

Protivirová obrana lidského organismu po prodělané infekci nebo vakcinaci může mít velmi dlouhé trvání, u mnoha virových patogenů i celoživotní. V r. 2005 byl vědci z Mount Sinai a Patologického armádního ústavu ve Washingtonu, D.C., rekonstruován virus španělské chřipky 1918 izolací RNA z plic lidí zemřelých při této pandemii, které zůstaly zachovány v permafrostu na Aljašce. Tento rekonstruovaný virus, známý schopností vyvolat také cytokinovou bouři, byl použit k detekci specifických protilátek namířených proti němu. V r. 2008 byly takové protilátky izolovány pracovníky Dětské nemocnice ve Vanderbiltu (USA) z krve lidí přeživších dávnou pandemií a starých až 101 let. To znamená, že imunologická paměť proti viru z r. 1918 byla v jejich těle uchována po celých 90 let.

Očkování – bezpečný trénink imunity
Stejně jako protilátková paměť je dlouhodobá i paměť buněčné imunity – tedy T lymfocytů specifických pro dané virové peptidy. Na tom je založena např. celoživotní ochrana po proděláním spalniček. Peptidy jsou pro T lymfocyty připraveny buňkami předkládajícími antigeny – nejúčinnější z nich jsou buňky dendritické. Tyto všudypřítomné strážní buňky imunity zprostředkují rozpoznání antigenu už na sliznicích, v kůži, na povrchu dýchací

i trávicí soustavy. Ve stáří dochází k poklesu počtu dendritických buněk a jejich nesprávné diferenciaci. Je méně plazmocytoidních dendritických buněk, které díky tvorbě interferonů první třídy hrají významnou roli v obraně proti virům, a naopak více myeloidních dendritických buněk, tvořících řadu prozánětlivých cytokinů. Dochází také k ochabování dalších funkcí, jako je předkládání antigenu T lymfocytům.

Pokles zaznamenává i důležitá populace regulačních T lymfocytů, které dokážou ovlivňovat funkce prozánětlivých Th1 lymfocytů, a proto je prostředí senescentního organismu ve stavu vychýlení směrem k chronickému zánětu. Deregulace populací buněk imunity vedou také k výskytu četnějších autoimunitních onemocnění a tvorbě nízkovazebných autoprotilátek reagujících s antigeny buněk se změněnými mitochondriemi či dalšími organelami, tedy buňkami poškozenými stářím.

Vzhledem k ochabování četných specifických funkcí imunity je nezbytné trénovat imunitní systém včas, dokud je schopen plně reagovat. Toho se dá docílit jedině očkováním, protože nemůžeme počítat s tím, že se všemi potenciálními patogeny se setkáme ve svém mládí. Virová agens, zejména RNA viry, rychle mutují, ale přesto T lymfocyty a protilátky, které se setkaly

s původním agens, mohou zkříženě zareagovat proti novým mutacím. Na tom je založeno očkování proti chřipce. Viry nemutují najednou ve všech svých proteinech, a proto mohou některé jejich peptidy vyvolat v paměťových T buňkách rychlejší výbavnou odpověď a protilátky mohou zachytit jiné části proteinu.

Je výhodné trénovat imunitu v době jejího vrcholu (zhruba ve stáří 25 let), než dojde k jejímu zahlcení a ochabnutí v pozdním věku. Vakcinace seniorů má zase ten význam, že je u nich mnohem bezpečnější nabudít imunitní odpověď obrazem infekce, než vystavovat léty zatížený organismus nebezpečné infekci přímo. Promoování celé populace přirozenou infekcí je v případě pandemie zcestné a vede ke katastrofálním ztrátám na životech.

Život člověka se prodloužil, ale prodloužil se jen průměrný věk, nikoli život lidského druhu. Zdraví lidé ojedinele dosahovali věku 90 let i dříve. Jinak bychom neznali mýty o dlouhověkých, jako byli bibličtí Metuzalém, Abrahám nebo Mojžíš. Naše imunita je však jednou z podmínek *sine qua non*, které nám umožní dlouhého věku dosáhnout.

Použitá literatura uvedena na webu Živy. K dalšímu čtení např. Živa 2013, 3: 98–100; 2015, 3: 106–107.

Alena Nováková, František Novák

Penicilin – zázračný lék

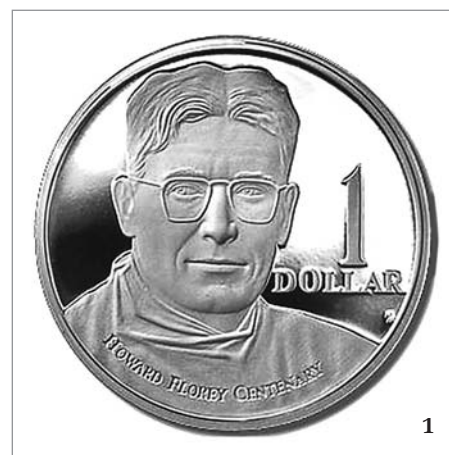
V r. 2018 uplynulo 90 let od objevení antibiotických vlastností mikroskopické houby rodu *Penicillium*, které posléze pokračovalo i objevem prvního antibiotika použitého v lékařské praxi – penicilinu. Jde o všeobecně známý lék a téměř každý člověk si vybaví bílé pilulky, ale možná i rod *Penicillium* a jméno Alexandra Fleminga (kterého připomíná také článek na str. 98–102 této Živy). Z chemického hlediska je penicilin bicyklická organická kyselina, mírně rozpustná ve vodě, s lepší rozpustností v alkoholu, éteru, chloroformu a dalších organických rozpouštědlech. Patří mezi betalaktamová antibiotika s baktericidními účinky hlavně proti grampozitivním bakteriím (streptokoky, stafylokoky, listerie, bacily, klostridia a aktinobakterie), ale i proti některým gramnegativním bakteriím (neisserie, borelie, treponemy a leptospiry). Betalaktamová antibiotika včetně penicilinu obecně brzdí syntézu bakteriálních buněčných stěn.

Objev penicilinu a jeho využití při léčbě onemocnění člověka patří mezi jeden z nejvýznamnějších objevů 20. století. Léky založené na této přírodní látce snížily nejen počet infekcí a amputací mezi zraněnými americkými a britskými vojáky během druhé světové války, ale od konce války do současnosti vyléčily obrovské množství bakteriálních nemocí. Po r. 1945 se penicilin rozšířil do celého světa a začala nová éra medicíny. Stal se nepostradatelným díky obecně rychlému působení. Některé druhy bakterií si však za dlouhou dobu

jeho používání v léčbě dokázaly vytvořit rezistenci a tato rezistence bakterií k penicilinu i dalším antibiotikům se stala novodobým problémem.

Historické ohlédnutí

Antibiotické vlastnosti mikroskopické houby rodu *Penicillium* byly objeveny v r. 1928 zcela náhodně. Skotský lékař a mikrobiolog Alexander Fleming (1881–1955), působící v inokulačním oddělení londýnské nemocnice St. Mary, se zabýval výzkumem stafylokoků. Po návratu z dovolené v srpnu



1



2

1928 objevil ve své laboratoři několik „zapomenutých“ Petriho misek s kulturami stafylokoků, na nichž se objevila kontaminace ve formě kolonií modrozelené mikroskopické houby, plísně. V jejich okolí byl růst stafylokoků výrazně inhibován.



1 a 2 Portrét Howarda W. Floreyho (líc) a královny Alžběty II. (rub) na minci vydané v Austrálii v r. 1998

3 Dorothy M. Hodgkinová. Ze série miniaršíků s vyobrazením laureátek Nobelovy ceny za mír, fyziologii a lékařství, chemii a fyziku. Mali 2009

4 Alexander Fleming v laboratoři s očkovací kličkou v ruce a Petriho miskou s kolonií penicilia. Mosambik 2019

A. Fleming houbu izoloval do čisté kultury a v sérii kultivačních pokusů prokázal, že dokáže potlačovat růst bakterií. Jeho kultura byla nejprve nesprávně identifikována jako *Penicillium rubrum* Charlesem J. La Touchem, mykologem z těžce nemocnice. Později byla přeurčena na základě makro- a mikromorfologických znaků americkým mykologem Charlesem Thomem jako *P. notatum*. Fleming pojmenoval látku produkovanou tímto izolátem penicilin a zahájil první testy její toxicity. Se spolupracovníky Stuartem Craddockem a Frederickem Ridleyem se pokusili penicilin extrahovat. Extrakce však úspěšná nebyla a po několika měsících pokusy ukončili. V květnu 1929 Fleming publikoval článek O baktericidním působení kultur *Penicillium* speciálně ve vztahu k jejich užití při izolování *Bacterium influenzae*, ve kterém informoval o svých výsledcích, možném využití penicilinu v mikrobiologické praxi a v závěru pouze nesměle naznačil možné budoucí terapeutické využití.

O vyčištění penicilinu se počátkem 30. let pokusil britský biochemik Harold Raistrick se svou pracovní skupinou. Zjistili, že je penicilin stabilnější v kyselém prostředí, dá se z bujony (tekutého živného média) získat pomocí alkoholu a je rozpustný v okyseleném éteru. Na způsob, jak penicilin z tohoto rozpouštědla vyextrahovat, aniž by ho zničili, nepřišli, a proto i oni práci ukončili. Ačkoliv Flemingův článek,

ani další práce uveřejněné A. Flemingem a H. Raistrickem v r. 1932 příliš zájmu ve vědeckém světě nezískaly, jde o jeden z nejdůležitějších článků pro medicínský výzkum 20. století.

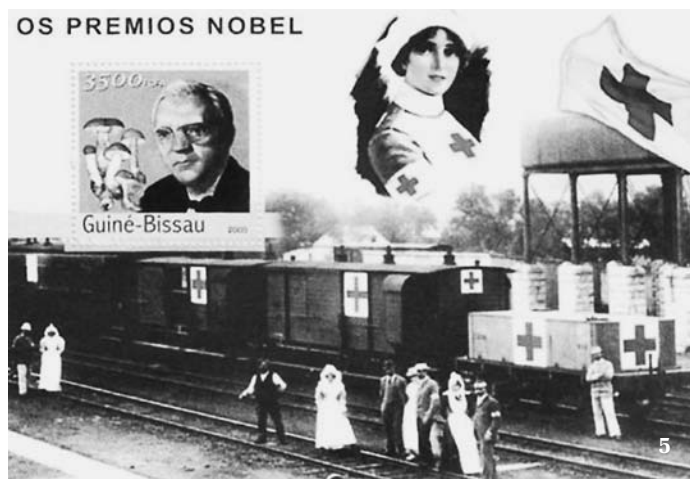
Dalším významným krokem bylo studium Flemingova izolátu s cílem využít jeho antibakteriálních vlastností v léčbě bakteriálních nemocí, do kterého se koncem 30. let 20. století pustili britský patolog a farmakolog australského původu Howard Walter Florey (1898–1968), vedoucí Dunnova institutu v Oxfordu, spolu s britským biochemikem Ernestem Chainem (židovským emigrantem rusko-německého původu, 1906–1979) a anglickým biologem a biochemikem Normanem Heatleyem (1911–2004). Na počátku stálo objevení Flemingova článku z r. 1932 Chainem. K rozhodnutí věnovat se antibakteriálním vlastnostem penicilinu bylo třeba sehnat finance, což na samém prahu druhé světové války nebylo vůbec snadné, v této chvíli i po celé další roky výzkumu vše záviselo na H. W. Floreyem. Ten neúnavně sháněl peníze na vybavení a provoz laboratoře, nezbytné chemikálie a platy svých spolupracovníků. Společně objevili a propracovali postup izolace a získání čistého preparátu penicilinu (do té doby byl používán masový bujon, v němž bylo *Penicillium* pěstováno). Následovaly roky práce zahrnující velkoobjemové kultivační pokusy, extrakci penicilinu a testování jeho vlastností s cílem využít tuto látku při léčbě bakteriálních chorob. N. Heatley, nejméně známý člen výzkumného týmu, byl tehdy skutečně nepostradatelný a díky schopnostem improvizovat přispěl k vyřešení mnoha zdánlivě neřešitelných technických problémů během extrakce penicilinu. Nelehkým úkolem bylo i odhalení chemické podstaty. E. B. Chain a anglický biochemik Edward Abraham (1913–1999) navrhli strukturu penicilinu, kterou později po-

tvrdila pomocí rentgenové krystalografie Dorothy Mary (Crowfootová) Hodgkinová (1910–1994). H. W. Florey pak v r. 1941 poprvé použil penicilin v lékařské praxi. Předchozí výzkumy na zvířatech a vzorcích lidské tkáně, které prováděli s Chainem, ukázaly, že potlačuje infekci myši nakažených streptokoků a není pro ně toxický. Jako první byl aplikován smrtelně nemocné pacientce s rakovinou prsu 17. ledna 1941. Pacientčin stav se po dávce 100 mg nezhorsil, a tím byla doložena neškodnost penicilinu na lidský organismus. Stále však neexistoval důkaz, že tato látka je schopna také léčit. Proto byl o necelý měsíc později, 12. února 1941, proveden první pokus vyléčit člověka s rozsáhlou bakteriální infekcí. Penicilin byl podáván 43letému konstáblu, který se poranil při práci na zahradě a stafylokoková a streptokoková infekce ho řadila do kategorie „beznadějný případ“. Přes počáteční zlepšení stavu nakonec zemřel vzhledem k nedostatečnému množství potřebného preparátu, léčebný účinek penicilinu však byl prokázán.

Ocenění badatelů

A. Fleming, H. W. Florey a E. B. Chain získali za své objevy Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství v r. 1945. Fleming je dodnes uváděn jako objevitel penicilinu a na ostatní badatele se pozapomnělo, přestože právě jejich práce byla pro zavedení penicilinu do medicíny mnohem významnější. Výstižně situaci vyjádřil profesor patologie v Oxfordu sir Henry Harris: „Bez Fleminga by nebyl Chain ani Florey, bez Chaina by nebyl Florey, bez Floreyho Heatley a bez Heatleyho by nebyl penicilin.“ Nobelova cena může být bohužel udělena v jedné kategorii nejvýše třem osobnostem, a tak jméno Norman Heatley dnes většině lidí nic neříká.

Fleming a Florey byli vedle poštovních známek dokonce vyobrazeni na bankovkách



a mincích. V r. 1995 byla na ostrově Man vydána mince o hodnotě 1 koruny s portrétem Fleminga, Petriho miskou s koloniemi bakterií a peniciliem, mikroskopem a ošetřováním pacienta na lůžku (na rubu je portrét královny Alžběty II.). Rychtářství ostrova Guernsey (součást Velké Británie) vydalo v r. 2007 librovou minci s vyobrazením Fleminga a opět královny Alžběty II. na rubu mince. V r. 2009 vydala skotská banka pětilibrovou bankovku s Flemingem (na zadní straně St. Kilda). Portrét Floreyho nesla australská mince z r. 1998, na rubu královna Alžběta II. (viz obr. 1 a 2), stejně jako emise bankovky z r. 1973 v hodnotě 50 australských dolarů (platná do r. 1994), na které jsou spolu s Floreyem i kolonie penicilia, Petriho mísky s inhibicí růstu bakterií v okolí kolonie a tabletky penicilinu (na rubu bankovky australský vědec v oboru veterinárního lékařství sir Ian Clunies Ross).

Byl Alexander Fleming skutečně první?

Antibiotické vlastnosti mikroskopických hub ale byly zdokumentovány mnohem dříve – francouzský lékař Ernest Duchesne (1874–1912), absolvent školy pro vojenské lékaře v Lyonu, si během vojenské služby v Alžírsku povšiml, že domorodci léčí drobná poranění koní a oslů tím, že vtírají do ran plíseň setřenou ze zapařených sedel. Provedl s touto plísní (v tomto případě šlo o *P. glaucum*) sérii pokusů na morčatech a zjistil, že houba účinně likviduje bakterii *Escherichia coli*. Výsledky výzkumu uvedl v r. 1897 ve své disertační práci *Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes: antagonisme entre les moisissures et les microbes*. Bohužel je dále nepublikoval vzhledem k časově náročné službě u armády, a ani ve svém bádání nemohl pokračovat. Pasteurův ústav se výsledky práce „mladého felčara“ odmítl zabývat a tento zásadní objev byl na dlouhé roky zapomenut.

Ve 20. letech 20. století belgičtí badatelé André Gratia (1893–1950) a Sara Dathová při sbírání a zkoumání mikroskopických hub pozorovali antibiotické působení zástupců rodu *Penicillium* na Petriho misce s koloniemi stafylokoka. Houbu neizolovali, pouze její existenci a účinek zaznamenali a popsali v článku uveřejněném v časopise *Comptes rendus de la Société de biologie* v r. 1924. V následujícím roce pozorovali lyzi bakterií anthraxu přítomnými koloniemi *P. glaucum* a Gratia objevil

5 Miniaršík věnovaný Červenému kříži. Portrét Fleminga s plodnicemi hřibovitých hub. Republika Guinea-Bissau 2003

6 Tři osobnosti spojené s objevem penicilinu výjimečně zobrazeny společně na jedné známce. Niger 2018

dalšího zástupce z rodu *Penicillium*, kterého použil k ošetření furunklu.

Ale E. Duchesne a A. Gratia se S. Dathovou nebyli jediní, kteří se účinkem plísní zabývali. Stačilo málo a objev penicilinu mohl být spojován se jménem českého vědce. Prof. František Ševčík (1886–1930) byl přední osobností československé veterinární medicíny, zakladatelem a prvním přednostou Ústavu pro bakteriologii, hygieny a nauku o zvířecích nákazách na Vysoké škole zvěrolékařské v Brně. V druhé polovině 20. let se zabýval experimenty, které ukázaly existenci tehdy neznámých antibakteriálních agens v kulturách hub *P. notatum* a *P. glaucum*, jimž se věnoval s přislovecnou důkladností a erudicí. Bohužel množství pracovních povinností, ale i zhoršující se zdraví mu nedovolilo práci na tomto poli vést dokončit. Přesto výsledky jeho pokusů i vzpomínky spolupracovníků ukazují, že byl skutečně velice blízko objevu antibiotik.

Zázračný lék

Přes počáteční neúspěch Floreyho v léčbě prvního pacienta, víceméně zaviněný nedostatečným množstvím potřebného léku, bylo zřejmé, že penicilin představuje nebyvalé účinnou zbraň v boji proti škodlivým mikroorganismům. Bylo ale třeba překonat dvě hlavní překážky – používané kmeny penicilií neprodukovaly dostatek této aktivní látky a lék byl nesmírně drahý. Při hledání receptu na účinnou a masovou výrobu penicilinu se nakonec britští vědci spojili s Američany. Florey a Heatley vycestovali do USA, kde jim bylo na jednom z pracovišť amerického ministerstva zemědělství v Peorii ve státě Illinois nabídnuto klidné zázemí (Heatley pracoval v USA téměř celý rok) i dostatek finančních prostředků, ale hlavně velkokapacitní zařízení na kultivaci penicilií na kukuřičném sirupu, který byl odpadním produktem při výrobě škrobu. Díky výzkumu dotovanému americkou vládou se tak mohl tento „superlék“ na podzim 1943 začít vyrábět ve velkém a za minimální náklady. Rok nato už pomáhal např. spojeneckým vojákům ve válce a Florey měl také možnost lék vyzkoušet

v bojových liniích. Zlom při výrobě nastal po objevu izolátu *P. notatum* s výjimečnými produkčními vlastnostmi. Tento izolát byl získán ze zplsnivělého ananasového melounu z trhu v Peorii díky „Plesnivě Mary“, jak se říkalo Mary Huntové, asistentce mykologa z výzkumné laboratoře Kennetha B. Rapera, která byla pověřena sběrem plesnivého ovoce a zeleniny právě pro hledání nových izolátů.

Výzkum antibiotik ale neprobíhal za války jen ve Velké Británii nebo USA. Už za protektorátu se vývojem léku zabývala farmaceutická firma Benjamin Fragner v Dolních Měcholupech. Skupině českých vědců se podařilo ve válečných podmínkách izolovat v r. 1944 pod označením Mykoin BF 510 první český penicilin. Izolace se podařila pomocí adsorpční chromatografie významnému českému biochemikovi Josefu Václavu Košťířovi (1907–2000). Lék ještě na sklonku války zachránil několik lidských životů. Regulární výroba pak začala v Československu v r. 1949 v Roztokách u Prahy. Strastiplné začátky v malé továrně během německé okupace a použití penicilinu v léčbě pacientů ukazuje film Mykoin PH 510 (někdy uváděný pod názvem Penicilin) režiséra Jiřího Lehovce z r. 1963.

Penicillium, ale které?

V poslední době došlo díky kombinaci metodických přístupů k převratným změnám v taxonomii mikroskopických hub a revizi se nevyhnul ani původní izolát penicilia A. Fleminga. Výsledkem je zjištění, že nepatří podle La Touche do druhu *P. rubrum*, ani *P. notatum* po přeurečení Ch. Tomem, ale do druhu *P. rubens* (Houbraken a kol. 2011). Zde je nezbytné připomenout, že ačkoli je *P. notatum* nejznámější a široce používané jméno, již v r. 1977 byla publikována práce Roberta A. Samsona a kolektivu, ve které byl druh *P. notatum* označen jako synonymum *P. chrysogenum*. Pod tímto jménem pak byl izolát znám ve vědecké komunitě až do r. 2011. Ve zmíněné práci z r. 2011 byly ve fylogenetické analýze na základě sekvencí dvou genů (betatubulin a calmodulin) rozlišeny dvě linie – *P. chrysogenum* a *P. rubens*. Nové jméno – *Penicillium rubens* – je tedy známo spíše mezi mykology, pro veřejnost zůstává *P. notatum*, případně *P. chrysogenum*. Ale na jménu až tak nezáleží, důležité je, co tato houba lidstvu přinesla.

Použitá literatura uvedena na webu Živý.