

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Nikola Vondráčková

Hirudoterapie – historie a současnost, benefity a rizika  
Hirudotherapy – past and present, benefits and risks

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. RNDr. Petr Horák, Ph.D.

Praha, 2024

**Poděkování:**

Ráda bych poděkovala svému školiteli panu prof. RNDr. Petru Horákovi, Ph.D. za svou ochotu, veškeré rady a připomínky, a hlavně za trpělivost, kterou se mnou měl.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne

**Abstrakt:**

Počátky hirudoterapie sahají do starověku, kdy použití pijavic nahradilo ostatní způsoby pouštění žilou. V 19. století byl výrazný nárůst používání pijavic, nejvíce ve Francii a v Rusku. Oproti terapii v minulosti probíhá terapie v současnosti za přísných hygienických podmínek a jsou jasně dané kontraindikace, které selektují, kteří pacienti se ne/smějí terapie zúčastnit. Mezi rizika hirudoterapie patří: infekce bakterií *Aeromonas* spp., alergické reakce a přetrvávající krvácení. Avšak přesto má hirudoterapie úspěšné výsledky při léčbě chronických a život ohrožujících abnormalit, mezi které patří např. kardiovaskulární problémy, rakovina a metastázy. Léčba pomocí pijavic se nejčastěji využívá v plastické chirurgii, mikrochirurgii a ve veterinární praxi. Na terapii se využívají pijavice rodu *Hirudo*, což jsou hematofágní ektoparazité obratlovců. Sliny pijavic obsahují více než 200 peptidů a proteinů, přičemž pro naše využití jsou nejdůležitější ty s antitrombotickými, antikoagulačními a antibakteriálními účinky. Složky obsažené ve slinách brání vzniku komplikací během aktivního sání na hostiteli.

**Klíčová slova:** Hirudoterapie, pijavice, *Hirudo medicinalis*, sliny, bakterie *Aeromonas* spp., krev

**Abstract:**

The origin of hirudotherapy is dated to ancient times, when the use of leeches replaced other methods of blood-letting. In the 19th century there was a significant increase in the use of leeches, mostly in France and in Russia. Unlike therapy in the past, nowadays, therapy is being performed under strict hygienic conditions and there are clearly defined contraindications that select which patients are not allowed to participate in treatment. The risks of hirudotherapy include – infection with the bacteria *Aeromonas spp.*, allergic reactions, and longlasting bleeding. However, hirudotherapy has had successful results in the treatment of chronic and life-threatening abnormalities, including cardiovascular problems, cancer and metastasis. Treatment with leeches is most commonly used in plastic surgery, microsurgery and veterinary practice. Leeches of the genus *Hirudo*, which are hematophagous vertebrate ectoparasites, are used for therapy. The saliva of leeches contains more than 200 peptides and proteins, the most important for our use are those with antithrombotic, anticoagulant and antibacterial effects. The components contained in the saliva prevent the development of complications during active sucking on the host.

**Key words:** Hirudotherapy, leeches, *Hirudo medicinalis*, saliva, bacteria *Aeromonas spp.*, blood

# OBSAH

1. ÚVOD .....	6
2. HISTORIE.....	6
3. PIJAVICE.....	9
3.1. Biologie a ekologie.....	9
3.1.1. Hematofágní pijavice .....	9
3.2. Druhy pijavic využívané během terapie a jejich biologie/ekologie .....	10
4. SLINY PIJAVIC .....	11
4.1. Antikoagulace, inhibice trombinu .....	11
4.2. Analgetika a protizánětlivé látky .....	12
4.3. Enzymy pro trávení extracelulární matrix .....	13
4.4. Látky zlepšující průtok krve do místa krmení .....	13
4.5. Inhibitory adherence a aktivace krevních destiček .....	14
4.6. Antimikrobiální látky .....	14
4.7. Látky chránící požitou krev před předčasnou degradací .....	15
5. RIZIKA HIRUDOTERAPIE .....	15
5.1. Infekce bakteriemi rodu <i>Aeromonas</i> .....	15
5.2. Přenos dalších patogenů .....	16
5.3. Alergie .....	17
5.4. Krvácení a migrace pijavice po těle hostitele .....	17
6. VYUŽITÍ PIJAVIC V SOUČASNOSTI .....	18
6.1. Průběh terapie .....	18
6.2. Využití v praxi.....	19
6.3. Mechanická pijavice .....	20
7. ZÁVĚR.....	22
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	24

# 1. ÚVOD

Hirudoterapie je léčba pomocí pijavic, kdy se jedná o proces přikládání pijavic na specifická místa na těle za účelem ovlivnění patologického procesu v těle. Hirudoterapie byla v historii velmi oblíbená, protože „pouštěním žilou“ řešili lékaři veškerá onemocnění. Možná proto zůstala do současnosti v lidech skepse, avšak od té doby se toho spousta změnila

Pro tuto terapii se využívají převážně 3 druhy, a to *Hirudo medicinalis*, *Hirudo verbana* a *Hirudo orientalis*. Jedná se o hematofágní ektoparazity obratlovců, kteří jsou na tento způsob života adaptováni přísavkou vybavenou chitinózní čelistí a několika vychlípeninami střeva sloužícím jako zásobárna krve, ve kterých se nachází symbiotické bakterie *Aeromonas* spp., které se účastní trávení přijaté krve od hostitele. Sliny pijavic obsahují bioaktivní látky s (mimo jiné) protizánětlivými, antikoagulačními a antimikrobiálními látkami. Objevením těchto účinných látek se používání pijavic vrátilo do medicínské a veterinární praxe. Léčba pomocí pijavic se nejčastěji využívá v plastické chirurgii a mikrochirurgii. I přes všechny benefity, které nám hirudoterapie nabízí, je ale důležité se zaměřit na rizika, která může hirudoterapie způsobit. Navíc hirudoterapie není doporučena pro pacienty, kteří mají problém s anémií, hemofilii, mají nízký tlak, nebo pacienty s nemocí, která způsobuje imunosupresi, a také pro těhotné pacienty.

Cíle mé práce by měly poukazovat na to, jak se v historii dostala hirudoterapie na vrchol, postupně upadala, a jak se používání pijavic zase vrátilo do současné medicínské praxe. Cílem je ukázat pokrok v této léčbě a nastínit průběh terapie. Ve své práci se budu také zabývat složkami obsaženými ve slinách pijavic a jaké jsou jejich funkce. Následně bych popsala, jaké benefity a rizika hirudoterapie představuje.

## 2. HISTORIE

Již v historii se věřilo, že krev je původcem všeho, co se v našem těle děje. Veškeré nemoci, špatná nálada nebo agresivita se řešily pouštěním žilou. Dokonce lidé věřili, že krev má magickou moc a využívali toho k dosažení mládí a síly například pitím krve nebo koupelí. Léčba krvácením byla používána již v Mezopotámii, starověkém Egyptě a využívali ji i Aztékové a Mayové. Hippokratés svou důvěru v léčbě pomocí krvácení zakládal na přirozeném

ženském cyklu – menstruaci a bral to jako způsob, jak se ženy zbavují špatných humorů neboli tělní tekutiny (Rooney, 2017).

Dále Hippokratés věřil v koncept, že „všechny tělní tekutiny musí být v rovnováze a nerovnováha způsobuje nemoc“ (Whitaker a kol., 2004b). Tuto myšlenku od něj převzal Galén, lékař Marca Aurelia, který tvrdil: „Za normálních okolností se krev, která proudí do končetin vstřebává, za výjimečné situace se může hromadit a váznout, a to způsobuje onemocnění. Krev je tělesná šťáva, která se musí regulovat nejvíce“. A tou regulací bylo právě pouštění žilou, které se provádělo hned několika způsoby:

- Naříznutí žíly nebo tepny, kdy krev poté stékala do poháru
- Skarifikace, která se prováděla na menších krevních cévách pomocí například skarifikátorů vyráběných z rybích kostí.
- Baňkování, které se provádělo tak, že na malé rány se přikládaly nahřáté baňky, kdy se v nich horký vzduch ochlazoval, tlak postupně klesal a vytahoval krev z těla ven.
- A poslední způsob jsou právě pijavice, které byly považovány za nejméně bolestivou metodu (Rooney, 2017).

Avicenna tvrdil, že metoda odčerpávání krve pomocí pijavic je účinnější, než baňkování a ve svém Kánonu medicíny zahrnoval instrukce ohledně práce s pijavicemi (Singh, 2010).

Historicky první písemný záznam o pijavicích je připisán Nicaderovi v jeho básni Alexipharmaca (Okka, 2013), což je soubor 630 hexamerů na téma jedy a jejich protilátky. Báseň pojednává o muži, který se samou žízní napije přímo z potoka, ale společně s vodou se mu do hrdla dostane i pijavice žíznící po krvi, která se přisaje k tělu a saje dotyčnému krev.

V 19. století stoupla popularita pijavic v Evropě. Ve 30. letech dovážela Francie až 40 milionů pijavic ročně. Francouzský hlavní doktor a chirurg Francois-Joseph-Victor Broussais byl považován za nejkrvavějšího lékaře v historii, protože podle něj, po vzoru Galéna byly všechny nemoci výsledkem nahromadění krve, tím pádem je potřeba tzv. leech therapy neboli hirudoterapie a hladovění (Rolleston, 1939). Často byly pijavice předepisovány ještě předtím, než pacienta vůbec spatřili. Pijavice se staly vzorem módy a ozdob, a dokonce využívány kosmeticky pro zdůraznění světlé pleti (Whitaker a kol., 2004b)

Ve stejném období, 30. letech, byly pijavice oblíbené taktéž v Rusku. Léčba pijavicemi měla za následek vynikající výsledky ve všemožných stavech, jako je například zánět mozku, onemocnění jater, ledvin, revmatismus, tuberkulóza, epilepsie, hemeroidy, deprese, a i pohlavně přenosné choroby. Tato metoda léčby byla využívána na všechny pacienty, bez ohledu na věk, pohlaví nebo stav pacienta. Postupně během 19. století se v Evropě zvyšoval počet nemocí, na které byla aplikace pijavic používána a vychvalována. Jejich popularita při terapeutických sezeních nadále rostla, až se *Hirudo medicinalis* dostala do stavu „kriticky ohrožený“ a hrozilo jí vyhynutí. Během jednoho sezení mohlo být využito až 80 jednotlivých pijavic a požadavky například ve Francii dosahovaly až 100 milionů pijavic ročně (O'Dempsey, 2012).

Po pijavicích byla velká poptávka, přičemž postupně narůstala cena a francouzská vláda udělovala různá ocenění těm společnostem, které byly schopné dodání pijavic zajistit. Začaly se uměle vytvářet rybníky, močály a další vodní plochy, které by umožňovaly chování pijavic. Lidé se dokonce brodili rybníky, jen aby mohli na své tělo ulovit pijavice, které se pak po sundání z těla přímo přeprodaly (Whitaker a kol., 2004b).

Evropské pijavice byly preferovány před americkým druhem *Macrobodella decora*, což je druh, který se od *Hirudo medicinalis* liší menším a mělčím řezem, a také saje méně krve – doba sání je kratší i množství vysáté krve pijavicí (Munro a kol., 1991).

Do konce 19. století popularita pijavic silně poklesla. Záznamy anglické nemocnice v Londýně uvedly, že v roce 1832 bylo použito 100 tisíc pijavic, ale 1882 méně než dva tisíce. Tento náhlý úpadek mají na svědomí nově vznikající moderní koncepty medicíny, kdy otázka krvácení jakožto léčba se zdá být absurdní. Úpadek má na svědomí i vyspělost techniky a znalostí; vzniká fyziologie, patologie, mikrobiologie a zájem o pijavice klesal jak od lékařů, tak od pacientů (Hare, 1883).

Muž, který se postaral o navrácení pijavic zpět k běžnému používání v medicíně, byl John Berry Haycraft se svým objevem v roce 1884, že ve slinách pijavic je obsažen antikoagulant, který pojmenoval hirudin. Tímto objevem potvrdil pozorování ruského profesora Diakonova ve svém článku Změny lidské krve v pijavici: „Nedostatečné srážení krve a rozpad červených krvinek ve střevním vývodu pijavic svědčí o tom, že existuje nějaké rozpouštědlo“ (Diakonov, 1809; citováno z Whitaker a kol., 2004b). V roce 1955 Markwardt izoloval a charakterizoval hirudin z hltnanových žláz pijavic, ale až v roce 1986 byl antikoagulant poprvé vyroben v genovém inženýrství. Genové inženýrství umožnilo dostupnost rekombinantního hirudinu (r-hirudin) pro



klinické účely. Vlastnosti r-hirudinu jsou velmi podobné vlastnostem nativního hirudinu (Markwardt, 1991b).

V roce 1981 americký biolog Roy Sawyer založil společnost Biopharm ve Swansea ve Walesu, která se věnuje chovu a distribuci pijavic a dále vývoji nových léčiv. Do UK a Irska dodává 25 tisíc pijavic ročně a do USA 60 tisíc (Whitaker a kol., 2004b).

## 3. PIJAVICE

### 3.1. Biologie a ekologie

Pijavice patří do kmene kroužkovci (*Annelida*), třídy opaskovci (*Clitellata*) a podtřídy pijavice (*Hirudinea*). Žijí převážně ve sladkých vodách, ale vyskytují se i ve vodě mořské, nebo v tropech, kde žijí suchozemské pijavice (Mory a kol., 2000). Suchozemské pijavice jsou adaptovány většími nefridiálními váčky, které zadržují a ukládají vodu, což jim umožňuje snášet nedostatek vody (Abdualkner a kol., 2013). Většina druhů se živí jako hematofágní ektoparazité obratlovců, přičemž se považují i za vektory protozoárních parazitů např. trypanozom a gregarin. Paraziticky žijící pijavice využívají na prokousnutí kůže hostitele své chitinové čelisti ve tvaru Y, nebo mají místo čelisti tzv. proboscis, který se zasouvá do kůže a slouží pouze k propíchnutí. Menšina dravých pijavic se živí např. červy nebo larvami měkkýšů a hmyzu. Tělo mají oválné, dorůstající do délky 10-15 cm, ale pijavice *Haementaria ghiliani* může dorůst až do délky 50 cm. Tělo je rozdělené na přibližně 34 vnějších segmentů, kdy 5-7 vnějších segmentů odpovídá vnitřní pravé segmentaci (Mory a kol., 2000). Jejich rozmnožovací strategie je taková, že pijavice jsou hermafrodité, ale kopulují dva různí jedinci. Jedinec má vaječníky i varlata a ve svém opasku (clitellu) uchovávají vajíčka. Během rozmnožování jedinec vstříkne spermatofor do póru opasku svého partnera a ten potom vzniklý kokon uvolní do půdy. Poté se pijavice líhnou z kokonu přímým vývojem. Pijavice žijí 18-27 let (Falih a kol., 2019).

#### 3.1.1. Hematofágní pijavice

Na obou koncích těla jsou pijavice opatřené přísavkami. Přední menší přísavka slouží k prokousnutí kůže a saní krve hostitele a zadní velká přísavka slouží k přísátí a přidržení se na

povrchu hostitele. U hematofágních druhů se druhotně rozvětvila trávicí soustava. Střevo má několik výchlipek, které po nasátí krve slouží jako zásobárna a může dojít k jejímu několikanásobnému zvětšení. Typické množství přijaté krve je 5-10 ml, ale některé pozřít až devítinásobek své váhy (Mory a kol., 2000). Existují 4 váhové skupiny pijavic, kdy celkové rozmezí váhy je 0,02 - 7 g v závislosti na věku. Ve volné přírodě trvá 2-4 roky dosažení dospělosti ve váze 3 g (Elliott, 2008).

Krmení pijavic je stimulováno savčí teplotou, sodíkem a argininem v krvi (Lent, 1986). Hlavní látka obsažena ve slinách pijavic je již zmiňovaný hirudin, působící jako silný antikoagulant. Sekrecí dokáže pijavice zabránit *in vitro* koagulaci 50-100 ml krve. (Mory a kol., 2000). Ve střevech pijavic se nacházejí symbiotické bakterie *Aeromonas spp.*, které produkují hydrolytické enzymy, které pomáhají při rozkladu složek požitěné krve v trávicím traktu (Graf a kol., 2006), a také mají funkci ve výrobě antibiotik zabraňující hnití (rozkladu) krve po dlouhé době skladování ve vychlápěninách střeva (Abdualkner a kol., 2013). Žádné další střevní enzymy nebyly v pijavicích identifikovány (Mory a kol., 2000).

## **3.2. Druhy pijavic využívané během terapie a jejich biologie/ekologie**

V medicíně a při hirudoterapii, se využívají tři druhy pijavic a to *H. medicinalis*, *H. verbana* a *H. orientalis*. Kromě morfologických rozdílů byla jejich druhová rozdílnost potvrzena náhodnou amplifikací polymorfni DNA, geografickým rozšířením, biochemickým složením slin a počtem chromozomů (Petrauskiene a kol., 2011).

Všechny tři druhy se z velké části geograficky vylučují: *H. verbana* – jižní Evropa, středomořské stepní zóny, proměnlivé prostředí; *H. medicinalis* – stabilnější prostředí, listnaté stromové pásmo severní a střední Evropy; *H. orientalis* – horské oblasti zakavkazských zemí a ve střední Asii (Utevsky a kol., 2010). Z provedených šlechtitelských pokusů za účelem prozkoumání plodnosti bylo zjištěno, že *H. verbana* měla nejvyšší míru plodnosti, nejmenší larvy, nejnižší dobu přežití a nejvyšší rychlost růstu. *H. medicinalis* měla nejnižší míru plodnosti, největší a nejtěžší larvy. *H. orientalis* měla střední míru plodnosti a střední velikost larev (Petrauskiene a kol., 2011). Prokázala se podobnost znaků *H. medicinalis* a *H. orientalis*, přičemž tento výsledek souhlasí s již známým sesterským vztahem mezi těmito dvěma druhy a ve vztahu k nim v bazální pozici *H. verbana*, což bylo odhaleno díky fylogenetické analýze

(Trontelj a Utevsky, 2004). *H. verbana* je charakterizována spíše jako r-stratég a *H. medicinalis* a *H. orientalis* jako K-strátégové. U mezidruhového křížení *H. medicinalis* s *H. verbana* se potomci nedožili dospělosti a při páření *H. medicinalis* s *H. orientalis* byl počet dospělých potomků pětinasobně nižší než u vnitrodruhového křížení *H. medicinalis* (Petrauskiene a kol., 2011). *H. verbana* je vhodnějším druhem pro chování v akvakultuře než jiné lékařské pijavice, protože např. *H. medicinalis* je přímo adaptovaná na specifické podmínky svého přirozeného prostředí. Avšak *H. medicinalis* je přesto na trhu preferovanějším druhem a snadno chovaná *H. verbana* je za ní často uváděna. Toto bylo odhaleno amplifikační reakcí pro mikrosatelitové analýzy provedené s genomovou DNA (Siddall a kol., 2007).

## 4. SLINY PIJAVIC

Analytické techniky odhalily, že sliny pijavic obsahují více než 200 peptidů a proteinů, a také několik typů malých organických molekul (Yanes a kol., 2005).

Složky obsažené ve slinách pijavic musí mít konkrétní funkce, aby mohly aktivně sát na hostiteli bez nějakých komplikací. Hostitel si nesmí všimnout, že na něm pijavice saje, tudíž by mu kousnutí neměla způsobovat žádnou velkou bolest. Sliny tedy musí obsahovat látky s analgetickými až anestetickými vlastnostmi a látky potlačující zánětlivé reakce v místě kousnutí. Pro přijímání velkého množství krve při co nejkratší době krmení je potřeba, aby sliny obsahovaly látky zprostředkovávající relaxaci buněk hladkého svalstva ve stěnách arteriálních cév, což by vyvolalo zvýšení rychlosti průtoku krve. Ve slinách pijavic by měly být přítomny složky, které by inhibovaly adhezi krevních destiček ke stěnám cév, což způsobí uzavření rány po kousnutí. Uložená krev ve vychlípeninách střeva pijavice je potenciálním substrátem pro různé typy mikroorganismů, které jsou přítomny ve střevním systému pijavice, nebo se do ní dostávají při krmení, tudíž musí obohatit pozřitou krev antimikrobiálními látkami (Hildebrandt a Lemke, 2011).

### 4.1. Antikoagulace, inhibice trombinu

Trombin je serinová proteáza hrající zásadní roli při srážení krve (Fenton a Bing, 1986). Nejdůležitější složka ve slinách pijavic, která inhibuje koagulaci krve, je hirudin. Hirudin se váže na trombin s vysokou afinitou a účinně inhibuje jeho aktivitu (Markwardt, 1991a).

Hirudin a jeho analogy (např. hirulog) mají výhody oproti heparinům, protože inhibují trombin již navázaný na krevní sraženiny nebo extracelulární matrice, které jsou vůči heparinu relativně odolné. Navíc nevyžadují vazbu kofaktorů (jako je např. antitrombin III). Na rozdíl od heparinu není hirudin neutralizován produkty aktivovaných krevních destiček (Johnson, 1994).

Protein antistasin je silný inhibitor krevního koagulačního faktoru Xa původně izolovaného ze slinných žláz mexické pijavice *Haementeria officinalis*. Faktor Xa je enzym hrající klíčovou roli v procesu hemokoagulace. Kromě toho byly u antistasinu nalezeny antimetastatické vlastnosti (Sollner a kol., 1994). Ze slinných žláz pijavice *Haementeria ghilianii* byl purifikován protein zvaný ghilanten. Ghilanten je téměř identický s antistasinem, pokud jde o aminosekvence (>90% shoda) a funkční vlastnosti, což je inhibiční aktivita na koagulační faktor Xa. Ghilanten působí jako antimetastatický a antikoagulační faktor, který může potlačit metastázy melanomu, rakoviny prsu, rakoviny plic a rakoviny prostaty (Cardin a Sunkara, 1995).

## 4.2. Analgetika a protizánětlivé látky

Kousnutí pijavicí je jistě méně bolestivé než podobné rány jinak způsobené. Avšak analgetikum jako takové nebylo ve slinách nalezeno. U pijavic se diskutuje o tom, že by mohl mít antistasin nepřímý vliv na inhibici tkáňových kalikreinů. Zatím však neexistují experimentální důkazy (Hildebrandt a Lemke, 2011). Kalikreiny jsou proteázy, které štěpí neaktivní formy kininogenů na bioaktivní kininy, což jsou potenciálně bolest-vyvolávající bioaktivní látky. Signalizují stresové stavy jako je destrukce tkáně nebo zánět (Yousef a Diamandis, 2001). Mechanismus k potlačení biologického účinku kininu je uvolňování kinináz do rány, které kininy proteolyticky štěpí a inaktivují. Důkazy přítomnosti kinináz u pijavic stále chybí, ale například klíšřata tyto látky produkují (Ribeiro a kol., 1985).

Eglin C je sekreční protein ve slinách pijavic, který se váže rychle a reverzibilně na povrchové proteiny neutrofilu. Existuje přibližně 100 tisíc vazebných míst a vazba eglinu na neutrofil nebyla inhibována jinými proteinázovými inhibitory. Eglin C je tedy peptidový inhibitor proteinázy a účinně blokuje aktivitu neutrofilní elastázy a katepsinu G, což je serinová proteáza, která má důležitou roli v rozkladu tkáně na zánětlivých místech a eliminaci intracelulárních patogenů (Braun a Schnebli, 1987).

Bylo prokázáno, že eglin C inhibuje chemotaxi krysích neutrofilů a inhibuje tvorbu volných kyslíkových radikálů v lidských neutrofilech (Hornebeck a kol., 1987). Uvolňování eglinu C do hostitelské tkáně může narušit vstup neutrofilů do okolní tkáně a obranné reakce, které podporují zánět (Hildebrandt a Lemke, 2011).

Tryptáza je serinová proteáza uložená v granulích žírných buněk, která je markerem aktivace žírných buněk. Zvýšené hladiny tryptázy v séru jsou spojeny se zánětlivými stavy a anafylaktickými reakcemi (Payne a Kam, 2004). Sliny pijavic obsahují specifický inhibitor tryptázy, který se jmenuje LDTI. Lidská tryptáza je ojedinělá v tom, že kromě LDTI izolovaného z pijavic nebyl nalezen žádný jiný dosud testovaný protein, který by tryptázu inhiboval. LDTI inhibuje pouze trypsin a chymotrypsin a bylo odhaleno, že LDTI inhibuje pouze 50 % aktivních míst tryptázy (Sommerhoff a kol., 1994). LDTI může pomoci pijavici potlačit zánětlivé reakce zprostředkované žírnými buňkami (Hildebrandt a Lemke, 2011).

### **4.3. Enzymy pro trávení extracelulární matrix**

Sliny obsahují hyaluronidázu (Hovingh a Linker, 1999), která je schopna rozkládat kyselinu hyaluronovou v extracelulární matrix hostitelských tkání. Kyselina hyaluronová je glykosaminoglykan, který slouží jako kostra pro nekovalentní připojení proteoglykanů. Tento komplex váže molekuly vody a tím stabilizuje extracelulární matrix (Fraser a kol., 1997). Degradace kyseliny hyaluronové usnadňuje difuzní distribuci jiných slinných peptidů a proteinů ve tkáni kolem místa krmení (Hildebrandt a Lemke, 2011).

### **4.4. Látky zlepšující průtok krve do místa krmení**

Ze slin se během krmení uvolňuje histamin, což je důležitý neurotransmitter, jehož přítomnost může vysvětlit mikrocirkulační vazodilatace (Baskova a kol., 2008a). Histamin indukuje relaxaci buněk hladkého svalstva malých tepen zprostředkovanou H<sub>2</sub> receptory (Marshall, 1984). Tento proces má za následek uvolnění tekutiny z lumen cévy a prodloužené zvýšení průtoku do místa krmení (Hildebrandt a Lemke, 2011).

Je možné, že histamin spolu se serotoninem (důležitý regulátor nutričního chování pijavic) určují lokální alergickou reakci v okolí rány po kousnutí pijavicí (Baskova a kol., 2008a).

## 4.5. Inhibitory adherence a aktivace krevních destiček

Ve slinách se nachází několik látek, které zeslabují adhezi krevních destiček na poraněné stěně cévy. První faktor je saratin, což je molekula, která se váže na kolagen I a II a inhibuje vazebnou aktivitu Von Willebrandova faktoru (vWF) (Gronwald a kol., 2008). VWF je glykoprotein vážící se na ostatní proteiny a usnadňuje agregaci a adhezi krevních destiček v místě poranění (Yip a kol., 2005).

Dalším faktorem je calin, který má podobný mechanismus jako saratin, a sice se váže na kolagen I a brání vazbě vWF a jeho funkci (Deckmyn a kol., 1995).

Kolagenáza je enzym, který má funkci při trávení kolagenu. Enzym obsažen ve slinách pijavice může přispět k inhibici agregace krevních destiček ke stěnám cév v místě krmení (Rigbi a kol., 1987).

Lokální zvýšení koncentrací molekul ADP aktivuje receptory na membránách krevních destiček, což vede ke zvýšení jejich afinity k vWF a tím ke zvýšení agregace krevních destiček vázaných na kolagen. Ve slinách pijavic je obsažen enzym apyráza, jehož funkcí je odstraňování fosfátové skupiny z ADP. Tímto procesem přemění ADP na neaktivní AMP, který už není antagonistou receptorů na krevních destičkách. Proces degradace molekuly ADP účinně potlačuje adhezi krevních destiček (Rigbi a kol., 1996).

## 4.6. Antimikrobiální látky

Destabiláza je multifunkční protein, který kombinuje funkci destabilizace fibrinu s antimikrobiálními funkcemi (Zavalova a kol., 2006). Destabiláza má podobnou aktivitu jako lysozym, což je schopnost narušovat bakteriální stěnu. Výzkum byl prováděn na hmyzích buňkách nakažených bakuloviry a bakterií rodu *Micrococcus*. Extrakty hmyzích buněk infikované bakuloviry nesoucími buď Ds2 nebo Ds3 cDNA projevovaly aktivitu hydrolýzy buněčných stěn *Microcococcus*. Tudiž obě izoformy Ds2 a Ds3 mají lysozymovou aktivitu. Po přidání protilátky se hydrolýza inhibovala, přičemž inhibice byla výraznější v případě Ds3, který je strukturně bližší k destabiláze izolované z pijavice (L.L. Zavalova a kol., 2000).

Dokonce si několik vědců patentovalo použití extraktu z pijavic (což znamená jakékoliv látky izolované ze slin, které vykazují antibakteriální aktivitu) čeledi *Hirudinidae* jako antimikrobiální činidlo. Tvrdí, že extrakt z jakékoliv části těla pijavice, zejména ze slin

vykazoval antimikrobiální aktivitu proti mnoha gramnegativním/pozitivním bakteriím. Extrakt vykazoval vysokou antibakteriální aktivitu proti bakteriím rodu *Shewanella* a *Aerococcus viridans*, zatímco nižší aktivita byla pozorována proti *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* a *Staphylococcus aureus*. Avšak extrakt z pijavic by mohl být použit při léčbě nemocí vyvolaných bakteriemi, včetně potravinových poruch a nozokomiálních infekcí získaných z nemocničního prostředí. Prospěšné by mohlo být využití extraktu v čistících prostředcích pro dezinfekci právě nemocnic nebo obecně domácností (Tasiemski a Salzet, 2012).

#### **4.7. Látky chránící pozřenu krev před předčasnou degradací**

Egliny a bdelliny jsou látky vyskytující se ve slinách pijavic, ale lze je najít i v dalších tkáních. Nejvíce přítomných jich je v předžaludku, kdy se objevují ihned po krmení a během několika týdnů se jejich množství zvyšuje několikanásobně. Ve střevě však byly testy na tyto látky vždy negativní. Egliny a bdelliny se tedy podílejí na zachování obsahu plodin během doby skladování. (Roters a Zebe, 1992). Egliny jsou chemicky velmi stabilní inhibitory serinových proteáz a účinně inhibují elastázu a katepsin G. Přestože neobsahují disulfidické můstky ke stabilizaci své terciální struktury, jsou i tak vysoce odolné vůči denaturaci acidifikací a teplem, a také vůči proteolytické degradaci (Seemuller a kol., 1980). Bdelliny jsou stabilní proteiny a účinné inhibitory trypsinu, plasminu a spermatického akrosinu. Bdellin A je homolog antistasinu původně objeveného u pijavice mexické *Haementeria officinalis*. Poté byl bdellin A přejmenován na bdellastasin. Kvůli rozdílům v sekundární struktuře ale bdellastasin postrádá inhibiční účinek na faktor Xa, kalikrein a chymotrypsin (Moser a kol., 1998).

## **5. RIZIKA HIRUDOTERAPIE**

### **5.1. Infekce bakteriemi rodu *Aeromonas***

Bakterie *Aeromonas spp.* je fakultativně, anaerobní, gramnegativní tyčinka, která se běžně vyskytuje v půdě a ve sladké či brakické vodě po celém světě. Nejčastěji způsobuje gastroenteritidu, infekci měkkých tkání až po hluboké infekce, jako je např. septikémie. Svým množením se v infikovaných ranách způsobuje drobné komplikace až vážné ztráty tkáně (Fenollar a kol., 1999). Nejzávažnější komplikace při aplikování pijavic je infekce, která se obecně projevuje jako cellulitis nebo lokální absces (Whitaker a kol., 2004a). Cellulitis je

nenekrotizující zánět kůže a podkoží z akutní infekce. Příznaky jsou otok, horečka, bolest a erytém. Při těžké celulitidě je nutná léčba cefazolinem, cefuroximem nebo oxacilinem pro předpoklad infekce stafylokokem nebo streptokokem (Raff a Kroshinski, 2016)

Přestože je bakterie rodu *Aeromonas* uznávaným gastrointestinálním patogenem, lze jej izolovat i ze stolice zdravých osob. Ale invazivní infekce se rozvíjí především u imunokompromitovaných pacientů (Fenollar a kol., 1999).

Míra infekce při terapii pijavicemi se vyskytuje cca ve 2,4-20 % z důvodu výskytu endosymbiotických bakterií v *H. medicinalis*. U testovaných pijavic je 90-100% pravděpodobnost výskytu bakteriální flóry. Nejčastějšími izoláty jsou bakterie *Aeromonas hydrophila*, *Ochrobacter anthropi*, nefermentující gramnegativní tyčinky, *Acinetobacter lwoffii* a *A. sobria*. Bakterie jsou izolovány z obou přísavek anebo ze střev pijavice. Proto by měla být antibiotická profylaxe nezbytnou součástí při hirudoterapii (Eroglu a kol., 2001). Z testů citlivosti se zjistilo, že bakterie rodu *Aeromonas* jsou rezistentní k penicilinu, ampicilinu a karbenicilinu (Whitlock a kol., 1983)

Během hirudoterapie nebo při chirurgických zákrocích jsou používána profylaktická antibiotika – augmentin, metronidazol, benzylpenicilin, ciprofloxacín a flucloxacilin. Lékaři nemají jednotný názor ohledně vhodného antibiotika; je používáno cca 5 různých antibiotik jednotlivě nebo v kombinaci (Whitaker a kol., 2004a).

## 5.2. Přenos dalších patogenů

Počátkem 19. století začali lékaři nanášet sůl do ústního otvoru pijavice, čímž ale způsobovali vyvrhování (regurgitaci) krve. Problém byl v tom, že pijavice byly používány několikrát na několika pacientech, takže se mohlo stát, že vypuzení krve způsobilo přenos různých patogenů (Whitlock a kol., 1983). Tento pasivní přenos může být způsoben i zmáčknutím pijavice během přichycení a sání krve na svém hostiteli. Byla studována střeva pijavic za účelem zjištění přítomnosti a přežívání patogenů pomocí světelné a elektronové mikroskopie. U afrických pijavic z Kamerunu byla krev pozitivní na virus imunodeficiency (HIV) a na hepatitidu B. Dále bylo zjištěno, že protozoární parazité *Trypanosoma brucei brucei* nebo *Plasmodium berghei* jsou schopni se ve střevech pijavice rozmnožovat. V případě *Plasmodium berghei* rozmnožování probíhalo zejména při nízkých teplotách a dokud nebyly spotřebovány všechny erythrocyty ve střevě pijavice. Parazité ve střevech přežívali, dokud byly erythrocyty a lymfocyty



v dobrém stavu, což odpovídá délce 5-6 týdnů. Elektronová mikroskopie však neprokázala, že by tyto parazity byli schopni pronikat do slinných žláz pijavic (Nehili a kol., 1994). Přítomnost trypanozom byla zjištěna i u suchozemských pijavic *Chtonobdella bilineata* z rodiny Haemadipsidae a potvrzena jako častá infekce (Ellis a kol., 2021).

### **5.3. Alergie**

V polovině 20. století se objevovaly velké komplikace po absolvování hirudoterapie a to např. vyrážky na tváři, rtech, různé léze a migrény. Avšak nebyly provedeny žádné další kontrolní studie nebo pozorování, tudíž žádná alergická reakce nebyla potvrzena. Tvrdilo se, že alergické nebo anafylaktické reakce jsou pouze lokální tkáňové reakce na kousnutí. Lékaři se snažili popírat alergické reakce ať na sliny pijavic, nebo cokoliv spojeného s uznávanou hirudoterapií a vinu sváděli např. na alergenní rostlinu rodu *Toxicodendron*. Infekce způsobené bakteriemi byly samozřejmě možné, ale velmi vzácně. Nakonec však byly důkazy ohledně komplikací objevujících se bezprostředně po hirudoterapii uznány a alergická reakce na antikoagulant nebo jiný protein obsažen ve slinách se stala dalším nežádoucím účinkem (Heldt, 1961).

Ve slinách se nachází více než 100 proteinů, přičemž jejich složení má sezónní variabilitu (zima-léto), a i se liší dávky uvolňované během sání krve. Proto je velmi obtížné ze sekretu slin identifikovat potenciální původce alergické reakce (Baskova a kol., 2008b).

Po absolvování hirudoterapie se mohou v některých případech objevit bolestivé a svědivé vyrážky. Na tyto léze se aplikuje kyselina fusidová a fyziologický roztok, což má obvykle za následek zlepšení (Karadag a kol., 2010). Je ale možné, že přestože se po prvním cyklu hirudoterapie žádné vedlejší účinky neobjeví, tak po další aplikaci pijavic se může objevit léze alergického původu, a to v důsledku možné senzibilace pacienta na sekret pijavice během první aplikace při hirudoterapii. Tento závěr byl laboratorně potvrzen tím, že byla pijavice (použitá během terapie) podrobena vyšetření a výsledky nevykazovaly ani bakteriální ani jinou parazitární infekci (Pietrzak a kol., 2012).

### **5.4. Krvácení a migrace pijavice po těle hostitele**

Další komplikací hirudoterapie je přetrvávající krvácení, na jehož následky v 19. století lidé umírali (Whitaker a kol., 2004a). Trvalé krvácení je způsobeno hirudinem obsaženém ve

slinách pijavice, jehož funkcí je inhibice trombinu. Funkce trombinu je aktivace krevních destiček a uvolňování ADP a štěpení fibrinogenu, ze kterého vytvořené krátké molekuly následně polymerují a tvoří nerozpustnou síť fibrinových vláken (Furie a Furie, 2008), a dále se ve slinách vyskytuje histamin, který zabraňuje uzavření kapilár, tudíž krvácení nadále pokračuje (Ikizceli a kol., 2005).

Riziko dlouhotrvajícího krvácení se objevuje ojediněle, avšak způsobí velké komplikace. Pijavice se mohou během terapie samovolně oddělit, migrovat po těle a způsobit další zbytečné kousnutí. Krvácení po hirudoterapii z jednoho či více míst může následovat až 18 hodin, které se dá vyřešit jediné sešitím ran (Zengin a kol., 2012) nebo v ojedinělých případech transfuzí krve (Haycox a kol., 1995). Toto riziko může nastat i v případě, že pacient neužívá žádné léky proti srážení nebo ředění krve, nebo nemá žádné hematologické problémy (Zengin a kol., 2012).

## 6. VYUŽITÍ PIJAVIC V SOUČASNOSTI

Probíhající výzkumy slin pijavic objevily spoustu bioaktivních peptidů s účinky antitrombotickými, antikoagulačními a antibakteriálními. V důsledku toho se použití pijavic vrátilo k využití při léčbě chronických a život ohrožujících abnormalit. Mezi ně patří např. kardiovaskulární problémy, rakovina, metastázy a infekční onemocnění. Ve 20. století se terapie prosadila převážně v plastické chirurgii a mikrochirurgii jako ochrana proti žilnímu překrvení (Abdualkner a kol., 2013).

### 6.1. Průběh terapie

Při hirudoterapii se používají pouze pijavice uměle odchované na biofarmách s dokladem o zdravotní nezávadnosti. Metoda aplikace a použití *H. medicinalis* k léčbě je provedena v tzv. cyklech dle povahy řešeného problému. Interval mezi cykly je vždy 60 dní. Počet přiložených pijavic a doba sání je závislá na zvažení a vyhodnocení hirudoterapeuta, dále na věku, výšce a váze pacienta (Youtube: Hirudoterapie v praxi, 2021).

Příprava na hirudoterapii vyžaduje dezinfekční ubrousek, nahřívací podložku, jednorázové rukavice, aplikační stříkačku, sterilní krytí a pohotovostní sestavu pro případ nežádoucí anafylaktické reakce. Průběh terapie spočívá v tom, že se nejprve určí místo přisátí, následuje

dezinfekce místa těkavým dezinfekčním roztokem, přiloží se nahřívací podložka kvůli prokrvení a zkrácení doby sání pijavicí; poté následuje samotné přiložení pijavice v upravené injekční stříkačce a zkontroluje se přísátí a reakce okolní tkáně. Pijavice se nechá přisátá cca 30 minut, poté se živočich odstraní a probíhá revize, ošetření místa a přelepení sterilními čtverci v několika vrstvách a zavázání tlakovým obvazem. Pijavice mají jednorázové použití, tudíž jsou po terapii hned bezpečně likvidovány (Youtube: Hirudoterapie v praxi, 2021).

Výčet několika diagnóz vhodných pro hirudoterapii: Všeobecné onemocnění kloubů (artritida, artróza, zánět šlachové pochvy, akutní diskopatie), chronické bolesti pohybového aparátu způsobené žilní nebo lymfatickou nedostatečností, abscesy, bércové vředy, otoky, atopie, alergie, křečové žíly, vysoký tlak, trombotické stavy, onemocnění močových cest, migrény, paralýzy, myomy, otoky po kastraci atd. (Youtube: Hirudoterapie v praxi, 2021).

Mezi rizikové pacienty, pro které je hirudoterapie absolutní kontraindikací jsou pacienti trpící hemofilií, anémií, mající poruchy se srážlivostí krve, či jiné krevní poruchy. Nadále ale mezi rizikové pacienty patří i ti s nemocí, která způsobuje imunosupresi, těhotné ženy, a pacienti s rakovinou nebo plísňovým onemocněním kůže (Sobczak a Kantyka, 2014).

## 6.2. Využití v praxi

Při léčbě nemocí jako je trombóza, hypertenze, ateroskleróza, varikóza a při operacích traumatických stavů jako je připojení amputovaných končetin a prstů má hirudoterapie lepší výsledky než jakákoliv jiná léčba např. pomocí léků (Ahmad a Anwar, 2009).

Terapie byla i úspěšně použita při léčbě amputované nosní špičky, nosní přepážky a horního rtu, kdy tato vážná zranění byla způsobena po pokousání psem (Miller a kol., 1998). Úspěšné bylo i použití pijavic v mikrovaskulární chirurgii u případu skalpování pokožky hlavy od šíje k obočí. Pijavice byly použity k odstranění překrvení (Henderson a kol., 1983).

Hirudoterapie se využívá i ve veterinární praxi. Nejčastější indikace veterinární hirudoterapie jsou např.: dysplazie, zánětlivé stavy, poranění (mimo jiné) šlach, fascií nebo obratlů. Nejčastějších nemocí a zranění u psů, koček a koní, při kterých byla zapojena hirudoterapie jsou:

U psů se jedná nejčastěji o pooperační rány, spinální artrózu (opotřebením kloubních ploch), diskopatie (degenerativní změny meziobratlových plotének), dysplazie kyčelního kloubu, zánět

nervů, ušní ekzém a pooperační jizvy. U koček se jedná opět o pooperační rány, diskopatie, ekzémy, abscesy, natažené vazy, dysplazie, zánět nervů a mastitida (zánět prsní žlázy). U koní byla hirudoterapie využita u léčby „mud fever“ (dermatologické onemocnění způsobené bakterií či houbou), laminitidy (onemocnění kopyt – zánět kopytní škrápy), ataxie (dyskoordinace pohybů nezpůsobena svalovou slabostí), myositidy (onemocnění svalů), spinální artrózy a artritidy (chronické onemocnění imunitního systému postihující klouby) (Sobczak a Kantyka, 2014).

V roce 1997 byl na ruský trh uveden nový antitrombotický a antikoagulační farmaceutický přípravek pod názvem Piyavit, který obsahuje sliny *H. medicinalis* jako hlavní zdroj biologicky aktivních látek. Testování přípravku probíhalo u pacientů po implantaci umělých chlopní. Piyavit se užívá tobolkovou formou perorálně. Klinické studie odhalily, že přípravek piyavit může snížit hyperkoagulabilitu krve, má protizánětlivé účinky a může být alternativou k jiným známým antitrombotikům (Baskova a kol., 1997).

### 6.3. Mechanická pijavice

Mechanická pijavice se začala vyrábět a používat k zabránění komplikací, které mohou během hirudoterapie nastat. Nevýhody hirudoterapie, které se dají odstranit díky mechanické pijavici, jsou:

- 1, Infekce střevní mikroflórou pijavic;
- 2, Migrace pijavic po těle, načež způsobí další kousnutí;
- 3, Nenávratná ztráta krve a
- 4, Psychická zátěž pacientů, přičemž pacienti preferují přístroj nad živým parazitem přisátým na jejich těle (Whitaker a kol., 2004b).

Toto zařízení se skládá ze skleněné nádoby, která má vstupní a výstupní otvor, sloužící k sání, přívodu vzduchu do nádoby a vykonávání antikoagulance. Dodávání antikoagulantu do narušené tkáně je prováděno pomocí mechanického disku z nerezové oceli, který se v ráně otáčí, a tak inhibuje koagulaci. Celé zařízení je na kůži přilepeno veterinárním lepidlem Nexaband; (Hartig a kol., 2003).

Mechanická pijavice prokázala větší účinnost při zmírnění žilního překrvení a přežití kožních laloků (Cottler a Skalak, 2001). Testování na zvířecích modelech probíhala za účelem porovnání výsledků živé pijavice a mechanického zařízení. Hodnotící kritéria byla: odebraný objem krve, změna barvy kůže, povrchová perfuse, množství kyslíku dostupného v tkáních

(měřeného jako parciální tlak) a koncová histologie. Výsledky ukázaly, že nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v objemu odebrané krve, povrchové perfusi a množství kyslíku. Hlavním rozdílem byla změna barvy kůže po zákroku. Histologické vyšetření ukázalo překrvení u 5/5 případů ošetřených pijavicí a 2/6 ošetřených mechanickou pijavicí. Rozdíl může spočívat v tom, že zařízení má schopnost proniknout do hlubší hypodermální vaskulatury, a to umožňuje odstranění překrvení ve větší oblasti působení a normalizaci barvy tkáně, i když je odebraný objem krve srovnatelný (Hartig a kol., 2003).

Mechanická pijavice se použila v praxi při operaci amputovaných prstů. U takovéto operace je nutné, aby byl správně udržován průtok krve. U amputovaných prstů bývá často problém nalezení vhodné žíly a pokud je narušena zóna I – narušení za posledním kloubem článku prstu (Yamano, 1985). Mechanická pijavice byla použita proto, aby udržela venózní odtok, dokud se vnitřní oběh nezregeneruje. Míra přežití při replantaci zóny I pomocí mechanické pijavice byla 87,5 %, kdy 7 z 8 případů amputovaných prstů přežilo úplně, u jednoho případu bylo prokázáno překrvení i po 7 dnech udržování mechanické pijavice (Kim a kol., 2014).

Vývoj takového zařízení je společensky přínosný vzhledem k nevýhodám, které má hirudoterapie jako taková. Před více jak 10 lety se očekávalo, že by zařízení začala být produkována a využívána během 2-3 let a živou pijavicí plně nahradit (Conforti a kol., 2002).

## 7. ZÁVĚR

Ve své práci jsem chtěla ukázat, jak se využití pijavic v medicínské praxi posunulo. Oproti historickému využívání pijavic na tzv. „pouštění žilou“ na téměř jakékoliv zdravotní problémy je dnes hirudoterapie využívána na konkrétní onemocnění a problémy. Nejčastější využití hirudoterapie je při všeobecných problémech s onemocněním kloubů, při chronických bolestech pohybového aparátu, bérceových vředech, otokách, křečovém žilách, vysokém tlaku, při kardiovaskulárním problémech, amputacím a při potlačování metastáz. Také se klade důraz na hygienické podmínky, ve kterých je hirudoterapie provozována a pijavice jsou uměle chovány na biofarmách a mají doklad o zdravotní nezávadnosti. Navíc jsou jasně dané kontraindikace, které předem selektují pacienty, kteří se smějí terapii zúčastnit. Hirudoterapie má za sebou nespočet úspěšných výsledků při širokém repertoáru využití.

Mezi nejzávažnější rizika hirudoterapie patří – alergické reakce, infekce a dlouhotrvající krvácení. Riziko alergických reakcí bývá komplikované právě proto, protože ne vždy je možné najít konkrétní příčinu. Sliny pijavic obsahují více než 200 proteinů a peptidů, přičemž nejsou všechny látky identifikovány. Navíc jsou známy případy, kdy se alergické reakce objevily až po opakovaném používání pijavic, tudíž senzibilace pacienta na sekret pijavice se objevuje až sekundárně po prvním použití. U rizika infekce bakterií rodu *Aeromonas* by měla být antibiotická profylaxe nezbytnou součástí hirudoterapie. Již známe několik antibiotik, která účinně zabírají jak jednotlivě, tak spolu v kombinaci. Přetrvávající krvácení je riziko, kterému se nedá nijak zabránit, ale přestože to je pro pacienty velmi nepříjemné, zpravidla to nebývá života ohrožující. Avšak dlouhotrvající krvácení kolem 17–24 h se musí řešit sešitím ran, nebo v horším (avšak ojedinělém) případě transfuzí krve, která nese svá rizika.

Přestože se vědci pokouší vymyslet různé alternativy, jako je např. aplikace hirudinu buď injekčně, nebo lokálně v podobě krému, používání alternativních přípravků, jako je pijavit, anebo mechanická pijavice, díky které lze odstranit hlavní rizika způsobené živou pijavicí, tak stejně nic zatím nedokázalo klasickou živou pijavicí plnohodnotně nahradit. Hirudoterapie je stále brána jako alternativní léčba, jejíž využití nalezneme v různých zdravotnických zařízeních, ale převážné zastoupení má v soukromých klinikách. V posledním desetiletí popularita hirudoterapie opět stoupla a je hojně využívána v USA, Rusku a Německu, kde je dokonce pijavice registrována jako léčivo a terapie je hrazena z veřejného zdravotního pojištění.

Předložená práce shrnuje poznatky o několika složkách obsažených ve slinách pijavic a jejich perspektivní využití během terapie a při medicínské a veterinární praxi. Dále tato práce předkládá výčet rizik, se kterými se můžeme během hirudoterapie setkat a shrnuje, které benefity nám hirudoterapie umožňuje, a při kterých onemocněních a abnormalitách je léčba pomocí pijavic využívána. Ráda bych se k tématu hirudoterapie v budoucnu při svém studiu parazitologie/veterinární asistence vrátila. Ve své bakalářské práci zmiňuji právě hirudoterapii ve veterinární praxi, čímž bych mohla na toto téma někdy v budoucnu navázat.

## 8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABDUALKADER A. M., GHAWI A. M., ALAAMA M., AWANG M., MERZOUK A., 2013. Leech therapeutic applications. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 75 (2), 127-137.

AHMAD T., ANWAR M., 2009. Clinical importance of leech therapy. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 8 (3), 443-445.

BASKOVA I. P., FERNER Z., BALKINA A. S., KOZIN S., KHARITONOVA O. V., ZAVALOVA L. L., ZGODA V. G., 2008a. Steroids, histamine and serotonin in medicinal leech salivary gland secretion. *Biomeditsinskaja khimiia*, 54 (2), 127-139.

BASKOVA I. P., KONSTRJUKOVA E. S., VLASOVA M. A., KHARITONOVA O. V., LEVITSKIY S. A., ZAVALOVA L. L., MOSHKOVSKII S. A., LAZAREV V. N., 2008b. Protein and peptides of the salivary gland secretion of medicinal leeches *Hirudo verbana*, *H. medicinalis*, and *H. orientalis*. *Biochemistry (Mosc)*, 73 (3), 315-320. doi: 10.1134/s0006297908030127

BASKOVA I. P., KOROSTELEV A. N., CHIRKOVA L. D., ZAVALOVA L. L., BASANOVA A. V., DOUTREMEPUICH C., 1997. Piyavit from the medicinal leech is a new orally active anticoagulating and antithrombotic drug. *Clinical and Applied thrombosis/hemostasis*, 3 (1), 40-45. doi: 10.1177/107602969700300106

BRAUN N. J., SCHNEBLI H. P., 1987. Interaction of Eglin c with polymorphonuclear cells: evidence for binding to the cell surface. *Biological chemistry Hoppe-Seyler*, 368 (2), 155-161. doi: 10.1515/bchm3.1987.368.1.155

CARDIN A. D., SUNKARA S. P., 1994. Ghilanten antimetastatic principle from the South American leech, *Haementeria ghillianii*. United States Patent. US0005447911A. 1995-09-05. Dostupné z: <https://patentimages.storage.googleapis.com/c3/c1/16/08db6a4a982224/US5447911.pdf>

CONFORTI M. L., CONNOR N. P., HEISEY D. M., VANDERBY R., KUNZ D., HARTIG G. K., 2002. Development of a mechanical device to replace medicinal leech (*Hirudo medicinalis*) for treatment of venous congestion. *Journal of rehabilitation research and development*, 39 (4), 497-504.

COTTLER P. S., SKALAK T. C., 2001. Development of a clinically useful mechanical leech device that promotes flap survival in an animal model of venous – congested skin flaps. *Annals of plastic surgery*, 47 (2), 138-147. doi: 10.1097/00000637-200108000-00006

DECKMYN H., STASSEN J. M., VREYS I., VAN HOUTTE E., SAWYER R. T., VERMYLEN J., 1995. Calin from *Hirudo medicinalis*, an inhibitor of platelet adhesion to collagen, prevents platelet – rich thrombosis in hamsters. *Blood*, 85 (3), 712-719.



- ELLIOTT J. M., 2008. Population size, weight distribution and food in a persistent population of the rare medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *Freshwater Biology*, 53 (8), 1502-1512. doi: 10.1111/j.1365-2427.2008.01978.x
- ELLIS J., BARRATT J., KAUFER A., PEARN L., ARMSTRONG B., JOHNSON M., PARK Y., DOWNEY L., CAO M., NEILL L., LEE R., ELLIS B., TYLER K., LUN Z.-R., STARK D., 2021. A new subspecies of *trypanosoma cyclops* found in the Australian terrestrial leech *Chtonobdella bilineata*. *Parasitology*, 148 (10), 1125-1136. doi: 10.1017/S0031182021000639
- EROGLU C., HOKELEK M., GUNEREN E., ESEN S., PEKBAY A., UYSAL O. A., 2001. Bacterial flora of *Hirudo medicinalis* and their antibiotic sensitivities in the Middle Black Sea Region, Turkey. *Annals of plastic surgery*, 47 (1), 70-73. doi: 10.1097/00000637-200107000-00013
- FALIH N., NAJI Z., ALSALIHI M. A. A. S., 2019. Leeches review: Biology, Ecology and Medical Important. *Indian Journal of Public Health research and development*, 10 (10), 2586. doi: 10.5958/0976-5506.2019.03254.6
- FENOLLAR F., FOURNIER P. E., LEGRE R., 1999. Unusual case of *Aeromonas sobria* cellulitis associated with the use of leeches. *European journal of clinical mikrobiology and infestious diseases*, 18 (1), 72-73. doi: 10.1007/s100960050232
- FENTON J. W., BING D. H., 1986. Thrombin active – site regions. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 12 (3), 200-208. doi: 10.1055/s-2007-1003551
- FRASER J. R., LAURENT T. C., LAURENT U. B., 1997. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of internal medicine*, 242 (1), 27-33. doi: 10.1046/j1365-2796.1997.00170.x
- FURIE B., FURIE B. C., 2008. Mechanisms of thrombus formation. *The new England journal of medicine*, 359 (9), 938-949. doi: 10.1056/NEJMra0801082
- GRAF J., KIKUCHI Y., RIO R. V. M., 2006. Leeches and their microbiota: naturally simple symbiosis models. *Trends in Microbiology*, 14 (8), 365-371. doi: 10.1016/j.tim.2006.06.009
- GRONWALD W., BOMMKE J., MAUER T., DOMOGALLA B., HUBER F., SCHUMANN F., KREMER W., FINK F., RYSIOK T., FRECH M., KALBITZER H. R., 2008. Structure of the leech protein saratin and characterization of its binding to collagen. *Journal of Molecular Biology*, 381 (4), 913-927. doi: 10.1016/j.jmb.2008.06.034
- HARE C. J., 1883. Good remedies – out of fashion. J. & A. Churchil. London. 30-34.
- HARTIG G. K., CONNOR N. P., HEISEY D. M., CONFORTI M. L., 2003. Comparing a mechanical device with medicinal leeches for treating venous congestion. *Otolaryngology – head and neck surgery*, 129 (5), 556-564. doi: 10.1016/S0194-59980301587-0

- HAYCOX C. L., ODLAND P. B., COLTRERA M. D., RAUGI G. J., 1995. Indications and complications of medicinal leech therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 33 (6), 1053-1055. doi: 10.1016/0190-9622(95)90320-8
- HELDT T. J., 1961. Allergy to leeches. *Henry Ford Hospital Medical Bulletin*, 9 (4), 498-519. <https://scholarlycommons.henryford.com/hfhmedjournal/vol9/iss4/3>
- HENDERSON H. P., MATTI B., LAING A. G., MORELLI S., SULLY L., 1983. Avulsion of the scalp treated by microvascular repair: the use of leeches for post-operative decongestion. *British journal of plastic surgery*, 36 (2), 235-239. doi: 10.1016/0007-1226(83)90099-1
- HILDEBRANDT J.-P., LEMKE S., 2011. Small bite, large impact – saliva and salivary molecules in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *Naturwissenschaften*, 98 (12), 995-1008. doi: 10.1007/s00114-011-0859-z
- Hirudoterapie v praxi. In: *Youtube* [online]. 28.10. 2021 [cit. 2024-05-20]. Dostupné z: <https://www.youtube.com/watch?v=zv0rzO3IW8&t=2s>. Kanál uživatele Frantisek Zahradka.
- HORNEBECK W., SOLEIHAC J. M., TIXIER J. M., MOCZAR E., ROBERT L., 1987. Inhibition by elastase inhibitors of the formyl Met Leu Phe- induced chemotaxis of rat polymorphonuclear leukocytes. *Cell biochemistry and function*, 5 (2), 113-122. doi: 10.1002/cbf.290050206
- HOVINGH P., LINKER A., 1999. Hyaluronidase activity in leeches (*Hirudinea*). *Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & molecular biology*, 124 (3), 319-326. doi: 10.1016/s0305-0491(99)00128-5
- IKIZCELI I., AVSAROGULLARI L., SOZUER E., YURUMUZ Y., AKDUR O., 2005. Bleeding due to a medicinal leech bite. *Emergency medicine journal*, 22 (6), 458-460. doi: 10.1136/emj.2003.013847
- JOHNSON P. H., 1994. Hirudin: Clinical potential of a thrombin inhibitor. *Annual review of medicine*, 45, 165-177. doi: 10.1146/annurev.med.45.1.165
- KARADAG A. S., CALKA O., AKDENIZ N., CECEN I., 2011. A case of irritant contact dermatitis with leech. *Cutaneous and ocular toxicology*, 30 (3), 234-235. doi: 10.3109/15569527.2010.547543
- KIM S. W., HAN H. H., JUNG S.-N., 2014. Use of the Medicinal leech for successful zone I replantation. *Scientific World Journal*, 10 (5), 234. doi: 10.1155/2014/105234
- LENT C., 1986. New medical and scientific uses of the leech. *Nature*, 323 (6088), 494. doi: 10.1038/323494a0
- MARKWARDT F., 1991a. Hirudin and derivatives as anticoagulant agents. *Thrombosis and Haemostasis*, 66 (1), 141-152.
- MARKWARDT F., 1991b. Past, Present and Future of hirudin. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, 21 (1), 11-26. doi: 10.1159/000216258

- MARSHALL I., 1984. Characterization and distribution of histamine H1 – and H2 – receptors in precapillary vessels. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 4 (5), 87-97. doi: 10.1097/00005344-198406004-00005
- MILLER P. J., HERTLER C., ALEXIADES G., COOK T. A., 1998. Replantation of the amputated nose. *Archives of otolaryngology – head and neck surgery*, 124 (8), 907-910. doi: 10.1001/archotol.124.8.907
- MORY R. N., MINDELL D., BLOOM D.A., 2000. The leech and the physician: biology, etymology, and medical practise with *Hirudinea medicinalis*. *World journal of surgery*, 24 (7), 878-883. doi: 10.1007/s002680010141
- MOSER M., AUERSWALD E., MENTELE R., ECKERSKORN C., FRITZ H., FINK E., 1998. Bdellastasin, a serine protease inhibitor of the antistasin family from the medical leech (*Hirudo medicinalis*) —primary structure, expression in yeast, and characterisation of native and recombinant inhibitor. *European journal of biochemistry*, 253 (1), 212-220. doi: 10.1046/j.1432-1327.1998.2530212.x
- MUNRO R., SIDDALL M.E., DESSER S. S., SAWYER R. T., 1991. Bleeding in human volunteers from the bite of the American medicinal leech *Macrobdella decora* compared with its European counterpart *Hirudo medicinalis*. *Comparative Haematology International*, 1 (4), 214-216. doi: 10.1007/BF00235373
- NEHILI M., ILK C., MEHLHORN H., RUHNAU K., DICK W., NJAYOU M., 1994. Experiments on the possible role of leeches as vectors of animal and human pathogens: a light and electron microscopy study. *Parasitology research*, 80 (4), 277-290. doi: 10.1007/BF02351867
- O'DEMPSEY T., 2012. Leeches—the good, the bad and the wiggly. *Paediatrics and international child health*, 32 (2), 16-20. doi: 10.1179/2046904712Z.00000000074
- OKKA B., 2013. Hirudotherapy from Past to Present. *European journal of basic medical sciences*, 3 (3), 61-65. doi: <https://doi.org/10.21601/ejbms/9204>
- PAYNE V., KAM P. C. A., 2004. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia*, 59 (7), 695-703. doi: 10.1111/j.1365-2044.2004.03757.x
- PETRAUSKIENE L., UTEVSKA O., UTEVSKY S., 2011. Reproductive biology and ecological strategies of three species of medicinal leeches (genus *Hirudo*). *Journal of Natural History*, 45 (11-12), 737-747.
- PIETRZAK A., KANITAKIS J., TOMASIEWICZ K., WAWRZYCKI B., KOZLOWSKA-LOJ J., DYBIEC E., CHODOROWSKA G., 2012. Cutaneous complications of improper leech application. *Annals of agricultural and environmental medicine: AAEM*, 19 (4), 790-792.
- RAFF A. B., KROSHINSKY D., 2016. Cellulitis: A Review. *JAMA*, 316 (3), 325-337. doi: 10.1001/jama.2016.8825

RIBEIRO J. M., MAKOUL G. T., LEVINE J., ROBINSON D. R., SPIELMAN A., 1985. Antihemostatic, antiinflammatory, and immunosuppressive properties of the saliva of a tick, *Ixodes dammini*. *The journal of experimental medicine*, 161 (2), 332-344. doi: 10.1084/jem.161.2.332

RIGBI M., LEVY H., IRAQI F., TEITELBAUM M., OREVI M., ALAJOUTSIJARVI A., HOROVITZ A., GALUN R., 1987. The saliva of the medicinal leech *Hirudo medicinalis*—I. Biochemical characterization of the high molecular weight fraction. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, 87 (3), 567-573. doi: 10.1016/0305-0491(87)90053-8

RIGBI M., OREVI M., ELDOR A., 1996. Platelet aggregation and coagulation inhibitors in leech saliva and their roles in leech therapy. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 22 (3), 273-278. doi: 10.1055/s-2007-999019

ROLLESTON J. D., 1939. F. J. Broussais (1772-1838). His life and Doctrines: (Section of the History of Medicine). *Proceeding of the Royal Society of Medicine*, 32 (5), 405-413.

ROONEY A., 2017. Příběh medicíny: od prvních felčanů po zázraky moderního lékařství. 1. vydání. Omega. 106-108 s. ISBN: 978-80-7390-580-4

ROTTERS F. J., ZEBE E., 1992. Protease inhibitors in the alimentary tract of the medicinal leech *Hirudo medicinalis*: in vivo and in vitro studies. *Journal of comparative physiology, B, Biochemical, systematic, and environmental physiology*, 162 (1), 85-92. doi: 10.1007/BF00257940

SEEMULLER U., EULITZ M., FRITZ H., STROBL A., 1980. Structure of the elastase – cathepsin G inhibitor of the leech *Hirudo medicinalis*. *Hoppe Seylers Zeitschrift fur physiologische Chemie*, 361 (12), 1841-1846.

SIDDALL M. E., TRONTELJ P., UTEVSKY S. Y., NKAMANY M., MYCDONALD K. S., 2007. Diverse molecular data demonstrate that commercially available medicinal leeches are not *Hirudo medicinalis*. *Proceedings. Biological sciences*, 274 (1617), 1481-1487. doi: 10.1098/rspb.2007.0248

SINGH A. P., 2010. Medicinal leech therapy (hirudotherapy): a brief overview. *Complementary therapies in clinical practice*, 16 (4), 213-215. doi: 10.1016/j.ctcp.2009.11.005

SOBCZAK N., KANTYKA M., 2014. Hirudotherapy in veterinary medicine. *Annals of parasitology*, 60 (2), 89-92.

SOLLNER C., MENTELE R., ECKERSKORN C., FRITZ H., SOMMERHOFF C. P., 1994. Isolation and characterization of hirustatin, an antistasin-type serine – proteinase inhibitor from the medical leech *Hirudo medicinalis*. *European journal of biochemistry*, 219 (3), 937-943. doi: 10.1111/j.1432-1033.1994.tb18575.x

SOMMERHOFF C. P., SOLLNER C., MENTELE R., PIECHOTTKA G. P., AUERSWALD E. A., FRITZ H., 1994. A Kazal-type inhibitor of human mast cell tryptase: isolation from the

medical leech *Hirudo medicinalis*, characterization, and sequence analysis. *Biological chemistry Hoppe-Seyler*, 375 (10), 685-694. doi: 10.1515/bchm3.1994.375.10.685

TASIEMSKI A., SALZET M., 2012. Use of extract of leeches as anti-bacterial agent. United States. Patent Application Publication. US20120251625A1. 2012-10-04. Dostupné z: <https://patentimages.storage.googleapis.com/3c/cb/10/3cad04045289af/US20120251625A1.pdf>

TRONTELJ P., UTEVSKY S. Y., 2005. Celebrity with a neglected taxonomy: molecular systematics of the medicinal leech (genus *Hirudo*). *Molecular phylogenetics and evolution*, 34 (3), 616-624. doi: 10.1016/j.ympev.2004.10.012

UTEVSKY S., ZAGMAJSTER M., ATEMASOV A., ZINENKO O., 2010. Distribution and status of medicinal leeches (genus *Hirudo*) in the Western Palaearctic: anthropogenic, ecological, or historical effect? *Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems*, 20 (2), 198-210. doi: 10.1002/aqc.1071

WHITAKER I. S., IZADID., OLIVER D. W. MONTEATH G., BUTLER P. E., 2004a. *Hirudo medicinalis* and the plastic surgeon. *British journal of plastic surgery*, 57 (4), 348-353. doi: 10.1016/j.bjps.2003.12.016

WHITAKER I. S., RAO J., IZADI D., BUTLER P. E., 2004b. Historical Article: *Hirudo medicinalis*: ancient origins of, and trends in the use of medicinal leeches throughout history. *The British journal of oral and maxillofacial surgery*, 42 (2), 133-137. doi: 10.1016/S0266-4356(03)00242-0

WHITLOCK M. R., O'HARE P. M., SANDERS R., MORROW N. C., 1983. The medicinal leech and its use in plastic surgery: a possible cause for infection. *British journal of plastic surgery*, 36 (2), 240-244. doi: 10.1016/0007-1226(83)90100-5

YAMANO Y., 1985. Replantation of the amputated distal part of the fingers. *The journal of hand surgery*, 10 (2), 211-218. doi: 10.1016/s0363-5023(85)80107-6

YANES O., VILLANUEVA J., QUEROL E., AVILES F. X., 2005. Functional screening of serine protease inhibitors in the medicinal leech *Hirudo medicinalis* monitored by intensity fading MALDI-TOF MS. *Molecular and cellular proteomics: MCP*, 4 (10), 1602-1613. doi: 10.1074/mcp.M500145-MCP200

YIP J., SHEN Y., BERNDT M. C., ANDREWS R. K., 2005. Primary platelet adhesion receptors. *IUBMB Life*, 57 (2), 103-108. doi: 10.1080/15216540500078962

YOUSEF G. M., DIAMANDIS E. P., 2001. The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocrine reviews*, 22 (2), 184-204. doi: 10.1210/edrv.22.2.0424

ZAVALOVA L. L., BASKOVA I. P., LUKYANOV S. A., SASS A. V., SNEZHKOVA E. V., AKOPOV S. B., ARTAMONOVA I. I., ARCHIPOVA V. S., NESMEYANOV V. A., KOZLOV D. G., BENEVOLENSKY S. V., KISELEVA V. I., POVERENNY A. M., SVERDLOV E. D., 2000. Destabilase from the medicinal leech is a representative of a novel family of lysozymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 14 (78), 69-77.

ZAVALOVA L. L., YUDINA T. G., ARTAMONOVA I. I., BASKOVA I. P., 2006. Antibacterial non-glycosidase activity of invertebrate destabilase – lysozyme and of its helical amphipathic peptides. *Chemotherapy*, 52 (3), 158-160. doi: 10.1159/000092904

ZENGIN S., YARBIL P., KILIC H., AL B., 2012. Prolonged bleeding due to a medicinal leech bite: another treatment method, primary suture. *BMJ case reports*, bcr0220125759, doi: 10.1136/bcr.02.2012.5759