

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

KATEDRA FARMAKOLOGIE A TOXIKOLOGIE

**ÚČINKY NOVÝCH DERIVÁTŮ CHINAZOLINU NA  
RESPIRAČNÍ SYSTÉM**

RIGORÓZNÍ PRÁCE

Konzultant rigorózní práce: PharmDr. Marie Vopršalová, CSc.

Hradec Králové 2013

Mgr. Hana Štěpánová

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně pod vedením PharmDr. Marie Vopršalové, CSc. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

.....

V Hradci Králové dne

.....

Podpis autora rigorózní práce

Na tomto místě bych ráda poděkovala PharmDr. Marii Vopršalové, CSc. za odborné vedení, cenné rady, čas a trpělivost, jež mi věnovala při zpracování této práce.

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: Mgr. Hana Štěpánová

Školitel: PharmDr. Marie Vopršalová, CSc.

Název rigorózní práce: Účinky nových derivátů chinazolinu na respirační systém

Onemocnění dýchacích cest představují závažný zdravotní, sociální a ekonomický problém.

K léčbě astmatu se v některých zemích tradičně využívá asijská rostlina *Justicia adhatoda*, *Acanthaceae*. Za její terapeutické účinky jsou zodpovědné chinazolinové alkaloidy vasicin a vasicinon.

Cílem předkládané práce bylo stanovit bronchodilatační potenciál derivátů chinazolinových alkaloidů, a to VN-027 (4-[3-(piperidin-1-yl)propyloxy]pyrimidin) a VN-033 (2-[3-(piperidin-1-yl)propylsulfanyl]chinoxalin). K hodnocení jejich relaxačního účinku na hladkou svalovinu dýchacích cest jsme použili metodu izolované průdušnice potkana.

Jednotlivé preparáty hladké svaloviny průdušnice jsme po prekontrakci karbacholem ( $10^{-5}$  M) kumulativně relaxovali vzrůstajícími koncentracemi testovaných látek ( $10^{-7}$  až  $10^{-2}$  M), maximální relaxaci jsme na konci pokusu navodili theofylinem ( $10^{-2}$  M). Ze získaných hodnot jsme pomocí programu *GraphPad* sestavili DRC křivky a vypočítali hodnoty  $EC_{50}$  ( $1,115 \cdot 10^{-3}$  pro VN-027 a  $6,404 \cdot 10^{-6}$  pro VN-033). Výsledky byly porovnány se standardním léčivem theofylinem ( $EC_{50} = 2,090 \cdot 10^{-3}$ ). Obě testované látky vykázaly na základě hodnot  $EC_{50}$  vyšší relaxační účinky na hladkou svalovinu potkana než standardní léčivo theofylin.

## ABSTRACT

Charles University in Prague  
Faculty of Pharmacy in Hradec Králové  
Department of Pharmacology and Toxicology

Candidate: Mgr. Hana Štěpánová

Supervisor: PharmDr. Marie Vopršalová, CSc.

Title of rigorous thesis: Effects of new quinazoline derivate on the respiratory system

The diseases of airways are a grave health, social and economic problem. To treatment of asthma is traditionally used an Asiatic plant *Justicia adhatoda*, *Acathaceae*. For therapeutic effects of plant are responsible quinazoline alcaloids vasicine and vasicinone.

The aim of this presented work was to determine a bronchodilator potential of derivates of quinazoline alcaloids, VN-027 (4-[3-(piperidine-1-yl)propyloxy]pyrimidine) and VN-033 (2-[3-(piperidine-1-yl)propylsulphanyl]quinoxaline). For evaluation theirs relaxing effect on smooth muscle of airway we used a method of isolated rat trachea.

After pre-contraction by carbachol ( $10^{-5}$  M) was every sample of smooth muscle of trachea relaxed by growing concentration ( $10^{-7}$  to  $10^{-2}$  M) of test substances, for maximal relaxing of trachea we used theophylline ( $10^{-2}$  M) in the end of experiment. From grained values we built the DRC curves in programme *GraphPad* and calculated the values of  $EC_{50}$  ( $1,115 \cdot 10^{-3}$  for VN-027 and  $6,404 \cdot 10^{-6}$  for VN-033). The results were compared with a standard drug of theophylline ( $EC_{50} = 2,090 \cdot 10^{-3}$ ). On base of values  $EC_{50}$  had both of tested substances higher relaxing effects on smooth muscle of rat than the standard drug of theophylline.

# OBSAH

1. SEZNAM ZKRATEK	9
2. TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1 ÚVOD	11
2.2 RESPIRAČNÍ SYSTÉM	12
2.2.1 Stavba dýchacích cest	12
2.2.2 Patologie dýchacích cest u astmatu	14
2.3 HISTORIE ASTMATU	16
2.4 DEFINICE	18
2.5 KLASIFIKACE ASTMATU	19
2.6 ZVLÁŠTNÍ FORMY ASTMATU	21
2.6.1 Obtížně léčitelné astma (OLA)	21
2.6.2 Premenstruační astma	22
2.6.3 Aspirinem indukované astma	22
2.6.4 Profesní astma	23
2.7 EPIDEMIOLOGIE ASTMATU	24
2.7.1 Epidemiologie celosvětová	24
2.7.2 Epidemiologie v České republice	25
2.8 ETIOPATOGENEZE	26
2.8.1 Atopie a alergie	26
2.8.2 Záněť	26
2.8.3 Bronchiální hyperreaktivita	27
2.8.4 Obstrukce dýchacích cest	27
2.9 RIZIKOVÉ FAKTORY	29
2.9.1 Klasifikace rizikových faktorů	29
2.9.2 Faktory predisponující	29
2.9.3 Faktory prostředí	30
2.10 PREVENCE	34
2.10.1 Primární prevence	34
2.10.2 Sekundární prevence	34
2.10.3 Terciární prevence	34

2.11 DIAGNÓZA	36
2.11.1 Klinická diagnóza	36
2.11.1.1 Funkční vyšetření plic	36
2.11.1.2 Další doporučená vyšetření	38
2.11.1.3 Vyšetření znaků zánětu	39
2.11.2 Diferenciální diagnóza	40
2.12 KLINICKÝ OBRAZ	41
2.13 TERAPIE	43
2.13.1 Základní principy terapie	43
2.13.2 Nefarmakologická terapie	43
2.13.2.1 Bronchiální termoplastika	44
2.13.3 Farmakologická terapie	44
2.13.3.1 Úlevová antiastmatika	44
2.13.3.2 Preventivní antiastmatika	46
2.13.3.3 Inhalační systémy	53
2.14 BUDOUCNOST TERAPIE ASTMATU	55
2.14.1 Biologická terapie	55
2.14.2 Nové fixní kombinace	57
2.15 PROGNÓZA	59
2.16 CHINAZOLINOVÉ ALKALOIDY	60
2.16.1 Justicia adhatoda, Acanthaceae	60
2.16.2 Peganum harmala, Zygophyllaceae	62
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	64
3.1 CÍL PRÁCE	65
3.2 MATERIÁL A METODIKA	66
3.2.1 Použitý materiál	66
3.2.1.1 Chemikálie	66
3.2.1.2 Přístroje a pomůcky	68
3.2.1.3 Pokusná zvířata	68
3.2.2 Metodika	68
3.2.2.1 Provedení experimentu	68
3.2.2.2 Hodnocení	70

3.3 VÝSLEDKY	71
3.4 DISKUSE	75
3.5 ZÁVĚR	77
3.6 INFORMAČNÍ ZDROJE	78



## 1. SEZNAM ZKRATEK

ASA	acetylsalicylová kyselina, aspirin
CNS	centrální nervový systém
COX-1	cyklooxygenasa 1
DEP	diesel exhaust particle
ERV	expirační rezervní objem plic
FaF UK	Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy
FEV1	jednovteřinová vitální kapacita plic
FRC	funkční reziduální kapacita plic
GINA	Global Initiative for Asthma
HRCT	počítačová tomografie s vysokou rozlišovací schopností
CHOPN	chronická obstrukční plicní nemoc
IgE	imunoglobulin E
IL	interleukin
MAO-A	monoaminoxidasa A
NSAID	nesteroidní antiflogistika
PAH	polycyklické aromatické uhlovodíky
PC	počítačových
PEF	vrcholová výdechová rychlost
RABA	$\beta_2$ agonista s rychlým nástupem účinku ( <i>Rapid Acting Beta Agonists</i> )
TNF $\alpha$	tumor nekrotizující faktor $\alpha$

# TEORETICKÁ ČÁST

## 2.1 ÚVOD

Respirace neboli dýchání patří k základním vitálním funkcím živých organismů. Zajišťuje přívod kyslíku, jenž je následně po přechodu do krevního řečiště dopravován k cílovým tkáním a buňkám, a odvod oxidu uhličitého cestou opačnou. Dýchání představuje komplexní proces a jakýkoli negativní zásah, poranění, onemocnění či jiné faktory, do některé části z tohoto procesu může vyústit v respirační obtíže. [34]

Akutní i chronická onemocnění dýchacích cest jsou závažným zdravotním, sociální i ekonomickým problémem. Zatěžují nejen pacienty, ale i celé zdravotnictví a společnost. Výskyt řady respiračních onemocnění má vzestupnou tendenci. Dle kvalifikovaných odhadů je postižena miliarda osob, což představuje významný podíl světové populace. [16, 28]

Asthma bronchiale je jedno z nejčastějších chronických onemocnění dýchacích cest postihující jedince bez ohledu na věk, procházející napříč sociálními vrstvami a neznajíc geografická omezení. Jeho průběh může být velmi těžký, případně i s fatálními následky. Pohled na toto onemocnění se během posledních dvou desetiletí významně změnil. Byla lépe poznána podstata, epidemiologie i rizikové faktory mající vliv na průběh a prognózu onemocnění, stále se rozšiřují možnosti farmakoterapie. Při sestavování terapeutického plánu je zohledněna tíže onemocnění, přínos, rizika, dostupnost léčby i možnosti zdravotní péče u konkrétního pacienta. Přes tyto výrazné pokroky zůstává astma stále onemocněním nedostatečně a pozdě diagnostikovaným a léčeným, jak v České republice, tak i celosvětovém měřítku. [14, 25, 28, 46, 57]

## 2.2 RESPIRAČNÍ SYSTÉM

Respirační systém se člení na horní cesty dýchací, které zahrnují dutinu nosní, paranasální dutiny a nasopharynx, a dolní cesty dýchací, jež se člení na larynx, tracheu, bronchy a plíce. Vlastními dýchacími odstavci plic jsou bronchy, ty se v plicích dále větví na bronchioly a na ně pak nasedají pulmonální alveoly, které jsou místem převodu kyslíku do krve. [8, 25]

### 2.2.1 STAVBA DÝCHACÍCH CEST

#### **Obecná stavba stěny dýchacích cest:**

1. *Mukóza* - povrch je až na výjimky kryt víceřadým cylindrickým epitelem s ciliemi s četnými pohárkovými buňkami vtroušenými mezi buňkami epitelu. Lamina propria se sestává z řídkého kolagenního vaziva. [35]
2. *Submukóza* – tvořena řídkým kolagenním vazivem s četnými smíšenými žlázkami. Místy je patrné nahromadění lymfocytů. Chybí lamina muscularis mucosae. [35]
3. *Vrstva vazivově chrupavčitá* – v určitých oblastech tvořena kostí, v jiných hyalinními a částečně elastickými chrupavkami. Některé úseky dýchacích cest v této vrstvě obsahují hladkou popř. i příčně pruhovanou svalovinu. [35]
4. *Adventitia* – tvořena řídkým kolagenním vazivem. [35]

#### **Bronchy**

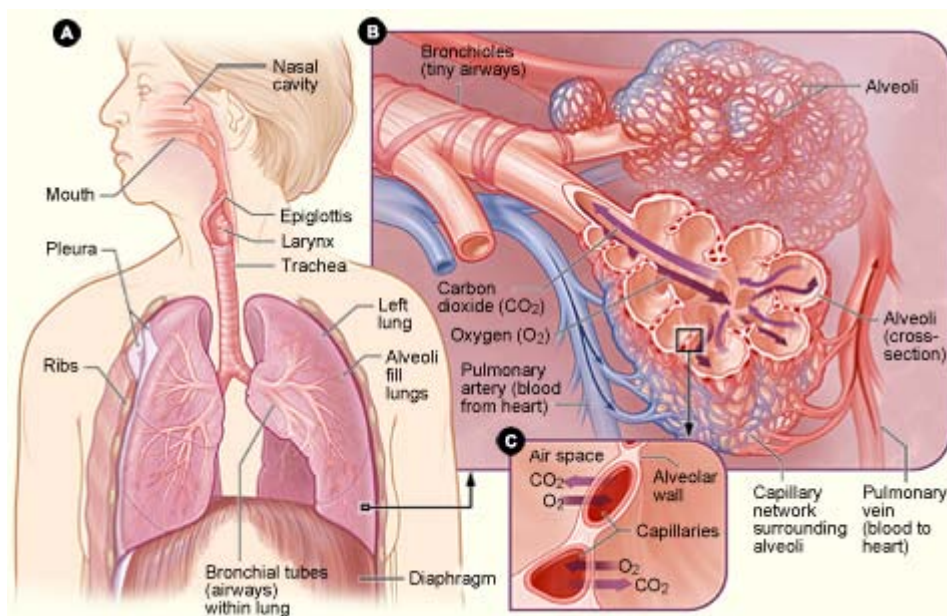
Stěnu vyztužují chrupavčité prstence zajišťující průchodnost bronchů při různých tlakových změnách hrudníku. Mukóza je kryta víceřadým cylindrickým epitelem s řasinkami, mezi buňkami epitelu jsou vtroušeny hlenotvorné pohárkové buňky. Vnitřně od prstenců se ve sliznici nachází vrstva hladké svaloviny, jejíž kontrakce může zúžit průsvit bronchů nezávisle na chrupavčitých prstencích. [8, 12, 25]

## **Bronchioly**

Jejich stěnu tvoří převážně mukóza a vrstva vaziva se snopečky hladkého svalu. [12]

## **Alveoly**

Sestávají se ze sítě jemných vazivových vláken, mezi nimiž probíhají pleteně krevních kapilár. Vnitřní stranu alveolu pokrývá tenká vrstva respiračního epitelu z plochých buněk. Zde probíhá transport molekul z lumen alveolu do krve v kapilárách a naopak. [12]

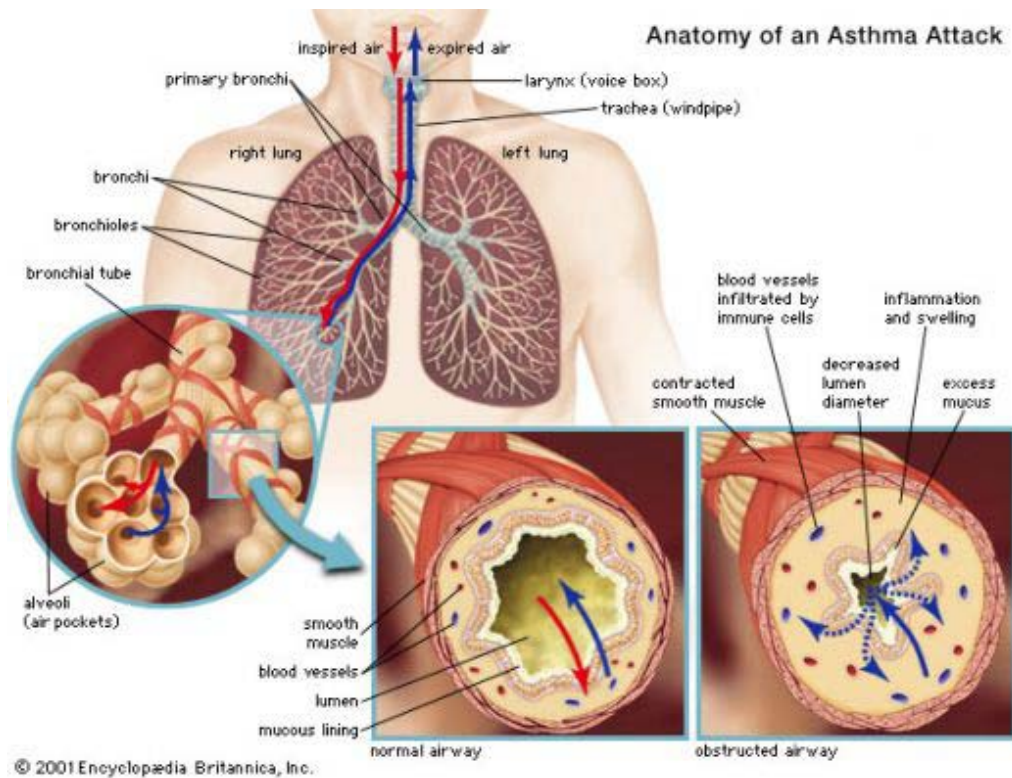


**Obr. 1.: Respirační systém [34]**

- A. Průběh dýchacích cest v organismu člověka.
- B. Detailní zobrazení alveolu, průřez alveolem.
- C. Schématické znázornění výměny plynů mezi alveolem a kapilárou.

## 2.2.2 PATOLOGIE DÝCHACÍCH CEST U ASTMATU

Při makroskopickém pohledu je na plicích zemřelých astmatiků patrná hyperinflace a vyplnění malých i velkých dýchacích cest zátkami ze směsi hlenu, sérových proteinů, buněk zánětu a buněčné drti. [14, 53]



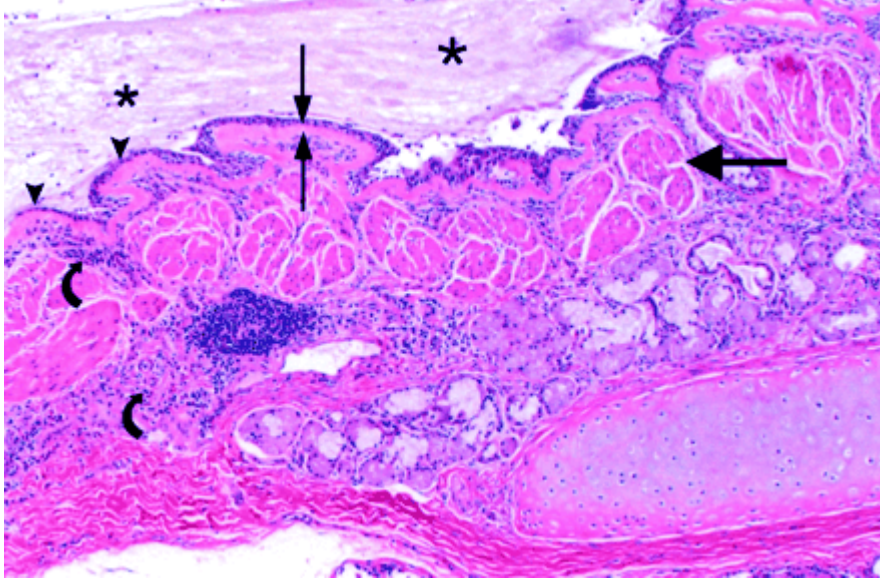
Obr 2.: Rozdíly v anatomii dýchacích cest u zdravého člověka (vlevo dole) a astmatika (vpravo dole) [48]

### **Bronchy**

V histologickém obrazu můžeme pozorovat přítomnost chronického zánětu, zesílení bronchiální stěny díky kombinaci edému, hypertrofii hladké svaloviny a zbytnění mukózních žláz. [53]

### **Bronchioly**

Při histologickém vyšetření je patrné zesílení stěny, městnání hlenu v průdušinkách a obliterující bronchiolitida. [53]



*Obr. 3.: Histologický obraz získaný z pitevního materiálu desetiletého chlapce s fatálním astmatem [53]*

Hvězdičky označují uzávěr lumina bronchu hlenovou zátkou, šipky ztenčení povrchové mukózy, svislé rovné šipky submembranózní fibrózu (zesílení bazální membrány), vodorovná šipka svalovou hypertrofií a zakřivené šipky zánětlivý infiltrát bohatý na eozinofilní granulocyty.

### **Abnormality parenchymu**

Zahrnují hyperinflaci, emfyzém a vzácně se mohou objevit i cysty. Hyperinflace se u astmatických pacientů vyskytuje běžně, avšak plicní emfyzém je poměrně neobvyklý, zvláště u astmatiků-nekuřáků. [53]

## 2.3 HISTORIE ASTMATU

Asthma bronchiale, řadící se mezi chronická respirační onemocnění, provází člověka od nepaměti. Vlastní slovo „astma“ je řeckého původu a v překladu znamená dušnost či záduchu. Je třeba ale upozornit, že pod tímto pojmem starověké prameny uvádí i ostatní stavy provázené dechovými obtížemi, které se v současné době řadí do jiných diagnostických skupin. [25]

Vůbec první zmínky o této chorobě se objevují v Číně a datují se do třetího tisíciletí př. n. l. Naproti tomu informace o možnosti léčby astmatu se datují do období mnohem pozdějšího – kolem roku 1000 př. n. l. K terapii byla používána rostlina z čeledi *Ephedraceae*, *Ephedra vulgaris* (chvojník obecný), obsahující alkaloid efedrin, zodpovědný za léčebný účinek. [25]

S postupem let se pohled na astma měnil a názory a poznatky se upřesňovaly. Ve 2. století n. l. antický lékař Galénos chápal jako příčinu onemocnění sekreci hlenu z mozku do plic. V témže období se objevuje i popis astmatu spojeného s fyzickou zátěží. Ve století dvanáctém popsal astma Moises Maimonides, lékař židovského původu, ve své knize „ Pojednání o astmatu“ jako chorobu s typickými záchvaty dušnosti. Od 16. století se v informačních zdrojích zjevují zprávy o faktorech z prostředí ovlivňujících vývoj i průběh nemoci. Poukazuje se na vliv dědičnosti a změny charakteru hlenu při astmatických záchvatech. V roce 1859 byl pak Henrym Hyde Salterem popsán vztah mezi některými alergeny a astmatem. [25]

Výrazné změny v pohledu na příčiny a mechanismy probíhající u osob trpících astmatem přineslo století dvacáté. Norman Walker rozdělil astma dle příčin na tzv. extrinsic asthma (z vnějších příčin) vyvolané alergeny a intrinsic asthma (z vnitřních příčin), u kterého se neprokázal přímý vliv faktorů zevního prostředí. Poválečné období se soustřeďuje na studium funkčních změn respiračního traktu. Definice onemocnění se stále mění a upravují. Díky rozvoji techniky v oblasti diagnostických metod v 80. letech byl prokázán vliv zánětu na změny mukózy dýchacích cest, jež jsou podkladem pro konstriktci bronchů a stav dušnosti. [25]

V roce 1993 je ve Spojených státech amerických založena organizace GINA zaměřená na vypracování globálních strategií v oblasti prevence a péče



o pacienty s astmatem. GINA je autorem současně platné definice astmatu z roku 2003, která zdůrazňuje chronicitu nemoci. 26.3.1996 obohatila regionální iniciativy této celosvětové organizace i Česká republika v podobě neziskové nezávislé organizace nesoucí název Česká iniciativa pro astma (ČIPA). [9, 14, 28]

## 2.4 DEFINICE

***„Asthma bronchiale je chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest, na němž se podílí řada buněk a buněčných mediátorů. Chronický zánět je spojen s průduškovou hyperreaktivitou a vede k opakujícím se epizodám pískotů, dušnosti, tíže na hrudníku a kašle, zvláště v noci nebo časně ráno. Tyto epizody jsou obvykle spojeny s proměnlivou bronchiální obstrukcí, která je často reverzibilní, buď spontánně, nebo vlivem léčby.“***

[2, 28]

Přestože je tato definice, vytvořená organizací GINA, v současné době nejakceptovatelnější, má určité nedostatky:

1. Neuvádí příčinu chronického zánětu, což s sebou nese riziko zanedbání snah o zjištění vlastního spouštěče zánětu u konkrétního pacienta.

2. Neuvádí možnou spojitost astmatu s přítomností alergie, jež může i nemusí být vyvolavatelem tohoto onemocnění.

3. Může vést k vyvození chybného závěru, že respirační potíže jsou způsobeny pouze bronchokonstrikcí, čímž hrozí odvrácení pozornosti od protizánětlivé terapie směrem k preferenci léčby bronchodilatační.

4. Nezdůrazňuje vedle reverzibility bronchokonstrikce i vratnost zánětu, což opět může vést k následkům uvedeným v bodě 3. [57]

Výše uvedená definice vyjadřuje interindividuální i intraindividuální časovou variabilitu nemoci vyžadující včasný terapeutický zásah. Díky této variabilitě odborná veřejnost vnímá asthma bronchiale jako syndrom a nikoliv jako striktně ohraničenou nozologickou jednotku. [28]

Mezi základní pilíře v péči tohoto respiračního onemocnění se řadí správné stanovení a verifikace diagnózy, jejichž součástí je i klasifikace astmatu. [28]

## 2.5 KLASIFIKACE ASTMATU

Klasifikace onemocnění se odvíjí od intenzity symptomů a od úrovně jejich klinické kontroly.[2]

Dosažení a trvalé udržení klinické kontroly je hlavní cíl, k němuž terapie této nemoci směřuje. Vedle kontrolovaného astmatu se dále rozlišuje částečně a nedostatečně kontrolované astma. Hodnocení úrovně kontroly spočívá v posouzení četnosti denních i nočních symptomů, frekvence exacerbace, omezení denní aktivity a stupně postižení funkce plic. Od úrovně kontroly se pak dále odvíjí i farmakoterapie. Tato klasifikace se využívá zejména pro klinickou praxi. [24]

Tab. 1.: Klasifikace astmatu dle úrovně kontroly [24]

Úroveň kontroly	Denní příznaky	Omezení aktivity	Noční příznaky	Potřeba úlevových léků	Funkce plic (FEV <sub>1</sub> , PEF)	Exacerbace
<b>Kontrola (všechny znaky)</b>	Žádné (≤ 2× týdně)	Žádné	Žádné	Žádné (≤ 2× týdně)	Norma	Žádné
<b>Částečná kontrola (kterýkoli ze znaků)</b>	> 2× týdně	Jakékoli	Jakékoli	> 2× týdně	< 80 % náležité hodnoty/ osobní nejlepší hodnoty	≥ 1 za rok
<b>Nedostatečná kontrola</b>	≥ 3 znaků částečné kontroly v týdnu					1 × v kterémkoliv týdnu

Jiný způsob klasifikace astmatu se opírá o průběh bronchiální obstrukce v čase a rozděluje astma podle závažnosti do 4 stupňů (intermitentní astma, lehké perzistující, středně těžké perzistující a těžké perzistující astma). V případě intermitentního astmatu se vyskytují respirační potíže a redukce PEF občasně, zatímco pro perzistující astma je typická variabilita PEF a přítomnost četných příznaků včetně bronchiální hyperreaktivity. Tato forma klasifikace je využívána pro statistické účely a je na ní založena i klasifikace antiastmatických léků. Je třeba ale upozornit, že klasifikace popisuje dlouhodobý stav v období mimo akutní zhoršení. Astmatický záchvat různé intenzity může postihnout pacienta s jakýmkoli zde uvedeným stupněm astmatu. [14, 24, 25]

Tab. 2.: Klasifikace astmatu na základě klinických projevů [14]

<i>Stupeň 1</i> <i>Intermitentní</i>	<i>Stupeň 2</i> <i>Lehké perzistující</i>	<i>Stupeň 3</i> <i>Středně těžké perzistující</i>	<i>Stupeň 4</i> <i>Těžké perzistující</i>
Příznaky < 1× týdně	Příznaky > 1× týdně; ne však každý den	Příznaky denně	Příznaky denně, omezení fyzických aktivit
Krátké exacerbace	Exacerbace mohou narušit aktivitu/spánek	Exacerbace mohou narušit aktivitu/spánek	Exacerbace časté
Noční příznaky < 2× za měsíc	Noční příznaky > 2× za měsíc	Každodenní potřeba SABA	Časté noční příznaky
FEV1 nebo PEF > 80 % náležité hodnoty	FEV1 nebo PEF > 80 % náležité hodnoty	FEV1 nebo PEF 60 – 80 % náležité hodnoty	FEV1 nebo PEF < 60 % náležité hodnoty
Variabilita FEV1 nebo PEF < 20 %	Variabilita FEV1 nebo PEF 20 - 30 %	Variabilita FEV1 nebo PEF > 30 %	Variabilita FEV1 nebo PEF > 30 %

## 2.6 ZVLÁŠTNÍ FORMY ASTMATU

### 2.6.1 OBTÍŽNĚ LÉČITELNÉ ASTMA (OLA)

Pro OLA je charakteristická špatná klinická odpověď a nemožnost dosažení kontroly astmatu i přes komplexní farmakoterapii trvající minimálně 6 měsíců a za dodržování režimových opatření. Tato forma postihuje 5 – 10 % astmatiků. [51]

Diagnostická kritéria pro OLA:

#### 1. Hlavní

- Správně stanovená diagnóza asthma bronchiale dle GINA 2008
- Vyloučení nebo terapie onemocnění komplikujících astma (rhinosinusitida, aj.)
- Nedostatečně kontrolované astma i přes správně užívanou léčbu vysokými denními dávkami inhalačních kortikosteroidů (beclomethason >1250 µg, budesonid >1200 µg, fluticason >1000 µg) a aditivní léčbu (theofylliny, LABA, antileukotrieny)

#### 2. Vedlejší

- Prakticky každodenní užívání záchranné terapie pomocí RABA
- Přetrvávající obstrukce dýchacích cest
- Lékařské ošetření akutního zhoršení astmatu jedenkrát či vícekrát za rok
- Více než 2 nárazy systémových kortikosteroidů z důvodu exacerbace za rok
- Redukce dávky systémových či inhalačních kortikosteroidů o 25 % denní dávky vedoucí k rychlému zhoršení stavu
- Epizoda prakticky fatálního astmatického záchvatu za posledních 5 let
- Trvalá popř. prakticky trvalá terapie systémovými kortikosteroidy

Dle Národního centra pro těžké astma musí být pro vyřčení diagnózy OLA splněna všechna 3 hlavní kritéria a současně minimálně 2 vedlejší kritéria. [51]

### **2.6.2 PREMENSTUAČNÍ ASTMA**

V proběhlých studiích byl prokázán vztah mezi premenstruačním syndromem a zhoršenými příznaky astmatu. Toto zhoršení lze zaznamenat zhruba týden před začátkem menstruace. Vrchol se pak dostavuje 2 – 3 dny před ní, což odráží souvislost s hladinou estrogenů a gestagenů v cirkulaci. V této době, tedy pozdní luteální fázi, jsou hladiny obou skupin hormonů nejnižší a s tím koreluje i hustota betaadrenergických receptorů, která je rovněž nejnižší. Pozitivní efekt na denzitu zmíněných receptorů vykazuje zejména progesteron. [44, 57]

Premenstruační astma obvykle nevyžaduje zvláštní léčbu, pouze u části žen je nutno podat intramuskulárně vysoké dávky progesteronu týden před menstruací. Ve výjimečných případech je nevyhnutelná ovariectomie. [57]

### **2.6.3 ASPIRINEM INDUKOVANÉ ASTMA**

Hypersenzitivita ASA/NSAID postihuje 5 – 20 % dospělých osob s astmatem, což je asi 10x častější než u běžné populace. Často bývá spojena s nosní polypózou nebo chronickou rhinosinuitidou. Vyšší výskyt je zaznamenán u ženského pohlaví, první ataky se obvykle dostavují mezi 30. – 45. rokem života. Výskyt u dětí je vzácný. [4, 13, 57]

Kyselina acetylsalicylová a další NSAID inhibují cyklooxygenasy, především izoenzym COX-1, metabolizující kyselinu arachidonovou na prostaglandiny. To posouvá rovnováhu směrem k bronchokonstrikčně působícím cysteinylovým leukotrienům, neboť převládá působení 5-lipoxygenasy na kyselinu arachidonovou. Charakteristickým znakem pacientů s hypersenzitivitou k NSAID a aspirinu je chronický perzistující zánět doprovázený zvýšeným počtem eozinofilních granulocytů a zvýšenou expresí IL-5 v dýchacích cestách. Vedle cytokinů se na amplifikaci zánětu podílí i superantigeny stafylokoků. Příčina této formy astmatu zatím není zcela známa, avšak onemocnění je v současnosti považováno za primárně farmakogenetickou abnormalitu. [13, 57]

## 2.6.4 PROFESNÍ ASTMA

Pod tímto označením se skrývá astma vzniklé v bezprostřední souvislosti s výkonem povolání. Vyvolavatelem astmatických obtíží je expozice určité látky případně látkám pocházejícím specificky z pracovního prostředí. Příkladem takovýchto látek jsou izokyanáty, epoxidové pryskyřice, mouka. [57]

Profesní astma je v závislosti na mechanismu vzniku zánětu v dýchacích cestách rozděleno na několik klinických typů:

### A) Imunologické

1. Profesní astma alergického typu
2. Profesní astma s alergickými rysy bez průkazu IgE protilátek

### B) Neimunologické

3. Profesní astma iritačního typu
4. Profesní „asthma-like syndrom“

ad 1: Postihuje častěji osoby s genetickou predispozicí alergie. Charakteristická je tvorba specifických IgE protilátek mechanismem alergické reakce I. typu. [57]

ad 2: Podobá se 1. typu profesního astmatu, avšak průkaz specifických IgE protilátek je negativní. Důvodem může být vznik kompletního alergenu s neznámou bílkovinou či imunitní pochody, které nevedou k tvorbě těchto protilátek. U některých pacientů je možné v krevním obraze pozorovat převahu aktivovaných lymfocytů, neutrofilních granulocytů popř. jiných buněk. [57]

ad 3: K této formě astmatu, označované rovněž RADS – Reactive Airways Dysfunction Syndrome, může dojít při haváriích, kdy je člověk vystaven vysokým koncentracím dráždivých látek (chlor, kyseliny). Postižena bývá většina exponovaných osob, u části z nich pak dochází ke kompletní remisi. Nízké koncentrace zmíněných škodlivin dále nepůsobí potíže. [57]

ad 4: Tato forma představuje přechod k chronické obstrukční chorobě plicní. Příkladem je bysinóza vyvolaná inhalací prachu z bavlny. Může se objevit již při první expozici, ale může mít i dlouholetou latenci. Klinický i histologický obraz připomíná CHOPN. Výjimkou je pouze nepřítomnost emfyzému (u nekuřáků). Vlastní etiopatogeneze onemocnění není dosud známa. [57]

## 2.7 EPIDEMIOLOGIE ASTMATU

### 2.7.1 EPIDEMIOLOGIE CELOSVĚTOVÁ

Prevalence astmatu se ve světové populaci pohybuje mezi 1 – 18 %. Podle odhadů žije na naší planetě 300 000 000 osob s touto diagnózou. V ekonomicky vyspělých státech se asthma bronchiale řadí k nejčastějším chronickým onemocněním s prevalencí 10 – 15 % a tato hodnota se, zvláště u dětí, stále zvyšuje. Podíváme-li se o 50 let zpět, zjistíme, že každých 10 let dochází ke zvýšení prevalence astmatu zhruba dvojnásobně. Dle posledních prognóz je odhadováno, že celkový počet astmatiků v roce 2025 vzroste na 400 000 000. [2, 24, 47]

V dětské populaci prevalence příznaků astmatu kolísá v rozmezí 0 – 30 %. Data poukazují na výrazné rozdíly mezi populacemi. Nejvyšší prevalenci vykazuje Austrálie, Nový Zéland a Anglie, avšak ze získaných dat není možné zjistit, zda jsou tyto rozdíly zapříčiněny prostředím, průmyslem nebo zátěží alergenů. [14, 24]

Incidence neboli počet osob, u nichž se nemoc nově objevila, vyjádřený v procentech z celkového počtu populace, se u dospělých pohybuje okolo 1 %. Velmi často je tato incidence spojena s koincidencí alergické rinitidy. Alergickou rýmou trpí až 80 % osob s diagnózou astmatu, naproti tomu astma se vyskytuje u 30 – 40 % pacientů s alergickou rýmou. [14, 28]

Podobně jako prevalence stoupá v celosvětovém měřítku i hodnota mortality. Podle posledních odhadů ročně umírá na astma až 250 000 osob. Jako možná příčina mortality se uvádí nedostatečná případně až chybějící dlouhodobá protizánětlivá léčba. V průměru ale není střední délka života u pacientů s astmatem výrazně snížena. [24]



## 2.7.2 EPIDEMIOLOGIE V ČESKÉ REPUBLICE

V ČR se prevalence astmatu odhaduje na 8 % v celé populaci, zatímco u dětí je vyšší, cca 12 – 15 %. Data vycházejí z četných epidemiologických studií, avšak je nutno poznamenat, že z tohoto počtu je v praxi správně rozpoznáno a léčeno méně než 50 % pacientů. Rovněž může dojít k situaci, kdy je pacient léčen na astma, ačkoli se o astma nejedná. Za příčinou těchto skutečností stojí variabilita nemoci a obtížnost zachycení všech jejích projevů. Ve srovnání s celosvětovou populací se česká populace nachází přibližně uprostřed zjišťovaných hodnot prevalence. [28, 57]

Incidence nemoci se u nás pohybuje okolo 0,33 %, což ročně odpovídá přírůstku 30 000 – 35 000 astmatiků. 20 000 z tohoto počtu osob se nachází ve věku 0 – 14 let. Incidence se v jednotlivých věkových skupinách liší. Nejvyšší je u dětí do 5 let a jsou zde patrné rozdíly i v pohlaví – u chlapců se incidence pohybuje okolo 1,2 %, u dívek kolem 0,6 %. V průběhu dalších let se tento rozdíl mezi pohlavími stírá. Dalším pomyslným vrcholem nárůstu nových případů astmatu je období mezi 50. a 60. rokem života. Zde ale také často dochází k chybnému přiřazení diagnózy astmatu. [24, 28, 57]

V případě mortality se hodnoty české populace pohybují velmi nízko. Během posledních šesti let každoročně v naší republice na astma umírá zhruba 100 osob. Příznivá se jeví i statistika počtu hospitalizací pro astma. Mezi roky 1995 – 2006 došlo k poklesu těchto hospitalizací o 52 %. [2, 24]

## 2.8 ETIOPATOGENEZE

K základním etiopatogenetickým faktorům zodpovídajícím za vznik a rozvoj astmatu patří atopie a alergie, zánět, bronchiální hyperreaktivita a obstrukce dýchacích cest. Tyto faktory mají rovněž podíl na vzniku exacerbace, při které jsou i amplifikovány. [24]

### 2.8.1 ATOPIE A ALERGIE

Vznik asthma bronchiale podmiňují genetické faktory společně s negativními vlivy zevního prostředí. Je rozeznáváno tzv. intrinsic asthma a extrinsic asthma. [28]

#### *A. Intrinsic asthma*

Je typické pro osoby staršího věku, u nichž nebyla prokázána alergie. [28]

#### *B. Extrinsic asthma*

Více než 50 % všech onemocnění astmatem je spojena s atopií jedince, kdy dochází k nadměrné tvorbě IgE protilátek jako odpovědi na alergeny zevního prostředí.

Astma představuje onemocnění s polygenní multifaktoriální dědičností. Doposud bylo identifikováno přes 100 genů majících souvislost se vznikem astmatu. Genetickou predispozici podmiňují induktory zevního prostředí již od 22. týdne nitroděložního života. K rizikovým preastmatickým stavům se řadí atopický ekzém a alergická rinitida.

Kontakt se specifickými i nespecifickými spouštěči má za následek akutní příznaky astmatu, k nimž se řadí bronchokonstrikce, edém, zvýšená sekrece hlenu, kašel a amplifikace zánětu. [28]

### 2.8.2 ZÁNĚT

Pro astmatické pacienty je typická stálá přítomnost chronického zánětu dýchacích cest, a to bez ohledu na závažnost onemocnění či průkaz nebo neprůkaz atopie. Na zánětu se podílí celá řada buněk: [24]

Antigen prezentující buňky – hlavní úlohu mají buňky dendritické

Th<sub>2</sub> lymfocyty – produkují IL-4, čímž stimulují B lymfocyty k produkci IgE

Eozinofily – hrají klíčovou roli v alergické reakci, podílí se na poškození epitelu bronchů

Mastocyty – po navázání IgE na  $Fc_{\epsilon}RI$  na povrchu těchto buněk dojde k degranulaci a uvolnění mediátorů, výsledkem je spasmus bronchů

Neutrofilny – úloha dosud není přesně známa, produkují metaloproteinasy, které hrají roli v remodelaci bronchů

Makrofágy – podíl na přestavbě dýchacích cest, secernují růstové faktory

Bazofily – uvolňují prozánětlivé mediátory

Epitelové buňky – vlivem NO-synthasy produkují oxid dusnatý působící vasodilataci a sekreci hlenu [24]

### **2.8.3 BRONCHIÁLNÍ HYPERREAKTIVITA (BHR)**

Jedná se o funkční stav bronchiální stěny mající za následek sklon k přehnané bronchokonstriční odpovědi na exogenní i endogenní podněty. Hlavním podkladem hyperreaktivity je eozinofilní zánět. Díky němu dochází snáze ke kontrakci hladké svaloviny a její stimulaci uvolněnými mediátory (leukotrieny, histamin). [24, 57]

Výsledky výzkumů prokázaly genetickou determinanci BHR. Řídící gen se nachází na chromosomu 5q nedaleko hlavního lokusu. Zodpovídá za regulaci hladiny IgE v séru. Gen ADAM33, lokalizovaný na krátkém raménku 20. chromosomu, přispívá i k dlouhodobému snížení funkce plic. Uplatnění má rovněž polymorfismus genů kódujících  $\beta_2$ -receptory. [24]

### **2.8.4 OBSTRUKCE DÝCHACÍCH CEST**

K obstrukci dýchacích cest může dojít jedním ze čtyř následujících mechanismů:

1. Akutní bronchokonstrikce
2. Edém stěny bronchů
3. Tvorbou hlenových zátek
4. Remodelací stěny bronchů

Ad 3.: Díky zvýšené sekreci hlenu a exsudaci plasmatických proteinů společně s buněčnou drtí vznikají zátky, které uzavírají periferní bronchy. Rovněž složení

hleny u astmatického pacienta je odlišné od hleny zdravého člověka. Charakteristickým znakem je snížený obsah mucinu.

Ad 4.: Dochází k ukládání kolagenu typu III a V, méně kolagenu typu I, fibronektinu a tenascinu do intersticia, hyperplasii pohárkových buněk a hypertrofii hladké svaloviny. Remodelace má za následek zafixování původně vratné obstrukce. [24]

## 2.9 RIZIKOVÉ FAKTORY

### 2.9.1 KLASIFIKACE RIZIKOVÝCH FAKTORŮ:

Uvedená klasifikace není jednoznačná. Řadu faktorů je možno zařadit do několika z těchto kategorií. [25]

*1. Faktory predisponující*

*2. Faktory prostředí*

Tuto skupinu faktorů je možné dále rozdělit podle jejich úlohy v rozvoji astmatu na faktory:

a) příčinné – vedou přímo k rozvoji onemocnění

b) spolupůsobící – samy nevedou přímo k rozvoji onemocnění, podporují působení faktorů příčinných

c) spouštěče – převážně pochází ze zevního prostředí, mohou být i charakteru endogenního

Znalost rizikových faktorů hraje významnou roli v primární a sekundární prevenci. Nutno poznamenat, že tato oblast není dosud plně probádána a výzkum stále přichází s novými poznatky o vlivech podílejících se na vzniku a rozvoji tohoto respiračního onemocnění. [25]

### 2.9.2 FAKTORY PREDISPONUJÍCÍ

*1. Genetická predispozice k astmatu, alergické senzibilizaci, hyperreaktivitě dýchacích cest*

Genetické odchylky u atopiků se do určité míry překrývají s genetickými odchylkami astmatiků, astma je ale kódováno i dalšími geny. [25]

*2. Pohlaví*

Jak je již uvedeno v kapitole Epidemiologie, v dětském věku postihuje astma častěji chlapce. Důvod pravděpodobně tkví v anatomických rozdílech dýchacích cest, které jsou u chlapců užší a je v nich zvýšené napětí. V období puberty u chlapců dochází ke změnám tvaru hrudníku, mění se rovněž poměr šíře a délky dýchacích cest, a tento poměr se ve srovnání s dívkami již neliší. V pozdějším věku je naopak rozvoj onemocnění častější

u žen. Podobně se u žen častěji setkáváme s astmatem indukovaným kyselinou acetylsalicylovou, důvod však není doposud znám. [14]

### 3. *Nízká porodní váha*

Nezralost bronchů a plic, léčba kyslíkem nebo potřeba podpůrného dýchání může vést k poškození průdušek a vzniku bronchiální hyperreaktivity. Riziko se zvláště zvyšuje, je-li současně přítomna alergická senzibilizace. [25]

## 2.9.3 FAKTORY PROSTŘEDÍ

### 1. *Alergeny*

Jsou považovány za nejvýznamnější příčiny astmatu. Můžeme se s nimi setkat takřka na každém kroku.

K alergenům obytných budov řadíme roztoče, zvířecí a hmyzí alergeny, plísně. Z posledně jmenovaných se v interiérech nacházejí nejčastěji zástupci z rodů *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* a *Candida*. Vedle biologických faktorů se uplatňují i faktory fyzikální (teplota, vlhkost, záření) a chemické (CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, oxidy dusíku, aromatické uhlovodíky). Typickým alergenem zevního prostředí je pyl ze stromů, travin a plevelů. U dětí narozených na počátku pylové sezóny byl prokázán zvýšený výskyt astmatu. [14, 25]

### 2. *Znečištění ovzduší*

Existují 2 typy znečištění ovzduší – smog průmyslový (komplex částic a SO<sub>2</sub>) a smog fotochemický (O<sub>3</sub> a oxidy dusíku). Oba typy se mohou vyskytovat v dané oblasti současně. Vyšší koncentrace těchto polutantů mohou vést ke konstrikci bronchů, přechodnému zvýšení reaktivity dýchacích cest a hypersenzitivitě na alergeny. [14]

### 3. *Kouření*

Cigaretový kouř obsahuje na 4 500 látek a polutantů (PAH, CO, CO<sub>2</sub>, oxidy síry, nikotin, akrolein). [14]

Aktivní kouření má za následek progresivní zhoršování funkce plic a představuje rizikový faktor bronchiálních a plicních onemocnění. Kouř, který se uvolňuje při hoření cigarety, má vyšší teplotu a je toxičtější než kouř inhalovaný kuřákem. Expozice tabákovému kouři podporuje senzibilizaci

na inhalační alergeny a rozvoj astmatu. Zvláště škodlivé je kouření v průběhu gravidity a přispívá ke vzniku onemocnění u narozeného dítěte. [14, 25]

#### *4. Lékové vlivy*

U 4 – 28 % dospělých s diagnózou astmatu, u dětí vzácně, jsou astmatické obtíže vyvolány kyselinou acetylsalicylovou nebo jinými nesteroidními antiflogistiky. První obtíže se vyskytují nejčastěji mezi 30. a 40. rokem života. Obtíže mohou být od lehké povahy až po život ohrožující těžkou dušností se zástavou dechu bez ohledu na velikost podané dávky léku. [25]

Další skupinu rizikových léků pro astmatické pacienty představují neselektivní betablokátory, které způsobují bronchokonstrikci a mohou vést až úmrtí zadušením. [25]

#### *5. Infekce respiračního traktu*

Epidemiologické studie prokázaly vztah mezi virovými infekcemi dýchacích cest a exacerbací astmatu, a to ve všech věkových kategoriích. Uplatňují se zejména RSV viry, viry parainfluenzy či rhinoviry. Existují však i zprávy podložené vědeckými daty, že časté infekce horních cest dýchacích (rinitida) během prvního roku života chrání před rozvojem astmatu a atopie, za což pravděpodobně může úspěšný vývoj imunity s převahou Th1 lymfocytů. [14]

#### *6. Hygienická hypotéza*

Jedná se o poměrně novou teorii astmatu, podle níž za příčinou nárůstu počtu astmatiků stojí malý kontakt dětí z ekonomicky vyspělých zemí s bakteriálními infekcemi, zejména s bakteriálním endotoxinem, který ovlivňuje imunitní systém v době dozrávání a podporuje posun rovnováhy směrem k Th1 buňkám řídícím protibakteriální obranyschopnost. Při nedostatečné stimulaci endotoxinem převládají Th2 lymfocyty, podporující hypersenzitivní odpověď. [25]

#### *7. Velikost rodiny*

Zde je viditelná nepřímá závislost ve vztahu k astmatu. Jinými slovy, čím je počet sourozenců menší, tím je jedinec více ohrožen rozvojem onemocnění. [14]

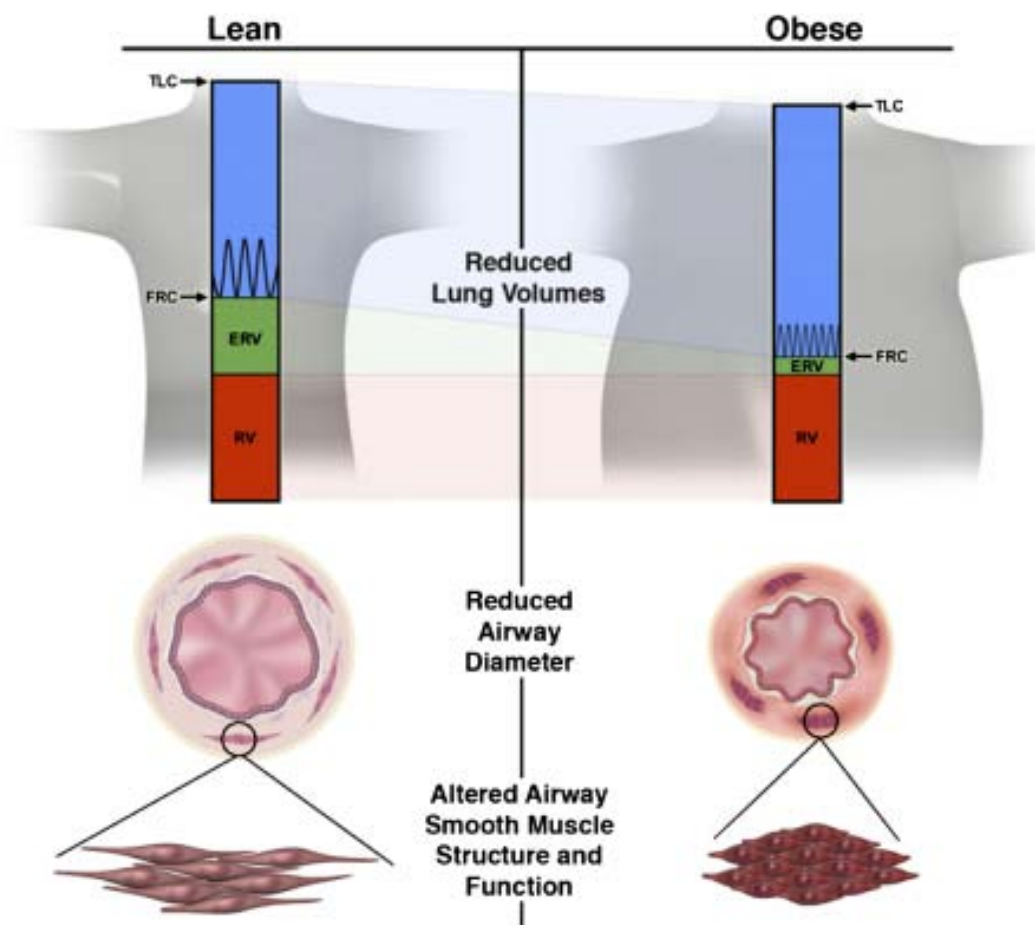
#### *8. Gastroezofageální reflux (GER)*

U 2/3 pacientů s diagnózou asthma bronchiale byl prokázán GER, což naznačuje možný vzájemný vztah mezi oběma chorobami. Výsledky studií poukazují na reflexivní vznik bronchospasmu a akutních astmatických obtíží jako odpověď na dráždění sliznice ezofagu. [25, 57]

### 9. Obezita

Obezita představuje významný zdravotní problém současné doby. Je asociována s vysokou incidencí a špatnou kontrolou astmatu. Přispívá ke zhoršení respiračních symptomů a kvality života pacientů s astmatem. Důkazy z posledních let naznačují pravděpodobný společný genetický základ obou onemocnění (např. polymorfismy ve specifických oblastech chromosomů 5q, 6p, 11q13 a 12q). [6, 14, 20]

Dle posledních studií byla prokázána remise astmatu u 48 – 100 % astmatiků po snížení tělesné váhy při současném dodržování protiastmatické terapie. Na druhou stranu není pozitivní účinek hubnutí u astmatiků doprovázen zlepšením eozinofilního zánětu dýchacích cest. [20]



Obr. 4.: Vliv obezity na respirační trakt [6]



*nahoře – obezita vede ke změnám plicních objemů, zejména ERV a FRC, což má za následek rychlé a mělké dýchání*

*uprostřed – vlivem obezity dojde k redukci průměru dýchacích cest následované zvýšením bronchiální hyperreakivity v důsledku změny struktury a funkce hladké svaloviny (dole)*

## **2.10 PREVENCE**

### **2.10.1 PRIMÁRNÍ PREVENCE**

Úkolem primární prevence je zabránit vlastnímu vzniku astmatu, zejména prostřednictvím omezení expozice alergenu. Zaměřuje se na potomky astmatických rodičů, neboť u nich zvláště hrozí vznik a rozvoj astmatu. U těchto dětí se primární prevence soustřeďuje na ovlivnění časně senzibilizace během jejich prvních 6 měsíců života. Toto období je nevýznamnější pro vznik senzibilizace na hlavní rizikové alergeny, a proto prevence provedená v této době ovlivňuje příznivě bezprostřední stav dítěte a navíc snižuje riziko rozvoje nemoci během dalšího života. Pokud by byla prevence zahájena později i výsledný efekt by byl slabší. Gravidním astmatičkám je rovněž doporučováno vyhýbat se v průběhu těhotenství alergenům, a to jak alergenům zevního prostředí (roztoči, zvířecí alergeny), tak alergenům potravinovým, z nichž některé mohou procházet placentou do plodové vody a při jejím polknutí se následně dostanou do zažívacího traktu plodu. [25]

### **2.10.2 SEKUNDÁRNÍ PREVENCE**

Uplatňuje se u osob s prokázanou senzibilizací alergenem. Tato prevence se dělí na prevenci farmakologickou, spočívající v podávání protizánětlivých léků, a prevenci nefarmakologickou. Cílem nefarmakologické prevence je zabránění zhoršení již vzniklého astmatu nebo vzniku akutních záchvatů. Její strategie spočívá v eliminaci známých spouštěčů obtíží a v případě, že je spouštěčem námaha, v preventivním podání léků. [14, 25]

### **2.10.3 TERCIÁRNÍ PREVENCE**

Úkolem terciární prevence je zamezení vzniku akutní exacerbace, zvýšení kontroly astmatu a snížit potřebu léků. Jako nástroj opět využívá redukci kontaktu se spouštěči – alergeny obytných budov, vzdušné polutanty, kouření, venkovní alergeny. V poslední době se pozornost zaměřuje i na tzv. dieslové částice (DEP) a jejich účinky na sliznici respiračního traktu. Bylo prokázáno, že tyto částice v kombinaci s alergenem mohou vést k indukci alergické odpovědi prostřednictvím zesílení Th2 reakce v plicích. Dalšími

nástroji terciární prevence jsou eliminace profesní expozice, odstranění potravinových alergenů u predisponovaných jedinců a řadí se sem i pravidelná protichřipková vakcinace u pacientů s perzistujícím astmatem. [14, 24, 18]

## 2.11 DIAGNOSTIKA

### 2.11.1 KLINICKÁ DIAGNÓZA

Pro správnou klinickou diagnózu je důležité přesné určení příznaků s vyloučením ostatních plicních či srdečních onemocnění, u nichž se podobné symptomy mohou rovněž vyskytovat. Diagnóza se často opírá o symptomy jako ataky dušnosti, pískoty, tlak na hrudi. K potvrzení správnosti přispívá i sezónní variabilita obtíží, rodinná anamnéza astmatu či atopie. [4,14]

#### 2.11.1.1 Funkční vyšetření plic

Je podstatné pro verifikaci diagnózy, stanovení tíže onemocnění a využívá se i k monitorování astmatu a jeho terapie. Toto vyšetření a především reverzibilita zjištěných poruch je přímým odrazem změn průsvitu průdušek, zatímco variabilita plicní funkce nepřímo odráží hyperreaktivitu bronchů. [14, 28]

Základem funkční diagnostiky plic je spirometrické vyšetření metodou průtok/objem případně doprovázené bronchomotorickými testy a měření vrcholové výdechové rychlosti. [28]

#### *Spirometrie*

Jedná se o měření usilovně vydechnutého objemu za 1 s (FEV1) následované měřením usilovné vitální kapacity plic (FVC). S výhodou se využívá i u monitoringu aktivity astmatu. [14, 28]

Metoda vyžaduje spolupráci pacienta a školený zdravotnický personál. Výsledky jsou validní u osob od 5. roku života, ale vyšetření lze provést i u dětí od 3 let. [14, 28]

Pro odlišení astmatu od ostatních onemocnění rovněž způsobujících redukcí FEV1 se využívá výpočet poměru FEV1/FVC. Je-li poměr nižší než 80 % u dospělých nebo nižší než 90 % u dětí, vypovídá o bronchiální obstrukci.

Přínosnost spirometrie pro diagnózu asthma bronchiale je patrná zejména pokud dojde ke zlepšení hodnoty FEV1 minimálně o 12 %, a to buď

spontánně nebo po inhalační aplikaci bronchodilatancia či po kortikosteroidním testu. [14, 28]

Na rozdíl od PEF vykazuje spirometrické vyšetření přínos i pro pacienty s výrazným postižením plicní funkce, u nichž jsou často hodnoty PEF zachovány, ale výsledky spirometrie jsou značně sníženy. [14]

#### *Vrcholová výdechová rychlost (PEF)*

Měří se pomocí výdechoměru, přináší významnou informaci o variabilitě obstrukce dýchacích cest. Metodu lze použít k monitorování průběhu onemocnění i tam, kde není možné spirometrické vyšetření. Vedle diagnostiky se využívá i pro hodnocení úspěšnosti terapie onemocnění. Nevýhodou však je, že ve srovnání s jinými funkčními vyšetřeními plic hodnota PEF nemá stejnou výpovědní hodnotu při posuzování závažnosti onemocnění (zvláště u dětských pacientů), neboť PEF ne vždy koreluje se symptomy a jinými známkami tíže astmatu. [14]

Nejnižší hodnoty PEF naměříme po probuzení a nejvyšší před ulehnutím. V tomto čase je tedy ideální provádět pravidelné měření. [14]

Zlepšení hodnot PEF o více než 15 % po aplikaci bronchodilatancia či kortikosteroidu nebo denní variabilita hodnot o více než 20 % svědčí pro diagnózu astmatu. Avšak je třeba vždy myslet na skutečnost, že u intermitentní formy popř. u těžké formy astmatu variabilita PEF nemusí být přítomna nebo může zcela vymizet. [14, 28]

Tzv. náležitě hodnoty (NH) FEV<sub>1</sub>, FVC a PEF představují hodnoty vycházející z populačních studií. Vztahují se k věku, pohlaví a výšce. Za normální jsou považovány změřené hodnoty nad 80 %. NH jsou méně spolehlivé u osob mladších 20 let a starších 65 let. Pro monitorování dynamiky astmatu je vhodnější srovnávat naměřené hodnoty s osobní nejlepší hodnotou (ONH), která představuje hodnotu zjištěnou po intenzivní bronchodilataci, popř. po několikadenní terapii kortikoidy. [14, 28]

#### *Bronchiální hyperreaktivita (BHR)*

Tato metoda se využívá u pacientů s podezřením na astma, u kterých jsou ale spirometrické hodnoty v normě. Jako konstriční látky přímo působící na hladký sval bronchů se využívají především metacholin a histamin.

Nepřímými bronchokonstriktory jsou adenosinmonofosfát (AMP), mannitol, fyzická námaha popř. izokapnická hyperventilace. Reakce na nepřímé konstriktory bronchů odráží momentální stav zánětu dýchacích cest, odezva na přímé konstriktory je spjata s dynamikou a strukturou dýchacích cest. [14, 28]

Test je vysoce senzitivní, avšak málo specifický pro astma. Negativní výsledek testu přispívá k vyloučení diagnózy perzistujícího astmatu, pozitivní výsledek není striktním průkazem astmatu, může být vyvolán i jinými onemocněními spojenými s obstrukcí bronchů. BHR je možné využít jako nepřímého ukazatele kontroly astmatu, léčba dětských astmatiků zohledňující výsledky monitoringu BHR může být prevencí poklesu pulmonální funkce. [28]

#### *Plicní respirace (krevní plyny, acidobazická rovnováha)*

Vyšetřuje se při těžkých exacerbacích astmatu. [28]

#### *Saturace Hb v krvi*

Slouží pouze jako orientační vyšetření. [28]

#### *Celotělová pletyzmografie*

Využívá se k určení celkové plicní kapacity (TLC), reziduálního objemu (RV), funkční reziduální kapacity (FRC) a odporu dýchacích cest (Raw). Pomocí této metody lze určit i míru hyperinflace plic. [28]

#### *Impulzní oscilometrie*

Metodu lze použít u dvouletých dětí a nespolupracujících pacientů. Výhodou je vysoká citlivost a rychle odlišení centrální a periferní obstrukce bronchů. [28]

### **2.11.1.2 Další doporučená vyšetření**

#### *Alergologické vyšetření*

Provádí se pomocí kožních testů či stanovením protilátek IgE v séru. Cílem je zjistit vyvolávající alergen a intenzitu alergické reakce. Využívá se dále k indikaci alergenové imunoterapie a režimových opatření. [14, 28]

## *Vyšetření ORL*

Používá se pro prokázání dalších případných komorbidit. [28]

## *Bakteriologické vyšetření sputa*

*Sérologické vyšetření antigenů atypických patogenů* (Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae) [28]

## *CT, HRCT hrudníku*

Používají se v diferenciální diagnóze. Pomocí HRCT byla prokázána přítomnost plicního emfyzému u pacientů s těžkým astmatem, přestože byl dříve spojován pouze s CHOPN. [28]

## *Kompozitní nástroje*

Používají se k určení kvantity kontroly astmatu a jejímu monitorování. Dělí se na:

*kompozitní kategorické nástroje* – např. dny bez astmatu, dny bez symptomů, týdny s totální kontrolou ...

*kompozitní numerické nástroje* – dotazník ACQ (Asthma Control Questionnaire)

## *Stanovení kvality života (QOL)*

Zjištění se provádí pomocí dotazníků.

### **2.11.1.3 Vyšetření markerů zánětu**

Stanovení a monitorování zánětu dýchacích cest se využívá pro diagnostické účely, sledování odpovědi na léčbu a stanovení prognózy astmatiků. [28]

Metody:

#### *Vyšetření krevního obrazu*

Zaměřuje se na eozinofilní frakci.

#### *Koncentrace NO ve vydechovaném vzduchu*

Koncentrace NO koreluje s aktivitou eozinofilního zánětu. Metodu lze využít u osob od 4 let.

#### *Vyšetření indukovaného sputa*

Pacient inhaluje 3% roztok NaCl. Metoda je časově i finančně náročná, nelze ji použít u dětí mladších 8 let.

#### *Bronchoskopie s bronchoalveolární laváží, biopsie sliznice bronchů*

Poskytuje nejpřesnější výsledky pro diagnózu.

#### *Kondenzát vydechaného vzduchu*

Experimentální metoda, podává podrobné informace o aktivitě zánětu v dýchacích cestách. [28]

### **2.11.2 DIFERENCIÁLNÍ DIAGNÓZA**

Jedná se o postup, jehož cílem je správné stanovení diagnózy. Spočívá v selekci onemocnění mající podobné symptomy jako asthma bronchiale.

Před vyřčením diagnózy je velmi důležité uvědomění, že existuje řada chorob respiračního traktu, které se rovněž projevují obstrukcí bronchů. Obstrukce je možné rozdělit na generalizované a lokalizované (např. aspirace cizího tělesa). Dále je třeba pamatovat i na tzv. pseudoastma způsobené dysfunkcí hlasových vazů a především u kuřáků na chronickou obstrukční plicní nemoc. Zásadním faktem pro potvrzení diagnózy astmatu je průkaz reverzibility a variability obstrukce průdušek. [14, 25]



## 2.12 KLINICKÝ OBRAZ

Asthma bronchiale představuje onemocnění s rozmanitým klinickým obrazem a extrémní variabilitou. Objevuje se v jakémkoli věku. Vedle typických symptomů se může projevovat i zcela atypicky. Ve výsledném projevu nemoci se odráží tíže onemocnění, věk i životní styl pacienta. [25, 28, 49, 57]

K typickým symptomům onemocnění patří dráždivý kašel, dušnost provázená pískoty a vrzoty a pocity sevření či tíhy na hrudníku. Obtíže se často vyskytují v noci nebo nad ránem, zhoršují se při námaze, virové infekci, kontaktu se spouštěči nebo silných emocí. [25, 28, 49, 57]

### *Dráždivý kašel*

Lze jej považovat za určitý předstupeň dušnosti. U některých pacientů je dominantním nebo po dlouhou dobu i jediným příznakem onemocnění. V tomto stadiu zánět ještě nezpůsobuje obstrukci bronchů, hovoříme o tzv. astmatickém ekvivalentu. [28, 57]

### *Dušnost*

Dušnost různé intenzity představuje převládající symptom astmatických pacientů, typicky se objevuje při výdechu, neboť při expiriu je u astmatiků umocněno zúžení dýchacích cest.

Jedná se o subjektivní pocit navazující na obstrukci dýchacích cest způsobenou spasmy hladké svaloviny, edémem sliznice popř. nadprodukcí hlenu. Častá je variabilita intenzity dušnosti. V případě astmatického záchvatu se dostaví dušnost velmi náhle, vystupňovaná těžká dušnost provází status asthmaticus. [28, 57]

### *Pískoty a vrzoty*

Často provází již zmíněnou dušnost, případně jsou jediným symptomem astmatu. Jejich intenzita nekoreluje s tíží onemocnění, mohou chybět u lehké i těžké obstrukce pro homogenní zúžení bronchů. [28, 57]

### *Tlak na hrudi*

Obvykle se dostavuje při zvýšené fyzické námaze. U osob vyššího věku hrozí záměna za diagnózu anginy pectoris. [4]

## 2.13 TERAPIE

### 2.13.1 ZÁKLADNÍ PRINCIPY TERAPIE

Základním cílem terapie je dosažení a udržení plné kontroly nad astmatem, která je charakterizována:

1. Minimálními nebo žádnými chronickými příznaky včetně nočními příznaky.
2. Minimálními nebo žádnými exacerbacemi astmatu.
3. Žádnými náhlými stavy vyžadující akutní lékařskou péči.
4. Minimálními nebo žádnými potřebami záchranné bronchodilatační léčby.
5. Žádnými omezeními běžných aktivit včetně fyzické námahy.
6. Normální funkcí plic včetně snížením variability PEF pod 20 %.
7. Minimálními nebo žádnými nežádoucími účinky léků. [25, 26, 57]

Dosažení kontroly nad astmatem vyžaduje včasné rozpoznání symptomů nemoci, odhalení a co nejdokonalejší eliminaci spouštěčů, výběr vhodné medikace ve vztahu k jedinci. Velmi důležitá je edukace pacientů k porozumění jejich nemoci a aktivní zapojení do péče. Klíčový je průběžný monitoring stavu a dynamická úprava péče o astma. [26]

### 2.13.2 NEFARMAKOLOGICKÁ TERAPIE

Ve své podstatě se nefarmakologická terapie ztotožňuje se sekundární prevencí. Režimová opatření zahrnují eliminaci kontaktu s tabákovým kouřem, léky, potravinami a jinými škodlivinami, u nichž je patrný negativní vliv na zdravotní stav astmatika. Doporučuje se i eliminace expozice alergenům, dosud však nebyla potvrzena klinická účinnost tohoto opatření, neboť proběhlé studie neprokázaly přímý vliv alergenů na remodelaci dýchacích cest. Nicméně některé zprávy z výzkumu ukázaly, že dlouhodobá absence expozice alergenů, minimálně po dobu 6 měsíců, může vést ke zvrácení remodelace dýchacích cest. Za pozornost jistě stojí i skutečnost, že zlepšení přestavby nastalo bez paralelního zlepšení zánětu nebo příznivého ovlivnění degranulace

eozinofilů či mastocytů. To může naznačovat, že oba procesy probíhají odděleně. [28, 60]

### **2.13.2.1 Bronchiální termoplastika**

Jedná se o nový způsob terapie spočívající v redukci vrstvy hladké svaloviny dýchacích cest, která má zabránit nadměrné konstrikcii. Při bronchoskopii je katetrem vedena tepelná energie ve formě radiofrekvenčních vln k hladkému svalu, kde pak dochází k jeho zeslabení. [15, 40, 60]

Metoda se používá u astmatických pacientů špatně reagujících na farmakologickou léčbu. Výsledky studií prokázaly zlepšení pre-bronchodilatační FEV1 a sníženou odpověď dýchacích cest na metacholin. Tento efekt přetrvával až 2 roky po ukončení léčby. Dlouhodobé účinky léčby však zatím nejsou známy. [40, 60]

## **2.13.3 FARMAKOLOGICKÁ TERAPIE**

Farmakoterapie vychází ze stupňovitého schématu léčby založeného na klasifikaci nemoci podle stupně závažnosti. Od tohoto stupně se pak odvíjí i volba léků. [28, 57]

Farmakologická léčba se skládá ze 2 složek:

1. podávání bronchodilatačních (úlevových) antiastmatik
2. podávání protizánětlivých (preventivních) antiastmatik

### **2.13.3.1 Úlevová antiastmatika**

#### **$\beta_2$ -agonisté s rychlým nástupem účinku (RABA)**

Do této skupiny se počítají  $\beta_2$ -agonisté s krátkodobým účinkem (SABA). [28]

*Mechanismus účinku:*

Stimulací  $\beta_2$ -receptorů v dýchacích cestách dochází k bronchodilataci. [14]

#### *Výhody:*

Jedná se o základní a neúčinnější úlevové léky, bronchodilatace je docílena s minimální aplikovanou dávkou. Preferuje se inhalační podání, jsou k dispozici i ve formě perorální a pro zvládnutí těžkého záchvatu ve formě parenterální, zde je ale vyšší riziko nežádoucích účinků. [57]

#### *Nežádoucí účinky:*

Tachykardie, palpitace, bolesti hlavy, svalový třes, hypokalémie. [57]

#### *Zástupci:*

Salbutamol, terbutalin, fenoterol, formoterol, aj. [28]

### **Anticholinergika s krátkodobým účinkem (SAMA)**

#### *Mechanismus účinku:*

Spočívá ve snížení vnitřního vagového cholinergního tonu dýchacích cest a následné bronchodilataci. [57]

#### *Výhody:*

Ve srovnání s  $\beta_2$ -agonisty efekt trvá déle. Aditivního účinku se docílí současnou nebulizací ipratropium bromidu s LABA. Výhodou této skupiny je nepřítomnost nežádoucích účinků na kardiovaskulární systém a tedy i možnost použití u osob s onemocněním tohoto systému. [57]

#### *Nevýhody:*

Oproti  $\beta_2$ -agonistům je nástup účinku pomalejší a výsledná bronchodilatace menší. [57]

#### *Nežádoucí účinky:*

Sucho v ústech, hořká chuť. [57]

#### *Zástupci:*

Ipratropium bromid, oxitropium bromid. [57]

### **Systémové kortikosteroidy**

#### *Mechanismus účinku:*

Mají signifikantní protizánětlivý účinek, redukuje počet i aktivitu eozinofilů a mastocytů v dýchacích cestách. Potlačují aktivitu epitelálních a endotelálních buněk, snižují množství zánětlivých cytokinů, sekreci hlenu a permeabilitu kapilár. [36]

#### *Výhody:*

Lze je podat pacientům s těžkou formou astmatu, u nichž selhalo inhalační podávání léků. Jsou důležité v terapii akutního astmatického záchvatu, který nedostatečně odpovídá na inhalační podání úlevových  $\beta_2$ -mimetik. [25]

#### *Aplikace:*

Systémové kortikosteroidy se podávají perorálně, popř. intravenózně. Nástup účinku je u obou cest podání prakticky totožný. [25]

#### *Nežádoucí účinky:*

Osteoporóza, hypertenze, diabetes mellitus, ztenčení kůže, podkožní strie, svalová slabost, obezita, retence tekutin, měsícovitý obličej, suprese osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny. [14]

#### *Zástupci:*

Prednison, methylprednisolon, tiamcinolon, aj. [25]

### **Intravenózně aplikované theofyliny**

#### *Mechanismus účinku:*

Vysoké koncentrace v plasmě ( $> 10$  mg/l) inhibují fosfodiesterasu a vyvolávají dilataci bronchů. Nižší plasmatické koncentrace (5 – 10 mg/l) mají účinky protizánětlivé, jejichž podstata zatím není objasněna. [14]

#### *Výhody:*

Nízká cena. [57]

#### *Nežádoucí účinky:*

Nauzea, silné palpitace, stimulace CNS – nespavost, tremor, svalové spasmy, srdeční arytmie. [41]

#### *Zástupci:*

Theofylin, etofylin. [41]

### **2.13.3.2 Preventivní antiastmatika**

Jedná se o léky určené ke každodennímu a dlouhodobému podávání s cílem dosažení a udržení kontroly nad perzistujícím astmatem. [14]

Současná terapie vychází z úrovně kontroly nad astmatem a má 5 stupňů. Pátý stupeň farmakoterapie se týká pouze pacientů s OLA. [28]

Tab. 3.: Stupňová terapie astmatu (dospělí, děti starší 5 let) [28]

<b>Stupeň</b>	<b>Specifikace</b>	<b>Léky první volby</b>	<b>Alternativa</b>
<b>1</b>	Monoterapie	RABA	SAMA nebo
			perorální SABA
			perorální LABA
			perorální theofyliny s krátkodobým účinkem
<b>2</b>	Monoterapie	IKS – nízká dávka	antileukotrien
<b>3</b>	Kombinace – výběr jedné kombinace	IKS – nízká dávka + LABA	střední/vysoká dávka IKS nebo
			IKS – nízká dávka + theofylin SR
			IKS – nízká dávka + antileukotrien
<b>4</b>	Kombinace – přidává se další 1 nebo více léků	IKS – střední/vysoká dávka + LABA	+ antileukotrien
			+ theofylin SR
<b>5</b>	Kombinace – přidává se 1 nebo oba léky	Farmakoterapie korespondující se stupněm 4	perorální kortikoidy – nízká dávka
			+ anti-IgE

### **Inhalační kortikosteroidy (IKS)**

#### *Mechanismus účinku:*

viz. systémové kortikosteroidy

#### *Výhody:*

V současné době jsou nejefektivnějšími protizánětlivými léčivy, prokazatelně redukuje symptomy astmatu, snižují hyperreaktivitu bronchů, zlepšují funkci plic, zlepšují kvalitu života, snižují mortalitu na astma. Oproti systémovým kortikoidům je bezpečnostní profil inhalační formy lepší. [5, 14]

#### *Nežádoucí účinky:*

Chrapot, pálení a bolest v krku, orofaryngeální kandidóza, katarakta, glaukom, Cushingův syndrom, úbytek kostních minerálů, osteoporóza.

Systémové nežádoucí účinky úzce souvisí s velikostí podané dávky a potenci kortikosteroidů. [14, 36]

*Zástupci:*

Budesonid, fluticason, triamcinolon, ciclesonid, aj.

### **Systémové kortikosteroidy**

Tímto způsobem jsou léčeni pacienti s těžkým stupněm astmatu, neodpovídající na jinou léčbu. Před injekčním podáním je preferována forma perorální. [57]

### **Inhalační $\beta_2$ -agonisté s dlouhodobým účinkem (LABA)**

*Mechanismus účinku:*

Vazbou na  $\beta_2$ -receptory v dýchacích cestách dochází k jejich dilataci, relaxují hladký sval respiračního traktu, zlepšují mukociliární clearance. Ve studiích byl při dlouhodobém podávání LABA pozorován mírný protizánětlivý účinek díky snížení eozinofilové frakce. [5, 14, 32]

*Výhody:*

Účinek přetrvává nejméně 12 h. Navozená bronchodilatace je srovnatelná nebo i signifikantnější než při terapii perorálními  $\beta_2$ -mimetiky. Dlouhodobě chrání před bronchokonstrikčními podněty. [14]

*Nežádoucí účinky:*

Ve srovnání s perorálními LABA je výskyt nežádoucích účinků nižší. Po absorpci do systému se může objevit svalový tremor, hypokalémie, tachykardie, palpitace. Výsledky výzkumu dokládají snížení bronchoprotektivního efektu při pravidelném užívání LABA, avšak dlouhodobé klinické studie neprokázaly pokles účinku v závislosti na čase. [14, 38]

*Zástupci:*

Formoterol, salmeterol.

### **Perorální LABA**

Používají se ke zvládnutí nočních příznaků astmatu popř. jako doplněk preventivní protizánětlivé terapie u těžšího stupně onemocnění. [14, 46]



*Zástupci:*

Retardovaný salbutamol, terbutalin, bambuterol (proléčivo terbutalinu).  
[14]

### **Fixní kombinace IKS – LABA**

*Mechanismus účinku:*

LABA aktivují receptory pro inhalační kortikosteroidy a potencují tak jejich protizánětlivý účinek. [28, 43]

*Výhody:*

Kombinace snižuje velikost podané dávky IKS, zlepšuje se kontrola astmatu, plicní funkce, snižuje se riziko exacerbací, zvyšuje se compliance a adherence pacienta k terapii, zvyšuje se kvalita života. Výhodný je i poměr cena/ účinek. [14, 28, 43]

*Nežádoucí účinky:*

Obdobné jako při podání jednotlivých skupin léčiv, avšak riziko je mnohem menší. [21]

*Zástupci:*

Salmeterol/fluticason, budesonid/formoterol, beclomethason/formoterol  
[21, 28]

### **Antileukotrieny**

*Mechanismus účinku:*

Působí jako antagonisté receptoru pro cysteinylové leukotrieny CysLT1 („lukasty“) a inhibují tak účinky cysteinylových leukotrienů uvolněných z mastocytů a eozinofilů. Zileuton je inhibitorem 5-lipoxygenasy katalyzující přeměnu kyseliny arachidonové na leukotrieny. [14, 43]

*Výhody:*

Zlepšují plicní funkce, mají mírný bronchodilatační, bronchoprotektivní a protizánětlivý účinek, redukují riziko exacerbací. U lehkého perzistujícího astmatu je lze podat v monoterapii, zvláště pak u dětí. V případě těžších forem se kombinují s kortikoidy a snižují tak jejich spotřebu. Výhodná je tabletová forma podání. Vhodné je jejich použití u ponámahové dušnosti a aspirin-senzitivního astmatu. [14, 43, 57]

#### *Nežádoucí účinky:*

Obvykle jsou dobře snášeny. Zileuton je spojován s jaterní toxikózou, proto se doporučuje monitorování jaterních testů. U zafirlukastu byla pozorována mírná bolest hlavy, poruchy zažívání, změny jaterních testů. [14, 25]

#### *Zástupci:*

Zileuton, zafirlukast, pranlukast, montelukast. [14]

### **Xantinové deriváty (theofyliny)**

#### *Mechanismus účinku:*

viz. úlevová farmakoterapie, používají se formy s řízeným uvolňováním [43]

#### *Výhody:*

Lze je použít jako alternativu pro kombinaci k IKS u pacientů s nedostatečnou kontrolou perzistujícího astmatu, zlepšují noční příznaky. [14]

#### *Nežádoucí účinky:*

Nauzea, vomitus, cefalgie, neklid, poruchy spánku, gastroezofageální reflux, srdeční arytmie, epileptické křeče, smrt. [7, 43]

Nevýhodou je i úzké terapeutické rozmezí, interindividuální a intraindividuální věková variabilita v rychlosti metabolismu, což řadí tuto skupinu jako léčiva druhé až třetí volby. [57]

#### *Zástupci:*

viz. úlevová farmakoterapie

### **Kromony**

#### *Mechanismus účinku:*

Stabilizují membrány žírných buněk a zabraňují tak uvolnění mediátorů zánětu, působí supresivně i na ostatní buňky zánětu – eozinofily, monocyty, makrofágy. Inhibují chloridové kanály cílových buněk. Blokují časnou a v různé míře i pozdní fázi alergické reakce. Přesný mechanismus účinku však dosud není plně objasněn. [7, 14, 57]

#### *Výhody:*

Nízká toxicita, snižují četnost symptomů a frekvenci exacerbací, zlepšení plicních funkcí. [14]

#### *Nežádoucí účinky:*

Minimální, kašel při inhalaci práškové formy léčivého přípravku, nepříjemná hořká chuť nedokromilu sodného. [14, 25]

#### *Zástupci:*

Kromoglykát sodný, nedokromil sodný [14]

### **Antihistaminika II. generace (H1-antihistaminika)**

#### *Mechanismus účinku:*

Antagonizují působení histaminu na jeho receptorech na cílových buňkách a potlačují tak alergickou reakci. [58]

#### *Výhody:*

Použití jako doplňková léčba u pacientů se současnou alergickou rýmou. [14, 25]

#### *Nežádoucí účinky:*

Sedace, bolesti hlavy, závratě, sucho v ústech, zvýšení hmotnosti (ketotifen), torsade de pointes. [14, 27]

#### *Zástupci:*

Ketotifen, terfenadin, astemizol. [14]

### **Látky šetřící systémové kortikoidy**

Jedná se o farmakologicky nesourodou skupinu, do níž se řadí cyklosporin, metotrexát, zlato a troleandomycin. [28]

#### *Výhody:*

U pacientů s těžkým astmatem snižují dávky perorálních kortikosteroidů. [14]

#### *Nevýhody:*

Léčba je drahá, řada nežádoucích účinků – nauzea, vomitus, hepatitida, teratogenita, poruchy hemopoézy. [14]

### **Specifická alergenová imunoterapie (SAIT)**

Terapeutický postup ovlivňující vývoj specifické imunologické hypersenzitivity, tlumí proces alergizace u astmatika. [31]

#### *Princip metody:*

Navození imunologické tolerance prostřednictvím sublinguální či subkutánní aplikace upraveného alergenu, vyvolávajícího obtíže astmatika. Dávky alergenu se postupně zvyšují a po této fázi je pacientovi kontinuálně po dobu 3 – 5 let podávána udržovací dávka alergenu. [31]

#### *Mechanismus účinku:*

Není zcela objasněn, pravděpodobně dochází k posunu rovnováhy pomocných T lymfocytů od frakce Th2 k frakci Th1 se zvýšením produkce IL-12 a IF- $\gamma$ . [14, 31]

#### *Výhody:*

Příznivý efekt u pacientů s alergickým astmatem, snížení příznaků, zlepšení alergen-specifické i alergen-nespecifické bronchiální hyperreakivity. [14]

#### *Nežádoucí účinky:*

Lokální reakce po injekčním podání – zarudnutí až rozsáhlá opožděná alergická reakce. Systémové účinky – anafylaktická reakce a těžká exacerbace astmatu. [14]

### **Anti-IgE protilátky**

#### *Mechanismus účinku:*

Humanizované, rekombinantně připravené monoklonální protilátky se selektivně vážou na konstantní doménu Fc $\epsilon$ 3 lidského imunoglobulinu E, tím dochází k neutralizaci volné molekuly IgE a znemožňuje tak jeho vazbu na Fc $\epsilon$ RI receptory mastocytů, bazofilů a v menší míře i Langerhansových buněk a eozinofilů, čímž brání spuštění kaskády alergické reakce. Zároveň dochází i k poklesu počtu receptorů IgE na uvedených buňkách a snížení volné celkové hladiny IgE na 96 – 99 % původní hodnoty. Vazbou na membránové IgE exprimovaných B-lymfocyty dochází k inhibici tvorby nových IgE protilátek. [29, 30, 33]

#### *Výhody:*

Obvykle jsou dobře snášeny, příznivé ovlivnění alergické rinitidy u pacientů s alergickým astmatem. Využití jako doplňková léčba ke zlepšení kontroly u pacientů s těžkým perzistujícím astmatem a pacientů s OLA starších 12 let. Ve studiích přetrvával u pacientů léčených touto metodou zlepšený stav

ještě 6 – 18 měsíců po vysazení léčby omalizumabem, pravděpodobně díky přetrvávající down-regulaci bazofilů. [30, 33]

*Nevýhody:*

Zlepšení se dostavuje až v průběhu 16 týdnů aplikace léku, cenově nákladná léčba. [30]

*Nežádoucí účinky:*

Reakce v místě vpichu, virové infekce, infekce horních cest dýchacích, bolesti hlavy. [30]

*Zástupci:*

Omalizumab [30]

### **2.13.3.3 Inhalační systémy**

Preferovanou cestou podávání antiastmatik je inhalace, která dopravuje účinnou látku na cílové místo jejího působení. Výhodou tohoto postupu je rychlý nástup účinku a potřeba mikrogramových dávek minimalizující nežádoucí účinky. [22, 28]

Léky ve formě aerosolů jsou dostupné v různých inhalačních systémech:

- Aerosolové dávkovače – *MDI (metered dose inhalers)*
  - K činnosti využívají hnací plyn.
  - Používají se samostatně popř. s inhalačním nástavcem.
  - Podskupinou jsou MDI-Modulite využívající tzv. modulitovou technologii, která je schopna vytvořit částice s různými aerodynamickými parametry a udržet je konstantní po celou dobu životnosti částic. Díky tomu je vyšší depozice částic v bronších i alveolech.
  - Nevýhodou je nezbytná koordinace mezi aktivací systému a nádechem pacienta.
  - Vyznačují se největší chybovostí v inhalační technice.
  - např. *Syncroner Inhaler*, aerosolový dávkovač *JET*.
- Dechem aktivované aerosolové dávkovače – *BAI (breath-actuated inhalers)*
  - Jednodušší použití.

- Nevyžadují koordinaci nádechu s aktivací inhalačního systému.
- např. *Easi-Breathe*.
- Inhalátory pro práškovou formu – *DPI (dry powder inhalers)*
  - Dělí se na jednodávkové a vícedávkové.
  - Jednodušší použití než aerosolové dávkovače.
  - Výhodou je počítadlo ukazující zbývající počet dávek.
  - Možnost použití u dětí již od 4 let.
  - Nevýhodou je přítomnost laktosy jako nosného média.
  - Zástupci – jednodávkové: *Spinhaler, Aerolizer, Inhalátor M, aj.*
  - Zástupci – vícedávkové: *Turbuhaler, Diskus, Airmax, aj.*
- Nebulizátory
  - Generují vlhký aerosol.
  - Dělí se na ultrazvukové a kompresorové (tryskové).
  - Léčivá látka se během nebulizace dostává do perifernějších částí bronchů. [22, 28]

Tab. 4.: Přehled léků určených pro nebulizaci [28]

<b>Galenická forma</b>	<b>Účinná látka</b>	<b>Komerční název léku</b>
Roztok pro nebulizaci	Salbutamol	Ventolin roztok
Roztok pro nebulizaci	Ipratropium	Atrovent roztok
Roztok pro nebulizaci	Fenoterol/ipratropium	Berodual roztok
Suspenze pro nebulizaci*	budesonid	Pulmicort suspenze

\* Nehodí se pro nebulizaci pomocí ultrazvukových nebulizátorů s malým výkonem.

## 2.14 BUDOUCNOST TERAPIE ASTMATU

V nadcházejících letech pravděpodobně dojde k ovlivnění terapie klinickými, celulárními a molekulárními fenotypy astmatu, tzv. vícerozměrná fenotypizace, využívající nové technologie a počítačové modely. Očekává se změna pohledu na klinicko-patologickou klasifikaci onemocnění a cílenější terapie. Informace bude možné zpracovávat jak z experimentů prováděných *in vitro* nebo *in vivo*, ale také z dat získaných *in silico*, tedy studiem živých organismů prostřednictvím PC modelů. [23]

Dalším předpokladem je náhrada současné reaktivní medicíny zaměřené na boj s nemocí medicínou anticipační, označovanou též P4 medicína (1. personalizovaná = využívající genomová data jedince; 2. prediktivní = prognóza rizik onemocnění; 3. preventivní = pravidelný screening a specifická intervence; 4. participační = aktivní účast pacienta). [23]

### 2.14.1 BIOLOGICKÁ TERAPIE

Rostoucího významu dosahuje terapie pomocí substancí biologické povahy. Nejčastěji se využívají monoklonální protilátky nebo rekombinantně připravené cytokiny. Výhodou je vysoká specifita k cílové struktuře a přímý vliv na receptory či mediátory, které nelze ovlivnit nízkomolekulárními látkami. Nevýhodou je finanční nákladnost a časté závažné nežádoucí účinky. Biologická léčba proto bude i v budoucnosti rezervována pro pacienty s OLA. [23]

#### **Blokáda IL-4/IL-13**

IL-4/IL-13 působením na B-lymfocyty stimulují produkci IgE protilátek a vyvolávají tak symptomy astmatu. [45]

*Zástupci:*

#### ***Altrakincept***

Jedná se o rekombinantní solubilní receptor pro IL-4. Aplikuje se inhalačně, vede ke kontrole příznaků i při vysazení IKS. Látka je dobře tolerována. [45]

#### ***Pitrakinra***

Tento mutantní IL-4 ve studiích potlačoval eozinofilii a pozdní alergenem indukovanou odpověď. Navíc redukuje koncentraci NO ve vydechaném vzduchu a má při s.c. i inhalačním podání příznivý vliv na plicní funkce astmatika. [55]

***Pascolizumab, IMA-638, CAT-354, AMG 317***

Jedná se o monoklonální protilátky proti IL-4 (pascolizumab) a IL-13 (IMA-638, CAT-354, AMG 317), u nichž probíhají v současné době klinické studie.

**Blokáda IL-5**

IL-5 stimuluje dozrávání, vyplavení a aktivaci eozinofilních granulocytů. Hraje tak důležitou roli v regulaci eozinofilního zánětu. [45, 55]

*Zástupci:*

***Mepolizumab, reslizumab***

U těchto monoklonálních protilátek proti IL-5 byl v klinických studiích pozorován signifikantní efekt na hladinu eozinofilů v periferní krvi. Blokáda IL-5 se rovněž zdá být významná i pro remodelaci dýchacích cest. [45]

**Blokáda IL-9**

IL-9 přímo ovlivňuje diferenciaci a aktivaci mastocytů a přestavbu stěny dýchacích cest.

*Zástupci:*

***MEDI-528***

Monoklonální protilátka proti IL-9, v současné době podrobená výzkumu jako potenciální léčivo pro pacienty se středně těžkým a těžkým astmatem. [45]

**Blokáda TNF- $\alpha$**

Protizánětlivý cytokin TNF- $\alpha$  je v nadměrném množství produkován při Th1 i Th2 odpovědi, vč. asthma bronchiale.

*Zástupci:*

***Etanercept, infliximab***

Etanercept, rekombinantní solubilní receptor pro TNF- $\alpha$  vedl u pacientů s těžkým astmatem k redukci hyperreakivity bronchů, ke zlepšení



hodnot FEV1 i kvality života, následná studie však tak jednoznačný efekt neprokázala. [45, 55]

Monoklonální protilátka proti TNF- $\alpha$ , infliximab, **šžila** lehkou exacerbaci u pacientů se středně těžkým astmatem z 50 %. Tato data vycházejí z placebem kontrolovaných studií. [45]

### **Blokáda membránových molekul**

*Zástupci:*

Monoklonální protilátka anti-CD23 (proti nízkoafinitnímu receptoru pro IgE), **lumiliximab**, redukuje hladinu IgE o 40 % a potlačuje syntézu protizánětlivých cytokinů. [45, 55]

**Daclizumab**, monoklonální protilátka anti-CD25 (proti  $\alpha$ -podjednotce receptoru pro IL-2), snižuje periferní eozinofilii a příznivě ovlivňuje funkční parametry plic u středně těžkého a těžkého astmatu. [45]

**Bimosiamosa** (nízkomolekulární selektivní antagonist) a **valategrast** (protein antagonizující VLA-4 molekulu) jsou v současné době podrobeny výzkumu jako potenciální terapeutika astmatu. [45]

**Natalizumab**, monoklonální protilátka proti integrinu VLA-4, se ve studiích jako perspektivní léčivo astmatu neuplatnila vzhledem k minimálnímu efektu a multifokální leukoencefalopatii, která byla pozorována u části pacientů po jejím podání. [45]

### **Inhibitory kinas**

*Zástupci:*

#### **Masinitib**

c-kit/PDGF tyrosin kinasový inhibitor redukující zánět a remodelaci v bronších. [23]

### **2.14.2 NOVÉ FIXNÍ KOMBINACE**

V nedaleké budoucnosti se terapie astmatu pravděpodobně dočká obohacení o nové fixní kombinace, např. inhalační  $\beta_2$ -mimetika s ultra dlouhodobým účinkem (U-LABA) s IKS s 24 h účinkem popř. s inhalačními anticholinergiky s dlouhodobým účinkem (LAMA). Pravděpodobná je i trojkombinace LABA/LAMA/IKS nebo U-LABA/LAMA/IKS. Předpokládá se

i využití bifunkčních muskarinových (M3) antagonistů  $\beta_2$ -agonistů (MABA). [23]

U pacientů trpících astmatem kombinovaným s CHOPN se prokázal příznivý vliv tiotropia (LAMA). [23]

## 2.15 PROGNOZA

Pokud je diagnóza astmatu a zahájení účinné terapie včasné a předpokládáme-li důsledné dodržování farmakologických i nefarmakologických opatření, je prognóza onemocnění dobrá. Výjimkou tvoří pouze pacienti s obtížně léčitelným astmatem. [26, 28]

Na příznivý vývoj prognózy se podílí vedle včasné a správné diagnózy také určení tíže astmatu a stupně jeho kontroly, včasná a účinná léčba za současného kontinuálního monitoringu terapie a v neposlední řadě i compliance a adherence pacienta. V případě částečného nebo dokonce i úplného zanedbání některého z uvedených bodů dochází k negativnímu dopadu na celou péči tohoto respiračního onemocnění. [28]

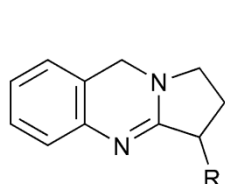
## 2.16 CHINAZOLINOVÉ ALKALOIDY

### Všeobecné informace:

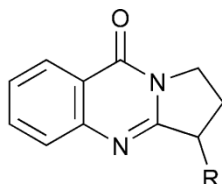
Jedná se o alkaloidy ze třídy vasicinu, identického s alkaloidem peganinem. Látka byla izolována z rostlin *Justicia adhatoda*, *Acanthaceae* a *Peganum harmala*, *Zygophyllaceae*. [37,42, 56]

### Struktura:

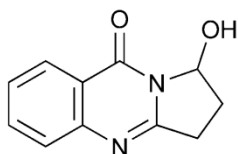
Základním strukturním prvkem této třídy alkaloidů je heterocyklický skelet chinazolinu. [11]



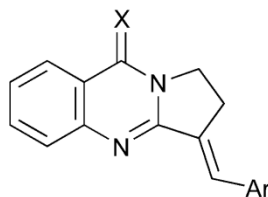
206 Vasicine R = OH  
208 Deoxyvasicine R = H



207 Vasicinone R = OH  
209 Deoxyvasicinone R = H



210 Isovasicinone



211 X = 2H or NR

Obr. 5.: Strukturní vzorce chinazolinových alkaloidů [37]

### 2.16.1 JUSTICA ADHATODA, ACANTHACEAE

#### Synonyma:

Adhatoda vasica, Vasaka, Malabarský ořech [10]

#### Všeobecné informace:

Jedná se o stálezelený keř rozšířený v tropické oblasti jihovýchodní Asie, dosahující výšky 1 – 6 m. Listy jsou ochlupené, vstřícné, vejčité-kopinatého tvaru. Rostlina má nepříjemný zápach a hořkou chuť. Kvete bíle, růžově nebo fialově. [1]

### **Obsahové látky:**

Nejvýznamnější obsahovou látkou je hořce chutnající chinazolinový alkaloid vasicin nacházející se v kořenech, listech a květech. V listech najdeme vedle vasicinu i vasicinon, vasicinol, adhatodin, adhatonin aj. Vasicin a vasicinon jsou hlavními aktivními látkami této rostliny. Vasaka dále obsahuje kyselinu askorbovou, silice, pryskyřice, sacharidy, aminokyseliny, proteiny, lipidy, karotenoidy, antrachinony, saponiny a flavonoidy [10]

### **Účinky:**

Rostlina má expektorační, spasmolytické a antipyretické účinky. Působí protizánětlivě, bronchodilatačně, antidiabeticky, zastavuje krvácení, vykazuje účinky anthelmintické. Prokázáno je i působení uterotonické a abortivní, pravděpodobně zprostředkované zvýšením syntézy prostaglandinů. Při kombinaci vasicinu a vasicinonu byl pozorován kardioprotektivní efekt. [10]

#### ***Mechanismus účinku na respirační trakt:***

Vasicin a jeho oxidační produkt vasicinon jsou kompetitivní antagonisté acetylcholinu na presynaptické membráně nervových zakončení vagu v dýchacích cestách. To má za následek relaxaci hladkého svalstva a zvýšení sekrece hlenu v dýchacích cestách. [42]

Justicia adhatoda dále působí jako enzymový induktor při metabolismu xenobiotik. Struktury odvozené od vasicinu inhibují degranulaci mastocytů, a tím i uvolňování histaminu, snižují aktivitu cAMP-fosodiesterasy a lipoxygenasy a inhibují vychytávání vápníku. Tyto struktury mají podobně jako parentní látka bronchodilatační a protialergické účinky.[17, 42]

V současné době probíhá výzkum tekutého extraktu získaného z kořene rostliny, který má opodstatnit její tradiční použití v terapii malárie. [59]

### **Dávkování:**

Obvykle se podává 500 mg extraktu rozděleného do 2 denních dávek, vhodná je však individuální úprava dávky. [17]

**Farmakokinetika:**

Ve studiích na myších se vasicin dobře vstřebával po i.m., i.v. i p.o. podání. Látka je v játrech metabolizována na vasicinon a další metabolity, které jsou pak vyloučeny močí. [10]

**Využití:**

Rostlina se využívá pro své kořeny, listy, květy i plody. V Ájurvédské



medicině se Justicia adhatoda tradičně používá k terapii nachlazení, kašle, astmatu a tuberkulózy. Listová šťáva je využívána k léčbě průjmu, dysenterie a tumoru žláz. Vasaka může být zneužita k navození aborce. [10, 42]

Obr. 6.: *Justicia adhatoda*, Acanthaceae [3]

**2.16.2 PEGANUM HARMALA, ZYGOPHYLLACEAE****Synonyma:**

Syrská růže, syrská routa, harmala. [56, 62]

**Všeobecné informace:**

Harmala je vytrvalý sukulentní keř s úzkými listy a bílými květy, cca 30 cm vysoký, avšak může dorůstat až do výšky 1 m. Jeho domovinou jsou polopouště oblasti Blízkého východu a centrální Asie. Hnědá semena hranatého tvaru se tradičně využívají jako barvivo a pro medicínské účely. Rostlina je zneužívána jako halucinogenní droga nebo abortivum, za 2. světové války byla nacisty využívána jako sérum pravdy. [56, 62]

### **Obsahové látky:**

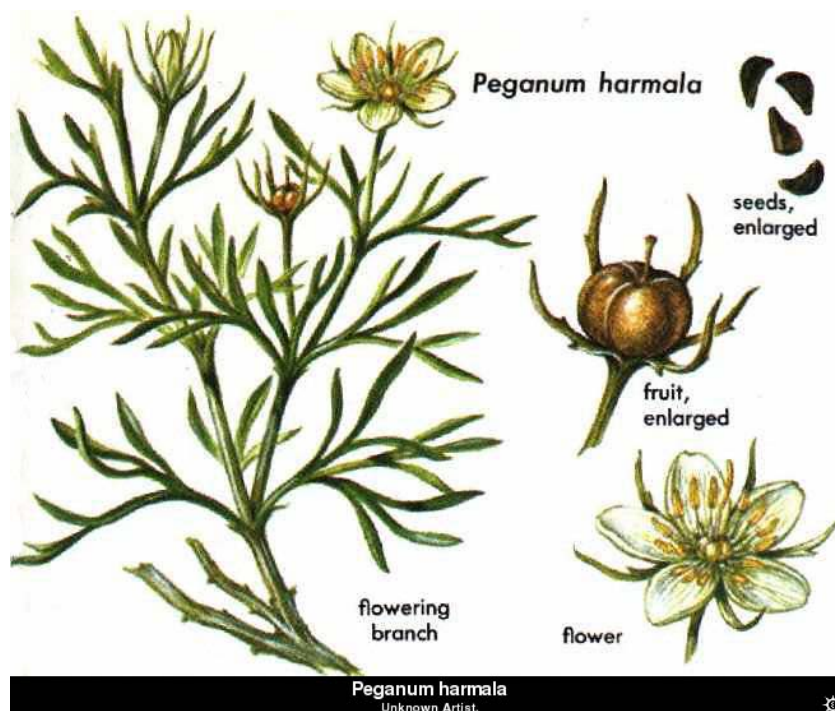
V semenech jsou obsaženy  $\beta$ -karbolinové alkaloidy, zejména harmin a harmalin, chinazolinové alkaloidy – vasicin, vasicinon, deoxyvasicinon. [56, 62]

### **Účinky:**

Byl prokázán analgetický, antibakteriální a uterotonický účinek. Harmin i harmalin jsou silní, krátkodobě působící reverzibilní inhibitory MAO-A, což je podkladem jejich psychoaktivního účinku. Požití drogy navozuje relaxaci, příjemný stav, veselou náladu. Vyšší dávky vedou ke spasmům, anxietě a halucinacím. Z vedlejších účinků se dále mohou dostavit závratě, nevolnost, tremor, tinitus, brachykardie, tachykardie, zvýšení krevního tlaku, kombinace s SSRI vede k serotoninovému syndromu. U predisponovaných jedinců hrozí rozvoj schizofrenie. Alkaloid harman přímo interaguje s DNA a vykazuje mutagenní účinek. [56, 62]

### **Dávka:**

Pro dosažení psychotického účinku se volí dávka 3 – 5 g semen, což odpovídá dávce 1,5 mg harmalových alkaloidů na kilogram tělesné hmotnosti. [56]



Obr. 7.: *Peganum harmala*, Zygophyllaceae [56]

# EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST



### 3.1 CÍL PRÁCE

1. Na modelu izolované průdušnice potkana (*in vitro*) zjistit účinky vybraných derivátů chinazolinových alkaloidů, a to látek VN-027 a VN-033.
2. Porovnat získaná data testovaných derivátů chinazolinu se standardním léčivem theofylinem.

## 3.2 MATERIÁL A METODIKA

### 3.2.1 POUŽITÝ MATERIÁL

#### 3.2.1.1 Chemikálie

Tab. 5.: Použité chemikálie

<b>Název látky</b>	<b>Vzorec</b>	<b>Výrobce</b>	<b>MW</b>
<b>Dihydrogenfosforečnan draselný p.a.</b>	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	RNDr. Jan Kulich, Hradec Králové, Česká republika	136,09
<b>D-glukosa monohydrát p.a.</b>	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Penta Chrudim, Česká republika	198,17
<b>Hydrogenuhlíčan sodný p.a.</b>	$\text{NaHCO}_3$	Penta Chrudim, Česká republika	84,01
<b>Chlorid draselný p.a.</b>	$\text{KCl}$	Penta Chrudim, Česká republika	74,56
<b>Chlorid sodný p.a.</b>	$\text{NaCl}$	Penta Chrudim, Česká republika	58,44
<b>Chlorid vápenatý bezvodý p.a.</b>	$\text{CaCl}_2$	Penta Chrudim, Česká republika	110,99
<b>Karbamoylcholin chlorid 99%</b>	Neuveden na obalu	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo	182,65
<b>Síran hořečnatý heptahydrát p.a.</b>	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Penta Chrudim, Česká republika	246,47
<b>Theofylin bezvodý, min. 99%</b>	Neuveden na obalu	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo	180,17

### **Krebs-Henseleit roztok (K-H roztok)**

Tab. 6.: Složení K-H roztoku

<b>Substance</b>	<b>Koncentrace [g/l]</b>
Chlorid sodný p.a.	6,80
Chlorid draselný p.a.	0,35
Chlorid vápenatý bezvodý p.a.	0,28
Hydrogenuhličitan sodný p.a.	2,10
Dihydrogenfosforečnan draselný p.a.	0,14
Síran hořečnatý heptahydrát p.a.	0,29
D-glukosa monohydrát p.a.	2,00

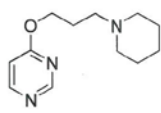
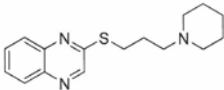
#### **Příprava K-H roztoku:**

Uvedené substance jsme navážili na laboratorních vahách a každou zvlášť pak rozpustili v destilované vodě. Následně jsme jednotlivé roztoky smíchali, roztok chloridu vápenatého byl přidán na závěr, aby se zamezilo případnému vysrážení slabě rozpustných vápenatých solí. Pomocí destilované vody jsme výsledný roztok doplnili na požadovaný objem.

#### **Testované látky**

Testované deriváty chinazolinu byly připraveny na Katedře anorganické a organické chemie Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové. Výchozí strukturu pro tyto substance představovaly chinazolinové alkaloidy vasicin a vasicinon.

Tab. 7.: Testované látky

<b>Označení substance</b>	<b>Chemický název</b>	<b>Strukturní vzorec</b>	<b>MW</b>
VN-027	4-[3-(piperidin-1-yl)propyloxy]pyrimidin		221,30
VN-033	2-[3-(piperidin-1-yl)propylsulfanyl]chinoxalin		287,42

### 3.2.1.2 Přístroje a pomůcky

1. Aparatura na izolované orgány: *Multi chamber tissue bath system ISO-08-TSZ4, SEN-03-FSG1 Force/Displacement transducer* [Experimentia Ltd., Budapešť, Maďarsko]
2. Laboratorní sklo, laboratorní lžička, mikropipeta
3. Laboratorní váhy [Kern & Sohn GmbH, Balingen, Německo]
4. Operační nástroje (ligatura, nůžky, operační stolek, peán, pinzety)
5. Plynová bomba s pneumoxidem (směs 95 % O<sub>2</sub> a 5 % CO<sub>2</sub>), [Linde gas]
6. Termostat U1 [Prüfgeräte-Werk Medingen GmbH, Dresden, Německo]
7. Vyhodnocovací software: *S.P.E.L. Advanced Kymograph Software SOFT-03-KYMO*, [Experimentia Ltd., Budapešť, Maďarsko]

### 3.2.1.3 Pokusná zvířata

K experimentu byli použiti samci potkana kmene Wistar o hmotnosti 250 – 300 g, jejichž dodavatelem byla společnost BioTest s.r.o. Konárovice. Po přepravě byla zvířata ponechána v nejméně 7 denní adaptabilní lhůtě ve viváriu Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové za zajištění standardních chovných podmínek laboratorních zvířat – světla, teploty, standardní peletizované krmné potravy a přístupu k pitné vodě *ad libitum*. Před vlastním experimentem byli potkani ponecháni 24 h nalačno.

Experimenty byly prováděny v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb. *Na ochranu zvířat proti týrání* po schválení projektu pokusů Etickou komisí FaF UK.

## 3.2.2 METODIKA

Pro ověření účinků testovaných látek na hladkou svalovinu respiračního traktu byla zvolena metodika izolované průdušnice potkana *in vitro*.

### 3.2.2.1 Provedení experimentu

Potkan byl usmrcen exsanguinací a následně fixován na operační stolek. V oblasti krku byla odstřižena kožní řasa pro umožnění preparace trachey, která pak byla v místě bifurkace separována od plic. Takto získaná průdušnice byla

středem podkovovitých hyalinních chrupavek vertikálně rozstřížena a výsledný cca 3 cm úsek byl ihned přenesen do Petriho misky s K-H roztokem, kde následovalo odstranění zbytků okolních tkání, rozstřížení trachey na protější straně k hladké svalovině, čímž byl získán preparát, jehož středem probíhal hladký sval. Následně byl preparát rozdělen na 4 stejné díly. Do dvou protějších rohů každého z těchto dílů byla připevněna ligatura a jednotlivé preparáty pak fixovány v aparatuře na izolované orgány *Multi chamber tissue bath system* v 5 ml živného K-H roztoku temperovaného na teplotu 37°C a ze skleněné frity prokysličeného pneumoxidem pro zajištění fyziologických podmínek.

Preparáty v lázni byly zatíženy na 2,5 g a ve třech pravidelných 10 minutových intervalech následovala výměna živného média. Po uplynutí této fáze bylo zatížení sníženo na 1 g a po stabilizaci křivky záznamu bylo možno zahájit vlastní měření.

Výsledky byly zaznamenávány a vyhodnocovány počítačem se speciálním softwarem *S.P.E.L. Advanced Kymograph Software SOFT-03-KYMO*.

První fáze pokusu spočívala v podání látky, vyvolávající kontrakci hladké svaloviny trachey. K tomuto účelu byl využit roztok karcholu, který byl v objemu 50  $\mu$ l podán do 5 ml temperovaného živného roztoku v aparatuře, přičemž výsledná koncentrace byla  $10^{-5}$  M. Po ustálení výstupní odpovědi byl opět proveden výplach a aplikována druhá dávka karcholu, zajišťující úplnou kontrakci trachey projevující se zarovnáním křivky na monitorovacím zařízení. Následně byly aplikovány jednotlivé kumulativní koncentrace testovaných substancí. Jednotlivé dávky, viz. Tab. 8, byly podávány pomocí mikropipety vždy po stabilizaci odpovědi trachey na koncentraci předchozí. Na závěr pokusu byla podána dávka theofylinu o koncentraci  $10^{-2}$  M pro navození maximální relaxace hladkého svalu průdušnice.

Tab. 8.: Použité koncentrace testovaných látek

<b>Koncentrace [mol/l]</b>	<b>Testovaná látka</b>	
	<b>VN-027</b>	<b>VN-033</b>
$1,0 \cdot 10^{-7}$	•	•
$2,5 \cdot 10^{-7}$		•
$5,0 \cdot 10^{-7}$		•
$1,0 \cdot 10^{-6}$	•	•
$2,5 \cdot 10^{-6}$		•
$5,0 \cdot 10^{-6}$		•
$1,0 \cdot 10^{-5}$	•	•
$2,5 \cdot 10^{-5}$		•
$5,0 \cdot 10^{-5}$	•	•
$1,0 \cdot 10^{-4}$	•	•
$2,5 \cdot 10^{-4}$		•
$5,0 \cdot 10^{-4}$	•	•
$1,0 \cdot 10^{-3}$	•	•

### 3.2.2.2 Hodnocení

Relaxační účinek jednotlivých koncentrací testovaných substancí byl vyjádřen jako procento z maximální relaxace navozené theofylinem. Tyto hodnoty byly zpracovány v programu *GraphPad Prism 5* a metodou nelineární regrese získány DRC křivky, z nichž pak byly určeny hodnoty  $EC_{50}$ . Křivka pro theofylin i jeho hodnota  $EC_{50}$  byla převzata z diplomové práce *Barbory Schmidtové (2007)* [52].

Získané hodnoty byly analyzovány pomocí one-way ANOVA testu, rozdíly byly považovány za signifikantní, pokud  $p < 0,001$ . Testované látky byly srovnávány se standardem – theofylinem. Látky, jejichž DRC křivky jsou v grafu posunuty více doleva, se vyznačují vyšším relaxačním účinkem na hladkou svalovinu průdušnice.

### 3.3 VÝSLEDKY

Obě testované látky VN-027 i VN-033 relaxovaly hladkou svalovinu průdušnice po prekontrakci karbacholem ( $10^{-5}$  M).

Po kumulativním podávání testované substance VN-027 byl pozorován výraznější relaxační účinek na respirační systém potkana oproti standardu theofylinu. Z průběhu DRC křivky pro látku VN-027 je patrné, že hodnota  $EC_{50}$  je nižší než hodnota pro theofylin, avšak u testované látky byl rovněž prokázán nižší maximální účinek ve srovnání se standardem [Obr. 8].

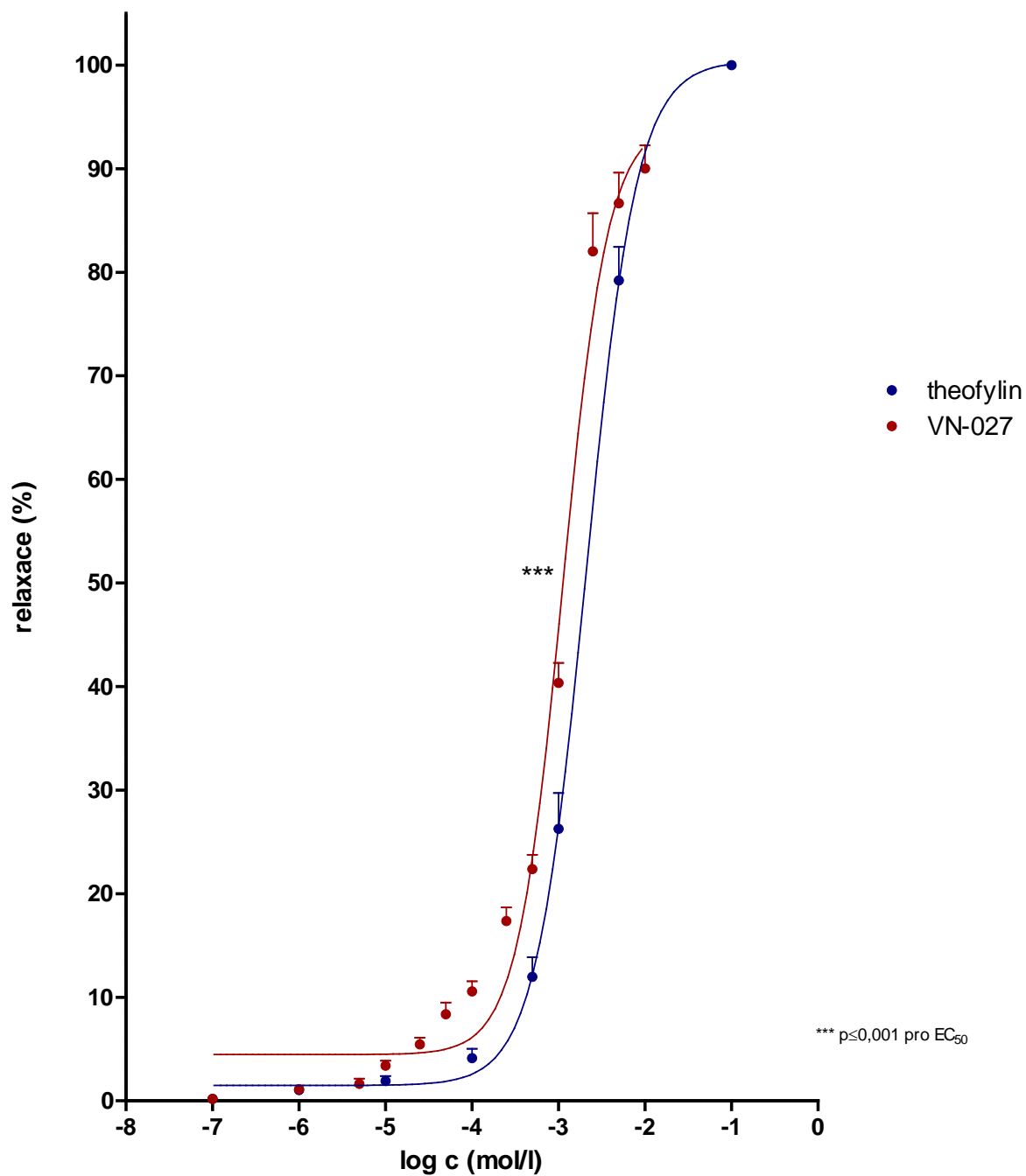
Průběh DRC křivky pro látku VN-033 odhaluje výrazně vyšší relaxační účinek na tracheu potkana. U VN-033 byla zjištěna zřetelně nižší hodnota  $EC_{50}$ , ale na rozdíl od předchozí testované látky i srovnatelný maximální efekt jako standard theofylin [Obr. 9]. Strmý sklon střední části DRC křivek u testovaných látek prokazuje výraznou odpověď respiračního systému na podání příslušných koncentrací jednotlivých látek.

Ve srovnání k theofylinu byly tedy prokázány vysoce signifikantní hodnoty  $EC_{50}$  pro látky VN-027 a VN-033. Avšak maximální relaxační účinek  $E_{max}$  na respirační systém potkana u obou těchto testovaných látek neprokázal signifikantní rozdíl oproti standardu [Tab. 9].

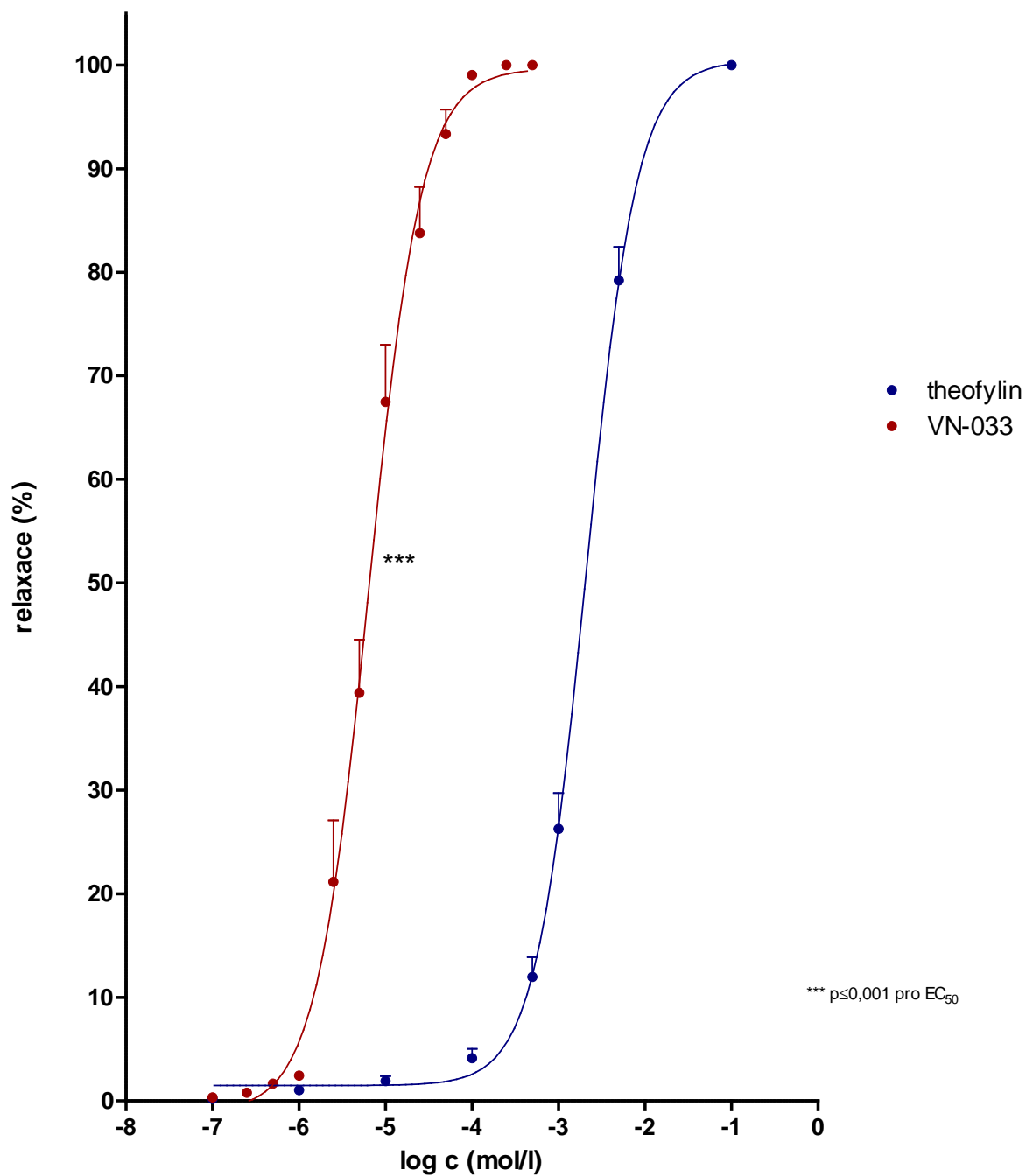
Tab. 9.: Účinky testovaných látek na respirační systém potkana

	n	EC <sub>50</sub> CI <sub>95%</sub> pro EC <sub>50</sub> (mol/l)	Významný rozdíl proti theofylinu?	E <sub>max</sub> CI <sub>95%</sub> pro E <sub>max</sub> (%)	Významný rozdíl proti theofylinu?
<b>theofylin</b>	24	2,090.10 <sup>-3</sup> 1,815.10 <sup>-3</sup> to 2,405.10 <sup>-3</sup>	-	100,4 95.64 to 105.2	-
<b>VN-027</b>	6	1,115.10 <sup>-3</sup> 9,735.10 <sup>-4</sup> to 1,277.10 <sup>-3</sup>	Ano p≤0,001	94,54 89.41 to 99.68	Ne p=0,2175
<b>VN-033</b>	7	6,404.10 <sup>-6</sup> 5,489.10 <sup>-6</sup> to 7,472.10 <sup>-6</sup>	Ano p≤0,001	99,68 95.27 to 104.1	Ne p=0,8259





Obr. 8.: *In vitro* relaxace trachey potkana kontrahované karbacholem ( $10^{-5}$  M) navozená pomocí kumulativního přidávání testované látky VN-027.



Obr. 9.: *In vitro* relaxace trachey potkana kontrahované karcholem ( $10^{-5}$  M) navozená pomocí kumulativního přidávání testované látky VN-033.

### 3.4 DISKUSE

V prezentované studii jsme prokázali relaxační účinek struktur odvozených od chinazolinových alkaloidů vasicinu a vasicinonu označených VN-027 a VN-033. Výchozím předpokladem pro náš experiment byla znalost tradičního používání rostliny *Justicia adhatoda* v ájurvédské medicíně pro její expektorační a bronchodilatační účinky [42]. Vhledem k tomu, že mechanismus účinku parentní látky vasicinonu spočívá v kompetitivním antagonismu acetylcholinu na jeho presynaptických receptorech nervových zakončení vláken nervus vagus v respiračním traktu [42], lze očekávat stejnou aktivitu i od látek odvozených.

Studie alkaloidů vasicinu a jeho metabolitu vasicinonu prokázaly bronchodilatační aktivitu *in vitro*, avšak *in vivo*, pokud byly podány izolovaně, vyvolaly bronchokonstrikci. Kombinace obou alkaloidů v poměru 1:1 však opět vykázala bronchodilatační účinek jak *in vitro*, tak *in vivo*. [50] Jiné studie poukazují na vztah výsledného působení vasicinu na hladký sval průdušnice a podané dávky, kdy nízké koncentrace vasicinu navodí relaxaci a vysoké koncentrace kontrakci. [39]

V případě derivátů odvozených od parentních alkaloidů doposud žádné *in vivo* ani *in vitro* studie nepopisují bronchokonstrikční účinek. [19, 39, 61] Rovněž ani v našich experimentálních podmínkách nebyla ani v jednom případě pozorována konstrikční odpověď na podanou koncentraci zkoušené látky. Testované deriváty VN-027 a VN-033 vedly k navození relaxace hladké svaloviny průdušnice po předchozí prekontrakci karbacholem.

Řada experimentů testujících chinazolinové deriváty ukázala na to, že účinek těchto látek je silně závislý na struktuře jejich molekul podmiňující fyzikálně chemické vlastnosti a interakci s příslušným receptorem v organismu. Ve studii sledující účinky modifikovaných struktur vasicinu a jeho derivátů byla vypořádána vyšší bronchodilatační aktivita u látek, do jejichž molekuly byl začleněn halogen, čímž byla zvýšena lipofilita výsledné struktury. [39, 61] Pokud porovnáme sílu relaxačního účinku našich dvou testovaných derivátů, zjistíme, že výraznější relaxace nastala po podání VN-033, tedy látky s vyšší lipofilitou. Na základě této skutečnosti můžeme předpokládat, že zavedením

halogenu do testovaných derivátů VN-027 i VN-033 dojdeme k ještě výraznějšímu zesílení relaxačního účinku. Otázkou ale zůstává, zda by tím nedošlo i k současnému zvýšení toxicity látky.

Rovněž je třeba uvážit, že se na celkovém terapeutickém účinku mohou podílet i jiné mechanismy potencující léčebný efekt. Výchozím příkladem nám mohou sloužit studie vasicinu, jež u tohoto alkaloidu prokázaly i silný stimulační účinek na respiraci a efekt protizánětlivý. [17, 39, 42, 50, 54] Jiné studie zabývající se účinky chemicky modifikovaných derivátů vasicinu popisují inhibici degranulace mastocytů, čímž je zabráněno uvolnění histaminu a aktivaci alergické reakce [17, 19]. Takové účinky jsou zvláště významné pro terapii astmatu. Pro zjištění, zda i předkládané testované struktury vykazují podobné vlastnosti, je nezbytné provedení *in vivo* studií.

### 3.5 ZÁVĚR

Shrneme-li výsledky naší studie, můžeme konstatovat:

- Oba testované deriváty VN-027 i VN-033 odvozené od alkaloidu vasicinu působí *in vitro* relaxaci hladké svaloviny z průdušnice potkana. Účinnost těchto derivátů je vyjádřena pomocí  $EC_{50}$  a porovnána se standardním léčivem theofylinem.
- Látka VN-033 vykazuje vyšší účinek než VN-027.
- Obě látky mají v použitém modelu statisticky významnější relaxační potenciál ve srovnání s theofylinem.

### 3.6 INFORMAČNÍ ZDROJE

1. ***Adhatoda vasica*** – Avicenna Company [online], [cit. 2012 – 07 – 19].  
Dostupné z:  
<<http://www.avicenna.cz/admin/plugins/print/print.php?itemid=1415&template=print2>>.
2. ***Aktuální kontrola astmatu a jeho exacerbací*** – Medical Tribune CZ [online], [cit. 2012 – 07 – 11]. Dostupné z <<http://www.tribune.cz/clanek/16801>>.
3. ANTOŠ, M.: ***Adhatoda vasica*** [online], [cit. 2012 – 07 – 19]. Dostupné z:  
<<http://www.biolib.cz/cz/taxon/id192878/>>.
4. AYRES, J.; ČLS J. E. PURKYNĚ: ***Informace a rady lékaře – Astma***. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2001; 96 stran. ISBN 80-247-0091-3.
5. BATEMAN, E. D. et al.: ***Global strategy for asthma management and prevention – GINA*** [online], [cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z:  
<[http://www.ginasthma.org/uploads/users/files/GINA\\_Report2011\\_May4.pdf](http://www.ginasthma.org/uploads/users/files/GINA_Report2011_May4.pdf)>.
6. BEUTHER, D.A.; WEISS, S.T.; SUTHERLAND, E.R.: ***Obesity and Asthma***. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. July 2006; 174(2): 112-119.
7. BYSTROŇ, J.: ***Možnosti imunomodulace u astmatu a alergií – ČIPA*** [online], [cit. 2012 – 08 – 06]. Dostupné z:  
<<http://www.cipa.cz/immunomodulace>>.
8. ČIHÁK, R.: ***Anatomie 2***. 2. vydání. Praha: Grada Publishing, 2002; 488 stran. ISBN 80-247-0143-X.
9. ***ČIPA*** – Česká iniciativa pro astma [online], [cit. 2012 – 07 – 17]. Dostupné z:  
<<http://www.cipa.cz/CIPA>>.

10. DHANKHAR, S.; KAUR, R.; RUHIL,S.; BALHARA, M.; DHANKHAR, S.; CHHILLAR, A.K.: **A review on *Justicia adhatoda*: A potential source of natural medicine.** *African Journal of Plant Science*, October 2012; 5 (11): p. 620-627.
11. D'YAKONOV, L. A.; TELEZHENETSKAYA, M. V.: **Quinazoline alkaloids in nature.** *Chemistry of Natural Compounds*. May 1997; 33(3): 221-267.
12. DYLEVSKÝ, I.: **Somatologie.** 2. vydání. Olomouc: Epava, 2000; 480 stran. ISBN 80-86297-05-5.
13. GARCIA CRUZ, M. L.; JIMENEZ-CHOBILLON, M. A.; TERAN, L. M.: **Rhinosinusitis and Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease.** *Journal of Allergy*. July 2012; 2012: 273752.
14. **Globální strategie péče o astma a jeho prevenci.** 1. vydání. Praha: ČIPA, Jalna, 2003; 200 stran. ISBN 80-86396-10-X.
15. GUPTA, S. S.: **Effectiveness and safety of bronchial thermoplasty in treatment of severe asthma.** *American journal of respiratory and critical care medicine*. December 2010; 182(12): 1565.
16. HERKNEROVÁ, M.: **Respirační onemocnění** [online], [cit. 2012 – 08 – 19]. Dostupné z: <<http://www.mediforum.cz/respiracni-onemocneni.html>>.
17. HORÁČKOVÁ, K.: **Adhatoda vasica** [online], [cit. 2012 – 07 – 19]. Dostupné z: <<http://www.avicenna.cz/item/adhatoda-vasica>>.
18. INOUE, K.; KOIKE, E.; YANAGISAWA, R.; TAKANO, H.: **Impact of diesel exhaust particles on th2 response in the lung in asthmatic mice.** *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. November 2008; 43(3): 199-200.

19. JOHRI, R.K.; ZUTSHI, U.: **Mechanism of action of 6,7,8,9,10,12-hexahydro-azepino[2,1-b]quinazolin-12-one-(RLX)---a novel bronchodilator.** *Indian journal of physiology and pharmacology*. January 2000; 44(1): 75-81.
20. JUEL, C.T.; ALI, Z.; NILAS, L.; ULRİK, C.S.: **Asthma and obesity: does weight loss improve asthma control? a systematic review.** *Journal of asthma and allergy*, June 2012; 5: p. 21-26.
21. KAŠÁK, V.: **Fixní kombinace beklometason dipropionát/ formoterol fumarát** – *Remedia 01/2009* [online], [ cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z: <<http://www.remedia.cz/Clanky/Aktuality/Fixni-kombinace-beklometason-dipropionat-formoterol-fumarat/6-E-yX.magarticle.aspx>>.
22. KAŠÁK, V.: **Nové inhalační systémy užívané v léčbě chronických nemocí dýchacího ústrojí s obstrukcí dýchacích cest** – *Remedia* [online], [cit. 2012 – 08 – 04]. Dostupné z: <<http://www.remedia.cz/Clanky/Lekove-formy/Nove-inhalacni-systemy-uzivane-v-lecbe-chronicky-nemoci-dychaciho-ustroji-s-obstrukci-dychacich-cest/6-H-hf.magarticle.aspx>>.
23. KAŠÁK, V.: **Novinky v léčbě astmatu** – *Zdravotnické noviny, Postgraduální medicína 06/2011* [online], [cit. 2012 – 08 – 11]. Dostupné z: <<http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/novinky-v-lecbe-astmatu-460135>>.
24. KAŠÁK, V.; KOBLÍŽEK, V. et al.: **Naléhavé stavy v pneumologii.** 1. vydání. Praha: Maxdorf, 2008; 520 stran. ISBN 978-80-7345-158-5.
25. KAŠÁK, V.; POHUNEK, P.; SEBEROVÁ, E.: **Překonejte své astma.** 2. vydání. Praha: Maxdorf, 2003; 239 stran. ISBN 80-85912-96-1.



26. KAŠÁK, V.; ŠPIČÁK, V.; POHUNEK, P.: **Asthma bronchiale, doporučené postupy pro praktické lékaře** – Česká lékařská společnost J. E. Purkyně [online], [cit. 2012 – 08 – 04]. Dostupné z: <[www.fm.vse.cz/imz/wp-content/uploads/2009/10/t244.doc](http://www.fm.vse.cz/imz/wp-content/uploads/2009/10/t244.doc)>.
27. **Ketotifen** – *Farmaceutika-info* [online], [cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z: <<http://www.farmaceutika.info/ketotifen-al>>.
28. KOLEK, V.; KAŠÁK, V. et al.: **Pneumologie – vybrané kapitoly pro praxi**. 1. vydání. Praha: Maxdorf, 2010, 424 stran. ISBN 978-80-7345-220-9.
29. KOSTIUK, P.: **Omalizumab v léčbě perzistujícího astmatu: studie prokázala účinnost i u dětí** – *Edukafarm* [online], [cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z: <<http://www.edukafarm.cz/soubory/farminews-2009/3/omalizumab.pdf>>.
30. KRČMOVÁ, I.: **Omalizumab** – *Remedia, Lékové profily 01/2008* [online], [cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z: <<http://www.remédia.cz/Clanky/Lekove-profily/Omalizumab/6-l-j5.magarticle.aspx>>.
31. KRČMOVÁ, I.: **Postavení SAIT v léčbě bronchiálního astmatu** – *ČIPA* [online], [cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z: <[http://www.cipa.cz/specificka\\_imunoterapie](http://www.cipa.cz/specificka_imunoterapie)>.
32. LI, X.; WARD, C; THIEN, F.; BISH, R.; BAMFORD, T., BAO, X.; BAILEY, M.; WILSON, J. W.; HAYDN WALTERS, E.: **An antiinflammatory effect of salmeterol, a long-acting beta(2) agonist, assessed in airway biopsies and bronchoalveolar lavage in asthma**. *American journal of respiratory and critical care medicine*. November 1999; 160(5Pt1):1493-9.
33. LOWE, P. J.; RENARD, D.: **Omalizumab decreases IgE production in patients with allergic (IgE-mediated) asthma; PKPD analysis of a biomarker, total IgE**. *British journal of clinical pharmacology*. August 2011; 72(2): 306-20.

34. ***Lung Diseases and Conditions*** – National Heart Lung and Blood Institute [online], [cit. 2012 – 08 – 19]. Dostupné z: <<http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/hlw/condition.html>>.
35. MALÍNSKÝ, J.; LICHNOVSKÝ, V.; MICHALÍKOVÁ, Z.: ***Přehled histologie člověka v obrazech – II. díl.*** 1. vydání. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2004; 190 stran. ISBN 80-244-0850-3.
36. MAZÁKOVÁ, H.: ***Vedlejší účinky inhalačních kortikosteroidů*** – *Zdravotnické noviny, Lékařské listy 4/2006* [online], [cit. 2012 – 08 – 04]. Dostupné z: <<http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/vedlejsi-ucinky-inhalacnich-kortikosteroidu-171095>>.
37. MICHAEL, J.P.: ***Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids.*** *Natural Product Reports*. February 2007; 24(1): 223-246.
38. NELSON, J. A.; STRAUSS, L.; SKOWRONSKI, M.; CIUFO, R.; NOVAK, R.; McFADDEN, E. R. Jr.: ***Effect of long-term salmeterol treatment on exercise-induced asthma.*** *The New England journal of medicine*. July 1998; 339(3): 141-6.
39. NEPALI, K.; SHARMA, S.; OJHA, R.; DHAR, K.L.: ***Vasicine and structurally related quinazolines.*** *Medicinal chemistry research*. January 2013; 22: 1-15.
40. ***Nová metoda léčby astmatu*** – *Zdravotnické noviny, Sestra 03/2012* [online], [cit. 2012 – 08 – 04]. Dostupné z: <<http://zdravi.e15.cz/clanek/sestra/nova-metoda-lecby-astmatu-463844>>.
41. ***OXANTIL, souhrn údajů o přípravku*** – SÚKL [online], [cit. 2012 – 08 – 04]. Dostupné z: <[www.sukl.cz/download/spc/SPC98376.doc](http://www.sukl.cz/download/spc/SPC98376.doc)>.

42. PATOČKA, J.: **Vasicin, alkaloid *Adhatoda vasica*** [online], [cit. 2012 – 07 – 19]. Dostupné z: <<http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=369>>.
43. PAUK, N.; ZATLOUKAL, P.: **Současná farmakoterapie asthma bronchiale u dospělých – Remedia 3/2002** [online], [cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z: < <http://www.remédia.cz/Clanky/Farmakoterapie/Soucasna-farmakoterapie-asthma-bronchiale-u-dospelych/6-L-fF.magarticle.aspx>>.
44. PEREIRE-VEGA, A.; SÁNCHEZ, J. L.; GIL, F. L.; MALDONADO, J. A.; BRAVO, J. M.; IGNACIO, J. M.; VÁZQUEZ, R.; ÁLVAREZ, F.; ROMERO, P.; SÁNCHEZ, I.: **Premenstrual asthma and symptoms related to premenstrual syndrome. The Journal of Asthma.** October 2010; 47(8): 835-40.
45. **Perspektivy biologické léčby astmatu – Biologická léčba** [online], [cit. 2012 – 08 – 11]. Dostupné z: < [http://www.cilena-lecba.cz/novinky-pro-odborniky/perspektivy-biologicke-lecby-astmatu-265?confirm\\_rules=1](http://www.cilena-lecba.cz/novinky-pro-odborniky/perspektivy-biologicke-lecby-astmatu-265?confirm_rules=1)>.
46. PETRŮ, V.: **Moderní diagnostika a léčba bronchiálního astmatu u dětí – Pediatrie pro praxi 4/2006** [online], [cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z: < [http://www.solen.sk/index.php?page=pdf\\_view&pdf\\_id=350&magazine\\_id=4](http://www.solen.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=350&magazine_id=4)>.
47. **Pocket guide for asthma management and prevention (for adults and children older than 5 years) – GINA** [online], [cit. 2012 – 07 – 18]. Dostupné z: <<http://www.ginasthma.org/guidelines-pocket-guide-for-asthma-management.html>>.
48. **Respiratory disease – Encyklopedia Britannica** [online], [cit. 2012 – 08- 12]. Dostupné z: <<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/499555/respiratory-disease>>.
49. SALAJKA, F.; KONŠTACKÝ, S.; KAŠÁK, V.; DINDOŠ, J.: **Asthma bronchiale – doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře 2005.** 1. vydání. Praha: 2005; 10 stran. ISBN 80-903573-9-3.

50. SAYED, A.; MADHUKAR, G.; MAKSOOD, A.; MHAVEER, S., MD TANWIR, A.; SAHID, H.A.: ***A phyto-pharmacological overview on Adhatoda zeylanica Medic. syn. A. vasica (Linn.) Nees. Natural product radiance.*** September 2009; 8(5) : 549-54.
51. SEDLÁK, V. et al.: ***Doporučený postup diagnostiky a léčby obtížně léčitelného bronchiálního astmatu – Národní centrum pro těžké astma*** [online], [cit. 2012 – 07 – 30]. Dostupné z: <<http://www.tezke-astma.cz/index.php?pg=ke-stazeni>>.
52. SCHMIDTOVÁ B. ***Hodnocení účinku bronchoprotektivních látek.*** Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 2009: 70 stran.
53. SILVA, C. I. S.; COLBY, T. V.; MÜLLER, N. L.: ***Asthma and Associated Conditions: High-Resolution CT and Pathologic Findings.*** American journal of roentgenology. September 2004; 183(3): 817-24.
54. SRINIVASA, R. D.; JAYARAAJ, I. A.; JAYARAAJ, R.: ***Antiasthmatic role of „Pentapala-04“ a herbal formulation against ova albumin and aluminium hydroxide induced lung damage in rats.*** Ancient science of life. January 2005; 24(3): 134-42.
55. STRÍŽ, I.: ***Novinky v léčbě astmatu – perspektivy biologické léčby – Zdravotnické noviny, Lékařské listy 02/2011*** [online], [cit. 2012 – 08 – 11]. Dostupné z: <<http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/novinky-v-lecbe-astmatu-perspektivy-biologicke-lecby-458492>>.
56. ***Syrian Rue – Erowid*** [online], [cit. 2012 – 07 – 28]. Dostupné z: <[http://www.erowid.org/plants/syrian\\_rue/syrian\\_rue.shtml](http://www.erowid.org/plants/syrian_rue/syrian_rue.shtml)>.
57. TEŘL, M.; RYBNÍČEK, O.: ***Asthma bronchiale v příčinách a klinických obrazech.*** 2. vydání. Praha: Geum, 2008; 312 stran. ISBN 978-80-86256-59-7.

58. VÁVROVÁ, H.: **Antihistaminika v léčbě alergických onemocnění – Remedia, Lékařské listy 34/2001** [online], [cit. 2012 – 08 – 05]. Dostupné z: <<http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/antihistaminika-v-lecbe-aler-gickych-onemocneni-138308>>.

59. VENKATESALU, V.; GOPALAN, N.; PILLAI, C.R.; CHANDRASEKARAN, M.; SENTHILKUMAR, A.; CHANDRAMOULI, N.: **In vitro anti-plasmodial activity of some traditionally used medicinal plants against Plasmodium falciparum. Parasitology research**, Januar 2012; [Epub ahead of print].

60. WALTERS, E. H.; REID, D. W.; JOHNS, D. F.; WARD, C.: **Nonpharmacological and pharmacological interventions to prevent or reduce airway remodelling. The European respiratory journal**. September 2007; 30(3): 574-588.

61. ZABEER, A.; BHAGAT, A.; GUPTA, O.P.; SINGH, G.D.; YOUSOUF, M.S.; DHAR, K.L.; SURI, O.P.; SURI, K.A.; SATTI N.K.; GUPTA, B.D., QAZI, G.N.: **Synthesis and bronchodilator activity of new quinazolin derivate. European journal of medicinal chemistry**. March 2006; 41(3): 429-34.

62. **10 přírodních látek užívaných při magických rituálech – 21. století** [online], [cit. 2012 – 08 – 26]. Dostupné z: <<http://21stoleti.cz/blog/2010/12/22/10-prirodnich-latek-uzivanych-pri-magickych-ritualech/>>.