapií, kdy jsou do stejných aplikátorů střídavě zaváděny mikrovlnné antény k ohřevu tkáně a radioizotopové zářiče, například Iridium 192 (10).

Počítač s náležitým softwarem a příslušenstvím

Ohřev tkáně je řízen zpětnovazebně počítačem na základě vyhodnocení teploty v ohřívané tkáni. Teplota je během léčby monitorována a v případě potřeby korigována v pravidelných intervalech.

Souprava pro měření teploty (termometrie)

Měření teploty v cílovém ohříváném objemu i v okolní ohřívané zdravé tkáni není doposud uspokojivě vyřešeno. Současné technické vybavení neumožňuje měřit teplotu v nehomogenním prostoru, ale jen v jednom nebo několika bodech tohoto prostoru. Neinvazivní termometrie (pomocí sonografie, počítačové tomografie, nukleární magnetické rezonance nebo šumové radiometrie) je doposud ve stadiu výzkumu a není zatím dostupná pro klinickou praxi (1).

Pro praktické použití je zatím dostupná pouze invazivní termometrie, kdy se do ohřívané tkáně zavedou slepě ukončené teflonové katetry, do kterých se před ohřevem vloží tepelné snímače (20). Popřípadě je možné jehly s teplotními senzory zavést přímo do tkáně. Mezi nejčastější komplikace zavádění teflonových katétrů či jehel do tkáni patří bolestivost, riziko abscesu, arteriální krvácení, růst tumoru v kanálu vytvořeném při vpichu (rozsev tumoru).

Ideální teplotní snímač, který by vyhovoval všem kladeným požadavkům (malý průměr, dlouhodobá stabilita, přesnost, neinterference s elektromagnetickým polem, možnost vícenásobných snímačů, přijatelná cena), není doposud k dispozici.

Mezi nejběžněji používané teplotní snímače patří:

a) termočlávková termometrie

Zásadní výhodou termočlávkové termometrie je možnost konstrukce vícenásobných snímačů s více měřicími místy při přijatelném vnějším průměru teplotní sondy. Byla vyvinuta stínící vrstva, která vylučuje interferenci s elektromagnetickým polem. Přijatelná je i cena.

b) termistory

Mezi výhody termistorů (odpor závislý na teplotě) patří vyšší úroveň signálu a relativně jednodušší konstrukce vyhodnocovací části ve srovnání s termočlávkovým zařízením. Termistorová čidla jsou většinou konstruována v podobě jehel. Teplota je nejčastěji odečítána při vypnutém generátoru.

c) termometrie založená na využití optických snímačů

Využití optoelektroniky představuje nejprogressivnější přístup. Klasický kovový vodič je nahrazen optickým vláknem a samotný senzor je na bázi tekutých krystalů, které s teplotou mění optické vlastnosti. Z toho vyplývá největší výhoda daného způsobu měření teploty - neinterferuje s elektromagnetickým polem. Mezi významné nevýhody patří především vysoká cena, značný vnější průměr u vícenásobného snímače, fragilita a problém dlouhodobé stability snímačů.

Klinické výsledky hypertermie

Samostatná hypertermie

Výsledky samotné hypertermie bez kombinace s další léčebnou modalitou se ukázaly dle teoretického předpokladu neuspokojivé. U nemocných léčených pro povrchové nádory bylo dosaženo nízkého počtu kompletních (15 %) a parciálních (32 %) remisí. Trvání odpovědi bylo krátké a nebylo dosaženo kontroly tumoru (19).

Povrchová hypertermie v kombinaci s radioterapií

Povrchová hypertermie v kombinaci s radioterapií se užívá především v léčbě maligního melanomu, lokálně recidivujícího karcinomu prsu, v léčbě nádorů v oblasti hlavy a krku a jiných povrchově umístěných nádorů (12,14,16).

Nemocní léčení radioterapií kombinovanou s hypertermií jsou ozařováni denními dávkami od 2 do 3 Gy nebo 2 až 3 frakcemi týdně od 3 do 6 Gy. Není však jisté, zda vyšší celkové dávky než 30 až 40 Gy v kombinaci s hypertermií vedou k vyšší kontrole nádoru. Hypertermie je aplikována v rozmezí 42-44 °C po dobu 30-60 minut, zpravidla 2-3x týdně. Častější aplikace hypertermie se nedoporučuje pro rozvoj dočasné termotolerance po ohřevu (13,19).

První dokončenou randomizovanou studii, která hodnotila léčebný účinek radioterapie kombinované s hypertermií oproti radioterapii samotné u stejného histopatologického typu nádoru, byla multicentrická prospektivní randomizovaná studie ESHO. V této studii byly porovnávány výsledky léčby radioterapie kombinované s hypertermií s radioterapií samotnou v léčbě ložisek recidivujícího nebo metastazujícího melanomu. Do studie bylo zařazeno 70 nemocných s celkovým počtem 134 ložisek melanomu. Tato studie prokázala signifikantně vyšší celkovou odpověď (89 vs. 72 %) a kompletní odpověď (62 vs. 35 %) ve skupině léčených kombinovanou terapií radioterapií a hypertermií v porovnání se samostatnou radioterapií (12).

V metaanalýze 5 randomizovaných studií byly porovnávány výsledky léčby radioterapie kombinované s hypertermií proti radioterapii samostatné u 306 nemocných s lokálně pokročilým nebo lokálně recidivujícím karcinomem prsu. Byla prokázána signifikantně vyšší kompletní odpověď u nemocných léčených radioterapií kombinovanou s hypertermií oproti radioterapii samostatné (59 % vs. 41 %) (16).

Další randomizovaná studie porovnávala výsledky léčby radioterapie kombinované s hypertermií a radioterapie samotné u pacientů ve IV. stadiu nádorů hlavy a krku. Bylo léčeno 41 nemocných s inoperabilními metastázami v lymfatických uzlinách na krku. Studie prokázala signifikantní rozdíl v lokální kontrole nádorů po léčbě ($p=0,0164$) i po 5letém sledování ($p=0,015$) ve prospěch nemocných léčených radioterapií kombinovanou

s hypertermií oproti radioterapii samostatné. Rovněž rozdíl v 5letém přežití ($p=0,02$) byl ve prospěch nemocných léčených kombinovanou léčbou (14).

Hloubková hypertermie v kombinaci s radioterapií

Hloubková hypertermie jako součást kombinované léčby je v současné době indikována pro léčbu pokročilých nádorů v oblasti pánve (15,18). Kromě této indikace probíhají studie hodnotící význam hypertermie v multimodální léčbě nádorů jater, žaludku, pankreatu, žlučníku, jícnu a sarkomů měkkých tkání.

V holandské prospektivní randomizované studii „Dutch Deep Hyperthermia Trials“ byl porovnáván účinek radioterapie kombinované s hloubkovou hypertermií oproti radioterapii samotné. V této studii bylo hodnoceno 298 nemocných s inoperabilním karcinomem v oblasti pánve. Z toho 114 nemocných s karcinomem konečnicku, 99 nemocných s karcinomem čípku děložního a 85 nemocných s karcinomem močového měchýře. Studie prokázala, že kombinace radioterapie s hloubkovou hypertermií signifikantně zvyšuje počet kompletních odpovědí. Nejvyšší vzestup počtu kompletních odpovědí (o 34 %) byl zaznamenán u karcinomu čípku děložního. Signifikantní byl i vzestup počtu kompletních odpovědí u karcinomu močového měchýře (o 28 %). Nesignifikantní byl vzestup kompletní odpovědi u karcinomu konečnicku (o 8 %) (15).

Závěr

1. Výsledky léčby ukazují, že by se hypertermie měla zařadit jako součást standardních kombinovaných terapeutických postupů při léčbě nádorových onemocnění. Především je vhodné hypertermii použít v léčbě lokálně recidivujícího karcinomu prsu, maligního melanomu, nádorů hlavy a krku a při paliativní léčbě podkožních metastáz.
2. Hypertermie může být prováděna pouze při náležitém technickém vybavení pracoviště s náležitě erudovaným personálem a při respektování všech hygienických požadavků. Pokud na pracovišti nejsou vytvořeny podmínky ke kvalitnímu provedení hypertermie, je tato léčba nepřijatelná.
3. Lokální hloubková hypertermie je v současnosti prováděna v rámci klinických studií. Zatím není součástí standardní léčby, i když se jedná o metodu, která může v budoucnosti výrazně zlepšit výsledky protinádorové léčby.
4. Lokální povrchová hypertermie může být již v současnosti doporučena jako součást komplexní protinádorové léčby a přetrvávající technické obtíže již nebrání zařazení této metody do běžné praxe.

Literatura:

1. Carter DL, MacFall JR, Clegg ST et al. Magnetic resonance thermometry during hyperthermia for human high-grade sarcoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;40:815-22.
2. Coss RA, Linnemans WAM. The effects of hyperthermia on the cytoskeleton: a review. *Int J Hyperthermia* 1996;12:173-96.
3. Dewhirst MW. Future directions in hyperthermia biology. *Hyperthermia* 1994;10:339-45.
4. Eggermont AM, Schrafford Koops H, Lienard D et al. Isolated limb perfusion with high-dose tumor necrosis factor alpha in combination with interferon gamma and melphalan for nonresectable extremity soft tissue sarcomas: A multicenter trial. *J Clin Oncol* 1996;14:2653-65.

5. Feyerabend T, Steeves R, Wiedmann GJ, Richter E, Robins HI. Rationale and clinical status of local hyperthermia, radiation, and chemotherapy in locally advanced malignancies. *Anticancer Res* 1997;17:2895-7.
6. Feyerabend T, Wiedemann GJ, Richter E, Hegewisch-Becker S. Hyperthermia as an adjunct to the standard treatment of neoplastic diseases: few cures but some advances. *Onkologie* 1999;22:122-7.
7. Issels R. Hyperthermia combined with chemotherapy - biological rationale, clinical application, and treatment results. *Onkologie* 1999;22:374-81.
8. Klener P. Protinádorová chemoterapie. Praha: Galén, 1996:223-4.
9. Kremenz ET, Sutherland CM, Muchmore JH. Isolated hyperthermia chemotherapy perfusion for limb melanoma. *Surg Clin North Am* 1996;76(6):1313-30.
10. Lee DJ, Mayer R, Hallinan L. Outpatient interstitial thermoradiotherapy. *Cancer* 1996;77(11):2363-70.
11. Multhoff G, Botzler C, Wiesnet M et al. A stress-inducible 72.kDa heat-shock protein (HSP72) is expressed on the surface of human tumor cells, but not on normal cells. *Int J Cancer* 1995;61:272-9.
12. Overgaard J, Gonzalez Gonzalez D, Hulshof MCCH et al. Hyperthermia as an adjuvant to radiation therapy of recurrent or metastatic malignant melanoma. A multicentre randomized trial by the European Society for Hyperthermic Oncology. *Int J Hyperthermia* 1996;12(1):3-20.
13. Steel GG. Basic clinical radiobiology for radiation oncologists. Edward Arnold Publishers. 1993;173-84.
14. Valdagni R, Amichetti M. Report of long-term follow-up in a randomized trial comparing therapy and radiation therapy plus hyperthermia to metastatic nodes in stage IV head and neck patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 28(1):163-9.
15. van der Zee J, Gonzalez Gonzalez D, Vernon CC et al. Therapeutic gain by hyperthermia added to radiotherapy. In: Kogelnik HD, Sedlmayer F. *Progress in Radio-Oncology VI*, Bologna: Monduzi Ed., 1998:137-45.
16. Vernon CC, Van der Zee J, Fei-Fei Liu et al. Radiotherapy with or without hyperthermia in the treatment of superficial localized breast cancer: results from five randomized controlled trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;35(4):731-44.
17. Vrba J, Lapeš M. Mikrovlnné aplikátory pro lékařské aplikace. Praha: ČVUT 1997:170-5.
18. Wust P, Rau B, Gremmler M et al. Radio-Thermotherapy in Multimodal Surgical Treatment Concepts. *Onkologie* 1995;18:110-21.
19. Zámečník J, Volenec K. Hypertermie v onkologii. *Novinky v medicíně* 1988; 44.
20. Zoul Z, Dvořák J, Vaňásek J., Medková V. Ultrasound hyperthermia in the treatment of locally recurrent breast cancer. *Brněnské onkologické dny 7.5.-9.5.1999*. Abstrakta. Poster.

***MUDr. Zdeněk Zoul,
Fakultní nemocnice v Hradci Králové,
Klinika radioterapie a onkologie,
500 05 Hradec Králové.
e-mail: zoul@fnhk.cz***

KASUISTIKA

**ROZTRŽENÍ JÍCNU
- OPERAČNÍ A KOLEMOPERAČNÍ PÉČE**

*Milan Kaška¹, Michal Leško¹, Zdeněk Hajžman², Karel Kabeláč³ Zdeněk Vacek⁴,
Eduard Havel⁵, Pavel Dostál⁶*

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové: Katedra chirurgie¹; Vojenská lékařská akademie JEP v Hradci Králové: Katedra válečné chirurgie²; Fakultní nemocnice v Hradci Králové: Chirurgická klinika³, Radiodiagnostická⁴ klinika, Klinika gerontologická a metabolická⁵, Klinika anesteziologie a resuscitace⁶

Summary: Disruption of oesophageus – surgical and perioperative therapy.

The authors demonstrate a clinical view of the group of four patients with esophageal injury with successful therapy. This communication presents: diagnostic algorithm, preparation of patients to urgent surgery, methods of surgery and postoperative care. The authors stress: to operate patients with esophageal perforation from start of problem to six hours, to use simple radiologic method for evaluation of esophageal rupture by using in water soluble contrast, to perform lucid surgery on esophageus and to apply functional and multiple drainage in operation region. Success of postoperative management is given by a high quality of critical care during period of septic shock and intensive care during long period with stress on fight against infection by wide-spectrum antibiotics, full functional and long period drainage of pleural cavity and administration of artificial nutrition.

Key words: Oesophageal injury; Sepsis, Surgery; Intensive care

Souhrn: Klinický pohled na soubor čtyř úspěšně léčených nemocných s poraněním jícnu. Sdělení popisuje: diagnostický algoritmus, přípravu nemocného k urgentní operaci, metodiku chirurgického výkonu a pooperační péči. Autoři zdůrazňují: operovat nemocného s pronikajícím poraněním jícnu do 6 hod. od jeho vzniku při užití jednoduchého rentgenologického průkazu jeho perforace polknutím vodného roztoku kontrastní látky, přehledné provedení vlastního výkonu na jícnu a založení funkční vícečetné drenáže operované oblasti. Úspěch pooperační péče je dán kvalitou resuscitační léčby septického šoku a dlouhodobou intenzivní péčí s důrazem na potlačení infekce antibiotiky, funkční a někdy dlouhodobou drenáž pohrudniční dutiny a aplikaci umělé výživy.

Úvod

Poranění jícnu může být způsobeno spolknutím cizího tělesa (1), které při průchodu jícnem uvázne většinou v jeho střední či distální třetině. Jinou etiologií je zásah většinou rigidním endoskopem při terapeutickém (2,3) nebo diagnostickém (4) výkonu – tedy iatrogenní události. Dalšími příčinami mohou být perforace při dilataci balonkem nebo bužemi pro maligní i benigní onemocnění jícnu (5) a při operacích distálního jícnu a proximálního žaludku (6). Jsou zaznamenávány i případy spontánní perforace jícnu nebo jeho roztržení neznámé etiologie či při usilovném zvracení (Boerhaaveův syndrom) (7,8). Porušení kontinuity stěny jícnu je spojeno vždy se šokovým stavem a sepsí. Ty se rozvíjejí na pozadí akutní mediastinitidy nebo/a pleuritidy a plicní komplikace (PNO, fluido-pneumotorax, ARDS). Pro postiženého znamená roztržení jícnu vždy katastrofu, která může vyústit v úmrtí (9,10). Poranění proximální třetiny jícnu je letalitou zatíženo zřídka (11), ale nehodu ve střední a distální třetině provází letalita 15–20 % (3,7,9).

Na Chirurgické klinice FN v Hradci Králové jsme v relativně krátkém časovém úseku dvou let ošetřili a léčili pro poranění jícnu čtyři nemocné. Potíže vnikly primárně vždy po polknutí a uváznutí potravy s následnými pokusy odstranit sousto endoskopicky nebo svépomocí improvizovanou pomůckou. Přes významné pooperační komplikace a další kolemoperační obtíže žádný nemocný nezemřel a kvalita jejich života je nyní uspokojivá. V tomto sdělení jsme se proto rozhodli prezentovat své zkušenosti s operační a kolemoperační péčí při výše uvedeném závažném akutním stavu.

Soubor nemocných a metodika léčby

V letech 1996–98 jsme na chirurgické klinice léčili čtyři pacienty s poraněním jícnu (tab. 1), které vzniklo shodou okolností vždy po uváznutí masité potravy v distálním jícnu a po manipulaci endoskopem nebo nějakou improvizovanou pomůckou (v režii postiženého) v této krajině.

Tab. 1: Soubor nemocných z let 1996-98.

Nemocný	Věk (roky)	Pohlaví	Anamnéza	
			nemoci jícnu	jiné nemoci
č. 1	36	muž	dysfagie 12 měs.	-
č. 2	46	muž	-	M. Bechtěrevi
č. 3.	55	žena	poleptání jícnu alkálií ve 2 letech	-
č. 4	36	muž	dysfagie 2-3 měs.	-

Kasuistiky

Nemocný č. 1 (36 let, dělník) trpící mírnou dysfagií asi 2-3 měsíce před událostí byl primárně ošetřen na ORL pracovišti pro uváznutí kousku hovězího masa v distálním jícnu a sekundárně přijat na naše pracoviště poté, co kontrastní radiodiagnostická metoda prokázala porušení kontinuity stěny jícnu v distální třetině vlevo. Pro rozvoj příznaků

akutní mediastinitidy byl po 36 hod. od přijetí na ORL kliniku operován, provedena sutura jícnu z levostranné torakotomie. V pooperačním období došlo k selhání plic i ledvin, rozvoji sepse při pyotoraxu. Byly nutné: arteficiální ventilace a hemodialýza, provedení tracheostomie a gastrostomie. Arteficiální ventilace trvala 43 dní. Arteficiální nutrice spočívala v aplikaci totální parenterální výživy. Pooperační období bylo komplikováno rozvojem dekubitů v sakrální krajině a na patách a hypakuzii po aplikaci nezbytných dávek aminoglykosidů. Celkově trvala léčba v nemocnici 89 dní. Nyní je schopen běžného života bez větší fyzické námahy.

Nemocný č. 2 (46 let, lesník) bez potíží s jícnem v anamnéze, léčil se pro Bechtěrevovu nemoc. Násilné spolknutí kusu vepřového masa po zapití pivem způsobilo silnou bolest za sternem a šokový stav. Operován původně ve spádovém chirurgickém oddělení pro podezření na perforaci gastroduodenálního vředu. V peritoneální dutině však nenalezná patologie. Rentgenologické vyšetření hrudníku prokázalo pneumotorax, zaveden hrudní drén vlevo a pacient odeslán s podezřením na poranění jícnu na naše pracoviště. Zde bylo pomocí rentgenologického vyšetření po aplikaci kontrastní látky do jícnu nalezeno jeho poranění v distální třetině vlevo. Reoperován 17 hod. po perforaci. Pooperační období bylo komplikováno akutním respiračním selháním, selháním ledvin, akutní akalkulózní cholecystitidou, sepsí a pyotoraxem. Tyto stavy byly kompenzovány arteficiální ventilací, hemodialýzou a cholecystektomií. Pacient byl celkem 62 dní arteficiálně ventilován a celková doba hospitalizace činila 96 dní. Nyní je schopen běžného způsobu života.

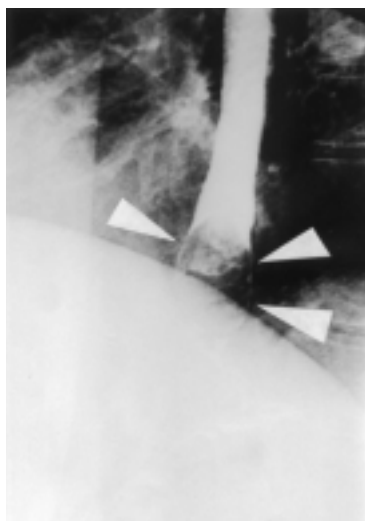
Nemocná č. 3 (55 let, lékařka) prodělala v dětství nešťastnou náhodou poleptání jícnu alkálií. Podstoupila tehdy tracheostomii a dále opakovaně dilatace jícnu (i ve vlastní režii po zácviku). V den operace jí uvázlo sousto vepřového masa v distálním jícnu. Pokusila se sama posunout sousto do žaludku manipulací improvizovanou pomůckou. Pro náhlou bolest za sternem byla vyšetřena na chirurgické ambulanci spádové nemocnice a s podezřením na perforaci jícnu byla odeslána na naše pracoviště. Rentgenologické vyšetření s kontrastem prokázalo defekt ve stěně jícnu distálně vlevo. Za 6 hod. po vzniku jeho poranění byla operována. V pooperačním období se objevila akutní respirační insuficience a sepse a byla provedena tracheostomie. Celková doba arteficiální ventilace činila 21 dní a hospitalizace v naší nemocnici trvala 25 dní. Poté byla nemocná přeložena do spádového interního oddělení k doléčení a rehabilitaci. Další rok prodělala ve spádovém pracovišti resekci jícnu pro jeho neoproces distálně při metaplazii (Barretův jícen susp.). Nyní vykonává již 9 měsíců lékařskou ambulanci praxi.

Nemocný č. 4 (36 let, podnikatel) trpěl 12 měsíců před následující událostí suspektní funkční dysfagií. Pro uváznutí sousta uzeniny v jícnu byl přijat na ORL oddělení, kde byl učiněn pokus o odstranění překážky v jícnu endoskopicky. Extrakce nebyla úspěšná a za několik hodin po výkonu se začal rozvíjet stav akutní mediastinitidy. Rentgenologické kontrastní vyšetření a CT prokázaly perforaci distálního jícnu vlevo a byla provedena operace 50 hod. po roztržení. Pooperační období bylo komplikováno akutním respiračním selháním a pyotoraxem a byla provedena tracheostomie. Arteficiální ventilace trvala 8 dní, hospitalizace celkem 25 dní. Arteficiální nutrice byla zajištěna parenterální a enterální výživou. Po celkové stabilizaci byl nemocný propuštěn do domácí péče a zajištěn ještě na několik dní enterální výživou pomocí nazojejunální sondy. V současné době je schopen běžného způsobu života, vykonává své zaměstnání. Rok po uvedené příhodě prodělal opět uváznutí sousta v distálním jícnu. Potrava však prošla po několika hodinách do žaludku spontánně a bez následků.

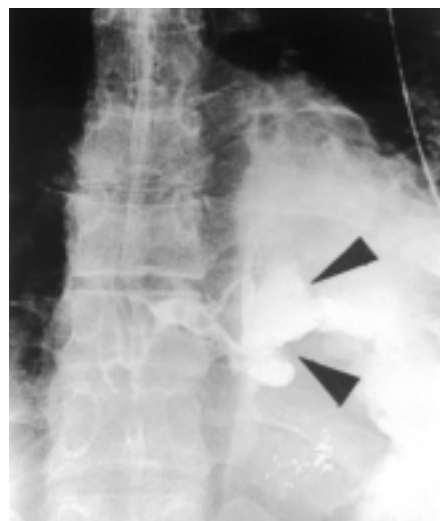
Všichni pacienti byli poraněni v distálním úseku jícnu 3-12 cm nad bránicí laterálně vlevo (tab. 2). Po průkazu perforace (obr. 1, 2, 3, 4), vešměs rentgenologicky s užitím vodného roztoku kontrastního preparátu, byli 3 poranění operováni za 50–90 min. a jeden za 210 min. po přijetí na naše pracoviště. Ošetření defektu jícnu bylo provedeno vždy z posterolaterální torakomie vlevo v 6. mezižebří. Nalezený defekt byl ošetřen suturou v jedné nebo dvou vrstvách (dle běžných pravidel ošetření stěny jícnu) pomocí vláken PDS (typ vstřebatelného šicího materiálu), s atraumatickou jehlou po předchozím zavedení žaludeční sondy. Drenáž byla zajištěna 1-2 drény pleurální dutiny vlevo. Případně byl založen ještě drén mediastinální (k oblasti sutury) dle aktuálního rozhodnutí operátora. V jednom případě byla připojena ezofagostomie (tab. 3). Všichni nemocní byli již předoperačně zajištěni antibiotiky terapeuticky naslepo. Antibiotika byla volena tak, aby pokryla široké spektrum mikroobů (grampozitivní i gramnegativní) a současně bylo respektováno i riziko anaerobní infekce. Užívali jsme cefalosporinů 2. či 3. generace, imipenemu nebo chino-

Tab. 2: Příčiny, typ přijetí a diagnostika.

Nemocný	Potrava	Přijetí	Endoskopie	RTG-kontrast
č. 1	uzenina	sekundárně	+	+ (+CT)
č. 2	maso	sekundárně	-	+
č. 3	maso	primárně	-	+
č. 4	maso	sekundárně	-	+



Obr. 1: Cizí těleso v distálním jícnu (označeno šipkami). Rentgenologické vyšetření jícnu vodným kontrastem.



Obr. 2: Průkaz ruptury stěny jícnu. Rentgenologické vyšetření jícnu vodným roztokem. Šipky označují depo kontrastní látky mimo lumen jícnu.



Obr. 3: Průkaz ruptury distálního jícnu - CT. Zatékání kontrastní látky mimo lumen jícnu do levé pohrudniční dutiny (označeno šipkami).



Obr. 4: Komplikace v pooperačním období: fluidopneumotorax vlevo. Nativní rentgenogram hrudníku (vsedě).

lonu, eventuálně v kombinaci s aminoglykosidy. Ostatní terapie je uvedena v kasuistikách výše. Komplikace v pooperačním období prezentují tabulka a obrázky (tab. 4, obr. 5, 6, 7), stav jícnu nemocného č. 4 jeden měsíc po operaci (obr. 8).

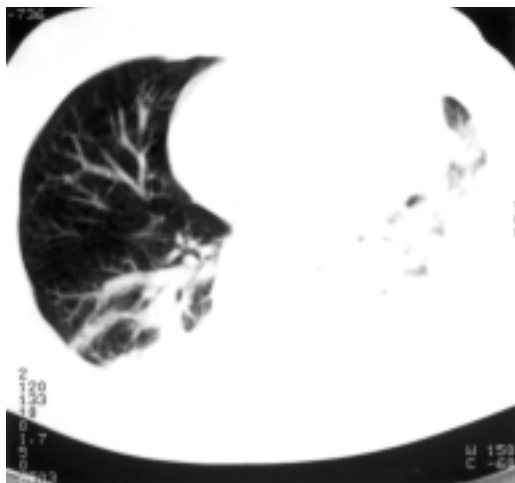
Tab. 3: Některé terapeutické postupy.

Nemocný	Operace	Drenáž (počet drénů a místo uložení)	Výživa	Doba arteficiální ventilace (dny)
č. 1	sutura defektu	1 pleurální dutina	TP, E	8
č. 2	sutura defektu ezofagostomie	2 pleurální dutina	TP, E	62
č. 3	sutura defektu	1 pleurální dutina 1 mediastinum	TP, G	21
č. 4	sutura defektu	1 pleurální dutina	TP	43

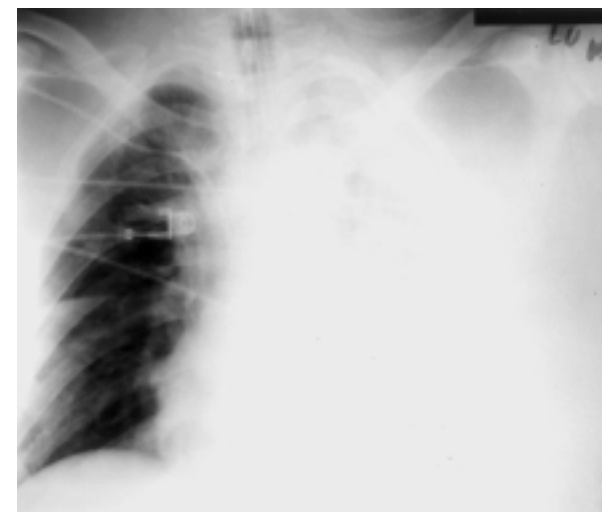
Vysvětlivky: TP-totální parenterální výživa, E - enterální výživa, G - enterální výživa podávaná do žaludku.

Tab. 4: Významné komplikace v pooperačním období.

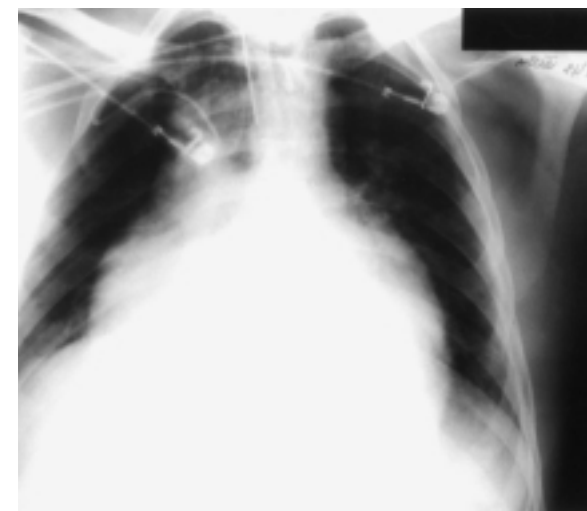
Nemocný	Selhání plic	Selhání ledvin	Empyém hrudníku	Sepse
č. 1	+	-	-	+
č. 2	+	+	+	+
č. 3	+	-	-	+
č. 4	+	+	+	+



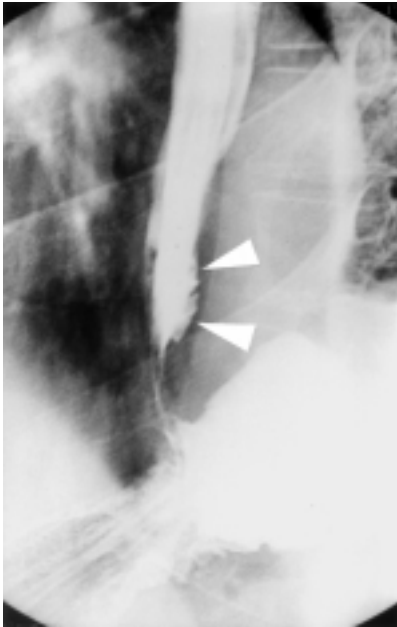
Obr. 5: Komplikace v pooperačním období: fluidotorax vlevo a infiltrace plic oboustranně. Nativní CT.



Obr. 6: Komplikace v pooperačním období: fluidotorax vlevo. Nativní rentgenogram hrudníku (vleže).



Obr. 7: Komplikace v pooperačním období: fluidoperikard při v.s. zevně indukované perikarditidě. Nativní rentgenogram hrudníku (vleže).



Obr. 8: Stav po sutuře jícnu jeden měsíc po operaci. Rentgenologické vyšetření jícnu vodným roztokem (vstoje). Šipky označují mírné nerovnosti stěny jícnu v místě zhojeného defektu.

Diskuse

Jak vyplývá z výše uvedeného, perforace jícnu je stav vážně ohrožující vitální orgánové funkce. Kromě šokového stavu vnímaného pacientem bolesti na hrudníku nebo v epigastriu, zhoršeným dýcháním a často příznaky hypotenze jsou objektivně nejzávažnějšími následky této události téměř vždy multiorgánové selhání a sepse. Rozhodující je délka období mezi vznikem perforace a operací. Někteří autoři považují za jistý časový předěl 24hodinový interval. Perforace ošetřené do tohoto limitu považují za včasnou operaci. Operace provedená po této době je považována za opožděnou (1,6). Jiní považují za opožděný výkon takový, který je proveden po 48 hod. od vzniku perforace (7). Námi prezentovaný soubor nemocných je malý, ale srovnatelný s jinými publikovanými soubory nebo kasuistikami (4,11,12). Nejde jistě o onemocnění časté, ale počet takových nemocných na jednom pracovišti v průběhu 24 měsíců je mimořádný. Pozoruhodná je i etiologická kompaktnost souboru. Různosti příčin jsou některé publikované soubory výrazně bohatší vzhledem k delšímu časovému období tvoření souboru a zahrnují např. obtíže se zúžením jícnu benigního i maligního původu (5,12,13). Největší množství problémů s poraněním jícnu dnes však vzniká při diagnostických nebo akutních terapeu-

tických procedurách. Manipulací v jícnu při uváznutí cizího tělesa lze navíc vyvolat kašlací reflex, což riziko iatrogenního poškození zvyšuje. Jiným úskalím je, že jde o jednoduchý ambulantní instrumentální výkon, ale při současně potřebě hluboké anestezie. Společné předměty (1,7,14) nebo uváznutí potravy mohou vést k přímému poranění jícnu, nebo k němu dojde při pokusu předmět nebo sousto odstranit endoskopicky (2,7,10).

Velkým úskalím celé léčby je včasná diagnóza stavu. Váhavost lékařů, kteří defekt jícnu většinou při endoskopii způsobí, a nutný časový prostor, který musí být věnován vlastnímu vyšetřování obtíží a především průkazu perforace, jsou častými příčinami opožděného zásahu chirurga. Prostý rentgenologický snímek hrudníku již může ukázat nepřímé známky poranění jícnu: pneumomediastinum, fluidopneumotorax, podkožní emfyzém. Nejlepší diagnostický postup je ale průkaz perforace polknutím vodného roztoku kontrastní látky za skiaskopické kontroly rentgenologem. Toto vyšetření by mělo následovat vždy po odstranění cizího tělesa z jícnu a současně by mohlo sloužit k odhalení jeho případné jiné patologie. Kontrast se kumuluje v blízkosti perforace v mediastinu či pleurální dutině dle rozsahu poranění (4,7,14). V našem souboru jsme tak prokázali perforaci jícnu u všech pacientů. Někdy byla navíc použita CT.

Bohužel v polovině případů se jednalo o opožděné řešení stavu. Dva nemocní byli operováni výrazně po 24 hod. od vzniku obtíží. Hospitalizace nastala vždy včas – do několika hodin po uváznutí stravy nebo projevu obstrukce jícnu. V některých případech však nejasnost rozsahu události, váhání ošetřujících lékařů s přizváním chirurga a provedením výše uvedených diagnostických kroků způsobily jistě prodloužení hospitalizace pacienta při rozvoji porážkových a pooperačních komplikací. U žádného nemocného to však nebylo příčinou úmrtí. K diagnostické rozvaze může významně přispět i nález podkožního emfyzému (4), nebo pneumotoraxu (15) pomocí rentgenologického vyšetření hrudníku nativním snímkem – v našem souboru 1x.

Autoři publikovaných sdělení se v terapii perforace jícnu shodují na nutnosti podání širokospektrých antibiotik již předoperačně (po průkazu perforace), kompenzaci šokových stavů, orgánových selhání a užití přiměřené arteficiální výživy (parenterální nebo enterální). Dále je doporučováno zavedení ezofagogastrického odsávání sondou nebo srkavým drénem (2,5,7,9,12). Určité rozdíly vykazuje pohled na reparaci jícnu. Možností je řada. Může být použita přímá sutura jícnu (7,9,14), kterou jsme my použili vždy. Uváděna je i resekce postiženého jícnu a provedení jeho náhrady žaludkem (3,6,7,11) nebo tračníkem (3,5,12). Po vyřešení defektu stěny jícnu následuje drenáž hrudníku, případně mediastina, zavedení sací drenáže jícnu a žaludku pro dekompresi a odstranění negativního vlivu zatékajících slin a obsahu žaludku k sutuře. Dle situace a rozhodnutí operátora je též možné připojit nutriční jejunostomii (5,11,14). Použili jsme různé druhy drenáže a lze doporučit zavedení 1-2 drénů hrudních a jednoho drénu mediastinálního. Z chirurgických komplikací lze na prvním místě uvést dehiscenci sutury defektu nebo eventuální anastomózy (2,7,14). V našem souboru operovaných se tato komplikace nevyskytla. Lze konstatovat, že naději na úspěšné řešení tohoto problému nemá opakování stejného operačního výkonu (viz výše). Možnými řešeními jsou: konzervativní postup s důrazem na spolehlivou kontrolu nebo úpravu hrudní drenáže, nebo provedení podvazu distálního jícnu a gastrostomie nebo jejunostomie. Prvně uvedená eventualita je všestranně výhodnější (kontrola nad žaludkem a aplikace výživy). Rekonstrukce zaživacího traktu je možná v čase dle vývoje stavu postiženého.

Umělou výživu je nutno aplikovat v celém pooperačním období do obnovení příjmu potravy p.o. Kvalitní nutriční podporu si vynucuje výrazný katabolismus (denní ztráty dusíku vylučovaného do moči jsou přes 20 g, často mezi 30-40 g, ale zaznamenali jsme i ztráty nad 60 g denně!). Plná nutriční podpora je zahajována parenterálně a enterální příjem je zkoušen gastrostomií nebo jejunostomií (chirurgicky zavedenými). Pokud je enterální výživa dobře tolerována, je metodou volby umělé výživy v dlouhém pooperačním období.

Péče o nemocné s poraněním jícnu je typickou mezioborovou medicínskou problematikou dnešních dní. Velmi dobře se osvědčila spolupráce chirurgů s intenzivisty metaboliky a anesteziology.

Závěry

- I. Diagnostika se stále opírá o pasáž vodného roztoku kontrastní látky jícnem. Měla by být provedena neprodleně i při podezření na perforaci a lze doporučit její provedení po každé instrumentální extrakci cizího tělesa.
- II. Provedení operace do 6 hod. od vzniku perforace jícnu významně zlepší prognózu quoad decursum morbi et quoad vitam. Rizika rozvoje septického šoku a multiorganového selhání přesto zůstávají velmi vysoká.
- III. Operační řešení spočívá v pečlivé sutuře anatomicky, a tedy i kvalitativně problematické stěny jícnu (často v zánětlivém terénu) atraumatickým vstřebatelným šicím materiálem a založení funkční drenáže hemitoraxu a mediastina (k sutuře).
- IV. Kolemoperační péče tkví především v aplikaci širokospektrého antibiotika předoperačně a zahájení kvalitní arteficiální výživy. Nutno respektovat možnost užití symptomatických medikamentů dle současných poznatků (prokinetika, diuretika, katecholaminy, H₂ blokátory, glukokortikoidy, antioxidanty etc.). Vysoké finanční náklady při léčbě perforace jícnu a případného komplikovaného pooperačního průběhu jsou dány především potřebou dlouhodobé aplikace antibiotik a umělé výživy.
- V. V kolemoperační péči hraje rozhodující roli široce technicky a zkušeným personálem vybavená JIP s možností resuscitační péče, nebo minimálně s intenzivní péčí vyššího stupně.

Literatura

1. Weissberg D. Foreign bodies in the gastro-intestinal tract. South Afr J Surg 1991;29(4):150-3.
2. Cieslik R, Sapula R, Cieslik T. Surgical treated esophageal perforation caused by metal esophagoscope. Wiadomosci Lekarskie 1989;42:978-9.
3. Gupta NM. Emergency transhiatal oesophagectomy for instrumental perforation of an obstructed thoracic oesophagus. Brit J Surg 1996;83:1007-9.
4. Pešková M. Iatrogenic injury of the esophagus. Rozhl Chir 1990;69:103-9.
5. Banerjee A, Rao KS, Nachiappan M. Intrathoracic oesophageal perforations following bougienage: a protocol for management. Austr N Zel J Surg 1989;59:563-6.
6. Adam DJ, Thompson AM, Walker WS, Cameron EW. Oesophagogastronomy for iatrogenic perforation of oesophageal and cardia carcinoma. Brit J Surg 1996;83:1429-32.
7. Brichon P, Couraud L, Velly JF, Martigne C, Clerc F. Perforation and rupture of the esophagus. Apropos of 35 cases. Ann Chir 1990;44:464-70.
8. Černý J. Chirurgia tráviacej rúry. Martin: Osveta, 1988:515s.

9. Aagaard J, Kjaergaard H. Treatment of iatrogenic oesophageal perforation diagnosed with delay. Ann Chir Gyn 1991;80:346-8.
10. Gryga A, Duda M, Dlouhý M, Scheinarová A, Mocnáková M. Mediastinitis due to perforation. A Univ Palackianae Olomucensis Facultatis Medicae 1994;138:73-4.
11. Montresor E, Mangiante G, Lupi A et al. Iatrogenic rupture of the esophagus: presentation of several cases. Chir Ital 1994;46:37-45.
12. Meysman M, Noppen M, Delvaux G et al. Bronchomediastinal fistula following perforation of the oesophagus. Respirology 1966;1:217-9.
13. Moghissi K. Instrumental perforation of the oesophagus. Hospital Med 1988;39:231-6.
14. Nashef SA, Klein C, Martigne C et al. Foreign body perforation of the normal oesophagus. Eur J Cradio-Thoracic Surg 1992;6:565-7.
15. Tilanus HW, Bossuyt P, Schattenkerk ME, Obertrop H. Treatment of oesophageal perforation: a multivariate analysis. Brit J Surg 1991;78:582-5.

*MUDr. RNDr. Milan Kaška, Ph.D.,
Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta v Hradci Králové,
Katedra chirurgie,
500 05 Hradec Králové.*

KAPITOLY PRO PRE- A POSTGRADUÁLNÍ STUDIUM

**NEJČASTĚJŠÍ ZLOMENINY A LUXACE HORNÍ
KONČETINY A JEJÍHO PLETENCE S PŘÍHLÉDNUTÍM
K NOVÝM ZPŮSOBŮM JEJICH LÉČBY**

II. Zlomeniny předloktí

Karel Záhořák

Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové: Katedra chirurgie

Zlomeniny okovce (fracturae olecrani ulnae)

- vznikají při pádu nárazem na flektovaný loket. Projeví se otokem a palpační bolestivostí na dorzální straně lokte. Při dislokaci úlomku je hmatná příčná rýha a patologický pohyb odlomeného fragmentu. Dislokace vzniká tahem m. triceps brachii.

Terapie:

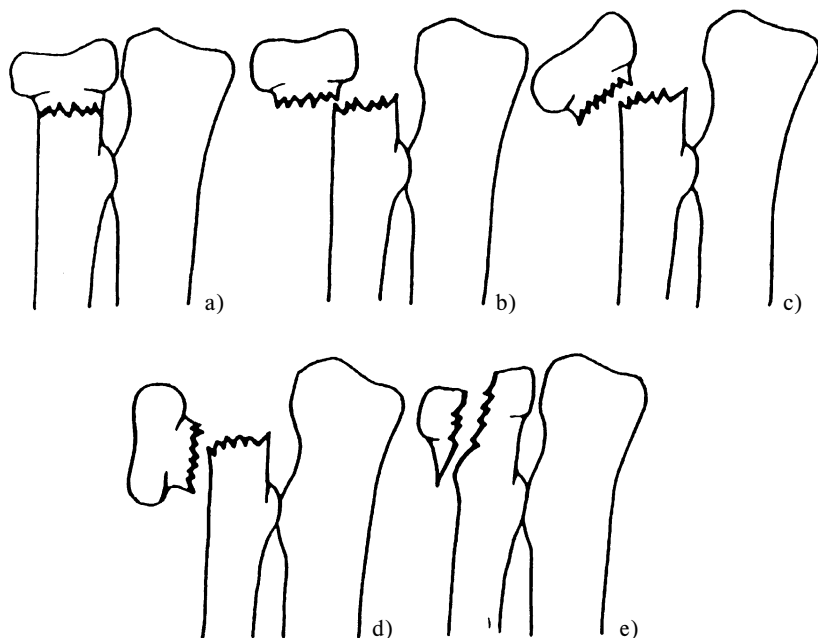
- nedislokované zlomeniny – sádrová fixace v 90° flexi lokte 3-5 týdnů
- dislokované zlomeniny – viz standardy operační léčby zlomenin předloktí.

**Zlomeniny hlavičky a krčku kosti vřetenní
(fracturae capituli et colli radii)**

- vznikají pádem na extendovanou končetinu, kdy hlavička je vržena proti hlavičce humeru. Projevují se otokem loketního kloubu, palpační bolestivostí, poruchou funkce kloubu s omezením supinace a pronace předloktí. Podle rtg snímku rozlišujeme různé stupně dislokace těchto zlomenin, které vidíme na obr. 1 (podle Judeta):

- a) zlomenina krčku bez dislokace,
- b) zlomenina s posunem ad latera,
- c) zlomenina s posunem ad latera et ad axim,
- d) úplné sklouznutí hlavičky,
- e) epifyzární zlomenina dlátovitá (IV. typ Salter-Harris).

Terapie: Zlomeniny hlavičky radii bez dislokace nebo do posunu o 2/3 hlavičky a 2-3 mm deprese můžeme léčit konzervativně, evakuovat se má hemarthros pro zmenšení bolesti. Končetinu zavěsíme na šátek nebo imobilizujeme dorzální sádrovou dlahou v 90° flexi lokte. Operační léčba viz dále.



Obr. 1: Stupně dislokace zlomenin krčku a hlavičky k. vřetenní podle Judeta: a) zlomenina krčku bez dislokace, b) zlomenina s posunem ad laterus, c) zlomenina s posunem ad laterus et ad axim, d) úplné sklouznutí hlavičky, e) epifyzární zlomenina dlátovitá (IV. typ Salterův-Harrisův).

Standards operáční léčby zlomenin proximálního předloktí

Zlomeniny olekranu

Indikace: zlomeniny s dislokací

Optimální postup:

- osteosyntéza 2 K-dráty a tahovou cerkláží, případně tahový šroub,
- dlaha (rekonstrukční, autokompresní = DCP) u tříštivých zlomenin proximální ulny a olekranu.

Možný postup: spongiózní šroub intramedulárně, event. doplněný cerkláží.

Zlomeniny hlavičky radia

Indikace: dislokované zlomeniny

Optimální postup:

- osteosyntéza šroubky nebo vstřebatelnými hřebíčky u jednoduchých zlomenin s možností rekonstrukce,

- primární exstirpace hlavičky radia u víceúlomkové zlomeniny hlavičky radia s nemožností rekonstrukce a u subkapitálních zlomenin. U dětí se hlavička kosti vřetenní nikdy neexstirpuje!

Zlomeniny předloktí (fracturae antebrachii)

Kromě výše uvedených zlomenin proximálního předloktí sem patří:

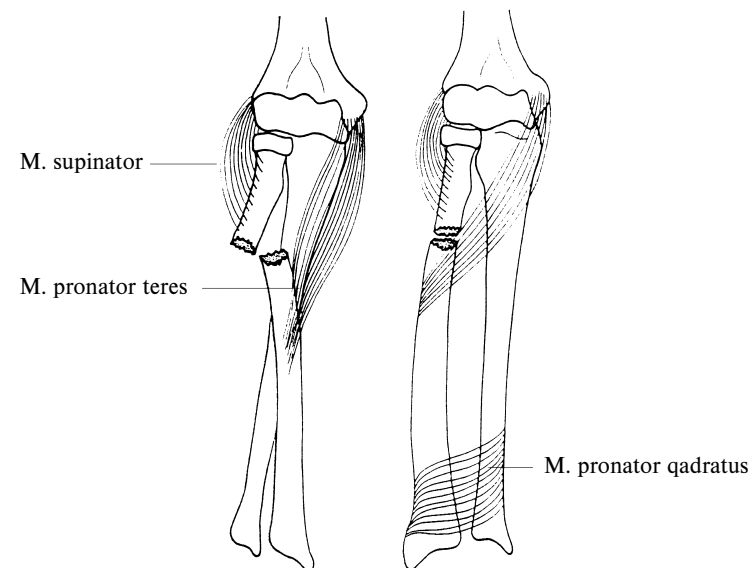
- diafyzární zlomeniny,
- Monteggiaova zlomenina,
- Galeazziho zlomenina,
- Collesova zlomenina,
- Smithova zlomenina.

Diafyzární zlomeniny radia a ulny

- spirální nebo šikmé zlomeniny jsou způsobeny nepřímým násilím. Příčné, tříštivé zlomeniny nebo zlomeniny typu „vrbového proutku“ (dětské) jsou výsledkem spíše přímého násilí. Zlomeniny se projeví obvykle osovou dislokací, úhlovitým ohnutím, rotační odchylkou i zkrácením. Tyto deformace jsou způsobeny tahem svalových skupin. Druh dislokace úlomků závisí na lokalizaci zlomeniny.

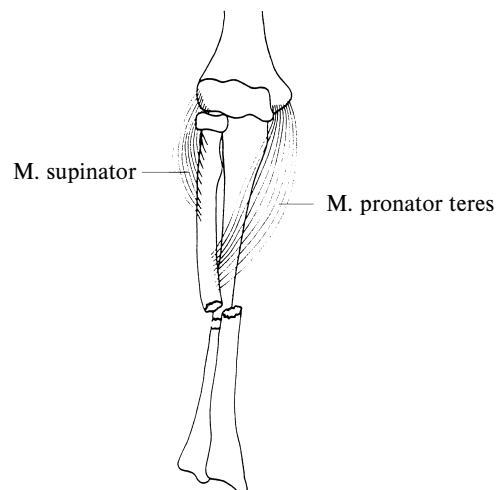
Na obr. 2 vidíme dislokace úlomků podle lokalizace zlomeniny

- a) v horní třetině = reponovat a imobilizovat v supinaci,
- b) výsledek správné repozice.



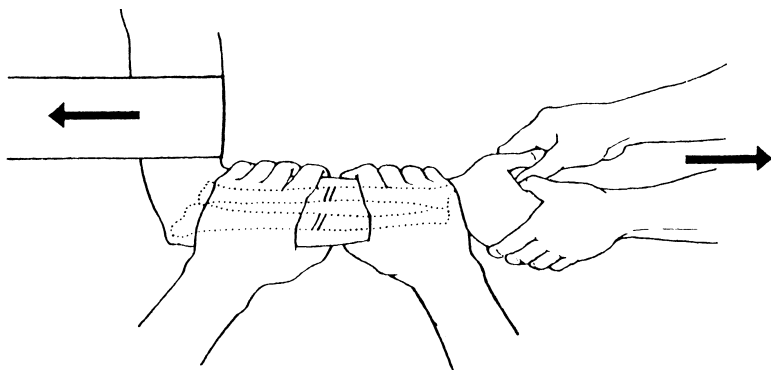
Obr. 2: Dislokace úlomků podle lokalizace zlomeniny a) v horní třetině – reponovat a imobilizovat v supinaci, b) výsledek správné repozice.

Obr. 3 znázorňuje zlomeninu lokalizovanu ve střední (event. distální) třetině, která se má reponovat a imobilizovat ve středním postavení (mezi supinací a pronací předloktí).



Obr. 3: Dislokace úlomků zlomeniny střední a distální třetiny - imobilizovat ve středním postavení.

Terapie je možná konzervativní - většinou u dětí (zlomeniny typu zeleného proutku). Na obr. 4 je znázorněn způsob repozice zlomeniny obou kostí předloktí. Imobilizace 16-20 týdnů je většinou pro konsolidaci zlomeniny dostatečná. Zlomeniny obou kostí předloktí jsou zpravidla po repozici nestabilní, proto vyžadují operační léčbu.



Obr. 4: Repozice zlomeniny obou kostí předloktí. Tah za palec a prsty ruky v 90° flexi v loketním kloubu + místní manipulace.

Standardy operační léčby zlomenin diafýzy radia a ulny

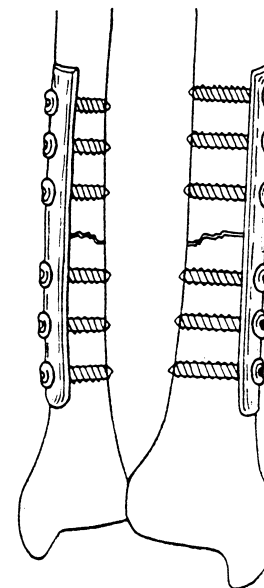
Indikace: dislokované zlomeniny jedné nebo obou kostí předloktí.

Optimální postup:

- osteosyntéza dlahou,
 - True flex je nitrodřeňová fixace speciálním kovovým prutem.
- Možný postup:
- nitrodřeňová fixace K-dráty (odpatační osteosyntéza rotačně nestabilní je vhodná pro ulnu, pro radius je nevhodná),
 - zevní fixace u zlomenin s rozsáhlým poškozením měkkých tkání - otevřené zlomeniny.

Nevhodný postup:

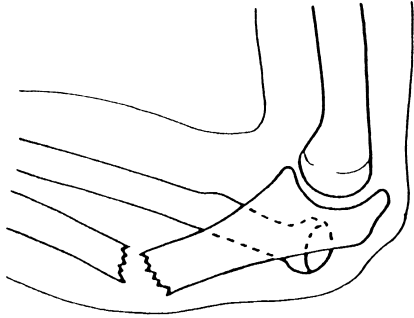
Použití třetinové zlábkové dlahy z malého instrumentária.



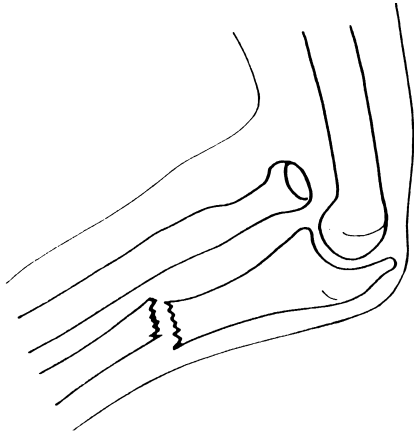
Obr. 5: Osteosyntéza úzkou, eventuálně zlábkovou dlahou.

Monteggia zlomenina

- jde o zlomeninu v proximální nebo střední třetině ulny s luxací hlavičky radia. Pádem na loket vzniká flekční typ zlomeniny se zadní luxací hlavičky radia (obr. 6). Pádem, nárazem či úderem na pronované předloktí s přední luxací hlavičky radia vzniká extenční typ zlomeniny (obr. 7). Ligamentum annulare může bránit repozici hlavičky radia zejména u extenčního typu. Diagnóza je potvrzena rtg vyšetřením lokte a předloktí ve 2 projekcích. Dislokace hlavičky radia může být přehlédnuta.



Obr. 6: Monteggiaova zlomenina. Flekční typ zlomeniny se zadní luxací hlavičky radia.



Obr. 7: Monteggiaova zlomenina. Extenční typ zlomeniny se přední luxací hlavičky radia.

Terapie: nejlépe operační – osteosyntéza ulny dlahou s exaktní repozicí radia, která se daří nekrvavě. Případně se odstraní lig. annulare, nebo se rekonstruuje. Imobilizace k udržení reponované hlavičky je 6 týdnů.

Galeazziho zlomenina (obrácená zlomenina Monteggia)

- jde o zlomeninu radia – diafýzy na přechodu střední a dolní 1/3 s dislokací a současným poraněním distálního radioulnárního skloubení. Diagnózu stanovíme podle známých místních příznaků (obecných) zlomeniny + rtg vyšetření předloktí.

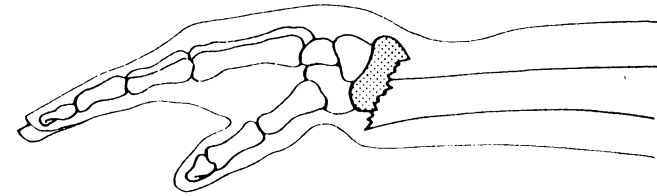
Terapie: nejlépe krvavá repozice s osteosyntézou radia dlahou a imobilizací sádrovým obvazem v supinaci předloktí 6-8 týdnů. I když poranění zahrnuje luxaci distálního radioulnárního kloubu, není nutná fixace K-dráty, pokud se daří udržet v supinaci reponované postavení.

Zlomeniny distální části předloktí

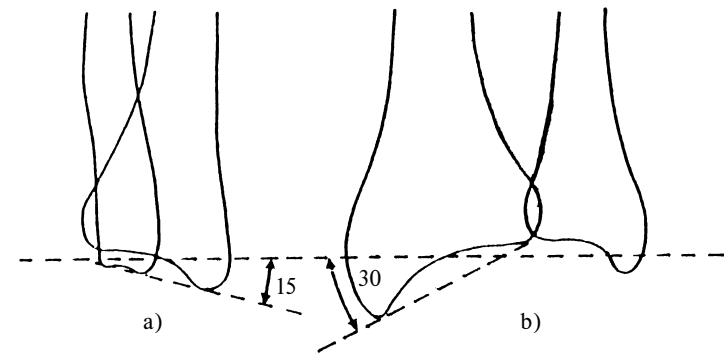
Collesova zlomenina (fractura piphyseos distalis radii)

- nejčastěji se vyskytuje u žen staršího věku. Vzniká obvykle pádem na dlaň extendované, dorzálně flectované ruky. Při extenzním mechanismu vzniká obvykle typická bajeťová deformace zápěstí s bolestivým otokem. Distální úlomek se dislokuje dorzálně. Pro rtg diagnostiku a správnou repozici této zlomeniny je třeba vědět, že Collesova zlomenina je extenčního typu s dorzální dislokací distálního úlomku (obr. 8). Normální sklon artikulární plochy radia v obou projekcích (obr. 9). Na obr. 10 je vidět, že úhel artikulární plochy radia je zmenšený až negativní.

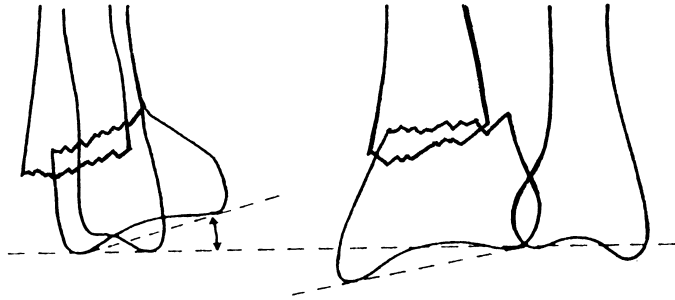
Terapie: repozice tahem a protitahem častěji v místním než v celkovém znecitlivění. Přiloží se krátká sádrová dlahá (dorzální), doplněná za 2 dny cirkulárním sádrovým obvazem. Rtg kontroly pro riziko redislokace zlomeniny jsou nutné! Celková doba imobilizace je 5 týdnů. Operační léčba je uvedena dále ve standardech operační léčby distální části předloktí.



Obr. 8: Collesova zlomenina je extenčního typu s dorzální dislokací distálního úlomku.



Obr. 9: Collesova zlomenina. Normální sklon artikulárních ploch v obou rtg projekcích: a) bočné, b) předozadní.

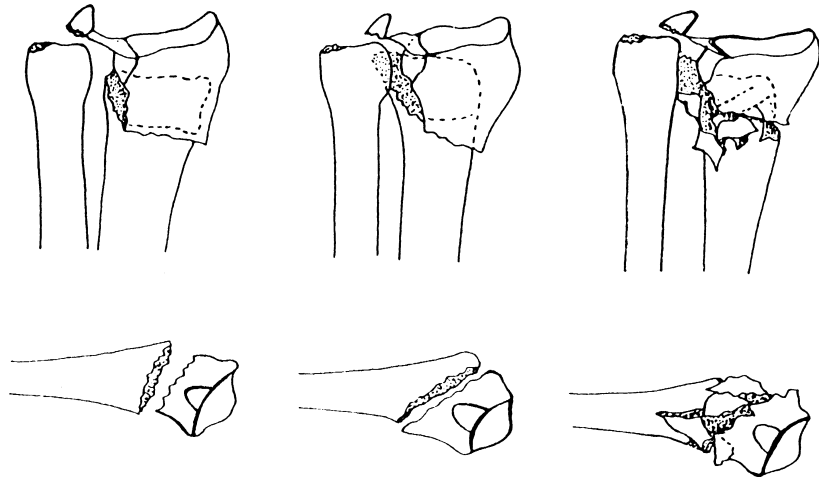


Obr. 10: Zmenšený až negativní úhel artikulační plochy u Collesovy zlomeniny.

Smithova zlomenina

- vyskytuje se častěji u mladších jedinců. Vzniká obráceným mechanismem než Collesova zlomenina – pádem na volárně flektovanou ruku. Rtg vyšetření suverénně rozhodne o diagnóze. Existují zlomeniny extraartikulární (obr. 11) a intraartikulární.

Terapie: extraartikulární příčné zlomeniny lze zpravidla zreponovat a fixovat sádrovým obvazem s rtg kontrolou 3., 7., 12. den kvůli možné redislokaci. Jiné – nestabilní – zejména intraartikulární zlomeniny vyžadují osteosyntézu.



Obr. 11: Extraartikulární typy Smithovy zlomeniny v obou rtg projekcích (vyskytují se i zlomeniny intraartikulární).

Standardy operační léčby zlomenin distální části předloktí

Indikace: všechny typy tříštivých a nestabilních zlomenin – Collesova či Smithova a jiných typů zlomenin.

Optimální postup podle typu zlomeniny a stavu měkkých tkání:

- percutánní transfixace K-dráty, šrouby, FFS (Fragment Fixation Systém),
- zavřená osteosyntéza zevním fixátérem,
- otevřená repozice a stabilizace šrouby, K-dráty a dlahami pro distální radius,
- některé postupy lze kombinovat.

Zlomeniny v oblasti zápěstního kloubu

- nejčastějším poraněním v oblasti zápěstí bývají zlomeniny kosti loďkové-člunkové (os naviculare, os scaphoideum) a luxace kosti poloměsíčitě (os lunatum).

Zlomenina kosti člunkové (fractura ossis scaphoidei carpi)

- postihuje mladší lidi při pádu na dlaň, zejména při různých druzích sportu. Nejčastěji se láme ve střední třetině (70 %), v proximální třetině (20 %) a v distální třetině (10 %). Prognóza závisí na výživě úlomků, která je lepší v distální a střední 1/3.

Diagnóza: Při vyšetření zjistíme tlakovou bolest ve „fossa tabatière“ a při nárazu na palec. Rtg vyšetření vyžaduje kromě základních projekcí dvě projekce šikmé. Je-li rtg nález negativní a klinické příznaky pozitivní, přiložíme sádrovou dlahu na 2-3 týdny. Potom následuje rtg kontrola, kdy se linie lomu zvýrazní, anebo rtg nález zůstane negativní.

Terapie: zlomeniny v distální třetině imobilizujeme 6-8 týdnů, v proximální 3 měsíce i více.

Standardy operační léčby zlomenin člunkové kosti

Indikace: významně dislokované zlomeniny a zlomeniny s luxací karpálních kůstek.

Optimální postup: kompresní osteosyntéza spongiózním, lépe kanalizovaným šroubem či Herbertovým šroubem, event. doplněná štěpem.

Luxatio ossis lunati

- vzniká působením velkého násilí na dlaň. Luxuje se volárně. Projeví se otokem a bolestivostí zápěstí, někdy parestezií v oblasti n. mediani. Diagnózu potvrdí rtg vyšetření ve více projekcích. Nejlépe boční projekce zápěstí.

Terapie: repozice v celkové anestezii – tah a hyperextenze s tlakem na luxovanou kost. Ruka se převede do flexe. Za týden se přesádruje do fyziologické polohy. Celková doba imobilizace 4 týdny.

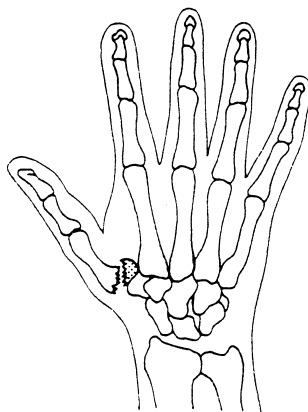
Zlomeniny záprstních kostí (fracturae ossium metacarpalium)

- vznikají nárazem na hřbet ruky, někdy na extendované prsty. Mohou být příčné, šikmé nebo spirální. Nejčastěji jde o zlomeniny I. metakarpu-báze, dále subkapitální zlomeniny V. a IV. metakarpu a zlomeniny zbývajících metakarpů.

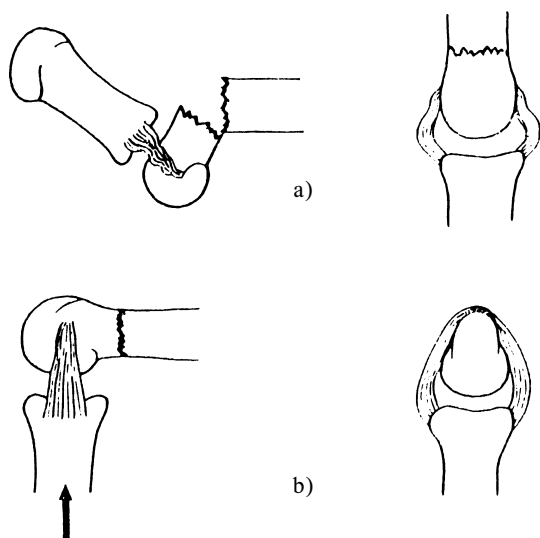
Bennetova zlomenina

- jde o intraartikulární zlomeninu báze I. metakarpu (obr. 12).

Terapie: tah za abdukovaný palec a tlak na radiální stranu báze metakarpu. Sádrová fixace 4-6 týdnů. Někdy je nutná transfixace K-drátem.



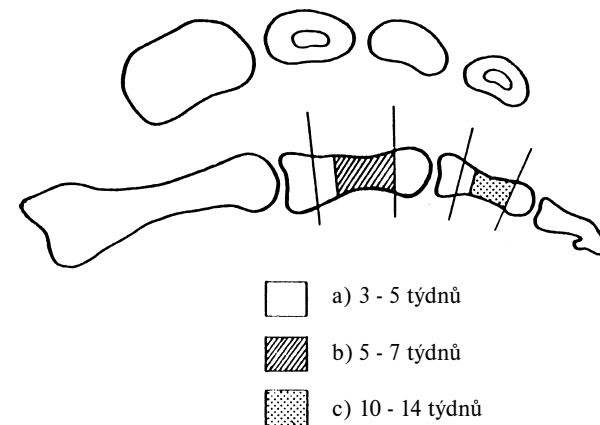
Obr. 12: Bennetova intraartikulární zlomeniny báze I. metakarpu.



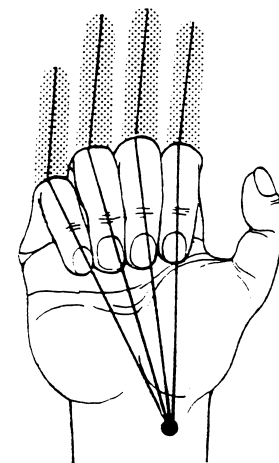
Obr. 13: Repozice zlomeniny krčku metakarpu: a) subkapitální dislokace metakarpu s typickou volární dislokací hlavičky, b) není možné reponovat hyperextenzi, ale 90° flexi metakarpofalangeálního kloubu a tahem v dlouhé ose prstu, kdy jsou napnuté kloubní vazy (podle Watsona-Jonesa).

Subkapitální zlomeniny metakarpů

- nejčastěji postihují IV. a V. metakarp. Vyskytují se často u boxerů. Na obr. 13 je vidět typickou volární dislokaci hlavičky metakarpu a způsob repozice této zlomeniny, kterou provedeme tlakem v dlouhé ose prstu při 90° flexi metakarpofalangeálního kloubu. Imobilizujeme prstovou dlahou, event. fixovanou leukoplastí. Operační postup viz dále ve standardech operační léčby.



Obr. 14: Doba hojení zlomenin článků prstů v různých úsecích.



Obr. 15: Správný směr osy prstů ve flexi.

Zlomeniny prstů

- vznikají přímým násilím anebo pádem na extendovaný prst. Diagnózu potvrdí rtg vyšetření.

Zásady ošetření poraněných prstů:

1. Řádné znehybnění, nikdy ne v extenzi prstu.
2. Imobilizovat jen poraněný prst.
3. Ihned po ošetření začít aktivně cvičit neporaněnými prsty.

Zlomeniny v různých úsecích prstů se hojí různě dlouho, jak je uvedeno na obr. 14. Při imobilizaci prstů je třeba zachovat správný směr osy prstů, aby nedošlo k jejich zhroucení ve špatném postavení - dislokaci ad periferiam (obr. 15).

Standardy operační léčby zlomenin metakarpů a článků prstů

Indikace: dislokované a luxační zlomeniny (při současném závažném poranění měkkých tkání je vhodný překlad na specializované pracoviště).

Optimální postup: v závislosti na typu zlomeniny

- osteosyntéza šroubky nebo dlažkou z malého instrumentária,
- zevní fixatér,
- samostatné K-dráty,
- resorbovatelný materiál.

V textu bylo použito obrázků z monografie I. Hudec a kol.: Úrazová chirurgie, vyd. Osveta, 1986.

Literatura

1. Hudec I. et al. Úrazová chirurgie. Martin: Vydavatelstvo Osveta, 1986:627-80.
2. Taller S, Bartoniček J, Maňák P, Nestrojil L, Pleva J, Tesař J. Standardy operační léčby zlomenin dospělých. Úraz Chir 1998;6(3):46-52.
3. Way L et al. Současná chirurgická diagnostika a léčba. Praha: Grada Publishing, 1998:1246-71.

*Doc. MUDr. Karel Zahořák, CSc.,
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně,
Katedra chirurgie,
500 05 Hradec Králové.*

ZE ŽIVOTA FAKULTY

Zpráva z 411. plenárního zasedání Fyziologické sekce České lékařské společnosti J. Ev. Purkyně v Hradci Králové a pobočky Československé biologické společnosti v Hradci Králové dne 5. dubna 2000

Účelem přednáškového odpoledne „Kmenové buňky“, jehož spolupředatelem byl Ústav histologie a embryologie LF UK v Hradci Králové, bylo seznámit odbornou veřejnost s posledními poznatky získanými studiem kmenových buněk (KB). Časopis *Science* vyhodnotil tuto oblast výzkumu za vůbec nejdůležitější a nejpřínosnější na poli biomedicinských věd v r. 1999. Program monotematického přednáškového cyklu byl koncipován tak, aby poskytl náhled na tuto aktuální problematiku z více zorných úhlů, a oslovil tudíž zástupce různých oborů. Témata pěti přednášek zahrnuje charakteristiku KB ve fetálních i dospělých tkáních, poznatky získané studiem totipotentních (ES) i orgánově specifických (např. neurálních) KB *in vitro*, účast KB v patogenezi některých onemocnění i perspektivní uplatnění KB v terapii. Originálně sem byla zařazena a do souvislosti dána i neuroonkologická problematika KB. Atraktivní téma přilákalo tentokrát do prostor velké posluchárny LF UK velké množství zájemců, mezi nimiž nechyběli ani mimohradečtí návštěvníci z Prahy a Olomouce.

VLASTNOSTI KMENOVÝCH BUNĚK A JEJICH DISTRIBUCE V DOSPĚLÝCH TKÁNÍCH

Jaroslav Mokry

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové: Ústav histologie a embryologie

Vlastnosti kmenových buněk (KB) jsou určeny již v časných fázích ontogeneze, neboť KB patří k prvním typům buněk, které jsou za vývoje založeny. V prvních etapách vývoje není založen jeden typ KB, ale vzniká celá hierarchie KB. Nejdříve jsou založeny totipotentní KB, které dávají vznik pluripotentním KB (odvozeným např. z jednotlivých zárodečných listů) a z těchto vznikají orgánově specifické KB. Počet KB je tedy dán v průběhu organogeneze a KB jsou přítomny ve všech tkáních. Ve fetálních tkáních slouží KB k tvorbě vysokého počtu více diferencovaných buněk; jejich produkce podmiňuje růst a maturaci založených orgánů a způsobuje relativní „úbytek“ počtu KB. Aby při tvorbě specializovanějších typů buněk nezaklapla populace KB, musí být KB schopny vy-

tvářet oba typy buněk, tj. buňky kmenové a progenitorové, které jsou předurčeny k vy-
zrávání ve specializované typy buněk. To je možné buď asymetrickým růstem populace
KB, nebo jejich asymetrickým dělením. Identifikace genů řídících orientaci mitotického
vřeténka a asymetrickou distribuci proteinů dělicích se buněk (např. *Notch-1, bazooka, in-
scuteable, miranda, prospero, numb*) podporuje druhou hypotézu.

Stejně vlastnosti si KB zachovávají i v dospělých tkáních. Nejnápadnějším rozdílem
je, že zde KB vystupují jako relativně klidové buňky. Proliferační aktivita dospělých
KB je inhibována a přesně regulována v zájmu udržení tkáňové homeostázy. K pře-
chodné aktivaci KB však dochází v okamžiku ztráty diferencovaných buněk, ať již pří-
rozeným zánikem buněk, nebo jejich poškozením vyvolaným zevními vlivy. Poněvadž
KB představují buňky založené v časných fázích vývoje, je jejich fenotyp do značné míry
„primitivní“ (postrádá mimo jiné specifické markery, jako je tomu u diferencovaných
typů buněk), což znesnadňuje identifikaci KB v dospělých tkáních. Jejich lokalizaci ne-
přímo naznačuje např. mitotická aktivita progenitorů, které jsou odvozeny od okolních
KB – podle těchto kritérií lze dobře sledovat distribuci KB např. v epitelech. V závěru
sdělení byl diskutován vztah KB k některým patologickým afekcím postihujícím lidské
tkáně.

Podpořeno grantem GAČR č. 304/00/0338.

TERAPEUTICKÉ KLONOVÁNÍ JAKO CESTA K EMBRYONÁLNÍM KMENOVÝM BUNĚKÁM „NA MÍRU“

Jan Motlík

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, Liběchov

Embryonální kmenové buňky (ES) představují buněčné linie, které byly poprvé izo-
lovány v r. 1981 z embryoblastu myších blastocyst. Tyto buňky jsou schopny neustálého
růstu ve vhodných kultivačních podmínkách, přičemž zůstávají v nediferencovaném sta-
vu. Po přenosu do blastocelové dutiny se tyto buňky diferencují ve všechny buněčné li-
nie včetně buněk zárodečných (u chimérických zvířat). Diferenciaci ES buněk lze také
navodit *in vitro*. Po vyjmutí ES buněk z kultivačních podmínek, které udržují jejich ne-
diferencovaný stav, se buňky spontánně diferencují v tzv. „*embryoid bodies*“ (EBs). EBs
obsahují ektoderm, mezoderm a entoderm a s postupem času vyzrávají v hematopoe-
tické, endoteliální, svalové, nervové buňky aj. EBs takto mohou představovat neomeze-
ný zdroj specializovaných a funkčních buněk pro účely buněčné terapie. Předběžné
výsledky naznačují, že terapie některých neurodegenerativních onemocnění založená na
ES buňkách je schůdná. Podobné vlastnosti jako ES vykazují i primordiální zárodečné
buňky (PG), které byly později ustaveny z fetálních zárodečných buněk. V listopadu
1998 byly publikovány dva články, které oznámily vytvoření několika linií lidských ES
a PG buněk. Po 5-6 měsících nepřetržitého růstu všechny buňky vykazovaly vysokou te-
lomerázovou aktivitu, specifickou pro buňky s neomezeným proliferačním potenciálem.

Totipotentní povaha buněk byla potvrzena i masivním vývojem teratomů po přenosu do
břišní dutiny u myši. Pokud i tyto linie prokážou schopnost produkce lidských pluripo-
tentních kmenových buněk (odpovídající příslušným zárodečným listům) a orgánově
specifických kmenových buněk, bylo by možné je využít při léčbě celé řady lidských one-
mocnění. Z pohledu kompatibility budou linie lidských ES a PG buněk představovat alo-
genní buňky. Přestože nevyzrálé buňky a tkáně jsou dárcem přijímány snadněji než
tkáně dospělých dárců, nelze vyloučit ani případnou rejekci alogenních buněk. Současný
pokrok v metodice přenosu jader nevyklučuje vytvoření linií nediferencovaných buněk
přímo pro potřebu konkrétního pacienta, aby se tak předešlo problémům budoucího od-
hojení. Ačkoli principiálně by bylo možné přenést jádro somatické buňky pacienta pří-
mo do lidského či zvířecího oocyty a žádanou linii ES buněk izolovat z embryoblastu
takto vytvořené blastocysty, z morálně etických důvodů nebudou tyto postupy provedi-
telné, a jako zbývající alternativa se rýsuje nukleární transplantace chromatinu somatic-
ké buňky do ES buňky.

Zapsal: doc. MUDr. Jaroslav Mokřý, Ph.D.

NEURÁLNÍ KMENOVÉ BUNĚKY A JEJICH VLASTNOSTI

Jaroslav Mokřý, Lenka Kotingová, Danuše Šubrtová, Stanislav Němeček

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové: Ústav histologie a em-
bryologie

Neurální KB (NKB) jsou multipotentní populací, která slouží k produkci nervo-
vých i gliových buněk CNS. Tyto buňky lze izolovat jednak z fetálního CNS a jednak
z těch oblastí dospělého CNS, které se účastní i v dospělosti neurogeneze, např. sub-
ependymální zóna mozkových komor či hipokampální *gyrus dentatus*. NKB lze zachy-
tit a pěstovat *in vitro* pomocí růstových faktorů EGF nebo bFGF, které stimulují jejich
proliferaci. V závislosti na kultivačních podmínkách je možné NKB pěstovat ve formě
monolayeru nebo jeho buněčné sferoidy (neurosféry). Potomstvo produkované NKB *in
vitro* se spontánně diferencuje v buňky neuronální, astroglální a oligodendroglální li-
nie. Diferenciaci lze usnadnit odejmutím mitogenních růstových faktorů a jejich sub-
stitucí fetálním sérem. Naopak kontinuální disociace buněk a jejich opětovné vysetí do
misek obsahujících médium s vhodnými růstovými faktory znemožňuje vyzrávání bu-
něk a napomáhá uchovat nezralý fenotyp NKB a expandovat jejich počty *in vitro*.
Transplantační experimenty dokládají, že schopnost diferenciaci v nervové a gliové
elementy zůstává zachována i po vpravení NKB do mozku dospělých potkanů.
Poslední experimenty doložené některými publikovanými pracemi naznačují, že dife-
renціаční potenciál NKB bude mnohem širší, než jsme se dosud domnívali, neboť
v případě příslušné aktivace se z NKB mohou rekrutovat i buňky krevní řady či hlad-
ké svaloviny.

Podpořeno grantem GAČR č. 304/00/0338.

PRIMÁRNÍ NÁDORY MOZKU Z PREKURZOROVÝCH BUNĚK

Stanislav Němeček^{1,2}, Jana Němečková¹, Jaroslav Mokry²

Fakultní nemocnice v Hradci Králové: Neurochirurgická klinika, Neuropatologická laborator¹; Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové: Ústav histologie a embryologie²

Současná terapeutická strategie a manipulace zaměřená na neurální prekurzorové buňky (kmenové a progenitorové) naznačuje způsoby použití: 1) Plasticita a fenotypické přizpůsobení instalovaných prekurzorových buněk může umožnit funkčně plnohodnotnou rekonstrukci příslušné oblasti mozku. 2) Prekurzorové buňky se nedodávají, ale využije se spontánní či indukované aktivity již přítomných elementů tohoto druhu (tzv. endogenní reparace). 3) Časná transplantace prekurzorových buněk příznivě ovlivní tzv. druhotné poškození při traumatu či infarktu CNS. Transplantát modifikuje rozvíjející se ložisko (preventivní redukce rozsahu ložiska). 4) Při léčbě embryonálních nádorů mozku (viz dále) se farmakologicky může docílit jejich maturace a diferenciaci, čímž tyto tumory ztratí svůj maligní charakter.

Nádorové buňky jsou mutanti s různým počtem a charakterem genetických změn, které postihují klíčové geny regulující buněčné dělení a diferenciaci. Histobiologická klasifikace nádorů je postavena na histogenetickém principu. Pomocí imunohistochemických markerů srovnáváme vývojová stadia jednotlivých řad s jejich výskytem v jednotlivých nádorech. Citlivým bodem pro vznik tumorů mozku je přítomnost sebeobnovných kmenových a progenitorových buněk. Řada nálezů nasvědčuje, že tzv. embryonální nádory mozku vznikají z prekurzorových buněk. Jde vesměs o maligní pediatrické nádory.

Meduloepiteliom: svým vzhledem odpovídá medulární rouře. Centrální neuroblastom a ganglioneuroblastom: předpokládá se replikace progenitoru zadaného pro neuronální vývoj. Ependymoblastom: předpokládá se replikace progenitoru zadaného pro ependymální řadu. Meduloblastom: z primitivních buněk s neuronální a astrocytární diferenciací. Rozsah a stupeň této diferenciaci může určovat biologické vlastnosti tumoru. Supratentoriální primitivní neuroektodermální tumor (PNET): vzhled a biologie jako meduloblastom, ale uložení ve velkém mozku.

Podpořeno grantem GAČR č. 304/00/0338.

PERSPEKTIVY VYUŽITÍ KMENOVÝCH BUNĚK V HUMÁNNÍ MEDICÍNĚ

Jaroslav Mokry

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové: Ústav histologie a embryologie

Fyziologickou úlohou KB je formování jednotlivých orgánů v průběhu organogeneze a později zajištění jejich regenerace. Pro tyto své vlastnosti jsou KB „předurčeny“ pro využití v léčbě afekcí postihujících nejrůznější orgány. Osvojení metodik vedoucích k tvorbě potřebného množství KB a k nasměrování diferenciaci potomstva KB v přesně vymezené buněčné typy způsobí revoluční převrat v terapeutických možnostech soudobé medicíny. Ačkoli tradičně se KB používají při terapii některých hematologických onemocnění, není dosud možné hematopoetické KB kultivovat a pasážovat *in vitro*. Toto je zatím možné pouze v případě ES, PG a NKB. Získané exogenní buňky bude možné využít při buněčné terapii sloužící k substituci poškozené populace buněk uvnitř daného orgánu nebo k urychlení procesu hojení lézí atd. Z dalších terapeutických aplikací se v souvislosti s použitím KB nejčastěji zmiňuje terapie autoimunitních onemocnění, možnost navození tolerance k alogenním tkáním či použití KB jako vektoru pro genovou terapii či pro terapii nádorových onemocnění. Terapie s pomocí KB přitom vykazuje nesporné výhody oproti tradičním přístupům: k navození žádaného stavu je možné ji aplikovat pouze jedenkrát, přičemž terapie není toxická. Značná plasticita KB zajišťuje, že transplantované buňky si osvojí fenotyp specifický pro buňky cílové oblasti. Další výhodou je, že terapii bude možné aplikovat i bez detailní znalosti molekulární podstaty celého procesu. Pro léčbu lze využít i intaktní KB osidluující jednotlivé tkáně po jejich stimulaci vhodnými mitogeny a diferenciacními faktory, a podpořit tak tzv. endogenní reparaci.

Podpořeno grantem GAČR č. 304/00/0338.

LÉKAŘSKÉ ZPRÁVY 2000;45(5-6)

**LÉKAŘSKÉ ZPRÁVY LÉKAŘSKÉ FAKULTY UNIVERZITY KARLOVY
V HRADCI KRÁLOVÉ**

Vydala Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum,
Ovocný trh 3, 116 36 Praha 1, pro Lékařskou fakultu v Hradci Králové

Editor: doc. MUDr. Vladimír Geršl, CSc.

Redakční rada: předseda: prof. MUDr. B. Král, CSc.

Členové: MUDr. V. Bartáková, CSc., doc. MUDr. J. Horáček, CSc.,
doc. MUDr. J. Jandík, CSc., doc. MUDr. J. Mokrý, Ph.D., doc. MUDr. O. Pozler, CSc.,
MUDr. I. Tůma, CSc., prof. MUDr. Z. Vobořil, DrSc.

Výkonná a jazyková redaktorka: Mgr. Marcela Macháčková

Adresa redakce:

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, redakce,
Šimkova 870, 500 01 Hradec Králové
Tel.: (049/ 581 6532)

Sazba a tisk: Bartošova tiskárna, s.r.o., Kalendova 688, Hradec Králové

Náklad 300 výtisků

Vydání I.

Vyšlo v září 2000