

VOJENSKÉ ZDRAVOTNICKÉ LISTY

ROČNÍK LXXVII

DUBEN 2008

ČÍSLO 2

MOŽNOSTI VČASNÉ DETEKCE NEFROTOXICITY PŘI LÉČBĚ CYKLOFOSFAMIDEM

¹Miroslav BRNDIAR, ²Stanislav FILIP, ¹Jaroslav KAČEROVSKÝ, ³Jiří STULÍK, ¹Ladislav JEBAVÝ,
Jan M. HORÁČEK, ³Tomáš VAŠÁTKO

¹Univerzita obrany, katedra válečného vnitřního lékařství Fakulty vojenského zdravotnictví, Hradec Králové

²Klinika onkologie a radioterapie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty UK v Hradci Králové

³II. interní klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty UK v Hradci Králové

Souhrn

V naší práci provádíme srovnání detekce nefropatie způsobené nefrotoxickým vlivem cyklofosfamidu pomocí mikroalbuminurie (Ma) a vyšetření spektra bílkovin v moči dvojrozměrnou gelovou vysokorozlišovací elektroforézou (DGVE).

Mikroalbuminurie byla vyšetřována u 11 nemocných (5 žen a 6 mužů) se základní hematoonkologickou chorobou (akutní leukémie a mnohočetný myelom) indikovanou k cytostatické léčbě. Pět nemocných bylo léčeno pro akutní leukémii (2 muži a 3 ženy) a 6 nemocných s mnohočetným myelomem (4 muži a 2 ženy). Nemocným byl aplikován cyklofosfamid v tříhodinové infuzi v průměrné dávce 3200 mg.m⁻². U všech byla současně vyšetřena moč metodou DGVE ve dnech, kdy byla vyšetřena i Ma. U pacientů zařazených do sestavy neprokázalo předchozí vyšetření přítomnost ledvinného poškození. U všech nemocných byla vhodnou hydratací během podávání cytostatika zabezpečena diuréza nejméně 3 l/24 h, u většiny byla však daleko vyšší. Ma byla vyšetřena před podáním cytostatik, první den po skončení léčebné kúry a za deset dnů po skončení cytostatické léčby. Při podrobné analýze se objevují pestré a polymorfní změny. Jsou individuální, tj. u každého nemocného rozdílné. Jejich analýzu a interpretaci při současném stupni znalostí a zkušeností s touto metodikou zatím určit nelze. Proto byly jako příklad demonstrovány mapy vylučovaných proteinů jen u jedné nemocné s mnohočetným myelomem, a to před podáním cytostatické léčby, první den po skončení léčby a desátý den po léčbě.

Z demonstrovaných nálezů, a tak tomu bylo u všech provedených analýz, jsou patrné výrazné posuny v individuálním spektru vylučovaných proteinů. Ledvina tedy určitým způsobem na tento druh léčby reaguje, cytostatika a polyurie ovlivňují charakter proteinurie.

Klíčová slova: Nefrotoxicita; Cyklofosfamid; Mikroalbuminurie.

Methods of Timely Nephrotoxicity Detection in Treatment with Cyclophosphamide

Summary

In this paper we compare two methods for detection of nephropathy – determination of microalbuminuria (Ma) and examination of human protein spectrum in urine with two-dimensional gel high-resolution electrophoresis (TGHE) caused by nephrotoxic effect of cyclophosphamide.

Microalbuminuria was examined in 11 patients (6 men and 5 women) with basic hematooncologic disease (acute leukemia and multiple myeloma) indicated to cytostatic treatment. Five patients were treated for acute

leukemia (2 men and 3 women) and 6 patients for multiple myeloma (4 men and 2 women). All patients were given cyclophosphamide in a 3-hour infusion at a mean dose of 3200 mg.m^{-2} . Simultaneously with Ma, urine of all patients was examined with TGHE. In our group of patients, prior examination did not show any presence of kidney affection. In all patients, diuresis (at least 3 l/24 h) was secured by suitable hydration during application of cytostatics, however, in most of them it was much higher. Ma was examined before cytostatic application and day 1 and 10 after its end. An analysis revealed diversified and polymorphic changes. They were individual, i.e. different in each patient. However, at the present state of knowledge and insufficient experience with the method, their analysis and interpretation cannot yet be done. Therefore, just as an example, reference maps of excreted proteins only in 1 female patient with multiple myeloma were made up: prior to cytostatic therapy and 1 and 10 days after its completion.

We found out that kidney function was changed in a certain way, and the use of the cytostatic drug and subsequent polyuria influenced the character of proteinuria.

Key words: Nephrotoxicity; Cyclophosphamide; Microalbuminuria.

Úvod

Při použití vysokodávkované chemoterapie dochází k zvýšení toxických projevů. Mimo toxicity hematologické je také důležitá nefrotoxicita. Nefrotoxické poškození ledvin cytostatickou léčbou patří do rozsáhlé skupiny ledvinových onemocnění, mezi tzv. toxické nefropatie. Toxická nefropatie je definována jako jakékoli funkční či morfologické poškození ledvin způsobené exogenním přívodem léků, chemických substancí, látek biologické či jiné povahy (2, 4, 8). Může být vyvolána i endogenně, a to narušením metabolických procesů, pokud dojde k abnormální koncentraci celé řady metabolitů a substancí i tělu vlastních, např. hypokalemická nefropatie, hyperurikemická nefropatie ap. (10, 29, 30).

Nefrotoxické poškození ledvin je problematikou vždy klinicky závažnou, protože může vést k renální insuficienci. Patogenetická podstata této léze vyplývá ze základní exkreční funkce ledvin, tj. ze schopnosti tvořit moč, v níž se vylučují z organismu všechny nežádoucí látky a metabolity ve vodě rozpustné (14, 19, 23, 32, 33). Vylučovací funkce ledvin je podmíněná celou řadou fyziologických vlastností a předpokladů, které se uplatňují i při toxickém poškození tohoto orgánu – např. ledvina má kromě plic největší průtok krve přepočteno na hmotnost tkáně, má schopnost koncentrovat látky až 50krát více než jiné orgány (12).

Vlastní problematika renálního toxického poškození cytostatickou léčbou má některá specifika. Například jde o typické a současně i předpokládané iatrogenní poškození životně důležitého orgánu, klinická aktuálnost této nefropatie se objevila teprve v době nedávné, kdy došlo jednak k rozšíření cytostatické léčby a k dlouhodobějšímu přežívání

nemocných s maligními nádory. Také vlastní tumor může různými mechanismy poškodit ledviny, např. infiltrací ledvin, metastázami do ledvin, ischemií ledvin v důsledku komprese cév tumorem, obstrukcí močových cest tumorem, elektrolytovou dysbalancí (hypokalémie, hyperkalcemie), aktivující disseminovanou intravaskulární koagulaci (DIC) a trombózou renální žíly. Prakticky všechna dosud známá cytostatika mohou být – byť různým způsobem – nefrotoxická. Poškození ledvin cytostatickou terapií může být přímé, nebo nepřímé. Přímá toxicita byla popsána po podání např. vincristinu, derivátů nitrozourey, mitomycinu, streptozotocinu (11, 24). Ireverzibilní renální nedostatečnost v důsledku intersticiální nefritidy s atrofií tubulů je vyvolána použitím vysokých dávek derivátů nitrozourey (18). V klinické praxi často používané deriváty platiny způsobují až akutní reverzibilní nebo chronický ireverzibilní pokles glomerulární filtrace (17). Nefrotoxicita je podmíněna poškozením proximálního tubulu, kde se deriváty platiny vylučované tubulární sekrecí zpětně resorbují. Konečným důsledkem je zánik tubulárních buněk procesem apoptózy nebo nekrózy (13, 16).

Naším cílem bylo nejprve posoudit přínos sledování mikroalbuminurie (Ma) k časně detekci nefrotoxického poškození ledvin při cytostatické léčbě a dále porovnat přínos této metodiky s metodikou detekující změny spektra proteinů v moči pomocí dvojrozměrné gelové vysokorozlišovací elektroforézy (DGVE).

Vyšetřování Ma je dnes již relativně rutinní metodou. DGVE je proti tomu analytická metoda umožňující separaci proteinových směsí s možností rozlišit 2000–6000 typů bílkovin ve všech biologických tekutinách, tj. i v moči, a to jak za fyziologických,

tak za patologických stavů. Pomocí výpočetní techniky lze z těchto tekutin vytvořit individuální proteinové mapy. Tyto pak lze ukládat do paměti počítače. Následně je lze vyhledávat a srovnávat různá spektra bílkovin u různých jedinců (1, 6).

Material a metodika

Mikroalbuminurie byla vyšetřována u 11 nemocných, z toho bylo 6 mužů s věkovým průměrem 40,3 let (26–51 let) a 5 žen s věkovým průměrem 33,4 let (26–41 let). Pět nemocných bylo léčeno pro akutní leukémii (2 muži a 3 ženy) a 6 nemocných s mnohočetným myelomem (4 muži a 2 ženy) (tab. 1). Cyklofosfamid byl nemocným aplikován v tříhodinové infuzi v průměrné dávce 3200 mg/m² (2800 až 3300 mg/m²).

Tabulka 1

Základní rozdělení souboru nemocných

	Celkem	Muži	Ženy
Počet	11	6	5
Průměrný věk	37,2	40,3	33,4
Věkové rozmezí	26–51	26–51	26–41
Akutní leukémie	5	2	3
Mnohočetný myelom	6	4	2

U všech byla současně vyšetřena moč metodou DGVE ve dnech, kdy byla vyšetřena i Ma. U pacientů zařazených do sestavy předchází vyšetření ne-prokázalo přítomnost ledvinového poškození. U všech vhodnou hydratací během podávání cytostatik byla zabezpečena diuréza nejméně 3 l/24 h, u většiny byla však daleko vyšší. Ma byla vyšetřena před podáním cytostatik, první den po skončení léčebné kúry a za deset dnů po skončení cytostatické léčby.

Ma byla stanovena touto technikou:

Moč byla sbírána 12 hodin (nebo 24 hodin). Do laboratoře byl dodáván celý objem sebrané moči a doba sběru uvedená na minuty přesně. Objem moči byl změřen s přesností na 1 ml a byl odebrán vzorek 10 ml. Tento vzorek moči byl zcentrifugován a v případě negativy bílkoviny papírkem byl nativní, nezředěný použit ke stanovení mikroalbuminurie. Ke stanovení byly použity soupravy „Microalbuminuria assay“ fy Orion Diagnostica, Finsko. Pracovní

postup: 200 µl moči bylo inkubováno s 800 µl naředěného antiséra proti albuminu. Vzniklý zákal byl měřen proti slepému vzorku (pro každý vzorek moči je připravena slepá kontrola) na fotometru Vitatron IFP při vlnové délce 405 nm v 1cm kyvetě.

Metodika vyšetření DGVE:

K analýze byly použity dialyzované vzorky moči, ze kterých byly proteiny vysráženy roztokem obsahujícím deoxycholat sodný a kyselinu trichloroctovou. Sraženina byla rozpuštěna v lyzovacím pufru (8 M močovina, 4% w/v CHAPS, 40 mM Tris, 10 mM DTT, 2% amfolyty pH 9–11 a malé množství bromfenolové modři). Ve všech vzorcích byla stanovena bílkovina, a to modifikovanou Bradfordovou metodou pro vzorky v lyzovacím pufru s močovinou (21).

Před nanesením vzorku byly všechny lyzáty centrifugovány 12 000 ot./min po dobu 10 min při pokojové teplotě. Pro izoelektrickou fokuzaci jsme použili komerčně dostupné pásy gelu s imobilizovaným pH 3–10 gradientem (Pharmacia-Biotech, Uppsala, Sweden). Izoelektrická fokuzace byla provedena na přístroji Multiphore II apparatus (Pharmacia-Biotech, Uppsala, Sweden) za použití 6000 V Power supply (Serva, Heidelberg, Germany) jako zdroje proudu. Na pásy bylo naneseno 100 µg proteinu. Podmínky pro izoelektrickou fokuzaci byly stanoveny takto: napětí bylo postupně zvyšováno o 500 V, a to z počátečních 300 na 3000 V během prvních tří hodin, potom fokuzace probíhala 3 hodiny při 3000 V a nakonec bylo napětí I zvýšeno na 5000 V. Při této poslední hodnotě běžela fokuzace přes noc. Dodržením těchto podmínek bylo dosaženo konečné hodnoty 100 kVh (volty x hodiny). Po skončení izoelektrické fokuzace byly pásy postupně inkubovány ve dvou ekvilibračních roztocích (0,5 M Tris HCl pH 6,8, 2% SDS, 6 M močovina, 30% glycerol obsahující 2% DTT a 0,5 M Tris HCl pH 6,8, 2% SDS, 6 M močovina, 30% glycerol obsahující 2,5% iodoacetamidu a 0,025% bromfenolovou modř). Pro separaci proteinů podle molekulové hmotnosti byly připraveny 9–16% gradientní gely obsahující akrylamid/PDA (30/0,8 g) a Tris HCl (1,5 M, pH 8,8). Pásy s rozdělenými proteiny byly po inkubaci v ekvilibračních roztocích položeny na povrch těchto gelů a zality agarózou. Elektroforéza probíhala společně na šesti deskových gelech, a to na přístroji Protean II xi 2-D Multi Cell Unit (Bio-Rad, Richmond, USA). Dělení proteinů v druhém směru probíhalo za konstantního proudu

40 mA na desku po dobu 4,5 h a jako zdroj proudu byl použit model 3000 xi power supply (Bio-Rad). Po skončení elektroforézy byly gely krátce promyty deionizovanou vodou a poté obarveny stříbrem (2). Obarvené gely byly proměřeny pomocí laserového denzitometru (4000 x 5000 pixels, 12 fepixel; Molecular Dynamics, Palo Alto, USA), který vytváří obrazy velikosti 30 megabytů. Tento denzitometr je připojen k počítačové stanici SUN Workstation ss20 (Sun Microsystems Inc., MountainView, USA) vybavené operačním systémem Unix Solaris v2.5. Počítačové ohodnocení dvojrozměrných elektroforéz bylo provedeno pomocí softwaru MELANIE 2.1 Bio-Rad, Richmond, USA). Tento program umožňuje automatickou detekci spotů, kvantifikaci, překrytí obrazů a vytvoření syntetických obrazů zahrnujících proteiny přítomné minimálně na třech rozdílných gelech.

Výsledky

Z dosažených výsledků lze uzavřít, že při intenzivní hydrataci nebyla signifikantní Ma nalezena ani vlivem cytostatické léčby, tj. že touto technikou jsme v naší sestavě neprokázali možnou nefrotoxicitu. Polyurie totiž činí citlivost detekce Ma současnými metodami zřejmě nereálnou (tab. 2). Výsledky nebyly statisticky zpracovány, protože ani jedna vyšetřovaná hodnota nedosáhla patologické Ma, tj. větší než 20 mg albuminu za 24 h.

Tabulka 2

Mikroalbuminurie a cytostatická terapie

	Ma (mg/24 h)			Počet
	Před CF	Po CF	10 dní po CF	
Muži	11,83	11,66	12,16	6
Ženy	11,40	10,80	12,00	5
Akutní leukémie	12,60	9,00	12,80	5
Mnohočetný myelom	12,33	13,16	11,50	6
Celkem	11,63	11,27	12,09	11

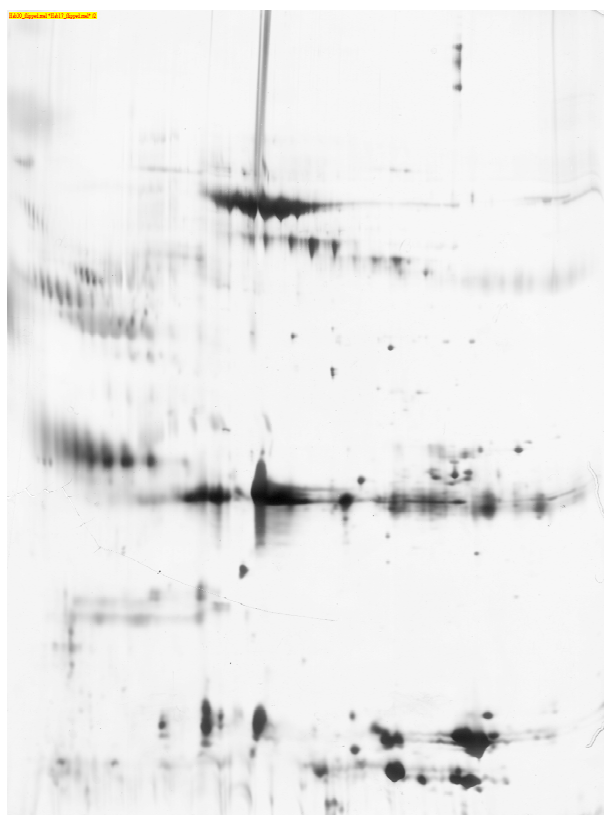
(Ma – mikroalbuminurie, CF – Cyklofosfamid)

Změny ve spektru močových proteinů vyšetřovaných za stejných podmínek, ale metodou DGVE,

přinášejí nový pohled na nefrotoxický vliv použitých cytostatik. Při podrobné analýze se objevují pestré a polymorfní změny. Jsou individuální, tj. u každého nemocného rozdílné. Jejich analýzu a interpretaci při současném stupni znalostí a zkušeností s touto metodikou zatím určit nelze. Proto jsou jako příklad demonstrovány mapy vylučovaných proteinů jen u jedné nemocné s mnohočetným myelomem, a to před podáním cytostatické léčby (obr. 1), první den po skončení léčby (obr. 2) a desátý den po léčbě (obr. 3).

Mapy proteinů jsou xerokopie map získaných výše popisovanou metodikou. Jsou proto technicky nedokonalé (metodika využívá výpočetní techniky) a jejich reprodukce sleduje pouze základní demonstraci možností uvedené techniky.

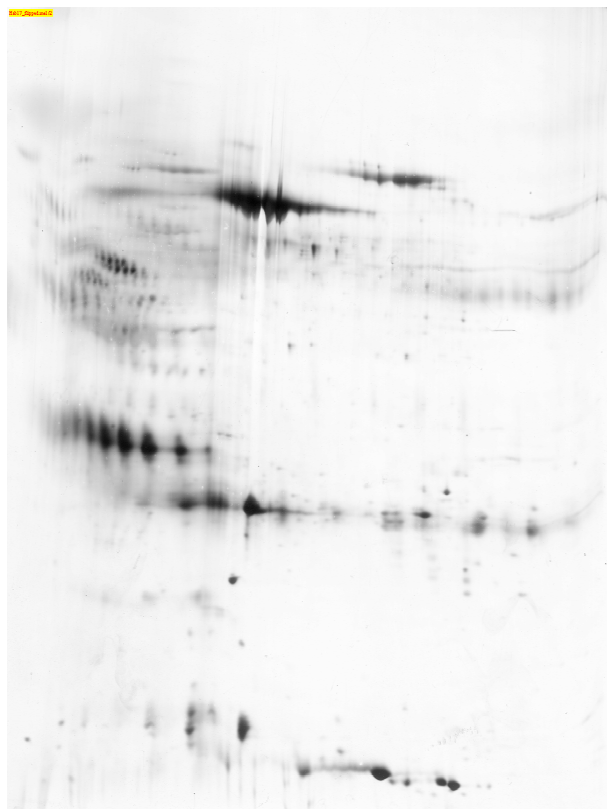
Z demonstrovaných nálezů (tak tomu bylo u všech provedených analýz) jsou patrné výrazné posuny v individuálním spektru vylučovaných proteinů. Ledvína tedy určitým způsobem na tento druh léčby reaguje, cytostatika a polyurie ovlivňují charakter proteinurie.



Obr. 1: Proteinová mapa před podáním cytostatické terapie



Obr. 2: První den po ukončení cytostatické terapie



Obr. 3: Proteinová mapa 10. den po skončení cytostatické terapie

Diskuse

Využití chemoterapie v léčbě nádorů má svoje místo a její aplikace vede k celé řadě toxických projevů jako je hematologická toxicita, kardiotoxicita a také nefrotoxicita. Nefrotoxicita po cytostatické léčbě patří do rozsáhlé skupiny ledvinových onemocnění a není jenom průvodním jevem aplikace, např. platinových derivátů (13, 15, 17). Nefrotoxické poškození ledvin je problematikou vždy závažnou a pro aplikaci účinné chemoterapie také limitující. Jde tedy o zřetelný vliv cytostatik na všechny procesy, které ovlivňují proteinurii.

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem jsme se snažili posoudit přínos sledování Ma k časné detekci nefrotoxického poškození ledvin při cytostatické léčbě a dále porovnat přínos této metodiky s metodikou detekující změny spektra proteinů v moči pomocí dvojrozměrné gelové vysokorozlišovací elektroforézy (DGVE). U nemocných, kterým byla aplikována vysoká dávka cyklofosmidu, je podání spojeno s nefrotoxicitou a diagnostika tohoto poškození má zásadní význam při vedení další léčby (26, 27, 29).

Změny ve spektru močových proteinů vyšetřovaných za stejných podmínek, ale metodou DGVE, přináší nový pohled na nefrotoxický vliv použitých cytostatik. Při podrobné analýze se objevují pestré a polymorfní změny. Jsou individuální, tj. u každého nemocného rozdílné. Jejich analýzu a interpretaci při současném stupni znalostí a zkušeností s touto metodikou zatím určit nelze (31). Proto jsou jako příklad demonstrovány mapy vylučovaných proteinů jen u jedné nemocné s mnohočetným myelomem, a to před podáním cytostatické léčby, první den po skončení léčby a desátý den po léčbě. Z demonstrovaných nálezů (a tak tomu bylo u všech provedených analýz) jsou patrné výrazné posuny v individuálním spektru vylučovaných proteinů (obr. 1, 2, 3).

V naší sestavě Ma jako možný příznak poškození ledvin cytostatickou léčbou nebyla nalezena. Lze předpokládat, že hlavní příčinou její nepřítomnosti je malá citlivost metody a správná intenzivní hydratace nemocných, a proto možnosti detekce toxického poškození ledvin vyšetřováním Ma se jeví při správném zavodnění nemocných jako omezené. DGVE prokázala zřetelně zásah cytostatik do procesů vedoucích k vylučování proteinů močí. Lze stanovit charakteristiku proteinů před podáním cytostatik u individuálního nemocného a po podání této léčby.

Jednoznačnou interpretaci nálezů však nelze zatím provést. Malý počet vyšetření a extrémní citlivost této analytické metody v tělesných tekutinách neumožňují ještě při současném stupni znalostí určit obecné spektrum patognomických typů proteinurií působením cytostatik a stejně tomu bude zatím také u jiných nefrotoxických vlivů (31). Lze však stanovit individuální spektrum a sledovat dynamiku jeho změn při cytostatické léčbě (15). Podobně by tomu mohlo být i u jiných zátěžových stavů a chorob. Tímto směrem se zřejmě bude ubírat výzkum proteinurií na špičkových pracovištích v budoucnosti.

Literatura

1. ARRAMBIDE, K. – TOTO, RD. Tumor lysis syndrome. *Semin. Nephrol.*, 1993, vol. 13, p. 273–280.
2. BJELLQUIST, B., et al. A nonlinear wide-range immobilized pH gradient for two-dimensional electrophoresis and its definition in a relevant pH scale. *Electrophoresis*, 1993, vol. 14, p. 1357–1365.
3. BEN DHIA, N., et al. Insufisance rénale aigüe aux antibiotiques. *Med. Malad. Infekt.*, 1999, vol. 29, p. 411–414.
4. BROE, ME. DE., et al. *Clinical nephrotoxins*. Netherland, Kluwer Academic Publisher, 1998.
5. COHEN, EP., et al. Clinical course of late-onset bone marrow transplant nephropathy. *Nephron*, 1993, vol. 64, p. 626–635.
6. DeFRONZO, RA. – ABELOFF, M. – BRAINE, H. Renal dysfunction after treatment with isophosphamide (NSC 109724). *Cancer Chemother. Rep.*, 1974, vol. 58, p. 375–382.
7. DeFRONZO, RA. – COLVIN, O. – BRAINE, H. Cyclophosphamide and the kidney. *Cancer*, 1974, vol. 33, p. 483–491.
8. DITLOVE, J., et al. Meticillin nephritis. *Postgrad. Med.*, 1977, vol. 56, p. 483.
9. GOREN, MP., et al. Dechloroethylation of ifosfamide and neurotoxicity (letter). *Lancet*, 1986, vol. 2, p. 1219–1220.
10. HEIDEMANN, HT. – GERKENS, JF. – SPICKARD, WA. Amphotericin B nephrotoxicity in humans decreased by salt repletion. *Am. J. Med.*, 1983, vol. 75, p. 476.
11. KLENER, P. *Protinádorová chemoterapie*. Praha, Galén, 1966.
12. *Kompéndium klinické medicíny*. 1. čes. vyd. Praha, X-Egem, 1996.
13. KRONING, R. – KATZ, D. – LICHTENSTEIN, A. Cisplatin nephrotoxicity in cultured mouse renal tubular epithelial cells. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1996, vol. 7, p. A2975.
14. LO, WK., et al. Ciprofloxacin-induced nephrotoxicity in patients with cancer. *Arch. Intern. Med.*, 1993, vol. 153, p. 1258.
15. MARSHALL, T. – WILLIAMS, KM. Clinical analysis of human urinary proteins using high resolution electrophoretic methods. *Electrophoresis*, 1998, vol. 19, p. 1752–1770.
16. MEGYESI, J. – DIMARI, J. – PRICE, P. Renal cell fate following cisplatin (CP)-induced acute renal failure (ARF). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1996, vol. 7, p. A2979.
17. MEYER, KB. – MADIAS, N. Cisplatin nephrotoxicity. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1944, vol. 20, p. 201–213.
18. NARINS, RG., et al. The nephrotoxicity of chemotherapeutic agents. *Semin. Nephrol.*, 1990, vol. 10, p. 556–564.
19. NEUGARTEN, J. – GALLO, G. – BALDWIN, DS. Rifampin-induced nephrotic syndrome and acute interstitial nephritis. *Am. J. Nephrol.*, 1983, vol. 3, p. 38.
20. PRATT, CB., et al. Ifosfamide, Fanconi's syndrome, and rickets. *J. Clin. Oncol.*, 1991, vol. 9, p. 1495–1499.
21. RAMAGLI, LS. – RODRIGUEZ, LV. Quantitation of microgram amounts of protein in two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis sample buffer. *Anal. Biochem.*, 1976, vol. 72, p. 248–254.
22. REMUZZI, G. – RUGGENENTI, P. The hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int.*, 1995, vol. 47, p. 2–19.
23. RISLER, T. – MÜLLER, G. – ROSENDAHL, W. *Therapieschemata Nephrologie*. München, Urban and Schwarzenberg, 1993.
24. ROSSI, R. Nephrotoxicity of cytostatic therapy. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1996, vol. 11, p. 1902–1906.
25. SHORE, R., et al. Iphosphamide-induced nephrotoxicity in children. *Pediatr. Nephrol.*, 1992, vol. 6, p. 162–165.
26. SKINNER, R., et al. Risk factors for ifosfamide nephrotoxicity in children. *Lancet*, 1996, vol. 348, p. 1100–1101.
27. SKINNER, R., et al. Nephrotoxicity after ifosfamide. *Arch. Dis. Child*, 1990, vol. 65, p. 732–738.
28. SUAREZ, A., et al. Long-term follow-up of ifosfamide renal toxicity in children treated for malignant mesenchymal tumors: an International Society of Pediatric Oncology report. *J. Clin. Oncol.*, 1991, vol. 9, p. 2177–2182.
29. TESAŘ, V. – TESAŘOVÁ, P. – KLENER, P. Nefrotoxická cytostatická léčba. Patogeneze, prevence, terapie. *Čas. Lék. čes.*, 1997, roč. 136, s. 205–209.
30. THATTE, L. – VAAMONDE, CA. Drug-induced nephrotoxicity. The crucial role of risk factors. *Postgrad. Med.*, 1996, vol. 100, p. 83–100.
31. TICHÝ, M. – STULÍK, J. – KOVÁŘOVÁ, H., et al. Analysis of monoclonal immunoglobulin light chains in urine using two-dimensional electrophoresis. *Neoplasma*, 1995, vol. 42, p. 31–34.
32. TUNE, BM. *The renal toxicity of beta-lactam antibiotics: Mechanisms and clinical implications*. Netherlands, Kluwer Academic Publisher, 1998.
33. VERPOOTEN, GA. – TULKENS, PM. – BENNETT, WM. *Aminoglycosides and vancomycins*. Netherlands, Kluwer Academic Publisher, 1998.

Korespondence: Doc. MUDr. Miroslav Brndiar, CSc.

Univerzita obrany
Fakulta vojenského zdravotnictví
Katedra válečného vnitřního lékařství
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové
e-mail: brndiar@pmfhk.cz

Do redakce došlo 14. 5. 2007