

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

ČAS. LÉK. ČES., 144
2005, č. 11, s. 777-864
CLC EAL 144 (4)
777-864 (2005)

INDEXED IN:
EMBASE/Excerpta Medica
MEDLINE/Index Medicus
INIS Atomindex
CHEMICAL ABSTRACTS
Excerptováno v Bibliographia
medica czechoslovaca

ROČNÍK 144 / 2005, č. 12

VEDOUcí REDAKTOR

Doc. MUDr. Petr Barták, CSc.
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

REDAKČNÍ RADA

Prof. MUDr. Pavel Barták, CSc.
Dermatovenerologická klinika 3. LF UK a FNKV
Šrobárova 50, 100 00 Praha 10

Prof. MUDr. Jaroslav Blabůš, DrSc.
ÚVN, 169 02 Praha 6

Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
Ústav hematologie a krevní transfuze
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

Prof. MUDr. Evžen Čech, DrSc.
Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN
Apolinářská 18, 128 08 Praha 2

Prof. MUDr. Jan Dvořáček, DrSc.
Urologická klinika 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 6, 128 00 Praha 2

MUDr. Norbert Gaier, CSc.
Farmakologický ústav 1. LF UK a VFN
Albertov 4, 128 00 Praha 2

Prof. MUDr. Miloš Hájek, DrSc.
Chirurgická klinika ÚVN
U Vojenské nemocnice 1/200, 169 02 Praha 6

Pavel Hamet, M.D., PhD.
Centre hospitalier de l'université de Montreal
Hotel Dieu, 3840, rue Saint-Urban
Montreal (Québec) H2W 1T8, Canada

Prof. MUDr. Jan Holčák, DrSc.
Ústav sociálního lékařství LF MU
Komenského nám. 2, 662 43 Brno

Prof. MUDr. Zbyněk Hrnčíř, DrSc.
II. interní klinika LF UK a FN
Pospíšilova 13, 500 05 Hradec Králové

MUDr. Pavel Jerie
Leymenstrasse 49
4153 Reinach, BL 1
Švýcarsko

Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.
I. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Doc. MUDr. Josef Kopecký, DrSc.
Zdravotně sociální fakulta Ostravské univerzity
Syllabova 19, 703 00 Ostrava - Zábřeh

MUDr. Lubomír Kukla, CSc.
Oddělení preventivní a sociální pediatrie LF MU
Bieblova 16, 613 00 Brno

Prof. MUDr. Jan Petrášek, DrSc. – čestný člen redakční rady
III. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.
Onkologická klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Prof. Alexander Schirger, M.D.
Mayo Clinic, Hypertension W-9
Rochester, Minnesota 55905, USA

Doc. MUDr. Petr Smolík, CSc.
Psychiatrická klinika LF UK a FN
500 05 Hradec Králové

Prof. MUDr. Martin Vizek, CSc.
Ústav patologické fyziologie 2. LF UK
Plzeňská 130/221, 150 00 Praha 5

Prof. MUDr. Eduard Zvěřina, DrSc.
Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FNM
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Doc. MUDr. Aleš Žák, DrSc.
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

KONZULTANTI

Prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc.
Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 2, 121 09 Praha 2

Prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc.
Neurologická klinika 1. LF UK a VFN
Kateřinská 30, 120 21 Praha 2

Prof. MUDr. Marie Pešková, DrSc.
I. chirurgická klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

OBSAH

Přehledové články
Filip S., Mokřý J., Pudil R.: Současný pohled na plasticitu kmenových buněk a buněčnou terapii 779
 Komentář *Bartůněk P.* 783
Krejsek J., Kuneš P., Andrys C., Holická M., Novosad J., Kudlová M., Koláčková M.: Přirozená imunita, receptory pro exogenní a endogenní nebezpečné vzory v imunopatogenezi aterosklerózy – I. část: Přirozená imunita, rozlišení signálů nebezpečí 785
Krejsek J., Kuneš P., Andrys C., Holická M., Novosad J., Kudlová M., Koláčková M.: Přirozená imunita, receptory pro exogenní a endogenní nebezpečné vzory v imunopatogenezi aterosklerózy – II. část: Receptory TLR, význam polymorfismu receptorů pro nebezpečné vzory 790
Habart D.: Molekulární diagnostika hemofilie A v klinické praxi 795
Češková E.: Kognitivní dysfunkce a její léčba – výzva pro 21. století 801
Malina L.: Nemelaninové dyschromie 805
Kudrna K., Konří P.: Mozaiková plastika po poranění kolena 808

Původní práce
Zemanová M., Petruželka L., Pazdrová G., Haluzík M., Novák F., Svobodník A.: Změny leptinu, leptinového receptoru a mastných kyselin v průběhu chemoradioterapie u nemocných s karcinomem jícnu 811
Louda M., Vokurková D., Šimáková E.: Apoptóza u buněk uroteliálního karcinomu 817
Úrge T., Hora M., Hes O., Chudáček Z.: Renální angiomyolipom, histologie, diagnostika a terapie 821
 Komentář *Bábjuk P.* 824
Rožková D., Horváth R., Bartůňková J., Špišek R.: Glukokortikoidy a jejich vliv na funkci dendritických buněk 825
 Komentář *Tichý J.* 832

Kazuistika
Vojáčková N., Hejčmanová I., Schmiedbergerová R., Hercogová J.: Kombinovaná imunosupresivní terapie u pacienta s pemfigus vulgaris a vedlejší účinky léčby 833

Bartoš V., Bobrovská M., Plank L., Čiljak M.: Kongenitální pulmonální arteriovenózní fistula 836

Speciální sdělení
Nešpor K., Csémy L.: Krátká intervence pro problémy působené alkoholem může probíhat v různých prostředích 840

Dějiny lékařství
Kršík M.: Sto let od publikace první české učebnice farmakologie 844
Kilian J.: 110. výročí úmrtí lékaře a vlastence Viléma Dušana Lambly (1824–1895) 847
Hach P.: Jeden ze slavných zapomenutých 849
Kropáček L.: Albert Schweitzer a dnešek 851

Diskuzní příspěvek
Sucharda P.: Ke komentáři k článku Kabrnové K. a Hainera V. „Úloha jednotlivých nutričních faktorů v redukčním režimu“ 853
Sobotka L.: Odpověď na reakci výboru Obesitologické společnosti 853
Spáčil J.: K článku P. Jehličky a O. Mayera jr. „Pilotní studie nové možnosti neinvazivního hodnocení dysfunkce endotelu pomocí analýzy charakteru postokluzního průtoku a brachialis“ 854
Hercogová J.: Recenze? 854

Sjezd
Emmerová M.: XVI. kongres hyperbarické medicíny 855

Osobní zprávy 856
Zprávy 859
Knihy 784, 800, 839, 848, 863
Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých 861
Nejvýznamnější osobnosti pražské lékařské fakulty
Svobodný P.: Rudolf Jedlička 864
Rejstřík 2005

CONTENTS

(No. 12, 1st December 2005) Journal of Czech Physicians

Review Articles
Filip S., Mokřý J., Pudil R.: Present View on the Stem Cell Plasticity and Cell Therapy 779
 Commentary *Bartůněk P.* 783
Krejsek J., Kuneš P., Andrys C., Holická M., Novosad J., Kudlová M., Koláčková M.: Innate Immunity, Receptors for Exogenous and Endogenous Danger Patterns in Immunopathogenesis of Atherosclerosis – Part I: Identification of Danger Signals by Innate Immunity 785
Krejsek J., Kuneš P., Andrys C., Holická M., Novosad J., Kudlová M., Koláčková M.: Innate Immunity, Receptors for Exogenous and Endogenous Danger Patterns in Immunopathogenesis of Atherosclerosis – Part II: TLR Receptors, Significance of Genetic Polymorphism of Danger Signals Receptors 790
Habart D.: Molecular Diagnosis of Haemophilia A in Clinical Practice 795
Češková E.: Cognitive Dysfunction and its Therapy 801
Malina L.: Non-melanocytic Dyschromias 805
Kudrna K., Konří P.: Mosaoplasty in the Treatment of Knee Injuries 808

Original Articles
Zemanová M., Petruželka L., Pazdrová G., Haluzík M., Novák F., Svobodník A.: Changes in Leptin, Leptin Receptor and Fatty Acids Levels During Chemoradiotherapy for Oesophageal Cancer 811
Louda M., Vokurková D., Šimáková E.: Apoptosis of Urothelial Carcinoma Cells 817
Úrge T., Hora M., Hes O., Chudáček Z.: Renal Angiomyolipoma, Histology, Diagnostics and Therapy 821
 Commentary *Bábjuk P.* 824
Rožková D., Horváth R., Bartůňková J., Špišek R.: Glucocorticoids and their Effect on Dendritic Cell Function 825
 Commentary *Tichý J.* 832

Case Reports
Vojáčková N., Hejčmanová I., Schmiedbergerová R., Hercogová J.: Combined Immunosuppressive Therapy in Patients with Pemphigus vulgaris and its Side Effects 833

Bartoš V., Bobrovská M., Plank L., Čiljak M.: A Congenital Pulmonary Arteriovenous Fistula 836

Special Articles
Nešpor K., Csémy L.: Brief Intervention for Alcohol-related Problems Can Be Used at Various Environments 840

History of Medicine
Kršík M.: One Hundred Years Since the First Czech Textbook of Pharmacology 844
Kilian J.: 110 Years from the Death of the Medical Doctor and Patriot Vilém Dušan Lambli (1824–1895) 847
Hach P.: One of the Eminent Forgotten 849
Kropáček L.: Albert Schweitzer Today 851

Discussion
Sucharda P.: Ad Commentary to the Article Kabrnová K. and Heiner V. “Role of Nutritional Factors in the Weight Management” 853
Sobotka L.: Response to the Reaction of the Committee of the Obesitological Society 853
Spáčil J.: To the Article Jehlička P., Mayer O. jr. “Pilot study of Noninvasive Assessment of Endothelial Dysfunction by Post-occlusion Dopplerometry Velocity Curves Analysis in Arteria Brachialis” 854
Hercogová J.: Recension? 854

Congress
Emmerová M.: XVth Congress of Hyperbaric Medicine 855

Personal News 856
News 859
Books 784, 800, 839, 848, 863
Instructions to Authors of the Journal of Czech Physicians
The Most Eminent Personalities of the Prague Medical Faculty
Svobodný P.: Rudolf Jedlička 864
Index 2005

<http://www.clsjep.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2005

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Vydává Česká lékařská společnost J: Ev. Purkyně, Sokolská 31, 120 26 Praha 2.
 Vedoucí redaktor doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc. Odpovědná redaktorka Mgr. Helena Glezgová.

Příspěvky do Časopisu lékařů českých procházejí zdvojeným recenzním řízením.
Articles published in the Journal of the Czech Physicians subject to double review.

Tiskne: Tiskárna Prager – LD s.r.o., Kováků 9, 150 00 Praha 5.

Rozšiřuje: V České republice Nakladatelství Olympia, a.s., Praha, do zahraničí (kromě SR) – Myris Trade s.r.o., V Štíhlách 1311/3, P.O. Box 2, 142 01 Praha 4, ve Slovenské republice Mediaprint Kapa Pressegross, a.s., oddelenie inej formy predaja, P.O. BOX 183, Vajnorská 137, 831 04 Bratislava, tel.: 02/444 588 21, fax: 02/444 588 19, e-mail: predplatne@abompkapa.sk.

Vychází 12x ročně. Předplatné na rok 1152 Kč (1560 Sk), jednotlivé číslo 96 Kč (130 Sk).
 Informace o předplatném podává a objednávky českých předplatitelů přijímá: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 296 181 805 – Jana Špalová, e-mail: spalova@cls.cz
 Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Inzertní oddělení ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 224 266 253, tel./fax: 224 266 265, e-mail: ntsinzerce@cls.cz
 Registrační značka MK ČR E 77.

Rukopisy zasílejte na adresu doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc., IV. interní klinika I. LF UK a VFN, U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2.
 Rukopis předán do výroby dne 16. 9. 2005. Zaslání příspěvků se nevracejí, jsou archivovány ČSL JEP. Vydavatel získá otiskem příspěvku výlučné nakladatelské právo k jejich užití. Otiské příspěvky autorů nejsou honorovány, autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu, Vydavatel a redakční rada upozorňují, že za obsah a jazykové zpracování inzerátů a reklam odpovídá výhradně inzerent. Žádná část tohoto časopisu nesmí být kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování v jakémkoliv formě či jakýmkoliv způsobem, ať již mechanickým či elektronickým včetně pořizování fotokopii, nahrávek, informačních databází na mechanických nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění. Zpracování pro internet provádí: NT Servis s. r.o., U Kněžské louky 2124/53, 130 00 Praha 3, tel.: 284 818 342–3, fax: 284 820 966, e-mail: ntservis@ntservis.cz, internet: www.ntservis.cz

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Současný pohled na plasticitu kmenových buněk a buněčnou terapii

¹Filip S., ²Mokrý J., ³Pudil R.

¹Onkologická a radioterapeutická klinika FN, Hradec Králové

²Ústav histologie a embryologie LF UK, Hradec Králové

³I. interní klinika FN, Hradec Králové

SOUHRN

Jedním z nejspornějších problémů v současné biologii a medicíně je existence plasticity kmenových buněk. Experimentální biologie a medicína pracuje s kmenovými buňkami a s využitím buněčné terapie již více než 20 let. Termínem plasticita se míní fenotypový potenciál kmenových buněk, který je širší, než jsou fenotypy diferencovaných buněk jejich původních tkání. Mnoho laboratoří již podalo důkaz o existenci plasticity kmenových buněk, ale vznikla celá řada námitek k prezentovaným výsledkům. Prezentujeme některé z námitek zpochybňující údaje o plasticitě kmenových buněk. Ve sdělení chceme poukázat na některé otázky a problémy spojené s plasticitou kmenových buněk, otázkami transdiferenciace a fúze buněk. Z dosavadních experimentálních výsledků můžeme říci, že kmenové buňky budou mít klíčovou úlohu v buněčné terapii. Toto sdělení představuje určitou sondu a úvod do diskuze určené pro plasticitu kmenových buněk a buněčnou terapii.

Klíčová slova: kmenové buňky, plasticita, transdiferenciace, buněčná terapie.

SUMMARY

Filip S., Mokrý J., Pudil R.: Present View on the Stem Cell Plasticity and Cell Therapy

The most controversial problem in the present biology and medicine is the existence of stem cell plasticity. Experimental biology and medicine have been working with stem cells and stem cell therapy more than twenty years. The term plasticity, as it is understood, is the potential of stem cell phenotypes that is much broader than phenotypes of differentiated cells of their original tissues. Many laboratories have documented the existence of stem cell plasticity; however, many objections to the reported results still exist. Here, we present some of these objections questioning the data on stem cell plasticity. We wish to point out some problems associated with plasticity of stem cells, transdifferentiation and cell fusion. Recent experimental results indicate that stem cells may have a key role in stem cell therapy. This review is an introductory discussion on the stem cell plasticity and stem cell therapy.

Key words: stem cells, plasticity, transdifferentiation, stem cell therapy.

Fi.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 779–783.

V současné době je v biologii a medicíně jedním z nejvíce sledovaných problémů existence plasticity kmenových buněk. Diskuze o „transdiferenciaci“ nebo „plasticitě“ dokáže zaujmout a vyvolává čistě vědecké, ale také až fantastické představy.

Plasticitu lze popsat jako vzájemnou zastupitelnost orgánově specifických kmenových buněk. V určité tkáni produkuje orgánově specifická kmenová buňka diferencované elementy charakteristické pro danou tkáň. Za určitých podmínek lze takovéto kmenové buňky přimět k tvorbě elementů, které se v původní tkáni vůbec nevyskytují (1). Termínem plasticita se míní fenotypový potenciál tkáňových kmenových buněk, který je širší, než jsou fenotypy diferencovaných buněk jejich výchozí tkáně. Bylo zjištěno, že například neurální kmenové buňky mohou produkovat hematopoetické (2) nebo myogenní buňky (3). Dalším vhodným příkladem jsou stromální kmenové buňky kostní dřeni, které mohou generovat nervové a gliové buňky (4), kardiomyocyty (5), pneumocyty, hepatocyty a další (6). Nejprve byla schopnost přeměny kmenových buněk zaznamenána v případech, kdy orgánově specifické kmenové buňky tvořily buňky sice odlišného typu, ale shodného embryonálního

původu, tzn., že orgánově specifické kmenové buňky a buňky s ní vzniklé pocházely ze stejného zarodečného listu (*intra-germ layer conversion*). Posléze byla prokázána i přeměna orgánově specifické kmenové buňky v buňky pocházející z jiného zarodečného listu, než z jakého je odvozena původní kmenová buňka (*trans-germ layer conversion*).

Další výzkum naznačil, že v některých případech by místo zdánlivého reprogramování dospělých kmenových buněk mohlo docházet k buněčné fúzi. Smith et al. doložili, že při kultivaci adultní buňky kostní dřeni nebo neurální kmenové buňky s embryonálními kmenovými (ES) buňkami, občas tyto dva typy vytvořily hybridy, které vypadaly jako ES buňky, ale měly abnormální morfologii, vyšší počet chromozómů a byly geneticky nestálé (7). Tyto studie pochybovaly jen o těch pozorováních plasticity, která zahrnovala kokultivaci dvou typů buněk. Přestože k fúzi obou buněčných typů zřejmě přispěly mimořádně nepříznivé kultivační podmínky, v nichž byly buňky exponovány řadě selekčních agens, zděšení z této fúze dalo podnět pro sestavení přísných norem pro průkaz plasticity. Anderson, Gage a Weissman, kteří předložili tento soubor

norem (8, 9), požadují, aby buňky byly na začátku experimentu nejdříve řádně identifikovány, protože i jediná cizí buňka ve zdanlivě purifikované kultuře by mohla vést k zavádějícím výsledkům. Průkaz exprese nových proteinů nepostačuje; je nutno doložit, že buňky přispívají k tkáňovým funkcím hostitele: k přenosu vzruchů v nervovém systému nebo k odstraňování odpadních produktů z krve v játrech. To znamená, že jediná, dobře charakterizovaná dárcovská buňka musí být schopná vytvořit „robustní“ populaci, a ne pouze pár roztroušených buněk v nové tkáni. Plasticita by měla být přirozeným jevem, což značí, že buňky musí fungovat v tkáni hostitele trvale, aniž by došlo při kultivaci k jejich změně (8, 9). Tyto podmínky vedou k vášnivě diskuzi (10) a někteří vědci na tomto poli souhlasí, že buňky je třeba lépe charakterizovat a prokazovat jejich funkčnost. V současné době došlo k značnému pokroku ale i přesto nebylo zatím dosaženo souhlasu v tom, kolik funkčních skoků musí tyto buňky absolvovat, aby bylo možno výsledek pokládat za plasticitu (10).

Zatím žádná ze studií, které chtěly prokázat plasticitu, plně nesplňuje přísná kritéria stanovená Weissmanem, Andersonem a Gagem (8, 9). Připomeňme si experimenty Krausové et al., kteří použili buňky, jež se při kultivaci nezměnily, a kteří prokázali, že jediná krevní kmenová buňka může dát vznik mnoha buněčným typům (6). Problém však zůstává v hledání důkazu buněčné fúze. Lagasse et al. například zůstávají skeptičtí, protože se domnívají, že buňky od prvního příjemce transplantátu „nebyly velmi dobře charakterizovány“ (11). Další autoři jako například Verfaillieová et al. vyjadřují svůj názor, že studie „ve skutečnosti stále nedokládají významný příspěvek do žádného orgánu“ (12). Zatím se jedná o malé skupiny buněk bez jakékoliv funkce. I přes rozdíly se názory a snahy dokázat pravdu, zatím tento experiment nebyl verifikován. Weissman et al. sdělili, že když se on a jeho tým snažili výše uvedený experiment zopakovat s pečlivě vybranými krevními kmenovými buňkami, našli pouze očekávané kostní a krevní deriváty, šest jaterních buněk a jednu mozečkovou buňku, přičemž tato Purkyňova buňka měla dvakrát vyšší obsah DNA, což znamená, že by to mohla být lokální buňka, která fúzovala s jednou ze značených buněk (13). Můžeme ale sdělit, že tyto rozdílné výsledky, kterých dosáhly skupiny Krausové a Weissmana, vedou k důležité otázce jak koncipovat základní experiment, který by plasticitu potvrdil nebo vyloučil. Propojení procesu transdiferenciacce a vlivu prostředí, kde se kmenové buňky nacházejí, je úzké. Kmenové buňky si pravděpodobně po celou dobu své existence, kterou přecházejí převážně v G₀ fázi, udržují loajální vztah k různým formám mikroprostředí a zpětně ho mohou ovlivňovat (6, 9, 13). Dále se zdá, že hematopoetické kmenové buňky (HSCs – hematopoietic stem cells) mohou vcestovat do některých tkání a orgánů a mohou mít vliv na jejich regeneraci – např. játra, plíce, gastrointestinální trakt (GIT), cévy a srdce (6, 14). Mezenchymální kmenové buňky (MSCs – mesenchymal stem cells) mají kapacitu doplňovat buňky krve, plic, jater a střev (15). Populace kmenových buněk zjištěných v mozku a tukové tkáni rovněž vykazují dříve nepředvídanou potencialitu (16, 17). Přesto tyto studie mnoho vědců nepřesvědčily a prohlašují, že existuje dostatečný důvod ke skepsi (18, 19).

BUNĚČNÁ FÚZE

Jedním z hlavních argumentů používaných ke zpochybnování zpráv o plasticitě kmenových buněk je, že předcházející výsledky, zaměřené na průkaz transdiferenciacce, byly ve skutečnosti průkazem buněčné fúze (20). Tato otázka se dostala do popředí při novějších pozorováních, a to, že tkáňově odvozené kmenové buňky mohou podstupovat fúzi s jinými buněčnými typy (21). Ačkoliv někteří vědci uznali, že potenciální význam buněčné fúze je jiný než otázka plasticity kmenových buněk, studie buněčné fúze jsou

často citovány, aby zpochybnily existenci transdiferenciacce kmenových buněk (10). Na základě takových studií o buněčné fúzi se došlo k závěru, že fenomenologie buněčné fúze může vysvětlit dřívější zprávy o plasticitě kmenových buněk. Kromě toho je důkaz buněčné fúze popisován jako zrušení platnosti koncepce o transdiferenciaci kmenových buněk (20). Avšak není jasné, proč by buněčná fúze a transdiferenciacce měly být protichůdnými jevy. Konečně, vývoj kosterního svalu zahrnuje obojí – buněčnou diferenciaci i fúzi. Nejnovější experimentální nálezy svorně vylučují buněčnou fúzi jako mechanismus plasticity kmenových buněk.

EXPERIMENTÁLNÍ DŮKAZ PLASTICITY

Ačkoliv všechny vědecké hypotézy vyžadují přísný vědecký důkaz, aby byly plně akceptovány, existují pochybnosti, zda pravidla navržená Weissmanem, Andersonem a Gagem jsou vždycky vhodná pro stanovení plasticity kmenových buněk (10). První pravidlo trpí přílišnou důvěrou, že studie na živých zvířatech jsou schopné vyřešit problémy s potenciálem kmenových buněk. Zatímco definitivní pozitivní výsledky *in vivo* jsou vždy nejlepší variantou, interpretace negativních výsledků jsou často problematické. Jestliže se daná populace kmenových buněk ukáže jako neschopná regenerovat cílovou tkáň u živého zvířete, znamená to, že tyto buňky nemají patřičný tkáňový potenciál? Místo toho mohou negativní výsledky indikovat neschopnost dárcovských kmenových buněk usídlit se, nebo se řádně integrovat s cílovou tkání, případně odrážejí stav neschopnosti organismu nebo tkáně navodit reparační pochody. Navíc, je nesnadné rozlišit u experimentu na živém zvířeti, zda je to vlastní fenotypový potenciál dárcovských buněk nebo podpůrné mikroprostředí hostitelské tkáně, které jsou právě studovány. Kultivace buněk je užitečným doplňkem studií na živých zvířatech, protože experimentální podmínky lze mnohem lépe kontrolovat než v prostředí *in vivo*. Tím, že se kmenové buňky podrobí kultivačním manipulacím před jejich vpravením hostitelskému zvířeti, kultivace jim může pomoci realizovat jejich endogenní reparační potenciál. Spíše než že by byly pro vědecký výzkum škodlivé, kultivační manipulace opakovaně poskytly důležité informace o klíčových vědeckých problémech, které se jen obtížně řeší u studií prováděných výhradně na živém zvířeti.

Na první pohled se může zdát jako rozumné prohlášení, že „dárcovské buňky by měly produkovat robustní a trvalou regeneraci cílových tkání, aby se přesně určila plasticita kmenových buněk“. Avšak prozkoumejme význam tohoto kritéria v širším kontextu. Po mnoho let se myslelo, že srdeční sval dospělých je postmitotický, nyní se však ví, že ke kontinuální, i když pomalé regeneraci v dospělém myokardu dochází (22). Tato normální rychlost náhrady myocytů není zdaleka robustní, ačkoliv je patrně vysoká natolik, aby v myokardu udržela normální homeostázu po celou dobu života. Vedle endogenních srdečních kmenových buněk byl rovněž podán důkaz naznačující, že extrakardiální buňky generují náhradní myocyty v dospělém srdci (23, 24). Takže se zdá, že příspěvek extrakardiálních kmenových buněk při náhradě myocytů v dospělém srdci je fyziologickou realitou, ale nebude splňovat kritéria robustnosti, a bude tedy pro dospělý myokard nevhovující.

Další navrhovaná kritéria jsou rovněž nedostatečná, jsou-li příliš široce aplikovaná na všechny experimentální situace (10). Abychom mohli podat hypotetický příklad požadované funkčnosti předpokládejme, že potomstvo transplantovaných hematopoetických kmenových buněk se plně integrovalo do kontraktálního myokardu a exprimuje četné svalové proteiny. Bude pro rozumného vědce nutné stanovení funkčnosti, aby došel k názoru, že zde došlo k „transdiferenciaci“. Ano, funkční analýza bude nutná pro zhodnocení klinické užitečnosti transplantace, ale nebude nutné ověřovat výskyt transdiferenciacce. To nahradí mimořádné prohlášení, že buňka

plňující všechna anatomická a molekulární kritéria kardiomyocytu není původní srdeční svalovou buňkou.

Požadavek, že plasticita kmenových buněk musí být prokázána v „přirozených“ podmínkách, se zdá zvláště nevhodný pro pochopení biologického významu transdiferenciace (25). Protože k největší buněčné regeneraci u dospělých dochází během procesu hojení ran, pak patrně studie plasticity během reparace tkání a orgánů bude pravým polem pro výzkum. Nadto se zdá, že toto poslední kritérium je v rozporu s mnoha studiemi v buněčné biologii, protože tradiční modely diferenciace kmenových buněk jsou založeny na studiích zkoumajících kapacitu hematopoetických buněk rekonstituovat krevní systém po letálním ozáření recipientních zvířat (19). Ačkoliv volání po větší vědecké přsnosti při zkoumání poznatků o plasticitě kmenových buněk se může zdát vcelku rozumné, tento požadavek na vyšší úroveň důkazů zatemňuje povahu debaty. Požadavek, že každá práce o transdiferenciaci musí podávat ten nejurčitější důkaz, má smysl je tehdy, jestliže zastánci plasticity kmenových buněk jako skupina obhájí alternativu k tradičnímu názoru na kmenové buňky. Ale to není problém vyvolaný poznatků o plasticitě kmenových buněk. Existuje nespočetné množství zpráv o plasticitě, které musí být konfrontovány, a ne každá se zabývá transdiferenciací. Alespoň některé údaje o plasticitě jsou validní, což vedlo k pokusům integrovat tyto poznatky do tradiční teorie o kmenových buňkách (10).

TRANSDIFERENCIACE

Termín transdiferenciace se často používá pro označení potenciálu plasticity kmenových buněk. Například lze uvažovat, že kmenové buňky, které normálně generují krevní elementy, podstoupily transdiferenciaci, jestliže produkovaly kardiomyocyty. Takové chápání transdiferenciace bylo přejato ze staršího významu tohoto termínu, který se používal k popisu konverze jednoho diferencovaného buněčného typu v jiný. Nejčastěji přijaté příklady transdiferenciace jsou: regenerace končetin u obojživelníků a konverze pigmentového epitelu na čočky a nervové buňky sítnice (26). V těchto případech se diferencovaná tkáň dediferencuje na buňky s jasným fenotypem kmenových buněk, před jejich metamorfózou na jiné diferencované buněčné fenotypy. Jinými případy transdiferenciace je například konverze buněk pankreatu v hepatocyty a vaskulárního endotelu v hladkou svalovinu (27, 28). Kromě toho literární údaje naznačují, že makrofágy kostní dřeni se mohou transdiferencovat v kardiomyocyty, pokud jsou kultivovány v přítomnosti myokardu (29).

U dospělých je generování nově diferencovaných buněk významně zvýšeno při hojení ran. Obecně byl akceptován názor, že kmenové buňky vycítí poškození tkáně a z dálky migrují do místa poranění (30, 31). Nicméně se vyzorovalo, že aktivace imunitní odpovědi zvyšuje regeneraci buněk, k níž dochází při transplantaci tkání nebo buněk hostiteli (6, 23, 24). Například ve studii zabývající se srdeční tkání u mužů, jimž bylo transplantováno ženské srdce, bylo největší množství Y-pozitivních kardiomyocytů v místech akutní rejeckce (23). Tyto výsledky jsou překvapující, protože první vlnou buněk odváděných k ráně jsou buňky imunitní (immune response cells), nutné jako první krok, aby zastavily další vážnější poškození v místě traumatu. Jestliže tyto imunitní buňky mohou později být zdrojem nových buněk pro reparaci rány, pak jejich transdiferenciace nahradí potřebu mobilizovat sekundární buněčnou populaci, tj. kmenové buňky, k poškozené tkáni. Tato hypotéza je v souladu s výsledky a naznačuje, že makrofágy, vstupující do tkáně myokardu, mohou přispět k tvorbě nových srdečních svalových buněk (29).

Dalším důkazem, že se buňky mohou transdiferencovat, jsou studie o vlastnostech monocytů, což jsou buňky obvykle považované

za okamžité progenitory makrofágu. Několik studií prokázalo, že monocyty se mohou diferencovat v endotelové buňky (32). Novější studie již naznačila, že fenotypový potenciál monocytů se může také rozšířit na jiné linie (33). O endotelovém potenciálu monocytů by se mělo uvažovat v kontextu s jednou z nejstarších kontroverzí v biologii kmenových buněk, která se týká spojení mezi liniemi krevních a endotelových buněk. Otázka se soustředila na existenci multipotentní kmenové buňky – hemangioblastu, který umožňuje vznik obou, hematopoetické i endotelové buněčné linie (34). Ačkoliv tato debata stále pokračuje, zdá se teď jasné, že kmenové buňky s vlastnostmi hemangioblastů existují jak v embryu, tak u dospělých (35). Avšak zjištění, že buňka, jako je monocyt, o němž se předpokládá, že je plně vázán na myeloidní krevní linie, je rovněž schopná generovat endotelové buňky, má významné důsledky pro biologii kmenových buněk. Význam těchto pozorování je v jejich odchylce od standardních hierarchických modelů kmenových buněk, které zachycují diverzifikaci linií na úrovni multipotentních kmenových buněk. Jestliže je možné přeměrovat unipotentní progenitory na mnohočetné buněčné profily pak, jaký je rozdíl mezi multipotentními a unipotentními kmenovými buňkami?

Schopnost jak diferencovaných buněk, tak buněk charakterizovaných jako vysoce vázané progenitory, tj. monocyty, transdiferencovat se v jiné buněčné fenotypy naznačuje, že současné modely diverzifikace nemusí dostatečně reprezentovat přírůstek buněčných fenotypů. Ačkoliv je málo příkladů, kdy byla jasně prokázána existence transdiferenciace diferencovaných buněčných fenotypů, důkaz u těchto případů je definitivní (26) a zakládá precedens, že regenerovaná tkáň nevzniká vždy z kmenových buněk podle drah hierarchické diferenciace. I přes definitivní důkaz transdiferenciace, její existence se obvykle považuje za zvláštní případ s malou relevancí pro diskuzi o biologii kmenových buněk a regeneraci tkání. Avšak nový důkaz (28) naznačuje, že transdiferenciace může mít širší význam pro pochopení biologie savců, než se v současné době myslí. Ačkoliv diferenciace může být vyšší než dediferenciace a transdiferenciace mezi fenotypy, zajišťuje směřování k linii. Význam transdiferenčního modelu buněčné diverzifikace spočívá v souhrnu buněčných fenotypů v organismu jako částí kontinuity.

BUNĚČNÁ TERAPIE

Experimentální biologie a medicína pracuje s kmenovými buňkami více než dvacet let. Nalezený způsob, jak *in vitro* kultivovat lidské ES získané při abortech nebo z „přebytečných“ embryí při *in vitro* fertilizaci, vyvolal okamžitě představy o možnosti nasměrovat cíleně vývoj a diferenciaci těchto buněk pro potřeby regenerace poškozených tkání (10, 36). Buněčná terapie stojí před nelehkým úkolem jak koncipovat přístup k detekci, získávání a kultivaci kmenových buněk při léčbě některých onemocnění (37). Bude možné využít adultní kmenové buňky k léčbě širšího spektra chorob?

Nemoci, které jsou následkem destrukce anebo dysfunkce určitého omezeného počtu buněčných typů, jako je diabetes mellitus (při němž dochází k selektivnímu zničení beta buněk Langerhansových ostrůvků) nebo Parkinsonova nemoc (která vzniká z destrukce dopaminergních neuronů v oblasti substantia nigra), lze léčit transplantací diferencovaných derivátů ES buněk. Studie na zvířatech ukazují, že transplantací derivátů pluripotentních kmenových buněk nebo fetálních buněk lze úspěšně léčit řadu chronických nemocí jako je diabetes, Parkinsonova nemoc, traumatické poranění míchy, Purkyňovu buněčnou degeneraci, selhání jater, selhání srdce, Duchennovu muskulární dystrofii, osteogenesis imperfecta a další (38–41). Ačkoliv bylo v posledních letech dosaženo značného pokroku v transplantační léčbě, stále existuje několik hlavních překážek, které omezují širokou aplikaci buněčné transplantace v rutinní léčbě těchto stavů. Hlavními překážkami, s nimiž se musí

počítat, je potřeba masivních dávek imunosupresivních léků pro prevenci rejekce transplantované tkáně a také nedostatek orgánů od mrtvých dárců. I přes tyto překážky by mohla strategie založená na bázi lidských ES buněk umožnit tvorbu neomezeného množství potřebných buněk, případně též tkání, a jejich dostatečný přísun z abundantního, obnovitelného a rychle dostupného zdroje. Kromě toho by ES buňky, podle své přizpůsobivosti pro stabilní genetickou modifikaci, mohly být upraveny tak, aby se vyhnuly nebo inhibovaly imunitní odpověď hostitele.

Prvním krokem k úspěšnému vývoji terapie na bázi lidských ES buněk je dokázat, že mají schopnost diferencovat se v určitý, pro nás zajímavý buněčný typ, a ze smíšené populace tuto linii purifikovat. Ve druhém kroku bude nutné kriticky posoudit a demonstrovat, že diferencované buněčné deriváty fungují normálním fyziologickým způsobem, například že sekrece inzulinu v buňkách Langerhansových ostrůvků probíhá normálně a odpovídá hladině glukózy. Třetím, a to hlavním milníkem na cestě ke klinickým testům, bude důkaz efektivity s použitím modelů nemocí u velkých zvířat. Za čtvrté je třeba vyloučit možnost tvorby tumorů odvozených z derivátů po diferenciaci ES buněk a transplantovaných lidským příjemcům. Vzhledem k tomu, že pokrok v tomto směru pokračuje mílovými kroky, jistě přibudou další otázky, které mohou limitovat terapeutické využití kmenových buněk. Snaha vědců léčit i v současné době nevyléčitelné nemoci, tlak samotných pacientů, jejich rodin a také tlak politický, může vývoj nových terapeutických přístupů značně komplikovat (10). Důležité je zachovat „čistý rozum“, oprostit se od emocí, respektovat vědecká a etická pravidla (36).

Perspektivními směry buněčné terapie jsou: terapeutické klonování, embryonální kmenové buňky, léčba fétu, dospělé kmenové buňky, využití humorálních působků k usměrnění chování kmenových buněk a případně genetická modifikace kmenových buněk. Zpočátku se zdálo, že například dospělé kmenové buňky budou představovat určitý „etický kompromis“ vůči embryonálním buňkám. Dnes však chápeme, že jednotlivé přístupy jsou navzájem úzce propojeny. Vědci již prokázali, že řadu buněčných typů, jako neurony a svalové buňky, pankreatické beta buňky a další, je možné získat kultivací ES buněk (10, 36). Využití kmenových buněk v léčbě dnes najde své uplatnění i v tak nečekaných případech, jako je léčba onemocnění ledvin (42) nebo imunologická reparace u nemocných s AIDS (43).

Zkratky

- ES buňky – embryonální kmenové buňky
- GIT – gastrointestinální trakt
- HSCs – hematopoetické kmenové buňky (hematopoietic stem cells)
- MSCs – mezenchymální kmenové buňky (mesenchymal stem cells)

LITERATURA

1. **Quesenberry, P. J., Abedi, M., Aliotta, J. et al.:** Stem cell plasticity: an overview. *Blood Cells Mol. Dis.*, 2004, 32, s. 1-4.
2. **Björnson, C. R., Rietze, R. L., Reynolds, B. A. et al.:** Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by neural stem cells *in vivo*. *Science*, 1999, 283, s. 534-537.
3. **Galli, R., Borello, U., Gritti, A. et al.:** Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells. *Nat. Neurosci.*, 2000, 10, s. 986-991.
4. **Mezey, E., Chandross, K. J., Harta, G. et al.:** Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science*, 2000, 290, s. 1779-1782.
5. **Orlic, D., Kajstura, J., Jakoniuk, I. et al.:** Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*, 2001, 410, s. 701-705.
6. **Krause, D. S., Theise, N. D., Collector, M. I. et al.:** Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*, 2001, 105, s. 369-377.
7. **Smith, A.:** Embryonic stem cells. In: Marshak, D. R., Gardner, D. K., Gottlieb, D. (eds.) Cold Spring Harbor Laboratory Press., 2001, s. 205-230.
8. **Anderson, D. J., Gage, F. H., Weissman, I. L.:** Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat. Med.*, 2001, 7, s. 393-395.
9. **Weissman, I. L., Anderson, D. J., Gage, F.:** Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage, commitment, and transdifferentiations. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 2001, 17, s. 387-403.
10. **Filip, S., English, D., Mokřý, J.:** Issues in stem cell plasticity. *J. Cell. Mol. Med.*, 2004, 8, s. 572-577.
11. **Lagasse, E., Shizuru, J. A., Uchida, N. et al.:** Toward regenerative medicine. *Immunity*, 2001, 14, s. 425-436.
12. **Verfaillie, C. M., Schwartz, R., Reyes, M., Jianf, Y.:** Unexpected potential of adult stem cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2003, 996, s. 231-234.
13. **Weissman, I. L.:** Transplanting stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science*, 2000, 287, s. 1442-1446.
14. **Anversa, P., Kajstura, J., Nadal-Ginard, B., Leri, A.:** Primitive cells and tissue regeneration. *Circ. Res.*, 2003, 92, s. 692-699.
15. **Jiang, Y., Jahagirdar, B. N., Reinhardt, R. L. et al.:** Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002, 418, s. 41-49.
16. **Clarke, D. L., Johansson, C. B., Wilbertz, J. et al.:** Generalized potential of adult stem cells. *Science*, 2000, 288, s. 1660-1663.
17. **Zuk, P. A., Zhu, M., Mizuno, H. et al.:** Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tiss. Engineering*, 2001, 2, s. 211-228.
18. **Goodell, M. A.:** Stem cell plasticity: befuddled by the muddle. *Curr. Opin. Hematol.*, 2003, 10, s. 208-213.
19. **Orkin, S. H., Zon, L. L.:** Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity. *Nat. Immunol.*, 2002, 3, s. 323-328.
20. **Medvinsky, A., Smith, A.:** Fusion brings down barriers. *Nature*, 2003, 422, s. 823-825.
21. **Terada, N., Hamazaki, T., Oka, M. et al.:** Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous fusion. *Nature*, 2002, 416, s. 542-545.
22. **Anversa, P., Nadal-Ginard, B.:** Myocyte renewal and ventricular remodeling. *Nature*, 2002, 415, s. 240-243.
23. **Laflamme, M. A., Myerson, D., Saffitz, J. E., Murry, C. E.:** Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ. Res.*, 2002, 90, s. 634-640.
24. **Quaini, F., Urbánek, K., Beltrami, A. P. et al.:** Chimerism of the transplanted heart. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, s. 5-15.
25. **Raff, M.:** Adult stem cell plasticity: fact or artifact? *Annu. Rev. Cell. Biol.*, 2003, 19, s. 1-22.
26. **Tsonis, P. A., Del Rio-Tsonis, K.:** Lens and retina regeneration: transdifferentiation, stem cells and clinical application. *Exp. Eye Res.*, 2004, 78, s. 161-172.
27. **Frid, M. G., Kale, V. A., Stenmark, K. R.:** Mature vascular endothelium can give rise to smooth muscle cells via endothelial-mesenchymal transdifferentiation: *in vitro* analysis. *Circ. Res.*, 2002, 90, s. 1189-1196.
28. **Shen, C. N., Horb, M. E., Slack, J. M., Tosh, D.:** Transdifferentiation of pancreas to liver. *Mech. Dev.*, 2003, 120, s. 107-116.
29. **Eisenberg, L. M., Eisenberg, C. A.:** Stem cell plasticity, cell fusion, and transdifferentiation. *Birth Defect Res. Part. C. Embryo Today*, 2003, 69, s. 209-218.
30. **Mahmood, A., Lu, D., Wang, L. et al.:** Treatment of traumatic brain injury in female rats with intravenous administration of bone marrow stromal cells. *Neurosurgery*, 2001, 49, s. 1196-1203.
31. **Theise, N. D., Nimmakayalu, M., Gardner, R. et al.:** Liver from bone marrow in humans. *Hepatology*, 2000, 32, s. 11-16.
32. **Fernandez Pujol, B., Lucibello, F. C., Gehling, U. M. et al.:** Endothelial-like cells derived from human CD14 positive monocytes. *Differentiation*, 2000, 65, s. 287-300.
33. **Zhao, Y., Glesne, D., Huberman, E.:** A human peripheral blood monocyte-derived subset acts as pluripotent stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 2003, 100, s. 2426-2431.
34. **Robb, L., Elefanty, A. G.:** The hemangioblast – an elusive cell captured in culture. *Bioessays*, 1998, 20, s. 611-614.
35. **Choi, K.:** Hemangioblast development and regulation. *Biochem. Cell Biol.*, 1998, 76, s. 947-956.

36. **Filip, S., Mokřý, J., Hruška, I.:** Adult stem cells and their importance in cell therapy. *Folia Biol. (Prague)*, 2003, 49, s. 9-14.
37. **Lemischka, I.:** A few thoughts about the plasticity of stem cells. *Exp. Hematol.*, 2002, 30, s. 848-852.
38. **Horwitz, E. M., Prockop, D. J., Gordon, P. L. et al.:** Clinical responses to bone marrow transplantation in children with severe osteogenesis imperfecta. *Blood*, 2001, 97, s. 1227-1231.
39. **Kajsturam J., Rota, M., Wang, B. et al.:** Bone marrow cells differentiate in cardiac cell lineages after infraction in dependently of cell function. *Circ. Res.*, 2005, 96, s. 127-137.
40. **Snyder, E. Y., Daley, G. Q., Goodell, M.:** Taking stock and planing for the next decade: realistic prospects for stem cell therapies for the nervous system. *J. Neurosci. Res.*, 2004, 76, s. 157-168.
41. **Soria, B., Skoudy, A., Martin, F.:** From stem cells to beta cells, new strategies in cell therapy of diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2001, 44, s. 407-415.
42. **Mollura, D. J., Hare, J. M., Rabb, H.:** Stem cell therapy for renal diseases. *Am. J. Kidney Diseases*. 2003, 42, s. 891-905.
43. **Scadden, D. T.:** Stem cells and immune reconstitution in AIDS. *Blood Rev.*, 2003, 17, s. 227-231.

KOMENTĀŘ

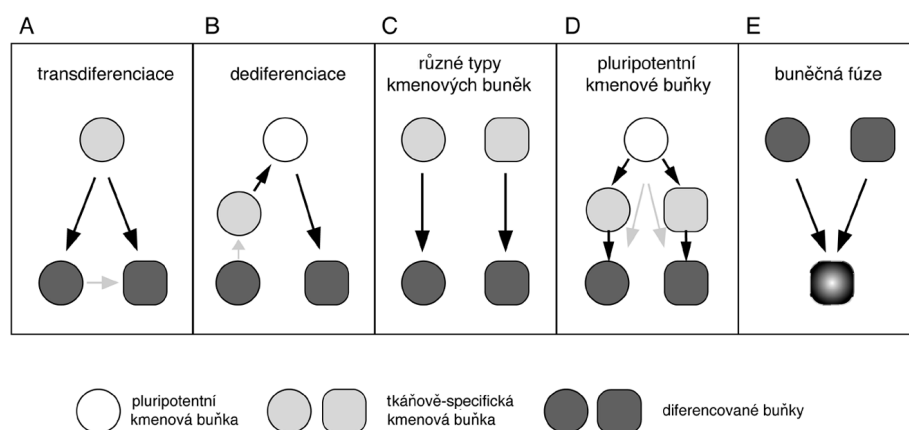
K ělánku autorŮ Filip S., Mokřý J., Pudil R. „Souěasný pohled na plasticitu kmenovŮch buněk a buněěnou terapii“

Autoři ělánku předkládají recentní ůvahy o plasticitě tkĀňově specifickŮch kmenovŮch buněk a v zĀvěru přehledověho ělánku se dostĀvají k mořným aplikacím embryonĀlních kmenovŮch buněk v regenerativní medicěně. Pro pouěeněho laika je text městy mĀlo srozumitelnŮy a nepřehlednŮy. Chybě alespoň zĀkladně schěmata, kterĀ by ětenĀři pomohla zorientovat se v poměrně složitě problematice. Na druhou stranu je chvĀlyhodně, Źe autoři uvĀdějí a diskutují řadu pracě zalořenŮch na experimentech *in vivo*, kterě teorii o plasticitě kmenovŮch buněk zpochybňují. Je to jistě dobrě, protoŹe zvlĀstě v klinickě obci je kařdĀ novĀ zprĀva o mořněm použitě adultních kmenovŮch buněk pro terapii přějěmĀna s nekritickŮm, bytě pochopitelnŮm nadšením. Proto jsou takě dŮleřitĀ přěsnĀ pravidla pro pŮkaz plasticity, neboť na zĀkladě nevhodně navrřenŮch experimentŮ, ěi řpatně interpretovanŮch vŮsledkŮ, pśstupují lěkaři po celěm světě, i v ěechĀch, k velmi „sofistikovaně“ lěěbě kmenovŮmi buňkami, kterĀ mĀ malou řanci na ůspěch.

Plasticitou kmenovŮch buněk, procesy transdiferenciace a dediferenciace, rozuměme pśeměnu adultně kmenově buňky jedně specifickě linie na buňku odliřně linie, kterĀ je charakterizovĀna změnou expresněho profilu tkĀňově specifickŮch markerŮ a funkěněch parametrŮ (1, 2). Tyto terměny se dřěve pouřěovaly spěře v kontextu buněk věce diferencovanŮch, napśříklad hematopoetickŮch, kde byly vřechny tyto procesy extenzivně studovĀny a popsĀny (3).

V posledně době se objevuje mnoho alternativněch vysvětleně tohoto fenoměnu. NěkterĀ z nich jsou schematicky znĀzorněna na obrĀzku 1.

Transdiferenciace a dediferenciace (obr. 1A, B) nebyla u savěch adultněch kmenovŮch buněk dosud spolehlivě prokĀzĀna (1). Velice ěastŮm pśpadem je zřejmně existence věce typŮ adultněch kmenovŮch buněk (obr. 1C) v nehomogenněch nebo nedostateěně vyěiřtěnŮch



Obr. 1. Schěma znĀzornějěcě potenciĀlně mechanizmy a vysvětleně některŮch pozorovaně fenoměnu plasticity adultněch kmenovŮch buněk (upraveno z (1))

RNDr. Petr BartŮněk, CSc.
Ůstav molekulĀrně genetiky AV ĀR
166 37 Praha 6, Flemingovo nĀměstě 2
fax: 220 183 586, e-mail: bartunek@img.cas.cz

populacích buněk použitých k experimentu (1, 4). To platí pro pokusy s buňkami izolovanými z kostní dřene, která mimo hematopoetických kmenových buněk obsahuje i kmenové buňky mezenchymální a dokonce vzácně i pluripotentní kmenové buňky (obr. 1D). Dále například pro neuronální a svalové kmenové buňky kontaminované hematopoetickými kmenovými buňkami. Buněčná fúze (obr. 1E) tedy není jediným ani hlavním argumentem proti teorii o plasticitě adultních kmenových buněk.

Další závažnou komplikací při posuzování plasticity jsou technické artefakty při analýze výsledků experimentů. Jedním z příkladů je použití beta-galaktosidázy a chromozómu Y pro detekci dárcovských buněk kostní dřene v cílovém orgánu příjemce (5).

Nedořešena zůstává také otázka zvýšení účinnosti transplantace kmenových buněk. Nepatrné množství buněk usídlených v cílovém orgánu se jeví jako neuspokojivé pro reálnou aplikaci v regenerativní medicíně. Expanze pluripotentních kmenových buněk z kostní dřene *ex vivo* s jejich následnou aplikací nebo mobilizace potenciálu endogenních kmenových buněk a progenitorů *in situ* farmakologicky (malými molekulami, růstovými faktory a chemokiny) se proto zdají být rozumnou cestou do budoucna.

Přes veškeré sporné otázky zůstává možnost využití embryonálních a adultních kmenových buněk pro buněčnou terapii velkým příslibem (6, 7).

Velké množství aktualizovaných informací a odkazů na literaturu týkající se problematiky kmenových buněk může čtenář najít na stránkách The International Society for Stem Cell Research (<http://www.isscr.org>).

LITERATURA

1. Wagers, A. J., Weissman, I. L.: Plasticity of adult stem cells. *Cell*, 2004, 116, s. 639-648.
2. Herzog, E. L., Chai, L., Krause, D. S.: Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*, 2003, 102, s. 3483-3493.
3. Graf, T.: Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood*, 2002, 99, s. 3089-3101.
4. Kucia, J., Ratajczak, J., Ratajczak, M. Z.: Are bone marrow stem cells plastic or heterogenous - that is the question. *Exp. Hematol.*, 2005, 33, s. 613-623.
5. Krause, D., Cantley, L. G.: Bone marrow plasticity revisited: protection or differentiation in the kidney tubule? *J. Clin. Invest.*, 2005, 115, s. 1705-1708.
6. Lemoli, R. M., Bertolini, F., Cancedda, R. et al.: Stem cell plasticity: time for a reappraisal? *Haematologica*, 2005, 90, s. 360-381.
7. Keller, G.: Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. *Genes Dev.*, 2005, 19, s. 1129-1155.

KNIHY

Palivec, V.: STAROPRAŽSKÉ LÉKAŘSKÉ PAMÁTKY

Praha, Libri, 2005. První vydání, vázané, černobílé i barevné obrázky, 175 s., doporučená cena 246 Kč. ISBN 80-7277-220-1.

Asi uprostřed roku 1986, v době, kdy jsem vykonával funkci vedoucího redaktora Časopisu lékařů českých, mne jednou navštívil v redakci starší pán. Představil se jako bývalý náměstek ředitele Národní knihovny při Státní knihovně ČSR, uvedl, že v době před 2. světovou válkou byl vedoucím oddělení retrospektivní bibliografie a později náměstkem ředitele Ústřední lékařské knihovny v Praze a správcem Lékařského muzea. Důvodem jeho návštěvy bylo zjistit, zda by bylo možné publikovat několik článků z oboru dějin lékařství v Časopisu lékařů českých. Ujistil jsem ho, že redakce má trvalý zájem o obsahově zajímavé a formálně vyhovující články, zvláště jsou-li z dějin lékařství. Na informaci, že je může kdykoliv poslat poštou na adresu redakce, vyndal z aktovky kancelářské desky, v nichž bylo několik krátkých článků. Převzal jsem je a krátce poté jsme se rozloučili. Když odešel, nahlédl jsem do stránek prvního článku. Pod jeho názvem bylo jméno autora: RNDr. Viktor Palivec. Všechny články jsem přečetl se zájmem. A od té doby jsme se ještě několikrát setkali, a to vždy, když přinášel nové rukopisy – nikdy je neposílal poštou. Naposledy přišel na podzim roku 1989 a při odchodu mi sliboval: „Přijď po novém roce a přinesu vše, co jsem

napsal“. Tento slib mu ale osud nedovolil splnit – 30. prosince 1989 zemřel.

Nyní – po 16 letech – vychází kniha Staropražské lékařské památky, s copyrightem Viktor Palivec – dědicové. Předmluvu napsal MUDr. Pavel Bém, primátor hlavního města Prahy. Je pěkná, zasvěcená a vyznačuje z ní nejen znalost faktů, ale i skutečnost, že MUDr. P. Bém má Prahu skutečně rád.

Knihy má 175 stran, je ilustrována 150 černobílými a 12 barevnými obrázky, uvedená literatura odkazuje na 53 původních pramenů s vročením od roku 1823 do roku 1957. Jednotlivé kapitoly jsou totožné s probíranými tématy: Univerzita a lékařská fakulta, Špitály a nemocnice, Staré lékařské tisky, Pamětní desky a pomníky, Morové památníky, Staropražské lékárny, Staropražské lázně, Botanické zahrady a Hroby lékařů na pražských hřbitovech. Při plánovaném rozsahu nemohla utlá knížka zachytit vše, co v sobě stará lékařská Praha skrývá a tají. Mnoho drobností zůstává roztroušeno v pražských muzeích i soukromých sbírkách. V knize také nejsou zmiňovány ty památky, které nespádají do deklarovaného tématu knihy, a ty, jejichž zařazení nebylo zdůvodněno historickým stářím. Hranici určil autor konec devatenáctého století. Jádro knihy je také v dokumentárních snímcích (kresba, malba, fotografie) ze současnosti, k nimž je pro lepší porovnání stavebních změn daných oblastí často připojen i starší obrázek. Historiografický text pak dokresluje nejen úplnější a názornější představu a vnitřní souvislosti, které se objevují jak v blízkých, tak i ve vzdálenějších oblas-

tech. Všechny památky, představované v podobě budov, pomníků, soch, starodávných listin a tisků, jsou významným kulturně historickým dědictvím generací vzájemně vázaných duchovními a citovými pouty. Dědictvím, z něž je možné čerpat nejen historické poučení, ale i výzvu k tvorbě dalších kulturních hodnot tvořených novými generacemi.

Nemohu hodnotit knihu z hlediska historiografického, to ať učiní povolání. Já jsem četl celou knihu s dychtivostí čtenáře, který se chce dozvědět nová fakta. Jednotlivé kapitoly s různými pocity. Kapitulu o Univerzitě Karlově, jejímž členem mám tu čest být, s pýchou a hrdostí, kapitolu O starých špitálech a nemocnicích s uznáním i vděčností těm, kteří v těžkých časech realizovali ideu charity a křesťanské lásky, kapitolu Staré lékařské tisky s obdivem k těm, kteří uchovali český jazyk a pozdvihli jej mezi jazyky komunikace ve vědě i umění. Snad symbolická je poslední kapitola Hroby lékařů na pražských hřbitovech. Jména těch, kteří již byli zapomenuti, nutí ke skromnosti a pokoře, jména těch, kteří nikdy zapomenuti nebudou, k obdivu.

Knihu vydalo nakladatelství Libri a po formální stránce jí nelze nic podstatného vytknout. Vznikla s přispěním společnosti Zentiva, a.s. a není to kniha ani první a jistě ani poslední, jejíž vydání společnost umožnila. Patří jí za to naše poděkování.

Jan Petrášek
128 08 Praha 2, U Nemocnice 1

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Přirozená imunita, receptory pro exogenní a endogenní nebezpečné vzory v imunopatogenezi aterosklerózy

I. část: Přirozená imunita, rozlišení signálů nebezpečí

Krejsek J., ¹Kuneš P., Andrýs C., Holická M., Novosad J.,
Kudlová M., Koláčková M.

Ústav klinické imunologie a alergologie LF UK a FN, Hradec Králové
¹Kardiochirurgická klinika FN, Hradec Králové

SOUHRN

Buněčné i humorální složky přirozené imunity jsou schopny identifikovat „signály nebezpečí“ exogenního i endogenního původu. Exogenní signály nebezpečí jsou představovány evolučně konzervovanými mozaikami nebezpečných vzorů, které jsou společné pro patogenní mikroorganismy. Endogenní signály nebezpečí vznikají při poškození buněk a tkání, oxidativním stresem nebo chemickou modifikací vlastních struktur. Nebezpečné signály jsou identifikovány několika rodinami membránových molekul vyjádřených na povrchu buněk přirozené imunity. Patří mezi ně rodina receptorů TLR, která je funkčně spojena s nitrobuněčnou signální cestou NF-κB. Prostřednictvím transkripčního faktoru NF-κB je stimulován rozvoj zánětové reakce.

Klíčová slova: přirozená imunita, nebezpečné vzory, TLR.

SUMMARY

Krejsek J., Kuneš P., Andrýs C. et al.: Innate Immunity, Receptors for Exogenous and Endogenous Danger Patterns in Immunopathogenesis of Atherosclerosis – Part I: Identification of Danger Signals by Innate Immunity

Cellular and humoral components of innate immunity are able to identify danger signals both of the exogenous and endogenous origin. Exogenous danger signals are evolutionary conserved mosaics of danger patterns which are frequent in pathogenic microbes. Endogenous danger signals are raised during damage of self structures, by oxidative stress and/or by chemical modification of self molecules. Danger signals are identified by several families of molecules which are expressed on the surfaces of innate immunity cells. Among them the TLR receptors family which is associated with intracellular signaling pathway NF-κB is one of the most important. The inflammatory response is induced via activated NF-κB transcription factor.

Key words: innate immunity, danger patterns, TLR receptors.

Kr.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 785–789.

PŘIROZENÁ IMUNITA, ROZLIŠENÍ SIGNÁLŮ NEBEZPEČÍ

V současné době je všeobecně přijímáno, že patogenetické mechanismy vedoucí ke vzniku a rozvoji aterosklerózy lze jednoznačně charakterizovat jako komplexní zánětovou reakci (1). Jsou pro to k dispozici výsledky experimentálních prací na zvířecích modelech. Důkazem je i histopatologická analýza aterosklerotických lézí, kde jsou nalézány v závislosti na stupni rozvoje patologického procesu buňky imunitního systému, které zahrnují jak buněčné elementy přirozené imunity, makrofágy, tak elementy specifické imunity, především T lymfocyty. V komplexním procesu vzniku a rozvoje aterosklerotické léze jsou nepochybně zahrnuty i další buněčné složky. Jmenovat je třeba endotelové buňky, fibroblasty a svalové buňky cévní stěny spolu s krevními destičkami a dalšími leukocytárními elementy cirkulujícími v krvi. Nedořešená je otázka faktorů, které iniciují celý proces aterosklerózy.

Onemocnění je svou povahou komplexní. Jeho vznik a rozvoj podmiňují nepochybně genetické dispozice, ale výrazný podíl mají

i faktory negenetické povahy. Po dlouhá desetiletí byla mezi nimi zvýrazňována úloha abnormit v metabolismu lipidů a lipoproteinů, spojených často s neadekvátním přísunem lipidů v potravě. V posledních letech se pozornost soustřeďuje na podněty infekční povahy, které mohou u disponovaných jedinců vést k rozvoji perzistujícího zánětového procesu v cévní stěně (2). Chybějící články našich představ mezi opakovaně prokázanou přítomností mikrobiálních působků v cévní stěně a rozvojem lokální i systémové zánětové reakce u postižených osob zásadně doplňují nové poznatky o úloze přirozené imunity v rozvoji zánětové reakce a v nastavení individuální imunitní reaktivity.

Přirozená imunita je nyní považována za skutečný fundament imunitní soustavy. Jejím charakteristickým rysem je značná evolučně konzervovanost. Geny určující jednotlivé složky přirozené imunity jsou předávány potomstvu jako velmi stabilní součást našeho genetického aparátu. Přirozená imunita podmiňuje fungování evolučně mladší specifické imunity, tj. T a B lymfocytárního systému. Funkce specifické buňkami zprostředkované imunity je závislá na zpracování a prezentaci antigenů v buňkách přirozené imunity. Ty

Tab. 1. Vybrané nebezpečné vzory patogenních mikroorganismů (PAMP) a jejich receptory (PRR)

PAMP	patogenní mikrob	PRR
lipopolysacharid peptidoglykan lipopeptidy lipoarabinomanan lipoproteiny kyselina lipoteichoová flagelin N-formylmetionin	G ⁻ bakterie bakterie mykobakterie mykobakterie bakterie G ⁺ bakterie bičinky bakterií prokaryota	LBP, CD14, TLR-4 (MD-2) TLR-2/TLR-6, NOD-1, 2 CD1, TLR-1/TLR-6, TLR-2/TLR-6 TLR-1/TLR-2, CD1 TLR-2/TLR-4 TLR-1/TLR-6, TLR-2/TLR-6 TLR-5 fMetR1, fMetR2
endozomální lokalizace		
oligonukleotidy CpG ssRNA dsRNA	bakteriální DNA viry viry	TLR-9 TLR-7 TLR-3
manany glukany Hsp60	kvasinky houby, kvasinky prokaryota, eukaryota	receptor pro manózu, MBP TLR-2, CR3 TLR-4

poskytují i nezbytné kostimulační podněty a cytokinové mikroprostředí nutné pro efektivní rozvoj specifické imunity. V důsledku tedy přirozená imunita určuje i funkční parametry imunity specifické (3, 4).

Na rozdíl od přirozené imunity je pro faktory specifické imunity potomstvu předávána pouze určitá genetická dispozice. Mechanizmy specifické imunity jsou u každého jedince originálně dotvářeny podmínkami vnějšího světa, ve kterém dochází k ontogenetickému vývoji jedince. V kolektivní genetické výbavě současného lidstva se v rámci přirozené imunity odrážejí zkušenosti předchozích generací lidí, kteří byli životními podmínkami a mikrobiálním tlakem selektováni. Genofond moderního člověka si uchovává vlastnosti těch nejúspěšnějších z minulosti, kteří přežili selekční procesy, dožili do ontogenetického období dospělosti a předali své vlohy potomkům. Geneticky fixované dispozice určující přirozenou imunitu jsou mimořádně rigidní. V žádném případě nemohou reflektovat prudké změny životních podmínek, ke kterým dochází v lidské populaci v uplynulých několika desetiletích z důvodu industrializace.

Z vývoje lidské společnosti je zřejmé, že člověk byl po dlouhou dobu své evoluční historie, přinejmenším od doby neolitické revoluce spojené s přechodem k zemědělství a usedlému způsobu života, až do zcela nedávné doby, vystaven velmi monotónnímu spektru podnětů. Jednoznačně převládaly infekční podněty zprostředkované stykem s domácími zvířaty a přirozeným zemědělským prostředím. To se zásadně změnilo v současné epoše spojené s vrcholící industrializací, která je z evolučního pohledu velmi krátká. Budeme-li naše úvahy redukovat pouze na mikrobiální podněty, je nepochybné, že moderní člověk je chráněn před většinou nejzávažnějších patogenních mikroorganismů aktivní imunizací a jsou pro něho k dispozici možnosti antimikrobiální terapie. To, spolu s dramatickým zlepšením socioekonomických podmínek, kterými rozumíme především omezení přítomnosti živých mikroorganismů v potravě, zlepšené hygienické podmínky sídel a ztrátu kontaktu s mikroorganismy v přírodním prostředí vlivem urbanizace, v evoluci nově omezuje expozici přirozeným mikrobiálním podnětům. Současně se kvalitativně i kvantitativně zvětšila expozice člověka noxám, které vznikají v důsledku industrializace a kterým člověk v minulosti vystaven nebyl. Připočítat k tomu musíme i množství dalších proměnných faktorů, kterými je například změna v množství a složení potravy. Ještě před několika generacemi byla většina lidí na hranici podvýživy a v potravě výrazně chyběly živočišné bíl-

koviny a tuky. Zásadně se změnil životní styl, omezuje se například fyzická aktivita lidí. Změněny jsou nepochybně neuroendokrinní regulace, prodlužuje se život a ve zvýšené míře se v populaci promítají faktory senescence. Naznačené změny individuální i kolektivní imunitní reaktivity moderního člověka spolu se změnami v životních podmínkách implikují rozvoj imunopatologických procesů, které v důsledku vedou k prudkému nárůstu výskytu imunopatologických nemocí, například charakteru imunopatologické reaktivity zprostředkované protilátkami IgE (alergie), orgánové specifických imunopatologických autoimunitních onemocnění (diabetes mellitus I. typu) a také aterosklerózy (5–7).

Základní charakteristika klasického paradigmatu imunitního systému, tj. schopnost imunitního systému odlišit mezi „vlastním“ a „cizím“, která je založena na existenci vysoce specializovaných receptorů pro antigen vyjádřených na T lymfocytech (TcR) a na B lymfocytech (BcR), v současné době již nepostačuje k vysvětlení charakteristik fungování imunitního systému. Podle klasického konceptu dochází ke vzniku receptorů pro antigen na T a B lymfocytech v primárních orgánech imunitního systému procesem genového přeskupení. Následují selekční procesy, které eliminují autoreaktivní klonu T a B lymfocytů. Teoreticky je tedy „vlastní“ tolerováno a „cizí“ je důvodem pro zahájení imunitní reaktivity. Je však třeba si uvědomit, že mezi „cizím“ převládají podněty, které jsou svou povahou vůči člověku indiferentní a nevyžadují imunitní reakci. Navíc každá imunitní reakce je spojena s metabolickými nároky. Každá fyziologicky probíhající imunitní reakce je neoddelitelně spjata s jistou mírou poškození, které musí být při ukončování imunitní odpovědi reparovány. Svoji molekulovou povahou jsou receptory pro antigen na T a B lymfocytech uzpůsobeny k rozpoznání molekulových detailů, tzv. antigenních epitopů, které jsou vyjádřeny především na antigenech bílkovinné povahy. S daleko menší účinností mohou rozpoznat struktury nebílkovinné povahy, například sacharidy, lipopolysacharidy, lipoproteiny, proteoglykany a fosfoproteiny (8).

Naznačená úskalí imunitní odpovědi, totiž potřebu odlišit mezi potenciálně poškozujícími podněty vnějšího světa, ale také vnitřního prostředí od převažujícími, svou povahou neškodných podnětů, zajišťuje přirozená imunita. Schopnost přirozené imunity rozlišit mezi nebezpečnými a bezpečnými signály byla poprvé odhalena v první polovině 90. let minulého století. Od té doby došlo v této oblasti k mimořádnému pokroku a tato oblast imunologie je považována za jednu z nejperspektivnějších s rozsáhlými implikacemi

do medicíny. Podněty, kterým je jedinec ve vnějším i vnitřním prostředí exponován, jsou natolik rozmanité, že přirozená imunita nemůže být vybavena dostatečně pestrou paletou membránových a solubilních receptorů, které by nebezpečné podněty identifikovaly v detailu, jak tomu je v případě receptorových struktur TcR a BcR, které vznikají náhodnou kombinací omezeného počtu genových segmentů V, D, J a C, uložených v zárodečné DNA v procesu genového přeskupení. Jak již bylo řečeno, je genetická vložka určující faktory přirozené imunity předávána v zárodečných buňkách. Ani teoretická kódovací kapacita genomu by neumožnila kódování tak velkého počtu různých receptorových struktur přirozené imunity, pokud by se zaměřovaly na strukturní detaily cizorodých molekul, jak tomu je v případě receptorů specifické imunity. Tento zdánlivý paradox je však elegantním způsobem vyřešen. V evoluci, která daleko přesahuje evoluční historii *Homo sapiens*, vznikly receptory, které nerozpoznávají jednotlivé specifické molekuly nebo jejich části, ale identifikují soubor molekul, které jsou charakteristicky spojeny s patogenními mikroorganismy nebo s přítomností poškození vlastních struktur. Mozaiky tzv. nebezpečných vzorů jsou podobné pro fylogeneticky vzdálené skupiny patogenních mikroorganismů. V případě mikrobiálních agens se označují jako molekuly PAMP (**pathogen associated molecular patterns**). Vzory PAMP mikrobiálního světa představují především součásti mikrobiálních povrchů, jakými jsou bakteriální stěna nebo buněčná stěna fungálních agens. Jedná se však i o secernované solubilní látky, které mají charakter mikrobiálních toxinů. Nelze pominout ani nukleové kyseliny patogenních mikroorganismů, ať už jde o jedno nebo dvoušroubovicové nukleové kyseliny virů nebo úseky bakteriální DNA bohaté na cytosin a guanin, které nejsou na rozdíl od lidské DNA metylované (9, 10). Souhrnně jsou hlavní složky nebezpečných vzorů mikroorganismů v tabulce 1.

Při poškození vlastních struktur vznikají rovněž signály nebezpečí v podobě nebezpečných vzorů (11). I zde platí, že molekulová charakteristika těchto signálů nebezpečí je velmi rozmanitá a přirozená imunita, stejně jako v případě mikrobiálních nebezpečných vzorů, reaguje na mozaiky těchto molekul. Nejsou pro ně zatím jednoznačně vytvořeny termíny. V případě signálů, které vznikají v deregulovaném procesu apoptózy, hovoříme o vzorech ACAMP (**apoptosis associated molecular patterns**). Výrazné signály nebezpečí vznikají při nekrotických procesech v tkáních, při oxidativním stresu na úrovni buněčných organel nebo celých buněčných elementů. Rovněž chemická modifikace některých molekul, například lipoproteinů (oxLDL), vede k jejich přeměně na molekuly, které přirozený imunitní systém identifikuje jako signály nebezpečí. Souhrnně je k jejich označení navržen termín DAMP (**damage associated molecular pattern**) (12).

RECEPTORY PODOBNÉ TOLL (TLR) V ROZVOJI ZÁNĚTOVÉ ODPOVĚDI

K identifikaci signálů nebezpečí je přirozená imunita vybavena množinou evolučně vysoce konzervovaných membránových nebo solubilních receptorů. Jejich vazba na odpovídající ligandy vede k aktivaci nitrobuněčných signálních cest, které v konečném efektu stimuluji prozáněťové aktivity těla (13). Receptory pro nebezpečné vzory patogenních mikroorganismů byly původně označeny jako receptory PPR (**pathogen pattern receptors**). V současnosti, aby se zdůraznila jejich univerzálnost, která zahrnuje i nemikrobiální nebezpečné vzory, označují se nejčastěji jako receptory PRR (**pattern recognition receptors**). S ohledem na šíří se nebudeme v našem přehledném sdělení věnovat všem skupinám receptorů PRR. Zcela opomíneme solubilní receptory PRR, kterými jsou například počáteční složky komplementového systému, na kterých startuje aktivace komplementu klasickou dráhou (C1q), lektinovou dráhou (MBP

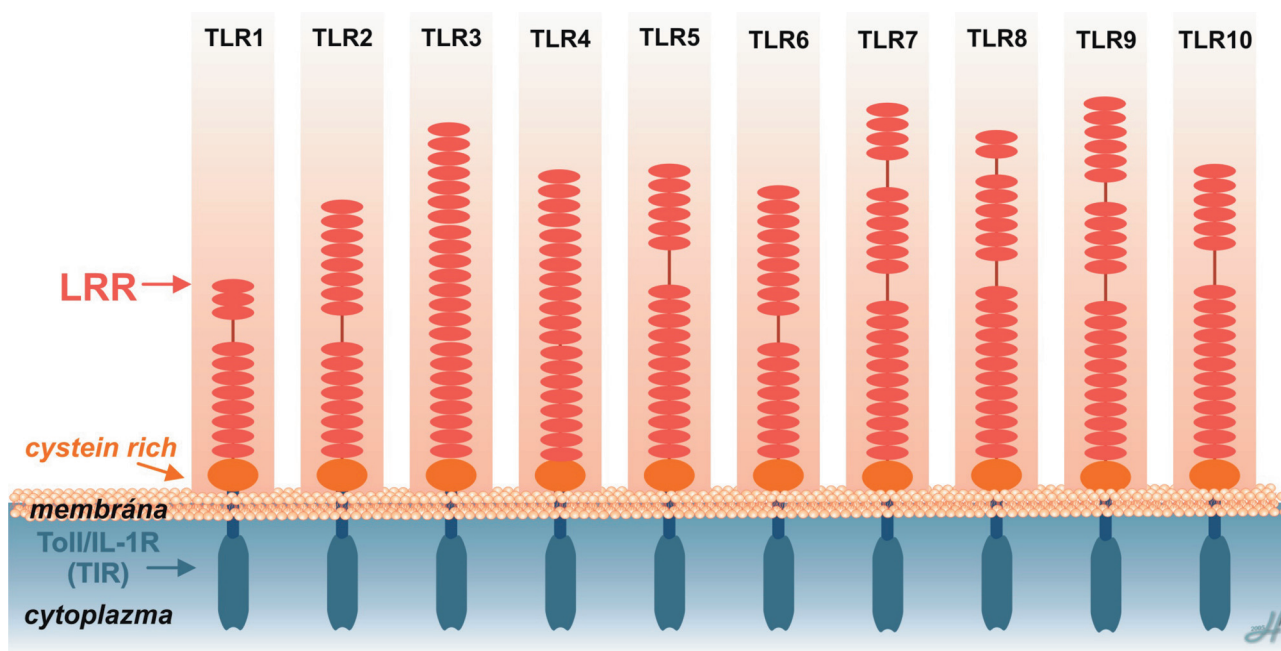
– manose binding protein) nebo jde o složky, které vznikají v průběhu aktivace komplementu (C3b). Buňky přirozené imunity jsou aktivovány prostřednictvím Fc fragmentů imunoglobulinů, zvláště třídy IgG, se kterými po jejich vazbě na antigeny reagují buňky přirozené imunity prostřednictvím několika typů membránových receptorů. Specifickými protilátkami jsou označeny antigenní struktury patogenních mikroorganismů. Zásadní důležitost v signálních systémech přirozené imunity má vazba C-reaktivního proteinu na fosfocholinové struktury mikrobiálních buněk nebo aberovaných vlastních buněčných elementů (8).

Naši pozornost zaměříme na membránové receptory PRR, které se nacházejí jak na povrchu buněk přirozené imunity, tak i na jiných buněčných typech našeho těla, zvláště těch, které oddělují vnitřní a vnější prostředí. Jsou to například buňky epitelové nebo buňky endotelové. Ani v případě membránových molekul PRR nemůžeme podat vyčerpávající přehled. Opět se totiž jedná o několik desítek membránových molekul, které se od sebe zásadně liší svojí strukturou i spektrem ligandů, které identifikují jako nebezpečné vzory. Patří sem například membránové molekuly zahrnované do rodiny lektinů. Tato rozsáhlá skupina membránových molekul identifikuje cukerné zbytky, které jsou součástí nebezpečných vzorů exogenního i endogenního původu. Za mimořádně významné, zvláště s ohledem na vznik a rozvoj aterosklerotického procesu musí být považovány povrchové molekuly z rodiny vycytávacích receptorů. Pro ty je společná charakteristická struktura. Zahrnují membránové molekuly, které se vyskytují na povrchu buněk imunitního systému, ale také endotelových buněk. Reagují intenzivně především s nebezpečnými vzory endogenního původu, které vznikají v těle v důsledku abnormálně probíhajících procesů apoptózy, nebo jsou důsledkem abnormálních chemických modifikací vlastních struktur, například lipoproteinů. Konkrétním příkladem vycytávacích membránových receptorů může být molekula CD36, molekula MARCO, molekuly SR-A, SR-B a řada dalších (14).

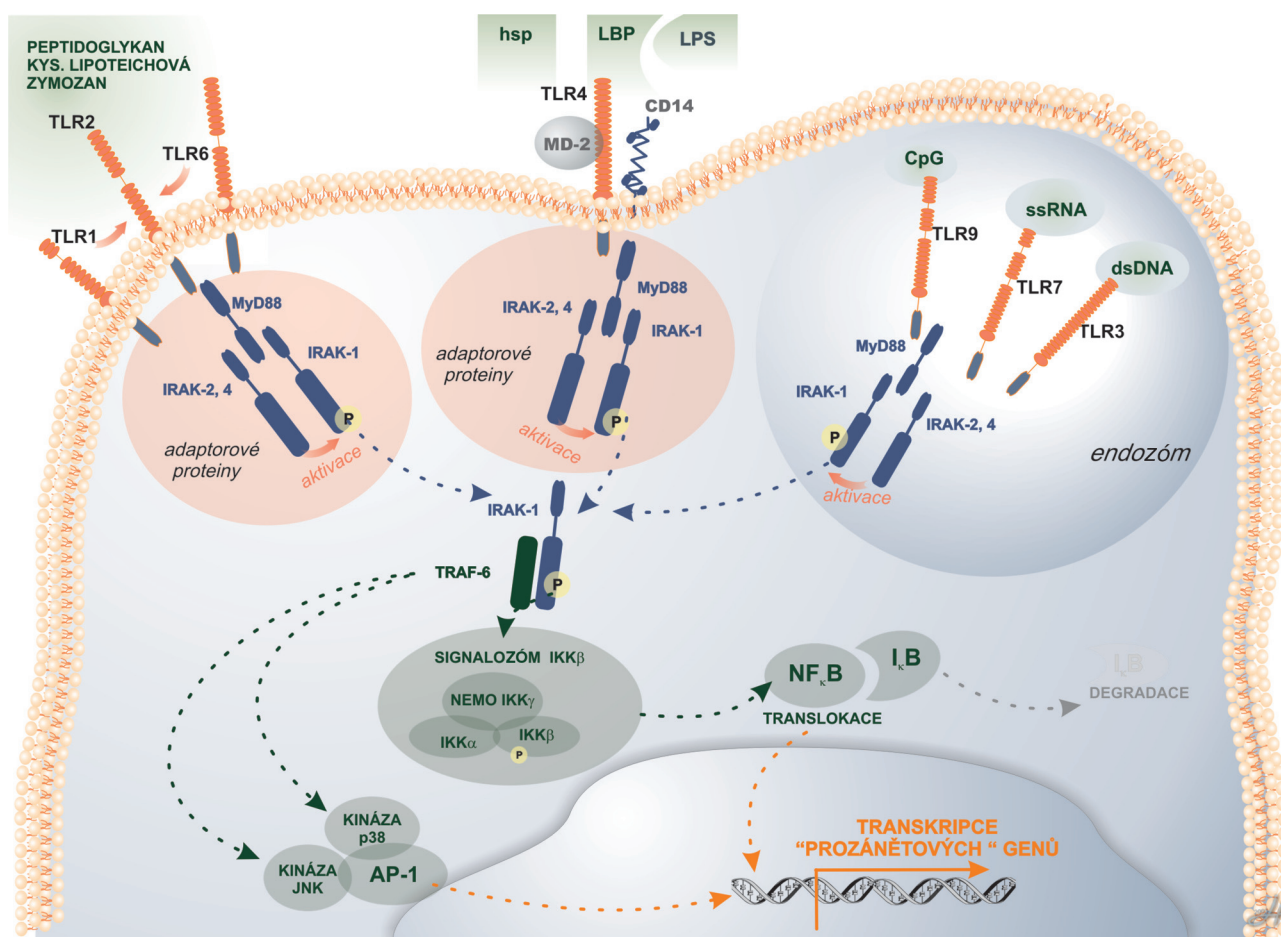
Početnou rodinou receptorů pro nebezpečné vzory, které po vazbě ligandů indukují v buňkách procesy, které mají svou povahou prozáněťové účinky, jsou receptory zahrnované do rodiny receptorů pro IL-1 a rodiny molekul podobných receptorům toll (TLR – toll like receptor). Společně vytvářejí nadrodinu IL-1R/TLR. Pro obě rodiny jsou společné strukturně homologní cytoplazmatické domény. Odlišují se od sebe složením extracelulární části řetězce. Rodina IL-1R zahrnuje v současnosti 10 plně charakterizovaných receptorů. Patří mezi ně receptory pro IL-1RI a IL-1RII a receptor pro IL-18. Vytvářejí komplexy s akcesorními proteiny. Jejich extracelulární část je tvořena třemi doménami podobnými imunoglobulinovým doménám. Intracelulární část receptoru má konzervovanou doménu, označovanou jako TIR doména (Toll/IL-1R). Tuto doménu, která sehraje klíčovou úlohu při přenosu signálů do buněčného jádra, mají všechny molekuly řazené do nadrodiny IL-1R a TLR (15).

Interleukin-1 je pluripotentní prozáněťový cytokin, který vykazuje řadu biologických účinků. Po vazbě na komplex IL-1RI a akcesorního proteinu IL-1RAcP spouští nitrobuněčné aktivační dráhy, které vedou k aktivaci zhruba 100 genů zapojených do rozvoje záněťové odpovědi. Receptor pro IL-1 I. typu je exprimován na většině buněčných typů těla. Exprese receptorů pro IL-18 je omezena především na buňky přirozené imunity. Funkčně je IL-18 výrazným stimulem pro tvorbu INF γ . Interferon γ je považován za klíčový cytokin uplatňující se jak ve fyziologické, tak patofyziologické imunitní odpovědi. Zdůraznit musíme jeho negativní úlohu v patogenezi chronických záněťových onemocnění včetně aterosklerózy.

Receptory TLR jsou unikátní biosenzory exprimované na povrchu buněk imunitního systému a buněk, které jsou strategicky lokalizovány na vnějších a vnitřních rozhraních, tj. na epitelových a endotelových buňkách, ale také například na adipocytech či kardiomyocytech. Receptory TLR identifikují nebezpečné vzory patogenních mikroorganismů a nebezpečné signály, které vznikají patofyziologicky ve



Obr. 1. Strukturální charakteristiky receptorů TLR



Obr. 2. Aktivace makrofágu mikrobiálními nebezpečnými vzory prostřednictvím receptoru TLR

vnitřním prostředí těla. Jejich primární funkcí je indukce prozánětlivých mechanismů (10). Zprostředkovaně regulují i specifickou imunitu aktivací buněk prezentujících antigen a tvorbou humorálních působků (16). Velmi pravděpodobně se podílejí i na mechanismech, které na konci zánětlivé reakce zajišťují procesy tkáňové reparace. Je

doloženo, že vedle těchto fyziologických účinků se receptory TLR podílejí i na patofyziologických mechanismech, jejichž důsledkem je vznik a rozvoj poškozující zánětlivé reakce. Patří mezi ně i procesy, které jsou spojeny s ischemií a reperfúzí (17).

V současnosti je molekulově plně nebo částečně charakterizová-

no 10 receptorů TLR homo sapiens. Strukturálně jsou navzájem výrazně homologní. V mezinárodní klasifikaci leukocytárních molekul je pro ně podle nejnovější CD klasifikace (Adelaide, 2005) vyhrazeno 11 CD znaků (CD281 – CD291). Definitivně byly zařazeny TLR1 (CD281), TLR2 (CD282), TLR3 (CD283), TLR4 (CD284) a TLR9 (CD289). Do rodiny TLR jsou zařazeny transmembránové glykoproteiny I. typu, pro které je společná přítomnost N-terminální extracelulární části bohaté na úseky obsahující leucin (LRR motivy, leucine rich repeats), ke které přiléhá oblast bohatá na cystein. Následuje transmembránová doména a velká intracelulární část, která se podobá nitrobuňkové části receptorů pro IL-1 (IL-1R) a receptorů PPR rostlin, označovaných jako R. Souhrnně se tyto domény označují jako domény TIR. Extracelulární část receptorů TLR, doména LRR, je odpovědná za vazbu ligandů. Intracelulární část TIR přenáší aktivační signály na další nitrobuňkové signální molekuly. Schématicky je struktura receptorů TLR uvedena na obrázku 1.

Po vazbě ligandu na receptor TLR dochází k homodimerizaci membránových receptorů TLR, která vede v důsledku ke konformační změně jejich cytoplazmatických domén TIR. Následně je do signální kaskády připojen adaptorový protein MyD88, který ve své struktuře rovněž zahrnuje doménu TIR. Navázaný adaptorový protein MyD88 aktivuje cytoplazmatickou kinázu označovanou jako IRAK-4 (IL-1 receptor associated kinase-4) prostřednictvím své domény DD (death domain). Doména DD je strukturálně významnou částí, která je společná pro již několik desítek popsaných membránových i cytoplazmatických molekul zapojených do aktivačních procesů buňky i regulaci buněčné apoptózy. Ze čtyř dosud popsaných kináz IRAK je pro signální systém TLR nejpodstatnější IRAK-4 a IRAK-1. Spolu s proteinem IRAK se na adaptorový protein MyD88 váže také cytoplazmatická molekula označovaná jako TRAF-6 (TNF receptor associated factor-6). Molekuly IRAK-1 a TRAF-6 poté disociují z komplexu a asociují s dalším nitrobuňkovým komplexem, který se skládá z molekul TAK-1 (transforming factor β activated kinase-1) a proteinů vázajících TAK-1 komplex označených jako TAB-1, 2. Aktivovaný komplex TAK aktivuje kinázový komplex IKK (I κ B kinase). Kinázová aktivita tohoto komplexu je modulována svojí podjednotkou označovanou jako NEMO (N- κ B essential modulator). Inhibiční faktor I κ B je po fosforylaci zprostředkované kinázovým komplexem IKK směřován k ubikvitinaci a degradaci. Tím se odkryje lokalizační doména signálního transkripčního faktoru NF- κ B, která směřuje transkripční faktor do jádra. Zde transkripční faktor NF- κ B stimuluje přepis mnohých genů, které se podílejí na rozvoji zánětové reakce. Podobně jako signální cesta NF- κ B vedoucí k aktivaci transkripčního faktoru NF- κ B může být prostřednictvím TLR aktivována i další nitrobuňková signální cesta, která vede k aktivaci transkripčního faktoru AP-1 (18, 19). Signální dráha vedoucí k aktivaci transkripčního faktoru NF- κ B je uvedena na obrázku 2.

Zkratky

ACAMP	– molekulový vzor spojený s apoptotickou buňkou (apoptosis cell associated molecular pattern)
BcR	– receptor pro antigen na B lymfocytech
CD36	– vychytávací receptor
DAMP	– molekulový vzor spojený s poškozením (damage associated molecular pattern)
DD	– signální část molekul regulujících apoptózu (death domain)
LRR	– úseky bílkoviny bohaté na leucin (leucine rich repeats)
MARCO	– vychytávací receptor
MBP	– lektinová dráha (manose binding protein)
oxLDL	– lipoproteiny

PAMP	– molekulový vzor spojený s patogeními mikroorganizmy (pathogen associated molecular pattern)
PPR	– receptor pro nebezpečné vzory patogenních mikroorganizmů (pathogen pattern receptor)
PRR	– receptor pro nebezpečné vzory (pattern recognition receptor)
TcR	– receptor pro antigen na T lymfocytech
TIR	– signální část molekul regulujících nitrobuňkovou aktivaci (interleukin receptor)
TLR	– receptory podobné receptorům toll (toll-like receptors)
SR-A	– vychytávací receptor A
SR-B	– vychytávací receptor B

LITERATURA

- Ross, R.: Atherosclerosis – an inflammatory disease. *NEJM*, 1999, 340, s. 115-126.
- Vink, A., Pasterkamp, G., Poppen, M. et al.: The adventitia of atherosclerotic coronary arteries frequently contains Chlamydia pneumoniae. *Atherosclerosis*, 2001, 157, s. 117-122.
- Hoehbe, K., Janssen, E., Beutler, B.: The interface between innate and adaptive immunity. *Nature Immunol.*, 2004, 5, s. 971-974.
- Akira, S., Takeda, K., Kaisho, T.: Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature Immunol.*, 2001, 2, s. 675-680.
- Braun-Fahrlander, Ch.: Environmental exposure to endotoxin and other microbial products and the decreased risk of childhood atopy: evaluating developments since April 2002. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 3, s. 325-329.
- Kosunen, T. U., Höök-Nikanne, J., Salomaa, A. et al.: Increase of allergen-specific immunoglobulin E antibodies from 1973 to 1994 in a Finnish population and a possible relationship to *Helicobacter pylori* infections. *Clin. Exp. All.*, 2002, 32, s. 373-378.
- Horner, A. A., Raz, E.: Do microbes influence the pathogenesis of allergic diseases? Building the case for Toll-like receptor ligands. *Curr. Opin. Immunol.*, 2003, 15, s. 614-619.
- Krejsek, J., Kopecký, O.: *Klinická imunologie*. Hradec Králové, Nucleus, 2004.
- Kopp, E., Medzhitov, R.: Recognition of microbial infection by Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.*, 2003, 15, s. 396-401.
- Takeda, K., Akira, S.: Toll-like receptors in innate immunity. *Int. Immunol.*, 2005, 17, s. 1-14.
- Matzinger, P.: Tolerance, danger and the extended family. *Ann. Rev. Immunol.*, 1994, 12, s. 991-1045.
- Seung-Yong S., Matzinger, P.: Hydrophobicity: An ancient damage associated pattern that initiates innate immune responses. *Nature Rev. Immunol.*, 2004, 4, s. 469-478.
- Aderem, A.: Phagocytosis and the inflammatory response. *JID*, 2003, 187 (Suppl. 2), s. S340-S345.
- Maderna, P., Godson, C.: Phagocytosis of apoptotic cells and the resolution of inflammation. *Biochim. Biophysica Acta*, 2003, 1639, s. 141-151.
- Takeda, K., Kaisho, T., Akira, S.: Toll-like receptors. *Ann. Rev. Immunol.*, 2003, 21, s. 335-376.
- Iwasaki, A., Medzhitov, R.: Toll-like receptor control of the adaptive immune response. *Nature Immunol.*, 2004, 5, s. 987-995.
- Ikushima, H., Nishida, T., Takeda, K. et al.: Expression of Toll-like receptors 2 and 4 is downregulated after operation. *Surgery*, 2004, 135, s. 376-385.
- Cook, D. N., Pisetsky, D. S., Schwartz, D. A.: Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. *Nature Immunol.*, 2004, 5(10), s. 975-979.
- Doherty, T. M., Arditi, M.: TB, or not TB: that is the question – does TLR signaling hold the answer? *J. Clin. Invest.*, 2004, 114, s. 1699-1703.

Práce vznikla s podporou výzkumného záměru MŠMT: MSM 0021620812.

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Přirozená imunita, receptory pro exogenní a endogenní nebezpečné vzory v imunopatogenezi aterosklerózy II. část: Receptory TLR, význam polymorfizmu receptorů pro nebezpečné vzory

Krejsek J., ¹Kuneš P., Andrýs C., Holická M., Novosad J.,
Kudlová M., Koláčková M.

Ústav klinické imunologie a alergologie LF UK a FN, Hradec Králové
¹Kardiochirurgická klinika FN, Hradec Králové

SOUHRN

Za nejvýznamnější skupinu receptorů pro nebezpečné vzory jsou pokládány receptory TLR. V současnosti je odlišeno 10 typů receptorů TLR. Většina z nich je exprimována na membránách buněk a identifikuje extracelulárně lokalizované signály nebezpečí. Některé receptory TLR se nacházejí v nitrobuněčných strukturách a identifikují nitrobuněčné signály nebezpečí. Receptory pro nebezpečné vzory vykazují individuální odlišnosti určené genovými polymorfismy. Na základě rozdílů v genetické dispozici a proměnlivou expozicí podmínkám vnějšího světa je vytvářena individuální imunitní reaktivita. Rozdíly v individuální imunitní reaktivitě lze vysvětlit rozdílné individuální dispozice lidí k rozvoji poškozující imunopatologické reakce, která se podílí na patogenezi aterosklerózy.

Klíčová slova: TLR, polymorfismus, ateroskleróza, individuální imunitní reaktivita.

SUMMARY

Krejsek J., Kuneš P., Andrýs C. et al.: Innate Immunity, Receptors for Exogenous and Endogenous Danger Patterns in Immunopathogenesis of Atherosclerosis – Part II: TLR Receptors, Significance of Genetic Polymorphism of Danger Signals Receptors

The most important set of receptors for danger patterns are TLR receptors. Together ten different TLR receptors were identified so far. Majority of TLR receptors is expressed on the cell surface to identify extracellular localized danger signals. Some TLR receptors are also expressed in the intracellular compartment to identify intracellular danger signals. Receptors for danger signals display individual differences delineated by genetic polymorphism. The individual immune reactivity is developed in the context of genetic predisposition and the exposition to variable environmental factors. The differences in an individual immune reactivity are probably responsible for individual susceptibility or resistance to the development of immunopathological reactivity, which is involved in the immunopathogenesis of atherosclerosis.

Key words: TLR receptors, polymorphism, atherosclerosis, innate immunity.

Kr.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 790–794.

Paleta nebezpečných vzorů patogenních mikroorganismů, které zahrnují viry, bakterie, fungální agens i parazity, je velmi pestrá a navíc se patogenní mikroorganizmy mohou nacházet jak v tělních tekutinách, tak uvnitř buněk. Nepřekvapí tedy, že receptory TLR, původně prokazované na povrchu buněk imunitního systému, jsou podle nejnovějších údajů exprimovány i v nitrobuněčných kompartmentech buněk (1).

Membránové receptory TLR identifikují signály nebezpečí extracelulárně lokalizovaných patogenů. Jsou v nejvyšší míře, co do kvality i kvantity, vyjádřeny na klíčových buňkách přirozené imunity, tj. na dendritických buňkách a makrofázích. Aktivita těchto buněk totiž podmiňuje následný rozvoj specifické imunity, která je pro komplexní imunitní odpověď nezbytná. V menší míře a pestrosti jsou receptory TLR exprimovány na granulocytárních elementech, jak neutrofilních, tak eozinofilních a na T a B lymfocytech. Membránové receptory TLR mohou vzájemně synergizovat nebo

svoji aktivitu realizují v asociaci s dalšími receptory PPR, jak membránovými, tak solubilními.

Nitrobuněčně lokalizované receptory TLR jsou zaměřeny k identifikování nebezpečných vzorů intracelulárních patogenů. Těmi jsou především virová agens. Uvedené receptory TLR jsou strategicky lokalizovány v endozomálním kompartmentu, kde identifikují přítomnost virové dsRNA a ssRNA. Nitrobuněčně může být identifikována přítomnost úseků mikrobiálních DNA bohatých na cytosin a guanosin. Tyto nebezpečné vzory, tzv. CpG, jsou významným znakem přítomnosti bakteriální nukleové kyseliny uvnitř buněk imunitního systému. Následovat bude stručná charakteristika jednotlivých receptorů TLR. Jedná se především o jejich expresi a důsledky aktivace buněk jejich prostřednictvím (2, 3).

Receptor TLR-1 je vyjádřen ubikvitárně ve vyšší denzitě než ostatní typy receptorů TLR. Na buňkách imunitního systému je největší denzita TLR-1 dosaženo na monocytech. Nachází se však také

na makrofázích, dendritických buňkách, polymorfonukleárních leukocytech, lymfocytech T a B a NK buňkách. Expresce TLR-1 je zesílena vlivem některých cytokinů, z nichž zdůrazníme IL-6, INF γ , IL-1 β a TNF α . Na rozdíl od jiných receptorů TLR není expresce TLR-1 změněna po expozici buněk Gram-pozitivním nebo Gram-negativním bakteriím. TLR-1 vytváří heterodimery s TLR-2 a zřejmě tak napomáhá efektivnějšímu přenosu aktivačních signálů prostřednictvím tohoto receptoru.

Receptor TLR-2 je rovněž exprimován na různých buněčných typech těla a opět dosahuje nejvyšší denzity na povrchu buněk imunitního systému, zvláště na buňkách monocyto-makrofágové linie. Ke zvýšení expresce dochází především vlivem TNF α a IL-6, ale také po působení IL-1 β , INF γ a IL-10. Působením Gram-pozitivních a Gram-negativních bakterií je přítomnost mRNA pro TLR-2 zvýšená. Změny v membránové expresi těchto receptorů jsou však poměrně malé. Receptor TLR-2 může vytvářet heterodimery s TLR-1 a TLR-6. Receptor TLR-2 je mimořádně významný v identifikaci nebezpečných bakteriálních vzorů. Za ligandy receptoru TLR-2 můžeme považovat bakteriální lipopolysacharidy, peptidoglykany, lipoteichoovou kyselinu, lipoarabinomanan a další bakteriální glykolipidy, glykoproteiny a lipoproteiny. Vedle bakteriálních nebezpečných vzorů identifikuje i přítomnost vybraných virových agens a přítomnost fungálního zymozanu. Receptor TLR-2 je pravděpodobně translokován i do nitra buňky a nachází se ve fagozoméchu. Podílí se tak na internalizaci mikrobiálních látek.

Receptor TLR-3 má relativně omezenou expresi na buňky imunitního systému. TLR-3 je vyjádřen na buňkách prezentujících antigen, tj. dendritických buňkách, makrofázích a také na T lymfocytech a NK buňkách. Expresce TLR-3 je mírně zesílena po působení INF γ , TNF α , IL-6 a IL-1 β . Ke zvýšené přítomnosti mRNA pro TLR-3 dochází v buňkách po expozici Gram-negativním a Gram-pozitivním bakteriím. Působením Gram-negativních bakterií dochází ke zvýšení expresce TLR-3 na monocytech a granulocytech. TLR-3 je podle některých údajů lokalizován i nitrobuněčně v lyzozomálním kompartmentu buněk, kde identifikuje dsRNA virového původu.

Za pravděpodobně nejlépe prozkoumaný receptor TLR je u člověka možné považovat TLR-4. **Receptor TLR-4** je vyjádřen na dendritických buňkách, monocytech, makrofázích, granulocytech a T a B lymfocytech. V aterosklerotické lézi je i na endotelových buňkách a fibroblastech v adventicii. Expresce TLR-4 je zesílena vlivem INF γ , IL-1 β , TNF α a IL-6. Po expozici buněk Gram-pozitivním a Gram-negativním bakteriím nedochází ke změně v přítomnosti mRNA pro TLR-4. K výraznému zesílení expresce TLR-4 dochází na granulocytech a monocytech působením Gram-negativních bakterií. TLR-4 je považován za významný receptor PPR pro bakteriální lipopolysacharid. Receptory TLR-4 vytvářejí homodimery a pro zajištění signálních aktivit vyžadují spoluúčast extracelulární molekuly označované jako MD-2. Ani asociace homodimeru TLR-4 s MD-2 neumožňuje přenos aktivačních signálů po působení LPS. LPS musí být nejprve navázán na plazmatický protein LBP (lipopolysacharid binding protein) a komplex LPS LBP následně reaguje s membránovou molekulou CD14, která je zakotvena prostřednictvím glykosylfosfatidylinositolové kotvy. Podle nejnovějších údajů se ukazuje, že do přenosu aktivačního signálu po působení LPS budou zapojeny i další membránové molekuly. TLR-4 může vedle LPS identifikovat i některé další bakteriální vzory, například lipoteichoovou kyselinu. Jsou doklady i o identifikaci nebezpečných vzorů virového původu. Stojí za připomenutí, že komplexy PPR obsahující receptor TLR-4 mohou identifikovat řadu endogenních ligandů, například fibrinogen, fibronektin, hyaluronan, stresové proteiny, β defenziny a další. V procesu aterogeneze po aktivaci prostřednictvím TLR tvoří makrofágy chemokiny CC, které regulují cílenou migraci monocytů a T lymfocytů do léze. Je ovlivněna proliferace a migrace buněk hladké svaloviny. Je zesí-

lena tvorba proteináz, například matrixových metaloproteináz MMP-2,9 a katepsinů. Ty jsou odpovědné za rozklad mezibuněčné hmoty. Degradace mezibuněčné hmoty má za následek uvolnění chemokinů, které byly funkčně neutralizovány po vazbě na cukerné modifikace bílkovin mezibuněčné hmoty (4). Chemokiny následně určují cílenou migraci buněk, především buněk imunitního systému, a jejich akumulaci v místě zánětu.

Receptor TLR-5 je exprimován na buňkách imunitního systému. V nejvyšší denzitě je vyjádřen na monocytech. K zesílení expresce dochází po působení IL-6, TNF α a IL-8. V menší míře na expresi TLR-5 působí stimulačně i IL-1 β a INF γ . Po působení Gram-pozitivních a Gram-negativních bakterií dochází ke zvýšení přítomnosti mRNA pro TLR-5. Paradoxně však po působení mikroorganismů dochází ke snížení expresce TLR-5 na monocytech. TLR-5 vytváří buď homodimery, nebo heterodimery ve spojení s TLR-4. Identifikují strukturální jednotky flagelinu bakteriálních bičků.

Receptor TLR-6 je v imunitním systému vyjádřen na monocytech a B lymfocytech. mRNA pro TLR-6 byla nalezena i v jiných orgánech. *In vitro* je jeho expresce zesílena působením INF γ , IL-6, IL-1 β , TNF α a IL-10. V *ex vivo* modelu je expresce TLR-6 na monocytech a granulocytech snížena po jejich expozici Gram-negativním bakteriím. TLR-6 vytváří heterodimery s TLR-2.

Mediátorová mRNA pro **TLR-7** byla nalezena v sekundárních lymfatických orgánech, například ve slezině, lymfatických uzlinách a tonzylách. Je prokazatelná také v plicích. Nejvyšší expresce byla zaznamenána v dendritických buňkách, monocytech a B lymfocytech. K největšímu zesílení expresce TLR-7 dochází po stimulaci IL-6. Stimulačně působí rovněž TNF α , INF γ , IL-1 β a IL-10. Po expozici monocytů a granulocytů Gram-negativním a Gram-pozitivním bakteriím dochází ke zvýšené expresi TLR-7. Je důležité, že TLR-7 je lokalizována také intracelulárně a může zřejmě identifikovat nebezpečné vzory mikroorganismů, které jsou přítomny uvnitř buněk.

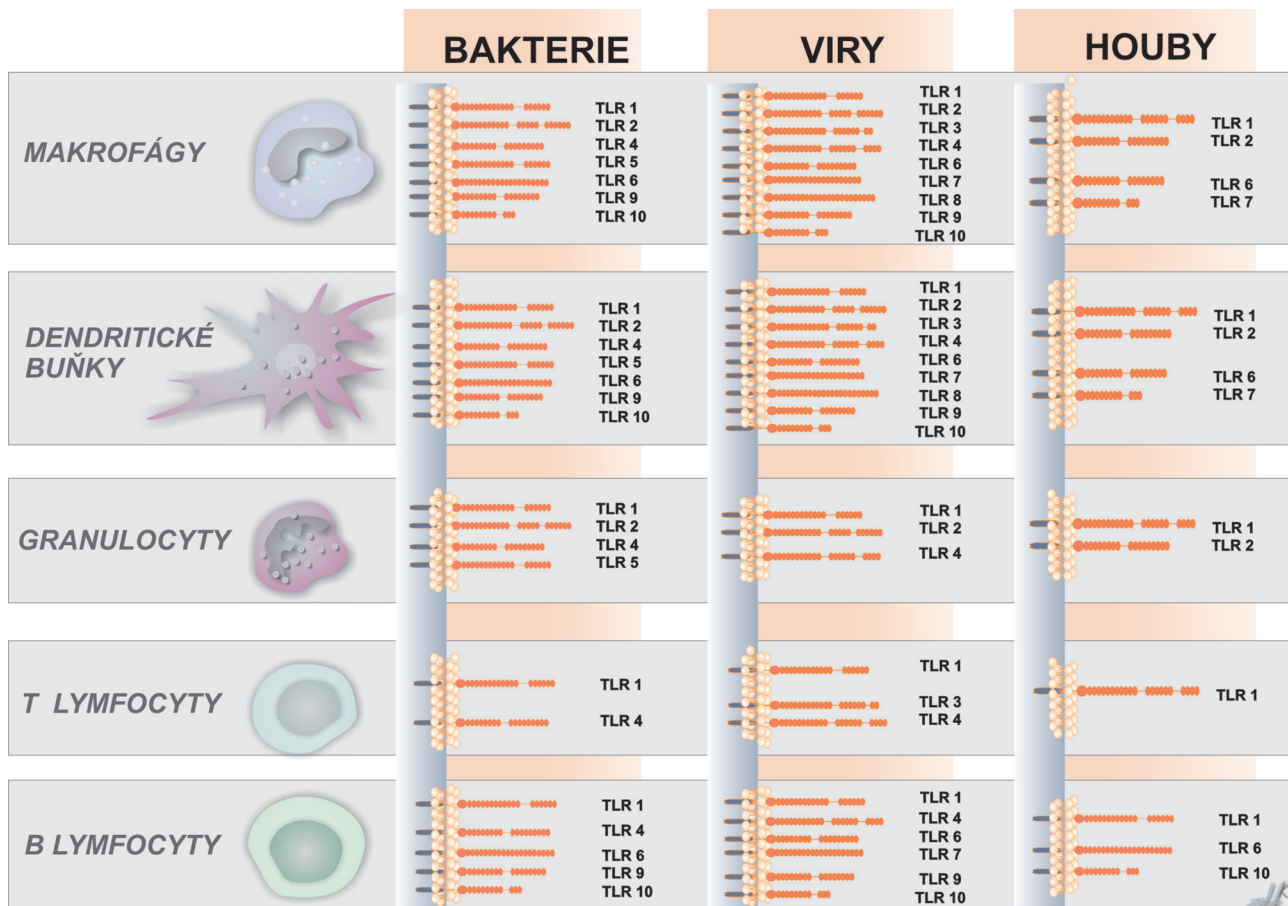
Mediátorová RNA pro **TLR-8** byla prokázána v sekundárních orgánech imunitního systému, lymfatických uzlinách, slezině, buňkách imunitního systému a také v kostní dřeni. Na TLR-8 působí stimulačně IL-1 β , TNF α , IL-6 a IL-10. Pravděpodobně nejvýraznějším podnětem pro expresi TLR-8 je působení INF γ . Po působení Gram-negativních bakterií dochází k zesílení expresce TLR-8 na monocytech. V protikladu, expresce TLR-8 na granulocytech je vlivem Gram-negativních bakterií snížena. Bylo prokázáno, že TLR-8 je lokalizován rovněž intracelulárně.

Mediátorová mRNA pro **TLR-9** je podobně jako v případě TLR-8 přítomna v sekundárních lymfatických orgánech, buňkách imunitního systému a kostní dřeni. Nejvyšší denzity expresce mRNA pro TLR-9 je dosaženo v dendritických buňkách a B lymfocytech. Na přítomnost TLR-9 pozitivně působí cytokiny TNF α , INF γ , IL-6 a IL-1 β . Expresce TLR-9 na monocytech a granulocytech je snížena po expozici Gram-negativním bakteriím. TLR-9 je pravděpodobně nejvýznamnějším receptorem PPR, který identifikuje přítomnost úseků nemetylované bakteriální DNA bohaté na cytosin a guanosin (fragments CpG). Je prokazatelný i v nitrobuněčných kompartmentech buňky, tj. v lyzozomovém a endocytárním kompartmentu, kde identifikuje nebezpečné vzory, mající povahu nukleových kyselin.

Přítomnost mRNA pro **TLR-10** byla v nejvyšší míře prokázána v buňkách a tkáních imunitního systému. Jedná se o tymus, lymfatické uzliny a slezinu. Přítomnost mRNA je modulována působením cytokinů, např. TNF α , INF γ , IL-1 β a IL-6. Přítomnost bakterií vede k zesílení expresce TLR-10 na monocytech.

Expresce jednotlivých receptorů TLR na buňkách imunitního systému je uvedena na obrázku 1.

Je poměrně zajímavé, že geny kódující receptory TLR, jsou široce distribuovány na různých chromozómech lidského genomu. Geny pro TLR-1, TLR-2, TLR-3, TLR-6 jsou lokalizovány na 4. chromozómu, gen pro TLR-9 na 3. chromozómu, gen pro TLR-4 na



Obr. 1. Expresce receptorů TLR pro odlišné mikrobiální nebezpečné vzory na buňkách imunitního systému

9. chromozómu a gen pro TLR-5 na 1. chromozómu. Geny pro TLR-7 a TLR-8 jsou umístěny na pohlavním chromozómu X. Molekulová hmotnost receptorů TLR se pohybuje zhruba od 84 000 (TLR-1, TLR-2) do 120 000 (TLR-7, TLR-8).

GENETICKÁ PROMĚNLIVOST RECEPTORŮ TLR A INDIVIDUÁLNÍ IMUNITNÍ REAKTIVITA

Mimořádný pokrok, kterého jsme svědky v uplynulých letech v oblasti genomiky, na obecné úrovni ukazuje, že charakteristiky každého jedince jsou určovány jeho genetickou dispozicí podmíněnou polymorfismem mnohých genů. Genová proměnlivost určuje spolu s vlivem vnějších podmínek konečnou individuální imunitní reaktivitu. V případě receptorů pro nebezpečné vzory přirozené imunity jsou informace dostupné pro člověka podstatně omezenější než ty, které byly získány v experimentálním myším modelu. Daleko nejobtížnější je u člověka implikovat, které genové dispozice jsou odpovědné za rozvoj určitých onemocnění. Problémem je právě zmíněná genetická proměnlivost lidské populace, spolu s obtížně vyjádřitelnými proměnlivými faktory vnějšího prostředí (5).

V genech, které jsou děděny mendelovskými mutacemi v kódující oblasti k například předčasnému přerušení mRNA pro daný protein, které se v důsledku projeví syntézou nefunkčního řetězce. Podobně substituce v kódující oblasti mění sled aminokyselin ve vzniklé bílkovině a v důsledku i jejich funkci. V tomto typu dědičnosti je snadné spojit daný genetický defekt s konkrétním projevem. Složitější situace je u geneticky multifaktoriálních onemocnění, na jejichž patogenезi se podílejí produkty více genů. Situaci komplikují i další z genetiky známé skutečnosti, že polymorfismus se

může vyskytovat v nekódujících genových oblastech, například v promotorové oblasti, v nepřekládané oblasti 3' konce a v oblastech, které jsou poblíž hranic mezi intronem a exonem, ve kterých dochází k sestihu na úrovni mRNA. Polymorfismem je označována stabilní genová mutace, která se v populaci udržuje s frekvencí větší než 1 %.

Zaměříme se na přehled důsledků genetické proměnlivosti v celé signální dráze zahájené vazbou ligandů na receptory TLR. V závěru se budeme soustředit na důsledek proměnlivosti v receptorech TLR na vznik a rozvoj aterosklerózy.

Změny ve struktuře některých receptorů TLR a některých složek nitrobuňkové signální cesty NF- κ B ovlivňují individuální imunitní reaktivitu po extrémní expozici člověka bakteriálním patogenům v průběhu sepse. Nejvíce je známo o substituci kyseliny asparagové za glycin (D299G) v genu pro TLR-4. TLR-4 identifikuje lipopolysacharid Gram-negativních bakterií v kooperaci s membránovou molekulou monocyto-makrofágových buněk CD14. Rovněž v genu kódujícím molekulu CD14 byly popsány změny vedoucí k substituci určitých aminokyselin v bílkovinném řetězci (6). U osob s uvedenými polymorfismy se zvyšuje riziko sepse způsobené Gram-negativními bakteriemi. Na druhou stranu však osoby s polymorfismem D299G mají snížené riziko rozvoje aterosklerózy. Je u nich prokazatelná nižší schopnost produkovat prozánětlivé cytokiny, například IL-6, ale i fibrinogen nebo solubilní adhezní molekulu sVCAM-1 (5).

Problematika polymorfismu TLR receptorů je mimořádně aktivně studována v oblasti kardiologie. Získané výsledky poskytují další doklady pro hypotézu, že na aterosklerotický proces je třeba pohlížet jako na zánětlivý proces, který může být indukován infekčními agens i mnohými podněty neinfekční povahy, například oxidovanými formami LDL. Na rozvoji zánětlivého procesu ústícího

v aterosklerózu mají nepochybně zásadní vliv především signální systémy přirozené imunity včetně receptorů TLR. V evolučním kontextu můžeme spekulovat, že ti jedinci, kteří mohli v minulosti s ohledem na vyšší tlak infekčních agens profitovat z účinnějšího rozvoje obranné zánětové reakce, mohou v případě moderní populace být vlivem perzistujících nízkých koncentrací bakteriálních podnětů ohroženi rozvojem nežádoucí zánětové reakce ústící v aterosklerózu (4).

Buňky imunitního systému a další buněčné typy, například endotelové buňky, mají dostatečný potenciál po identifikaci exogenních nebo endogenních nebezpečných vzorů, indukovat prostřednictvím především signální cesty NF-κB lokální i systémovou zánětovou reakci (7, 8). Zánět je doloženě asociován s procesem aterogeneze a destability plátu. Aktivace buněk přirozené imunity vede k produkci prozánětových cytokinů, které ovlivňují endotelové buňky a buňky hladké svaloviny tak, že začnou samy přispívat do lokálních prozánětových aktivit. Vedle makrofágů a T lymfocytů jsou v aterosklerotické lézi přítomny v menším počtu i dendritické buňky. Dendritické buňky jsou zvláště významné jako spojnice, která funkčně provazuje přirozenou a specifickou imunitu. Akumulace buněk zánětu a následně také krevních destiček v místě arteriální léze je důsledkem změn adhezních vlastností buněk a podílí se na nich také skupina cytokinů, která reguluje usměrněný pohyb jednotlivých buněčných elementů (9). Opakovaně jsme uvedli, že signální molekuly PRR jsou fylogeneticky vysoce konzervované. Nebyl dosud například nalezen člověk, který by měl defekt ve vyjádření některých z receptorů TLR. Nebyly zatím popsány ani vrozené defekty v signálních drahách vedoucích k aktivaci transkripčního faktoru NF-κB. Jedinou výjimkou je porucha genu kódujícího jednu ze složek signální dráhy, konkrétně molekuly NEMO (NFκB Essential Modulator). Mutace genu kódujícího bílkovinu NEMO vedou k mnohočetným důsledkům pro člověka. Z pohledu imunitního systému zesilují vnímavost k virovým bakteriálním infekcím. Z tohoto důvodu jsou jedinci s geneticky podmíněným defektem regulačního proteinu signální cesty NF-κB řazeni mezi nemocné s primární imunodeficiencí.

Teprve rychlý pokrok v oblasti genomiky naznačuje možné odpovědi na otázky, proč u některých jedinců dochází k rozvoji aterosklerózy a jiní jsou před rozvojem této imunopatologické zánětové reakce chráněni. K dispozici jsou experimentální údaje získané s myšimi modely, u kterých jsou jednotlivé membránové nebo cytoplazmatické složky signálních drah vedoucích k aktivaci NF-κB cíleně vyřazeny (modely knock-out). Údaje, které jsou více relevantní klinice získáváme postupně ze studií, které analyzují dopad polymorfismu ve složkách uvedené signální dráhy na rozvoj fyziologické obranné reakce i imunopatologické reakce. Nejrozsáhlejší informace o interindividuálních odlišnostech v signálních drahách TLR/NF-κB jsou zaměřeny na rozdíly ve vnímavosti k infekcím. Změny v aktivitě signálních drah jsou spojeny s polymorfizmy genu pro TLR-2 a genu pro nitrobuněčný protein IRAK-4. V různých souborech je udávána zvýšená citlivost osob s polymorfizmem R753Q (arginin → glutamin) v molekule TLR-2 vůči patogenním mykobakteriím. Polymorfismus v genu pro IRAK-1 vede ke zvýšenému výskytu infekcí způsobených Gram-pozitivními bakteriemi z rodu *Streptococcus* a *Staphylococcus*.

Deregulovaná zánětová reakce, která se prohlubuje u nemocných se SIRS a je nejvýrazněji vyjádřena u pacientů v septickém šoku s multiorgánovým selháním, vede v důsledku k mechanismům tlumícím imunitní reaktivitu. Ovlivněny jsou jak mechanismy přirozené imunity, tak specifická buněčná imunita (10). Přirozený imunitní systém není schopen reagovat na další podněty prostředkováné lipopolysacharidem. Ovlivněny jsou i mechanismy apoptózy. Byla prokázána snížená vnímavost k LPS u osob se substitucí A103G (alanin → glycin) molekuly MD-2, která se podílí na sestavení signálního komplexu TLR-4 (11).

Z dosud neúplné mozaiky dat je zatím nemožné uzavřít, které geneticky určené proměnné faktory přirozené imunity je třeba chápat jako negativně působící v této situaci a naopak, které důsledky je možné považovat za pozitivní, vedoucí k utlumení poškozující zánětové reakce. Polymorfismus, který vede k záměně nukleotidu C za T na pozici 159 promotorové oblasti genu pro CD14, jehož produkt asociuje s TLR-4 a TLR-2 a slouží jako komplex pro identifikaci LPS a stresových proteinů, je asociován se zvýšenou hladinou solubilní formy molekuly CD14. Přítomnost molekuly CD14 moduluje aktivitu cirkulujícího endotoxinu. Opakovaně byla prokázána úloha polymorfismu TLR-4 D299G v progresi aterosklerózy (12). Osoby, které mají na pozici 299 záměněnu kyselinu asparagovou za glycin, mají nižší riziko rozvoje aterosklerózy objektivizované na karotidách. Porovnání těchto názorů s výsledky jiných studií, které takovýto vztah nepotvrdily, je obtížné. Důvodem jsou proměnné faktory, například etnický původ osob zařazených do různých studií. Obecně lze říci, že nemocní s D299G mají nižší plazmatickou hladinu prozánětových cytokinů, jakými je například IL-6 a dalších markerů zánětu, například fibrinogenu a solubilní molekuly sVCAM. Nepřekvapí, že osoby s uvedeným polymorfizmem, které mají sníženou aktivitu prozánětových mechanismů, jsou ve zvýšené míře vnímavé k infekčním podnětům. Opakovaně bylo doloženo, že polymorfismus v TLR-4 je asociován s vyšším rizikem rozvoje těžké Gram-negativní sepse (13).

Receptor TLR-4 je schopen identifikovat nebezpečné vzory představované stresovým proteinem Hsp60 z *Chlamydia pneumoniae*. V úvahách o úloze receptorů TLR v patogenezi aterosklerózy je tento údaj významný. Ve vaskulární lézi byly totiž stresové proteiny včetně hsp60 opakovaně prokázány. Odpověď na ně v experimentu na myších zajišťuje TLR-4 (14). Ve hře mohou být i další stresové proteiny (15). Polymorfismus D299G v molekule TLR-4 je asociován se zvýšenou incidencí kardiovaskulárních příhod. Osoby s D299G odpovídají také s vyšší účinností na terapii statiny.

Oxidativní stres je považován za jednu z příčin endotelové dysfunkce a zesílené exprese adhezivních receptorů. Oxidované LDL a oxidované fosfolipidy ovlivňují zřejmě expresi receptorů TLR-4. Oxidované fosfolipidy po interakci s TLR-4 vedou k zesílené transkripci genu pro IL-8. TLR-4 se podílí na expanzivní arteriální remodelaci. Expanzivní remodelace je přirozený kompenzační pochod, který kompenzuje tvořící se plak. Udržuje se tak cévní lumen a vytvářejí se podmínky pro tvorbu kolaterál. V experimentu na myších bylo prokázáno, že deficiencie TLR-4 omezuje tyto procesy. Z experimentů na myších se také ukazuje úloha TLR-4 v destabilizaci aterosklerotického plátu. Význam polymorfismu molekuly MD-2, která je součástí multimolekulového signálního komplexu CD14, TLR-4, MD-2 pro vznik a rozvoj aterosklerózy není zatím u člověka znám. Záměna v genu na pozici A103G a T35A vedla ke snížené odpovědi na lipopolysacharid. V experimentu na myších zvířata knock-outovaná pro nitrobuněčný adaptorový protein MyD88, který je zahrnut v signální dráze NF-κB, netrpěla rozvojem aterosklerózy v porovnání s neovlivněnými zvířaty.

ZÁVĚR

Přes skutečnost, že výsledky studia genetických dispozic, které podmiňují fungování přirozené imunity v abnormální zánětové reakci, na jejímž konci je rozvoj aterosklerózy, nejsou jednoznačné, je zřejmé, že koncepce individuálních rozdílů v imunitní reaktivitě postavené na odlišnostech v genových dispozicích je nosná a do budoucna perspektivní (16). Poznání, že složky přirozené imunity jsou schopny identifikovat, vedle nebezpečných vzorů patogenních mikroorganismů také nebezpečné vzory, které jsou endogenního původu, změnilo náš pohled na receptory pro nebezpečné vzory

(17). Zcela nově se začíná prosazovat jejich název jako receptory imunitního dohledu (Surveillance Receptors) (18). Receptory imunitního dohledu identifikují endogenní i exogenní nebezpečné vzory, které vznikají při infekci, poškození tkání různého původu a během remodelace tkání. Hlubší poznání receptorů pro nebezpečné vzory a s nimi spojených nitrobuněčných signálních cest umožní lepší chápání fyziologického obranného zánětu i poškozující zánětové reakce. V neposlední řadě umožní identifikovat v populaci jedince, kteří jsou svým genetickým nastavením přirozeně imunity disponováni k rozvoji abnormální zánětové reakce, jejichž důsledkem může být například ateroskleróza. U disponovaných lidí bude zřejmě možné předcházet rozvoji onemocnění, například důslednou eliminací infekčních agens, které se podílejí na imunopatogenezi aterosklerózy, nebo bude možné manipulovat s jejich lipidovým metabolismem a zánětovou reakcí, například pomocí statinů (19).

Zkratky

CpG	– úseky bakteriální DNA
dsRNA	– dvoušroubovicová RNA
Hsp	– stresové proteiny
IRAK-1	– IL-1 receptor associated kinase-1 (kináza)
LBP	– plazmatický protein (lipopolysacharid binding protein)
LDL	– lipoprotein o nízké denzitě (low density lipoprotein)
LPS	– lipopolysacharid
NEMO	– regulační protein (NFκB Essential MOdulator)
MD-2	– nitrobuněčný signální protein
mRNA	– mediátorová RNA
MyD88	– nitrobuněčný signální protein
PRR	– receptor pro nebezpečné vzory (pattern recognition receptor)
sVCAM	– adhezni molekula (soluble vascular cell adhesion molecule)
TLR	– receptory podobné receptorům toll (toll-like receptors)

LITERATURA

1. **Takeda, K., Akira, S.:** Toll-like receptors in innate immunity. *Int. Immunol.*, 2005, 17, s. 1-14.
2. **Takeda, K., Kaisho, T., Akira, S.:** Toll-like receptors. *Ann. Rev. Immunol.*, 2003, 21, s. 335-376.
3. **Hayashi, F., Means, T. K., Luster, A. D.:** Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood*, 2003, 102, s. 2660-2669.
4. **Pasterkamp, G., van Keulen, J. K., de Kleijn, D. P. V.:** Role of Toll-like receptor 4 in the initiation and progression of atherosclerotic disease. *Eur. J. clin. Invest.*, 2004, 34, s. 328-334.
5. **Holmes, Ch. L., Russell, J. A., Walley, K. R.:** Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock. Role in prognosis and potential for therapy. *Chest*, 2003, 124, s. 1103-1115.
6. **Hubáček, J. A., Stávek, P., Pítha, J. et al.:** CD14 (C-159→T) polymorfismus a hladina C-reaktivního proteinu. *Čas. Lék. čes.*, 2003, 142, s. 174-176.
7. **Asea, A., Rehli, M., Kabingu, E. et al.:** Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70. *J. Biol. Chemistry*, 2002, 277, s. 15028-15034.
8. **Zhang, G., Ghosh, S.:** Toll-like receptor-mediated NF-κB activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. *J. Clin. Invest.*, 2001, 107, s. 13-19.
9. **Libby, P., Ridker, P. M., Maseri, A.:** Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 2002, 105, s. 1135-1143.
10. **Adib-Conquy, M., Moine, P., Asehounne, K. et al.:** Toll-like receptor-mediated tumor necrosis factor and interleukin-10 production differ during systemic inflammation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2003, 168, s. 158-164.
11. **Hamann, L., Kumpf, O., Muller, M. et al.:** A coding mutation within the first exon of the human MD-2 gene results in decreased lipopolysaccharide-induced signaling. *Genes Immun.*, 2004, 5, s. 283-288.
12. **Kiechl, S., Lorenz, E., Reindl, M. et al.:** Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 347, s. 185-192.
13. **Lorenc, E., Mira, J. P., Frees, D. L., Schwartz, D. A.:** Relevance of mutation in the TLR 4 receptor in patients with Gram-negative septic shock. *Arch. Intern. Med.*, 2002, 162, s. 1028-1032.
14. **Ohashi, K., Burkart, V., Flohe, S., Kolb, H.:** Cutting edge: Heat shock proteins 60 is a putative endogenous ligand of the Toll-like 4 receptor complex. *J. Immunol.*, 2000, 164, s. 558-561.
15. **Moseley, P.:** Stress proteins and the immune response. *Immunopharmacol.*, 2000, 48, s. 299-302.
16. **Armstrong, L., Medford, A. R. L., Hunter, K. J. et al.:** Differential expression of Toll-like receptor (TLR)-2 and TLR-4 on monocytes in human sepsis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004, 136, s. 312-319.
17. **Todryk, S. M., Gough, M. J., Pockley, A. G.:** Facets of heat shock protein 70 show immunotherapeutic potential. *Immunol.*, 2003, 110, s. 1-9.
18. **Johnson, G. B., Brunn, G. J., Tang, A. H., Platt, J. L.:** Evolutionary clues to the functions of the Toll-like family as surveillance receptors. *TRENDS Immunol.*, 2003, 24, s. 19-24.
19. **Ballantyne, Ch. M., Nambi, V.:** Markers of inflammation and their clinical significance. *Atheroscler.*, 2005, 6 (Suppl.), s. 21-29.

Práce vznikla s podporou výzkumného záměru MŠMT: MSM 0021620812.

POZOR !

Vážení předplatitelé, blíží se konec kalendářního roku a tedy i předplatitelského roku.

Pro přechod předplatného do roku 2006 nadále platí:

1. V případě, že nemáte zájem v předplatném pokračovat, je třeba se odhlásit, a to písemně. Pokud se neodhlásíte, budeme Vás dále považovat za předplatitele a budeme vymáhat platbu. Vyloučena není ani penalizace, neboť v souvislosti s vymáháním nám jako vydavateli vznikají vícenásledky.
2. Pokud u Vás nastaly jakékoliv změny (adresy, jména, bydliště, zaměstnání, firmy atd.), ohlaste nám tuto změnu ihned, tedy dříve, než začneme rozesílat nové složenky a faktury.
3. Pokud hodláte pokračovat v předplatném beze změn, není třeba činit žádné zvláštní kroky. Složenky a faktury na rok 2006 obdržíte od nás samostatně poštou, nikoli vložené k časopisu.

Děkujeme za pochopení a těšíme se na další spolupráci.

*Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP
Sokolská 31, 120 26 Praha 2
fax: 224 266 226, e-mail: spalova@cls.cz*

Zájemci o nové předplatné mohou využít elektronické přihlášky na adrese <http://www.clsjep.cz>

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Molekulární diagnostika hemofilie A v klinické praxi

Habart D.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

SOUHRN

Pochopení patogeneze vrozeného deficitu faktoru VIII umožnilo podrobnou diagnostiku hemofilie A na molekulární úrovni. Znalost molekulární interakce mezi faktorem VIII a von Willebrandovým faktorem vedla k vývoji specifických metod pro rozlišení hemofilie A od von Willebrandovy choroby. Poznání, že určité typy mutací v genu pro faktor VIII jsou spojeny s různou tíží hemofilie, umožnilo vypracování racionální strategie pro jejich detekci. Znalost genetické příčiny hemofilie A je využívána v genetickém poradenství při stanovení přenašečství a prenatální diagnostice. Ze znalosti mutace lze také odvodit riziko vzniku inhibitoru, nejzávažnější komplikace substituční léčby. Pokračuje vývoj nových postupů pro méně invazivní prenatální diagnostiku a její posun do časnějších stadií vývoje. **Klíčová slova:** hemofilie A, von Willebrandův faktor, faktor VIII, mutace, polymorfismus, inhibitor faktoru VIII, prenatální diagnostika, preimplantační diagnostika.

SUMMARY

Habart D.: Molecular Diagnosis of Haemophilia A in Clinical Practice

Understanding the pathogenesis of haemophilia A has allowed for detailed diagnosis of the condition at molecular level. Evaluation of interaction between factor VIII and von Willebrand factor has been utilised to distinguish mild forms of haemophilia A from von Willebrand disease. Discovery of wide spectrum of mutations in the factor VIII gene and their association with different severity of the disease allowed for development of a rational strategy for mutation detection in clinical settings. Characterisation of the genetic defects is required for carrier detection and antenatal testing and it also helps to predict risk of factor VIII inhibitor development. Research is ongoing to establish less invasive prenatal testing and to move the testing to pre-gravid period.

Key words: haemophilia A, von Willebrand factor, factor VIII, mutation, polymorfism, factor VIII inhibitor, prenatal diagnosis, preimplantation diagnosis. *Ha.*

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 795–800.

Hemofilie A je vrozený deficit koagulačního faktoru VIII. Je způsobena mutacemi v genu pro faktor VIII (26 exonů, 180 kb, mRNA ~9kb), který je lokalizován na chromozómu Xq28. Hladina faktoru VIII v plazmě poměrně dobře koreluje s tíží krvácivých projevů, což umožňuje klasifikaci nemocných do tří prognostických skupin a volbu vhodné terapie již v dětském věku. Substituční léčba koncentráty faktoru VIII může být komplikována protilátkovou odpovědí namířenou proti faktoru VIII (inhibitor). Korelace mezi rozvojem inhibitoru a charakterem mutace umožňuje riziko vzniku inhibitoru do určité míry predikovat. Plazmatická hladina faktoru VIII je ovlivňována vazbou faktoru VIII na von Willebrandův faktor (vWF), jehož poruchu, von Willebrandovu chorobu, je nutno od hemofilie A odlišit. Onemocnění se dotýká nejen hemofilika samotného, ale také jeho příbuzných, u nichž je nutno stanovit přenašečství a riziko přenosu hemofilie na další generace. Laboratorní vyšetření umožňuje prenatální a postnatální průkaz diagnózy a dovoluje predikci průběhu onemocnění včetně specifických komplikací.

PREDIKCE KLINICKÉ ZÁVAŽNOSTI

Plazmatická aktivita faktoru VIII koreluje s klinickou tíží onemocnění. To umožňuje klasifikovat hemofilii na těžkou (FVIII <1 %), středně těžkou (1–5 %) a lehkou formu (FVIII 5–40 %) a odhadovat budoucí průběh onemocnění.

U nemocných s těžkou formou hemofilie očekáváme časté (několikrát do měsíce) a spontánní krvácení zejména do nosných kloubů a svalů. Tito nemocní tvoří asi polovinu hemofiliků a zpravidla vyžadují dlouhodobé a nákladné profylaktické podávání faktoru VIII od dětského věku a mají zvýšené riziko vzniku inhibitoru. Opakované a nedostatečně léčené krvácení vede k rozvoji hemofilické artropatie s těžkým postižením muskulo-skeletálního aparátu, které si může vyžádat náročnou a nákladnou ortopedickou péči. Stanovení přenašečství v těchto rodinách má značný praktický význam.

U nemocných se středně těžkou hemofilii očekáváme krvácení do kloubů při menších úrazech, obvykle několikrát do roka.

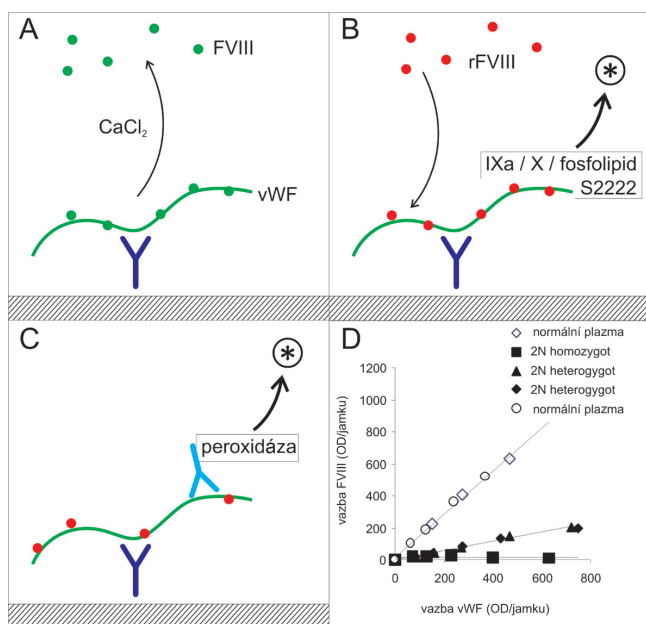
Nemocní s lehkou formou hemofilie krvácejí především při chirurgických výkonech provedených bez hematologické přípravy.

Pro klinickou klasifikaci hemofilie je dostatečné stanovení plazmatické aktivity faktoru VIII (FVIII:C) jednofázovou (1, 2), dvoufázovou (3) nebo chromogenní (4, 5) metodou. Nové postupy vhodné též k laboratornímu sledování účinnosti substituční léčby vycházejí z principu trombin-generačního testu (6, 7).

ODLIŠENÍ VON WILLEBRANDOVY CHOROBY

Rozlišení hemofilie A a von Willebrandovy choroby má vzhledem k rozdílné dědičnosti kritický význam pro genetické poradenství a uplatňuje se při racionální léčbě obou chorob.

MUDr. David Habart, Ph.D.
128 20 Praha 2, U Nemocnice 1
fax: 221 977 249, e-mail: dh@uhkt.cz



Obr. 1. Stanovení vazby faktor VIII na von Willebrandův faktor
Princip je vysvětlen v dodatku 1.
A) Endogenní FVIII je z vazby na vWF uvolněn zvýšením koncentrace Ca^{2+} .
B) Rekombinantní faktor VIII (rFVIII) neobsahuje příměs vWF. Nenavázaný rFVIII je odmyt. Navázaný rFVIII je detekován chromogenním funkčním testem, případně imunologicky.
C) Imunologická detekce imobilizovaného vWF se provádí při odlišné vlnové délce.
D) Testovaný vzorek je připravován ve více ředěních. Ze sklonu proložené křivky odvozujeme míru vazby FVIII na vWF.

Tab. 1. Frekvence inhibitoru u nemocných s hemofilií A podle charakteru mutace (15)

Frekvence (%)	typ a lokalizace mutace
68	delece více než 1 exonu
50	nonsense mutace v lehkém řetězci
34	inverze intronu 22
21	inzerce a delece mimo souvislé úseky několika adeninů
14	nonsense mutace v těžkém řetězci
12	záměnné mutace v lehkém řetězci
12	delece 1 exonu
6	inzerce a delece v souvislých úsecích několika adeninů
4	záměnné mutace v v těžkém řetězci
2	sestřihové mutace

Stabilizující vliv von Willebrandova faktoru na plazmatickou hladinu faktoru VIII je natolik významný, že u nemocných s úplným deficitem vWF (typ 3 vWD) nalézáme výrazně sníženou hladinu faktoru VIII (okolo 3 % normy). U typu 3 vWD je odlišením obou jednotek snadné (nedetekovatelná hladina vWF). von Willebrandova choroba je však vysoce heterogenní a ostatní subtypy se odlišují obtížněji. Byla charakterizována i koexistence obou onemocnění v jedné rodině (8).

Největší diagnostický problém činí odlišení lehké a středně těžké formy hemofilie A od vWD typu 2N (Normandy), protože obě jednotky jsou charakterizovány sníženou hladinou faktoru VIII při normální hladině vWF (9). U nemocných s vWD typu 2N je gen i protein faktoru VIII normální, zatímco mutace v genu pro vWF způsobují sníženou schopnost von Willebrandova faktoru vázat

a stabilizovat faktor VIII (tyto mutace mohou, ale nemusí ovlivňovat adhezivní funkci vWF).

Podarilo se vyvinout specifický funkční test (vWF:FVIIIb), který detekuje sníženou interakci testovaného von Willebrandova faktoru s faktorem VIII a umožňuje definitivní odlišení obou chorob (10). Princip a hodnocení testu jsou vysvětleny v technickém dodatku 1 a na obrázku 1. Při nedostupnosti funkčního vyšetření lze zjišťovat přítomnost mutací v genu vWF, které jsou charakteristické pro vWD typ 2N (viz technický dodatek 2). Negativní nález však nevylučuje vWD typ 2N jako důsledek dosud neznámé mutace a funkční vyšetření je nutno provést.

PREDIKCE VZNIKU INHIBITORU

Léčba koncentráty faktoru VIII je u části nemocných komplikována tvorbou specifických protilátek (inhibitor), které blokují funkci faktoru VIII a zásadním způsobem ovlivňují další léčbu nemocného. Inhibitor se většinou objevuje v dětském věku během prvních 25 dní léčby (11, 12). Výskyt inhibitoru se uvádí mezi 10–35 % těžkých hemofiliků v závislosti na tom, zda je zahrnuta tranzitní detekce specifických protilátek inhibujících faktor VIII nebo pouze klinicky významný inhibitor s důsledky pro další léčbu. Rizikové faktory spojené s rozvojem inhibitoru nebyly zatím plně vymezeny, je však zřejmé, že jsou vrozeného a získaného charakteru (13). U nemocných se zvýšeným genetickým rizikem lze alespoň minimalizovat zevní rizikové faktory (léčba desmopresinem (14), zahájení profylaktické léčby ve vyšším věku, omezení střídání preparátů).

Odhad genetického rizika vychází z rodinné anamnézy a ze znalosti kauzální mutace. Přítomnost inhibitoru u příbuzného hemofilika je považována za rizikový faktor. Studium rozsáhlých souborů nemocných umožnilo stratifikovat mutace v genu pro faktor VIII podle rizika vzniku inhibitoru, jak je uvedeno v tabulce 1 (15). Například inverze intronu 22, která se vyskytuje asi u poloviny nemocných s těžkou formou hemofilie A, je asi ve třetině případů spojena s tranzitním nebo trvalým výskytem protilátek inhibujících faktor VIII. Vyšší riziko je spojeno s rozsáhlými delekcemi (inhibitor přítomen asi u dvou třetin nemocných), které se však vyskytují vzácněji (16).

STANOVENÍ PŘENAŠEČTVÍ

Hemofilie A je gonozomálně recesivní onemocnění, proto krvácivými projevy trpí zpravidla muži a ženy jsou přenašečkami. Vyšetřování přenašečství hemofilie by mělo být zahájeno u asymptomatických dívek z hemofilických rodin okolo 10. roku věku. Potvrzení přenašečství má význam pro partnerský vztah, plánování rodiny, prenatalní vyšetření a pro způsob vedení porodu (musí být šetrný v případě možnosti narození hemofilika pro riziko krvácení do centrální nervové soustavy (CNS)). Snížená plazmatická aktivita faktoru VIII, kterou u některých přenašeček pozorujeme, zvyšuje riziko krvácení při extrakcích zubů nebo chirurgických výkonech a může vést k menoragii. Příčinou klinicky významného snížení hladiny faktoru VIII u přenašeček je nejčastěji nenáhodná lyonizace chromozómu X (17, 18), která vede k přednostnímu používání poškozeného genu a lze ji laboratorně ověřit (viz technický dodatek 5).

Přenašečství lze v určitých případech stanovit z rodokmenu – přenašečkou je dcera hemofilika, matka dvou hemofiliků a matka hemofilika s rodinnou anamnézou hemofilie po ženské linii. Nepřímé metody molekulární genetiky umožňují sledovat ve vyšetřované rodině předávání polymorfních markerů přítomných v genu pro faktor VIII (viz technický dodatek 4). Postup vyžaduje odběr více

členů rodiny a je zatížen nespolehlivostí údajů o otcovství a rizikem chyby v důsledku rekombinace (<0,1 % a 5 % v případě použití intragenových respektive extragenových polymorfizmů). Přímý průkaz kauzální mutace je technicky a časově náročný, ale je nejspolehlivější. Umožňuje prokázat nebo vyloučit přenašečství u vzdáleně příbuzných žen bez nutnosti odběru jiných příbuzných vyjma hemofilika (viz technický dodatek 3). Dříve používaný poměr hladin faktoru VIII a vWF (19) má dnes již jen orientační hodnotu.

PRENATÁLNÍ VYŠETŘENÍ

Při indikaci prenatálního vyšetření je nutno v souvislosti s tíží hemofilie zvažovat na jedné straně riziko komplikací spojené s invazivním vyšetřením plodu okolo 1–2 % (nutno provádět na expertních pracovištích) a na straně druhé přínos výsledku pro praktické rozhodování vyšetřované rodiny (20, 21). Tíže hemofilie se v průběhu generací nemění, a proto lze při rozhodování partnerů do značné míry vycházet z jejich vlastní zkušenosti s hemofilií s přihlédnutím k pokroku v léčbě. Prenatální vyšetření je indikováno v rodinách s těžkou případně středně těžkou formou onemocnění. V rodinách s lehkou formou se běžně neprovádí. Standardně se provádí ze vzorku choriové biopsie (CVS) 10.–13. týden gravidity; v indikovaných případech (např. další genetická vada v rodině, věk nad 35 let) se provádí z amniové tekutiny 15.–16. týden. Rychlou metodou je zjišťována přítomnost chromozómu Y v odebrané tkáni (viz technický dodatek 6). U plodů mužského pohlaví je stanovována diagnóza hemofilie přímým průkazem kauzální mutace nebo nepřímou pomocí polymorfních markerů (viz technický dodatek 3 a 4). Většina metod je postavena na principu polymerázové řetězové reakce (PCR), což umožňuje uzavřít výsledek během několika dní. Paralelně je cytogeneticky vyšetřována přítomnost chromozomálních aberací z kultivovaných buněk s výsledkem po 2–3 týdnech.

Ve výjimečných případech se setkáváme s těhotnými přenašečkami, v jejichž rodině nebyla identifikována kauzální mutace a které nejsou heterozygotní (informativní) ve vyšetřovaných polymorfismech. V případě, že je prokázán plod mužského pohlaví, diagnózu těžké formy hemofilie u plodu můžeme stanovit ze vzorku pupečnickové krve (22). Chordocentéza se provádí od 16. až 18. týdne gravidity (viz technický dodatek 7).

NOVÉ POSTUPY

U plodů ženského pohlaví není stanovení prenatální diagnózy nutné. Kdybychom včas znali pohlaví plodu, nebylo by invazivní vyšetření asi v polovině případů indikováno. Proto jsou vyvíjeny méně invazivní postupy, které mají umožnit spolehlivé stanovení pohlaví plodu ze žilní krve těhotné v časném stadiu těhotenství. V současné době se u nás tato vyšetření provádí v experimentálním režimu (viz technický dodatek 6) (23).

Metody asistované reprodukce v principu umožňují posunout termín rozhodování o osudu plodu postiženého hemofilií do stadia před implantací zárodku do dělohy matky (viz technický dodatek 8) (24). V současné době lze v České republice provést výběr zárodku podle pohlaví, což je z hlediska etického dočasným nouzovým řešením. Včasná znalost diagnózy by umožnila implantaci zárodků obou pohlaví a bez hemofilické vlohy. Pro řadu rodin by tento nově vyvíjený postup byl přijatelnější než prenatální vyšetření spojené s abortem již poměrně vyvinutého, byť postiženého plodu.

TECHNICKÝ DODATEK

1. Stanovení vazby faktoru VIII na von Willebrandův faktor

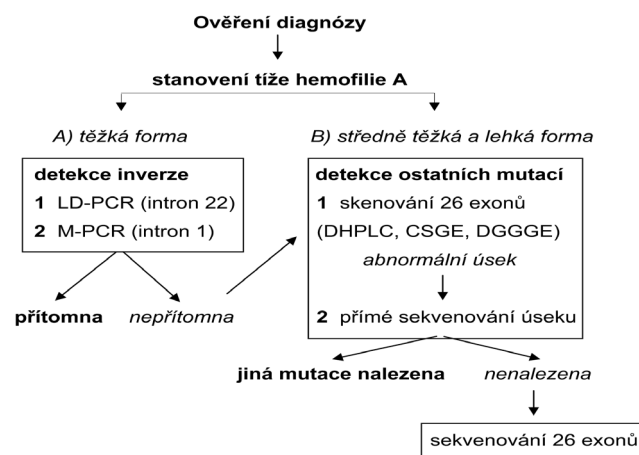
Specifický funkční test na principu ELISA (obr. 1) umožňuje detekovat sníženou vazbu faktoru VIII na von Willebrandův faktor (25). Vyšetření vychází z plazmy nemocného a trvá 4 dny. von Willebrandův faktor je imobilizován na pevnou fázi a endogenní faktor VIII je odstraněn (obr. 1A). Stanovuje se množství přidaného rekombinantního faktoru VIII, který se naváže na vazebná místa na testované molekule von Willebrandova faktoru (obr. 1B). Pro kontrolu je testována účinnost imobilizace testovaného vWF na pevnou fázi (obr. 1C). Nemocní s von Willebrandovou chorobou typu 2N vykazují snížené až nedetekovatelné množství navázaného faktoru VIII (obr. 1D).

2. Detekce vybraných mutací v genu pro vWF

Mutace charakteristické pro von Willebrandovu chorobu typu 2N obvykle detekujeme pomocí přímého sekvenování exonů 18–21 a 24 genu pro vWF. Tyto exony obsahují několik polymorfizmů a kódují vazebné místo pro faktor VIII v molekule von Willebrandova faktoru.

3. Detekce mutací v genu pro faktor VIII

Detekce kauzální mutace při značné velikosti genu a vysoké variabilitě genetických defektů je technicky a časově náročná. Mutaci nejprve detekujeme u hemofilika, který reprezentuje danou rodinu (indexový nemocný). Při výběru vhodné metody vycházíme ze znalosti rodokmenu a tíže onemocnění (obr. 2). Zde se uplatňuje Národní registr nemocných s vrozenými poruchami koagulace,

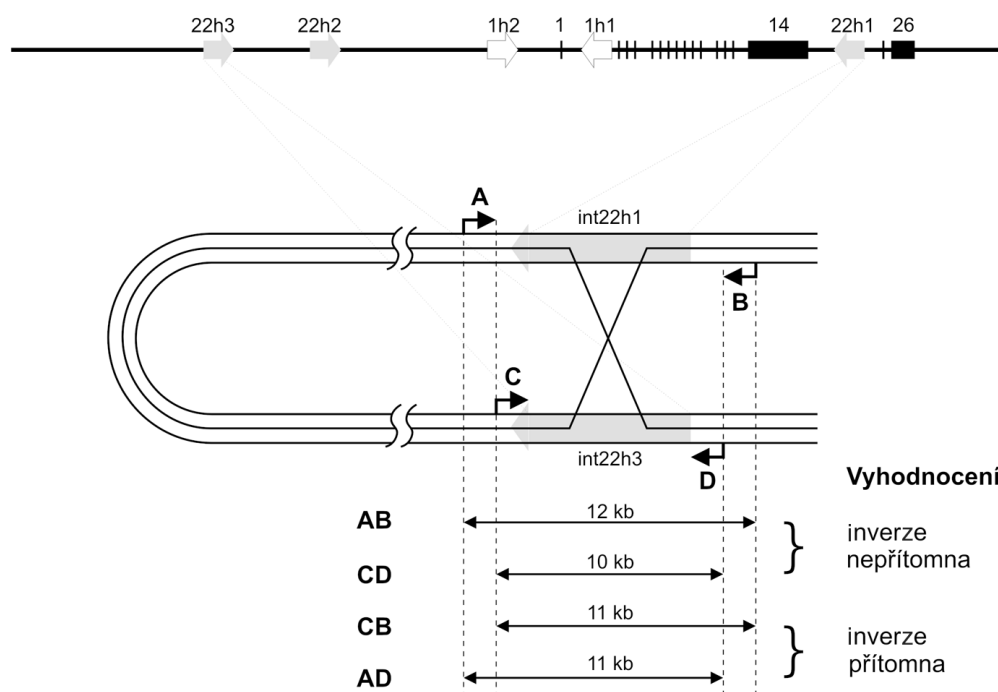


Obr. 2. Strategie při detekci mutací v genu pro faktor VIII

Je nutno vycházet z ověřené diagnózy a stanovené tíže hemofilie A. U nemocných s těžkou formou onemocnění nejprve zjišťujeme přítomnost obou inverzí (A). V případě vyloučení inverzí u těžké formy onemocnění a u lehké a středně těžké choroby hledáme mutaci v celém genu pro faktor VIII, a to ve dvou navazujících krocích (B).

který vzniká dlouhodobou spoluprací všech 9 hemofilických center ČR a je spravován v ÚHKT (26). Registr obsahuje informaci o nalezené mutaci u indexových nemocných.

Příčinou necelé poloviny případů těžké formy hemofilie A je rozsáhlá inverze genu pro faktor VIII. Místo zlomu se nalézá obvykle v intronu 22 (asi 45 % těžkých hemofiliků (27)), zřídka v intronu 1 (2–5 % těžkých hemofiliků (28, 29)). Přítomnost obou inverzí v současné době stanovujeme v genomové DNA amplifikací napřích příslušnými místy zlomů (28, 30). V případě inverze intronu 22 je nutno amplifikovat velmi dlouhé a CpG bohaté úseky pomocí long-distance PCR (LD-PCR) (obr. 3). U inverze intronu 1 jsou amplifikovány úseky řádově kratší pomocí multiplexní PCR.



Obr. 3. Princip detekce inverze intronu 22 genu pro faktor VIII

Inverze vznikají v důsledku rekombinace mezi homologní oblastí h1 v intronu 22 (šedé šipky), nebo intronu 1 (bílé šipky) s některou extragenovou kopií (h2, nebo h3). Primery A-D (šipky s patkou) jsou zvoleny tak, aby umožnily specifickou amplifikaci napříč homologními oblastmi uvnitř a vně genu pro faktor VIII. V důsledku přestavby homologních úseků při inverzi dochází metodou LD-PCR k amplifikaci úseků odlišné délky. Princip detekce obou inverzí je obdobný, pro přehlednost je znázorněna inverze intronu 22.

S výjimkou inverzí jsou mutace způsobující hemofilii A většinou unikátní a jsou rozptýleny po celé délce genu pro faktor VIII. Při jejich detekci lze vycházet z genomové DNA periferních leukocytů nebo z mRNA, která je v těchto buňkách nelegitímně transkribována (31). Provádí se buď amplifikace celé kódující oblasti (26 exonů) s přilehlými nekódujícími sekvencemi, nebo reverzní transkripce (RT-PCR) mRNA faktoru VIII (9 kb) do několika úseků cDNA. Amplifikované úseky DNA nebo cDNA mohou být přímo sekvenovány. Přímé sekvenování celého genu je nákladné a náročné, a proto řada pracovišť upřednostňuje postup ve dvou krocích (obr. 2). V prvním kroku jsou amplifikované úseky analyzovány na přítomnost abnormální sekvence některou ze standardních skenovacích technik (SSCP, DGGE, CSGE, HPLC, CCM, PTT), jejichž citlivost se pohybuje mezi 80–97 % (32). Ve druhém kroku je sekvenován pouze abnormální segment genu. Takto charakterizovaná mutace je porovnávána s mezinárodní databází (33). Na přítomnost delece se usuzuje při selhání amplifikace určitého úseku. Ověření se provádí Southernovým blotováním. Na našem pracovišti vycházíme z genomové DNA a využíváme skenovacích postupů DGGE (34), CSGE (35) a nověji ve HPLC (spopuprácě s Ústavem biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK).

4. Vyšetření polymorfizmů v genu pro faktor VIII

Ke stanovení přenašečství nepřímými metodami je kromě DNA hemofilika nutná DNA obou rodičů suspektní přenašečky, případně prarodičů a dalších příbuzných (36). Celková informativita běžně využívaných polymorfizmů v intronech 19 (RFLP-Hind III), 18 (RFLP-BclI) a VNTR-PCR dinukleotidové repetice v intronech 13 a 22 se pohybuje okolo 80 %. Polymorfizmy v intronu 7 a exonech 14 a 26 mohou v některých případech přispět další informací. Vysoce informativní extragenový VNTR St14 (heterozygotita až 90 %) je zatížen vysokým rizikem rekombinace (3–5 %) a používá jen v mimořádných případech.

5. Průkaz nevyvážené lyonizace chromozómu X

Vyšetření vychází z poznání, že DNA inaktivovaného chromozómu X je opatřena místně-specifickou metylací. Tu lze detekovat pomocí restričních endonukleáz citlivých k přítomnosti metylace. Testovaná oblast by zároveň měla vykazovat vysokou frekvenci různých variant v populaci, aby bylo možno oba chromozómy od sebe odlišit. Vhodným lokusem je gen HUMARA (human androgen-receptor), který je lokalizován na Xq11 (37). Vyšetření lze provést v genomové DNA izolované z periferních leukocytů.

6. Stanovení pohlaví

Pohlaví zjišťujeme metodou PCR z choriové biopsie nebo amniové tekutiny lze izolovat DNA a amplifikovat buď sekvenci specifickou pro chromozóm Y (SRY), nebo sekvenci v genu pro amelogenin, která je přítomna na obou pohlavních chromozómech, ale liší se délkou. Výhodou tohoto lokusu je, že v každém případě získáme pozitivní signál (38). Lze využít vysoce senzitivní PCR v reálném čase (RQ-PCR) k amplifikaci sekvence genu SRY, která je přítomna ve stopovém množství v krvi těhotné s plodem mužského pohlaví (23).

7. Stanovení hladiny faktoru VIII ve fetální krvi

Při interpretaci hladiny faktoru VIII (aktivita a antigen) ve vzorku pupečníkové krve je nutno vzít v úvahu, že v tomto stadiu vývoje hladina faktoru VIII je fyziologicky nižší (FVIII:C 25–80 %, FVIII:Ag 11–46 %) (39, 40). Dále je nutno kontrolovat riziko kontaminace mateřskou krví a amniovou tekutinou. Při kontaminaci amniovou tekutinou nelze pro vysoký obsah tromboplastinu stanovit aktivitu, ale jen antigen faktoru VIII. Ke stanovení příměsi mateřské krve se využívá odlišné acidorezistence fetálních krvinek (Kleihauerův test) a stanovení dospělého a fetálního hemoglobinu.

8. Preimplantační genetická diagnostika

Pro preimplantační genetické testování (PGD) jsou ze zárodku ve stádiu 8 buněk odebrány 1–2 blastomery (24). Stanovení pohlaví se provádí pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Dále probíhá vývoj technik, které by byly vhodné pro preimplantační diagnostiku hemofilie. Vyvíjené metody vycházejí z principů nepřímé diagnostiky a využívají polymorfních markerů a citlivých detekčních postupů (nested PCR, fluorescenční detekce) (41).

ZÁVĚR

Principy diagnostických postupů vycházejí ze znalosti molekulární patogeneze hemofilie A (16). Spolehlivá znalost diagnózy na molekulární úrovni pomáhá při racionální léčbě a je nezbytná pro genetické poradenství. Metody a postupy dostupné v České republice umožňují spolehlivou diagnostiku tohoto onemocnění.

Zkratky

CCM	– chemical cleavage mismatch
CNS	– centrální nervová soustava
CSGE	– conformation-sensitive gel electrophoresis
CVS	– choriové biopsie
DGGE	– denaturing gradient gel electrophoresis
DNA	– kyselina deoxyribonukleová
FISH	– fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace (fluorescent <i>in situ</i> hybridisation)
HPLC	– high performance liquid chromatography
HUMARA	– human androgen-receptor
LD-PCR	– long-distance PCR
mRNA	– informační RNA
PCR	– polymerázová řetězcová reakce (polymerase chain-reaction)
PGD	– preimplantační genetické testování
PTT	– protein truncation test
RFLP	– restriction fragment length polymorphism
RT-PCR	– reverzní transkripce PCR
SSCP	– single stand conformation polymorphism
VNTR	– variable number of tandem repeats
vWF	– von Willebrandův faktor
SRY	– sex-determining region Y
tDNA	– komplementární DNA
vWD	– von Willebrand disease

LITERATURA

1. **Over, J.:** Methodology of the one-stage assay of Factor VIII (VIII:C). *Scand. J. Haematol.*, 1984 (Suppl. 41), s. 13-24.
2. **Vorlová, Z., Sikorová, J.:** [Coagulation activity of factor VIII. A study by 10 laboratories]. *Čas. Lék. čes.*, 1982, 121, s. 518-520.
3. **Barrowcliffe, T. W.:** Methodology of the two-stage assay of Factor VIII (VIII:C). *Scand. J. Haematol.*, 1984, 41, s. 25-38.
4. **Rosen, S.:** Assay of factor VIII:C with a chromogenic substrate. *Scand. J. Haematol.*, 1984, 40 (Suppl.), s. 139-145.
5. **Rosen, S., Andersson, M., Blomback, M. et al.:** Clinical application of a chromogenic substrate method for determination of factor VIII activity. *Thromb. Haemost.*, 1985, 54, s. 818-823.
6. **Hemker, H. C., Al Dieri, R., Beguin, S.:** Thrombin generation assays: accruing clinical relevance. *Curr. Opin. Hematol.*, 2004, 11, s. 170-175.
7. **Barrowcliffe, T. W.:** Monitoring haemophilia severity and treatment: new or old laboratory tests? *Haemophilia*, 2004, 10, s. 109-114.
8. **Mazurier, C., Parquet-Gernez, A., Gaucher, C. et al.:** Factor VIII deficiency not induced by FVIII gene mutation in a female first cousin of two brothers with haemophilia A. *Br. J. Haematol.*, 2002, 119, s. 390-392.
9. **Mazurier, C.:** von Willebrand disease masquerading as haemophilia A. *Thromb. Haemost.*, 1992, 67, s. 391-396.
10. **Mazurier, C., Meyer, D.:** Factor VIII binding assay of von Willebrand factor and the diagnosis of type 2N von Willebrand disease—results of an international survey. On behalf of the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. *Thromb. Haemost.*, 1996, 76, s. 270-274.
11. **Hay, C. R.:** Why do inhibitors arise in patients with haemophilia A? *Br. J. Haematol.*, 1999, 105, s. 584-590.
12. **Vermlyen, J.:** How do some haemophiliacs develop inhibitors? *Haemophilia*, 1998, 4, s. 538-542.
13. **Gill, J. C.:** The role of genetics in inhibitor formation. *Thromb. Haemost.*, 1999, 82, s. 500-504.
14. **Sikorová, J., Vorlová, Z.:** [DDAVP and its effect on factor VIII activity (author's transl)]. *Čas. Lék. čes.*, 1981, 120, s. 553-556.
15. **Goodeve, A. C., Peake, I. R.:** The molecular basis of hemophilia A: genotype-phenotype relationships and inhibitor development. *Semin. Thromb. Hemost.*, 2003, 29, s. 23-30.
16. **Habart, D.:** Molekulární patogeneze hemofilie A. *Čas. Lék. čes.*, 2005, 144, s. 727-732.
17. **Nisen, P. D., Waber, P. G.:** Nonrandom X chromosome DNA methylation patterns in hemophiliac females. *J. Clin. Invest.*, 1989, 83, s. 1400-1403.
18. **Belmont, J. W.:** Genetic control of X inactivation and processes leading to X-inactivation skewing. *Am. J. Hum. Genet.*, 1996, 58, s. 1101-1108.
19. **Peake, I. R., Newcombe, R. G., Davies, B. L. et al.:** Carrier detection in haemophilia a by immunological measurement of factor VIII related antigen (VIIRAg) and factor VIII clotting antigen (VIICAg). *Br. J. Haematol.*, 1981, 48, s. 651-660.
20. **Oyesiku, J. O., Turner, C. F.:** Reproductive choices for couples with haemophilia. *Haemophilia*, 2002, 8, s. 348-352.
21. **Sedláček, Z., Macek, M., Malcolm, S. et al.:** [Initial experience with the diagnosis of hemophilia A using molecular genetics]. *Čas. Lék. čes.*, 1987, 126, s. 682-686.
22. **Shetty, S., Ghosh, K., Mohanty, D.:** Prenatal diagnosis in a haemophilia A family by both factor VIII activity and antigen measurements. *J. Assoc. Physicians India*, 2003, 51, s. 916-918.
23. **Hromadníková, I., Houbová, B., Hridelová, D. et al.:** Replicate real-time PCR testing of DNA in maternal plasma increases the sensitivity of non-invasive fetal sex determination. *Prenat. Diagn.*, 2003, 23, s. 235-238.
24. **Sermon, K., van Steirteghem, A., Liebaers, I.:** Preimplantation genetic diagnosis. *Lancet*, 2004, 363, s. 1633-1641.
25. **Caron, C., Mazurier, C., Goudemand, J.:** Large experience with a factor VIII binding assay of plasma von Willebrand factor using commercial reagents. *Br. J. Haematol.*, 2002, 117, s. 716-718.
26. **Habart, D., Komrská, V., Smejkal, P. et al.:** Národní registr nemocných s vrozenými prouchami koagulace. XX. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 2005, P73, abstr. S. 109-110.
27. **Antonarakis, S. E., Rossiter, J. P., Young, M. et al.:** Factor VIII gene inversions in severe hemophilia A: results of an international consortium study. *Blood*, 1995, 86, s. 2206-2212.
28. **Bagnall, R. D., Waseem, N., Green, P. M., Giannelli, F.:** Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. *Blood*, 2002, 99, s. 168-174.
29. **Habart, D., Kalabová, D., Hrachovinová, I., Vorlová, Z.:** Significant prevalence of the intron 1 factor VIII gene inversion among patients with severe hemophilia A in the Czech Republic. *J. Thromb. Haemost.*, 2003, 1, s. 1323-1324.
30. **Bowen, D. J., Keeney, S.:** Unleashing the long-distance PCR for detection of the intron 22 inversion of the factor VIII gene in severe haemophilia A. *Thromb. Haemost.*, 2003, 89, s. 201-202.
31. **Berg, L. P., Wieland, K., Millar, D. S. et al.:** Detection of a novel point mutation causing haemophilia A by PCR/direct sequencing of ectopically-transcribed factor VIII mRNA. *Hum. Genet.*, 1990, 85, s. 655-658.
32. **Oldenburg, J.:** Mutation profiling in haemophilia A. *Thromb. Haemost.*, 2001, 85, s. 577-579.
33. **Kemball-Cook, G., Tuddenham, E. G. D.:** HAMSTERS. The Haemophilia A Mutation, Structure, Test and Resource Site, 1999, http://europium.csc.mrc.ac.uk/WebPages/Main/road_map.htm
34. **Krepelová, A., Vorlová, Z., Acquila, M., Mori, P.:** GAA(Glu)272 – – AAA(Lys) and CGA(Arg)1941 – – – CAA(Gln) in the factor VIII

- gene in two haemophilia A patients of Czech origin [letter]. *Br. J. Haematol.*, 1992, 81, s. 458.
35. **Habart, D., Kalabová, D., Novotný, M., Vorlová, Z.:** Thirty-four novel mutations detected in factor VIII gene by multiplex CSGE: modeling of 13 novel amino acid substitutions. *J. Thromb. Haemost.*, 2003, 1, s. 773-781.
 36. **Křepelová, A., Brdička, R., Vorlová, Z.:** Factor VIII gene mutations and RFLP analysis in hemophilia A. *Stem Cells (Dayt)*, 1993, 11 (Suppl. 1), s. 72-76.
 37. **Allen, R. C., Zoghbi, H. Y., Moseley, A. B. et al.:** Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am. J. Hum. Genet.*, 1992, 51, s. 1229-1239.
 38. **Nakahori, Y., Hamano, K., Iwaya, M., Nakagome, Y.:** Sex identification by polymerase chain reaction using X-Y homologous primer. *Am. J. Med. Genet.*, 1991, 39, s. 472-473.
 39. **Mibashan, R. S., Rodeck, C. H., Thumpston, J. K. et al.:** Plasma assay of fetal factors VIIIc and IX for prenatal diagnosis of haemophilia. *Lancet*, 1979, 1, s. 1309-1311.
 40. **Mibashan, R. S., Peake, I. R., Rodeck, C. H. et al.:** Dual diagnosis of prenatal haemophilia A by measurement of fetal factor VIIIc and VIIIc antigen (VIIIcAg). *Lancet*, 1980, 2, s. 994-997.
 41. **Fiorentino, F., Magli, M. C., Podini, D. et al.:** The minisequencing method: an alternative strategy for preimplantation genetic diagnosis of single gene disorders. *Mol. Hum. Reprod.*, 2003, 9, s. 399-410.

Práci věnuji MUDr. Zdeně Vorlové, CSc., mnohaleté vedoucí hemofilického centra při ÚHKT.

Děkuji prof. MUDr. Radimu Brdičkově, DrSc. za kritické přečtení rukopisu.

Práce byla podpořena IGA MZ ČR č. grantu: NH/7615-3.

KNIHY

Angell, M.: THE TRUTH ABOUT THE DRUG COMPANIES (HOW THEY DECEIVE US AND WHAT TO DO ABOUT IT)

New York, Random House, 2004, 305 s., cena neuvedena. ISBN 0-37550846-5.

Podtitul knihy nenechává čtenáře na pochybách, o co autorce jde: informovat čtenáře, resp. veřejnost obecně, jak farmaceutický průmysl podvádí konzumenty, tj. především pacienty. Je to téma, o kterém se v posledních letech mnoho píše; od podzimu 2004 ještě více. Nejde však jen o jednu publikaci z mnoha – o knížku ledajakou. Autorka už vydala několik knih s touto problematikou, některé ve spolupráci s Arnoldem S. Relmanem, a je podle „Time Magazine“ jednou z 25 lidí, kteří mají v americkém tisku největší vliv. Knižka proto – i když nepodává zcela recentní informace, vzbudila značný ohlas a stojí alespoň za krátkou recenzí. Navíc Marcia Angell je lékařka a byla v letech 1977–2000 členkou redakce *New England Journal of Medicine (NEJM)*, který (stále ještě) patří mezi respektovaná nejlepší světová periodika v medicíně.

Autorka má tedy přístup k informacím, ví kde je hledat a jak je čtenáři předložit. Opírá se především o čísla desíti největších výrobců léků na světě, mezi něž patří současně i pět firem evropských, totiž Glaxo-Smith-Kline, Astra-Zeneca, Novartis, Roche a Aventis. Poukazuje na obrát a zisky společností a uvádí dále podíl investovaný na výzkum a vývoj léku i na náklady marketingu a administrace, a částky investované do výuky, inzerce a propagace. Jde jí – dle vlastního výčtu – o sedm základních problémů: 1. Vyrábí se příliš mnoho me-too léků a příliš málo inovací. 2. FDA stojí ve vleku průmyslu, který má řídit. 3. Farmakologický průmysl má příliš velký vliv na klinický výzkum. 4. Patentní řízení jsou příliš zdoluhavá. 5. Průmysl má neúměrně velký vliv na výuku lékařů, pokud jde o vlastní léky. 6. Informace o výzkumu, vývoji

a marketingu jsou zatajovány. 7. Ceny léků jsou příliš vysoké a neúměrně rozdílné. To jsou základní diskutované otázky, které si podle autorčina názoru zasluhují řešení. Je zřejmé – a autorka si je toho vědoma, že řešení není jen v rukou farmaceutických firem, nýbrž i FDA, vlády a parlamentu.

Látka je – po předmluvě – rozdělena do 17 kapitol, které se postupně zabývají dílčími problémy. Je zde spousta odkazů s konkrétními čísly, řada citací z článků známých osobností stojících v čele velkých firem, poměrně mnoho podrobností týkajících se vybraných nově zavedených léků a některých velkých perspektivních studií. Jako zdroj informací slouží především „Washington Post“, „N. Y. Times“ a „Boston Globe“. Je pranýřována především vysoká cena léků a vysoké zisky firem, ale i tajné podíly a zisky zúčastněných na vývoji léku a úplatky lékařům, podléjícím se jak na zkoušení, tak na distribuci již zavedených léků. Toto vše ovšem není nové; autorka však poukazuje otevřeně na propojení farmaceutického průmyslu s FDA a nejvyššími vládními kruhy ve Washingtonu, konkrétně s administrativou Clintonovou i Bushovou. Nápravu vidí v posílení FDA, v zapojení zahraničních (tj. mimo-amerických) klinických pracovišť do zkoušení léků, v odklonu od me-too k inovacím, ve zrušení doškolovacích akcí pořádaných farmaceutickými firmami a ve větší transparentnosti v podnikání farmapřůmyslu vůbec („open the Black Box“)! Nakonec tu je i řada podnětných rad pro pacienty: Když vám lékař předepíše nový lék, zeptejte se, zda je opravdu ten nejlepší, tj. lepší než ostatní, nebo zda je lepší jen proto, že je podán ve vyšší dávce. Nejde jen o zařazení do studie? A nejde snad o „vzorek zdarma“? Není lacinější generikum stejně účinné? A nedbejte na inzerci obracející se přímo na konzumenta!

Autorka se obrací i na senátory a členy parlamentu a ptá se, zda nedostávají od farmaceutického průmyslu příspěvky na různé kampaně, kolik to je a k čemu se tím zavazují.

Knížka je dobře napsána a dobře se čte. Vlastní text zabírá jen 258 stran, v dobré grafické úpravě a řídké sazbě, na 23 stránkách jsou odkazy s komentářem a na 14 podrobný rejstřík. Kniha jistě nemusí být v běžné lékařské knihovně. Nezasvěceného čtenáře nicméně zaujme množstvím překvapujících informací a omračujících čísel, takže si třeba teprve uvědomí hospodářský význam farmaceutického průmyslu. Zsvěcený čtenář srovnává s jinými texty z tohoto oboru. Postrádá zmínku i konkrétní údaje o tom, proč je výzkum a zkoušení nových léků tak drahý. Chybí též vysvětlení, kde je zdroj nedostatků a chyb, které vedly ke stažení již zavedených léků z trhu, a co je v posledních letech ústředním problémem klinických studií. Tak například není vůbec zmíněna práce P. Skrabanka a J. McCormicka „Follies and fallacies in medicine“ (česky „Pošetilosti a omyly v medicíně“, 1995 v překladu M. Holuba). Ještě jednu otázku si asi kritický čtenář klade: Proč autorka, sama lékařka, členka redakce jednoho z nejprominentnějších periodik, nevyužila své erudice a pozice k tomu, aby systematicky analyzovala a komentovala publikované práce v předních časopisech poté, co jejich redaktori zaujali kritický postoj k současné publikační praxi a zavázali se k uveřejňování prohlášení o střetu zájmů.

Publikace je zajímavá pro každého, kdo je ve styku s farmaceutickým průmyslem či přímo profesionálně angažován v ekonomice zdravotnictví. Autorka se sice zaměřila především na situaci v USA a Kanadě, o to je ale poutavější pro evropského čtenáře, který americké poměry dobře nezná. Nehledě k tomu, že výroba léků a zdravotnických pomůcek a přístrojů je natolik mezikontinentálně propojena a trh stále víc a více globalizován.

*Pavel Jerie
4153 Reinach/Bl, Leymenstrasse 49, Švýcarsko*

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Kognitivní dysfunkce a její léčba – výzva pro 21. století

Češková E.

Psychiatrická klinika LF MU a FN, Brno

SOUHRN

V úvodu je objasněn pojem kognice a kognitivní dysfunkce. Kognitivní dysfunkci nacházíme u řady neuropsychiatrických onemocnění. Nejvíce byla tato problematika studována u schizofrenie a demencí. Pro zkoumání kognitivní dysfunkce jsou zvláště vhodné iniciální fáze onemocnění, které se jeví optimální pro ověřování léčebných možností. Dále jsou shrnuty možnosti léčby kognitivní dysfunkce u schizofrenie. Základní léčbou jsou v současné době atypická antipsychotika. Zlepšení kognitivního deficitu atypickými antipsychotiky je statisticky signifikantní, avšak odraz v reálném životě je malý. Nová adjuvantní léčba má potenciál dále pozitivně ovlivnit kognitivní dysfunkci. Spočívá převážně v augmentaci neurotransmitterových systémů spojovaných s kognicí (glutamát, noradrenalin, serotonin, acetylcholin). Zlepšení kognitivní dysfunkce může zlepšit dlouhodobý průběh a funkční prognózu u nemocných se schizofrenní poruchou.

Klíčová slova: kognitivní dysfunkce, schizofrenie, demence, atypická antipsychotika přídatná léčba, augmentace.

SUMMARY

Češková E.: *Cognitive Dysfunction and Its Therapy*

In the first part the meaning of terms cognition and cognitive dysfunction is clarified. Cognitive dysfunction is found in many neuropsychiatric disorders. Majority of studies were done in patients with schizophrenia and dementia. For studying cognitive dysfunction, the most appropriate appear the initial phases of the disease. The next part of the study summarizes the treatment possibilities of cognitive dysfunction in schizophrenia. Atypical antipsychotics represent the basal treatment. The improvement of cognitive deficit by atypical antipsychotics is significant, but its importance in real life is small. The new add-on treatment has the potential for further improvement of cognitive dysfunction. This approach includes augmenting effects of neurotransmitters related to cognition (glutamate, noradrenalin, serotonin, acetylcholine). The improvement of cognitive dysfunction can improve the long-term outcome and functional prognosis in patients suffering from schizophrenic disorder.

Key words: cognitive dysfunction, schizophrenia, dementia, atypical antipsychotics add-on treatment, augmentation. *Če.*

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 801–804.

Zlepšení příznaků nemoci je důležité k průkazu klinické účinnosti léku. Avšak aby léčba byla skutečná účinná, je zapotřebí, aby byl nemocný schopen vést život nezávislý na pomoci druhých, mohl komunikovat s okolím a zapojil se do pracovního procesu. Kognitivní (poznávací) funkce představují klíčový faktor, od kterého se odvíjí schopnost fungování v různých oblastech (sociální, pracovní). Hlavně u psychicky nemocných je narušení poznávacích schopností, kognitivní dysfunkce, jednou z významných příčin, proč se nemocní nejsou schopni adekvátně začlenit do normálního života (1).

KOGNITIVNÍ DYSFUNKCE

Kognitivní funkce se skládá se z řady jednotlivých komponent, které lze měřit pomocí neuropsychologických testů: rychlost zpracování informací, verbální učení a verbální paměť, vizuální učení a vizuální paměť, pracovní paměť, pozornost (komplexní funkce ovlivňující další), exekutivní funkce (schopnost iniciovat, plánovat a řešit úkoly), sociální kognice.

Neuropsychologické vyšetření je speciální vyšetření s cílem určit, zda jsou v chování a prožívání člověka přítomny známky

poškození mozku a jak tyto změny vypadají. Opírá se o speciální testy, které byly dlouho dobu vyvíjeny pro účely citlivého posouzení vztahu mezi mozkem a chováním. Kvantitativně i kvalitativně hodnotí kognitivní dysfunkci, výkonový potenciál, premorbidní úroveň psychiky, mohou pomoci při zjišťování lokalizaci poškození.

Kognitivní dysfunkci nacházíme u řady neuropsychických onemocnění, zejména u schizofrenie, deprese, demence, cerebrovaskulárního postižení, záchvatových onemocnění, parkinsonizmu, úrazů hlavy. Má u jednotlivých poruch svá specifika (dynamika, ovlivnitelnost) i řadu podobností (anatomický substrát, léčba). Nejvíce byla studována v souvislosti se schizofrenní poruchou a demencí. Je spojena s příslušným anatomickým a funkčním substrátem (hipokampus, prefrontální kortex), úzce souvisí s funkční prognózou.

Kognitivní dysfunkce u schizofrenie

Je považována za jádrový příznak, zodpovědný za sociální maladaptaci po odeznění pozitivních příznaků. Je spojena s negativními příznaky a jemnými strukturálními a funkčními abnormalitami centrálního nervového systému (CNS). Narušena je zvláště pozornost, paměť včetně pracovní paměti (schopnost uchovat informace „on line“ a použít je pro zpracování) a exekutivní funkce. Kognitivní

dysfunkci nacházíme před začátkem choroby. Přes relativní stabilitu podléhá určité dynamice. U části nemocných může progredovat, prohlubuje se v exacerbacích, v remisi se nevrací na premorbidní úroveň (jen 15 % na úrovni zdravých, klinicky významná dysfunkce u 40–60 %). Některé komponenty kognitivních funkcí, i když zůstávají narušeny ve srovnání s kontrolami, se v průběhu léčby lepší, zvláště v iniciální fázi onemocnění. Proto je věnována velká pozornost prvním epizodám schizofrenie. Bylo zjištěno, a potvrzují to i naše vlastní zkušenosti, že u nemocných, kteří pokračují v udržovací léčbě antipsychotikem, které bylo účinné v akutní fázi, dochází při dlouhodobém sledování ke zlepšení kognitivní dysfunkce (2–6).

Z iniciativy amerických neurovědů vznikl projekt MATRICS (Measurement and treatment research to improve cognition in schizophrenia) s cílem stimulovat vývoj nových léků kognitivního deficitu včetně zřízení léčebných jednotek specializovaných na léčbu a výzkum kognice u schizofrenie (7).

Kognitivní dysfunkce u demence

Je vedoucím příznakem s progredujícími poruchami paměti v popředí, které ovlivní všechny další psychické funkce a vede nakonec k institucionalizaci.

Kognitivní dysfunkce u deprese

Do určité míry souvisí s motivací: Některé studie naznačují, že s ústupem depresivních příznaků se kognitivní deficit upravuje (6).

FARMAKOLOGICKÉ PŘÍSTUPY K LÉČBĚ KOGNITIVNÍ DYSFUNKCE U SCHIZOFRENNÍ PORUCHY

Touto problematikou se zabývala řada prací, kvalitní shrnutí bylo publikováno i v české literatuře (8). Nejvíce studií bylo provedeno u schizofrenií a demencí.

Možnosti farmakologického ovlivnění kognitivního deficitu u schizofrenie lze rozdělit do dvou skupin:

1. atypická antipsychotika (AP)

2. augmentaci, tj. přídatnou léčbu, jejíž účinnost vychází z předpokladu, že aktivita jednotlivých neurotransmiterů je v některých oblastech CNS (nejčastěji jsou zmiňovány vzestupné dráhy projíkáující se do prefrontálního kortexu) nedostačující a jejich posílení přispěje ke zmírnění kognitivní dysfunkce. Augmentační přístupy se využívají k ovlivnění kognitivního deficitu u dalších nosologických jednotek.

Atypická antipsychotika (AP)

V poslední době převládá názor, že atypická AP kromě ovlivnění schizofrenních příznaků mají také potenciál příznivě ovlivnit kognitivní dysfunkci. V počátku psychofarmakologické éry v 50. letech minulého století byla věnována pozornost hlavně pozitivním příznakům (tj. psychotickým příznakům, bludům a halucinacím), postupně s příchodem atypických AP se zájem přesunul i a negativní příznaky a jejich ovlivnění a v současné době je kladen důraz na léčbu kognitivní dysfunkce.

Klasická AP, nazývaná také AP první generace (chlorpromazin, haloperidol) zlepšují hlavně pozitivní příznaky, mohou zhoršit negativní příznaky a neovlivní výrazněji kognitivní dysfunkci. Jsou zatíženy vedlejšími neurologickými příznaky, zvyšují hmotnost a hladiny prolaktinu. Atypická AP, AP druhé generace (amisulprid, risperidon, ziprasidon, klozapin, olanzapin, quetiapin a aripiprazol) mohou zlepšit pozitivní a negativní příznaky i kognitivní dysfunkci. Z vedlejších účinků jsou v popředí hlavně metabolické vedlejší účinky, tj. přírůstek hmotnosti a narušení glukózového a lipidového metabolismu, některá také zvyšují prolaktin (amisulprid, risperidon).

Při vzájemném srovnání atypických AP bylo pozorováno zlepšení v širokém spektru kognitivních domén, signifikantní rozdíl mezi jednotlivými atypickými AP byly zaznamenány v ovlivnění pozornosti a verbální fluence (9). U chronických pacientů nejsou při srovnání atypických a typických AP výsledky zcela konzistentní, na rozdíl od prvních epizod, u kterých jsou atypická AP jednoznačně výhodnější (10–13). Právě při první manifestaci psychotické symptomatologie může dojít k výraznému zhoršení kognitivní dysfunkce, z druhé strany u spolupracujících reaktorů na léčbu lze tento deficit zmírnit (6, 13). Tyto výsledky naznačují, jak důležitá je preference atypických AP a zajištění komplance u této subpopulace psychicky nemocných.

K možným mechanismům, vedoucím k pozitivnímu ovlivnění kognitivní dysfunkce atypickými AP patří hlavně zvýšené uvolňování dopaminu (DA) a acetylcholinu (ACh) v prefrontálním kortexu a hipokampu. Jedná se o dva neurotransmitery a dvě oblasti mozku, které zřejmě nejvíce souvisejí s kognicí. K dalším možným mechanismům patří parciální agonismus dopaminových receptorů typu D₂ receptorů (u aripiprazolu a buprenorinu), blokáda některých typů serotoninových receptorů (5-HT_{2A}, eventuálně i agonismus 5HT₁ receptorů) a modulace glutamatergního systému.

Augmentace – přídatná léčba

Glutamatergní augmentace

Excitační aminokyseliny (glutamát, aspartát, homocystein) jsou nerozšířenější neurotransmitery v mozku a jsou významné pro mechanismy paměti a učení. Při této strategii se vychází z hypotézy o snížené aktivitě NMDA (N-methyl-D-aspartát) receptorů u schizofrenní poruchy, která je spojována s negativními příznaky a kognitivní dysfunkcí. Přímí agonisté by mohli být nebezpeční, proto se využívá modulace na glycinovém místě. Nejnovější kontrolované studie, srovnávající vliv augmentace antipsychotik D-cykloserinem oproti placebo vyzněla v neprospěch glutamatergní augmentace (14). K dalším potenciálním kandidátům patří parciální inhibitory NMDA receptorů. V praxi dostupná je jediná látka – memantin (Ebixa). Memantin je dobře tolerován, aktuální indikací je středně těžká až těžká Alzheimerova choroba, často je používán v kombinaci s inhibitory cholinesteráz. Perspektivní se jeví také modulace AMPA receptorů ampakiny a inhibice zpětného vychytávání glycinu (sarcosin) (15).

Modulace serotoninových (5-HT) receptorů

Serotoninové dráhy vycházející z raphe nuclei se projíkájí do všech oblastí spojovaných s kognicí a jsou ve vzájemné anatomické a funkční interakci s ostatními neurotransmitery (DA, ACh, glutamát). Na základě přehledu preklinických a klinických studií lze říci, že 5HT_{1A} parciální agonisté (např. tandospiron), 5-HT₂ antagonisté, 5-HT₄ parciální agonisté (u člověka zatím zkoušeny nebyly) a 5-HT₆ antagonisté (jsou ve fázi klinického zkoušení) mohou vést k mírnému zlepšení kognice u schizofrenie.

Atypická AP jako skupina je charakterizována mírným 5-HT₁ agonistickým účinkem (aripiprazol, olanzapin, klozapin, ziprasidon, quetiapin), 5-HT₂ antagonizmem (s výjimkou amisulpridu a aripiprazolu) a rozdílnou úrovní antagonizmu 5-HT₆. Proto pro strategii augmentace je vhodné zvolit AP, která neovlivňuje příslušné 5-HT receptory (16).

Noradrenergí augmentace

S kognitivními funkcemi je spojována noradrenergí projekce z oblasti locus coeruleus do prefrontálního kortexu. Noradrenergí systém je možné augmentovat aplikací alfa 2 selektivních agonistů (guanfacine). Další možností je podání specifických inhibitorů zpětného vychytávání noradrenalinu (NRI – noradrenalin reuptake inhibitors; atomoxetin, ev. reboxetin), a specifických inhibitorů zpětného vychytávání noradrenalinu a dopaminu (NDRI – noradre-

nalin and dopamin reuptake inhibitors; bupropion), která jsou v současné době používána jako antidepresiva (17). Výzkum kognitivní dysfunkce u deprese je zatím novou záležitostí a vliv těchto antidepresiv preferenčně zvyšující dostupnost noradrenalinu (NA) na kognici byl u depresivní poruchy zkoumán výjimečně. NA je přisuzována obecně aktivační funkce a narušení (snížení) je spojováno s únavou, apatií, anhedonií, nedostatkem iniciativy, nesoustředivostí, nevykonností. DA je neurotransmitérem systému odměny a alterace souvisí s problémy v sexuální oblasti, poruchami chuti k jídlu, poklesem zájmu, motivace, pozornosti (18, 19). NA a DA jsou ve velmi úzkém vztahu: NA vzniká biodegradací, DA působením dopamin beta hydroxylázy. Je zajímavé, že cílová porucha pro NDRI (event. NRI) je kromě deprese, dále ADHD (attention – deficit/hyperactivity disorder, v naší klasifikaci chorob hyperkinetická porucha), čili opět porucha, kde kognitivní dysfunkce hraje roli. Ze skupiny NDRI je u nás dostupný jediný preparát – bupropion. Stimulancia neselektivně uvolňující NA mohou vést k exacerbaci psychózy. Zřejmě by mohly být účinné i centrálně aktivní inhibitory katecholortometyltransferázy – COMT.

CHOLINERGNÍ POTENCIACE – KOGNITIVA

Centrální Ach systém je důležitý pro paměť (krátkodobá paměť, všípivost paměti). Cholinergní potenciace je propracována u demencí, kde je konzistentně nacházena snížená aktivita acetylcholinesterázy. Název kognitiva je používán pro léky, které zvyšují různými mechanismy dostupnost Ach v CNS: 1. dodání prekurzorů tvorby Ach (například lecitinu, není však účinné již vzhledem k tomu, že špatně prochází hematoencefalickou bariérou); 2. inhibiční cholinesteráz (tj. enzymů, odbourávajících acetylcholin) – v současné době nejdůležitější mechanismus; 3. agonistickým působením na příslušných, tj. muskarinových a nikotinových receptorech. Centrální inhibitory cholinesteráz jsou dosud neúčinnější známou léčbou u lehké a středně pokročilé Alzheimerovy demence a demence s Lewyho tělisky. Účinnost je ověřována u ostatních demencí. Hlavní efekt inhibitorů cholinesteráz je zpomalení průběhu, oddálení přechodu do těžkého stadia. U části léčených dochází k přechodnému zlepšení kognitivních funkcí, poruch chování, aktivít všedního života a emotivity. U nás je dostupný donepezil (f.o. Aricept), galantamin (f.o. Reminyl) a rivastigmin (f.o. Exelon).

Inhibitory acetylcholinesterázy byly také zkoušeny u kognitivního deficitu u schizofrenie (donepezil a galantamin). Publikované studie včetně našich autorů ukazují, že spíše než donepezil by mohl být úspěšný galantamin, který kromě inhibice acetylcholinesterázy ještě potencuje nikotinové receptory (20, 21). U schizofrenie nacházíme redukováný počet muskarinových a nikotinových receptorů v kortexu a hipokampu, nemocní se schizofrenií jsou daleko častěji silnými kuřáky (70–80 %) oproti normální populaci (25–30 %).

BUDOUCNOST

K nadějným molekulárním léčebným cílům patří tzv. „memory enhancers“. Jedná se konkrétně o aktivátory CREB (cAMP response element binding protein), zvyšující růst synapsí, tedy obecně pozitivně ovlivňující plasticitu CNS. Mohou být určeny pro osoby s narušením paměti spojené s věkem, rehabilitaci po iktu, u poruch učení, posttraumatické stresové poruchy, neurodegenerativních a psychických poruch. Bylo zjištěno, že řada transkripčních faktorů v mozkové kůře je aktivována během bdělosti a spánkové deprivace a utlumená v průběhu spánku. Několikahodinová bdělost nebo spánková deprivace může spustit expresi mnoha genů zaangażovaných v synaptické plasticitě a reakci na stres a spánek může tento proces zvrátit. Neinvazivní metodou, která může ovlivnit synaptickou plasticitu, je

také repetitivní transkraniální magnetická stimulace (rTMS) (22). rTMS působí na zvolené kortikální oblasti, a tím také ovlivňuje příslušné neuronální okruhy. Byla intenzivně úspěšně studována v léčbě deprese a výsledky naznačují, že tato metoda může mít také pozitivní vliv na kognici nezávislý na antidepresivním účinku.

ZÁVĚRY

Léčba kognitivní dysfunkce je považována za výzvu pro 21. století. Význam kognitivních funkcí v této době obrovského technického pokroku je podstatnější než dříve. Psychiatrie, která dostává do rukou sofistikované nástroje, umožňující studovat činnost mozku, se stává perspektivním neurovědním oborem. Řadu problémů sdílí psychiatrie s ostatními obory, jak ukazuje i problematika kognitivní dysfunkce. Avšak nové fascinujícími poznatky, které přinesly nové mozek zobrazující techniky, molekulární biologie, genetika a farmakogenetika, se zatím promítly do klinické praxe minimálně. K rychlejšímu využití a ověření nových poznatků může přispět interdisciplinární přístup spočívající nejen ve spolupráci, ale i vzájemném respektování.

Zkratky

ADHD	– attention –deficit/hyperactivity disorder
ACh	– acetylcholin
AMPA	– kyselina alfa-amino-hydroxy-metyl-(izoxazol) propionová
AP	– antipsychotika rTMS – repetitivní transkraniální magnetická stimulace
CNS	– centrální nervový systém
COMT	– katechol -O-metyltransferáza
CREB	– cAMP response element binding protein
DA	– dopamin
MATRICES	– Measurement and treatment research to improve cognition in schizophrenia
NDRI	– inhibitor zpětného vychytávání noradrenalinu a dopaminu (noradrenaline and dopamine reuptake inhibitor)
NMDA	– N-methyl-D-aspartát
NRI	– inhibitor zpětného vychytávání noradrenalinu (noradrenaline reuptake inhibitor)
5-HT	– serotonin
rTMS	– repetitivní transkraniální magnetická stimulace

LITERATURA

1. **Harvey, P. D., Green, M. F., Keefe, R., Velligan, D. I.:** Cognitive functioning in schizophrenia: a consensus statement on its role in the definition and evaluation of effective treatments for the illness. *J. Clin. Psychiatry*, 2004, 65, s. 361-372.
2. **Saykin, A. J., Shtasel, D. L., Gur, R. E. et al.:** Neuropsychological deficits in neuroleptic naive patients with first episode schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1994, 51, s. 124-131.
3. **Palmer, B. W., Newton, R. K., Paulsen, J. S. et al.:** Is it possible to be schizophrenic yet neuropsychologically normal? *Neuropsychology*, 1997, 11, s. 437-446.
4. **Češková, E., Špaček, J., Šindelářová, M.:** Kognitivní dysfunkce a efekt léčby u schizofrenní poruchy. *Československá Psychologie*, 1999, 43, s. 527-535.
5. **Kučerová, H., Příklad, R., Kašpárek, T., Češková, E.:** Cognitive dysfunction in the first episode of schizophrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacology*, 2004, 7 (Suppl. 1), s. 227.
6. **Kučerová, H., Příklad, R., Kašpárek, T., Češková, E.:** Ověření a posouzení dynamiky profilu kognitivních funkcí u nemocných s depresivní a schizofrenní poruchou. *Psychiatrie*, 2004, 8 (Suppl. 1), s. 38.
7. **Green, M. F., Nuechterlein, K. H., Gold, M. et al.:** Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: The NIMH-Matrices conference to select cognitive domains and test criteria. *Biol. Psychiatry*, 2004, 56, s. 301-307.

8. **Tůma, I., Pérez, M.:** Farmakologické přístupy ke kognitivnímu deficitu u schizofrenie. *Remedia*, 2004, 14, s. 478-483.
9. **Woodward, N. D., Purdon, S. E., Meltzer, H. Y., Zald, D. H.:** A meta-analysis of neuropsychological change to clozapine, olanzapine, quetiapine and risperidone in schizofrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 2005, 8, s. 457-472.
10. **Bilder, R. M., Goldman, R. S., Volavka, J. et al.:** Neurocognitive effects of clozapine, olanzapine, risperidone, and haloperidol in patients with chronic schizofrenia or schizoaffective disorder. *Am. J. Psychiatry*, 2002, 159, s. 1018-1028.
11. **Green, M. F., Marder, S. R., Glynn, S. M. et al.:** The neurocognitive effects of low-dose haloperidol: a two – year comparison with risperidone. *Biol. Psychiatry*, 2002, 51, s. 972-978.
12. **Velligan, D. I., Newcomer, J., Pultz, J. et al.:** Does cognitive function improve with quetiapine in comparison to haloperidol? *Schizophrenia Research*, 2002, 53, s. 239-248.
13. **Keefe, R. S., Sedman, L. J., Christensen, B. K. et al.:** Comparative effect of atypical and conventional antipsychotic drugs on neurocognition in first-episode psychosis: a randomized, double-blind trial of olanzapine versus low doses of haloperidol. *Am. J. Psychiatry*, 2004, 161, s. 985-995.
14. **Tuominen, H., Tiuhonen, J., Wahlbeck, K.:** Glutamatergic drugs for schizofrenia: a systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia Research*, 2005, 72, s. 225-234.
15. **Tsai, G., Lane, H.-Y., Yang, P. et al.:** Glycine transporter I inhibitor, N-methyl-glycine (sarcosine), added to antipsychotics for the treatment of schizofrenia. *Schizophr. Res.*, 1995, 17, s. 123-129.
16. **Torh, B. L., Hanizavareh, M. S.:** Serotonin receptors represent highly favorable molecular targets for cognitive enhancement in schizofrenia and other disorders. *Psychopharmacology*, 2004, 174, s. 17-24.
17. **Friedman, J. I., Stewart, D. G., Gorman, J. M.:** Potential noradrenergic targets for cognitive enhancement in schizofrenia. *CNS Spectrums*, 2004, 9, s. 350-354.
18. **Stahl, S. M.:** *Essential Psychopharmacology*. Cambridge, Cambridge University Press, 1996, 379 s.
19. **Češková, E.:** Koncept NDRI v léčbě deprese. *Čes. a slov. Psychiatrie*, 2005, 101, s. 28-31.
20. **Kašpárek, T., Příkryl, R., Kučerová, H. et al.:** Galantamine added to olanzapine improves prefrontal cortex functioning in schizofrenia: a case fMRI study. *Psychiatrie*, 2004, 8 (Suppl. 4), s. 28-29.
21. **Tůma, I., Pérez, M., Lenderová Z. et al.:** Léčba kognitivní dysfunkce u schizofrenie donepezilem: dvojité slepé, placebem kontrolovaná klinická studie. *Psychiatrie*, 2004, 8, s. 93-99.
22. **Husman A., Pascual-Leone, A., Kemmler, G. et al.:** No deterioration of cognitive performance in an aggressive unilateral and bilateral antidepressant rTMS add-on trial. *J. Clin. Psychiatry*, 2004, 65, s. 772-778.

Práce byla podpořena grantovým projektem IGA MZ ČR NR7990-3/2004.

Geriatric ve Spojených státech amerických

Hromadné šedivění, triumf lékařského a kulturního pokroku, zastihlo Ameriku nepřipravenou. Ekonomický systém, zatížený systémem zdravotního pojištění a důchodovým systémem, se začíná otřásat. Jaká je pozice geriatric v této situaci? Geriatric není primárně zacílena na ulehčení umírání, ale na zlepšení kvality života, který pacientovi zbývá, není synonymem pro paliativní péči. Geriatric se odlišila od jiných interních podoborů, dosáhla mnoha úspěchů a potřeba navýšení počtu geriatric se stárnutím populace naléhavě vzrůstá. Geriatric se jako obor objevila v USA koncem 60. let minulého století a již o desetiletí později byl shledán nedostatek geriatric pro práci v nemocničních zařízeních, zařízeních pro domácí péči pro seniory

a v amerických obdobách domovů důchodců. Tato narůstající mezera mezi potřebou geriatric a naplněním jejich počtu byla zaplněna jen krátce v 90. letech minulého století, kdy bylo do praxe uvolněno 10 000 lékařů této specializace. Nyní je obsazeno jen 45 % pracovních míst na geriatric. Přesto existuje snaha řešit tento palčivý problém. Existuje nyní 120 školících geriatrických programů s více než 300 pozicemi pro odborné asistenty. Praktičtí lékaři příliš nejeví zájem o suplování geriatrické problematiky, mj. proto, že platební systém dostatečně nefinancuje náklady a čas vložený do péče o geriatrického pacienta. A nejde jen o materiální otázku, někteří lékaři v terénu prostě nejsou dostatečně obeznámeni s touto problematikou. Děti narozené v období populační exploze (baby-boom) nezažítelně stárnou a brzy se přidají v počtu 75 milionů k již tak veliké armádě seniorů ve Spo-

jených státech amerických. Pokud organizačně a finančně geriatric nebude schopna reflektovat tento nárůst, bude to mít zdrcující důsledky pro americkou společnost. Bude zapotřebí nově formovaných sociálních a důchodových systémů a systémů zdravotního pojištění, vytvoření či restrukturalizace zařízení poskytující péči pro seniory. Pokud se má uchovat udržitelný efektivní a cenově přijatelný systém zdravotní péče tváří v tvář hromadnému stárnutí populace, je třeba nejprve provést ozdravná opatření zejména v geriatric.

Literatura:

Libow, L. S.: Geriatrics in the United States –Baby Boomers´ Boon? *N. Engl. J. Med.*, 2005, 352.

O. Louthan

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Nemelaninové dyschromie

Malina L.

Katedra dermatovenerologie IPVZ, Praha

SOUHRN

Mimo melaninových existují i nemelaninové pigmentace, kdy se pigment různého původu, vznikající endogenně nebo přicházející ze zevního prostředí, ukládá do kůže a dlouhodobě ji zbarvuje. Exogenně vznikající hyperpigmentace se vyvíjejí vesměs po léčích, endogenně podmíněné pak při různých metabolických poruchách. Všechny hyperpigmentace provází různě vyjádřená fotosenzibilita někdy toxického, jindy alergického charakteru. Kromě vyhýbání se lékům a chemikáliím se známou pigmentační schopností spočívá terapie vesměs jen v důsledné fotoprotekci.

Klíčová slova: pigmentace, hyperpigmentace, fototoxická, fotoalergie, fotoprotekce.

SUMMARY

Malina L.: Non-melanocytic Dyschromias

Non-melanocytic hyperpigmentations (dyschromias), besides common melanotic ones, develop mostly due to the skin reaction to various chemicals and/or drugs of exogenous origin. They can be however also caused by some endogenously formed (evolving) intermediates of several metabolic diseases. The above mentioned factors are of toxic or allergic character and their clinical dermal manifestation often occurs as an allergic reaction after the exposition of the skin to solar radiation, or as a toxic contact reaction both on the skin and the mucosa. As a therapy of individual skin changes is difficult or impossible, the only treatment consists in reliable photoprotective measures.

Key words: pigmentation, hyperpigmentation, phototoxicity, photoallergy, photoprotection.

Ma.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 805–807.

Z praxe fotodermatologického poradenství vyplývá, že mnoha pacientům s hyperpigmentacemi kůže různého druhu se nedostává rady, pokud se týče jejich namnoze velmi výrazného a společensky málo přijatelného zbarvení kůže, zvláště jsou-li postiženy její odkryté části – obličej nebo ruce. Nemocní se obracejí, často málo úspěšně, o pomoc na různá kosmetická zařízení nebo zdravotnické ordinace, mnohdy však nedostanou informaci ani o trvalosti vzniklých změn, ani o jejich povaze a léčitelnosti. Při diagnostickém a terapeutickém posuzování hyperpigmentací se většinou uvažují jen ty, které jsou podmíněny akumulací melaninu v kůži a jsou častěji vyvolány pouze sluněním i bez interference fototoxicky nebo fotoalergicky působících senzibilizátorů. Ty pak po čase většinou odeznívají spontánně.

V kožní patologii však existuje řada zevních faktorů uplatňujících se při svém místním nebo celkovém působení též pigmentačně a existují i některé endogenní, většinou metabolické poruchy, které ke vzniku hyperpigmentací vedou. K prvním patří kromě jiného škodlivé vlivy řady léčiv, ke druhým následky enzymových změn postihujících různé tělní systémy.

Nemelaninovými pigmentacemi se dnes zabýváme proto, abychom zacelili mezery v obecné informovanosti o této zřídka diskutované a literárně zpracované problematice. Je přitom zřejmé, že pro nemocné je postižení těmito chorobami či stavy nepřijemné a společensky diskreditující.

ENDOGENNĚ PODMÍNĚNĚ NEMELANINOVĚ HYPERPIGMENTACE

Pigmentační poruchy provázející vylučování žlučových pigmentů, bilirubinu a biliverdinu

Hyperbilirubinémie vznikají při hepatitidách různého druhu, při procesech hemolytických, farmakologicky získaných, obstrukčních (např. cholelitiázách), zejména pak mohou provázet afekce nádorové. Pokud se přitom jedná o městnání bilirubinu, projevuje se ikterus barvou žlutou, při ztížení exkrece biliverdinu (např. při karcinomu žlučníku nebo jaterní cirhóze) barvou žlutozelenou. Zbarvení se v těchto případech týká jak kůže, tak i sklér (1).

Diferenciálně diagnosticky je u těchto ikterů třeba uvažovat i o jejich externím, a to již zmíněném lékovém původu.

Jiným případem je tzv. novorozenecká žloutenka. Vzniká druhého nebo třetího dne po porodu v důsledku nízké konjugáčnické kapacity jater při pomalém vývinu aktivity enzymů biliverdinreduktázy a glukosidurontransferázy. Po podvázání pupečníku, jímž se předtím katabolity hemoglobinu odváděly do těla matky, se tyto hromadí v oběhu novorozence a zbarvují žlutě jeho kůži a skléry. Tento ikterus se vyznačuje hodnotami sérové koncentrace bilirubinu nižšími než 200 μmol/l a mizí do šestého až desátého dne po porodu. Tento druh žloutenky je považován za fyziologický.

Někdy však hladiny bilirubinu stoupají i výše a žloutenka trvá nadále. Léčebně se u těchto dětí nejvíce osvědčuje fototerapie

viditelným světlem vlnových délek 420–480 nm, která umožňuje prostřednictvím fotodegradace, izomerizace a cyklizace bilirubinové molekuly barvivo ve formě netoxických izomerů vyloučit. Při takové léčbě lze u dětí za 4 až 7 týdnů pozorovat ústup ikteru (2).

S uvedenou problematikou souvisí vznik tzv. syndromu bronzového dítěte (bronze baby syndrome), při němž lze po několika dnech výše popsané fototerapie pozorovat výrazné bronzové až šedé zbarvení kůže, krevního séra i moči novorozenců, vyvolané ukládáním do kůže jednak fotooxidačních produktů bilirubinu, jednak měďnatých chelátů porfyrinů. Po vysazení fototerapie hyperpigmentace mizí během několika týdnů (3, 4).

Vrozená alkaptonurie s ochronózou

Kožní hyperpigmentační ochronotické změny vznikají na bázi vrozené metabolické poruchy, defektu enzymu homogentizát oxidázy, který přeměňuje u zdravých osob metabolický produkt aminokyselin fenylalaninu a tyrozinu, kyselinu homogentizovou, na fumaracetát, resp. acetoacetát. Jedná se o hereditární onemocnění s autozomálně recesivním přenosem (5).

Nahromaděný polymerát (alkapton), hnědočerný až modročerný ochronotický pigment, se vylučuje močí a potem, ukládá se do kůže, chrupavek a pojivových tkání. Kožní změny jsou nejvýrazněji patrné na kůži nadléhající chrupavkám (na nose, ušních boltcích, nad klouby). Tmavě zbarveny jsou též oční skléry (6). Histologicky zjišťujeme nepravidelně ztluštělá kolagenní vlákna, barvící se hematoxylinem-eozinem žlutohnědě, která při dobarvení krystalovou violetí nebo metylenovou modří tmavnou.

Nejvýznamnějšími nekožními komplikacemi choroby jsou artritické změny při ukládání pigmentu v ligamentech, šlachách a kloubních chrupavkách. Vzácně lze pozorovat i kardiální postižení (arytmie) při depozici pigmentu v srdečním svalu (7).

Pro toto onemocnění neexistuje kauzální terapie; pokusy se selektivními dietami omezujícími příjem výše zmíněných aminokyselin nepřinesly žádoucí úspěch.

Karotínóza

Jako vrozená metabolická porucha se vzácně vyskytuje u lidí, kteří nemohou syntetizovat vitamin A (retinol) z jeho provitaminu, retinoidu beta-karotenu. Ten se za normálních okolností štěpí enzymem beta-karotendioxygenázou na dvě molekuly retinolu. Zvýšenou karotínemií vyvolané žlutavé zbarvení kůže nepostihující skléry lze u poruch syntézy vitaminu A pozorovat u osob s nefrotickým syndromem, nefritidami, hypertyreoidizmem a různými formami hyperlipoproteinémií (8–10).

Mnohem častěji se však vyskytuje tato dyschromie jako následek jednostranných dietních režimů, zvýšené konzumace mrkve, dalších žlutě zbarvených zelenin a štáv a celkového podávání beta-karotenu.

Hemosideróza

S hemosiderinovými hyperpigmentacemi, jejichž příčinou je buď nadměrný přívod železa do organismu (například při opakovaných transfuzích), nebo poruchy jeho resorpce ve střevě, se, kromě u vzácných onemocnění, setkáváme nejčastěji u autozomálně recesivní hereditární hemochromatózy a jejích komplikací (bronzového diabetu, jaterní cirhózy, srdečních, kloubních a endokrinních poruch) (11). U zevně navozených i systémově vznikajících hemosideróz se však s tímto pigmentem často ukládá do kůže i melanin, přičemž hemosiderin se nalézá až v hlubších kožních vrstvách. Barva kůže je tak šedo hnědá nebo bronzová.

EXOGENNĚ PODMÍNĚNĚ NEMELANINOVÉ HYPERPIGMENTACE

Dyschromie jako následek celkové farmakoterapie

Chryziáza

Chryziáza (hyperpigmentace po aplikaci sloučenin zlata) přichází zřídka, a to po delších expozicích slunci, při terapii chronických revmatických onemocnění injekcemi zlata. Způsobuje modrošedé, někdy síťovité hyperpigmentace na kůži a sklérách. Částice kovu se přitom váží na fibrily kůže a jsou ukládány v makrofágách (12, 13). Léčba těchto pigmentací neexistuje; pacienti se proto nemají slunit a ve slunných dnech musejí používat zevní fotoprotektivní prostředky s vyšším ochranným faktorem.

Pigmentace po amiodaronu

Uvedené antiarytmikum vyvolává zřetelnou fotosenzitivitu kožních oblastí vystavených slunci s následnou žlutou nebo žlutohnědou hyperpigmentací (14).

Pigmentem, na který se částice léku váží, je lipofuscin, granulární nezelezitý pigment nalézající se kromě v kůži i ve svalcích, srdci, játrech a nervových buňkách. Pomalu podstupuje regresivní změny a ukládá se v závislosti na věku v lyzozómech. Tento pigment vzniká oxidací a polymerizací membránových lipidů z autofagocytovaných organel (15).

Prevence tohoto stavu, u něhož po letech přechází žlutohnědá hyperpigmentace v pigmentaci žlutošedou, závisí pouze na vystříhání se expozici slunci, popř. na účinné lokální fotoprotekci (16, 17).

Pigmentace po tetracyklinech

Děletrvající slunění při současném celkovém terapeutickém používání tetracyklinových preparátů, zejména minocyklinu a doxycyklinu, vede častěji ke vzniku modrošedé hyperpigmentace na obličejí, bérkách a ústní sliznici. Uvedený pigment vzniká jako komplex tetracyklinu se železem. Terapií je opět jen fotoprotekce (18, 19).

Pigmentace po chinakrinu

S výrazně žlutými pigmentacemi slunci exponovaných kožních oblastí se po tomto antimalariku, poté, co se pro terapii pojivových chorob a některých dalších onemocnění plně etablovaly sloučeniny chinolinové (chlorochin a hydroxychlorochin), nověji již nesetkáváme. Ústup od podávání chinakrinu je však svým způsobem nevýhodný, protože chinakrin (atebrin), na rozdíl od chinolinových antimalarik, nevede ani při prodlouženém užívání k očnímu poškození (20).

Místně podmíněné dyschromie

Lokální hemosideróza

Vzniká při ukládání železa z erytrocytů v kůži a nastává u řady místních afekcí, ať už traumatických (hematomy, sufuze a sugilace, „černé paty“), nebo venózních (při venostáze, u varikózního syndromu), či u pigmentových purpur, např. purpury Schambergovy. Zbarvení kůže je tu oranžově červené, modrožluté až modré, nakonec hnědé. Léčení stav neovlivní, jde však obvykle jen o dočasnou změnu.

Argyrie

Poté, co se přestaly preparáty stříbra užívat, a to nejčastěji v gastroenterologii, dochází ke kožním reakcím jen při jeho zevní aplikaci. Pigmentace vzniká většinou na kůži obličejí, bývá šedá až šedočerná. Zřídka se může jednat o stav způsobený dlouhodobějším používáním dusičnanu stříbrného při oční a ušní terapii. Dnes nejčastějšími projevy exogenní argyrie jsou však hyperpigmentace po různých mastech a krytích obsahujících stříbro, používaných v chirurgii a popáleninové medicíně (21).

Hydrargyróza

Se rtuťovými preparáty, dříve hojně užívanými hlavně v interní medicíně (například jako diuretika) a v oftalmologii, se dnes již nesetkáváme. Částice rtuti se ukládaly při bazální membráně epidermis, elastických vlákních a v makrofágách. Podmiňovaly šedočernou hyperpigmentaci na kůži obličeje, očních víčkách a v tělních záhybech.

V současné době dochází ke vzniku lokálních rtuťových hyperpigmentací většinou jen v oboru stomatologie, při používání některých druhů amalgamů pro zubní výplně, a to toxickým nebo alergickým mechanismem. Amalgamy vyvolávají šedé pigmentace na dásních (22).

Zevní ochronóza

Podobné zbarvení kůže, jaké přichází u vrozené alkaptonurie, lze pozorovat i po zevní aplikaci některých bělicích prostředků, zejména obsahujících hydrochinon (používá se u melaninových hyperpigmentací). Tato sloučenina v krémech nebo gelech taktéž inhibuje aktivitu enzymu homogentizát oxidázy, což vede k akumulaci kyseliny homogentizové v kůži. Postižen bývá obvykle obličej, jehož zbarvení bývá modrohnědé. Zvláštním nálezem jsou někdy drobné nezánětlivé papuly na léčených částech kůže, tzv. ochronotická koloidní milia. Mikroskopie excidátů poskytuje stejný nálezu jako ten, který přichází při endogenní formě onemocnění (23).

Kromě uvedených látek vyvolává lokální nemelaninové hyperpigmentace řada různých barviv, ať už užívaných pro medicínské či kosmetické účely, nebo při různých pracovních činnostech. Poněvadž se však ukládají v povrchových vrstvách epidermis, odlučují se spontánně a jejich význam je jen dočasný. Problematikou tetovází, ať již posttraumatických nebo dekorativních, se hlouběji zabývají obory plastické chirurgie a korektivní dermatologie, a proto ji zde nebudeme probírat.

LITERATURA

1. **Karlson, P., Gerok, W., Gross, W.:** Metabolismus bilirubinu. In: Patohobiochemie. Praha, Academia, 1987, s. 132-140.
2. **Gruner, St., Meffert, H., Oesterwitz, H. et al.:** Extrakutane Effekte der Phototherapie. In: Licht und Haut. Macher, E., Kolde, G., Bröcker, E. B., Eds. Zülpich, Biermann, 1992, s. 238.
3. **Rubatelli, F. F., Jori, G., Eddy, E.:** Bronze baby syndrome: a new porphyrin-related disorder. *Pediatr. Res.*, 1983, 17, s. 317-330.
4. **Purcell, S. M., Wians, F. H., Ackerman, N. B. et al.:** Hyperbilirubinemia in bronze baby syndrome. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1987, 16, s. 172-177.

5. **Hortobagyi, J., Schneider, J., Sebök, B. et al.:** Eine seltene Stoffwechselerkrankung: Alkaptonurie - Ochronose. *Hautarzt*, 1992, 43, s. 580-582.
6. **Micali, G., Di Stefano, A. G., Nasca, M. R. et al.:** A 46-year-old man with a 4-year history of diffuse brownish black pigmentation. *Endogenous ochronosis (alkaptonuria)*. *Arch. Dermatol.*, 1998, 134, s. 98-101.
7. **Korting, G. W., Dielmann, E.:** Alkaptonurie-Ochronose. *Med. Welt*, 1988, 39, s. 1028-1031.
8. **Wolf, P., Young, A.:** Photoprotektion. In: *Handbuch der Phototherapie und Photodiagnostik*. Krutmann, J., Hönigsmann, H., Elmets, C. A., et al. Eds. Berlin, Springer, 2001, s. 304-305.
9. **Vahlquist, A., Berne, B.:** Sunlight, vitamin A and the skin. *Photodermatology*, 1986, 3, s. 203-205.
10. **Monk, B. E.:** Clinical carotemia. *Br. J. Dermatol.*, 1982, 106, s. 485-487.
11. **Bonkowsky, H. L.:** Disease of iron overload. In: *Clinical and pathological correlations in liver disease*. Bloomer, J. R. et al., Eds. Chicago, Postgraduate Course AASLD, 1998, s. 303-311.
12. **Altmeyer, P., Hufnagel, D.:** Chrysiasis. Nebenwirkung einer intramuskulären Goldtherapie. *Hautarzt*, 1975, 26, s. 330-333.
13. **Smith, R. W., Leppard, B., Barnett, N. L. et al.:** Chrysiasis revisited: a clinical and pathological study. *Br. J. Dermatol.*, 1995, 133, s. 671-678.
14. **Török, L.:** Amiodaronbedingte Hyperpigmentierung. *Hautarzt*, 1986, 37, s. 507-510.
15. **Waitzer, S., Butani, J., From, L. et al.:** Cutaneous ultrastructural changes and photosensitivity associated with amiodarone. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1987, 16, s. 779-787.
16. **Malina, L.:** Fototoxické a fotoalergické reakce. In: *Fotodermatózy*, 2. vyd. Praha, Maxdorf, 2005, s. 101-112.
17. **Korting, H. C., Kolz, R., Schmöckel, C. et al.:** Amiodarone-Pigmentierung. Eine seltene, aber typische Medikamentennebenwirkung. *Hautarzt*, 1981, 32, s. 301-305.
18. **Basler, R. S. W.:** Minocycline-related hyperpigmentation. *Arch. Dermatol.*, 1985, 121, s. 606-608.
19. **Lincová, D., Farghali, H.:** Tetracykliny. In: *Základní a aplikovaná farmakologie*. Praha, Galén, 2002, s. 447-448.
20. **Malina, L.:** In: *Antihistaminika a antimalarika v dermatologii*. Praha, Maxdorf, 2005, s. 66-67.
21. **Shelley, W. B., Shelley, E. D., Burmeister, V.:** Argiria: the intradermal "photograph", a manifestation of passive photosensitivity. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1987, 16, s. 211-217.
22. **Koch, P., Bahmer, F. A.:** Oral lesions and symptoms related to metals used in dental restorations. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1999, 41, s. 422-430.
23. **Lawrence, N., Bligard, C. A., Reed, R. et al.:** Exogenous ochronosis in the United States. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1988, 18, s. 1207-1211.

Nejstarší imunita od hmyzu až po člověka

Ve styku s patogenem se organizmus brání jednak nespecifickou *innate* imunitou, jednak *adaptivní* imunitou. První používá především bariérovou vlastnost kůže – nebo sliznice – a k tomu angažuje i rychlou odpověď monocytů, dendritických buněk atd., a to ještě za pomoci s patogenem přicházejících molekul (lipopoly-

saccharidů a CpG DNA). Ty vyvolají odpověď u transmembránových proteinů *toll-like receptorů (TLR)*, jejichž extracelulární část je složena z opakujícího se leucinu a které jsou schopné iniciovat imunitní reakci a ovlivnit i následující imunoreakci adaptivní. Zejména to probíhá u chorob, jako je lepra, akné a psoriáza. V současnosti již existují syntetické agonisté, jako je Imiquimod v oblasti virových a nádorových patogenů. Také jsou již v dohledu blokátory akti-

vace TLR v tabletové formě jako slibné léky zánětlivých stavů.

Literatura:

McInturff, J. E. et al.: The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J. invest. Dermatol.*, 2005, 125, s. 1-8.

P. Barták

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Mozaiková plastika po poranění kolena

Kudrna K., Koníř P.

I. chirurgická klinika I. LF UK a VFN, Praha

SOUHRN

Jsou uvedeny typy poškození kloubní chrupavky kolenního kloubu a indikace k operační léčbě. Dále jsou uvedeny typy možných operací s podrobným popisem metody mozaikové plastiky – osteochondral autograft transplantation.

Klíčová slova: defekt chrupavky, osteochondritis, návrtý subchondrální kosti, mozaiková plastika.

SUMMARY

Kudrna K., Koníř P.: Mosaicplasty in the Treatment of Knee Injuries

Different types of joint cartilage defects of knee are reported and their surgical treatment indications are given. Types of possible surgical procedures are discussed with detailed description of technique called mosaicplasty – osteochondral autograft transplantation.

Key words: joint cartilage defect, osteochondritis, microfractures, mosaicplasty.

Ku.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 808–810.

Poškození kloubní chrupavky kolenního kloubu je většinou závažný stav, s možnou následnou chronickou synovialitidou, nestabilitou kloubu a časnou artrózou. To bývá zejména u mladých nemocných spojeno s nutností zásadní změny aktivit, zejména sportovních a nezřídka i pracovních, což může být samozřejmě vnímáno jako skutečná tragédie.

K poškození chrupavky dochází v zásadě dvěma způsoby. Jednak jde o defekty na podkladě úrazovém, jednak o poškození v rámci osteochondrosis dissecans (1). Zde jde o avaskulární ohraničenou nekrózu, ne zcela jasně etiologie, na jejímž vzniku má zřejmě podíl přetěžování kloubu, často lze vystopovat i úrazový mechanismus. V polovině případů není však příčina onemocnění zcela jasná (obr. 1).

Onemocnění se vyskytuje na konci růstového období, více u chlapců. Postižení udávají neurčitě bolesti kloubů, spíše difúzní a více po zátěži. Časté jsou i kloubní výpotky, pocit nestability a při uvolnění disekátu může dojít k blokadě kloubu.

Rentgenologicky je někdy možné verifikovat v zevní části mediálního kondylu stehenní kosti demarkující se defekt, velmi spolehlivá je diagnóza učiněná nukleární magnetickou rezonancí.

Traumatický defekt chrupavky bývá anamnesticky jasnější. Bolesti, náplně kloubu, prchavé blokády na podkladě úrazu nás většinou přimějí k artroskopickému vyšetření kloubu (obr. 2). Všichni námi ošetření poranění měli defekt kloubní chrupavky na úrazovém podkladu.

V současnosti se používá několik operačních způsobů ošetření defektů chrupavky.

Pravděpodobně nejčastěji užívané jsou návrtý subchondrální kosti (operace dle Pridie, Ficata), kde se předpokládá hojení těchto mikrofraktur vazivovou chrupavkou, která vyplní defekt a obnoví

kongruenci kloubní plochy (2, 3). V poslední době je hodně diskutovaná implantace autologních chondrocytů, která se zdála být velmi nadějnou metodou, ale ukazuje se, že dlouhodobé výsledky nespĺňují zcela očekávání (4, 5).

Pěstování chondrocytů z kmenové buňky je dosud ve stadiu základního výzkumu.

Snaha o náhradu chrupavky trvá již téměř 100 let, když v roce 1908 se E. Lexer pokusil nahradit částí i celý kloub čerstvým amputátem. O výsledku není nic známo, nelze však samozřejmě předpokládat, že byl úspěšný.

Mozaiková plastika (osteochondral autograft transplantation, articular cartilage autotransplantation) má za cíl obnovení kongruence kloubní plochy kvalitní chrupavkou (6–11).

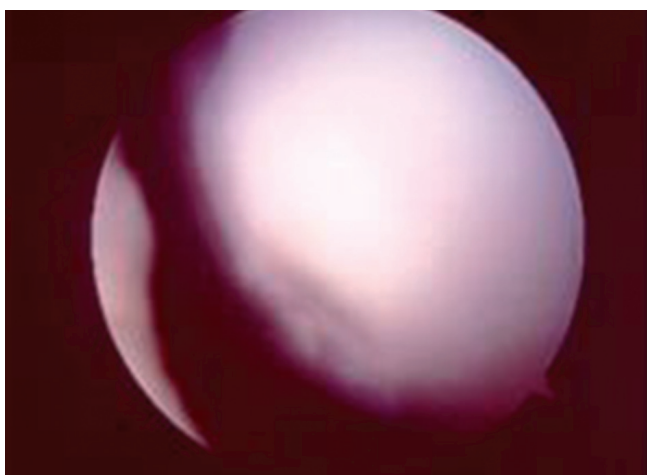
Tvůrcem této metody byl v roce 1992 profesor Laszlo Hangody z Budapešti.

Za kontraindikace jsou obecně považovány defekty infekční a tumorózní, revmatoidní arthritid, degenerativní postižení – artróza, věk vyšší než 40 let (věková hranice se nyní posunuje dokonce na pouhých 35 let) a nestabilita kloubu.

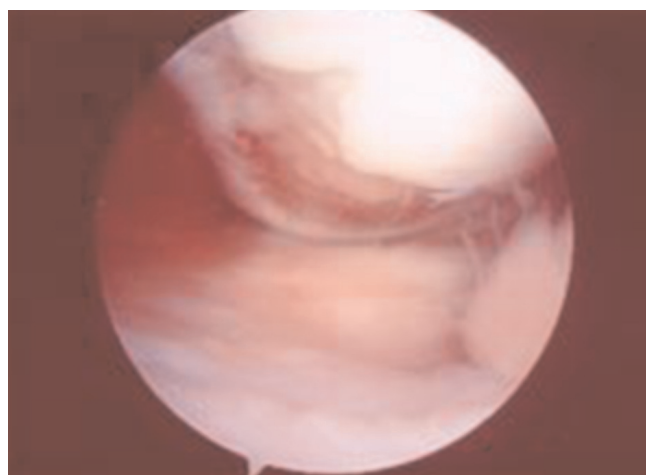
Výkony u starších nemocných jsou všeobecně zatíženy vysokým procentem neúspěchu, zejména v důsledku nevhodnosti chrupavčité části implantátu.

Nestabilní kloub neposkytuje podmínky pro vhojení implantátu a ten se vyloučí. Proto je třeba, při zjištění nestability kolena, jejíž nejčastější příčinou je poškození předního zkříženého vazy, provést nejprve plastiku tohoto vazy, což lze udělat v jedné době.

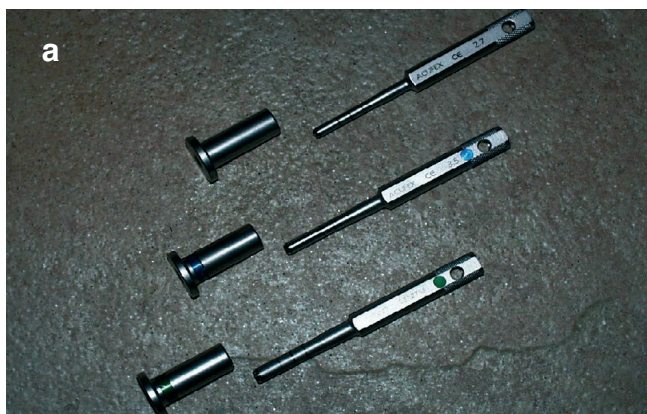
Instrumentarium je nepočetné a zdánlivě jednoduché, velký důraz je kladen na přesnost a odolnost (obr. 3).



Obr. 1. Osteochondrotický defekt v arthroskopickém obraze
Vkluslina na kloubní ploše, kde je pod dosud intaktní chrupavkou defekt
subchondrální kosti.



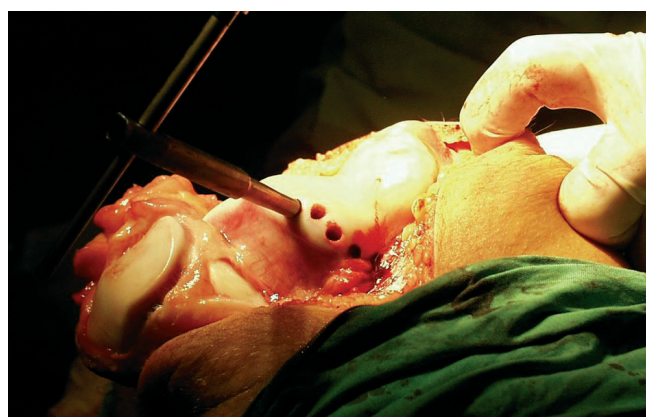
Obr. 2. Postraumatický defekt chrupavky v artroskopickém obraze



Obr. 3. Instrumentárium
a) odběrová dlátka různých průměrů (2,7–4 mm)
b) dilatátor a implantační pouzdro



Obr. 4. Ozřejnění velkého defektu na vnitřním kondylu stehenní kosti
Operováno na otevřeném kolenně.



Obr. 5. Odběr 2 cm dlouhých a 2,7 mm širokých štěpů z nenosné,
okrajové části kloubní plochy

OPERAČNÍ POSTUP

Výkon je ve většině případů (80 %) prováděn artroskopicky, pokud je potřeba implantovat více štěpů (5 a více) dáváme přednost výkonu na otevřeném kolenně.

Principem výkonu je ozřejnění defektu chrupavky, odběr osteochondrálního štěpu z nenosné části kloubní plochy a implantace štěpu do předvrtaného a dilatovaného otvoru v defektu (obr. 4, 5, 6, 7, 8 a 9).

POOPERAČNÍ PÉČE

Od prvního dne po operaci je možné pohybovat kolennem v plném rozsahu, nejlépe na motorové dlaze, limitujícím faktorem je jen bolest.

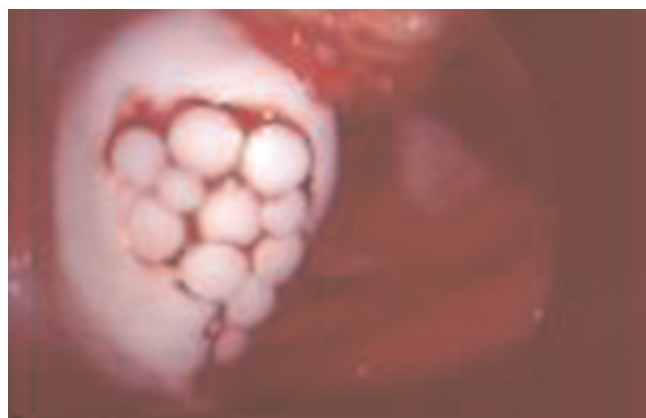
Od 2.–3. pooperačního dne chůze o berličích v ortéze s pohybem do bolesti.

Chůze o berličích zcela bez zátěže 4–5 týdnů, postupné zvyšování zátěže až do plného zatížení během dalších 4–5 týdnů.

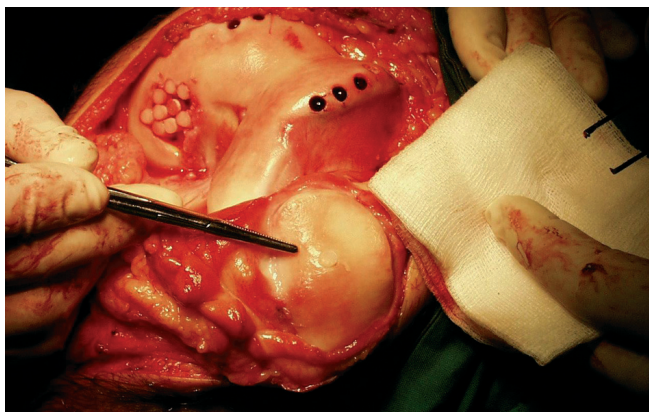


Obr. 6. Odebrané štěpy

Je dobře patrná kostěná část štěpu, která bude vsazena do předvrtaného a dilatovaného otvoru v defektu a chrupavčitá část na vrcholu štěpu. Vlastní integrace probíhá mezi kostěnou částí štěpu a kostěným lůžkem a dále mezi jednotlivými štěpy, opět v jejich kostěných částech. Chrupavčité části, přiléhají co nejtěsněji k sobě a mezery mezi nimi jsou postupně vyplněny vazivem, resp. později i vazivovou chrupavkou.



Obr. 8. Pooperační artoskopický obraz

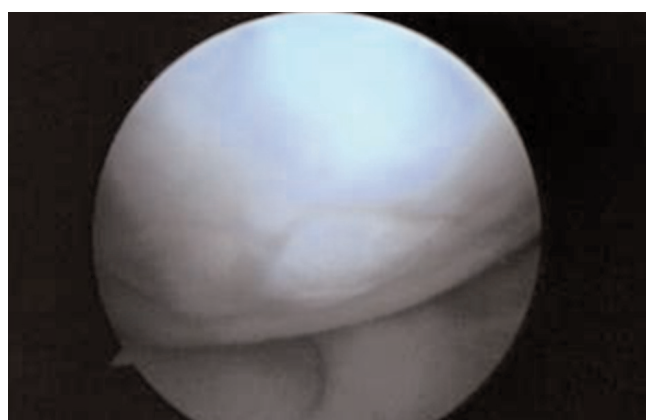


Obr. 7. Jsou patrna odběrová místa, defekt je již téměř vyplněn implantovanými štěpy.
Jeden štěp implantován do defektu na kloubní ploše česky.

Lze říci, že mozaiková plastika je metodou, která je schopna v indikovaných případech, tj. u mladých, disciplinovaných nemocných, bez uvedených kontraindikací, přinést plný úspěch, tedy zhojení ad integrum s možností plné zátěže.

LITERATURA

1. **Kobayashi, T., Fujikawa, K., Oohashi, M.:** Surgical fixation of massive osteochondritis dissecans lesion using osteochondral plugs. *Arthroscopy*, 2004, 20, s. 981-986.
2. **Burr, D. B., Radin, E. L.:** Microfractures and microcracks in subchondral bone: are they relevant to osteoarthritis. *Rheum Dis. Clin. North. Am.*, 2003, 29, s. 675-685.
3. **Stedman, J. R., Rodkey, W. G., Rodrigo, J. J.:** Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 2001, 391 (Suppl.), s. S362-S369.



Obr. 9. Kontrolní arthroskopie po 6 měsících, provedená pro nový úraz, ukazuje kongruentní kloubní plochu prakticky bez defektu.

4. **Kish G, Hangody L.:** A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J. Bone Joint Surg. Br.*, 2004, 86, s. 619.
5. **Bentley, G., Biant, L. C., Carrington, R. W. et al.:** A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J. Bone Joint Surg. Br.*, 2003, 85, s. 223-230.
6. **Hangody, L., Rathonyi, G. K., Duska, Z. et al.:** Autologous osteochondral mosaicplasty. Surgical technique. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 2004, 86 (Suppl. 1), s. 65-72.
7. **Hangody, L., Fules, P.:** Autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of full-thickness defects of weight-bearing joints: ten years of experimental and clinical experience. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 2003, 85 (Suppl. 2), s. 25-32.
8. **Kouialis, D., Schultz, W., Heyden, M., Konig, F.:** Autologous osteochondral grafts in the treatment of cartilage defects of the knee joint. *Knee Surg. Sports. Traumatol. Arthrosc.*, 2004, 12, s. 329-334.
9. **Jakob, R. P., Franz, T., Gautier, E., Mainil-Varlet, P.:** Autologous osteochondral grafting in the knee: indication, results, and reflections. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 2002, 401, s. 170-184.
10. **Hangody, L., Kish, G., Karpati, Z. et al.:** Arthroscopic autogenous osteochondral mosaicplasty for the treatment of femoral condylar articular defects. A preliminary report. *Knee Surg. Sports. Traumatol. Arthrosc.*, 1997, 5, s. 262-267.
11. **Minas, T., Nehrer, S.:** Current concepts in the treatment of articular cartilage defects. *Orthopedics*, 1997, 20, s. 525-538.

PŮVODNÍ PRÁCE

Změny leptinu, leptinového receptoru a mastných kyselin v průběhu chemoradioterapie u nemocných s karcinomem jícnu

Zemanová M., Petruželka L., Pazdrová G., ¹Haluzík M., ²Novák F., ³Svobodník A.

Onkologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

¹III. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

²IV. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

³Centrum biostatistiky a analýz LF a PŘF MU, Brno

ABSTRAKT

Východisko. Pacienti s karcinomem jícnu, kteří mají významnou ztrátu hmotnosti v předchorobí, mají horší prognózu. Pokles hmotnosti bývá často nutriční podporou nezvládnutelný. Příčiny tohoto poklesu jsou různorodé: stenóza jícnu, abúzus alkoholu, nádorová kachexie. Ta může být podmíněna metabolickými změnami působeními cytokiny, hormony a nádorem tvořenými produkty. Leptin produkovaný adipocyty hraje podstatnou roli při regulaci přeměny energie i metabolismu mastných kyselin a byl zjištěn jeho vliv na nádorový růst u různých nádorových buněčných linií. Vícenenasycené mastné kyseliny mohou mít příznivý vliv pro zvrát nádorové kachektizace.

Metody a výsledky. V této studii jsme sledovali nemocné léčené předoperační konkomitantní chemoradioterapií pro pokročilý karcinom jícnu. Ve studii byl vyšetřován stav výživy (předléčebná ztráta hmotnosti, aktuální váha, body mass index), byly měřeny sérové hladiny leptinu, rozpustného leptinového receptoru, TNF- α , IGF-1 a mastných kyselin v sérovém fosfatidylcholinu před zahájením chemoradioterapie, po zahájení léčby a při jejím ukončení. Ve skupině 38 nemocných (33 mužů, 5 žen) o průměrném věku 58 let, byl zjištěn statisticky významný pokles váhy před zahájením léčby v průměru o 8 kg, během chemoradioterapie došlo k dalšímu signifikantnímu poklesu průměrně 2 kg. Konkomitantní chemoradioterapie vedla k významnému přechodnému vzestupu koncentrace sérového leptinu a poklesu hladiny solubilního leptinového receptoru, přestože pokračoval hmotnostní úbytek. Došlo také k významným změnám ve složení mastných kyselin.

Závěry. Výsledky ukazují na možnost přímého zásahu chemoradioterapie do mechanismů regulace tělesné hmotnosti a nutričního stavu u nemocných s pokročilým karcinomem jícnu.

Klíčová slova: karcinom jícnu, leptin, solubilní leptinový receptor, mastné kyseliny, stav výživy, konkomitantní chemoradioterapie.

ABSTRACT

Zemanová M., Petruželka L., Pazdrová G. et al.: Changes in Leptin, Leptin Receptor and Fatty Acids Levels During Chemoradiotherapy for Oesophageal Cancer

Background. Oesophageal cancer patients with substantial weight loss have worse prognosis. Weight loss is often refractory to the nutritional support. Causes of the weight loss are multiple: oesophageal stricture, frequent alcohol abuse, cancer related cachexia. It may be a consequence of metabolic changes mediated by cytokines, hormones and tumour derived products. Leptin, a protein produced by adipocytes, is an important signalling molecule in energy regulation, metabolism of fatty acids and it can also augment tumour growth of various cancer cell lines. Enhanced intake of poly-unsaturated fatty acids may play an important role in the reversal of cancer related weight loss.

Methods and Results. In this study we examined the nutritional status (pre-treatment weight-loss, actual weight, body mass index), serum levels of leptin, soluble leptin receptor, TNF- α , IGF-1 and plasma phosphatidyl-cholin fatty acids before the beginning of treatment, after the onset of treatment and shortly before its completion. In the group of 38 pts (33 men, 5 women), mean age 58 years, statistically significant mean pre-treatment weight-loss 8 kg and significant mean weight loss 2 kg after chemoradiotherapy was observed. Concomitant chemoradiation led to transient elevation of serum leptin level despite the weight loss during chemoradiotherapy. Significant changes in the distribution of fatty acids in plasmatic phosphatidyl-cholin were observed.

Conclusions. Our results show the possibility for direct influence of chemoradiotherapy on body weight regulation in advanced oesophageal cancer patients.

Key words: oesophageal cancer, soluble leptin receptor, fatty acids, nutritional status, concomitant chemoradiotherapy.

Ze.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp- 811–816.

Nemocní s karcinomem jícnu mají velmi špatnou prognózu i v případě uskutečnění radikální operace. Kombinovaný léčebný postup s předoperační chemoradioterapií (CHRT) a následnou resekci může prodloužit přežití, ale je spojen s vyšším rizikem pooperační mortality a morbidity. Úbytek na váze více než 10 % za 3–6 měsíců před diagnózou nádorového onemocnění je považován za nepříznivý prognostický faktor (1). Z hlediska úspěšného dokončení léčebného postupu včetně radikální operace je důležité, pokud je to možné, zabránit pokračujícímu váhovému úbytku a rozvíjejícímu se nutričnímu deficitu během chemoradioterapie (2). V klinické praxi se u části nemocných nepodaří zabránit pokračující kachektizaci ani v případech, kdy důsledná a systematická nutriční podpora je součástí kombinovaného léčebného postupu. Na poklesu váhy se kromě nádorové dysfagie zřejmě mohou podílet i další faktory, jako je objem nádoru včetně jím produkovaných cytokinů, deprese nebo nežádoucí vedlejší účinky terapie.

Dosud není plně objasněna úloha leptinu v mechanismech ovlivňujících hmotnost nemocných se zhoubným nádorem. Leptin je proteinový hormon produkovaný převážně adipocyty, který se podílí na regulaci příjmu potravy a energetického výdeje. Vazba leptinu na centrální leptinové receptory v hypothalamu vede k inhibici hypothalamické syntézy a sekrece neuropeptidu Y (NPY), hormonu, který stimuluje chuť k jídlu a příjem potravy a tlumí výdej energie (3). Významné změny v koncentracích leptinu nastávají především u stavů, u nichž se výrazně mění celkový obsah tuku v organizmu. Malnutriční stavy, vedoucí k poklesu obsahu tuku jsou většinou spojeny i s poklesem sérových hladin leptinu. Tak je tomu u nemocných mentální anorexií, pacientů se syndromem krátkého střeva, pacientů s chronickými benigními onemocněními trávicího ústrojí apod. (4). V těchto případech je změna koncentrace leptinu důsledkem, nikoliv příčinou malnutrice. Dosud jediným známým stavem, kdy změna koncentrace leptinu ve smyslu hyperleptinémie může být kauzálním faktorem anorexie a malnutrice, je renální selhání. Hyperleptinémie je zde vyvolána pravděpodobně kombinací sníženého vylučování ledvinami a zvýšené exprese a sekrece zánětlivých cytokinů v důsledku septických komplikací (5).

Stav sérových koncentrací leptinu a jejich význam v průběhu maligního onemocnění zatím není objasněn. Hyperleptinémie byla experimentálně navozena například vzestupem koncentrací TNF- α (6), IL-1 a IL-6 (7). Tyto cytokiny hrají podle současných představ roli v mechanismech rozvoje nádorové kachexie. Hladina leptinu může být ovlivněna i protinádorovou chemoterapií. V jedné studii došlo k významnému vzestupu leptinémie (8) v průběhu několika dní po zahájení chemoterapie.

Leptin může mít také vztah ke kancerogenezi. Hladiny leptinu jsou zvýšeny u obezity, která je rizikovým faktorem některých typů zhoubných nádorů (karcinom prsu, tlustého střeva, prostaty, ale i adenokarcinom distálního jícnu) (9). V experimentu na tkáňových kulturách byla prokázána možnost potenciace nádorového růstu leptinem (10).

V tomto ohledu je zajímavé působení více-nenasycených mastných kyselin (PUFA –polyunsaturated fatty acids) řady n-3 na regulaci leptinémie u experimentálních zvířat (11). Hlavními představiteli PUFA n-3 jsou kyselina eikosapentaenová (EPA, 20:5n-3) a dokosahexaenová (DHA, 22:6n-3), které mají v lidském organizmu řadu příznivých účinků (12). V experimentu bylo zjištěno potenciální protinádorové působení PUFA n-3, spočívající v modulaci produkce eicosanoidů, snížení sekrece zánětlivých cytokinů, vlivu na angiogenezi, proliferaci, apoptózu a metabolismus estrogenů (13). U lidí byly PUFA řady n-3 úspěšně užity k potlačení nádorové kachexie a k pozitivnímu ovlivnění kvality života (14).

Při kancerogenezi a nádorové progresi se uplatňují také různé růstové faktory; jedním z nich je i v případě karcinomu jícnu faktor IGF-1 (insulin-like growth factor 1) (15).

Cílem této pilotní studie bylo sledovat hmotnost, její změny a další ukazatele nutričního stavu (sérový leptin a jeho receptor), hladiny TNF- α a IGF-1 a složení mastných kyselin v plazmatickém fosfatidylcholinu u pacientů s karcinomem jícnu v průběhu předoperační chemoradioterapie.

SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Třicet osm pacientů s histologicky verifikovaným epidermoidním nebo adenokarcinomem jícnu bylo léčeno kombinovaným multimodálním postupem ve formě předoperační konkomitantní chemoradioterapie (CHRT) a následné resekce. CHRT sestávala z kombinace 2 cyklů karboplatina a paklitaxel s kontinuální infuzí 5-fluorouracilu, podávané po dobu 6 týdnů současně se zevní megavoltážní radioterapií o dávce 45 Gy v 25 frakcích. Po 4–6 týdnech následovala operace, pokud nebyla kontraindikována nebo odmítnuta pacientem. Všichni nemocní byli prospektivně sledováni a všem byla nabídnuta individuální nutriční podpora. Léčebný protokol byl schválen institucí a lokální etickou komisí 1. LF UK a VFN a všichni pacienti podepsali informovaný souhlas.

U všech léčených byl zaznamenán úbytek hmotnosti od počátku příznaků (arbitrážně 6 měsíců před zahájením terapie). Aktuální tělesná hmotnost, výška a body mass index (BMI), vypočítaný jako váha/výška², byly měřeny současně s odběrem krve před zahájením chemoradioterapie (vstup), 7–10 dní po zahájení léčby (CHRT 1) a za další 4 týdny před ukončením léčby (CHRT 2). Byly měřeny sérové hladiny leptinu, solubilního leptinového receptoru (SLR) a IGF-1 s použitím komerčních ELISA kitů (BioVendor, ČR; Immunotech, ČR). Tumor-nekrotizující faktor alfa (TNF- α) byl měřen komerčním kitem RSD systems, Ins. USA. Spektrum mastných kyselin (MK) v plazmatických fosfolipidech bylo analyzováno pomocí kapilární plynové chromatografie (16). Byly sledovány změny jednotlivých sérových parametrů v průběhu terapie a jejich vztahy s nutričními daty jako hmotnost, BMI a jejich změny.

Statistická analýza

Všechny statistické analýzy byly provedeny v programu Statistika verze 7.0 (StatSoft, Inc. (2004)) (17). Pro deskriptivní popis spojitých parametrů byly vypočteny průměrné hodnoty a směrodatné odchylky. Pro srovnání hodnot měřených opakovaně v čase byl použit párový t-test. Korelační analýza byla provedena použitím Pearsonova korelačního koeficientu. Rozdíly v hodnotách laboratorních parametrů mezi skupinami pacientů byly hodnoceny nepárovým t-testem nebo prostřednictvím ANOVA. Pro hodnocení vztahu mezi BMI a hodnotami jednotlivých laboratorních parametrů byla použita korelační analýza nebo ANOVA. Pro hodnocení odlišnosti v časovém průběhu hodnot laboratorních parametrů mezi definovanými skupinami pacientů byl použit ANOVA repeated measures test doplněný párovými a nepárovými t-testy pro podrobnější analýzu podskupin. Všechna data byla hodnocena na hladině významnosti $\alpha = 5\%$ a všechny použité statistické testy byly oboustranné. Před použitím parametrických statistických technik byla ověřena normalita rozložení hodnot.

VÝSLEDKY

Bylo vyhodnoceno 38 nemocných zařazených a léčených podle protokolu v období od 1. 7. 2003 do 30. 3. 2005. Jednalo se o 33 mužů a 5 žen, o průměrném věku 58,6 let (rozmezí 44–76). Histologicky převládala epidermoidní karcinom u 33 případů, 4x se vyskytl adenokarcinom, 1x nediferencovaný karcinom. Průměrný pokles hmotnosti před zahájením léčby byl 8 kg (10 % hmotnosti), v průběhu terapie došlo k dalšímu průměrnému poklesu 2 kg (3 %), což je statisticky významné (tab. 1).

V tabulce 2 jsou uvedeny změny leptinémie, koncentrace solubilních leptinových receptorů, TNF- α , IGF-1 a mastných kyselin v plazmatickém fosfatidylcholinu v průběhu léčby. Koncentrace leptinu při odběru CHRT 1 vzrostla o 43 %, tento rozdíl však vzhledem k velikosti rozptylu nedosáhl statistické významnosti (t-test $P=0,210$). Při dalším pokračování léčby koncentrace leptinu mírně poklesla, ale stále zůstávala vyšší než při vstupním vyšetření

Tab. 1. Hmotnost, BMI a jejich změny před terapií a v průběhu chemoradioterapie

	N	BMI ¹	hmotnost kg ¹	změny hmotnosti a BMI	BMI ¹	Kg	% ¹	P
6 měsíců před vstup	38	26,9±4,6	81,4±14,4	6 m před vs vstup	-2,67±-1,75	-8,12±-6,36	-10±8	<0,001
CHRT 1	38	24,2±4,4	73,3±13,8	6 m před vs CHRT 2	-2,96±-1,77	-8,93±-6,75	-11±8	<0,001
CHRT 2	26	23,0±4,2	68,8±12,0	vstup vs CHRT 2	-0,65±-1,43	-2,02±-0,29	-3±0,3	0,020

¹ průměr, ± směrodatná odchylka

Tab. 2. Změny sérové hladiny laboratorních parametrů a mastných kyselin v plazmatickém fosfatidylcholinu v průběhu léčby konkomitantní chemoradioterapií

Laboratorní parametr	vstup ¹	CHRT 1 ¹	CHRT 2 ¹	ANOVA test (P)
leptinémie (ng/ml)	5,41±6,07	7,74±10,28	6,03±6,92	NS
SLR (U/ml)	28,60±10,47	25,69±12,93	24,25±8,31 ^{cc}	0,001
TNF-α (ng/ml)	1,41±0,89	1,31±0,78	1,40±1,66	NS
IGF-1 (μg/l)	225,91±124,96	254,07±154,36	260,90±125,48	NS
mastná kys. (mol %)				
14:0	0,22±0,07	0,21±0,07	0,22±0,08	NS
16:0	31,22±1,46 ^a	30,52±1,79	30,44±2,17 ^{lll}	0,112 NS
18:0	13,35±1,32 ^l	13,75±1,39	13,56±1,62	NS
16:1n-7	0,80±0,44 ^a	0,68±0,30	0,72±0,42 ^c	0,033
18:1n-9	11,95±2,32 ^a	11,19±2,10	11,46±2,27	NS
18:2n-6	19,89±2,62	19,91±2,48	19,68±2,79	NS
18:3n-6	0,08±0,06	0,11±0,15	0,08±0,05	NS
20:3n-6	2,80±0,66 ^{aa}	3,23±0,76	3,14±0,71 ^c	0,003
20:4n-6	11,03±2,14	11,30±2,13	11,29±2,15	NS
18:3n-3	0,19±0,07	0,20±0,08	0,19±0,07	NS
20:5n-3	0,74±0,46	0,83±0,50	0,75±0,26	NS
22:6n-3	3,51±0,86 ^a	3,88±0,89	4,12±0,95 ^{cc}	<0,001
Suma SFA	44,82±1,24	44,54±1,51 ^{ll}	44,28±1,36 ^{lv}	0,084 NS
Suma MFA	14,91±2,86 ^a	14,10±2,69	14,52±2,99	NS
Suma n-3 PUFA	5,34±0,93 ^a	5,77±1,15	5,85±1,01 ^c	0,016
Suma n-6 PUFA	34,91±2,96	35,60±2,38	35,46±2,17	NS
poměr n-6/n-3	6,74±1,30	6,40±1,29	6,29±1,01	NS

¹ průměr, ± směrodatná odchylka

signifikantní rozdíl a nesignifikantní trend vstup versus CHRT 1: ^a P<0,05, ^{aa} P<0,01, ^l p=0,084; nesignifikantní trend CHRT 1 versus CHRT 2: ^{ll} p=0,085; statisticky signifikantní rozdíl a nesignifikantní trend vstup versus CHRT 2: ^c P<0,05, ^{cc} P<0,01, ^{lll} p=0,08, ^{lv} p=0,068 (párový t-test)

SFA – satureované MK, MFA – mono-nenasycené MK, PUFA – více-nenasycené MK, SLR – rozpustný leptinový receptor

(o 11 %). Trend hodnocený ANOVA nebyl statisticky významný (P=0,210). Koncentrace SLR během léčby statisticky signifikantně klesala (ANOVA; P=0,001), až o 15 % při srovnání vstupního vyšetření a vyšetření na konci chemoterapie (t-test; P<0,001). Koncentrace TNF-α a IGF-1 se během léčby významně neměnily.

Při hodnocení změn koncentrací MK v plazmatických fosfolipidech celé skupiny nemocných v průběhu léčby jsme zjistili statisticky významný pokles podílu kyseliny palmitové (16:0) po zahájení CHRT (P<0,05), který dále pokračoval, ale trend hodnocený metodou ANOVA (P=0,112) nedosáhl statistické významnosti. V případě koncentrací celkových nasycených mastných kyselin (Suma SFA) jsme našli jejich postupný pokles na hranici statistické významnosti (P=0,068). Dále jsme pozorovali významný pokles koncentrace kyseliny palmitolejové (16:1n-7) při srovnání vstupního vyšetření s hodnotou po první chemoterapii (CHRT 1) i s koncentrací na konci léčby (CHRT 2) (obě P<0,05), rovněž trend hodnocený ANOVA testem byl významný (P=0,033). Stejně trendy jako u 16:1n-7 byly pozorovány u celkových monoenoových mastných kyselin (Suma MFA), ale statis-

tickou významnost prokázal jen t-test VSTUP versus CHRT 1. Při vyšetření CHRT 1 jsme našli statisticky významný vzestup kyseliny dihomogammalinolenové (20:3n-6) (P<0,01), který dále pokračoval i při měření CHRT 2 (P<0,05), rovněž ANOVA test byl vysoce signifikantní (P=0,003). Zajímavý byl postupný výrazný vzestup (ANOVA; P<0,001) koncentrací kyseliny dokosaehexaenové (22:6n-3), který byl významný při CHRT 1 (t-test; P<0,05) i na konci léčby (t-test; P<0,01). Stejný trend sledovaly i koncentrace celkových n-3 PUFA. Rozdíly poměrů n-6/n-3 nebyly statisticky významné.

Hodnota BMI významně korelovala s hladinami leptinového receptoru, leptinémie a celkových nasycených mastných kyselin (Suma-SFA) (tab. 3). Hodnoty leptinového receptoru negativně korelovaly při vstupním měření s hodnotou BMI, u oběhých byly nejnižší (graf 1). Hodnoty leptinémie naopak korelovaly s BMI pozitivně při všech měřeních, stejně jako hodnoty suma-SFA. U celkových mono-nenasycených MK (Suma MFA) byla negativní korelace jen na hranici statistické významnosti (P=0,068 u měření VSTUP a P=0,055 u měření CHRT 1).

Tab. 3. Vztah laboratorních parametrů a BMI

Parametr	měření	korelace s BMI ³		I. tercil ¹	III. tercil ¹
		R	P	(BMI <22,2) P ²	(BMI >25,4) P ⁴
SLR (U/ml)	vstup	-0,573	0,005	36,91±10,88	21,05±6,85 ^{bbb}
	CHRT 1	-0,332	NS	26,81±8,07	25,41±19,46
	CHRT 2	-0,307	NS	27,41±9,40 ^a	20,77±8,31
leptin (ng/ml)	vstup	0,767	<0,001	2,48±4,20	10,28±7,13 ^{bb}
	CHRT 1	0,580	0,005	3,98±5,60	14,66±13,64 ^b
	CHRT 2	0,622	0,002	3,52±6,98 ^{aa}	11,45±6,42 ^b
TNF-α (ng/ml)	vstup	-0,029	NS	1,56±0,89	1,35±0,87
	CHRT 1	0,252	NS	1,23±0,88	1,37±0,65
	CHRT 2	-0,285	NS	1,78±2,50	1,40±0,58
IGF-1 (μg/l)	vstup	0,119	NS	209,95±136,46	223,89±116,99
	CHRT 1	-0,003	NS	249,68±106,47	245,56±178,93
	CHRT 2	0,244	NS	224,05±118,23	284,74±135,97
Suma SFA (mol%)	vstup	0,460	0,031	44,62±1,10	45,57±1,27 ^b
	CHRT 1	0,625	0,002	43,89±1,68	45,27±1,06 ^b
	CHRT 2	0,472	0,026	43,59±1,58 ^a	44,72±1,04 ^l
Suma MFA (mol%)	Vstup	-0,396	NS 0,068	16,65±3,53	14,42±1,94 ^l
	CHRT 1	-0,415	NS 0,055	15,64±3,26	12,97±1,91 ^b
	CHRT 2	-0,275	NS	16,05±3,80 ^a	13,41±1,91 ^l
Suma PUFA n-6(mol%)	vstup	0,181	NS	33,56±2,94	34,44±2,74
	CHRT 1	-0,002	NS	35,02±2,40	35,86±2,29
	CHRT 2	0,064	NS	35,05±2,78	35,89±2,13
Suma PUFA n-3(mol%)	vstup	0,113	NS	5,17±0,76	5,57±1,21
	CHRT 1	0,268	NS	5,45±0,84	5,90±1,40
	CHRT 2	-0,027	NS	5,73±1,30	5,75±0,94
n-6/n-3	vstup	0,043	NS	6,62±1,12	6,49±1,55
	CHRT 1	-0,179	NS	6,56±1,10	6,37±1,37
	CHRT 2	0,023	NS	6,59±1,34	6,35±0,79

¹ průměr, ± směrodatná odchylka

² ANOVA test: statisticky signifikantní vliv BMI na časový průběh parametrů I. tercil versus III. tercil ^a P<0,05, ^{aa} P<0,01

³ Pearsonův korelační koeficient

⁴ t-test: statisticky signifikantní rozdíl I. tercil vs III. tercil ^b P<0,05, ^{bb} P<0,01, ^{bbb} P<0,001, ^l nesignifikantní trend P<0,1

SLR – rozpustný leptinový receptor, SFA – satureované MK, MFA – mono-nenasycené MK, PUFA – více-nenasycené MK

Při testování vztahu relativní změny BMI s relativní změnou ostatních vyšetřovaných parametrů byla nalezena statisticky významná negativní korelace mezi změnou leptinémie a BMI po první chemoterapii (VSTUP vs. CHT 1) (R=-0,449; P=0,036).

Při analýze průběhu hodnot parametrů během léčby u jednotlivých skupin BMI (rozdělení všech nemocných na tři stejně početné skupiny – tercily podle aktuálního BMI a porovnání krajních terci-lů T1 versus T3) byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi krajními skupinami u parametrů leptinový receptor (ANOVA, P=0,033), leptinémie (P=0,002), suma-SAT MK (P=0,011), suma-MONO MK (P=0,019). Doplněním t-testem byly zjištěny významné nebo statisticky hraniční rozdíly mezi krajními terci-ly podle BMI v každém měření, s výjimkou SLR, kde výrazný rozdíl mezi skupinou T1 versus T3 byl zjištěn jen při měření VSTUP (t-test, P<0,001), zatímco při měření CHRT 1 a CHRT 2 se obě sku-piny nelišily (graf 2, tab. 3).

DISKUZE

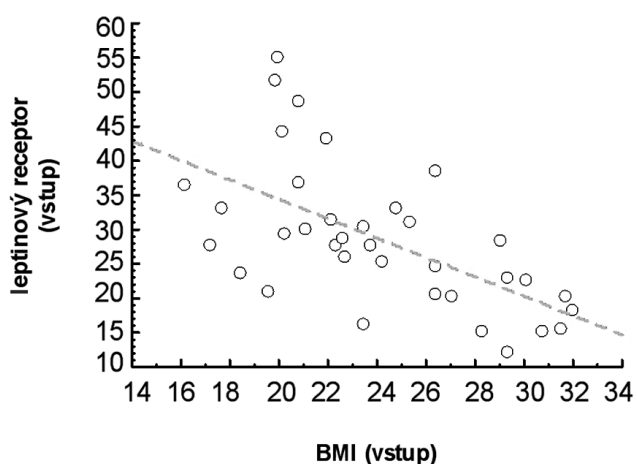
Cílem práce bylo sledovat změny hmotnosti, koncentrací sérové-ho leptinu, jeho solubilního receptoru a složení mastných kyselin v plazmatickém fosfatidylcholinu (PC) u nemocných s karcinomem jícnu, v průběhu léčby konkomitantní chemoradioterapií.

Incidence karcinomu jícnu má v České republice (18) podobně jako v dalších státech (19) stoupající tendenci, přičemž mezi jeho

rizikové faktory, podobně jako u karcinomu prsu, tlustého střeva a prostaty patří obezita (20). Vzhledem k významné účasti leptinu v regulaci tělesné hmotnosti se v posledních letech zvažuje možnost účasti leptinu v patogeneze těchto nádorových onemocnění. Mož-nost potenciace nádorového růstu leptinem byla prokázána v expe-riimentu na tkáňových kulturách (10). Leptin působí jako mitogen u epitelových buněk tlustého střeva (21) i karcinomu prsu (22). Sérový leptin u člověka koreluje pozitivně s objemem tukové tkáně a také s BMI (23–25).

Sledovali jsme soubor nemocných s pokročilým karcinomem jí-cnu, u kterých byl zaznamenán předléčebný hmotnostní pokles v průměru 10 % tělesné hmotnosti. Hladiny leptinu při vstupu do sledování byly pod průměrem, zjištěným v české populaci (26). Po zahájení léčby (měření CHRT 1) jsme zjistili vzestup leptinémie (o 43 %), který však vzhledem k velikosti rozptylu nedosáhl statis-tické významnosti. Při posledním vyšetření jsme pozorovali pokles koncentrace sérového leptinu, jeho hladina však stále převyšovala výchozí hodnotu (o 11 %), přesto, že v průběhu léčby pokračoval hmotnostní úbytek.

Literární údaje o hladinách leptinu u nádorových onemocnění se různí. U některých typů zhoubných nádorů (karcinom prsu, tlusté-ho střeva, prostaty, ale i adenokarcinom distálního jícnu) (9) byly popsány zvýšené hladiny leptinémie. Na druhou stranu jsou u nemocných s anorexií a kachexií, provázejících pokročilé nádo-ry gastrointestinálního traktu většinou nalézány snížené, případně nezměněné koncentrace sérového leptinu (27, 28). Vzestup lepti-



Graf 1. Korelace koncentrace solubilního leptinového receptoru a BMI při vstupním odběru
R=-0,573, P=0,005

némie v průběhu chemoterapie pozorovali Usuki et al. (8), kteří vyvozovali, že chemoterapie by možná mohla přímo zvyšovat sekreci leptinu. Zvýšená hladina leptinu působí pokles sekrece neuropeptidu Y v hypothalamu s následným poklesem chuti k jídlu i hmotnosti (3). Tato pozorování jsou kompatibilní s naším nálezem statisticky významné negativní korelace mezi změnou BMI a změnou leptinémie na začátku chemoterapie (mezi vyšetřeními VSTUP a CHRT 1).

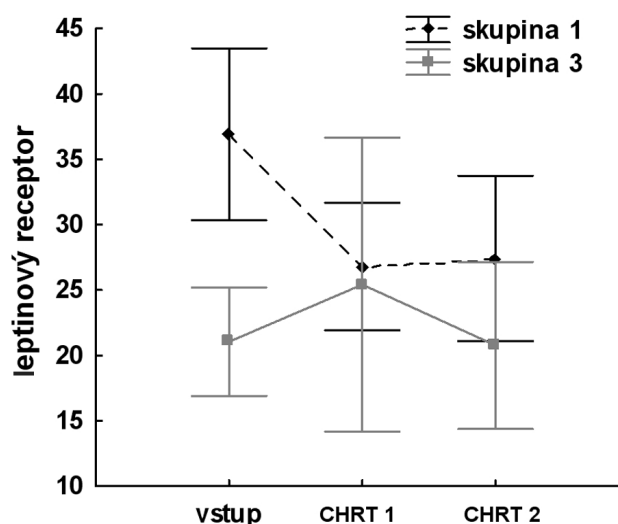
Současně se zvýšením leptinémie jsme v průběhu chemoradioterapie pozorovali pokles hladiny solubilního receptoru leptinu. Tento nález odpovídá literárním údajům o recipročních koncentracích SLR a sérového leptinu (29). Přesná úloha solubilního leptinového receptoru v organizmu zatím není objasněna.

V průběhu chemoterapie jsme nezaznamenali významné změny koncentrace TNF- α . Tento cytokin je jedním z faktorů, které hrají aktivní roli v rozvoji nádorové anorexie a kachexie (30) a současně patří mezi stimulanty sekrece leptinu (31). Rovněž nedošlo k významným změnám koncentrací IGF-1.

Chemoterapie vedla u našeho souboru nemocných s karcinomem jícnu ke změnám složení mastných kyselin v plazmatickém fosfatidylcholinu (PC). Došlo k významnému poklesu kyseliny palmitové (16:0), celkových SFA a na začátku chemoterapie i k významnému poklesu podílu kyseliny palmitolejové (16:1n-7) a celkových MFA. Tyto nálezy odpovídají snížené lipogeneze, korespondující s poklesem hmotnosti (32). Po rozdělení celého souboru na tercily podle BMI jsme zjistili, že osoby s vyšším BMI měly vyšší koncentraci leptinu, což odpovídá literárním údajům (33) a současně mají vyšší podíl SFA na úkor MFA, což lze vysvětlit inhibičním působením leptinu na stearoyl-Coa desaturáz, což je klíčový enzym v syntéze MFA, zejména kyseliny olejové (18:1n-9) a palmitové (16:1n-7) (34).

V průběhu chemoterapie jsme dále zjistili vzestup podílu DHA i celkových PUFA n-3 a zvýšení koncentrací kyseliny dihomogalinolenové (DGLA, 20:3n-6) v plazmatickém PC. U nemocných s nádorovým onemocněním tento nález zatím nebyl popsán. Může se zde uplatňovat vliv chemoterapie na aktivitu hormon-senzitivní lipázy i selektivní preference při lipomobilizaci jednotlivých mastných kyselin během hmotnostního poklesu (35). Statisticky významný vzestup polyenových mastných kyselin včetně PUFA n-3 v plazmatickém PC byl popsán u obézních žen, které po redukční dietě udržely po dobu jednoho roku hmotnostní úbytek cca 9 % (36).

Význam tohoto nálezu u nemocných po chemoradioterapii nelze zatím zhodnotit. Zvýšení obsahu DHA v buňkách středního karcinomu



Graf 2. Změny koncentrace solubilního leptinového receptoru v průběhu CHRT podle rozdílného BMI léčených
ANOVA; P=0,033, skupina 1: BMI <22,2 (I.tercil – T1), skupina 3: BMI >25,4 (III.tercil – T3)

nomu snižovalo jejich tendenci k metastázám (37). Zvýšený obsah DHA ve fosfolipidech nádorových buněk je může činit náchylnějšími k lipoperoxidaci a k následné apoptóze (38). Zvýšený obsah PUFA n-3 snižoval angiogenezi v nádorové tkáni (39).

ZÁVĚR

Lze shrnout, že konkomitantní chemoradioterapie vedla v tomto sledování u nemocných s pokročilým karcinomem jícnu k významnému přechodnému vzestupu koncentrace sérového leptinu a poklesu hladiny solubilního leptinového receptoru, přestože pokračoval hmotnostní úbytek. Došlo také k významným změnám v zastoupení mastných kyselin v plazmatickém PC. Nepozorovali jsme změny koncentrací TNF- α , ani IGF-1. Výsledky ukazují na možnost přímého zásahu chemoradioterapie do mechanismů regulace tělesné hmotnosti a nutričního stavu u nemocných s pokročilým karcinomem jícnu. Je plánována jejich analýza ve vztahu k léčebným výsledkům (odpověď na chemoradioterapii, doba do progresu onemocnění, přežití) s cílem formulovat prognostické a prediktivní faktory pro individualizovaný výběr nemocných k multimodálnímu léčebnému postupu.

Zkratky

BMI	– body mass index
DHA, 22:6n-3	– docosahexaenic acid (kyselina dokosahexaenová)
EPA, 20:5n-3	– eicosapentaenoic acid (kyselina eikosapentaenová)
CHRT	– chemoradioterapie
IGF-1	– insulin-like growth factor 1
IL-1, IL-6	– interleukin-1, interleukin-6
MFA	– mono-unsaturated fatty acids (jedno-nenasycené mastné kyseliny)
MK	– mastné kyseliny
NPY	– neuropeptid Y
PC	– fosfatidylcholin (phosphatidyl-cholin)
PUFA	– více-nenasycené mastné kyseliny (poly-unsaturated fatty acids)
R	– korelační koeficient
SFA	– nasycené mastné kyseliny (saturated fatty acids)
SLR	– solubilní leptinový receptor
TNF- α	– tumor nekrotizující faktor (alfa tumor-necrosis-factor alfa)

LITERATURA

1. **Hennequin, C., Gayet, B., Sauvanet, A. et al.:** Impact on survival of surgery after concomitant chemoradiotherapy for locally advanced cancers of the esophagus. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, 2001, 49, s. 657-664.
2. **Jeremic, B., Shibamoto, Y., Acimovic, L. et al.:** Accelerated hyperfractionated radiation therapy and concurrent 5-fluorouracil/cisplatin chemotherapy for locoregional squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus: A phase II study. *Int. J. Radiation. Oncol. Biol. Phys.*, 1998, 40, s. 1061-1066.
3. **Janečková, R.:** The role of leptin in human physiology and pathophysiology. *Physiol. Res.*, 2001, 50, s. 443-459.
4. **Haluzík, M., Haluzíková, D., Svobodová, J. et al.:** Změny koncentrace leptinu u malnutričních stavů, příčina nebo důsledek? *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*, 1999, 2, s. 13-16.
5. **Haluzík, M.:** Poruchy výživy a leptin. Praha, Grada Publ., 2004, s. 98-105.
6. **Zumbach, M. S., Boeme, M. W., Wahl, P. et al.:** Tumor necrosis factor increases serum leptin levels in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82, s. 4080-4082.
7. **Janik, J. E., Curti, B. D., Considine, R. V. et al.:** Interleukin 1 alpha increases serum leptin concentration in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82, s. 3084-3086.
8. **Usuki, K., Okazaki, R., Iki, S. et al.:** Serum leptin levels during cancer chemotherapy. *Ann. Hematol.*, 1998, 77, s. 191-192.
9. **Chow, W. H., Blot, W. J., Vaughan, I. L. et al.:** Body mass index and risk of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1998, 90, s. 150-155.
10. **Somasundar, P., Yu, A. K., Vona-Davis, L., McFadden, D.:** Differential effects of leptin on cancer *in vitro*. *J. Surg. Res.*, 2003, 113, s. 50-55.
11. **Peyron-Caso, E., Taverna, M., Guerra-Millo, M. et al.:** Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids up-regulate plasma leptin in insulin-resistant rats. *J. Nutr.*, 2002, 132, s. 2235-2240.
12. **Žák, A., Tvrzická, E., Zeman, M., Vecka, M.:** Patofyziologie a klinický význam polyenových mastných kyselin řady n-3. *Čas. Lék. čes.*, 2005, 144 (Suppl. 1), s. 6-18.
13. **Hardman, W. E.:** (n-3) fatty acids and cancer therapy. *J. Nutr.*, 2004, 134, s. 3427S-3430S.
14. **Moses, A. W., Slater, C., Preston, T. et al.:** Reduced total energy expenditure and physical activity in cachexia patients with pancreatic cancer can be modulated by energy and protein dense oral supplement enriched with n-3 fatty acids. *Br. J. Cancer*, 2004, 90, s. 996-1002.
15. **Liu, Y. C., Leu, C. M., Wong, F. H. et al.:** Autocrine stimulation by insulin-like growth factor I is involved in the growth, tumorigenicity and chemoresistance of human esophageal carcinoma cells. *J. Biomed. Sci.*, 2002, 9, s. 665-674.
16. **Tvrzická, E., Vecka, M., Staňková, B., Žák, A.:** Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionisation detection. Quantitative aspects. *Anal. Chim. Acta*, 2002, 465, s. 337-350.
17. *Statistika 7.0, StatSoft, Inc. (2004), version 7., www.statsoft.com*
18. *Novotvary 2000 ČR, ÚZIS ČR 2004, s. 68.*
19. **Coleman, M. P., Gatta, G., Verdecchia, A. et al.:** EUROCARE-3 summary: cancer survival in Europe at the end of th 20th century. *Ann. Oncol.*, 2003, 14 (Suppl. 5), s. 128.
20. **Carroll, K. K.:** Obesity as a risk factor for certain types of cancer. *Lipids*, 1988, 33, s. 1055.
21. **Hardwick, J. C., van Den Brink, G. R., Offerhaus, J. R. et al.:** Leptin as a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology*, 2002, 121, s. 79-90.
22. **Dieudonne, M. N., Machina-Quelin, F., Serazin-Leroy, V. et al.:** Leptin mediates a proliferative response in human MCF7 breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 293, s. 622-628.
23. **Maffei, M., Halaas, J., Ravussin, E. et al.:** Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.*, 1995, 1, s. 1155-1161.
24. **Ahima, R. S., Prabakaran, D., Mantzoros, C. et al.:** Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*, 1996, 382, s. 250-252.
25. **Thomas, T., Burguera, B., Melton, L. J. et al.:** Relationship of serum leptin levels with body composition and sex steroid and insulin levels in men and women. *Metabolism*, 2000, 49, s. 1278-1284.
26. **Stejskal, D., Stejskal, P., Růžička, V. et al.:** Leptinémie v české populaci. *Vnitř. Lék.*, 1999, 45, s. 139-147.
27. **Bolukbas, F. F., Kilic, H., Bolukbas, C. et al.:** Serum leptin concentration and advanced gastrointestinal cancers: a case controlled study. *BMC Cancer*, 2004, 4, s. 28-33.
28. **Tessitore, L., Vizio, B., Jenkins, O. et al.:** Leptin expression in colorectal and breast cancer patients. *Int. J. Mol. Med.*, 2000, 2, s. 421-426.
29. **Křížová, J., Papežová, H., Haluzíková, D. et al.:** Soluble leptin receptor levels in patients with anorexia nervosa. *Endocr. Res.*, 2002, 28, s. 347-351.
30. **Toomey, D., Redmond, H. P., Bouchier-Hayes, D. B.:** Mechanisms mediated cancer cachexia. *Cancer*, 1995, 76, s. 2418-2426.
31. **Zhang, H. H., Kumar, S., Barnett, A. H. et al.:** Tumour necrosis factor-alpha exerts dual effect on human adipose leptin synthesis and release. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2000, 159, s. 79-88.
32. **Gibbons, G. F.:** Regulation of fatty acid and cholesterol synthesis: co-operation or competition? *Prog. Lipid Res.*, 2003, 42, s. 479-497.
33. **Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L. et al.:** Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.*, 1996, 334, s. 292-295.
34. **Ntambi, J. M., Miyazaki, M.:** Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog. Lipid Res.*, 2004, 43, s. 91-104.
35. **Raclot, T., Langin, D., Lafontan, M., Groscolas, R.:** Selective release of human adipocyte fatty acids according to molecular structure. *Biochem. J.*, 1997, 324 (Pt3), s. 911-915.
36. **Kunešová, M., Phinney, S., Hainer, V. et al.:** The response of serum and adipose fatty acids to a one-year weight reduction regimen in female obese monozygotic twins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2002, 967, s. 311-323.
37. **Igo, M., Nakagawa, T., Ishikawa, C. et al.:** Inhibitory effects of docosahexaenoic acid on colon carcinoma 26 metastasis to the lung. *Br. J. Cancer*, 1997, 75, s. 650-655.
38. **Latham, P., Lund, E. K., Johnson, I. T.:** Modulation of colonocyte proliferation and apoptosis by dietary fish oil in experimental colorectal carcinogenesis. *Biochem. Soc. Trans.*, 1998, 26, s. S158.
39. **Wen, B., Deutsch, E., Opolím, P. et al.:** N-3 polyunsaturated fatty acids decrease mucosal/epidermal reactions and enhance antitumour effect of ionising radiation with inhibition of tumour angiogenesis. *Br. J. Cancer*, 2003, 89, s. 1102-1107.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR 7530-3.

PŮVODNÍ PRÁCE

Apoptóza u buněk uroteliálního karcinomu

¹Louda M., ²Vokurková D., ³Šimáková E.

¹Urologická klinika FN, Hradec Králové

²Ústav klinické imunologie a alergologie FN, Hradec Králové

³Fingerlandův ústav patologie FN, Hradec Králové

ABSTRAKT

Východisko. Programovaná smrt buňky, apoptóza, je fyziologickým, geneticky řízeným dějem. Je osudem většiny buněk vzniklých v průběhu somatického vývoje a dalšího života u většiny organismů. V publikovaném souboru uvádíme data získaná z vyšetření buněk uroteliálního karcinomu, porovnaná s histochemickými výsledky.

Metody a výsledky. V letech 1999–2002 jsme vyšetřili 36 nativních vzorků moče odebraných od pacientů s verifikovaným uroteliálním karcinomem. U 9 pacientů se jednalo o nádorový grading II.stupně, u 27 pacientů šlo o nádorový grading III. stupně. Vzorky jsme vyšetřili průtokovou cytometrií a získaná data jsme porovnali s nádorovým gradingem. V souboru jsme prokázali nulovou apoptotickou aktivitu nádorových buněk u 32 pacientů (88,9 %) ze 36 vyšetřených. U 4 pacientů, u kterých byla apoptóza zachována se jednalo o nádorový grading III.stupně.

Závěry. V souboru jsme zaznamenali výrazné chybění apoptózy u populace nádorových buněk. Předpoklad zachování apoptózy u nižšího stupně gradingu nádorů proti vyššímu stupni se nepotvrdil zjištěním zachované apoptózy u 4 nádorů s gradingem III. Při porovnání gradingu nádorů byla apoptóza oslabena nejvýrazněji u skupiny nádorových buněk s nejvyšším histopatologickým gradingem. Získali jsme hodnoty vyjadřující přímo úměrný vztah mezi dějem apoptózy a histopatologickým gradingem.

Klíčová slova: apoptóza, uroteliální karcinom, průtoková cytometrie.

ABSTRACT

Louda M., Vokurková D., Šimáková E.: Apoptosis of Urothelial Carcinoma Cells

Background. Programmed cells death, apoptosis, is a physiological, genetically controlled mechanism. It represents the fate of the majority of cells formed during the somatic development and during the next life of most of the creatures. In the article, data from the study of urothelial carcinoma cells are presented and compared with histochemical analysis.

Methods and Results. During 1999 to 2002 native urine samples of 36 of patients with the verified urothelial carcinoma were studied. Nine patients had tumors of the grade II, 27 patients had tumors of grade III. Urine samples were analysed by flow cytometry and the data obtained were compared with tumor gradients. In our cohort the zero apoptotic activity was found in 32 patients (88.9 %). In four patients with preserved apoptosis the tumors were of the grade III.

Conclusions. Lack of apoptosis of the tumor cells was the dominant sign in our sample. The premise of existing apoptosis in tumors of the lower grade contrary to the higher one was not confirmed when apoptosis was found in four tumors of the grade III. When the tumor grading was compared, apoptosis was less active in the group of tumors with the highest histopathologic grading. Values expressing the direct relation between apoptosis and the histopathologic grading were obtained.

Key words: apoptosis, urothelial carcinoma, flow cytometry.

Po.

Čas. Lék čes., 2005, 144, pp. 817–820.

V roce 1972 Kerr et al. poprvé navrhli termín apoptóza pro popsání způsobu řízené buněčné smrti. Apoptóza je morfolo- gicky i biochemicky jasně odlišitelná od nekrózy jako náhlé, nepředvídané smrti, která bývá výsledkem poškození buněk toxickými látkami, hypertermií, hypoxií, ischemií, metabolickými jedy či přímým buněčným traumatem. Apoptóza je jedním ze základních mechanismů homeostázy, slouží k udržování dynamické rovnováhy mezi buněčnou proliferací a smrtí buněk. Procesem apoptózy jsou v těle eliminovány nepotřebné nebo nežádoucí buňky (1–3).

Apoptóza nebo-li programovaná smrt buňky, jak se též překládá, je fyziologickým, geneticky řízeným dějem. Je osudem většiny buněk vzniklých v průběhu somatického vývoje a dalšího života u většiny organismů (2, 4). Proces apoptózy může být charakteri- zován jako postupná aktivace specifických genů a proteinů vedoucí

nevratně k buněčné smrti. Proces apoptózy může být nastartován vnější cestou (organizmem), tak vnitřní cestou (samotnou buňkou). Nejprve dochází k vyhodnocení všech proapoptotických a proti- apoptotických signálů, které na buňku působí (signální fáze), a pokud převáží podněty proapoptotické, nastává fáze efektorová (1).

Cytometrické monitorování apoptózy buněk vychází ze skuteč- nosti, že jedním z časných kroků apoptózy je aktivace endonukleáz, které přednostně štěpí vlákna DNA v internukleozomální (spojova- cí) sekci. Štěpení endonukleázami vede ke vzniku fragmentů DNA s nízkou molekulární hmotností, které opouštějí buňku. Výsledkem je redukce celkového množství DNA v buňce a vznik tzv. „sub-G₁ peaku“ v histogramu DNA analýzy, který je charakteristický pro apoptotické buňky.

DNA analýzou metodou průtokové cytometrie lze určit i DNA ploidii v nádorových buňkách. DNA ploidie udává obsah DNA v buňce, kolikrát obsahují nádorové buňky ve fázi G₀/G₁ buněčného cyklu více DNA než normální buňky ve stejné fázi cyklu (index DI). Buňky tak rozdělujeme do dvou skupin, na diploidní a aneuploidní.

Genetické změny na molekulární úrovni u nádoru močového měchýře (MM) nejsou ještě zdaleka všechny a přesně známy, ale ty, které jsou již prokázány, mohou být klasifikovány jako primární a sekundární aberace. Primární jsou takové molekulové aberace, které souvisejí přímo se vznikem nádoru a podmiňují biologické chování nádorů (1, 5). Charakteristické primární abnormality se vyskytují u dobře diferencovaných nádorů. Tyto naruší proces normální buněčné proliferace, ale mají malý vliv na rychlost apoptózy. Jiné molekulární změny u špatně diferencovaných nádorů (s vysokým histopatologickým gradingem) mají za následek poruchu u buněčném růstu včetně buněčného cyklu a apoptózy.

SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Soubor nemocných

V období od září 1999 do září 2002 byl proveden odběr ranní spontánně vymočené moči celkem od 58 pacientů, v tomto souboru bylo 55 pacientů s uroteliálním karcinomem močového měchýře a 3 pacienti s benigním urologickým onemocněním. Soubor byl tvořen 20 ženami a 38 muži, ve věkovém rozmezí 37 až 85 roků. Průměrný věk pacientů byl 64,5±11,3 let. Z tohoto souboru pacientů se podařilo DNA analýzu objektivně vyhodnotit u 36 jedinců (62 %). U 19 (33 %) pacientů nebylo možno vyšetření objektivně zhodnotit (akceptovány byly pouze nálezy s koeficientem variability (CV) nepřesahujícím 10 % a vzorky, ve kterých bylo nalezeno a zhodnoceno alespoň 10 000 buněk). Tři pacienti (5 %) byli ze souboru vyloučeni z důvodů nevhodné diagnózy (papilom MM, benigní hyperplazie prostaty, cystitida).

Soubor pacientů, který bylo možné objektivně statisticky vyhodnotit, tvořilo 36 pacientů ve věkovém rozmezí 41 až 85 roků, průměrný věk 64 roků. V tomto vyhodnoceném souboru byl podíl žen 31 % (n=11) s průměrným věkem 60 roků a podíl mužů 69 % (n=25) s průměrným věkem 67 roků.

Lokální rozsah nádoru u vyhodnocených pacientů byl dle TNM klasifikace Ta-T4. Grading vyšetřených nádorů u vyhodnocených pacientů byl patologem stanoven na GII u 9 pacientů (25 %) a G III u 27 pacientů (75 %).

Metoda a metodika vyšetření

Metoda

Buněčné elementy ve vzorcích byly barveny přímo značenou monoklonální protilátkou proti cytokeratinu 18, jehož exprese je pozitivní na epiteliálních buňkách, nikoli na buňkách krevních či buňkách jiného původu. Hladiny cytokeratinu 18 stoupají v přítomnosti uroteliálního karcinomu močového měchýře. Analýza byla provedena na průtokovém cytometru Coulter® Epics® XL (Coulter, Fullerton, USA) používající softwarovou verzi Epics XL Flow Cytometry Work Station – System II™ ver. 3.0. Uvedený průtokový cytometr je vybavený argonovým laserem chlazeným vzduchem, emitujícím světlo o vlnové délce 488 nm. Je vybavený 3 filtry zachytávající záření různých vlnových délek, což umožňuje současné použití až 3 různých fluorescenčních barviv v jednom vzorku. Pro naši analýzu byl využit 1. filtr (tzv. bandpass filtr (BP-filtr), zachytávající světlo o vlnové délce 530±15 nm a sloužící k detekci fluorescence emitované barvivem FITC (fluorescein isothiocyanát) a 2. BP-filtr zachytávající světlo o vlnové délce 585±21 nm a sloužící k detekci fluorescence emitované barvivem PE (phycoerythrin) a PI (propidium jodid). Při cytometrické analýze byly zónovány cytokeratin pozitivní buňky.

Naměřené údaje při DNA-analýze byly vyhodnoceny pomocí počítačového programu MultiCycle AV (Phoenix, USA), křivka odpovídající S fázi buněčného cyklu byla získána modelací počítačem. Pomocí tohoto programu tak byly získány údaje o ploiditě buněk a jejich procentuálním zastoupení v jednotlivých fázích buněčného cyklu a v apoptóze.

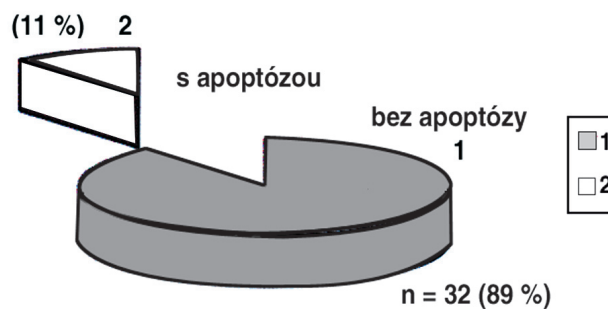
Pro monitorování apoptózy byl sledován výskyt tzv. „sub-G₁ peaku“, který je charakteristický pro apoptotické buňky.

Tab. 1. Vztah DNA-analýzy (ploidie) a apoptózy

ploidie	Apoptóza (apoptotický peak)		
	negativní	pozitivní	celkem
aneuploidní	22 (88,0)	3 (12,0)	25 (100,0)
tetraploidní	6 (100,0)	0 (0,0)	6 (100,0)
hyperploidní	4 (100,0)	0 (0,0)	4 (100,0)
diploidní	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)
celkem	32 (88,9)	4 (11,1)	36 (100,0)

Hladina významnosti Fischerova přímého testu: p=0,196163

Poznámka: Tabulka dokládá, že prognosticky nejnepříznivější abnormální obsah DNA v buňkách (aneuploidie – neceločíselný násobek základní obsahu DNA v buňkách) je spojen se ztrátou apoptotických schopností.



Graf 1. Výsledky vyšetření na apoptózu (počet vyšetřených n=36)

Metodika

Používán byl vždy odebraný nativní vzorek ranní močené moče před cystoskopickou kontrolou. Vzorky nativní moče byly sbírány do odběrové zkumavky určené pro vzorky moče značky Sarstedt (fi Sarstedt, Numbrecht, Germany). Čerstvé vzorky nativní moče byly zpracovány bezprostředně do jedné hodiny po odběru. Přibližně 5x10⁵ buněk v buněčné suspenzi bylo dvakrát promyto ledovým PBS-Soerensenovým fosfátovým pufrům (KH₂PO₄ 7,2 mM, Na₂HPO₄ 26,7 mM, NaCl 137 mM, pH 7,4) a následně fixováno v 70% etanolu (přes noc při teplotě 4 °C). Po centrifugaci (10 minut, 200 G, 4 °C) a odstranění zbytků etanolu byly buňky promyty ledovým PBS a resuspendovány 0,5 ml fosfátového pufru (192 ml 0,2 M Na₂HPO₄ + 8 ml 0,1M kyseliny citrónové, pH 7,8) a inkubovány 5 minut při pokojové teplotě pro extrakci nízkomolekulárních fragmentů DNA. Následně byly buňky barveny pomocí 0,5 ml modifikovaného Vindelova roztoku (modifikovaný Vindelův roztok: 5 mg propidium jodidu (Sigma Co.), 1 mg ribonukleázy A (Sigma Co.), 1 ml 1M TRIS (pH 8), 60 mg NaCl, doplněno do 100 ml destilovanou vodou) v termostatu při 37 °C po dobu 1 hodiny. Následně byly buňky analyzovány pomocí průtokového cytometru standardním způsobem. V každém vzorku bylo analyzováno minimálně 10 000 buněk. Jako externí kontrola k vyšetření byly použity lymfocyty. Takto získané výsledky byly následně standardně vyhodnoceny pomocí softwaru Multicycle AV.

Statistické zpracování údajů

Statistické vyhodnocení naměřených hodnot a porovnání parametrů bylo provedeno pomocí statistického softwarového programu NCSS 2001 a programu ing. Bukače na Fischerův přesný test nezávislosti v kontingenčních tabulkách. Kromě získání základních údajů deskriptivní statistiky byl použit Chí-kvadrát test (χ^2 test) v kontingenční tabulce a McNemarův test. Pro popis souborů byly použity standardní statistické charakteristiky (průměr, směrodatná odchylka, minimum, maximum, medián). Pro grafické zobrazení byl použit koláčový graf (demografické parametry) a sloupcový graf (analytická data z jednotlivých metod).

VÝSLEDKY

Vyšetřením jsme prokázali chybějící apoptotickou aktivitu u 32 (88,9 %) z 36 vyhodnocených vzorků. Zachovaná apoptotická aktivita byla prokázána pouze ve 4 případech (11,1 %), z toho 3 případy s apoptózou byly nalezeny současně s aneuploidním obsahem DNA, v jednom případě s diploidním obsahem DNA (tab. 1, graf 1). Všechny čtyři případy s prokázanou apoptotickou aktivitou byly spojeny s nádovým gradingem G III. Nepodařilo se prokázat přímo úměrný vztah mezi ztrátou apoptotické aktivity stupněm gradingu G II a G III. Vzhledem k nízké apoptóze a vyššímu gradingu nádorů lze usuzovat i v našem souboru na horší prognózu onemocnění u pacientů s tímto typem nádoru, podobně jak uvedeno výše.

DISKUZE

Apoptická aktivita charakterizuje chování všech buněk. Morfolo- gicky je apoptóza spojována s postupnou dehydratací buňky vedoucí ke smršťování buněk, kondenzaci a fragmentaci chroma- tinu a následné radikální změně morfologie buněk a tvorbě apopto- tických tělísek. Apoptotická tělíška jsou malé membránové struktu- ry, obsahující relativně intaktní buněčné organely. Tato tělíška jsou snadno fagocytována sousedními buňkami a rychle rozložena. Z podstaty biologického významu apoptózy vyplývá značný zájem, který je namířen k vyhledávání účinných možností ovlivňování apo- ptózy, které by mohly být využity k terapeutickým účelům. V pří- padě nádorového růstu je rychlost procesu do značné míry závislá na rovnováze procesu mitózy, diferenciaci, migrace a smrti buněk ať již nekrozou, či apoptózou (2, 4, 10, 12).

King et al. (6) uvádějí signifikantní rozdíl v zaznamenané apo- ptóze u zdravých uroteliálních buněk a u buněk z nádoru MM, ve smyslu zachované apoptózy u zdravé populace buněk. Ve své prá- ci neprokázali vztah mezi stagingem nádoru a apoptózou, ale potvrdili přímo úměrný vztah mezi potlačením apoptózy a pro- gresí nádoru.

Proapoptoticky působí exprese genů p53, MTS-1, c-myc, Fas. Protiapoptoticky působí inhibitory apoptózy bcl-2 a bcr i celá řada dalších genů (4, 7). Tato fáze je charakterizována aktivací kaspáz, tj. cysteinových proteáz, homologů genu CED-3, schopných štěpit bí- kovinné řetězce v místě zbytku kyseliny asparágové (c-aspázová aktivita). Tyto proteázy se fyziologicky vyskytují ve všech živočiš- ných buňkách ve formě inaktivních zymogenů. Dnes je známo již 13 typů kaspáz, které se nacházejí v cytoplasmě i v jádře. K nejlé- pe prostudovaným mechanismům, podílejícím se na aktivaci kas- páz, mají někteří zástupci faktoru nekrotizujícího nádory (TNF) rodiny cytokinových receptorů. Přenos apoptotických signálů byl prokázán například u následujících zástupců této receptorové sku- piny: TNF-R1 (CD120a), Fas (CD95), DR3 (Tramp), DR4 (Trail- R1), DR5 (Trail-R2) a CAR-1. Tyto receptory jsou tvořeny evoluč- ně zachovanou cytozolovou doménou, která je známa jako „death domain“ (DD) (1–3, 14, 15). Další významnou molekulou je Apaf- 1, faktor aktivující apoptotické proteázy, dosud jediný homolog proteinu CED-4 identifikovaný u savců. Aktivátory vnitřní cesty mohou být například volné radikály, metabolické změny v buňce, hypoxie. Nejčastěji však na počátku vnitřní cesty stojí genetická porucha (např. nerovnováha v poměru proti- a proapoptotických proteinů rodiny Bcl-2, které posouvají buňky směrem k přežívání a může učinit buňky rezistentnější k řadě proapoptotických stimulů včetně protinádorových terapeutik (1, 2, 11, 13, 15). K biochemic- kým charakteristikám počínající apoptózy patří i nárůst intracelu- lární koncentrace vápníku.

Jednou z metod volby pro sledování apoptózy, její identifikaci, kvantifikaci a charakterizaci, je technika průtokové cytometrie (2, 4, 8). Nejjednodušší, ale současně nejméně specifickou možností

hodnocení, jsou změny světelného rozptylu laserového paprsku v závislosti na velikosti a granularitě buněk – hodnocení tzv. for- ward scatter vs. side scatter FSxSS dot plotu. K posunu dochází nej- více u parametru SS, což odpovídá kondenzaci chromatinu a frag- mentaci jader.

Mnohem častěji se využívá specifitějšího postupu krátkodobé inkubace sledovaných buněk s barvivy, které mají schopnost vázat se na nukleové kyseliny a kde značení je založeno na celistvosti plazmatické membrány. Barví se tedy pouze mrtvé buňky. Takový- mi užívanými barvivy jsou například propidium jodid, ethidium bromid, trypanová modř, 7-aminoaktinomycin D (7-AMD).

Další bližší specifikaci lze provést použitím kombinace propidi- um jodidu (PI) s anexinem V. Anexin V je protein, který se váže na fosfolipidy, přednostně na fosfatidylserin. Na živé, neporušené buň- ce se na vnější straně plazmatické membrány nalézá fosfolipid fos- fatidylcholin a fosfatidylserin je na straně vnitřní. V průběhu apo- ptózy se tato symetrie narušuje a fosfatidylserin se objevuje i na vnější straně. Při cytometrické analýze s použitím obou činidel – propidium jodidu a anexinu V můžeme následně rozlišit 4 odlišné buněčné populace – živé intaktní buňky (PI negativní i anexin V negativní), buňky apoptotické (PI negativní, anexin V pozitivní), buňky mrtvé (nekrotické či v koncové části apoptózy – PI i anexin V pozitivní) a buňky arteficiálně poškozené (PI pozitivní a anexin V negativní) (4, 12, 13).

Jinou kombinací pro detekci apoptózy může být kombinace PI s barvivem rhodamin 123. Toto barvivo se váže pouze na intaktní mitochondrie, na apoptoticky či nekroticky změněné mitochondrie se neváže, k rozlišení nekrotických a apoptotických buněk je právě kombinace s PI. Metodou volby je i barvení akridinovou oranží, kde dochází ke změně barvy fluorescence podle pH nebo denaturace DNA (2, 4, 12).

Za nejprůkaznější jsou považovány metody hodnotící fragmenta- ci DNA při apoptóze. Jednodušší metoda využívá nálezu subdiplo- idního obsahu DNA v apoptotických buňkách po permeabilizaci a extrakci fragmentů o menším množství bází, eventuálně vazbou značených nukleotidů v místě zlomů DNA za použití enzymu TdT. S apoptózou souvisí i průkaz některých apoptózu indukujících pro- teínů – CD95, p53 či inhibitorů apoptózy – Bcl-2 (7).

V současné době existuje řada specifických vyšetření na monito- rování apoptózy buněk průtokovou cytometrií. Tím nejčastějším způ- sobem je vyšetření pomocí Anexinu V a PI. Apoptóza byla vyhodno- cována na základě charakteru histogramu DNA analýzy po použití PI. Apoptotická populace buněk byla identifikována pomocí charak- teristického tvaru DNA křivky v oblasti histogramu odpovídající ní- zkoploidním buňkám s fragmentací DNA v procesu apoptózy.

Vyšetřování genů s vlivem na průběh apoptózy je současným trendem. Ong et al. (11) a Kong et al. (7) sledovali u pacientů s inva- zivním uroteliálním karcinomem MM expresi genů regulujících apoptózu-mutantního p53 a Bcl-2 (eventuálně v kombinaci se sle- dováním apoptotického indexu, cyclinu D1) ve vztahu právě k tumorovému stagingu, gradingu, multifokálnímu výskytu, mediá- nu přežívání a úspěšnosti chemoterapie. V obou případech došli k závěru, že Bcl-2 a p53 pozitivita nádoru s sebou nese sníženou dobu přežívání a zkrácení doby do rekurence nádoru. Bcl-2 poziti- vity s sebou současně nese i snížení efektivity chemoterapeutické léčby vlivem zvýšené rezistence k navození apoptózy nádorových buněk. Mohammed et al. (9) referovali o protinádorovém působení na invazivní uroteliální karcinom inhibitorem cyklooxygenázy-2 spočívající v indukci apoptózy u nádorových buněk. Způsobem jak monitorovat apoptózu u nádoru MM lze kvantifikací proteinu Bcl- 2 (protein odvozený od protiapoptotického genu bcl-2) v lyzátech buněk nádorů MM, přičemž exprese Bcl-2 korelovala s cytometric- kým vyhodnocením DNA analýzy, která potvrdila vyšší zastoupení buněk v syntetizační fázi buněčného cyklu u buněk z nádorového ložiska oproti buňkám nepostižené tkáně MM.

Jakobson et al. (5) se ve své studii zabývali průkazem exprese CD40 a CD95 na epiteliálních buňkách tumoru MM. CD40 stejně jako CD95 jsou oba členy TNF receptorové rodiny. Epiteliální nádorové buňky MM často exprimují CD40, u těchto buněk nebyl význam exprese CD40 zatím zcela objasněn. Výsledky studie ukázaly, že stimulace CD40 receptoru příslušnou specifickou protilátkou nebo syntetickým solubilním CD40 ligandem vedlo k tomu, že buňky se staly méně citlivé k nastartování apoptózy po stimulaci CD95 (Fas/Apo-1 antigen) receptoru, a tudíž CD40 receptor exprimovaný na epiteliálních buňkách tumoru MM zvyšuje přežívání nádorových buněk protiapoptotickou ochranou, a tím zvyšuje i životaschopnost nádoru.

Zkratky

BP-filtr	– bandpass filtr
Bcl-2	– protein odvozený od protiapoptotického genu bcl-2
bcr	– receptor pro antigen na B-lymfocytech
CAR	– coxsackie-adenovirový receptor
c-myc	– onkogen
CV	– koeficient variability
DD	– death domain
DI	– index DNA cyklu
DNA	– kyselina deoxyribonukleová
DR	– diabetická retinopatie
Fas	– povrchový receptor
FITC	– fluorescence emitovaná barvivem (fluorescein izotiokyanát)
FS	– fotostimulace
MM	– močový měchýř
MTS-1	– calcium binding protein
PE	– fycocytrin
PI	– propidium jodid
p53	– protein p53
7-AMD	– 7-aminoaktinomycin D
SS	– Side Scatter
TdT	– terminální deoxynukleotid transferáza
TNF	– faktor nekrotizující nádory (tumor necrosis factor)
TNM	– Tumor, Nodi, Metastasis klasifikace

LITERATURA

1. **Cordon-Cardo, C., Cote, R. J., Sauter, G.:** Genetic and molecular markers of urothelial premalignancy and malignancy. *Scand. J. Urol. Nephrol. Suppl.*, 2000, 205, s. 82-93.
2. **Darzynkiewicz, Z., Juan, G., Li, X. et al.:** Cytometry in cell necrobiology. Analysis of apoptosis and accidental cell death (necrosis). *Cytometry*, 1997, 27, s.1-7.
3. **DeVita, V. T., Hellman, S., Rosenberg, S. A.:** Cancer: Principles and practice of oncology. 5th ed. New York, Lippincott-Raven publishers, 1997, s. 3125.
4. **Eckschlager, T.:** Průtoková cytometrie v klinické praxi. Praha, Grada Publishing, 1999, s. 7-19, s. 128-133.
5. **Jakobson, E., Johnsson, G., Bjorck, P. et al.:** Stimulation of CD40 in human bladder carcinoma cells inhibits anti-Fas/APO-1 (CD95) – induced apoptosi. *Int. J. Cancer*, 1998, 77, s. 849-853.
6. **King, E. D., Metteson, J., Jacobs, S. C. et al.:** Incidence of apoptosis, cell proliferation and bcl-2 expression in transitional cell carcinoma of the bladder: association with tumor progression. *J. Urol.*, 1996, 155, s. 316-320.
7. **Kong, G., Shin, K. Y., Oh, Y. H. et al.:** Bcl-2 and p53 expression in invasive bladder cancer. *Acta Oncol.*, 1998, 37, s. 715-720.
8. **Mandy, F. F., Bergeron, M., Minkus, T.:** Principles of flow cytometry. *Transfus. Sci.*, 1995, 16, s. 303-314.
9. **Mohammed, S. I., Bennett, P. F., Craig, B. A. et al.:** Effects of cyclooxygenase inhibitor, piroxicam, on tumor response, apoptosis and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Canc. Res.*, 2002, 62, s. 356-358.
10. **Novosad, J., Kodydková, K., Krejsek, J.:** Apoptóza, její mechanismy a medicínský význam. I. Definice apoptózy a její průběh na buněčné úrovni. *Vnitř. Lék.*, 2001, 47, s. 381-386.
11. **Ong, F., Moonen, L. M., Gallee, M. P. et al.:** Prognostic factors in transitional cell cancer of the bladder: an emerging role for Bcl-2 and p53. *Radiother. Oncol.*, 2001, 61, s. 169-175.
12. **Raber, M. N., Barlogie, B.:** DNA flow cytometry of human solid tumors. *Flow cytometry and Sorting. 2nd Edition, Wiley-Liss, Inc.*, 1990, s. 745-754.
13. **Rejthar, A., Vojtěšek, B.:** Obecná patologie nádorového růstu. Praha, Grada Publishing, 2002, s. 110-115.
14. **Schwartzman, R. A., Cidlowski, J. A.:** Apoptosis: The biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Rev.*, 1993, 14, s. 133-151.
15. **Vermes, I., Haanen, C., Reutelingsperger, C.:** Flow cytometry of apoptotic cell death, *J. Immunol. Methods*, 2000, 243, s. 167-190.

Prognóza folikulárního lymfomu

Pro lymfomy vycházející z B lymfocytů je charakteristická značná klinická heterogenita a široká variace, pokud jde o přežití. Je proto nezbytné mít k dispozici prognostické markery, které predikují biologické chování nádoru. Růst lymfomových buněk, a tudíž jejich klinické chování není tak autonomní, jak se soudilo, což je jedno z významných nových zjištění ve výzkumu B lymfomů. V poslední době Dave et al. prezentovali výsledky techniky microarray zaměřené na detekci molekulárních prediktorů přežití a identifikaci biologických faktorů, které determinují klinickou heterogenitu folikulárních lymfomů. Folikulární lymfomy představují asi 20 % B buněčných ne Hodgkinsonských lymfomů – neoplazií. Technika „microarray“, nazývaná též mikročipování nebo genočipování, je určená k měření aktivity genů. Tento typ

lymfomů má velmi variabilní klinický průběh, neboť přežití od diagnózy může být i rok až více než 20 let. Je zajímavé, že geny, které byly rozpoznány jako prognostické faktory, jsou exprimovány zejména v T lymfocytech, makrofázích či v dendritických buňkách, ale nikoli ve vlastních nádorových buňkách. To naznačuje, že agresivita nádoru je určena hlavně chováním mikroprostředí lymfomu, ale nikoli rozdíly v profilu genové exprese u lymfomových buněk oproti zdravým buňkám. Folikulární lymfom se chová tedy odlišně od difuzního velkobuněčného B lymfomu a mantle-cell lymfomu, u kterých jsou prognostické znaky naopak založeny na genové expresi lymfomových buněk. Představa o závislosti lymfomových buněk na jejich mikroprostředí je podporována faktem, že tyto buňky je obtížné pěstovat *in vitro*, pokud nejsou současně přítomny stromální buňky, a bez stimulace receptoru CD40, který představuje

hlavní signální dráhu pro interakce mezi B a T buňkami.

Růst lymfomových buněk a tedy pravděpodobně i jejich biologické chování není tak autonomní, jak se dříve usuzovalo, alespoň pokud jde o některé B lymfomy. Je například známo, že MALT lymfomy (gastric mucosa-associated lymphoid-tissue) jsou asociovány s infekcí *Helicobacter pylori*. Takové lymfomy je možno léčit v jejich prvních fázích eliminací bakteriální infekce.

Identifikace role buněčného mikroprostředí v prognóze folikulárních lymfomů může posloužit v hledání nových terapeutických postupů.

Literatura:

Kueppers, R.: Prognosis in Follicular Lymphoma – It@s in the Microenvironment. *N. Eng. J. Med.*, 2004, 351, s. 2152-2153.

O. Louthan

PŮVODNÍ PRÁCE

Renální angiomyolipom, histologie, diagnostika a terapie

Ůrge T., Hora M., ¹Hes O., ²Chudáček, Z.

Urologická klinika LF UK a FN, Plzeň

¹*Šiklův patologicko – anatomický ústav LF U, Plzeň*

²*Radiodiagnostická klinika LF UK a FN, Plzeň – Bory*

ABSTRAKT

Východisko. Renální angiomyolipom je benigní mezenchymový nádor s incidencí 0,3–3 % chirurgicky explorovaných nádorů ledvin. Nádor se často vyskytuje ve spojení s tuberózní sklerózou. Nádor má natolik patognomický obraz na CT, že lze podle něj stanovit diagnózu. Symptomatologie a komplikace jsou závislé na velikosti nádoru. U velkých či symptomatických nádorů je indikována resekce nádoru, nefrektomie či ablace in situ.

Metody a výsledky. Na Urologické klinice FN Plzeň bylo v letech 1996–2004 operováno 612 pacientů s nádorem ledviny. Angiomyolipom byl u 7 pacientů. Průměrný věk v době operace byl 64 let, poměr žen a mužů 5:2. U 3 pacientů byla přítomna klinická symptomatologie. Nádory byly 2–8 cm velké, u pěti pacientů solitární. Translumbální resekce nádoru byla provedena u tří pacientů. Translumbální nefrektomie byla provedena dvakrát pro suspekci z malignity. Tyto tumory byly zároveň vícečetné. V jednom případě bylo vysloveno podezření na tuberózní sklerózu. Ve dvou případech byl angiomyolipom náhodným nálezem při nefrektomii indikované pro jinou diagnózu.

Závěry. U většiny nemocných stanovíme diagnózu podle zobrazení angiomyolipomu na CT. U některých jeho variant není zobrazení tak typické, a proto volíme operační revizi.

Klíčová slova: benigní nádory ledvin, renální angiomyolipom, nefrektomie, resekce, ablace.

ABSTRACT

Ůrge T., Hora M., Hes O., Chudáček Z.: Renal Angiomyolipoma, Histology, Diagnostics and Therapy

Background. Renal angiomyolipoma is a benign mesenchymal tumour with prevalence of 0,3–3 % of all surgically resected renal tumours. Tumour is often associated with tuberous sclerosis complex or with another fakomatosis. Tumour has typical pathological image in computer tomography notation that enables the diagnosis. Symptomatology and possible complications depend on the tumour size. Large or symptomatic tumours are indicated for resection, nephrectomy or local ablation.

Methods and Results. 612 patients with renal tumour were operated at the Department of Urology faculty hospital in Pilsen. Angiomyolipoma occurred in 7 patients. Average age at the time of operation was 64 years, ratio female and male was 5:2. Clinical symptomatology was expressed in 3 patients. The size of tumour was 2 to 8 cm, in 5 patient the tumors were solitary. Translumbal tumour resection was performed in 3 patients. These tumours were at the same time multifocal. Suspicion from tuberous sclerosis was pronounced in some care. The angiomyolipoma was accidentally found in 2 cases of nephrectomy, which was indicated for other diagnosis.

Conclusions. We define diagnosis by means of CT notation in the most of patients. This notation is not typical by any version of angiomyolipoma and we choose therefore surgical revision.

Key words: benign renal tumours, renal angiomyolipoma, nephrectomy, resection, ablation.

Ůr.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 821–823.

Renální angiomyolipom je většinou benigní mezenchymový nádor s incidencí 0,3–3 % chirurgicky explorovaných nádorů ledvin (1, 2). V literatuře jsou popisovány dvě varianty. Jedna je spojena s tuberózní sklerózou, u které se angiomyolipom vyskytuje až v 80 % (1, 2). V těchto případech je angiomyolipom většinou vícečetný, bilaterální, symptomatický, bez mužské či ženské predominance. Druhou variantu představuje sporadická forma angiomyolipomu, většinou asymptomatická, s predominantním výskytem u žen a maximem výskytu v 4. a 5. deceniu (3). Poměr žen a mužů s angiomyolipomem je přibližně 4,5:1 (1, 3). Růst angiomyolipomů je pravděpodobně ovlivněn hormonálně, což lze soudit z jejich zrychleného růstu během těhotenství. U dětí s tuberózní sklerózou je možné angiomyolipom vidět běžně, zatímco u dětí bez tuberózní sklerózy je vzácný. Byl popsán i kongenitální případ angiomyolipomu (1).

SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Na Urologické klinice FN Plzeň bylo v letech 1996 až 2004 odoperováno 612 pacientů s nádorem ledviny. Angiomyolipom byl histologicky prokázán u 7 pacientů (1,1 %), poměr žen a mužů byl 5:2. Tito pacienti jsou dále podrobně zhodnoceni.

VÝSLEDKY

Průměrný věk v době operace byl 64 let (49–77 let). U třech pacientů (43 %) byla přítomna klinická symptomatologie. Vždy to byla bolest lokalizovaná do oblasti ledviny či epigastria, kde imitovala obtíže při cholecystolitíaze. Jedna nemocná měla současně hematurii. U zbylých 4 pacientů (57 %) se jednalo o náhodné nálezy. Ultrasonografie byla indikována u 5 pacientů. Dále bylo prove-

MUDr. Tomáš Ůrge
305 99 Plzeň, E. Beneše 13
fax: 377 402 171, e-mail: urget@fnplzen.cz

deno CT vyšetření všech pacientů. V případě nejasnosti v interpretaci CT či USG obrazu (u 2 pacientů z 90. let minulého století) byla doplněna angiografie se selektivním nástřikem ledvinných tepen. Tumory byly u 5 pacientů solitární, 2 až 8 cm velké (průměrně 4,5 cm), lokalizované nejčastěji v pars intermedia (3 případy), horním či dolním pólu ledviny (po 1 případu) nebo v renálním sinu za ledvinnou páničkou (1 případ). Translumbální resekce nádoru byla provedena u 3 pacientů. Translumbální nefrektomie byla provedena dvakrát pro suspekci z malignity. Tyto tumory byly zároveň vícečetné. V jednom případě bylo vysloveno podezření na tuberózní sklerózu. Tento pacient měl v klinickém nálezů popsány kožní léze podobné tuberům. Tyto ale nebyly odstraněny, a tudíž histologicky vyšetřeny. Ve 2 případech byl angiomyolipom náhodným nálezem při nefrektomii indikované pro jinou diagnózu.

DISKUZE

Angiomyolipom je nejběžnější mezenchymální nádor ledviny složený z abnormálních krevních cév, hladkého svaly, a tuků s prevalencí 13 případů na 10 000 dospělých nemocných. Většina angiomyolipomů menších než 4 cm je asymptomatická. Větší angiomyolipomy se prezentují bolestí v bedru, hematurii, palpační rezistencí v břiše a někdy i nevysvětlitelnou hypertenzí a horečkami (4). Jako Wunderlichův syndrom je nazýváno rozsáhlé krvácení do retroperitonea způsobené rupturou fragilních cév nebo nádoru samotného (3). Průměrný věk pacientů v době diagnózy bývá 35 let u pacientů s tuberózní sklerózou a 45–55 let u ostatních pacientů (5).

Typický angiomyolipom se chová benigně. V literatuře je ale popsáno asi 20 případů šíření se angiomyolipomů do venózního systému ledviny, renálních žil, někdy i do vena cava inferior a vzácně až do pravé síně srdeční (6–8). Asi 40 případů angiomyolipomů mělo též ložiska nádorů v přilehlých uzlinách (9). Tato ložiska angiomyolipomů nelze považovat za metastázy, ale za multifokální výskyt angiomyolipomů, které se i v uzlinách chovají zcela benigně. Dále byly popsány případy mnohočetného výskytu angiomyolipomů v orgánech dutiny břišní ve spojení i bez spojení s tuberózní sklerózou (slezina, játra, přední stěna břišní, vagína, vejcovod). Dále existují zmínky o angiomyolipomech Gerotovy fascie a ureteru (10).

Histologickou charakteristiku renálního angiomyolipomu poprvé popsal Grawitz v roce 1900 (11). Renální angiomyolipom je klonální novotvar (12), patříci do rodiny novotvarů odvozených z perivaskulárních epiteloidních buněk (13, 14). Perivaskulární epiteloidní buňky mohou kromě angiomyolipomu dávat vznik i jiným tumorům jako například lymfangioleiomyomatóze, světlobuněčnému tumoru plic, pankreatu a lig teres hepatis (15, 16). Tyto nádory jsou dnes řazené do skupiny tzv. PEComů (perivascular epithelial cells) pro svůj původ právě v perivaskulárních epiteloidních buňkách. Imunohistochemicky byla zaznamenána pozitivní reakce epiteloidních buněk a vřetenobuněčných elementů s „melanocytárním markerem“ HMB 45 (14, 16).

Angiomyolipom může být vzácně složen převážně z tlustostěnných cév a může tak připomínat spíše vaskulární malformaci. Nebo je zcela z hladké svaloviny a lymfatických cév a je tak morfoloogicky identický s lymfangioleiomyomatózou plic (15). Převažuje-li lipomatózní složka, angiomyolipom se může podobat liposarkomu. Skládá-li se převážně z hladké svaloviny, podobá se leiomyomu (17).

Angiomyolipom, který se skládá z poměrně velkých epiteloidních buněk podobných hladké svalovině (jsou mírně atypické nebo mohou být i značně pleomorfní) a z buněk s eozinofilní cytoplazmou, byl popsán v minulosti jako renální epiteloidní oxyfilní nádor a později přejmenován na epiteloidní angiomyolipom (AML). Epiteloidních AML je popsáno relativně málo, mají tendenci k agre-

sivnějšímu chování (18, 19). Takovéto AML se snadno zamění s karcinomem, protože mohou obsahovat četné mitózy i ložiska nekrotů (9, 15).

V současné době je diagnostika AML založena především na neinvazivních zobrazovacích metodách – sonografii, výpočetní tomografii (CT) a nukleární magnetické rezonanci (NMR) (20). Správný diagnostický algoritmus zobrazovacích metod obsahuje na prvním místě využití ultrazvuku pro jeho senzitivitu a v neposlední řadě i dostupnost, příznivou cenu a neinvazivnost. Power-dopplerovská ultrasonografie (PDUS) s barevným mapováním výrazně zlepšila posouzení vaskularity renálních expanzí proti ultrasonografii v šedé škále (B-mód) – zobrazení neoplastických cév tumorů až u 59 % vyšetřovaných, proti 32 % nemocných při použití B módu (21). Kombinace B – modu a PDUS vykazuje ještě vyšší přesnost (v 78 % průkaz expanze) nezávisle na podání kontrastní látky.

AML obsahuje různé množství tuku (až na cca 5 % vzácnějších angiomyolipomů, u kterých není žádná tuková složka detekovatelná). Proto při CT vyšetření lze denzity odpovídající tukové tkáni většinou diferencovat. Dále je možno nalézt denzity odpovídající svalové tkáni, cévám a hemoragiím. Po nitrožilní aplikaci kontrastní látky se sytí komponenty neobsahující tuk. Ačkoliv diagnóza pomocí CT je snadná a velice specifická, mohou vzniknout rozpačky nebo omyly při odlišení od liposarkomů, případně lipomů (1).

Magnetická rezonance (MR) je využitelná zejména pro nejasné nálezy expanzí neklasifikovatelných při ultrasonografii nebo CT vyšetření. Dále u nemocných s alergií na běžné kontrastní látky nebo jako metoda volby pro určení kraniální hranice žilní nádorové trombozy. Rutinní sekvence snímků bez kontrastní látky nemá dostatečnou specifitu nebo senzitivitu pro posouzení charakteru renální expanze. Po intravenózním podání kontrastní látky (gadoliniové cheláty) ukazuje angiografická MR v T1 modu přesvědčivě vaskularitu expanze ledviny. Vysoký kontrast vyšetření je informativnější než na CT zobrazení a dovoluje lépe diferencovat například mezi benigní komplikovanou cystou a cystickým karcinomem (1, 17). V T2 modu může dokonce vizualizovat pseudo-pouzdrou nádoru.

Angiografie není při určování druhové diagnostiky přínosná a pro svoji invazivnost není z těchto důvodů indikována. Může však být přínosem pro operátora při plánování resekce ledviny (1). V současné době je však již nahrazena neinvazivní angiografií na CT či NMR. Dá se tedy říci, že se jedná o obsoletní metodu a uvádíme ji jen v rámci přehledu.

Standardní léčbou nádorů ledvin je radikální nefrektomie a u indikovaných případů zachovné operační výkony, zejména resekce ledviny, heminefektomie, někdy i enukleace tumoru (22). Variantou jsou tytéž metodiky prováděné dle stejného technologického postupu, ale laparoskopicky nebo retroperitoneoskopicky. V posledních letech se objevují nové ablační metodiky, pracující na různém fyzikálním principu. Jsou založené na lokálním působení tepla nebo chladu, které způsobí destrukci tkáně. Nejstarší metodou je kryoablace. Poprvé byla u nádorů ledvin použita v roce 1995 (23, 24). Termální ablací je míněna tepelná destrukce tkáně. Tyto metody používají elektromagnetické (radiofrekvenční ablace (25), mikrovlánná termoterapie (26, 27), laserová intersticiální ablace (28)) či mechanické vlnění (fokusovaný ultrazvuk vysoké intenzity (27)), jejíž energie se ve tkáni mění na teplo (29). V současné době se využívá hlavně radiofrekvence. Další metodiky jsou ve fázi experimentu (29).

ZÁVĚR

Renální angiomyolipom je nejčastěji klinicky němý a jedná se většinou o náhodný nález při USG či CT břicha. V současné době je diagnostika angiomyolipomu založena především na neinvaziv-

ních zobrazovacích metodách. CT diagnostika je považována za definitivní, protože podle mínění radiologů je CT obraz angiomyolipomu natolik patognomický, že podle něj lze stanovit histologickou diagnózu. Pacienti s angiomyolipomem jsou nejčastěji pouze dispenzarizováni. Pouze v případě diagnostických rozpaků nebo u symptomatických nádorů a nádorů nad 4 cm volíme chirurgickou terapii. Vždy dáváme přednost ledvině šetřícím výkonům (enukleece, resekce). Do budoucna předpokládáme využití laparoskopie a rozvoj radiofrekvenčních ablačních metod.

Zkratky

AML	– angiomyolipom
CT	– výpočetní tomografie
HMB 45	– melanocytární marker
NMR	– nukleární magnetická rezonance
PDUS	– power-dopplerovská ultrasonografie
PEC	– perivascular epithelial cells
USG	– ultrasonografie

LITERATURA

- Vít, V., Pacík, D., Čermák, A., Nebeský, T.: Je CT vyšetření dostatečně spolehlivé při hodnocení neoplastických procesů ledvin? Čes. Urol., 2004, 3, s. 17-20.
- Vrtěl, R., Vodička, R., Šantavá, A. et al.: Angiomyolipomy a jejich vyšetření v diagnostice tuberozní sklerózy. Čas. Lék. čes., 2004, 143, s. 195-197.
- Lamla, A., Pernička, J.: Benigní nádory ledvin. Urologie pro praxi, 2003, 3, s. 90-93.
- Steiner, M., Goldmann, S., Fishman, E.: The Natural History of Renal Angiomyolipoma. J. Urol., 1993, 150, s. 1782.
- Eble, J. N.: Angiomyolipoma of kidney. Seminars in Diagnostic Pathology, 1998, 15, s. 21-40.
- Gamé, X., Soulié, M., Mossouni, S. et al.: Renal angiomyolipoma associated with rapid enlargement and inferior vena caval tumor thrombus. J. Urol., 2003, 170, s. 918-919.
- Yamamoto, T., Ito, K., Suzuji, K. et al.: Rapidly progressive malignant epithelioid angiomyolipoma of the kidney. J. Urol., 2002, 168, s. 190-191.
- Ito, H., Nakashima, S., Toma, H., Misaki, T.: Renal angiomyolipoma associated with inferior vena caval and right atrial thrombus. J. Urol., 1999, 162, s. 1371-1372.
- Christiano, P., Yang, X., Gerber, G.: Malignant transformation of renal angiomyolipoma. J. Urol., 1999, 161, s. 1900-1901.
- Murphy, D., Glazier, D., Chenven, E. et al.: Extrarenal Retroperitoneal Angiomyolipoma: Nonoperative Management. J. Urol., 2000, 163, s. 234-235.
- Grawitz, P.: Demonstration eines grossen Angio-Myo-Lipoms der Niere. Dtsch. Med. Wochenschr., 1900, 26, s. 290.
- Green, A. J., Sepp, T., Yates, J. R. W.: Clonality of tuberous sclerosis hamartomas shown by non-random X-chromosome inactivation. Hum. Genet., 1996, 97, s. 240-243.
- Zamboni, G., Pea, M., Martignoni, G. et al.: Clear cell tumor of the pancreas, a novel member of the family of lesions characterized by the presence of perivascular epithelioid cells. Am. J. Surg. Pathol., 1996, 20, s. 722-730.
- Bonetti, F., Pea, M., Martignoni, G. et al.: Clear cell tumor of the lung is a lesion strictly related to angiomyolipoma – the concept of a family of lesions characterized by the presence of perivascular epithelioid cells (PEC). Pathology, 1994, 26, s. 230-236.
- Michal, M., Hes, O., Mukešnábl, P.: Nádory ledvin dospělého věku. Euroverlag, 2000, s. 98-112.
- Hes, O., Havlíček, F., Michal, M.: Angiomyolipom ledviny s komponentou nádoru z jasných buněk. Čs. Patol., 1999, 35, s. 94-97.
- Hora, M., Hes, O., Chudáček, Z. et al.: Leiomyom ledviny-kazuistika. Čes. Urol., 2004, 3, s. 12-13.
- Eble, J. N., Amin, M. B., Young, R. H.: Epithelioid angiomyolipoma of the kidney: A report of five cases with a prominent and diagnostically confusing epithelioid smooth muscle component. Am. J. Surg. Pathol., 1997, 21, s. 1123-1130.
- Martignoni, G., Pea, M., Bonetti, F. et al.: Renal epithelioid oxyphilic neoplasm (REON): A pleomorphic variant of renal angiomyolipoma. Int. J. Surg. Pathol., 1995, 2 (Suppl.), s. 539-539 (abstracts).
- deLuca, S., Terrone, C., Rossetti, R.: Management of renal angiomyolipoma: a report of 53 cases. BJU International, 1999, 83, s. 215-218.
- Mechl, M., Slavík, M.: Barevná duplexní ultrasonografie v diferenciální diagnostice nádorového postižení. Klin. okol., 1994, 7, s. 120-126.
- Heidenreich, A., Hegele, A., Varga, R. et al.: Nefrom sparing Surgery for Renal Angiomyolipoma. Evropan Urology, 2002, 41, s. 267-273.
- Walter, M. M., Shawker, T. H., Ligutti, S. K. et al.: A phase 2 study of radio frequency interstitial tissue ablation of localized renal tumors. J. Urol., 2000, 163, s. 1424-1427.
- Delworth, M. G., Postere, L. L., Fornage, B. D., von Eschenbach, A. S.: Cryotherapy for renal cell carcinoma and angiomyolipoma. J. Urol., 1996, 155, s. 252-255.
- Tsunoe, H., Yasumasu, T., Tahala, M. et al.: Resection of an L-shaped kidney with renal cell carcinoma using a microwave tissue coagulator. Int. J. Urol., 2001, 8, s. 459-462.
- Marota, T., Kawakita, M., Obuch, N. et al.: Retroperitoneoscopic partial nephrectomy using microwave coagulation for small renal tumors. Eur. Urol., 2002, 41, s. 540-545.
- Köhrmann, K. U., Michel, M. S., Gaa, J. et al.: High intensity focused ultrasound as noninvasive therapy for multifocal renal cell carcinoma: case study and review of the literature. J. Urol., 2002, 167, s. 2397-2403.
- Dick, E., Joarder, R., De Jode, M. et al.: Magnetic resonance imaging guided laser thermal ablation of renal tumours. BJU Int., 2002, 90, s. 814-822.
- Hora, M., Hes, O., Klečka, J.: Miniinvazivní ledvinu šetřící metodiky v léčbě nádorů ledvin. Urologické listy, 2003, 1, s. 26-29.

KOMENTÁŘ

Komentář k článku autorů Úrge T., Hora M., Hes O. a Chudáček, Z. „Renální angiomyolipom, histologie, diagnostika a terapie“

Angiomyolipom (AML) je nejčastějším mezenchymovým nádorem ledviny, který byl pozorován u 0,3 % pitvaných jedinců a v 0,13 % u sonograficky vyšetřované populace. Přes svůj benigní charakter přitahuje AML stálou pozornost kliniků. Dokladem je i práce autorů z plzeňského pracoviště, kteří se problematikou nádorů ledvin intenzivně a komplexně zabývají. Předkládaný soubor 7 pacientů s AML větších rozměrů i vyčerpávající diskuze přináší zajímavou informaci rozšiřující naše zkušenosti s tímto onemocněním. V komentáři shrnuji odpovědi na 4 otázky, které jsou z klinického hlediska zásadní.

Je AML skutečně benigním nádorem?

Angiomyolipom je v současnosti považován za jednoznačně benigní onemocnění. Autoři v diskusi správně uvádějí vzácné literární zmínky o extrarenálních ložiscích. Jejich původ však není metastatický, ale vyplývá z mnohočetného základu onemocnění.

Dokážeme spolehlivě rozlišit AML od maligních renálních karcinomů, respektive sarkomů?

Obraz AML při použití dostupných zobrazovacích metod je natolik typický, že umožňuje spolehlivou diagnózu v převážné většině případů. Základem diagnostiky je počítačová tomografie, kde přítomnost alespoň malého množství tukové složky prakticky vylučuje diagnózu renálního karcinomu. V nejasných případech lze navíc použít i magnetickou rezonanci.

Diagnostické rozpaky mohou vzniknout u vzácných AML neobsahujících tukovou složku a také u nádorů většího rozsahu, kdy nesmíme zapomenout na riziko sarkomu (1).

Kdy je indikovaná operační revize?

Tato otázka nabyla na významu v souvislosti s větším počtem drobných lézí zachycených díky široké dostupnosti ultrasonografického i CT vyšetření.

V případech, kdy zobrazovací metody jednoznačně potvrdí diagnózu AML, vychází další postup z klinického průběhu a předpokládaného rizika krvácení. V souladu s pozorováními autorů z Plzně jsou symptomatické AML obvykle větší než 4 cm. Nádory větších rozměrů také obvykle vykazují rychlejší růst v průběhu sledování.

Z dnešního pohledu je jednoznačnou indikací k operační revizi nádor ohrožující krvácením život nemocného a nádor symptomatický. Stejně tak je o výkonu třeba uvažovat u větších a rychle rostoucích nádorů, samozřejmě s přihlédnutím k věku, komorbiditám a přání pacienta. U malých a asymptomatických AML, kterých je většina, vystačíme s pouhým sledováním pomocí CT nebo ultrasonografie obvykle v 6měsíčních intervalech.

Jednoznačnou indikací k intervenci jsou situace, kdy zobrazovací metody neposkytují jasný závěr a kdy přetrvává podezření na nádor maligní povahy.

Jakou volit techniku operačního výkonu?

Operační postup je volen individuálně dle lokalizace a velikosti tumoru, respektive konkrétní situace. Protože se jedná o nádor benigní a často mnohočetný, preferujeme záchovné postupy, tedy pólovou nebo klínovou resekci ledviny, případně i enukleaci tumoru. Výkon je obvykle prováděn otevřeným způsobem z lumbotomie, do budoucna bude jistě preferován přístup laparoskopický nebo retroperitoneoskopický. Moderní technologie, jako je radiofrekvenční ablace nebo kryoablace, jsou slibné, jejich indikaci však musí potvrdit delší zkušenosti.

V kritických situacích, kdy nádor ohrožuje masivním krvácením život nemocného, je jediným možným řešením nefrektomie.

LITERATURA

1. Vít, V., Pacík, D., Čermák, A., Nebeský, T.: Je CT vyšetření dostatečně spolehlivé při hodnocení neoplasmatických procesů ledvin? Čes. Urol., 2004, 3, s. 17-20.

PŮVODNÍ PRÁCE

Glukokortikoidy a jejich vliv na funkci dendritických buněk

Rožková D., Horváth R., Bartůňková J., Špišek R.
Ústav imunologie 2. LF UK a FNM, Praha

ABSTRAKT

Východisko. Dendritické buňky představují hlavní buňky, které zahajují imunitní reakci. Podílejí se na rozlišování cizího a vlastního a signálů nebezpečí, které pro organismus představují škodliviny vnější, ale i vnitřní. Dendritické buňky také přispívají k udržování tolerance vůči vlastním tkáním. Glukokortikoidy jsou používány jako imunosupresiva a protizánětlivé léky a v transplantační medicíně k potlačení rejekce. Působení glukokortikoidů bylo zkoumáno zejména u monocytů a lymfocytů, ale jen ojedinělé studie byly zaměřeny na ovlivnění dendritických buněk glukokortikoidy. V naší studii jsme zkoumali vliv glukokortikoidů na diferenciaci a maturaci dendritických buněk *in vitro* a na ovlivnění subpopulací dendritických buněk *in vivo* po vysokodávkované kortikoterapii.

Metody a výsledky. Na *in vitro* modelu (dendritické buňky vypěstované z periferních monocytů) jsme zjistili, že glukokortikoidy v koncentraci vyšší než 10^{-6} M indukují apoptózu dendritických buněk. V koncentracích nižších pak glukokortikoidy ovlivňují jak proces diferenciacie, tak maturace dendritických buněk. Po podání Solumedrolu v bolusové dávce 1000 mg dochází *in vivo* během jednoho dne k praktickému vymizení plasmacytoidních dendritických buněk a výraznému snížení myeloidních dendritických buněk.

Závěry. Tato studie prokazuje hluboký vliv kortikoidů na zahájení imunitní reakce, na funkci dendritických buněk. Dysfunkce dendritických buněk pod vlivem kortikoidů může být žádoucí ve smyslu potlačení patologické imunitní reakce, pro niž jsou kortikoidy indikovány, ale zároveň vysvětluje sklon ke zvýšené náchylnosti k infekcím u pacientů léčených kortikoidy.

Klíčová slova: dendritická buňka, glukokortikoidy, Toll-like receptory, imunosupresivní terapie.

ABSTRACT

Rožková D., Horváth R., Bartůňková J., Špišek R.: Glucocorticoids and their Effect on Dendritic Cell Function

Background. Dendritic cells represent the most effective antigen presenting cells and they are the only cell type capable of initiating the primary immune response. They use several sets of germ-line encoded receptors to differentiate between self and non-self and to detect the presence of danger signals. Danger signals are mainly represented by microbial pathogens but it can be also a necrotic or malignant cell. At various stages of their lifecycle dendritic cells play a key role in maintaining the peripheral tolerance towards self-antigens and in the initiation of an effective immune response. Glucocorticoids have been widely used in the treatment of autoimmune or inflammatory disorders and their immunosuppressive effect has been mainly attributed to the inhibition of lymphocytes functions.

Methods and Results. In this study, we discuss the effects of glucocorticoids on *in vitro* generated myeloid dendritic cells and on peripheral blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells subsets.

Conclusions. Experimental results point to the profound suppressive effect of glucocorticoids on the antigen presenting functions of dendritic cells and to contribute to better understanding of glucocorticoids-mediated immunosuppressive effect.

Key words: dendritic cell, glucocorticoids, Toll-like receptor, immunosuppressive therapy.

Ro.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 825–831.

Dendritické buňky (DC) jsou považovány za nejučinnější buňky předkládající antigen (APC) a jsou hlavním spojujícím článkem mezi antigenně nespecifickou a antigenně specifickou částí imunitního systému. Účinná specifická imunitní odpověď se rozvíjí zpravidla 4–7 dní po průniku patogenu do organismu (1). Ve většině tkání se DC vyskytují v tzv. nezralém stavu a na svém povrchu nemají molekuly nezbytné pro aktivaci T lymfocytů, jako například CD40, CD54, CD80, CD86, a znaky typické pro zralé DC. Jejich úkolem tedy v tomto stadiu není účinná stimulace T lymfocytů. Důležitější je, aby byly schopny předat organismu informaci o skladbě vnitřního prostředí a aby včas upozornily na hrozící nebezpečí. Pro tento úkol jsou nadmíru dobře vybaveny.

Prvním předpokladem pro to, aby mohly plnit funkci detektorů

nebezpečí a strážců vnitřního prostředí, je správná lokalizace. Nezralé DC se vyskytují téměř ve všech periferních tkáních, a přicházejí tedy do kontaktu s antigenem brzy po jeho průniku do organismu.

Pokud není v organismu přítomna infekce, nezralé dendritické buňky pohlcují průběžně odumřelé buňky zdravých tkání a molekuly rozpuštěné v mezibuněčné tekutině. Během své cesty mezi tkáněmi a lymfatickými uzlinami pak pohlcené molekuly zpracují a vystaví je na svém povrchu. Specifické T lymfocyty, které takový antigenní peptid rozpoznají, nejsou aktivovány. Jsou buď zcela utlumeny, nebo se z nich vytvoří regulační lymfocyty T (Treg), které imunitní reakci vůči danému antigenu naopak aktivně potlačí. Nezralé dendritické buňky se tak podílejí na zachování tolerance vůči vlastním tkáním (2).

Pokud nezralé dendritické buňky rozpoznají podnět, který představuje pro organismus nebezpečí (nejčastěji se jedná o patogenní mikroorganismy, eventuálně vlastní buňky, které zahynou nekrotizací), aktivují se a stávají se z nich zralé dendritické buňky. Nebezpečný podnět představují zejména molekulární struktury spojené s patogeny (PAMPs – pathogen associated molecular patterns), které jsou rozpoznávány především prostřednictvím receptorů ze skupiny TLR (obecně jsou tyto receptory nazývány PRR – pathogen recognition receptors) (3). Strategie DC spočívá tedy v detekci molekul, které jsou konstitutivně exprimovány na mikroorganizmech a jejich struktura je konzervativní mezi zástupci celé třídy. PAMPs mají společné vlastnosti, díky nimž jsou ideálními cíli nespecifické imunity. Za prvé jsou produkovány pouze mikroby a nevyskytují se na hostitelských buňkách. Jejich rozpoznání tedy umožní rozlišení mezi „vlastním“ a „cizím“. Za druhé je struktura PAMPs konzervativní mezi zástupci celé třídy mikroorganismů. Z toho vyplývá, že omezený počet PRRs může detekovat přítomnost obrovského množství mikrobiálních infekcí. Například detekce konzervované části lipidu A v lipopolysacharidu umožňuje detekci téměř jakékoli Gram-negativní bakterie pomocí jediného PRR. Konečně, PAMPs jsou struktury nezbytné pro přežití příslušného mikroorganismu. Jejich ztráta je pro mikroorganismus buď letální, nebo výrazně snižuje jeho patogenicitu. Nedochází tedy ke vzniku únikových mutací.

U savců se vyskytuje nejméně deset TLR a zdá se, že každý z nich má samostatnou funkci v rozpoznávání produktů mikrobiálního metabolismu. V posledních několika letech bylo popsáno mnoho ligandů a mnoho jich ještě bude. Již nyní se ovšem ukazuje, že hlavní funkcí TLR je detekce přítomnosti infekce, následná aktivace DC a koordinace adaptivní a nespecifické imunitní reakce. Navázání ligandu na TLR vede k aktivaci signalizačních kaskád a indukci genů, které mají roli v obraně hostitele. Aktivují se geny kódující prozánětlivé cytokiny, chemokiny, MHC a kostimulační molekuly a celá řada molekul majících přímý antimikrobiální efekt (např. induktibilní NO syntáza) (4).

Zralé DC dokážou jako jediné aktivovat naivní lymfocyty T, tj. takové, které se dosud nesetkaly s antigenem. Zralé DC se od nezralých liší expresí povrchových markerů i funkčními charakteristikami. Mezi funkční změny patří ztráta schopnosti fagocytovat, ale naopak se zvyšuje kapacita zpracování antigenů. Antigenní štěpy jsou pak vystaveny na povrchu spolu s molekulami MHC a předloženy lymfocytům T. Rozdíl ve složení povrchových molekul mezi nezralými a zralými DC spočívá zejména ve vyšší expresi molekul adhezivních (CD11c, ICAM, CD83) a kostimulačních (CD80, 86) na zralých DC, které zesilují signály zprostředkované dendritickou buňkou a zahajují aktivaci různých druhů T lymfocytů. Dochází také ke zvýšení exprese komplexů MHC molekul I. a II. třídy s antigeny. Během procesu zrání produkují DC řadu cytokinů, které modulují vznikající imunitní odpověď. Mezi nejdůležitější patří IL-1, IL-6, TNF, IL-12. V průběhu těchto změn se zralé DC přesouvají do lymfatických uzlin, kde se setkávají s lymfocyty specifickými pro vystavené antigeny. Putování DC do sekundárních lymfatických orgánů ovlivňují chemokiny CCL-19 a CCL-21, pro něž zralé DC exprimují receptor CCR7. DC dosáhne zralosti během cca 48 hod. a tento proces je již ireverzibilní (5).

V organismu je možno na základě morfologických, fenotypových i funkčních charakteristik rozlišit dva hlavní typy DC, označované jako myeloidní (mDC) a plazmacytoidní (pDC). Pro mDC jsou hlavními růstovými a diferenciacními faktory IL-4 a GM-CSF (6–8). Exprimují většinu TLR a po jejich aktivaci stimulují antigen specifické T lymfocyty (9–12). V závislosti na charakteru patogenu produkují cytokiny, které polarizují imunitní reakci tak, aby byla pokud možno „ušita na míru“ určitému mikroorganizmu. Růstovými faktory pro pDC jsou CD40L a IL-3. Expresí receptoru pro IL-3 (CD123) je také hlavním znakem, který dovoluje identifikaci pDC v krvi a tkáních. Plazmacytoidní DC exprimují TLR-7 a TLR-9, což vysvětluje dlouho známý fakt, že produkují velká množství interferonu α (IFN α) po setkání s virem (13). TLR-7 je totiž ligandem pro jednovláknovou kyselinu

ribonukleovou (RNA) a účastní se tedy v rozpoznání a aktivaci imunitní reakce proti RNA virům, například viru chřipky (14). TLR-9 rozpoznává specifické nízcí metylované CpG sekvence, které se vyskytují jak v bakteriální, tak ve virové DNA (15). Expresí TLR-9 tedy umožňuje pDC rozpoznat a reagovat na infekci DNA virem, například virem herpes simplex 1 a 2, cytomegalovirem nebo EBV. Analogicky jako u mDC dochází po aktivaci pDC ke zvýšení schopnosti prezentace antigenů a ke stimulaci antigen specifických T lymfocytů. Produkce IFN α mimo jiné zvyšuje cytotoxickou schopnost NK buněk a antivirovou rezistenci organismu.

Specializované a vzájemně se doplňující subpopulace DC jsou tedy klíčové pro několik imunitních mechanismů. Nezralé DC, které prezentují vlastní antigeny se účastní mechanismu periferní tolerance. Aktivace DC mikrobiálními produkty vede k přeměně těchto buněk na vysoce účinné APC schopné zahájit optimální typ imunitní reakce, která má vést k eliminaci patogenu bez poškození vlastních tkání.

Glukokortikoidy (GC) jsou běžně používány v léčbě autoimunitních a alergických onemocnění a v transplantologii k prevenci rejekcí. Zároveň jsou tyto hormony přirozeně uvolňovány v průběhu imunitní reakce. Produkce GC během imunitní reakce je považována za jeden z mechanismů, který brání nežádoucím účinkům přeměřené imunitní reakce. Mechanismů, kterými GC modulují imunitní reakce, bylo popsáno několik. Především snižují expresi cytokinových genů v monocytech a makrofázích. Jde o IL-1, IL-6, TNF, IL-10. Vliv GC na T lymfocyty se především projevuje sníženou produkcí cytokinů a sníženou proliferací. Na základě těchto pozorování byl imunosupresivní vliv GC připisován především jejich vlivu na monocyty a T lymfocyty (16, 17). Vzhledem ke klíčové roli dendritických buněk při zahájení imunitní reakce jsme se rozhodli studovat vliv GC na funkce těchto buněk. Zaměřili jsme se na ovlivnění jejich diferenciace z monocytů, schopnost fenotypové a funkční maturace a na změny jejich počtu v periferní krvi při léčbě vysokodávkovanými GC.

MATERIÁL A METODY

Média a buněčné kultury

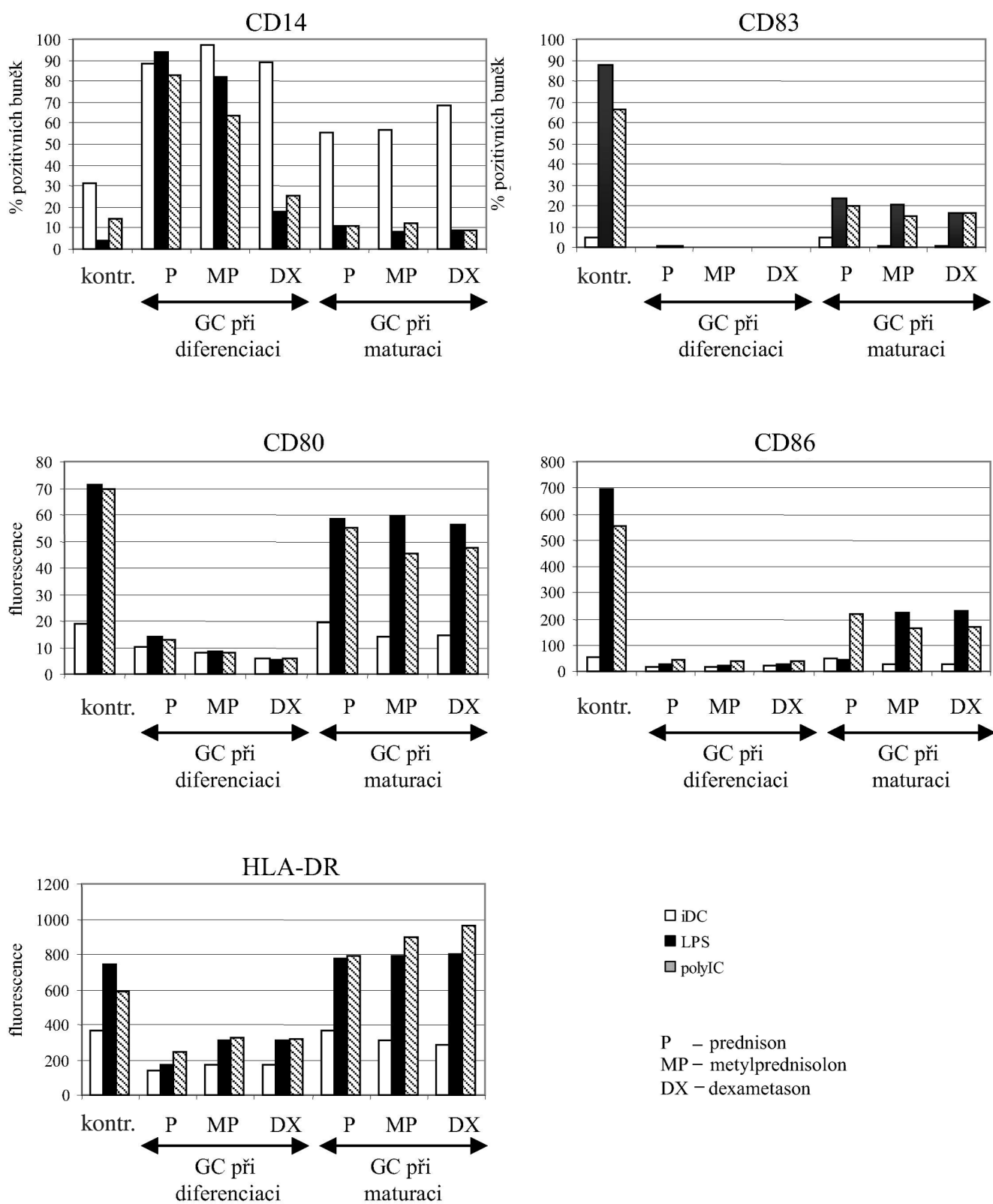
Pro kultivaci lymfocytů a dendritických buněk bylo použito kompletní kultivační médium (KM) RPMI (BioWhittaker, ČR) doplněné 10% tepelně inaktivovaným fetálním telecím sérem (FCS) (Diagenes, ČR), 2 mM L-Glutaminu a 1% roztokem penicilinu/streptomycinu. Buňky byly kultivovány v inkubátoru při 37 °C v prostředí 5% CO₂.

Příprava DC a jejich ovlivnění GC

Nezralé dendritické buňky byly připraveny stejně jako v našich předchozích studiích (18). Z „buffy coatů“ od zdravých dárců krve byly gradientovou izolací izolovány periferní mononukleární buňky (PBMC). Z PBMC se pomocí 2hodinové adheze na plastový povrch izolují monocyty. Po odmytí neadherovaných lymfocytů byly monocyty následně kultivovány po dobu 5 dnů v kompletním médiu v 75 cm² kultivačních lahvích v přítomnosti GM-CSF (500 IU/ml (Leukine®)) a 15 ng/ml IL-4 (PeproTech). Abychom otestovali vliv GC na diferenciaci nezralých DC, byly GC v různých koncentracích přidány do kultivačního média. Použili jsme dexametason, metylprednisolon (MP) a prednison (P) v koncentraci 10⁻⁶ M, kterou jsme určili na základě pilotních studií. Pátý den kultivace byly nezralé DC přeneseny na 24jamkovou kultivační destičku v koncentraci 5x10⁵ DC/ml a aktivovány pomocí standardních maturačních činidel Poly (I:C) (25 µg/ml) a LPS (1 µg/ml) (18). Pro ověření vlivu GC na proces maturace byly i během tohoto pokusu přidány v příslušných jamkách testované glukokortikoidy. Nezralé a zralé DC byly funkčně a fenotypově charakterizovány.

Analýza fenotypu na průtokovém cytometru

Pro analýzu fenotypu byly použity monoklonální protilátky konjugované s fluoresceinizothiocyanátem (FITC) nebo pykoerytrinem (PE) namířené proti následujícím molekulám: CD80, HLA-DR, CD14, CD83, CD86 (BD Pharmingen, Praha, ČR). Buňky byly inkubovány 30 minut při 4 °C a dvakrát promyty v PBS+0,1 % BSA. Obarvené DC byly analyzovány na průtokovém cytometru FACSCalibur softwarem Cell Quest Pro (Becton Dickinson). Mrtvé



Graf 1. Fenotyp DC, které byly ovlivněny GC během diferenciaci nebo maturaci.

Grafy ukazují počet pozitivních buněk nebo průměrnou fluorescenci buněk pro sledované markery. Sloupce odpovídají nestimulovaným DC, DC stimulovanými LPS a DC stimulovanými Poly (I:C).

buněk byly vyloučeny na základě barvení propidium jodidem (PI) (Sigma). V každém pokusu bylo analyzováno minimálně 5000 živých DC a byly zahrnuty odpovídající negativní kontroly.

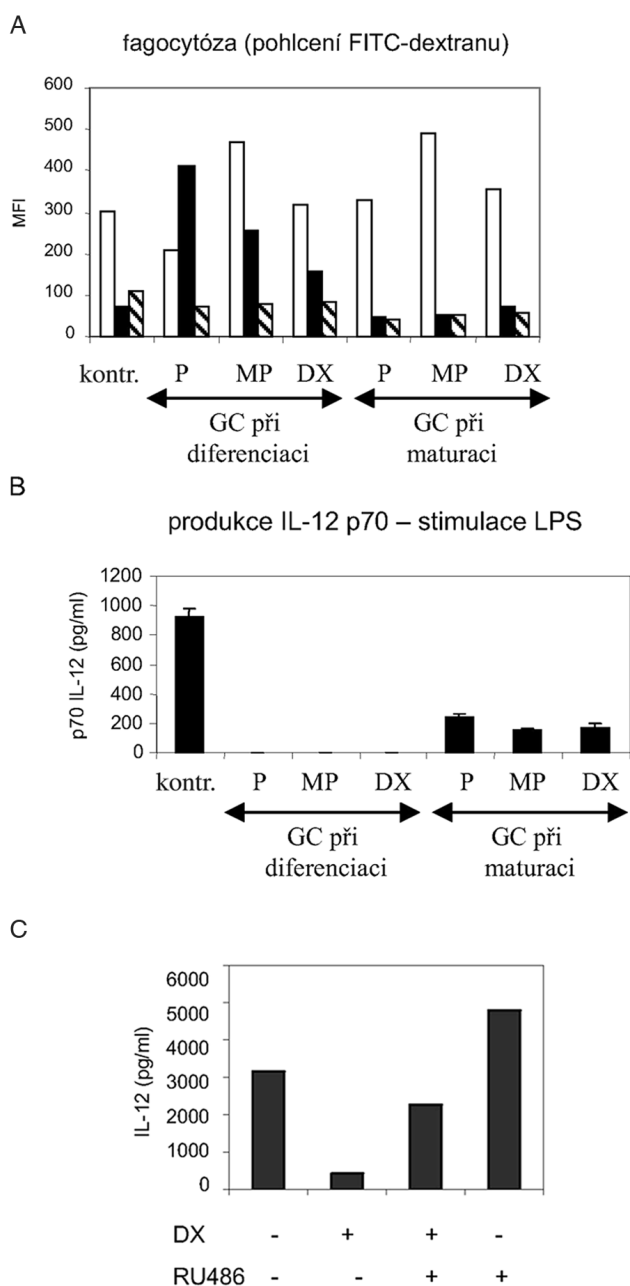
Detekce cytokinů

Po 24 hod. inkubaci se zkoumanými agens byly odebrány supernatanty, ve kterých byly následně stanovovány koncentrace p70 IL-12 a IL-10 pomocí

ELISA metody s použitím komerčně dostupných kitů (R & D Systems, Velká Británie).

Endocytóza FITC-dextranu

DC v koncentraci 2×10^5 byly inkubovány s dextranem značeným FITC (40 000 m.w., Sigma) o koncentraci 10 mg/ml. Po 1,5hodinové inkubaci při 37 °C nebo 0 °C byla reakce zastavena trojnásobným promytím v ledovém



Graf 2. Funkční charakteristiky DC ovlivněných GC *in vitro*
 A. Schopnost DC pohlcovat FITC-značený dextran. Fagocytární aktivita je vyjádřena jako průměrná fluorescence jednotlivých DC populací, které byly inkubovány s FITC-dextranem a analyzovány na průtokovém cytometru.
 B. Produkce bioaktivní formy IL-12 p70 jednotlivými populacemi DC ovlivněnými GC.
 C. Inhibice účinku GC na produkci bioaktivního IL-12 DC pomocí specifického inhibitoru RU486.

PBS a následně analyzovány pomocí FACSCalibur. Nespecifická vazba dextranu na DC zjištěná inkubací při 0 °C byla odečtena.

Stimulace CD4 T lymfocytů

Lymfocyty T exprimující molekulu CD4 byly selektovány pomocí selektivního kitu (Miltenyi Biotech, SRN) a označeny 1 μM fluorescenčního barviva CFSE (Molecular Probes) (3). Množství 1x10⁴ DC bylo následně použito pro stimulaci 1x10⁵ alogenních CD4 T lymfocytů označených CFSE na 96jamkových destičkách. Po 4 dnech byla vyhodnocena proliferace aktivovaných T lymfocytů pomocí detekce postupné ztráty fluorescence CFSE u proliferujících buněk na průtokovém cytometru.

Vliv vysokodávkované i.v. aplikované kortikoterapie na počty cirkulujících dendritických buněk v periferní krvi

Do studie bylo zařazeno 5 pacientů diagnostikovaných pro systémové autoimunitní onemocnění, kteří byli léčeni vysokodávkovými glukokortikoidy. Léčba spočívala v podávání velmi vysokých dávek metylprednisolonu (Solu-Medrol do celkové dávky 1000 mg/m²) v bolusech intravenózně. Pacientům byla den po aplikaci poslední dávky bolusu odebrána periferní krev a subpopulace DC analyzovány pomocí mnohobarevné průtokové cytometrie. 100 μl periferní krve bylo označeno směsí protilátek proti molekulám, které se nevyskytují na DC (tzv. lineage negativní – tj. CD3, CD19, CD14, CD16/CD56) a dále protilátkami proti molekulám CD11c, CD123 a HLA-DR (k rozlišení plazmacytoidních a myeloidních DC). Po inkubaci 30 minut při 4 °C byly lyzovány erythrocyty a buňky 2x promyty v PBS. Vzorky byly měřeny na přístroji FACSAria (Becton Dickinson, Praha, ČR) a následně analyzovány pomocí softwaru FlowJo.

Myeloidní DC byly charakterizovány jako lin.(-)/HLA-DR(+)/CD11c(+) a plazmacytoidní DC jako lin.(-)/HLA-DR(+)/CD123(+). Způsob identifikace jednotlivých subpopulací na průtokovém cytometru ukazuje obrázek 4A.

Absolutní počet obou buněčných populací byl spočten pomocí hodnot krevního obrazu, který byl vyšetřen současně z téhož vzorku krve.

VÝSLEDKY

Fenotypová analýza DC diferencovaných v přítomnosti GC

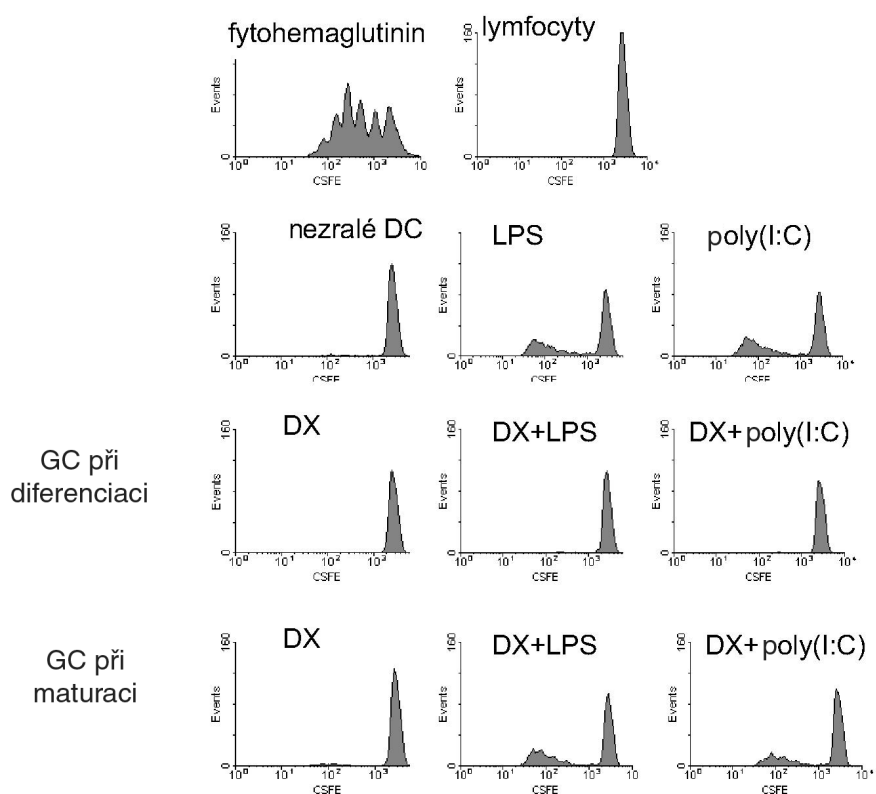
V pilotních studiích jsme nejprve určili vhodnou koncentraci GC. Koncentrace dexametasonu, metylprednisolonu i prednisolonu vyšší než 10⁻⁶ M snižovaly životnost prekurzorů DC indukci apoptózy. Čerstvě izolované monocyty se během 5 dnů kultivace s GM-CSF a IL-4 diferencují do neadherujících velkých buněk s dendrity. V přítomnosti GC nebyl vzhled těchto buněk nijak narušen. Fenotypová analýza však ukázala, že buňky diferencované v přítomnosti GC exprimují na rozdíl od DC velké množství molekuly CD14 (graf 1).

DC diferencované v přítomnosti GC při porovnání s DC exprimovaly také signifikantně nižší množství kostimulačních molekul CD80, CD86 a molekul spojených s prezentací antigen – HLA-DR (graf 1). V dalším kroku byly DC nebo buňky diferencované v přítomnosti GC aktivovány pomocí LPS nebo Poly (I:C), tedy látkami, které jsou rozpoznávány pomocí TLR a jsou velmi silnými aktivátory DC. Jak ukazuje obrázek 1, přítomnost GC během diferenciaci DC zcela potlačuje jejich schopnost maturovat po stimulaci adekvátním signálem. Na rozdíl od kontrolních DC nedošlo k žádnému zvýšení exprese CD80, CD86, HLA molekul ani k objevení se molekuly CD83, která je typická pro zralé DC. Přítomnost GC pouze během procesu maturace schopnost maturace snižuje, ale nebrání jí zcela.

Vzhledem k tomu, že fenotypové změny spojené s procesem maturace hrají zásadní roli v aktivaci T buněk, chtěli jsme v následujících pokusech ověřit, zda DC diferencované v přítomnosti GC mají i funkční defekty.

Funkce DC ovlivněných GC

Funkci DC ovlivněných GC jsme vyšetřovali pomocí jejich schopnosti pohlcovat dextran značený FITC, schopnosti produkovat cytokiny a schopnosti stimulovat T lymfocyty. DC, které byly vystaveny GC během diferenciaci z monocytů, měly vysokou schopnost endocytózy, srovnatelnou nebo větší než nezralé DC. Po stimulaci Poly (I:C) nebo LPS došlo k poklesu schopnosti pohlcovat FITC-dextran, ne ovšem na úroveň kontrolních zralých DC. Přítomnost GC pouze po dobu maturace nevedla k výrazným změnám ve schopnosti fagocytovat FITC dextran; v tomto případě došlo během maturace k výraznému poklesu, který byl srovnatelný s kontrolními DC (graf 2A). Naproti tomu produkce biologicky aktivní formy IL-12 p70 byla výrazně snížena v obou případech. Přítomnost GC během diferenciaci DC zcela zablokovala jejich schopnost produkovat tento cytokin, zatímco přítomnost GC během maturace vedla k čtyř- až pětinasobnému snížení množství produkovaného IL-12 p70 (graf. 2B). Pozorovaný efekt byl vyvolán GC, protože byl blokován specifickým inhibitorem RU 486 (graf 2C).



Obr. 1. Stimulační aktivita jednotlivých DC populací

DC byly použity pro stimulaci CFSE-značených alogenních CD4 T lymfocytů. Po 4 dnech byla vyhodnocena proliferační aktivita T lymfocytů pomocí průtokové cytometrie.

Pokud jde o proliferační test, DC diferencované v přítomnosti GC nebyly schopny indukovat proliferaci CD4 T lymfocytů ani po aktivaci adekvátními mikrobiálními stimuly. Pokud byly GC přítomny během maturace, byla proliferace T lymfocytů snížena pouze okrajově (obr. 1).

Vliv terapie GC na množství DC v periferní krvi

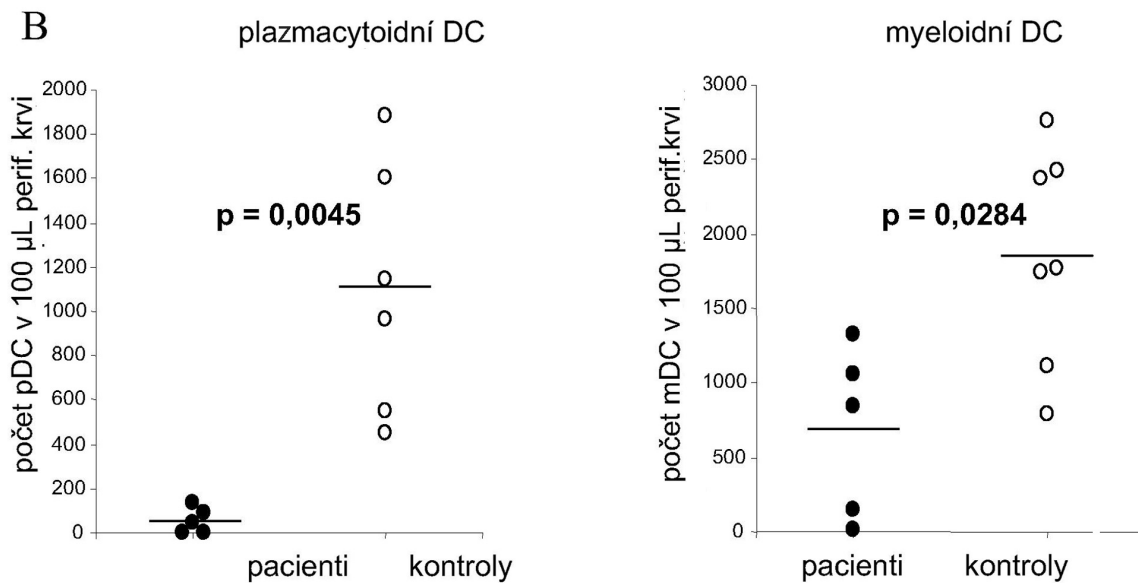
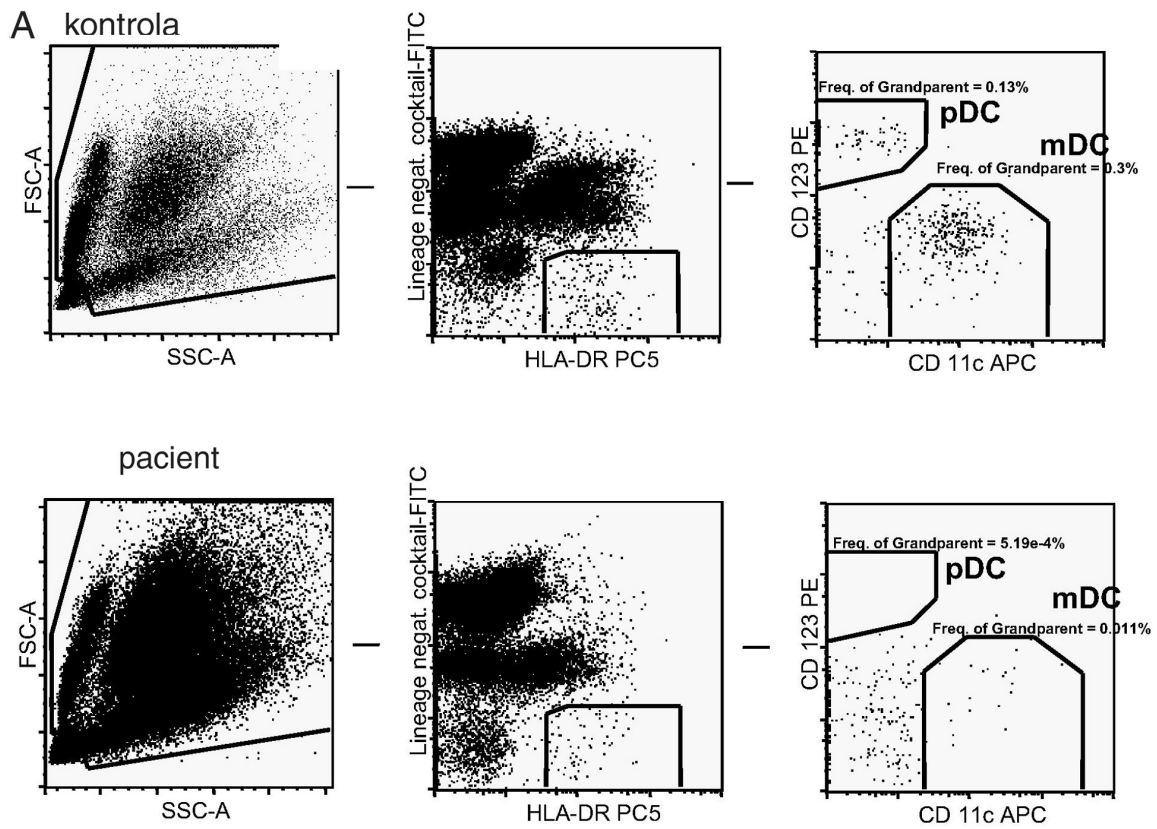
Vzhledem k významnému ovlivnění diferenciace DC v přítomnosti GC *in vitro* jsme se rozhodli v další části studie kvantifikovat počet jednotlivých subpopulací DC v krvi zdravých dobrovolníků a pacientů léčených GC, abychom zjistili, zda kortikoterapie ovlivňuje počet cirkulujících DC. U pacientů léčených bolusy glukokortikoidů došlo během jednoho dne po aplikaci léků k velmi výraznému a statisticky významnému snížení myeloidních DC a k téměř úplnému vymizení plazmacytoidních buněk v periferní krvi (graf. 2 A a B).

DISKUZE

Glukokortikoidy jsou známy jako látky inhibující zánětlivé reakce a pro tyto účinky jsou široce používány jako imunosupresivní a protizánětlivá léčiva. Tato práce ukazuje, že jedním z mechanismů, kterými glukokortikoidy mohou inhibovat imunitní reakce, je přímý vliv na diferenciaci, maturaci a stimulační schopnosti DC. Protože DC jsou jako jediné buňky prezentující antigen schopny zahájit primární imunitní reakci, potlačení jejich funkce je velmi efektivním nástrojem kontroly imunitních dějů. Výsledky naší studie ukazují, že glukokortikoidy zcela zásadním způsobem ovlivňují diferenciaci myeloidních DC z monocytů. Jedním z hlavních rozdílů oproti nezralým DC bylo, že buňky diferencované v přítomnosti glukokortikoidů exprimovaly velké množství molekuly CD14, která je typická pro monocyty a především pro makrofágy. Expresí CD14 při diferenciaci monocytů v dendritické buňky za běžných okolností postupně mizí. Buňky diferencované v přítomnosti glukokortikoidů mají velmi nízkou expresi

molekul spojených s prezentací antigenů, tj. kostimulačních molekul a MHC molekul I. a II. třídy. Nelze je maturovat pomocí standardních maturačních činidel, čemuž odpovídá jejich neschopnost aktivovat T lymfocyty. Po stimulaci LPS a Poly (I:C) neprodukují téměř žádné prozánětlivé cytokiny. Všechna tato data naznačují, že buňky diferencované v přítomnosti glukokortikoidů nejsou schopny účinně aktivovat antigenně specifickou imunitní reakci. Některými svými vlastnostmi, například vysokou expresí CD14 a vysokou schopností fagocytózy, připomínají makrofágy. Jsou-li glukokortikoidy přítomny až během procesu přeměny nezralé DC ve zralou, jsou všechny výše zmíněné změny patrné, ale méně vyjádřeny. DC maturované v přítomnosti glukokortikoidů indukují proliferaci T lymfocytů. V dalších studiích je nutno ověřit, zda je jimi indukovaná imunitní reakce ovlivněna v jiných aspektech než v pouhé proliferaci. Protože tyto DC produkují výrazně nižší množství prozánětlivých cytokinů včetně IL-12, který je klíčový pro indukcí Th1 typu imunitní odpovědi, je pravděpodobné, že v této oblasti budou odchylky.

Znalosti o biologii a významu DC se prudce rozšiřují od popsání protokolů, které dovolují jejich přípravu z monocytů ve velkém množství *in vitro*. Tyto protokoly byly popsány v polovině 90. let minulého století (19). Současné technologie již umožňují, i když v omezené míře, studium DC, které jsou přítomny *in vivo*. Pomocí imunomagnetických technik se dají myeloidní i plazmacytoidní DC selektovat z biologických vzorků. Další možností je identifikace jednotlivých podtypů DC pomocí exprese povrchových molekul s následnou kvantifikací (20). V této práci ukazujeme, že terapie vysokodávkovanými glukokortikoidy vede k významnému snížení obou subpopulací DC v periferní krvi. Plazmacytoidní DC po aplikaci bolusu z periferní krve téměř vymizí. Jak již bylo zmíněno, jde o buňky, které jsou klíčové pro rozpoznání virů (pomocí aktivace přes TLR-7 a 9) a pro zahájení specifické imunitní odpovědi proti nim. Myeloidní DC exprimují ostatní TLR a indukují a polarizují imunitní odpověď v reakci na rozpoznání odpovídajících patogenních struktur. Výrazné snížení



Obr. 2A. Identifikace myeloidních a plazmacytoidních DC v periferní krvi pomocí průtokové cytometrie
 V regionu, který obsahuje všechny buněčné elementy v periferní krvi, jsou myeloidní DC (mDC) identifikované jako populace lineage negativní /HLA-DR pozitivní /CD11c pozitivní. Plasmacytoidní DC (pDC) jsou charakterizovány jako buňky lineage negativní/HLA-DR pozitivní/CD123 pozitivní. Horní řádek ukazuje identifikaci DC v krvi zdravého dárce, spodní panel analýzu subpopulací DC u pacienta 24 hodin po aplikaci bolusu kortikoidů.
2B. Množství cirkulujících DC ve 100_μL periferní krve
 Grafy znázorňují množství cirkulujících mDC a pDC u skupiny pacientů léčených vysokodávkovanou glukokortikoterapií a u zdravých kontrol. Body odpovídají jednotlivým pacientům. Horizontální čára znázorňuje aritmetický průměr.

obou těchto populací v krvi tedy představuje zásadní zásah do funkce imunitního systému.

Mechanismus, který vede ke snížení DC subpopulací po léčbě glukokortikoidy, není v současné době znám. Je možno si představit několik možností. První z nich je redistribuce cirkulujících DC do jiných tkání, například lymfatických uzlin. Proti této variantě svědčí studie,

kteřá na myším modelu ukázala snížení DC v tkáních (ve slezině, plících a lymfatických uzlinách) po aplikaci glukokortikoidů (21). Druhou možností je snížená produkce a diferenciace DC z jejich prekurzorů. Jak ukazují *in vitro* pokusy, které prezentujeme v první části výsledků, tato varianta by mohla platit pro myeloidní DC, které se v přítomnosti glukokortikoidů nevyvíjejí do klasických nezralých DC

(22). Protože neexistují protokoly pro přípravu plazmacytoidních DC *in vitro*, nemůžeme se vyjádřit ke změnám v jejich produkci v přítomnosti glukokortikoidů. Třetí možností je, že snížený počet DC v krvi je způsoben indukci apoptózy, a to jak jejich progenitorů, tak samotných DC. Tato varianta připadá v úvahu při koncentraci glukokortikoidů vyšší než 10^{-6} M (23). Tato koncentrace není zřejmě ani při bolusovém podání překročena, ale toto je nutno ověřit v dalších studiích. V tomto článku popisujeme důsledky vlivu glukokortikoidů na DC jak v *in vitro*, tak v *in vivo* modelu. Snížená diferenciací DC, inhibice jejich maturation a schopnost stimulovat T lymfocyty vysvětlují patogenetický podklad protizánětlivého a imunosupresivního účinku těchto léků. Snížená funkce DC je také důvodem vyšší frekvence mikrobiálních infekcí, zejména virových, u pacientů léčených glukokortikoidy.

Zkratky

APC	– buňky předkládající antigen
BSA	– hovězí sérový albumin
CFSE	– 5-karboxyfluorescein sukcinimidyl ester
DC	– dendritická buňka
CpG	– cytosin-guanin dinukleotid
EBV	– Epstein-Barr virus
FCS	– fetálním telecí sérum
FITC	– fluorescein izothiocyánát
GC	– glukokortikoidy
GM-CSF	– granulocyte macrophage colony stimulating factor
IFN	– interferon
IL	– interleukin
KM	– kultivační médium
LPS	– lipopolysacharid
mDC	– myeloidní dendritické buňky
MHC	– hlavní histokompatibilní komplex
MP	– metylprednison
NK	– přirození zabijáči (natural killer cells)
P	– prednison
PAMPs	– molekulární struktury spojené s patogeny (pathogen associated molecular patterns)
PBMC	– periferní mononukleární buňky
PBS	– phosphate buffered saline
pDC	– plasmacytoidní dendritické buňky
PE	– fykoerytrin
PRR	– receptory asociované s patogeny
Poly (I:C)	– polyinosinic-polycytidylic acid
PI	– propidium jodid
RNA	– kyselina ribonukleová
Th1	– T-helper 1
TLR	– Toll-like receptor
TNF	– tumor nekrotizující faktor (tumor necrosis factor)
Treg	– T regulační lymfocyty

LITERATURA

1. **Banchereau, J., Briere, F., Caux, C. et al.:** Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2000, 18, s. 767-811.
2. **Dhodapkar, M. V., Steinman, R. M., Krasovsky, J. et al.:** Antigen-specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells. *J. Exp. Med.*, 2001, 193, s. 233-238.
3. **Špísek, R., Brazová, J., Rožková, D. et al.:** Maturation of dendritic cells by bacterial immunomodulators. *Vaccine*, 2004, 22, s. 2761-2768.
4. **Medzhitov, R.:** Toll-like receptors and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2001, 1, s. 135-145.
5. **Špísek, R., Bougras, G., Ebstein, F. et al.:** Transient exposure of dendritic cells to maturation stimuli is sufficient to induce complete phenotypic maturation while preserving their capacity to respond to subsequent restimulation. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2003, 52, s. 445-454.
6. **Banchereau, J., Steinman, R. M.:** Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 1998, 392, s. 245-252.
7. **Špísek, R., Bartůňková, J.:** Dendritická buňka v imunitě. *Vesmír*. 2003, 82(4), s. 212-214.
8. **Špísek, R., Bartůňková, J.:** Dendritická buňka v protinádorové imunitě. *Vesmír*, 2003, 82, s. 254-256.
9. **Hayashi, F., Smith, K. D., Ozinsky, A. et al.:** The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature*, 2001, 410, s. 1099-1103.
10. **Alexopoulou, L., Holt, A. C., Medzhitov, R., Flavell, R. A.:** Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature*, 2001, 413, s. 732-738.
11. **Aliprantis, A. O., Weiss, D. S., Radolf, J. D., Zychlinsky, A.:** Release of Toll-like receptor-2-activating bacterial lipoproteins in *Shigella flexneri* culture supernatants. *Infect Immun.* 2001, 69, s. 6248-6255.
12. **Pulendran, B., Kumar, P., Cutler, C. W. et al.:** Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses *in vivo*. *J. Immunol.*, 2001, 167, s. 5067-5076.
13. **Rissoan, M. C., Soumelis, V., Kadowaki, N. et al.:** Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science*, 1999, 283, s. 1183-1186.
14. **Heil, F., Hemmi, H., Hochrein, H. et al.:** Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*, 2004, 303, s. 1526-1529.
15. **Hemmi, H., Takeuchi, O., Kawai, T. et al.:** A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, 2000, 408, s. 740-745.
16. **Piemonti, L., Monti, P., Allavena, P. et al.:** Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation. *J. Immunol.*, 1999, 162, s. 6473-6481.
17. **Marx, J.:** How the glucocorticoids suppress immunity. *Science*, 1995, 270, s. 232-233.
18. **Špísek, R., Bretaudeau, L., Barbieux, I. et al.:** Standardized generation of fully mature p70 IL-12 secreting monocyte-derived dendritic cells for clinical use. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2001, 50, s. 417-427.
19. **Romani, N., Reider, D., Heuer, M. et al.:** Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability. *J. Immunol. Methods.*, 1996, 196, s. 137-151.
20. **Banchereau, J., Pulendran, B., Steinman, R., Palucka, K.:** Will the making of plasmacytoid dendritic cells *In vitro* help unravel their mysteries? [In Process Citation]. *J. Exp. Med.*, 2000, 192, s. F39-F44.
21. **Suda, T., Callahan, R. J., Wilkenson, R. A. et al.:** Interferon-gamma reduces Ia+ dendritic cell traffic to the lung. *J. Leukoc. Biol.*, 1996, 60, s. 519-527.
22. **Canning, M. O., Grotenhuis, K., de Wit, H. J., Drexhage, H. A.:** Opposing effects of dehydroepiandrosterone and dexamethasone on the generation of monocyte-derived dendritic cells. *Eur. J. Endocrinol.*, 2000, 143, s. 687-695.
23. **Woltman, A. M., Massacrier, C., de Fijter, J. W. et al.:** Corticosteroids prevent generation of CD34+ derived dermal dendritic cells but do not inhibit Langerhans cell development. *J. Immunol.*, 2002, 168, s. 6181-6188.

Práce byla podpořena Výzkumným záměrem MŠ MSM 0021620812 a granty GA UK č. 52/2005/C2. LF, GA UK č. 73/2004 a IGA MZ NI/7537-3.

KOMENTÁŘ

K článku autorů Rošková D., Horváth R., Bartůňková J. a Špíšek R. „Glukokortikoidy a jejich vliv na funkci dendritických buněk“

Bylo by nošením sov do Athén mluvit o důležitosti imunologie. Spolu s neurovědami představují nejvíce dynamicky se rozvíjející oblasti lékařských věd ... Jen za první pololetí počet prací pod názvem „dendritické buňky“ PubMed uvádí přes 1100 prací! Budu se snažit postihnout jen některé z nich, mající souvislost s nervovou soustavou.

V textu je velmi srozumitelně vysvětlen rozdíl mezi fagocytózou vybavenými nezralými dendritickými zralými DB, které na povrchu obsahují molekuly antigenních štěpů stimulujících tak tvorbu různých druhů T lymfocytů. Je popsán jejich vztah k imunotoleranci a k tvorbě protilátek. Nemohu nezpomenout přednášek prof. Václava Jedličky a jeho názorů na tvorbu nádorových metastáz. Iniciální zduření regionálních uzlin považoval za „obrannou reakci“ a objevení se neoplastických buněk v nich za projev jejich „tolerance“.

Dělení dendritických buněk na zralé a nezralé nebylo tehdy známo. Možná, že by stálo za to se nad jeho, přes polovinu století starým názorem zamyslet a podívat se, zda při metastazování maligních nádorů u postižených v populaci dendritických buněk nepřevažují právě nezralé DB. Soudobý názor na imunologii, zrání DB, kvantitu protilátek a vakcinaci v onkologii lze nalézt v souborném referátu Ochsenbeina (1).

Problémem tolerance a imunity a různým stupněm maturace ve slezině zrajících DB se zabývali Tan a O'Neil (2), Fergusson et al. (3) zdůrazňují svrchovaný význam DB, tvořících jen velmi malou část bílých krvinek, v procesu imunitní odpovědi – zda dojde k tvorbě protilátek, či zda díky asociaci s apoptotickými buňkami vznikne díky produkci specifických interleukinů imunotolerance. Wu et al. (4) upozorňují na důležitost thymu, který obsahuje DB z menší části extratymového původu, převážně však je místem zrodu konvenčních DB. Tymus se zúčastňuje na negativní selekci tymocytů a zavedení „centrální“ tolerance.

V neuroonkologii Yamanaka et al. (5) sledovali 24 pacientů s recidivujícími gliómy se stupněm malignity 3 a 4 po terapii dendritickými bb. Ty byly aplikovány buď intradermálně, či paralelně intratumorálně a intradermálně. Nalezli signifikantně delší dobu přežívání nemocných. Pellegatta et al. (6) v experimentální studii na myších s glioblastomy upozornili, že teprve užití dendritických bb v neuroonkologii dává šanci delšího přežití u terapeuticky rezistentních pacientů s glioblastomy. Podobně Walker et al. (7) zjistili u myší s neuroblastomem statisticky významné změny v útlumu nádorových markerů za terapie DB.

Glukokortikoidy a jejich terapeutické využití bylo mnohokrát diskutováno zejména pro jejich použití u neuroinfekcí – zejména virových – s rozdílnými názory. Právě ale u virových infekcí DB prezentující antigeny mohou ovlivňovat jejich průběh (8).

U zdravých dospělých osob počet DB představuje jen 0,16–0,68 % bílých elementů periferní krve (9).

Překvapivě malá pozornost je věnována dendritickým buňkám u demyelinizací a u myasthenia gravis.

Nesmírně zajímavá jsou sdělení týkající se funkce dendritických bb jako vstupní brány prionů cestou Payerských plak a dále pak nervovými vlákny do CNS – Defaveux et al. (10), Rosicaretti et al. (11).

Co říci na závěr – vynikají práce v oboru, ve kterém neimunolog tápá a musí hledat poučení. Nepochybně po ukončení grantů, o které se výzkum dendritických buněk opírá, by bylo na místě monografické zpracování tématu.

LITERATURA

- Ochsenbein, A. F.: Immunological ignorance of solid tumors. Springer Semin Immunopathol., 2005, 27, s. 19-35.
- Tan, J. K., O'Neill, H. C.: Maturation requirements for dendritic cells in T cell stimulation leading to tolerance versus immunity. J. Leukoc. Biol., 2005, 78, s. 319-324.
- Ferguson, T. A., Kazama, H.: Signals from dying cells: tolerance induction by the dendritic cell. Immunol. Res., 2005, 32, s. 99-108.
- Wu, L., Shortman, K.: Heterogeneity of thymic dendritic cells. Semin Immunol., 2005, 17, s. 304-312.
- Yamanaka, R., Hojna, J., Tajima, N. et al.: Clinical evaluation of dendritic cell vaccination for patients with recurrent glioma: results of a clinical phase I/II trial. Clin. Cancer Res., 2005, 11, s. 4160-4167.
- Pellegatta, S., Finnochiario, G.: Cell therapies in neuro-oncology. Neurol. Sci., 2005, 26 (Suppl. 1), s. S43-S45.
- Walker, S. R., Redlinger, R. E., Barksdale, E. M. Jr.: Neuroblastoma-induced inhibition of dendritic cell IL-12 production via abrogation of CD40 expression. J. Pediatr. Surg., 2005, 40, s. 244-249.
- Pollara, G., Kwan, A., Newton, P. J. et al.: Dendritic cells in viral pathogenesis: protective or defective? Int. J. Exp. Pathol., 2005, 86, s. 187-204.
- Haller Hasskamp, J., Zapas, J. L., Elias, E. G.: Dendritic cell counts in the peripheral blood of healthy adults. Am. J. Hematom., 2005, 78, s. 314-315.
- Defaveux, V., Dorván, G., Demonceau, C. et al.: Interfaces between dendritic cells, other immune cells, and nerve fibers in mouse Peyer's patches: Potential site for neuroinvasion in prion diseases. Microsc. Res. Tech., 2005, 66, s. 1-9.
- Rosicarelli, B., Serafini, B., Sbriccoli, M. et al.: Migration of dendritic cells into brain in a mouse model of prion disease. J. Neuroimmunol., 2005, 65, s. 114-120.

KAZUISTIKA

Kombinovaná imunosupresivní terapie u pacienta s pemfigus vulgaris a vedlejší účinky léčby

Vojáčková N., Hejzmanová I., Schmiedbergerová R., Hercogová J.
Dermatovenerologická klinika 2. LF UK a FN Na Bulovce, Praha

SOUHRN

Pemfigus vulgaris je autoimunitní puchýřnaté onemocnění kůže a sliznic, neléčené s vysokou mortalitou, při terapii kortikosteroidy a imunosupresivy se závažnými vedlejšími účinky. Kazuistika popisuje případ pacienta s histologicky verifikovanou diagnózou pemfigus vulgaris, u něhož se stabilizace onemocnění dosáhlo obtížně a již záhy se rozvinuly vedlejší účinky kombinované imunosupresivní terapie.

Klíčová slova: pemfigus vulgaris, imunosupresivní terapie, nežádoucí účinky léčby.

SUMMARY

Vojáčková N., Hejzmanová I., Schmiedbergerová R., Hercogová J.: Combined Immunosuppressive Therapy in Patients with Pemphigus Vulgaris and Its Side Effects

Pemphigus vulgaris is an autoimmune bullous disease of the integument. When not treated, it has a high mortality, the treatment with corticosteroids and immunosuppressives has serious side effects. Our casuistry gives a case of patients with histologically verified diagnosis of pemphigus vulgaris. In this case the stabilization of the disease was difficult and side effects of the combined immunosuppressive therapy developed very early.

Key words: pemphigus vulgaris, immunosuppressive therapy, undesired side effects.

Po.

Čas. Lék čes., 2005, 144, pp. 833–835.

Pemfigus vulgaris je chronické autoimunitní onemocnění postihující kůži a sliznice s vysokou mortalitou, pokud není léčeno (1). Primární příčina onemocnění zůstává stále neznámá. Choroba může vypuknout spontánně nebo v souvislosti s expozicí ultrafialovým světlem nebo rentgenovým zářením nebo po popálení. Vzácná je kombinace pemfigus vulgaris a jiných autoimunitních chorob (myasthenia gravis, thymom, perniciozní anémie) (2). Ve většině případů zevní etiologické faktory nebývají identifikovány, u malé skupiny pacientů je vznik choroby dáván do souvislosti s užíváním některých léků (D penicilamin, kaptopril, pyritinol, tuberkulostatika, propranolol, fenylbutazon, ibuprofen a indometacin) (3). Autoprotilátky jsou namířeny proti komponentě intercelulární substance-desmogleinu 3, který patří do skupiny kadherinů. Tyto transmembránové adhezni molekuly vážící kalcium se vyskytují v rámci dezmozómů a na povrchu keratinocytů. Fixace pemfigových protilátek v séru na extracelulární adhezni doménu dezmozogleinu 3 vyvolává poruchu vzniku kontaktu mezi sousedními buňkami epidermis a tvorbu akantolytických štěrbin (4).

POPIS PŘÍPADU

Pacient, 56letý muž, byl poprvé vyšetřen na ambulanci Dermatovenerologické kliniky 2. LF UK a FN Na Bulovce v březnu 2000 pro 2 měsíce trvající exantém na těle, enantém v dutině ústní a eroze na rtech. Pacient byl v předchorobí v kontaktu s planými neštovicemi, proto se domníval, že se jedná o tuto infekci, a lékaře

nenavštívil. Přišel až v době, kdy projevy v dutině ústní činily obtíže s příjmem potravy.

Z anamnézy

Rodinná anamnéza byla bezvýznamná, alergií udává na penicilinová antibiotika. Je ženatý, pracuje jako opravář zdravotnických přístrojů. Osobní anamnéza bez pozoruhodností, operován nebyl, léky trvale neužívá.

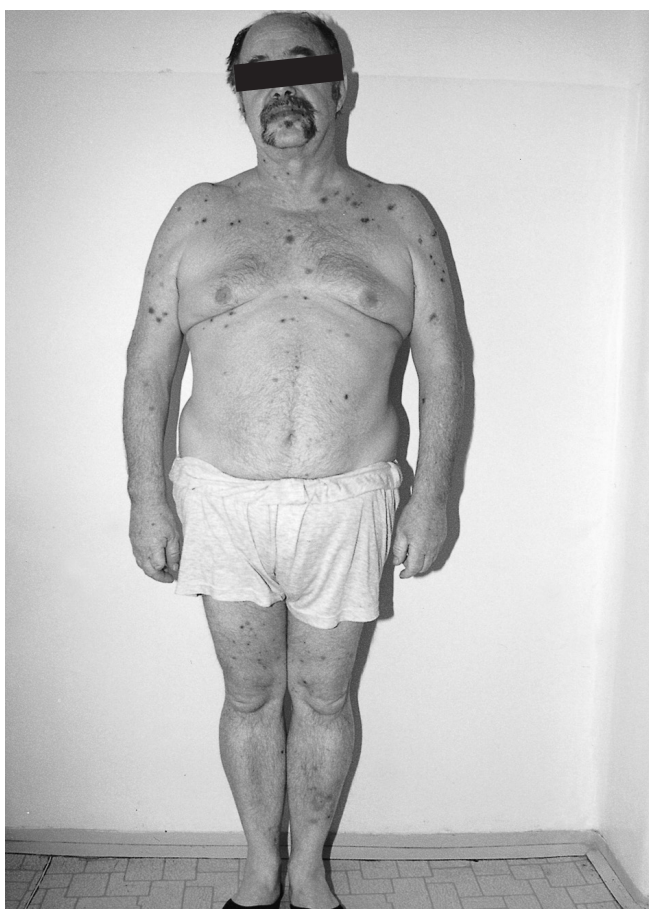
První známky kožního onemocnění se objevovaly od roku 1995 jako ojedinělé diskrétní puchýřky na trupu, pacient jim však nevěnoval pozornost. Větší výsev pozoroval poslední 2 měsíce před vyšetřením na naší ambulanci. Exacerbaci onemocnění předcházely bolesti v krku a zvětšené lymfatické uzliny, pro které byl léčen celkově antibiotiky. Eflorescence na těle a v dutině ústní postupně přibývaly.

Objektivní nález při prvním vyšetření

Na trupu a končetinách se vyskytovaly mnohočetné puchýře s tenkou kryptou a čirým obsahem, eroze kryté krustami s erytémem v okolí. V dutině ústní a na rtech mnohočetné splývající eroze, hnědavě povleklé s krvavou sekrecí (obr. 1, 2, 3). Pacient byl s podezřením na onemocnění skupiny pemfigu přijat k vyšetření a terapii za hospitalizace.

Vyšetření

Při příjmu byla pouze zvýšená FW 50/70, krevní obraz a biochemické vyšetření v normě, pozitivita intraepidermálních protilátek stanovená metodou nepřímé imunofluorescence v titru na počátku



Obr. 1. Pemphigus vulgaris: mnohočetné puchýře na erytémové spodině a eroze



Obr. 3. Pemphigus vulgaris: detail eroze na rtech a jazyku



Obr. 2. Pemphigus vulgaris: detail záda, jizvy po probatorní excizi a PIF

onemocnění 1:2000. *RTG srdce, plíce:* bez infiltrativních a ložiskových změn. *Ultrasonografie břicha:* difúzní jaterní léze bez ložiskových změn.

Byla provedena probatorní excize s histopatologickým nálezem

poměrně rozsáhlých bul se suprabazální akantolýzou, řídkými infiltráty lymfocytů a eozinofilů v bule, v horním korigu perivaskulárně s hustšími infiltráty podobného složení. *Závěr:* Obraz odpovídá diagnóze pemphigus vulgaris.

Nález v přímé imunofluorescenci: IgG-sítovitá pozitivita v dolních třech čtvrtinách stratum Malpighii, C3-silná intercelulární síťovitá pozitivita v dolní polovině stratum Malpighii, IgA-negativní. *Závěr:* pemphigus vulgaris.

Terapie

Byla zahájena prednisonem v útočné dávce 120 mg/den, při které se přestaly tvořit nové puchýře, staré zasychaly a eroze epithelizovaly. Zároveň byla podávána antibiotika a antimykotika, preventivně také ranitidin. Když byla dávka prednisonu postupně snížena na 50 mg/den, nastal relaps onemocnění s výsevem nových puchýřů na kůži a eroze na sliznici dutiny ústní, které byly pro pacienta nejvíce obtěžující. Prednison byl zaměněn za metylprednisolon (40 mg/den) v kombinaci s azathioprinem (50 mg/den), přesto i při vyšších dávkách metylprednisolonu (32 mg/den) docházelo k novým výsevům.

Bylo rozhodnuto vrátit se k původní útočné dávce prednisonu (120 mg) současně s podáváním cyklofosfamidu v dávce 2x50 mg/den. Při této kombinované imunosupresivní terapii bylo dosaženo remise. Lokálně byl pacient léčen kortikosteroidními externy, epithelizačními krémy a emolienčními. V terapeutické rozvaze byla zvažována plazmaferéza, která však nebyla hematologem doporučena vzhledem k nejistému efektu. Při konzultačním vyšetření v ÚHKT byla navrhována imunoabsorbce, která by byla pro našeho pacienta vhodnější, přístroj však není v České republice dosud k dispozici.

Po tříměsíční hospitalizaci byl pacient převeden do ambulantní péče. Dávka prednisonu a cyklofosfamidu byla postupně pomalu snižována, při výraznějším snížení však vždy došlo k relapsu a výsevu nových puchýřů především v dutině ústní, ale i na kůži.

Již krátce po nasazení imunosupresivní terapie se u pacienta objevily vedlejší účinky léčby: obezita, Cushingův syndrom, steroidní diabetes a depresivní stavy. Mezi komplikace lze zařadit i časté infekty, kariézní chrup a postupné zhoršování vidění, jehož první známky pacient zaznamenal od podzimu 2003, poté byl na oční klinice operován pro kataraktu. Hodnoty glykémie se relativně stabilizovaly při terapii perorálními antidiabetiky. Vyšetření v metabolické poradně ukázalo poruchu metabolismu tuků, denzitometrie neprokázala známky osteoporózy.

Jedná se o terapeuticky obtížně zvládnutelný případ pemphigus vulgaris s pozitivitou intraepidermálních protilátek. Relapsy onemocnění nastávají při každém pokusu o snížení dávky imunosupresivní terapie. Pacient je tedy již 5 let na trvalé imunosupresi provádě-

zené mnohočetnými komplikacemi, které se objevily již po prvním měsíci léčby.

DISKUZE

Incidence pemfigus vulgaris je udávána 0,5–3,2/100 000 obyvatel, častěji je diagnostikován u žen, věk v době diagnózy bývá nejčastěji mezi 50–60 lety (1). Pemfigus vulgaris se nepovažuje za dědičné onemocnění, rodinná anamnéza bývá negativní. Prvními příznaky jsou často bolestivé eroze sliznice dutiny ústní, které bývají chybně diagnostikovány jako aftózní stomatitida, gingivostomatitida, erythema multiforme, erozivní lichen planus či orální kandidóza. Slizniční léze mohou i několik let předcházet typickým kožním projevům. Pro diagnózu jsou kromě klinického obrazu charakteristické histopatologický nález suprabazálního akantolytického puchýře, přímá a nepřímá imunofluorescence s průkazem autoprotilátek. Puchýře mohou vznikat na libovolném místě kůže, jsou čiré se serózním obsahem, praskají a vznikají eroze. Postiženy mohou být i intertriginózní oblasti. Přímá imunofluorescence prokazuje v puchýři a na jeho okraji síťovitá depozita imunoglobulinů (IgG, IgA) a štěpné produkty komplementu (C1q, C4, C3) mezi buňkami epidermis, které nezávisle od roviny štěpitelnosti postihují všechny vrstvy epidermis. Metodou nepřímé imunofluorescence se stanovují autoprotilátky v séru, jejich titer často koreluje s tíží onemocnění (2).

Mortalita neléčeného onemocnění je vysoká – až 90 %, průměrně 75 % pacientů umíralo do 1 roku. Po zavedení kortikosteroidů do terapie se úmrtnost snížila na 30 %, při kombinované imunosupresivní terapii pod 10 % (1). Pro kombinaci se používají cyclophosphamid a cyclosporin (5). Pokud selže kombinovaná imunosupresivní terapie, respektive, pokud je remise možná pouze na vysokých dávkách imunosupresiv nebo při rozvoji nežádoucích vedlejších účinků léčby, využívají se další terapeutické postupy: plazmaferéza, fotoféza, imunoabsorbce, intramuskulární injekce zlata, intravenózní imunoglobuliny (4, 6).

Imunosupresivní terapie má řadu vedlejších účinků. Incidence nežádoucích účinků roste s délkou podávání a s vyšší dávkou. Je možno je dělit na mineralokortikoidní, ke kterým patří retence tekutin a sodíku, deplece draslíku a zvýšení krevního tlaku, a glukokortikoidní, z nichž nejdůležitější jsou: porucha glukózové tolerance až manifestace diabetu, obezita s ukládáním tuku a postupnou ztrátou svalstva, osteoporóza s následnými patologickými frakturami, psychické změny s rizikem suicidia, paranoidní stavy či deprese, především u pacientů s pozitivní psychiatrickou anamnézou, svalová

slabost, peptické ulcerace, zvýšená náchylnost k infekcím, možná aktivace tuberkulózy, Cushingův syndrom s typickým měsícovitým obličejem, striemi a akné, u dětí zpomalení až zastavení růstu. Vyvolaná suprese kůry nadledvin představuje riziko adrenokortikální krize při náhlém vysazení. Při pulzní terapii je riziko těžké hyperglykémie, akutní pankreatitidy a komorové arytmie (7).

Správná diagnóza u našeho pacienta byla stanovena až v době, kdy byl v těžkém stavu s generalizovaným výsevem puchýřů na kůži a s erozemi na sliznicích dutiny ústní, které ztěžovaly až znemožňovaly příjem potravy. Remise onemocnění bylo dosaženo obtížně při poměrně vysokých dávkách imunosupresiv. Vedlejší účinky léčby se projeví brzy a nadále komplikují celkový stav pacienta. Pacient navíc přistupuje k léčbě nezodpovědně. Na kontroly dochází nepravidelně a sám si upravuje dávku léků i přes opakované poučení o rizicích takového jednání.

ZÁVĚR

Pemfigus vulgaris je příkladem onemocnění léčitelného, ale ne vyléčitelného. Ačkoli je k dispozici celá řada léčebných postupů, jsou zatíženy závažnými vedlejšími nežádoucími účinky, které zhoršují kvalitu života pacientů s touto diagnózou nebo jsou finančně nákladné.

LITERATURA

1. **Ljubojevič, S., Lipozenčič, J., Brenner, S.:** Pemfigus vulgaris: a review of treatment over a 19-year period. *JEADV*, 2002, 16, s. 599-623.
2. **Braun-Falco, O., Plewig, G., Wolff, H. H.:** Dermatologie a venerologie. Neografia, Martin, 2001, s. 562-566.
3. **Matzner, Y., Erlich, H. A., Brautbar, C. H.:** Identical HLA class II alleles predispose to drug-triggered and idiopathic pemphigus vulgaris. *Acta Derm. Venereol.*, 1995, 75, s. 12-14.
4. **Schmidt, E., Klinker, E., Opitz, A.:** Protein A immunoabsorption: a novel and effective adjuvant treatment of severe pemphigus. *Brit. J. of dermatol.*, 2003, 148, s. 1222-1229.
5. **Bondenson, L., Hammar, H.:** Treatment of pemphigus vulgaris with ciclosporin. *Dermatologica*, 1990, 181, s. 308-310.
6. **Bystrin, J.-C., Jiao, D., Natow, S.:** Treatment of pemphigus with intravenous immunoglobulin. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2002, 47, s. 358-363.
7. **Rajesh, J., Harinder, B., Vindod, K. S., Bhushan, K.:** Cardiovascular effects of corticosteroid pulse therapy: a prospective controlled study on pemphigus patients. *Int. J. of Dermatol.*, 2005, 44, s. 285-288.

Stálé hledání souvislosti kožní karcinogeneze s přítomností virové infekce

Role HPV v karcinomu lidské kůže není jasná. Non-epideroplasia verruciformis (EPV) genové transkripce byly nalezeny u 20 % transplantací spinoca a 40 % transplantovaných bradavic. Je to

důkaz EPV genové transkripce u nádoru a je to zřejmě v praxi podceňováno.

Lokalizace HPV-DNA v maligních keratinocytech u spino ca, stejně jako EV-HPV genové transkripce u téměř 40 % nádorů ukazuje na zřejmé podcenění souvislosti a bude třeba se na tyto vztahy více soustředit. Bude třeba se zaměřit také na geny, které kontrolují zmíněné viry.

Literatura:

Purdie, K. J. et al.: Human papillomavirus gene expression in cutaneous squamous cell carcinoma from immunosuppressed and immunocompetent individuals. *J. invest. Dermatol.*, 2005, 125, s. 98-107.

P. Barták

KAZUISTIKA

Kongenitálna pulmonálna arteriovenózna fistula

Bartoš V., Bobrovská M., Plank L., ¹Čiljak M.

Ústav patologickej anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty a Martinskej fakultnej nemocnice, Martin, SR
¹Neonatologické oddelenie Jesseniovej lekárskej fakulty a Martinskej fakultnej nemocnice, Martin, SR

SÚHRN

Vrodené arteriovenózne malformácie sú zriedkavé cievne anomálie v detskom veku. Tieto lézie pozostávajú vo väčšine prípadov z dilatovaných ciev, ktoré vytvárajú veľkú rôznotvarú masu vaskulárnych kanálov s priamou komunikáciou medzi pľúcnyimi tepnami a pľúcnyimi žilami. Autori článku prezentujú kazuistiku novorodenca s vrodenou arteriovenóznou fistulou v dolnom laloku pravých pľúc. Popisujú rôzne typy, etiológiu, makroskopické a mikroskopické nálezy tejto anomálie.
Kľúčové slová: cievne malformácie, pľúcna arteriovenózna fistula.

SUMMARY

Bartoš V., Bobrovská M., Čiljak M.: A Congenital Pulmonary Arteriovenous Fistula – A Case Report

Congenital arteriovenous malformations are rare vascular anomalies in infancy and childhood. In most cases, these lesions consist of dilated vessels that appear as a large plexiform mass of vascular channels with direct communication between the pulmonary arteries and the pulmonary veins. Authors of the article present a case report of a newborn with a congenital arteriovenous fistula in the lower lobe of the right lung. They demonstrate various types, etiology, macroscopic and microscopic findings in this anomaly.

Key words: vascular malformations, pulmonary arteriovenous fistula.

Ba.

Čas. Lék čes., 2005, 144, pp. 836–839.

Pľúcne arteriovenózne malformácie (PAVM) sú veľmi zriedkavé cievne anomálie. K ich najčastejším formám patria arteriovenózne fistuly, tieto pojmy sa však spolu s označeniami arteriovenózne aneuryzmy či teleangiektázie bežne používajú ako synonymum. Ich výskyt je v rôznych krajinách rozdielny, prevalencia vo Veľkej Británii sa udáva 1:39 216, v USA 1:16 500, v Dánsku 1:3500 (1, 2).

PAVM predstavujú abnormálne spojenie variabilného počtu pľúcnych tepien rozličnej veľkosti s rôznym počtom pľúcnych žíl bez vzájomnej interpozície pľúcnych kapilár. Táto malformácia vytvára vaskularizovanú hmotu pľúcneho tkaniva s množstvom defektných dilatovaných a rôzne stočených ciev, pričom stena artérií je často tenšia a naopak, stena vén hrubšia ako za normálnych okolností. Histologická štruktúra ich stien je väčšinou zmiešaná, a preto je často nemožné rozlíšiť arteriálnu a venóznú časť. V niektorých oblastiach môže byť stena redukovaná len na tenkú endoteliálnu vrstvu, inde sa môžu vyskytovať degeneratívne zmeny a kalcifikácie. Tieto zmeny sú zodpovedné za príležitostné ruptúry aneuryzmiem, ktoré môžu zapríčiniť krvácanie a siderózu v okolitom pľúcnom parenchýme alebo aj hemotorax. Veľkosť anomálií varíruje od niekoľkých milimetrov až po postihnutie celého krídla pľúc, pričom cievne štrbiny môžu byť čiastočne vyplnené trombom (3–6).

Akýmsi samostatným zvláštnym a zároveň extrémne zriedkavým typom arteriovenózneho fistuly je priama komunikácia medzi pravou pľúcnou artériou a ľavou predsienou srdca (7, 8).

V prípade vrodenej arteriovenózneho fistuly ide vo väčšine prípadov iba o jednu anomáliu zo širokého spektra abnormalít. Väčšina pacientov má zároveň koexistujúce vaskulárne abnormality aj na iných orgánoch a spolu tvoria časť dominantne dedičného generalizovaného syndrómu hereditárnej hemoragickej teleangiektázie nazývanej aj Osler-Rendu-Weberov syndróm (9).

Približne 60–70 % všetkých pľúcnych arteriovenózných malformácií sa vyskytuje v asociácii s týmto syndrómom a asi 15–30 % pacientov s hereditárnou hemoragickou teleangiektáziou má aj arteriovenózne anomálie rôzneho typu (1, 3, 5, 10).

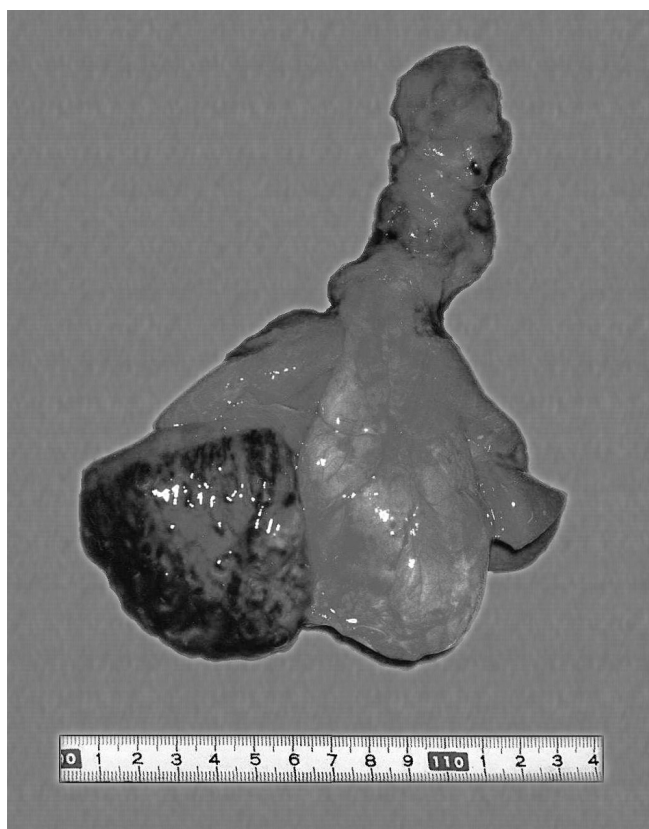
KAZUISTIKA

Autori prezentujú prípad zrelého novorodenca mužského pohlavia pochádzajúceho z prvej gravidity, narodeného spontánne záhlavím v 40. gestačnom týždni, pôrodná hmotnosť 3880 g, dĺžka 47 cm. Vzhľadom na nízke hodnoty Apgarovej skóre (4–3–4) bolo dieťa po pôrode kompletne resuscitované a napojené na umelú pľúcnu ventiláciu. Pri fyzikálnom vyšetrení od narodenia dominoval hluchý systolický šelest intenzity 3–4/6, výrazná pulzácia epigastria, dobre hmatné pulzy na periférnych cievach, generalizovaná cyanóza kože a hepatomegália. Opakované vyšetrenia vnútorného prostredia preukazovali trvalú hypoxémiu so saturáciou kyslíka maximálne 60–70 % a ťažkú metabolickú acidózu. Realizované kardiologické, RTG a CT vyšetrenia hrudníka potvrdili nález tumoróznej masy v oblasti stredného a dolného laloka pravých pľúc, dilatáciu všetkých oddielov srdca a hemodynamicky závažný otvorený ductus arteriosus Bottali. Z klinických príznakov dominovala pľúcna hypertenzia a závažná srdcová nedostatočnosť.

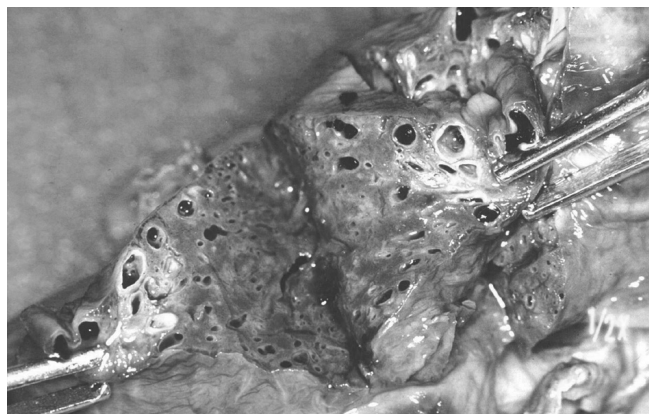
Počas hospitalizácie postupne dochádzalo k metabolickému rozvratu vnútorného prostredia a zlyhávaniu vitálnych funkcií. Po 32 hodinách života a neúspešnej resuscitácii nastal exitus letalis.

Dominujúcim nálezom vnútornej obliadky pri pitve po otvorení hrudnej dutiny bol nápadne sa vyklenujúci zväčšený dolný lalok pravých pľúc, v ktorom subpleurálne presvitali cievne štruktúry. Táto masa tkaniva mala rozmery cca 8x5,5x4 cm (obr. 1 a 2) a na

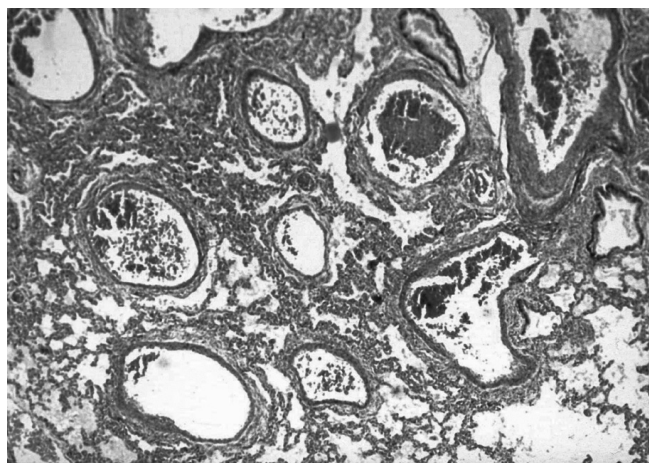
MUDr. Vladimír Bartoš
 036 01 Martin, Priehradka 25/5, SR
 e-mail: vladimirbartos@post.sk, vladimirbartos@pobox.sk



Obr. 1. Tumorózne zväčšený dolný lalok pravých pľúc – celkový pohľad



Obr. 2. Masa dilatovaných a stočených krvných ciev



Obr. 3. Histologický obraz malformácie

reze bola tvorená dilatovanými a stočenými cievami vo väčšine vyplnenými zrazenou krvou a zvyškami pľúcneho parenchýmu, pričom cieva s najväčším priemerom cca 5 mm ústila priamo do ľavej predsieni.

Obidve dilatované predsieni zväčšeného srdca vzájomne komunikovali prostredníctvom otvoreného foramen ovale. Perzistujúci ductus arteriosus Bottali bol otvorený na cca 2 mm.

V početne odobratých excíziách z pľúc bol v histologickom obraze prítomný nepravidelne oddýchaný pľúcny parenchým v alveolárnom štádiu vývinu s ložiskami emfyzému aj atelektáz. V alveolárnych priestoroch sa nachádzali zvyšky plodovej vody a fokálne aj známky čerstvého aj staršieho krvácania. V malých bronchoch bol epitel denudovaný s prítomnými prejavmi akútneho zápalu.

Vo vzorkách z dolného laloka pravých pľúc bola štruktúra parenchýmu narušená nepravidelnými vaskulárnymi priestormi menšieho aj väčšieho kalibru. Časť ciev mala charakter artérií a časť mala skôr venózne črty, ale jednoznačne diferencovať artérie a vény a taktiež dokázať priamu komunikáciu medzi nimi sa nám aj napriek použitiu špeciálnych farbení nepodarilo (obr. 3).

Vo vakovite zmenených cievach v centre lézie boli prítomné aj známky parietálnej trombózy.

Z ostatných vedľajších pitevných nálezov boli prítomné edém mozgu, mierny ascites, ľahký stupeň fibrózy pečene a obojstranné krvácanie v nadobličkách.

KLASIFIKÁCIA A TYPY ARTERIOVENÓZNYCH PLŮCNYCH FISTŮL

Podľa pôvodu rozdeľujeme pľúcne arteriovenózne fistuly na vrodené a získané.

Vrodené arteriovenózne fistuly

Sú síce častejšie, ale aj tak ide o veľmi zriedkavú malformáciu v detskom veku s rovnakým výskytom u oboch pohlaví, pričom u novorodencov je mužská predomancia (3, 11).

Ich prvú klinickú diagnózu popísal Schmith a Horton v roku 1939, ale vaskulárne pľúcne anomálie boli popisované v nekroptickom materiáli už v 19. storočí. Zaznamenaný bol aj familiárny výskyt (2, 3, 5).

Hoci patogenéza tohoto ochorenia nie je zatiaľ úplne známa, pľúcne arteriovenózne malformácie vznikajú pravdepodobne v dôsledku poruchy vývinu vaskulárnych sept, ktoré separujú arteriálne a venózne plexy prítomné vo fetálnych pľúcach počas vnútromaternicového vývinu. Následkom zvýšeného krvného prietoku pľúcami po narodení dochádza v takýchto prípadoch postupne k ich progresívnej dilatácii s následnou tvorbou vakovitých útvarov, pričom po prasknutí ich stien vzniká vzájomná komunikácia a tvorba aneurysmatických útvarov (5).

McMullan et al. postulovali teóriu, podľa ktorej sú vrodené arteriovenózne fistuly akýmsi „spätným krokom“ k fetálnym pľúciam. V pokusoch na zvieratách dokázali, že funkčný arteriovenózny shunting sa za normálnych okolností vyskytoval u všetkých zvierat v terminálnom štádiu fetálneho vývinu, s pribúdajúcimi dňami života po pôrode klesal jeho výskyt a po uplynutí 4 týždňov po narodení sa už nevyskytoval (12).

Recentné výskumy odhalili pri O-R-W syndróme aj genetické zmeny, ktoré pravdepodobne zodpovedajú za vznik arteriovenózných malformácií aj u pacientov bez tohto ochorenia. Ide najmä o mutácie génov pre endoglin a activin receptor-like kinázu 1, ktoré sa nachádzajú v endotelálnych bunkách a slúžia ako ligandy pre TGF- β . Populácia týchto rastových faktorov je totiž zahnutá v angiogéneze, indukcii mitogénov pre endotelálne bunky a v celkovej súhre medzi bunkami, extracelulárnym matrixom a faktormi vonkajšieho prostredia (13, 14).

Získané arteriovenózne fistuly

Sú zriedkavejšie a ich akvizovanie počas života sa pripúšťa vplyvom rôznych faktorov. V literatúre sú udávané prípady získaných arteriovenózných fistúl v súvislosti so schistozomiázou, juvenilnou hepatálnou cirhózou, metastázou karcinómu štítnej žľazy, aktinomykózou, mitrálnou stenózou alebo traumou (5, 15–17).

Podľa veľkosti, lokalizácie a histologickej štruktúry ich možno ďalej kategorizovať nasledovne.

Na základe cievnej architektiky ich rozdeľujeme na jednoduché a komplexné.

Jednoduché arteriovenózne fistuly majú len jednu hlavnú segmentálnu výživovú artériu a jednu drénujúcu žilu, ktoré spolu komunikujú jednoduchým side by side spojením a sú väčšinou asociované s nálezom neseptovaných cievnych aneuryziem. Približne 80–90 % všetkých fistúl tvorí tento typ, ktorý sa vyskytuje predovšetkým v dolných pľúcnych lalokoch (3, 5).

Komplexné arteriovenózne fistuly obsahujú 2 alebo viac segmentálnych výživovacích artérií a rovnaký počet drénujúcich vén. Tvoria približne 20 % a často sa vyskytujú v strednom laloku pravých pľúc alebo v ľavých pľúcach pri poruchách vývinu lily (3, 5).

Podľa počtu ložísk môžu byť solitárne alebo častejšie mnohopočetné,

Podľa postihnutia pľúcnych strán unilaterálne alebo bilaterálne (3, 5, 6).

Solitárne alebo menej početné fistuly sú skôr väčších rozmerov častejšie lokalizované subpleurálne v oboch dolných lalokoch a strednom laloku pravých pľúc. Väčšinou nesúvisia s Osler-Rendu-Weberovým syndrómom a vyskytuje sa pri nich aj menší počet iných pridružených patologických nálezov. Niekde sa označujú aj ako idiopatické kongenitálne pľúcne arteriovenózne fistuly (5, 11).

Mnohopočetné fistuly sú skôr menšie a vyskytujú sa difúzne v celých pľúcach. Väčšinou sú asociované s Osler-Rendu-Weberovým syndrómom. Lézie rôznych rozmerov však môžu navzájom koexistovať v jednom prípade (5, 10).

Ďalšie patologické nálezy popisované v asociácii s pulmonálnou arteriovenóznou fistulou sú bronchiektázie, atelektázy a iné malformácie bronchiálneho stromu, absencia pravého dolného pľúcneho laloka a vrodené ochorenia srdca (5, 18).

Tieto nálezy a iné alterácie tkaniva sa však okolo lézie vyskytujú len zriedkavo čo pravdepodobne nasvedčuje, že aneuryzmy nemajú výraznejšiu tendenciu k progresívnemu rastu do svojho okolia (5).

DISKUSIA

Záujem o štúdium arteriovenózných pľúcnych malformácií vzrástol za posledných 20 rokov najmä pri konštatovaní, že v skutočnosti spôsobujú viac komplikácií a podieľajú sa aj na väčšej morbidite, než sa pôvodne predpokladalo (19).

Najčastejším klinickým príznakom býva dyspnoe a cyanóza v dôsledku pravoľavého skratu. Hemodynamicky vzniká shunt odkysličenej krvi z pľúcnych artérií do okysličenej krvi pľúcnych vén, čím sa znižuje saturácia kyslíka v arteriálnom krvnom obehu. Systémová saturácia kyslíka varíruje od 50–85 % a v dôsledku hypoxémie dochádza vo väčšine prípadov k polycytémii. Cyanóza môže byť prítomná už od detstva a niekedy hneď po pôrode, zaujímavé však je, že v ľahších prípadoch je veľký počet pacientov klinicky bez príznakov. Pri idiopatických vrodených arteriovenózných anomáliách sa urobí diagnóza počas detstva len asi v 10–15 % prípadoch. Väčšina pacientov s pľúcnou arteriovenóznou fistulou zostáva počas detského veku asymptomatická a klinické príznaky sa začnú manifestovať až okolo 5 dekády života. Symptómy závisia najmä od veľkosti lézie, aneuryzmy menšie ako 2 cm sú väčšinou bez príznakov. Preto je pravdepodobné, že ich výskyt je všeobecne

častejší, ale drobné ložiská zostávajú klinicky aj autopticky nedagnostikované (3, 5, 10).

Pomerne časté bývajú aj opakované epistaxy, hemoptýza, kašeľ a bolesti na hrudníku. Vo väčšine prípadov ide postupne o kombináciu respiračných a kardiálnych symptómov (1).

U 25 % pacientov sa vyskytujú neurologické symptómy, ktoré dokonca môžu aj dominovať. Najčastejšou komplikáciou býva embolizácia mozgových ciev ako následok paradoxnej embólie v dôsledku pľúcnych anastomóz a krvácanie do mozgového tkaniva. Pomerne častý výskyt mozgových abscesov vysvetľuje znížená ochranná filtračná schopnosť pľúc, čo umožňuje ľahší prestup baktérií do systémovej cirkulácie (5, 11, 20).

ZÁVER

Keďže arteriovenózne fistuly v pľúcach sú veľmi zriedkavé a často ostávajú pomerne dlho asymptomatické, ich diagnostika môže byť obtiažna. V diferenciálnej diagnostike je nutné vylúčiť vaskularizované ložiská tuberkulózy, kokcidiózy, histoplazmózy, primárne či sekundárne nádory a izolované varikózne dilatácie. Vo väčšine prípadov je táto diagnóza favorizovaná prítomnými ďalšími léziami typickými pre hereditárnu hemoragickú teleangiektáziu.

Diagnostiku sťažuje aj skutočnosť, že perkutánna či transtorakálna pľúcna biopsia je vo väčšine prípadov kontraindikovaná, pretože nabadnutie kavieren môže mať fatálne následky. Preto je nutné najprv vylúčiť nález arteriovenózne malformácie a až potom robiť punkciu za účelom histologického vyšetrenia lézie.

Patológ vo väčšine prípadov prichádza do styku s toto zriedkavou léziou až po kompletnej chirurgickej odstránení celého ložiska alebo pri autopsii.

Zkratky

PAVM – pľúcne arteriovenózne malformácie

LITERATÚRA

1. **Baysal, T., Gormos, N., Avunduk, C. M. et al.:** Pulmonary right-upper lobar arteriovenous fistula in an infant with progressive cyanosis – case report. *Anadolu Kardiyol. Derg.*, 2004, 4, s. 184-186.
2. **Studer, M. S., Terry, B. P.:** A 48 year-old female with headache and dyspnoea. *Eur. Respir. J.*, 2001, 17, s. 1328-1331.
3. **Gossage, R. J., Kanj, G.:** Pulmonary arteriovenous malformations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998, 158, s. 643-661.
4. **Colin, L. B.:** Paediatric Pathology. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 1981, s. 368.
5. **Adams, H. F., Emmanouilides, C. G., Riemenschneider, A. T.:** Moss' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescents. 4th Edition, Baltimore, Hong Kong, London, Munich, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Williams-Wilkins, 1989, s. 621-625.
6. **Rosai, J.:** Ackermans' Surgical Pathology. 7th Edition, Volume One, St. Louis, Toronto, Washington, D.C., The C.V. Mosby Company, 1989, s. 292.
7. **Lucas, R. V. Jr., Lund, G. W., Edwards, J. E.:** Direct communication of a pulmonary artery with the left atrium: unusual variant of the pulmonary arteriovenous fistula. *Circulation*, 1961, 24, s. 1409.
8. **Moreno, F., Quero, M., Pérez, V., Alvarez, F.:** Direct communication of a pulmonary artery with the left atrium. *Bull. Am. Coll. Chest Physicians.*, 1975, s. 14-39.
9. **Kjeldsen, A. D., Oxhøj, H., Andersen, P. E. et al.:** Pulmonary arteriovenous malformations: screening procedures and pulmonary angiography in patients with hereditary hemorrhagic teleangiectasia. *Chest*, 1999, 116, s. 432-439.
10. **Olgunturk, R., Oguz, D., Tunaoglu, S. et al.:** Pulmonary arteriovenous fistula in the newborn : a case of Rendu-Osler-Weber syndrome and review of the literature. *Turk. J. Pediatr.*, 2001, 43, s. 332-337.

11. **Pick, A., Deschamps, C., Stanson, A. W.:** Pulmonary arteriovenous fistula: presentation, diagnosis and treatment. *World J. Surg.*, 1999, 23, s. 1118-1122.
12. **McMullan, M. D., Hanley, L. F., Gordon, A. C. et al.:** Pulmonary arteriovenous shunting in the normal fetal lung. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004, 44, s. 1497-1500.
13. **Berg, J. N., Gallione, J. C., Stenzel, T. T. et al.:** The activin receptor-like kinase 1 gene: genomic structure and mutations in hereditary hemorrhagic teleangiectasia type 2. *Am. J. Hum. Genet.*, 1997, 61, s. 60-67.
14. **McAllister, K. A., Grogg, M. K., Johnson, W. D. et al.:** Endoglin, a TGF-beta binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic teleangiectasia type 1. *Nat. Genet.*, 1994, 8, s. 345-351.
15. **de Lopes, F. J.:** Pulmonary arteriovenous fistulas and arterial distribution of eggs of *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1956, 5, s. 860.
16. **Rydell, R., Hoffbauer, F. W.:** Multiple pulmonary arteriovenous fistulas in juvenile cirrhosis. *Am. J. Med.*, 1956, 21, s. 450.
17. **Pierce, J. A., Reagan, W. P., Kimball, R. W.:** Unusual cases of pulmonary arteriovenous fistulas with a note of thyroid carcinoma as a case. *A Engl. J. Med.*, 1956, s. 260-901.
18. **Taiana, J. A., Schiappati, E., Pini, A.:** Arteriovenous fistula of the lung: surgical treatment of 2 cases. *Ann. Surg.*, 1955, s. 141-415.
19. **Qureshi, S. A., Reidy, J. F.:** Arterio-venous fistulas and related conditions. In: Anderson, R. H., Bacher, E. J., Macartney, F. J., Rigby, M. L.: *Paediatric Cardiology*, London: Churchill-Livingstone, 2002, s. 1658-1664.
20. **Brydon, H. L., Akinwunmi, J., Selway, R., Ul-Haq, I.:** Brain abscesses associated with pulmonary arteriovenous malformations. *Br. J. Neurosurg.*, 1999, 13, s. 265-269.

KNIHY

Klaban, V.: **ILUSTROVANÝ** **MIKROBIOLOGICKÝ SLOVNÍK**

Praha, Galén, 2005, 654 s. První vydání, 155x225 mm, vázané, černobíle, 1200 Kč. ISBN 80-7262-341-9.

Autor publikace RNDr. Vladimír Klaban se s oborem mikrobiologie seznamoval zpočátku jako výzkumný pracovník, ale od roku 1984 až do současné doby pracuje v mikrobiologických laboratořích hygienické služby v Jičíně (nyní pobočka Státního zdravotního ústavu se sídlem v Hradci Králové). Práce i studium autora knihy jsou zaměřeny na zkoumání fyziologické a biochemické různorodosti patogenních i nepatogenních mikroorganismů a na využití těchto poznatků v moderních laboratorních metodách pro mikrobiologické monitorování životního a pracovního prostředí.

Mezioborová publikace »Ilustrovaný mikrobiologický slovník« je výsledkem autorova několikaletého činorodého úsilí, kdy shromažďoval, studoval, třídil a konzultoval své vlastní laboratorní zkušenosti i rozsáhlé znalosti z odborné literatury. Formou abecedně seřazených odborných termínů s výkladem ve stručnosti přináší základní poznatky z obecné i speciální mikro-

biologie z různých úseků vlastního oboru včetně souvislostí s obory příbuznými. Pro rychlejší vyhledávání termínů a snazší orientaci v textu je ve slovníku zařazeno několik monotematických rejstříků – pro obecnou a speciální mikrobiologii, ekologii, lékařskou mikrobiologii, fytopatologii a dále rejstřík badatelský. Obsahy jednotlivých hesel slovníku jsou vyvážené, texty jsou zpracovány čtivě a srozumitelně. Mezioborové pojetí knihy je svým způsobem originálním uspořádáním, neboť poskytuje základní, jednoznačné informace i stručné laboratorní návody pro velký okruh čtenářů. Publikace typu výkladového mikrobiologického slovníku u nás dosud nebyla vydána.

Precizně a moderně zpracované informace jsou určeny studentům i učitelům středních a vysokých škol, mikrobiologům, hygienikům, ekologům, potravinářům a všem zájemcům o mikrobiologii, kterým umožní rychlou, základní orientaci v oboru i nasměrování ke zdroji informací podrobnějších (knih je doplněna seznamem 161 odborných publikací). Vzhledem k tomu, že ilustrovaný mikrobiologický slovník není určen pro přímou výuku lékařské mikrobiologie na lékařských fakultách, jsou hesla s důležitou, medicínsky zaměřenou problematikou zpracována stručně, ale tak, aby obsahovala základní údaje nutné pro zachování srozumitel-

nosti. Lékaři a studující medicíny mohou bohatě ilustrovaný slovník využívat především pro rychlé vyhledávání mikrobiologických termínů, jejichž výklad je doplněn odkazem na literaturu, a k získání základních informací o vlastnostech patogenních i nepatogenních mikroorganismů, jejich významu pro ekologii i další obory.

Sám dr. Klaban v předmluvě publikace píše, že kniha je určena pro studenty i učitele středních škol a posluchače vysokých škol, pro něž je důležité seznámit se s mikrobiologií, která však nemusí být jejich hlavním studijním oborem nebo specializací. Dále je určena pracovníkům všech laboratořích, kteří přímo či nepřímo přicházejí do styku s mikrobiologickou problematikou. A v řadě neposlední pak všem čtenářům zajímajícím se o mikroorganismy a jejich význam v přírodě – neboť tyto pouhým okem neviditelné bytosti jsou naprosto nepostradatelné pro existenci života na Zemi.

Ilustrovaný mikrobiologický slovník představuje moderní, encyklopedický uspořádanou publikaci, jež najde široké uplatnění v pedagogické práci i ve vzdělávání velkého okruhu čtenářů, kteří pracovní nebo zájmově přicházejí do kontaktu s mikrobiologií.

Olga Ryšková
500 05 Hradec Králové, Sokolská 581

SPECIÁLNÍ SDĚLENÍ

Krátká intervence pro problémy působené alkoholem může probíhat v různých prostředích

Nešpor K., ¹Csémy L.

Oddělení léčby závislosti (muži) – Psychiatrická léčebna Bohnice, Praha

¹Psychiatrické centrum Praha

SOUHRN

Krátká intervence pro problémy působené alkoholem je efektivní. Vzhledem k vysoké spotřebě alkoholu v České republice je třeba, aby skrínink a krátkou intervenci prováděli nejen zdravotníci, ale i pracovníci jiných oborů. K postupům používaným při krátké intervenci patří zpětná vazba ohledně problémů s alkoholem, jasné doporučení, posilování motivace, používání tištěných materiálů, aktivní předání a další. Skrínink a krátká intervence byly úspěšně použity například v ordinaci praktických lékařů, u psychiatrických pacientů, v porodnictví, v nemocničním prostředí, ve vězeňství, na školách všech typů i v pracovních prostředích.

Klíčová slova: alkohol, krátká intervence, technika, prostředí.

SUMMARY

Nešpor K.: Brief Intervention for Alcohol Related Problems Can be Used at Various Environments

Brief intervention for alcohol related problems is effective. Considering high per capita alcohol consumption, it is desirable that brief intervention should be practiced not only by health professionals but also by other workers. Feedback about alcohol related problems, clear advice, motivation enhancement, written texts, active referral, etc. has been used. Screening and brief interventions were successfully employed in general practice, psychiatry, gynaecology and obstetrics, at emergency and trauma units, in judiciary system, at schools including colleges and at various workplaces.

Key words: alcohol, brief intervention, technique, environments.

Ne.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 840–843.

Spotřeba alkoholu v České republice na rozdíl od většiny vyspělých evropských zemí roste a tomu odpovídá i vysoká míra problémů, které zde alkohol působí. K těmto problémům patří nejen závislost, ale i násilná trestná činnost pod vlivem alkoholu, dopravní nehody, úrazy, otravy, týrání nebo zneužívání dětí intoxikovanými rodiči, domácí násilí atd. Vzhledem k velkému počtu osob, které jsou na alkoholu závislé, alkohol zneužívají nebo ho pijí rizikově, je nutné, aby krátkou intervencí prováděl co nejširší okruh lidí. Z toho vyplývá význam krátké intervence pro problémy působené alkoholem, jak ho prosazuje Světová zdravotnická organizace. Tento přehled nabízí příklady krátké intervence v různých prostředích. Správně provedená a vhodně indikovaná krátká intervence je nejen efektivní, ale její účinek může být i dlouhodobý (1).

STRUČNĚ O TECHNIKÁCH KRÁTKÉ INTERVENCE

- Feedback (zpětná vazba). Sem patří posouzení stavu a zpětná informace pacientovi o výsledku. Při posuzování stavu se používají příslušná kritéria Mezinárodní klasifikace nemoci i skríninkové dotazníky (např. AUDIT uvedený v příloze), lze vycházet

i z laboratorních nálezů (vyšší hodnoty jaterní testů, zejména GMT, méně častá bývá mykrocytární anémie).

- Jasné doporučení přestat pít alkohol nebo jeho pití omezit, jestliže se nejedná o závislost a není jiný důvod k naprosté abstinenci (těhotenství, těžké jaterní poruchy, závislost na psychoaktivních látkách, interakce s léky atd.).
- Motivační rozhovor patří v současnosti k nejpoužívanějším technikám krátké intervence. Jeho cílem je za pomoci vhodných otázek a s pochopením pomoci pacientovi, aby si lépe uvědomil rizika alkoholu a výhody toho, když problémy s alkoholem překoná. O posilování motivace v češtině podrobněji jinde (např. 2).
- Předání svépomocného materiálu. Příručky pro závislé na alkoholu (3), závislé na jiných psychoaktivních látkách a patologické hráče jsou zdarma k dispozici na webových stránkách www.plbohnice.cz/nespor. Využívání tištěných materiálů je efektivní modalitou (viz např. meta-analýza (4)).
- Doporučení účasti ve svépomocné organizaci typu Anonymních alkoholiků. Informace a adresy skupin Anonymních alkoholiků viz webová stránka www.sweb.cz/aacesko/. Jedná se o efektivní modalitu, přehled viz například Nešpor (5).
- Poskytnutí kontaktu na služby telefonické pomoci, kam se lze obrátit v případě náhlé krize. (Telefonáty lze také využívat k posílení efektu předchozí krátké intervence.)

AUDIT – TEST KE ZJIŠŤOVÁNÍ PORUCH PŮSOBENÝCH ALKOHOLEM

Z možností, které se Vám nabízejí jako odpovědi, zvolte tu, která se nejvíce přibližuje skutečnosti. Zakroužkujte číslice v závorce příslušející této odpovědi. V testu se používá pojem „standardní sklenice“. Standardní sklenicí se rozumí v této verzi dotazníku půl litru 12° piva, 2 „deci“ přírodního vína nebo 0,05 l („půldeci“) destilátu. Otázky 1.–8. se týkají posledních 12 měsíců.

1) Jak často pijete nápoje obsahující alkohol včetně piva?

- 0: nikdy
1: jednou za měsíc a méně
2: 2–4x za měsíc
3: 2–3x týdně
4: 4x nebo více za týden

2) Kolik standardních sklenic vypijete během typického dne, kdy pijete? (Jedna standardní sklenice odpovídá půl litru 12° piva, 2 „deci“ vína nebo „půldeci“ destilátu.)

- 0: nejvýše 1
1: 1,5 až 2
2: 2,5 až 3
3: 3,5 až 3
4: 5 a více

3) Jak často vypijete 3 nebo více standardních sklenic při jedné příležitosti? (Jedna standardní sklenice odpovídá půl litru 12° piva, 2 „deci“ vína nebo „půldeci“ destilátu.)

- 0: nikdy
1: méně než jednou za měsíc
2: jednou za měsíc
3: jednou za týden
4: denně nebo téměř denně

4) Jak často jste během posledních 12 měsíců zjistil, že nejste schopni přestat pít, když jste začal?

- 0: nikdy
1: méně než 1x za měsíc
2: 1x za měsíc
3: 1x týdně
4: denně nebo téměř denně

5) Jak často jste kvůli pití během posledních 12 měsíců neudělal to, co se od Vás běžně očekávalo?

- 0: nikdy
1: méně než 1x za měsíc
2: 1x za měsíc
3: 1x za týden
4: denně nebo téměř denně

6) Jak často jste během posledních 12 měsíců potřeboval hned ráno sklenici alkoholického nápoje (počítá se i pivo), abyste mohl fungovat po předchozím vydatném pití?

- 0: nikdy
1: méně než 1x za měsíc
2: 1x za měsíc
3: 1x za týden
4: denně nebo téměř denně

7) Jak často jste měl během posledních 12 měsíců pocitu viny nebo výčitky svědomí kvůli pití?

- 0: nikdy
1: méně než 1x za měsíc
2: 1x za měsíc
3: 1x za týden
4: Denně nebo téměř denně

8) Jak často během posledních 12 měsíců jste nebyl schopen si vzpomenout, co se dělo předchozí večer, protože jste pil?

- 0: nikdy
1: méně než 1x za měsíc
2: 1x za měsíc
3: 1x za týden
4: denně nebo téměř denně

9) Byli jste vy nebo byl někdo jiný zraněn v důsledku vašeho pití?

- 0: nikdy
1: ano, ale ne v posledních 12 měsících
2: ano, během posledních 12 měsíců

10) Byl někdo z příbuzných nebo přátel, lékař nebo sociální pracovník znepokojen vaším pitím a navrhoval, abyste pití omezil nebo pít přestal?

- 0: nikdy
1: ano, ale ne v posledních 12 měsících
2: ano v posledních 12 měsících

Vyhodnocení

Sečtete zakroužkovaná čísla.

Součet 0 až 7: Doporučuje se pacienta edukovat (např. ho povzbudit, ho aby v opatrném vztahu k alkoholu pokračoval).

Součet 8 až 15: Doporučuje se jednoduchá rada pití omezit nebo abstinovat.

Součet 16 až 19: Doporučuje se jednoduchá rada pití omezit nebo abstinovat a dále poradenství a sledování pacienta.

Součet 20 až 40: Doporučuje se odeslání k vyšetření a další léčbě ke specialistovi.

Vyšší hodnoty v otázkách 1) až 3) svědčí pro nebezpečné pití, vyšší hodnoty v otázkách 4) až 6) svědčí pro závislost na alkoholu a vyšší hodnoty v otázkách 7) až 10) svědčí pro škodlivé pití alkoholu.

- Využívat motivačního vlivu rodiny.
- Opakování krátké intervence, kdykoliv je to vhodné.
- Aktivní předání (tj. poskytnout konkrétních informací o možnostech léčby včetně telefonních čísla, případně zařídit, aby pacienta k první návštěvě někdo doprovodil).

MÍSTA, KDE MŮŽE DOCHÁZET KE SKRÍNINKU A KRÁTKÉ INTERVENCI PRO PROBLÉMY PŮSOBENÉ ALKOHOLEM

Následující výčet si nečiní nárok na úplnost, většinou se jedná o prostředí, kde byla podle zpráv z literatury nějaká forma krátké intervence úspěšně použita. Je přirozené, že skrínink a krátká inter-

vence jsou zvláště vhodné tam, kde dochází k většímu soustředění osob, které pijí alkohol problémově. (To se týká i ordinací praktických lékařů s ohledem na vyšší nemocnost těch, kdo zneužívají alkohol.) Dalším velmi vhodným místem, kde třeba provádět skrínink a krátkou intervenci, jsou pracoviště, kde je důležitá bezpečnost (silniční provoz, některá pracovní prostředí jako ozbrojené složky apod.). Používá se podle okolností některý z postupů uvedených výše nebo kombinace více postupů – například Crawford et al. (6) úspěšně spojili u pacientů léčených na jednotce intenzivní péče předání tištěného materiálu a doporučení ke specializovanému poradenství.

Místa, kde byl použit skrínink a krátká intervence pro problémy působené alkoholem

Ordinace praktického lékaře, kam mohou pacienti přijít i z jiného důvodu. V češtině existuje překlad publikace, kterou vydala pro praktické lékaře Světová zdravotnická organizace (7), kterou vydal Státní zdravotní ústav. O efektivitě krátké intervence v ordinaci praktického lékaře svědčí např. meta-analýza Bertholetta et al. (8).

Nemocnice, např. jednotky intenzivní péče, traumatologická nebo chirurgická pracoviště, interní oddělení, kam všude se osoby zneužívající alkohol dostávají často. Gentilello et al. (9) na základě studie z oboru traumatologie doslova uvádějí: „Skrínink a krátká intervence pro problémy působené alkoholem u pacientů s traumatem je ekonomicky efektivní a měly by se provádět rutinně.“

Psychiatrická pracoviště. Prevalence škodlivého užívání alkoholu a závislosti na něm je u pacientů trpících jinou duševní chorobou podstatně vyšší než v běžné populaci. Alkohol zde často zhoršuje průběh jiného duševního onemocnění, zhoršuje spolupráci pacienta, vstupuje do interakcí s léky, komplikuje rodinné vztahy i pracovní uplatnění a zvyšuje riziko agrese. Při krátké intervenci se používají například poskytování relevantních informací nebo posilování motivace (10, 11).

Porodnická a gynekologická pracoviště. Skrínink a krátká intervence mají zásadní význam v prevenci závažných a prakticky neléčitelných poškození plodu alkoholem. Efektivní krátkou intervencí může provádět lékař, ale i porodní asistentka, jak o tom svědčí studie Changa et al. (12). Užitečná je také práce se ženami, kterým už se alkoholem poškozené dítě narodilo, aby se předešlo stejným komplikacím při dalším těhotenství (13).

Základní, střední i vysoké školy a odborná učiliště. Programy primární prevence ve školním prostředí (např. Life skills training program) a postupy používané při krátké intervenci se do jisté míry překrývají. Preventivní programy ve školách by ale na rozdíl od krátké intervence měly být interaktivní a dlouhodobé (např. 20–30 hodin v průběhu 3 let) a zpravidla se týkají celých ročníků. Naproti tomu programy krátké intervence se zpravidla zaměřují na osoby se zvýšeným rizikem nebo ty, kdo alkohol zneužívají. Při krátké intervenci u vysokoškolských studentů se osvědčily podobné postupy jako u jiných populací, byť se jednalo i jen o posouzení stavu a poskytnutí zpětné vazby (14). Nositeli krátké intervence mohou být také, podobně jako v případě preventivních programů, přípravení vrstevníci (peer prvek). O krátké intervenci ve školním prostředí podrobněji jinde (15).

Záchytná a detoxifikační stanice. U nás se jedná se o zdravotnická zařízení, a měla by proto být zajištěná dobrá návaznost ambulantní nebo ústavní léčby, je-li potřebná.

Pracovní prostředí. O efektivitě programů krátké intervence v pracovním prostředí svědčí zkušenosti ze Švédska (16), Austrálie (17) i USA (18).

Policie, vězeňství, orgány činné v trestním řízení. U pachatelů trestných činů (zejména násilných) jsou podle výzkumů prováděných v různých zemích světa problémy s alkoholem rozšířenější

než v běžné populaci. To se týká i dospívajících. Hrozba trestního stíhání a odsouzení je silným motivačním faktorem, který může zvýšit efektivitu krátké intervence. Programy krátké intervence i léčby pro problémy působené psychoaktivními látkami ve výkonu trestu mohou snížit riziko recidivy trestné činnosti (19).

K prostředím, kde lze provádět skrínink a krátkou intervenci, přibyl i internet (20); na internetu lze například snadno najít formuláře se skríninkovým dotazníkem AUDIT.

Existují i široce založené programy skríninku a krátké intervence pracující souběžně v různých prostředích. Příkladem je „Národní den alkoholového skríninku“, který probíhá každoročně v USA. Účastníkům, u nichž je skrínink pozitivní, se doporučí specializovaná léčba nebo poradenství. V roce 2003 proběhla tato akce na 2621 místech, přičemž na každé z nich připadlo v průměru 52 vyšetření (21).

Zkratky

AUDIT – skríninkový dotazník

GMT – gama-glutamyltransferáza

LITERATURA

1. Nilssen, O.: Long-term effect of brief intervention in at-risk alcohol drinkers: a 9-year follow-up study. *Alcohol Alcohol*, 2004, 39, s. 548-551.
2. Nešpor, K.: Návykové chování a závislost. Praha, Portál, 2000, s. 152.
3. Nešpor, K.: Jak překonat problémy s alkoholem. Praha, Sportpropag pro MZd ČR 2004, s. 124.
4. Apodaca, T. R., Miller, W. R.: A meta-analysis of the effectiveness of bibliotherapy for alcohol problems. *J. Clin. Psychol.*, 2003, 59, s. 289-304.
5. Nešpor, K.: Organizace Anonymní alkoholici představuje efektivní pomoc závislým. *Alkoholismus a drogové závislosti*. Bratislava, 2002, 37, s. 167-175 (volně ke stažení na www.plbohnice.cz/nespor)
6. Crawford, J. M., Patton, R., Touquet, R. et al.: Screening and referral for brief intervention of alcohol-misusing patients in an emergency department: a pragmatic randomised controlled trial. *Lancet*, 2004, 364, s. 1334-1339.
7. Babor, T. F., Higgins-Biddle, J. C.: Krátké intervence u rizikového a škodlivého pití. Postupy v primární péči. Český překlad. Praha, Státní zdravotní ústav, 2003, 51 (dostupné na <http://www.szu.cz/drogy/index.htm>)
8. Bertholet, N., Daepfen, J. B., Wietlisbach, V. et al.: Education of alcohol consumption by brief alcohol intervention in primary care: systematic review and meta-analysis. *Arch. Intern. Med.*, 2005, 165, s. 986-995.
9. Gentilello, L. M., Ebel, B. E., Wickizer, T. M. et al.: Alcohol interventions for trauma patients treated in emergency departments and hospitals: a cost benefit analysis. *Ann. Surg.*, 2005, 241, s. 541-550.
10. Hulse, G. K., Tait, R. J.: Five-year outcomes of a brief alcohol intervention for adult in-patients with psychiatric disorders. *Addiction*, 2003, 98, s. 1061-1068.
11. Graeber, D. A., Moyers, T. B., Griffith, G. et al.: A pilot study comparing motivational interviewing and an educational intervention in patients with schizophrenia and alcohol use disorders. *Community Ment. Health. J.*, 2003, 39, s. 189-202.
12. Chang, G.: Screening and Brief Intervention in Prenatal Care Settings. *Alcohol Research & Health*, 2004/2005, 28, s. 80-84.
13. Chang, G., McNamara, T. K., Orav, E. J. et al.: Brief intervention for prenatal alcohol use: a randomized trial. *Obstet. Gynecol.*, 2005, 105, s. 991-998.
14. Larimer, M. E., Cronce, J. M., Christine, M. et al.: Brief Intervention in College Settings. *Alcohol Research & Health*, 2004/2005, 28, s. 94-104.
15. Nešpor, K., Csémy, L., Pernicová, H.: Problémy s návykovými látkami ve školním prostředí. Časná a krátká intervence. Praha, Sportpropag, 1998, s. 104 (volně ke stažení na www.plbohnice.cz/nespor)

16. **Hermansson, U., Knutsson, A., Ronnberg, S., Brandt, L.:** Feasibility of brief intermention in the workplace for the detection and treatment of excessive alcohol consumption. *Int. J. Occup. Environ Health*, 1998, 4, s. 71-78.
17. **Richmond, R., Kehoe, L., Heather, N., Wodak, A.:** Evaluation of a workplace brief intervention for excessive alcohol consumption: the workscreen project. *Prev Med.*, 2000, 30, s. 51-63.
18. **Anderson, B. K., Larimer, M. E.:** Problem drinking and the workplace: an individualized approach to prevention. *Psychol. Addict. Behav.*, 2002, 16, s. 243-251.
19. **Turley, A., Thornton, T., Johnson, C., Azzolino, S.:** Jail drug and alcohol treatment program reduces recidivism in nonviolent offenders: a longitudinal study of Monroe County, New York's, Jail Treatment Drug and Alcohol Program. *Int. J. Offender Ther Comp. Criminol.*, 2004, 48, s. 721-728.
20. **Saitz, R., Helmuth, E. D., Aromaa, S. E. et al.:** Web-based screening and brief intervention for the spectrum of alcohol problems. *Prev. Med.*, 2004, 39, s. 969-975.
21. **Matthew, E., Dupre, M. A., Robert, H. et al.:** An Overview of National Alcohol Screening Day: Trends From 2001 to 2003 Alcohol Research & Health, 2004/2005, 28, s. 23-29.

Péče o potenciálního dárce orgánů

Jedním z problémů současné transplantologie je nepoměr mezi počtem potenciálních dárců orgánů a skutečných dárců. Existuje proto snaha zvrátit tento nepříznivý poměr. Časový interval mezi okamžikem smrti mozku a zajištěním orgánů pro transplantaci je často atakován nestabilitou vitálních funkcí dárce. Tyto poruchy mají za následek ztrátu 10–20 % potenciálních dárců pro transplantaci. Použití standardizovaných algoritmů a udržovacích léčebných postupů zlepšilo tento poměr.

Kardiovaskulární systém: Studie ukazují, že smrt mozku nepříznivě ovlivňuje kardiovaskulární systém. Cílem korekce hemodynamického statusu dárce je udržení normovolémie, udržení krevního tlaku, optimalizace srdečního výdeje s navýšením gradientů perfuzního tlaku, udržení krevního průtoku a uchování orgánových funkcí. U všech dárců by mělo být provedeno echokardiografické vyšetření. Hypotenze je spojena se snížením orgánových funkcí. Iniciální hypotenze se objevuje u 80 % dárců a perzistující hypotenze u 20 %, a to i přes vazoaktivní podporu. Je

velmi důležité korigovat multifaktoriální hypovolémii. Hematokrit má být alespoň 30. Problémem jsou i protichůdné požadavky na orgánovou perfuzi, a tedy antagonistické taktické postupy při náhradě tekutin. Konkrétně agresivní náhrada tekutin sice dovoluje lépe uchovat funkce ledvin, tento postup je ale naopak nevhodný pro odběr plic. U 70–90 % dárců lze hemodynamickou podporu úspěšně zajistit pomocí volumové resuscitace a malými dávkami vazopresorů, i když vysoké požadavky na vazoaktivní podporu ještě nevylučují možnost úspěšné donace.

Implementace standardizovaných postupů k udržení respiračních funkcí je velmi důležitá a lze s ní docílit i zlepšení funkcí plic, které se zpočátku nezdály vhodné pro transplantaci. Atelektázy a excesivní volumoresuscitace jsou dvě korigovatelné příčiny, které často brání použití plic pro transplantaci. Srdeční plnicí tlaky mají být adjustovány na tlak v zaklínění v plicnici 8 až 12 mmHg, nebo na centrální žilní tlak 6–8 mmHg. K udržení těchto hodnot je často třeba diuretik. Terapeutické intervence umožní až u 49 % původně marginálních vhodných plicních dárců.

Z dalších faktorů: U dárce je třeba kontrolovat intrakraniální tlak, korigovat hypernatremii při nově diagnostikovaném diabetes insipidus. Je třeba korigovat hyperglykémii, která je u dárců multifaktoriální (fyzický stres, infuze roztoků glukózy, vzestup kontraregulačních hormonů atd.). Dále je třeba čelit poruchám koagulace. Ztráta hypothalamické termoregulace, spojená se ztrátou vazokonstrikce a ztrátou schopnosti vyvinout třesavku vede k poikilotermii. Teplota tělesného jádra má být udržena na hodnotách nejméně 35 °C. I takto velmi stručně uvedený popis dokumentuje složitost problematiky, jejíž správné řešení zvyšuje počty vhodných dárců. Některé nové pohledy do problematiky péče o dárce se týkají např. úlohy hormonální substituce či farmakogenomické identifikace odpovědnosti na různá léčiva.

Literatura:

Wood, K. E., Becker, B. N., McCartney, J. G. AT al.: Care of the Potential Organ Donor. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 351, s. 2730-2739.

O. Louthan

Dědičnost mammografické denzity jako rizikový faktor pro karcinom prsu

Ženy s mammograficky denzními prsy mají 1,8–6 x vyšší riziko karcinomu prsu než ženy stejného věku s níže denzními prsy. Menopauza, váha a počet těhotenství ovlivňují z 20–30 % denzitu prsní tkáně.

Pro stanovení faktoru dědičnosti pro mammografickou denzitu prsů byly vyhodnoceny 2 studie: 353 párů monozygotních dvojčat a 246 párů

dizygotních z Austrálie, 218 jednovaječných a 134 dvouvaečných párů z Kanady a USA. Mammografické snímky byly digitalizovány, uspořádány náhodně a odečítány „na slepo“ radiology.

Po vyhodnocení všech korelačních koeficientů dědičná závislost denzity obou souborech byla 63%.

Výsledky studie podle autorů ukazují, že populační varianty v procentech mammograficky denzních prsů jsou dány ve velké míře dědičností.

Protože mammografická denzita je spojena s vyšším rizikem karcinomu prsu, hledání genu odpovědného za tento genotyp může být důležité pro poznání příčin vzniku tohoto onemocnění.

Literatura:

Norman, F., Boyd, M. D. et al.: Heritability of mammographic denzity, a risk factor for breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 347, s. 886 až 894.

J. Kopecký

Sto let od publikace první české učebnice farmakologie

Kršiak M.

Ústav farmakologie 3. LF UK, Praha



Obr. 1. Prof. MUDr. Karel Chodounský

Roku 1905 vyšla první česká učebnice farmakologie (1), kterou napsal prof. MUDr. Karel Chodounský, přednosta Ústavu farmakologie a farmakognozie (1902–1914) na české lékařské fakultě Karlo-Ferdinandovy univerzity v Praze. Tato kniha je cenným zdrojem poučení mimo jiné o tom, co se ve farmakologii za 100 let změnilo, a co zůstává stejné.

KAREL CHODOUNSKÝ

Profesor Karel Chodounský (1843–1931) (obr. 1) byl aktivní již za studia medicíny v Praze kdy byl praktikantem v přírodovědeckém oddělení Zemského muzea a publikoval v časopise „Živa“, vzbudil zájem i u Purkyněho, v jehož fyziologickém ústavu pak pracoval ještě před promoci; stal se také prvním předsedou Spolku českých mediků (2). Po promoci (1868) se věnoval klinické praxi (krátce i ve Francii), od roku 1877 působil jako praktický lékař v Praze na Smíchově, v letech 1878–1888 byl redaktorem Časopisu českých lékařů, hojně publikoval, habilitoval se nejdříve z balneologie a klimatoterapie, později i z farmakologie a toxikologie.

Prof. Chodounský měl mnohaletou a širokou klinickou zkušenost, smysl pro vědecké hodnocení a hluboký zájem o nejčerstvější lékařské publikace tuzemské i zahraniční, které průběžně studoval (což je zřejmé i z jeho učebnice, kde tyto publikace často citoval). Prof. Chodounský byl aktivní a vitální i v pozdějším věku (ještě ve svých 77 letech se ujímá úkolu založit farmakologický ústav na brněnské lékařské fakultě, a po dva roky je jeho prvním přednostou).

Prof. Vondráček ve svých vzpomínkách na prof. Chodounského uvádí (3): „Jako lékař měl výbornou pověst, byl by se málem stal klinickým farmakologem. Musel však praktické medicíny zanechat, aby se mohl věnovat teorii ... Byl střední postavy, když jsem ho poznal, měl lysou lebku a bílý plnovous. Byl to ušlechtilý člověk ... velký turista ... neunavitelný, nelitostně vláčel své společníky hodiny a hodiny v dešti po horách a liboval si, jaká je to krása.“

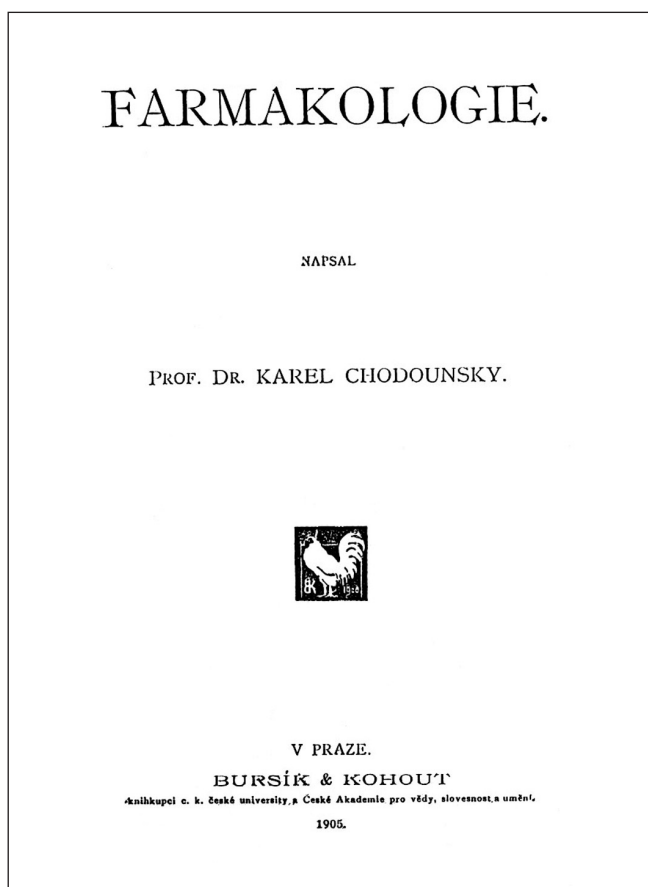
UČEBNICE FARMAKOLOGIE

Učebnice farmakologie (obr. 2) prof. Karla Chodounského má 466 stránek textu včetně několika tabulek, nemá však žádné obrázky ani schémata. První část učebnice (47 stránek) je věnována obecné farmakologii, zbývající převážná část je zaměřena na jednotlivé skupiny farmak tříděné téměř výhradně chemicky (např. skupina chloroformu, strychninu, kolchicinu, aromatických kyselin apod.), jen omezeně podle anatomicko-terapeutických hledisek (např. kardiaka a diuretika, projímadla), jak je to dnes obvyklé. U každé skupiny látek jsou probírány podrobně a barvitě také příznaky otrav jimi vyvolaných a způsob jejich léčby, takže učebnice by mohla oprávněně nést název „Farmakologie a toxikologie“.

Chodounského učebnice předkládá nejen holá fakta, ale i kritický názor autora na ně a seznamuje s „duší“ oboru (což má dobrá učebnice umožňovat (4)). Chodounský v úvodu píše: „Farmakologie, která jest jedním z fundamentů racionální terapie, stanoví fyziologický účín látek, míru jejich jedovatosti ... a odevzdává látku, f y s i o l o g i c k y a t o x i c k y pověřenou, klinice. Na terapeutických návrzích nemá již farmakolog přímého podílu, však zůstaveno mu právo kritiky. Tohoto práva užil jsem všude, kdekoliv jsem narazil na rozpor mezi fakty farmakologicky zjištěnými a mezi indikacemi ...“ Četné kritické postřehy prof. Chodounského v jeho učebnici jsou nejen poučné, ale dodnes platné, a proto jim níže věnuji více pozornosti.

Při pročítání obecné části učebnice dnešního čtenáře asi překvapí, že prof. Chodounský již před sto lety probíral na příklad vliv difuze, ionizace, rozpustnosti v tucích na účinek farmak, že se zmiňuje o oxidačních enzymech a některých pochodech biotransformace (např. glukuronidace), vše samozřejmě v mezích tehdejších poznatků

prof. MUDr. Miloslav Kršiak, DrSc.
Ústav farmakologie 3. LF UK
100 34 Praha 10, Ruská 87
fax: 267 102 461, e-mail: miloslav.krsiak@lf3.cuni.cz



Obr. 2. Titulní strana první české učebnice farmakologie

a s použitím tehdejší terminologie. Na příkladech výsledků z experimentů uvádí jev, který byl mnohem později nazván „first-pass“ efekt (neboli efekt prvního průchodu): „... zjištěna velká difference jedovatosti látky, byla-li tato nucena projít oblastí vrátnice. Petrone ... vstříkával strychnin a morfin jednak ve venu jugulární a jednak ve vena portae a poslední cestou klesala jedovatost obou látek ...“

Několik stránek obecné části Chodounský dokonce věnuje i problematice vztahu struktura–účinek, která se až mnohem později stala velmi aktuální a plodnou. Už před sto lety se na příklad vědělo, že přítomnost halogenů v molekule farmaka zvyšuje jeho účinky.

Probírán je i fenomén návyku, bouřlivých příznaků po vysazení, mechanismus vzniku tolerance na morfin.

Obecná část probírá i vliv individuálnosti na účinek farmak: vliv věku, výživy, vlivy „rodinné ... rasové“ (dnes bychom řekli genetické), projevy idiosynkrasie. Zde uvádí Chodounský jeden příklad z vlastní praxe: „Sám jsem viděl u dámy jinak zdravé, trpící úpornou neuralgií, které jsem aplikoval v podkožní injekci půl centigramu morfia, těžký kollaps se zánikem dechu, takže bylo nutno zavést umělou ventilaci.“

Většina dalšího textu je věnovaná jednotlivým skupinám farmak (speciální farmakologii). Tato část je zvláště cenným zdrojem poučení o tom, co se ve farmakologii a v medicíně za 100 let změnilo, a co zůstává stejné.

CO SE VE FARMAKOLOGII ZA 100 LET ZMĚNILO?

Z učebnice je zřejmé, že před sto (a více) lety byla farmaka podávána člověku někdy dost živelně nebo bez důkladného vyzkoušení (jaké je požadováno dnes), takže případy úmrtí i po akutním podá-

ní byly poměrně časté. Chodounský uvádí mnoho příkladů – například v kapitole o kokainu (jako lokálního anestetika) uvádí: „Smrt nastala po vstříknutí 0,1 g ve víčko oka v 5 hodinách. Injekce 0,6 g do močového měchýře sledována téměř okamžitým projevem otravy a ačkoliv měchýř hned vypláchnut, zemřel nemocný ve 12 minutách. Po injekci ...v urethru v jednom případě ... smřela již injekce 0,04 g ... Ruský chirurg Kolomin vstříkl nemocnému podkožně 1 g a smrt následovala v zápětí: Kolomin rozrušen, se na to zastřelil ...“

Samozřejmě nejnápadnější změna je v množství poznatků a farmak, které se za sto let objevily. Pozdější poznatky byly důležité nejen pro objev léčiv nového typu, které často znamenaly velký průlom a pokrok v terapii, ale i pro pochopení účinků léků již známých (a jejich racionálnější používání). Například roku 1905 ještě nebylo známo uplatnění acetylcholinu, noradrenalinu a jiných transmitterů v účinku farmak, takže účinky nikotinu, muskarinu, fyzostigminu, atropinu, a obdobných farmak musely být jednotlivě popisovány, aniž si je student nebo lékař mohl ujasnit a odvodit z fyziologie cholinergního přenosu. Nevědělo se o receptorech, druhých poslech a dalších molekulárních místech působení farmak. Bylo sice známo, že stimulace vagu způsobuje bronchokonstrikci, kdežto atropin působí poněkud bronchodilatačně, ale nebyla známa souvislost mezi těmito účinky, ani úloha dalších mechanismů v kontrakci hladkého svalu bronchu (např. úloha adrenergních receptorů, cAMP). Výrazný bronchodilatační účinek theofylinu byl objeven až později (před sto lety byl znám a využíván diuretický účinek theofylinu). Efedrin jako výchozí látka dalšího typu účinných bronchodilancií (adrenergních) se objevil v terapii a výzkumu také až později.

Vědělo se, že vagus stimuluje sekreci „žaludeční šťávy“, ale nevědělo se, že je to zprostředkováno acetylcholinem a že proto antimuskarinika by se mohla hodit k léčení vředové choroby. Chodounský uvádí dokonce i to, že „žaludek produkuje také specifickou šťávu bez vagů“, ale tehdy se ještě nevědělo o úloze histaminu (H2 receptorů) nebo protonové pumpy v sekreci HCl a pepsinu ani o látkách, které by ji tímto způsobem tlumily a které po svém objevu přinesly velký pokrok v léčení vředové choroby (antagonisté H2 receptorů, inhibitory protonové pumpy).

Chodounský podrobněji pojednává o kumulaci u náprstníkových glykosidů i o určitém dávkování, ke kterému se empiricky došlo a které by při dnešních poznatcích farmakokinetiky bylo pochopitelnější a více předvídatelné.

Nevědělo se ještě o inzulínu ani o vitamínech. Dostatečně účinné léky na cukrovku tehdy neexistovaly. Byl však už znám sacharin. Neznalost úlohy vitaminů ztěžovalo oddělování „zrn od plev“, například u rybího tuku (ol. jecoris aselli) se uvádí: „Od let dvacátých století minulého byl dáván v rozsáhlé míře při scrofulose a tuberkulose, jakož i při rhachitidě a úplavici cukrové a dlouhou dobu byl považován za specifikum proti těmto chorobám. Používání jeho kleslo novější dobou na minimum a správně se mu přisuzuje pouze význam výživný, o jehož vhodnosti lze naprosto pochybovat. Chuť jest více méně odporná a tato sama stačí, aby se váhalo s jeho podáváním ...“

Nebyla k dispozici dostatečně účinná a bezpečná léčiva na infekční onemocnění, u syfylyis se používaly toxické sloučeniny rtuti (kalomel, sublimát – jejich používání Chodounský značně kritizoval) a jodid draselný (který se používal i v mnoha dalších indikacích, z čehož vzniklo rčení „Nevíš-li co dáti, dej kalii jodati“). Terapeutické možnosti infekčních onemocnění se zlepšily až ve třicátých a čtyřicátých letech dvacátého století uplatněním sulfonamidů a prvních antibiotik.

V učebnici nejsou zmíněny hormony ani alergie a léky jí ovlivňující. Hlavním lékem u epilepsie byly před sto lety bromidy (fenobarbital se objevil až roce 1912). Indikací kurarinu byly křeče při tetanu, vzteklině, ale neuvádí se možnost jeho použití jako myorelaxans v chirurgii (k tomu došlo až o 38 let později).

Žádná psychofarmaka samozřejmě nejsou uváděna (ta se objevila až za 50 let), překvapí však, že se již používalo lithium carbonicum, nikoli ovšem v dnešní indikaci k profylaxi bipolární afektivní poruchy, ale „při dnových chorobách, kaméncích močových, při hostci ...“

Nebyla známa antihypertenziva ani potřeba pravidelně kontrolovat krevní tlak (ačkoli „Gaertnerův tonometr“ a zvyšování TK při éterové narkóze jsou již uváděny), ani rizika hypertenze a samozřejmě ani hypolipidemia (dvě skupiny léčiv, které v posledních letech významně přispívají k prodloužení střední délky života).

Vedle právě uvedených rozdílů svědčících o úžasném pokroku ve farmakologii a farmakoterapii v uplynulých sto letech je také poučné všimnout si naopak toho, co se za tu dobu nezměnilo, co je zde stále platné a obstálo ve stoletém „přirozeném výběru“.

CO Z TEHDEJŠÍ FARMAKOLOGIE PLATÍ I DNES

V Chodounského učebnici je uvedena kyselina acetylsalicylová s dnešní indikací jako analgetikum, antipyretikum a antirevmatikum s uvedením rizika dráždění žaludku, krvácení a nefrotoxicity (nebyl ovšem ještě znám její protidestičkový účinek a její uplatnění v prevenci cévních příhod), dále je v ní uveden salicylan sodný (s poznámkou „dnes ...upotřeben salicylanu sodnatého jest omezeno“, což platí i v současnosti).

Používal se nitroglycerin, náprstníkové glykosidy, kofein, morfin, kodein, fyzostigmin, atropin, skopolamin, kolchicin, chinin většinou v podobných indikacích jako dnes. Byly známy hlavní účinky námelových alkaloidů a vědělo se, že se mají aplikovat až po vypuzení placenty, a ne při porodu (neuváděla se možnost jejich použití u migrény). Používala se některá „dnešní“ projímadla již tehdy klasifikovaná jako dráždivá (folium sennae) a osmotická (síran hořečnatý). Natrium bicarbonicum byl určen pro „chronické katarhy žaludku“, manganistan draselný (hypermangan) je již uváděn jako silné oxysličovadlo „k vnějšímu upotřebení za cílem desinfekčním a desodorujícím“, peroxid vodíku jako antiseptikum, preparáty síry (např. sulfur praecipitatum) u akné a v kožním lékařství. Používal se dehet, ichtyol, silice, balzámy, kafr, uváděn je i pověstný opodeldok (dlouho zůstal oficiální jako linimentum saponato-camphoratum). Už tehdy panovaly rozpaky o použití Cannabis sativa, příslušná kapitola končí závěrem: „Býval zkoušen jako narkotikum při nespavosti, bolestech, křečích ... při krvácení z rodidel vesměs s účinkem docela problematickým ... Pro drogu i preparáty nemáme nijakých indikací.“

Podrobně je popisován způsob celkové anestezie éterem a chloformem (který je správně označen jako toxičtější) s důležitou připomínkou „že zachovati se má princip, aby nemocný současně vdechoval dostatečné množství vzduchu ... inhalace se vysadí, jakmile zanikly reflexy ...“ a že „Na masku nemá se ether liti, nýbrž kapati (tak) „že nemocný při každém vdechu může zároveň dostatek vzduchu vdechnout.“ Riziko úmrtí v éterových narkosách bylo malé – uvádí se statistika podle které připadlo 1 úmrtí na 16 675 narkóz nebo také žádné úmrtí u 150 tisíc narkóz. Chodounský dokonce uvádí i regionální (spinální) anestezii kokainem, která byla tehdy ještě úplnou novinkou: „Anesthesie dolních končetin a trupu docílí se po intramedullární aplikaci úplná; všechny operace i řezání kostí a p. dokonají se bezbolestně a při plném vědomí nemocného.“

KRITICKÉ POZNÁMKY PROF. CHODOUNSKÉHO

Kritických vyjádření prof. Chodounského k tehdejší farmakoterapii a k různým tehdejším nešvarům je v učebnici mnoho. Kritizu-

je používání mnohých farmak pro neúčinnost nebo toxicitu (doba mu dala za pravdu – většina z nich se už nepoužívá), kritizuje falešné přehlížení rizik některých léčiv v odborné literatuře, nedostatečné ověření nových léčiv a jejich dávek, apod. Odmítá mnohé sporné farmakoterapie, např.: „Zcela nepochopitelné jest, že stále se doporučuje námel jako h a e m o s t a t i k u m při jakémkoliv krvácení vnitřních orgánů ...“, nebo: „Již roku 1891 poukázal jsem v Časopisu českých lékařů č. 1 na nepřistojnost šablonovitě a obvyklé metody antipyretické. Žádným pouhým antipyretikem nemění se průběh choroby, aniž se zkracuje její trvání ...“ a dále píše „... sluší dodat, že antipyretickým dávkám vzdorují horečky při pneumonii, ... erysipelu, septických chorobách a že forsovány byly dávky, které nemohly mít jiného následku, než hluboký kollaps.“

Jeho komentáře a názory nebyly ovšem jen jednostranně kritické, snažil se najít pravou hodnotu léčiva (dnes se říká poměr prospěchu a rizika – „risk and benefit ratio“). Obdivuhodné je, že už tehdy kladl důraz na vědecký průkaz účinnosti farmaka (dnes se říká EBM – „Evidence Based Medicine“), např.: „Lysidin (methylglyoxalidin) chválen při dně; pověřených zpráv málo.“ Pregnantně to vyjádřil hned v úvodu učebnice: „Kdyby měli praktikové dostatečné základní vědomosti o fyziologickém působení a významu látek, nekladli by v příčině medikamentosní terapie, jak Schmiedeberg (Arzn. 1902) praví »na v l a s t n í zkušenosti a s u b j e k t i v n í přesvědčení hlavní váhu, tak že pak mizí hranice mezi léčbou o vědecký podklad opřenou a mezi f u š e r s k ý m použitím látek jednak úplně indifferentních a jednak škodlivých.«“

Tato kritická poznámka prof. Chodounského bohužel může být někdy aktuální i dnes, podobně jako i některá jeho další vyjádření: „... nejsmutnější (je) faktum, že se kliniky a praxe zhusta propůjčily k službám interessů továrních ... na náš trh hrnou se stále nové (léky), hned se „zkoušejí“ na nemocných a lékařská žurnalistika takto získaným terapeutickým „pracím“ ochotně otvírá své sloupce, – ba není téměř ... časopisu praktického lékařství, který by nevycházel bez inzertní ozdoby všemožných medikamentosních šmejdů ...“

Práce farmakologické publikují také neodborníci ... (kteří) ... široce rozšlapávají věci lhostejné, podružné i dávno na jisto postavené ...

Vedle toho počítá terapie s celou řadou látek úplně zbytečných, neboť jedny nemají žádného léčivého významu vůbec, druhým se nějaký nepatrný a nedokazatelný podkládá ... Neznám důvodu, proč by neměly škrtnuti býti ze seznamu léčiv látky jako jsou ... a celá řada jiných.

Vyslovuji se zpřímá, s p l n ý m v ě d o m í m z o d p o v ě d n o s t i a s vědomím, že to znamená plavbu proti proudu.“

LITERATURA

1. **Chodounský, K.:** Farmakologie. Praha, Bursík a Kohout, 1905, 466 s.
2. **Květina, J.:** Farmakologické curriculum na území Čech a Moravy. Praha, Karolinum, 1998, 73 s.
3. **Vondráček, V.:** Lékař vzpomíná. Praha, Avicenum, 1978, 429 s.
4. **Wenke, M.:** Úvaha o učebnicích farmakologie. Klinická farmakologie a farmacie, 2005, 19, s. 79-81.

Děkuji prof. MUDr. M. Wenkeovi, DrSc., členu České lékařské akademie, za poskytnutí podobizny prof. Chodounského.

110. výročí úmrtí lékaře a vlastence Viléma Dušana Lambla (1824–1895)

Kilian J.

Stomatologická klinika LF UK a FN, Plzeň

A si 30 kilometrů jižně od Plzně, v trojúhelníku ohraničeném městy Přeštice – Blovice – Nepomuk, leží malá ves Letiny, známá v minulosti především svými lázněmi. Zde se 5. prosince 1824 narodil v rodině hospodářského správce významný český lékař a vlastenec, vynikající patolog, histolog a terapeut Vilém Dušan Lambl.

O jeho dětství není mnoho zpráv; z letinské matriky se dozvídáme, že pokřtěn byl jménem „Wilhelm“, používal však jen české jméno „Vilém“. Pocházel z pěti dětí (1); dva z Lamblových bratrů byli později významnými zemědělskými odborníky. Starší bratr Karel Milan Lambl se proslavil velkým melioračním dílem v Itálii, mladší bratr Jan Baptista Lambl byl profesorem a později i rektorem techniky a významným organizátorem zemědělského školství.

Dostupné prameny uvádějí, že Vilém Dušan Lambl studoval na gymnáziu v Plzni a na Akademickém gymnáziu v Praze (2). Kolem roku 1845 se zapsal na lékařskou fakultu v Praze a kromě studia medicíny se horlivě věnoval i literární činnosti. Rád a hojně cestoval zejména se svým bratrem Janem, navštívil Moravu a Slovensko a pěšky se vydal z Prahy do Terstu. V časopisu „Poutník“ zveřejnil svou studii „Cesta po Slovensku, v severních stolicích Uherska pod Tatrami“. Vydává se i do Rakouska a navštěvuje jeho alpské oblasti.

V roce 1846 vydává spisek „Pohled na Bosnu čili krátká cesta do oné krajiny vykonaná od jednoho krajana“ a také přispívá do Havlíčkových Národních novin. V roce 1848 odchází do Dalmácie a na Černou Horu, aby tam studoval faunu Jaderského moře a je zde hostem vladky Petry Petroviče Njeguše. Ze svých balkánských cest publikoval Vilém Lambl celou řadu článků v „Pražských novinách“ a v „Musejníku“, například „Dopisy a obrazy z Jihoslovan“, „Zpráva o Černé Hoře a Černohorcích“, „Paběrky obsahu lékařského z Jihoslovan“, „Nástin flory dalmatinské“, „Horstvo Velebitské“ a další.

Na pražské lékařské fakultě promoval 23. ledna 1851 a stal se asistentem na patologické anatomii, v soukromém ústavu Jana Jungmanna vyučoval zoologii. V roce 1855 byl pražskou lékařskou fakultou vyslán na cesty po Anglii, Francii, Itálii a Německu. Přednášel v Londýně, a v Paříži v Institut de France. Navštívil pařížskou výstavu a v roce 1855 o ní napsal zprávu pro vídeňské ministerstvo.

V roce 1856 se stal prvním pražským soukromým docentem patologické anatomie a histologie. Z této doby pochází i jeho objev atrofických Lamblových výrůstků na chlopních (3). Pracoval v Löschnerově dětské nemocnici, kde také v roce 1859 učinil svůj známý objev: popisuje bičíkovce *Cercomonas intestinalis*, známého později jako *Lambliia intestinalis*. Přípravuje přednášky a demonstrace pro mladé lékaře, kteří v té době přicházejí do Prahy až z daleké Ameriky, Dánska, Holandska, Německa a Ruska. Proto anatomii přednášel i rusky.



Obr. 1. Vilém Dušan Lambl

Byl intenzivně literárně činný, zveřejňuje řadu článků z přírodních věd a medicíny zejména v německy psaných časopisech vydávaných v Praze, Berlíně a Vídní, píše však i česky. V roce 1860 vydává německy téměř 400 stránkovou publikaci s 20 tabulkami svých kreseb s názvem „Pozorování a studie z patologické anatomie a histologie“.

Na základě své odborné činnosti a pověsti dostává nabídky z univerzit ve Würzburgu a Turinu, a když je mu tehdejší protomedikem Nádherným sděleno, že pro jeho slovanské smýšlení není pro něho v Rakousku místo, přijímá v září 1860 mimořádnou profesuru patologické anatomie a histologie v Charkově a od té doby se věnuje výhradně Rusku. Za rok se stává řádným profesorem, třikrát si prodlužuje pas a nakonec se stává ruským občanem. Není bez zajímavosti, že v některých životopisných pramenech je uváděn jako Lambl Vilém Dušan Fedorovič.

V roce 1862 navštěvuje výstavu v Londýně a píše o ní zprávu pro ruskou vládu. Ve svých 39 letech je rok poté jmenován tajným císařským dvorním radou. Odjíždí do Anglie a Skotska, pilně navštěvuje anglické nemocnice a přátelí se s významnými lékaři těchto

zemí. Téhož roku přednáší v Moskvě o anatomii, odjíždí na Kavkaz a studuje tamní minerální lázně. V Rusku je velmi vážen, je vyznamenán ruskými řády sv. Anny a Vladimíra, je mu udělen doktorát honoris causa.

Po 11letém působení v Rusku odchází v roce 1871 do Varšavy, kde se stává profesorem terapie a ředitelem kliniky; má také na starosti nemocnici sv. Ducha. Neustává ve své literární a publikační činnosti a „Index operum“ u příležitosti jeho padesátin obsahuje seznam více než 100 jeho prací. O prázdninách rád navštěvuje svoji vlast a s oblibou se uchyluje na Hrubou Skálu u Turnova. I přes pokročilý věk je velmi činnorodý a pracovitý. Umírá ve Varšavě 25. února 1895, dva měsíce po svých sedmdesátinách na mozkovou embolií. Po jeho smrti zakládá jeho bratr Jan z jeho peněz nadaci pro český vědecký dorost ve výši 20 000 zlatých; polovinu věnuje české lékařské fakultě, polovinu české technice.

Jaký byl Vilém Dušan Lambl jako člověk? V mládí živý, veselý, společenský. Podle cestovního pasu byl „postavy střední, obličej podlouhlého (jindy zase „oválného“), měl černé oči, černé vlasy, snědý obličej. Ostrý pohled na fotografiích a jeho živost snad naznačují mírnou hyperfunkci tyreoidy. „Nikdy nedovedl plout hladce životem, stále temperamentní, až neúměrně za vše bojoval, o čem pracoval“. Byl vážen „znamenitý ten učenec, kterého chlubou naši nazýváme“ (píše Eiselt v roce 1862), „povaha rázná, ryzí, bez vši nepřírozené hledanosti a šlechtná, jako přítel upřímný“ (3).

Když se v roce 1854 ucházel o habilitaci, ptalo se gubernium policejního ředitelství na jeho politickou spolehlivost. A policie odpověděla, že V. D. Lambl „na českém hnutí roku 1848 měl živou účast“. Pro své názory a slovanskou orientaci je se svými bratry Karlem a Janem hlídán policií jako politicky kompromitovaný, byt opatrný. V tajných spisech policie je označován jako autor „pověst-

né němcožroutské písně Šušelka nám píše“ (3), kterou dal svému příteli Karlu Havlíčkovi Borovskému. Teprve po roce 1857, kdy už žil jenom pro svoji vědu, byl puštěn policií z dohledu. Podle svých přátel se „změnil v asketu, který život a zábavy neznal a žil jen vědě“.

Nelze se nezmínit o tom, že Lamblův život výrazně ovlivnilo i několik žen. Ještě za dob studií usiloval – spolu se známým Vojtěchem Náprstkem – o přízeň Tinky Krákorové, s níž však Náprstek nakonec odjel do Ameriky. Poté se Vilém Lambl důvěrně přátelil se Sofií Rottovou, sestrou spisovatelky Karoliny Světlé. Tento vzájemný vztah však neodolal osobnosti a kráse Boženy Němcové. O čtyři roky mladší Vilém Lambl se stal jejím milencem a natrvalo pak patřil k jejím nejbližším přátelům.

Vilém Dušan Lambl patří mezi ony významné osobnosti české medicíny, které se proslavily především za hranicemi své vlasti: Vždyt „díky“ rakouským úřadům byl nucen prožít 35 let svého života v Rusku a Polsku. Letošní 110. výročí jeho úmrtí je vhodnou příležitostí, abychom si život a dílo tohoto významného lékaře a vlastence připomněli.

LITERATURA

1. **Urban, J. F.:** Letinští Lamblové. Český deník z 5. 6. 1942.
2. **Navrátil, M.:** Almanach českých lékařů. Praha, nákladem spisovatelovým, 1913, 171 s.
3. **Matoušek, O.:** Lékaři a přírodovědci Purkyňovy doby. Praha, Státní zdravotnické nakladatelství, 1954, s. 171-177.
4. **Kilian, J.:** Západočeský rodák Vilém Dušan Lambl. Plzeňský lék. Sborn., 1993, 66 (Suppl.), s. 241-242.

Pavelka, K. et al.: **FARMAKOTERAPIE** **REVMATICKÝCH ONEMOCNĚNÍ**

Praha, Grada., 2005, 343 s., cena 695 Kč. ISBN 80-247-0459-5.

Dynamika farmakoterapie je typickým znakem klinické medicíny současnosti. Validita informací z této oblasti patří k těm, které mají nejkratší poločas. V plné míře to platí i pro farmakoterapii revmatických onemocnění. Náléhavého úkolu předložit odborné veřejnosti soubor aktuálních informací o této problematice se úspěšně ujal prof. Karel Pavelka s vyzrálým kolektivem Revmatologického ústavu Praha, doplněným jen o několik externích spolupracovníků. Celou knihou důsledně prostupuje princip „farmakoterapie na základě důkazu“.

KNIHY

Vlastní obsah je rozdělen na část obecnou a speciální. Soubor 20 kapitol obecné části je didakticky utříděným přehledem současných možností v revmatologické farmakoterapii od analgetik a nesteroidních antirevmatik přes chorobu modifikující léky a glukokortikoidy až k možností biologické léčby, která představuje kvalitativní zvrat v terapii některých systémových revmatických nemocí. Speciální kapitoly se zabývají farmakoterapií v graviditě nebo v laktaci a ve stáří. Další 22 kapitol speciální části je analýzou farmakoterapie u jednotlivých revmatických onemocnění. Cílená pozornost je v tomto kontextu věnována osteoporóze (včetně indukované glukokortikoidy) a léčebným přístupům k různým formám mimokloubního revmatizmu.

Knihla je evidentně koncipována tak, aby byla přínosem jak pro kliniky, kteří řeší prognosticky

závažné případy na specializovaných pracovištích, tak pro širokou škálu lékařů, kteří přicházejí ve svých ordinacích do styku s tzv. malou revmatologií. Předností publikace je bohatá tabelární a obrazová dokumentace, obsáhlý přehled použitých zkratk a podrobný rejstřík.

Knihla o farmakoterapii revmatických onemocnění je určena nejenom specialistům (v revmatologii, interně, ortopedii, rehabilitaci apod.), ale také k využití v klientele praktických lékařů. Úspěšná léčba je cílem snažení každého lékaře. Předpokládám proto, že knihla o farmakoterapii revmatických onemocnění bude brzy rozebrána. Už dnes se těším na její další vydání s informacemi, které na nás čekají za dveřmi blízké budoucnosti.

Zbyněk Hrnčíř
500 05 Hradec Králové, Pospíšilova 13

Jeden ze slavných zapomenutých

Hach P.

Ústav pro histologii a embryologii I. LF UK, Praha



Při listování historickým seznamem, ve kterém jsou uvedena jména vynikajících českých biologů a lékařů, mě mimoděk s neuvěřitelnou aktuálností napadá známý výrok: „Běda národům, které si neumějí vážít svých slavných mrtvých“.

To, že naši bývalí mocipáni dokázali v nedávné minulosti téměř dokonale vymazat z povědomí našich krajanů mnoho vynikajících a slavných osobností, na které by byl kterýkoli jiný národ v Evropě i mimo ni neskonale pyšný, bereme už téměř jako otřepanou frázi. Když se ale připomíná konkrétní osoba, pak velmi často jen žasneme, jak se vůbec mohlo stát, že tak dokonale zmizela v propadlišti dějin.

Do této skupiny sice nezaslouženě, ale zato velmi dokonale zapomenutých představitelů české biologické vědy patří i prof. MUDr. František Karel Studnička, vynikající představitel české histologie, jehož dvojí výročí – 135 let od narození a 50 let od úmrtí – bychom si letos mohli a mnohem spíše také měli připomenout.

Profesor Studnička se narodil v Praze 25. listopadu 1870 jako syn profesora matematiky na Karlově univerzitě a zakladatele českého matematického ústavu po rozdělení UK. Po maturitě na Akademickém gymnáziu vystudoval medicínu na české lékařské fakultě University Karlo-Ferdinandovy a 23. července 1895 byl promován Doktorem veškeré medicíny.

Již jako student pracoval v Ústavu pro zoologii a srovnávací anatomii Filozofické fakulty UK vedeném prof. Vejvodským, vedoucím představitel české morfologie. Po promoci pracoval jako externí lékař pražské Všeobecné nemocnice. Volného pracovního postavení i snadného cestování po Evropě dosud nesešňorovaného

administrativními předpisy využil k několika zahraničním pobytům (u prof. Fűrbigera v Jeně, u prof. Ebnera ve Vídni, u prof. Hertwiga v Berlíně a v zoologických stanicích v Terstu, Neapoli a norském Bergen). Po návratu do Prahy našel první „stálé“ zaměstnání jako praktikant Univerzitní knihovny v Praze.

V roce 1890, tedy pouhých 5 let po promoci a navíc zcela mimo pracovní náplň svého hlavního zaměstnání, habilitoval z histologie a mikroskopické anatomie živočišného těla na Filozofické fakultě UK-F. Základem pro habilitaci byly jeho práce o původu mozkové kůry.

Po založení českého Vysokého učení technického v Brně (na přelomu let 1899 a 1900) se stal knihovníkem jeho knihovny, habilitoval i v oboru všeobecné zoologie a srovnávací anatomie a od začátku roku 1902 působil na VUT v Brně též jako soukromý docent všeobecné zoologie a srovnávací anatomie.

Roku 1909 byl jmenován mimořádným profesorem ve svém oboru, ale až roku 1912 mu bylo na VUT přiznáno místo honorovaného docenta (zoologie a nauky o důležitých látkách živočišných pro chemické inženýrství).

Koncem I. světové války, v roce 1918, odmítl nabízené místo profesora histologie a embryologie na nově zakládané lékařské fakultě v bulharské Sofii.

Po vzniku samostatného Československa se velmi aktivně podílel na všech aktivitách vedoucích k založení Masarykovy univerzity v Brně a v jejím rámci pak také lékařské fakulty (byl mimo jiné členem komise pro zřízení MU) a 28. července 1919 byl jmenován prvním řádným profesorem histologie a embryologie na LF MU a vedoucím stejnojmenného ústavu. V čele ústavu stál až do 30. září 1934, kdy k velkému překvapení pražských histologů byl povolán na Lékařskou fakultu Univerzity Karlovy v Praze, aby převzal ústav po zemřelém profesoru Otakaru Srdínkovi. Ústav vedl až do svého penzionování v únoru 1939.

Kromě svého oboru přednášel v Brně po jistou dobu, než se podařilo vychovat a stabilizovat učitelství sbor na nově založených vysokých školách a jejich pracovištích, na lékařské fakultě také obecnou biologii spolu s prof. Babákem a histologii a embryologii na Zvěrolékařské fakultě VUT.

V Brně se velmi činně podílel na akademickém životě – byl spoluzakladatelem Přírodovědeckého klubu, Moravské přírodovědné společnosti a Biologické společnosti, které po řadu let i předsedal, od roku 1912 redigoval Biologické listy.

Po příchodu do Prahy se stal jedním z iniciátorů založení Purkyňovy společnosti, sdružení pro studium osobnosti a díla J. Ev. Purkyně. V této souvislosti zejména hájil jeho prioritu v otázce formování buněčné teorie a zavedení pojmu „protoplazma“. V této činnosti pokračoval až do smrti.

Vědecká činnost profesora Studničky se dotkla zejména obecné histologie, srovnávací a mikroskopické anatomie a embryologie,

cytologie, mikroskopické techniky a dějin biologie. Publikoval přes 300 vědeckých prací.

Pro studenty brněnské fakulty sepsal velmi kvalitní učebnici histologie, která vyšla „na rozloučenou“ s Brnem v roce 1934.

Významným přínosem pro teorii mikroskopie a její praktickou aplikaci byla i práce „Praktická mikroskopie“ z roku 1923.

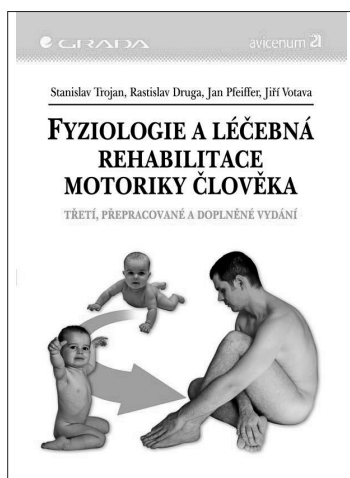
Ve své době byl uznáván světovou odbornou veřejností za vynikajícího odborníka ve srovnávací a vývojové morfologii, i když některé jeho závěry nebyly od počátku jednoznačně uznávány (popis parietálních orgánů mihule, původ mozkové kůry u obratlovců aj.). Díky svému mimořádně širokému přehledu v oboru se stal jedním z vůdčích představitelů bádání o živé hmotě a její základní organizaci (první monografie „Die Organisation der lebedigen Masse uveřejnil v Berlíně roku 1929). V pozdějším období se snažil prokázat svoji exoplazmovou teorii (své závěry shrnul v monografii „Úvod do plasmatologie“ vydané v Praze roku 1952), která vycházela z dobově dostupných podkladů. Jak ukázal další vývoj oboru, byla tato teorie sice brilantní interpretací známých poznatků o složení a organizaci živé hmoty, ale její platnost nebyla dalším vývojem oboru potvrzena, naopak plně potvrzena byla teorie o buněčné stavbě organismů. Zaměření a vyznívání Studničkovo práce neodpovídaly představám marxistické ideologie. Profesor

Studnička byl sice v roce 1952 jmenován řádným členem Československé akademie věd, za svou monografii odměněn Státní cenou v roce 1953 a za celoživotní neúnavnou propagaci významu a díla J. Ev. Purkyně Medailí J. Ev. Purkyně – in memoriam v roce 1956, ale nebylo mu umožněno navázat na předválečné aktivity a jeho členství v ČSAV bylo pouze formální. Navíc jeho vážná oční choroba prakticky znemožňovala morfologické bádání.

Na celém procesu jeho zapomenutí se podstatně projeví i určité spory o tom, patří-li mezi biology, veterináře či mezi právoplatné příslušníky akademického sboru lékařských fakult – i jiné partikulární či víceméně osobní peripetie nespěšící příliš o morální výši těch, kteří je realizovali. Po jeho smrti sice vyšel v odborném tisku smuteční projev profesora Wolfa pronesený na pohřbu, ale ani v lékařském, ani v denním tisku se neobjevil jeho nekrolog.

Zbývá tedy po letech připomenout dalšího z galerie zapomenutých. I když se prof. F. K. Studnička vydal cestou, která se ukázala být slepou, jeho zásluhy o kvalitu a pověst české morfologie, českého vysokého školství i českého akademického života v období mezi oběma světovými válkami jsou nezpochybnitelné. Za to i za upřímnou oddanost vědě a vlasti mu právem patří naše úcta.

Requiescat in pace.



FYZIOLOGIE A LÉČEBNÁ REHABILITACE MOTORIKY ČLOVĚKA (3. přepracované a rozšířené vydání)

Stanislav Trojan, Rastislav Druga, Jan Pfeiffer, Jiří Votava

Opakované vydání této knihy potvrzuje skutečnost, že monografie úspěšně řeší velmi nesnadný úkol – stručně shrnout poznatky o centrálních mechanismech řízení hybnosti a informovat o možnostech odstranění, popřípadě zmírnění poruch motoriky metodami léčebné rehabilitace. Spolupráce teoretiků a klinických pracovníků skutečně zajistila, že se kniha stala nejen zajímavou, ale i nepostradatelnou pro zdravotníky, studenty řady oborů (se zaměřením zejména na rehabilitaci, fyzioterapii), ale i pro širší veřejnost. Významným a charakteristickým rysem třetího vydání je

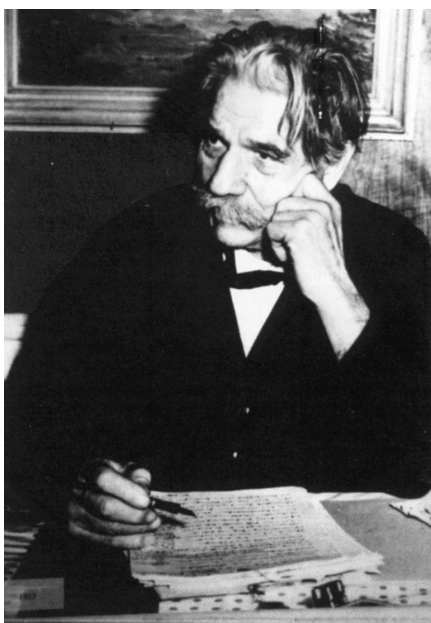
pak úplné přepracování části věnované systému moderní rehabilitace. V klasifikaci funkčních schopností došlo k pozitivnímu chápání celé problematiky, byl naprosto opuštěn pojem handicap, a naopak byl zaveden faktor prostředí. Celý systém se snaží nediskvalifikovat člověka, ale hodnotit situace, které mohou jedince uvést do „disabilitující“ situace. A tomuto novému chápání by měla posloužit i předkládaná publikace. Recenze: doc. MUDr. Z. Wünsch, CSc.

Vydala Grada Publishing v roce 2005. ISBN 80-247-1296-2, kat. číslo 1327, B5, brož. vazba, 240 stran, cena 265 Kč.

Publikaci můžete objednat na adrese: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz

Albert Schweitzer a dnešek

Kropáček L.



Obr. 1. Albert Schweitzer

Rok, jehož číselné označení končí tak jako letos pětkou, připomíná památku Alberta Schweitzera hned dvakrát: Narodil se 14. ledna 1875 a zemřel 4. září 1965.

Nebyli bychom však poctivými dlužníky, kdybychom si jeho životní vzor a myšlenkový odkaz připomínali jen podle kalendáře. Oslovuje nás všechny stále, křesťany i sekulární humanisty, ukazuje nám cestu, často přímo v oboru, ve kterém pracujeme, a všem lidem dobré vůle pomáhá docela určitě k orientaci v konfuzích a starostech, jimiž nás tak štědře zahrnuje naše doba. Povzbudivě působí již sama šíře Schweitzerových odborností a působení. Obzvláště vyzvednout si přitom zaslouží pevný a trvalý hodnotový základ, k němuž se hlásil a podle něhož řídil svůj život a práci jako lékař, filozof, teolog, misionář a třeba i varhaník interpretující Bachovu hudbu. Trvalost hodnot tu bije do očí zejména v bezděčném srovnání s vrtkavými názory, chováním a vkusem dnešní postmoderny. Věrohodnost Schweitzerova odkazu se zakládá na jednotě života a díla a na společném jmenovateli jeho veškerého úsilí, jímž se stal hluboce etický vztah k životu, tedy hodnota převážně nehmamatelná a nezpenžitelná a v dnešní době lhostejně vytěsňovaná z každodennosti i z její kulturní reflexe.

Etickými úvahami se Schweitzer zabýval již za studií filozofie a teologie na německých a francouzských univerzitách. V dizertaci věnované náboženské filozofii Immanuela Kanta upozornil kriticky na nedůslednost a nedokončenost etického myšlení uznávaného klasika. Ve vlastním bádání sám prohloubil své úvahy promyšlením

podnětů z Ježíšova evangelia, z Pavlových epištol, z pozdních stoiků a z orientálních filozofií se silným důrazem na osobní odpovědnost v mravní volbě. Kolem třicítky dospěl k přesvědčení, že etiku je nutné promítnout do činů. S rozhodnutím takto jednat se pustil do studia obecné a pak tropické medicíny, aby mohl co nejúčinněji pomáhat nejbídnějším nemocným v rovníkové Africe.

V roce 1913 odjel do Gabonu, kde v Lambaréné vybudoval dnes již dávno světoznámou, legendární nemocnici. Samo místní jméno kouzlem náhody jako by vybízelo k takovému činu: V jazyce tamní malé bantuské etnické skupiny galwa *lambareni!* znamená *mějme odvahu!* Schweitzer ji měl a v maximální míře ji spolu s vlastními prostředky a houževnatostí nasadil do díla. Před půl stoletím, při oslavách Schweitzerových osmdesátin, připomněl Albert Einstein motivaci a míru jeho přičinění: „Má radost z toho, že může použít svých paží a rukou k tomu, aby uskutečnil, co odpovídá jeho přirozenosti ... Nekázal a nevaroval a nesnil o tom, jak by se jeho příklad stal vzorem a útěchou. Jednal z vnitřní nutnosti.“ Nahlédnuto z křesťanského zorného úhlu, Schweitzer sám uváděl, že se rozhodl odejít do Afriky proto, aby mohl „činně uplatňovat náboženství lásky“. Dva roky po příchodu do Lambaréné, podle často citovaného podání prý při plavbě za pacientkou po řece Ogooué uprostřed rovníkového deštného pralesa, Schweitzer formuloval zásadní poznatek a princip svých etických úvah. Nazval jej úcta k životu (*Ehrfurcht vor dem Leben, le respect de la vie*). Bylo to již v době, kdy v Evropě i na několika místech v Africe lidé umírali na frontách první světové války. Velkého humanistu, chránícího svou lékařskou prací životy a jejich kvalitu, trápily již dříve známky mravní degradace soudobého člověka. Válečné zabíjení jím přímo otřásl. O Vánocích roku 1914 psal: „Každý den, když jdu ráno do nemocnice, pokládám za zvláštní milost, že mohu prokazovat lidem dobro a udržovat lidský život v této době, kdy tolik lidí musí z povinnosti přinášet jiným lidem bolest a smrt.“ Princip úcty k životu mu znovu dodal naději a sílu pokračovat v práci. Její smysl a duchovní význam dobře vnímal i jako křesťan: „Úcta k životu není ničím jiným než logickým přetlumočením poselství lásky Ježíše Krista.“ Jako hudebník zároveň chápal tuto nauku jako úsilí o převahu harmonie nad disharmonií.

Za druhé světové války nemocnice v Lambaréné sloužila jako útočiště pro Evropany i Afričany ohrožované střetnutími, jež se do francouzských kolonií přenesly z rozpolcené Francie. Nemocnice trpěla nedostatky v zásobování léky a zdravotnickým materiálem, před násilím ji však její patron, v té době již světoznámý, dokázal uchránit.

Jako anekdota zní převyprávění známého příběhu z období neklidu těsně po konci války. Generál de Gaulle jmenoval tehdy Schweitzera vojenským velitelem pro zajištění míru v Gabonu. Ten však vydal pouze jediný rozkaz: Složte zbraně! V dalším poválečném období se pak jeho příležitostná veřejná vystoupení vyznačovala eticky hluboce podloženým voláním po skutečném míru



Obr. 2. Nemocnice v africkém Lambaréné

a důrazným varováním před jadernými zbraněmi, založeným jak na etice, tak na vědeckém studiu hrozných následků radioaktivního záření. V roce 1952 mu byla udělena Nobelova cena míru. Příslušnou peněžní částku věnoval na rozvoj nemocnice a připojené „vesničky světla“ pro malomocné.

Koncem života byl Schweitzer po letech upřímného, ale někdy také alibistického a mýtotvorného obdivu západního světa vystaven i různě zaostřované kritice. Výtky se většinou vztahovaly jednak ke stavu nemocnice, jednak k paternalistickým postojům, které pralesní lékař zaujímal vůči Afričanům. V prvé rovině mu bylo vytýkáno, že nemocnici ani technicky, ani organizačně nemodernizuje. Stárnoucí humanista se skutečně leckdy bránil novotám, o jejichž užitečnosti se nedával přesvědčit. Jestliže však na provoz jeho nemocnice pohlédneme dnes očima lidí poučených pozdějšími zkušenostmi s rozvojovou pomocí, nemůžeme neuznat moudrost některých pravidel, jimiž se v Lambaréné řídili. Hospitalizovaní pacienti byli v souladu s africkou citlivostí doprovázeni příbuznými nebo přáteli, od nichž se očekávalo, že svou prací jak při ošetřování, tak i na stavbách, přispějí k úhradě léčení. V souhrnu byly výsledky léčebné péče v Lambaréné velmi dobré. Nemocnice přijímala i duševně choré, které tradiční africká společnost často vyvrhovala, a hledala příčiny v některých nezdravých domorodých návycích. V tomto ohledu bude jednou užitečné srovnat její zkušenosti s dnešními snahami rehabilitovat některé prvky tradičního léčitelství pod hlavičkou kulturního směru, jemuž v Jižní Africe říkají „africká renesance“.

V tomto kontextu si zaslouží připomínku, že v mezinárodním personálu, který se v Lambaréné porůznu prostřídával od 50. let minulého století, působil i několik lékařů z Československa. O různých stránkách života a myšlení Alberta Schweitzera vyšla u nás hezká řádka původních i přeložených knižních publikací. Jako jedinečně informačně bohatá a výstižná si zaslouží zvláštní zmínku knížka od bohužel již zesnulého olomouckého profesora MUDr. Eduarda Wondráka *Albert Schweitzer a Lambaréné* (1). Knižka nezapře hlubokou odbornost svého autora. Lékař i laik se v ní dočte mnoho zajímavého o paradoxech africké medicíny a také

o změnách nemocnosti v rovníkové Africe směrem k dnešku. Přátelé přírody zase ocení shrnuté poznatky o Schweitzerově citlivém vztahu ke zvířatům a všemu živému, jehož si trvale váží dnešní ekologové.

V postoji k Afričanům bývá Schweitzerovi vytýkáno nedostatek zájmu o jejich duchovní kulturu, jazyky, hudbu, výtvarné projevy. Afričané sami se za minulá desetiletí se Schweitzerovým odkazem sžili a začlenili si jej sami do svých maleb, soch i hudebních opusů, které spojují Bachovy tóny s hrozivými zvuky pralesa a naléhavostí afrických bubnů. Schweitzer sám byl v této rovině synem své doby. Sám se vůči svým africkým pacientům cítil jako starší bratr – s důrazem na slovo „starší“. Někdejší kritiky v podstatě odvál čas. Evropští antropologové připouštějí, že i sama schweitzerovská nauka úcty k životu a přesvědčení o hodnotě drobné každodenní práce mohly čerpat posilu i z africké půdy. A postoj staršího bratra nabyl dnes mimořádného významu tváří v tvář šířícím se arogantním postojům a cílům vyvozovaným z teze o střetu civilizací.

Schweitzerova dcera Rhena říkala v 70. letech minulého století, že kdyby otec stále žil, šel by nejspíše pracovat do předměstských slumů, do bidonvillů. Tam se v moderní Africe soustředilo nejvíce hmotné bídy a všestranného strádání. Schweitzerovský „starší bratr“ není nadřazený, autoritářský „velký bratr“, ale ten, kdo si uvědomuje svou odpovědnost vůči mladším sourozencům a poctivě se jim snaží pomáhat. Chová se k nim přitom s úctou, nevyužívá své mnohostranné převahy k dominanci, ale ukazuje všem cestu především vlastním dobrým příkladem. V tomto smyslu je dnes Schweitzer neméně aktuální, než byl ve své době. Teroristické a válečné zabíjení, které tak neblaze poznamenává naše počínající třetí tisíciletí, podtrhává závažnost etiky úcty k životu jako patrně nejdůležitější náboženské i humanistické hodnoty, jakou dnešní svět potřebuje.

LITERATURA

1. Wondrák, E.: *Albert Schweitzer a Lambaréné*. Praha, Globe, 1995.

DISKUZNÍ PŘÍSPĚVEK

**Ke komentáři prof. L. Sobotky k článku
Kabrnové K. a Hainera V.
„Úloha jednotlivých nutričních faktorů
v redukčním režimu“**

Prof. Sobotka ve svém komentáři (Čas. lék. čes., 2005, 144, s. 534) k výbornému článku Kabrnové a Hainera „Úloha jednotlivých nutričních faktorů v redukčním režimu“ výstižně charakterizuje rozpor mezi genetickou výbavou moderního člověka a jeho současným životním stylem. V závěrečném odstavci však překvapivě zmiňuje pejorativním způsobem jako „překvapivé a zaručené metody“ také „bariatrii“.

Chirurgické výkony mají v léčbě obezity dlouhou, již více než padesátiletou historii. Je potěšující, že Česká republika má v jejich uplatňování a dokonce zavádění světově uznávanou pozici díky prof. Marii Peškové a prof. Martinu Friedovi (1). Dnes představují bandáž žaludku, žaludeční bypass a – s určitými výhradami – biliopankreatická diverze standardní postupy v léčbě těžké obezity, které jsou nedílnou součástí doporučení publikovaných mezinárodními odbornými organizacemi i regulačními úřady v Evropě i USA. Jejich účinnost je podložena řadou kontrolovaných studií, např. studie SOS (Swedish Obese Study) ukázala, že bariatrický výkon je neefektivnější léčbou cukrovky 2. typu u těžce obézních diabetiků (2). Přesvědčivé doklady o pozitivních účincích bariatrických operací přineslo i nedávné zhodnocení této studie po deseti letech sledování (3, 4).

Výbor České obezitologické společnosti na svém jednání dne 19. září 2005 schválil tento text a žádá redakci Časopisu lékařů českých, aby jeho otištěním uvedla zavádějící vyjádření prof. Sobotky na pravou míru.

LITERATURA

1. **Fried, M.:** Moderní chirurgické metody léčby obezity. Praha, Grada Publishing, a.s. – Avicenum, 2005, 125 s. + CD.
2. **Sjöström, C. D., Lissner, L., Wedel, H., Sjöström, L.:** Reduction in incidence of diabetes, hypertension and lipid disturbances after intentional weight loss induced by bariatric surgery: the SOS Intervention Study. *Obes. Res.*, 1997, 5, s. 477-484.
3. **Sjöström, L., Lindroos A.-K., Peltonen, M. et al.:** Lifestyle, Diabetes, and Cardiovascular Risk Factors 10 Years after Bariatric Surgery. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 351, s. 2683-2693.
4. **Solomon, C. G., Dluhy, R. G.:** Bariatric Surgery – Quick Fix or Long-Term Solution? *N. Engl. J. Med.*, 2004, 351, s. 2751-2753.

*MUDr. Petr Sucharda, CSc.
sekretář České obezitologické společnosti ČLS JEP
III. interní klinika I. LF UK a VFN
128 08 Praha 2, U Nemocnice 1
e-mail: petr.sucharda@lf1.cuni.cz*

Odpověď na reakci výboru Obezitologické společnosti

Ve svém komentáři k článku „Úlohy jednotlivých nutričních faktorů v redukčním režimu“ jsem se snažil zdůraznit především skutečnost, že evolučně zakotvené mechanismy a současný životní styl zvyšují riziko vzniku obezity. Pravdou je, že dosud neexistuje zaručený, rychlý a snadný způsob léčby této civilizační choroby, bariatrickou chirurgií nevyjímaje. Nutná je pouze dlouhodobá změna chování a úprava stravovacích zvyklostí u obézních pacientů. Bariatrická chirurgie je metoda indikovaná zatím zejména u morbidně obézních a komplikovaných nemocných, a to i přes více než padesátiletou tradici. Já osobně nepokládám tuto metodu za metodu první volby a trvám na tom, že

pochopení základních fyziologických mechanismů, edukace nemocného a dodržení dietních a pohybových opatření – tedy změna chování – by měla v léčbě obezity hrát základní význam. Pro ty, kteří cítili z mého komentáře pejorativní nádech, dodávám, že mi v komentáři šlo o věcnou stránku a nikoliv o zlehčování některých metod léčby obezity.

*prof. MUDr. Luboš Sobotka, CSc.
Klinika gerontologická a metabolická FN
500 05 Hradec Králové
fax: 495 832 001, e-mail: pustik@lfhk.cuni.cz*

DISKUZNÍ PŘÍSPĚVEK

K článku P. Jehličky a O. Mayera jr. „Pilotní studie nové možnosti neinvazivního hodnocení dysfunkce endotelu pomocí analýzy charakteru postokluzního průtoku a. brachialis“

(Čas. Lék. čes., 2005, 144, s. 43-46)

Se zájmem a pečlivě jsem si přečetl článek P. Jehličky a O. Mayera jr. „Pilotní studie nové možnosti neinvazivního hodnocení dysfunkce endotelu pomocí analýzy charakteru postokluzního průtoku a. brachialis“ v prvním čísle tohoto ročníku.

Pokus o nový způsob hodnocení porušené vazomotoriky je symptomatický. Z některých formulací vyplývá, že neměří, jak je obvyklé, změnu průměru pažní tepny při reaktivní hyperémii po okluzi tepny, ale rychlosti toku a vypracovali index decelerace. Není jasné, zda měřili rychlost maximální nebo rychlost na konci diastoly nebo průměrnou rychlost. Z četných prací s okluzní žilní pletyzmografií je mnoho let známo, že u osob bez tepenných obliterací průtok při reaktivní hyperémii po uvolnění okluze mnohonásobně stoupne a během 7–15 s dosáhne maxima a pak poměrně rychle klesá. A obdobně se musí měnit i rychlost toku krve. Autoři však mylně očekávají maximální změnu rychlosti toku (respektive jejich indexu) mezi 1. a 2. minutou po uvolnění okluze, kdy dochází k maximální dilataci studované tepny (avšak jen asi od 5 do 10 %). Není však jasné, co autoři skutečně měřili. V názvu článku se píše o prů-

toku. V textu se však většinou píše o měření tlakového gradientu brachiální arterie a poměru těchto gradientů v 1. a 2. minutě po uvolnění okluze. Ve výsledcích se píše o gradientech toku krve. V grafu 1 je uváděn gradient v 0,4–1,1 torr !? A neuvysvětlují, proč jsou v grafu 1 hodnoty „gradientu“ před léčbou kolem 0,65 a po léčbě kolem 1,0. O měření tlaku však nikde není ani zmínka. U nemocných léčených fluvostatinem zjistili změnu deceleračního indexu z 3,45 % na 7,35 %. Neuvádějí však, proč to považují za známku zlepšení, neuvádějí, jak vypadá index u zdravých osob. V diskuzi autoři uvádějí, že cca od 60 sekundy navazovala decelerační fáze, která měla maximální strmost ve 2. minutě. Maximální strmostí se míní snížení rychlosti o 3 až 7 %? Domnívám se, že by autoři měli lépe popsat, co měřili a co zjistili.

MUDr. Jiří Spáčil

III. interní klinika 1. LF UK a VFN
128 08 Praha 2 U Nemocnice 1
e-mail: petr.spacil@lf1.cuni.cz

Recenze?

Není obvyklé, když se autor vyjadřuje k obsahu vlastní knihy. Protože se ale jedná o monografii „Vitiligo: Problems and Solutions“, jejímiž spoluautory jsou mezinárodní experti v problematice vitiliga, cítím povinnost obhájit jejich práci. Kniha byla vydána jako v řadě „Basic and Clinical Dermatology“, editované prof. A. Shalitou a prof. D. Norissem, bývalým šéfredaktorem Journal of Investigative Dermatology.

Autorem recenze, publikované v čísle 6, je člen redakční rady ČLČ a můj bývalý přednosta prof. P. Barták. Panu profesorovi vděčím za mnohé, díky jemu jsem například dostala možnost strávit téměř rok na vídeňské klinice u jeho přítele prof. K. Wolffa, což mi zcela změnilo pohled na dermatovenerologii a předurčilo můj profesní růst. Když mne pan profesor požádal, zda bych mu knihu nebo její kopii mohla půjčit, potěšilo mě to, neboť logicky těší zájem o práci, která trvala téměř tři roky. Navíc, pokud někdo z českých dermatologů publikuje monografii v prestižním nakladatelství v zahraničí (Marcel Dekker, New York, 2004), neděje se to každý den, týden, ba ani rok či desetiletí. S radostí jsem panu profesorovi poslala poštu nikoli knihu, ale xerokopii knihy před 2. korekturou s tím, že si ji může nechat (nedostala jsem totiž dosud ani autorský výtisk). O to větší bylo mé překvapení, když si mi opět poštu xerokopie knihy vrátila do 5 dnů s poděkováním „... díky za půjčení xeroxu a gratuluji k dobré práci“. Myslela jsem si tudíž, že pan profesor zřejmě prohlédl obsahy kapitol a napíše recenzi věnovanou zhruba obsahu knihy, jež má 502 stran (přečíst během 2 dnů takový rozsah je možné těžko, i pokud by se jednalo o českou beletrii).

Během následujících dnů se mi dostala do rukou recenze naší knihy publikovaná v New England Journal of Medicine, napsaná předním odborníkem na vitiligo profesorem E. A. Lernerem z Massachusettské nemocnice v Bostonu (Lerner, E. A.: N. Engl. J. Med., 2005, 325, 9, s. 949), ze které cituji: „Sílou knihy jsou názvy kapitol, jež představují excelentní nástin přístupu k léčbě vitiliga. Krát-

kost kapitol pomáhá udržet čtenářovu pozornost, ale také soustředí autory na jejich témata ... Kapitola 19, ... je výborným pohledem na psychologické aspekty choroby ... Tato kniha slouží jako potřebný zdroj informací pro čtenáře, kteří se zajímají o vitiligo a pro ty, kteří se možná začnou zajímat o tuto důležitou jednotku.“

Tato recenze, publikovaná i s barevnou fotografií choroby, byla pro mne tou nejlepší odměnou po čase stráveném nad přípravou knihy, komplikovaným například neplánovaným stěhováním kliniky.

Recenze profesora Bartáka je kontrastem k recenzi prof. Lernerova. Místo toho, aby možná právě on zmínil, kolik asi dermatologických titulů bylo vydáno českými kolegy v zahraničí, jaké je renomé české dermatologie ve světě a kolik podobných titulů bylo kdy napsáno u nás či v zahraničí, či doplnil své zkušenosti s léčbou vitiliga, rozhodl se kritizovat neexistující tiskové chyby (protože byly opraveny v korektuře), neexistující tabulku (která byla ve finální verzi vynechána) nebo některé výrazy (jejichž kritika je spíše prezentací vlastního názoru, nepodloženého literární citací). Každý však má právo na názor, pan profesor, vy, čtenáři i autor či spoluautor. Víím, že nesouhlas se šéfem se trestá. A když pro pana profesora existují průměrní dermatologové (... „pro průměrného dermatologa objevné spojení hypacuse a vitiliga ...“), musí existovat i průměrní šéfové. Převzala jsem kliniku již před deseti lety a nechci být průměrným šéfem, chci a raduji se z každého, i malého úspěchu svých kolegů, spolupracovníků. Zaslouží si to!

P. S.: Pro ty, kteří se zajímají o vitiligo, je kniha u mne kdykoli k dispozici, zmíněná recenze je na www.nejm.org (March, 2005).

prof. MUDr. Jana Hercogová
180 01 Praha 8, Budínova 2
e-mail: dermatology@fnb.cz

XVI. kongres hyperbarické medicíny Čeladná, 9.–10. června 2005

Ve dnech 9. a 10. června se v Čeladné v Moravskoslezském kraji konal XVI. kongres České společnosti hyperbarické medicíny ČLS JEP. Organizátorem byl MUDr. Michal Hájek z Městské nemocnice v Ostravě, který zde působí na anesteziologicko-resuscitačním oddělení s nejstarší velkou léčebnou barokomorou v České republice. Právě toto pracoviště letos oslavilo 40. výročí své existence a o pět roků méně, svoje 35. narozeniny, vzpomenu zase pracoviště plzeňské, na I. interní klinice FN - Lochotín.

V Čeladné se tentokrát sjeli mladí pokračovatelé tradice, jejichž zakladateli byli jak ostravští lékaři Dostál, Ševčík, Holec, Krásová (1965), tak i pražský nestor hyperbarické medicíny z Ústavu leteckého zdravotnictví ÚVN ve Stěšovicích MUDr. Vladimír Doležal, ale i plzeňský tým Barcal, Hadravský a Emmerová (1970).

Mezi těmito pamětníky byly přítomny jen dvě lékařky, které stály u počátku léčby kyslíkem v přetlaku. MUDr. Krásová z Ostravy, která pronesla úvodní přednášku pod názvem „Hyperbarická komora v Ostravě pohledem pamětníka“, a doc. MUDr. M. Emmerová, CSc. – coby druhá „pamětnice“ z Plzně, která kongresu předsedala jako jeho prezidentka. Ani tentokrát na kongresu nechyběli slovenští kolegové z Košic a Trenčína a do Čeladné přijel i přednosta Ústavu soudního lékařství Jesseniovy lékařské fakulty Univerzity Komenského v Martine, mezinárodní soudní znalec pro nehody v potápěčské praxi pan prof. MUDr. František Novomeský, PhD.

Program konference byl pečlivě připraven včetně Sborníku abstrakt. Konečně, vždyť se kongres konal z iniciativy vedení nově vzniklé odborné společnosti – České společnosti hyperbarické medicíny (ČSHM), ustavené v roce 2004. Hyperbarická medicína se v tomtéž roce stala i samostatným medicínským oborem s atestační zkouškou, s návazností na kmenové vzdělání v oboru vnitřní lékařství, chirurgie, ortopedie, neurologie, pediatrie, ARO, praktické lékařství ... tedy v těch oborech, kde nachází léčba kyslíkem v přetlaku nejvíce léčebných indikací.

Historický exkurs obsahovala předmluva ve Sborníku abstrakt, kterou jako svoje poselství všem následovníkům napsal doc. MUDr. Rudolf Barcal, CSc. z Plzně. Při jejím pročítání jsem si nemohla nevzpomenout na výrok Vladimíra Doležala, který zazněl v roce 1992 na jednom z plzeňských setkání: „... tento obor dosáhne uplatnění jedině tehdy, až se někdo z nás ponoří do vysoké politiky, jinak nemáme šanci ...“ Stalo se. Zbývá nám ale ještě mnoho udělat, abychom uplatnili všechny svoje dávné sny a předsevzetí:

1. Je třeba dosáhnout toho, aby každá krajská nebo fakultní nemocnice byla vybavena léčebnou barokomorou středního typu a aby se tak tato často nenahraditelná léčebná metoda stala dostupnou pro všechny indikované chorobné stavy.

2. Je nutné dosáhnout toho, aby hyperbarická medicína byla přednášena na lékařských fakultách v rámci pregraduálního vzdělávání.

3. Je rovněž nutné pevně zakotvit tento obor v Institutu postgraduálního vzdělávání v Praze včetně problematiky potápěčské medicíny pro profesionály a amatéry, kterých očividně přibývá.

4. Výhledově je žádoucí zapojit současná i budoucí pracoviště včetně pojízdných barokomor do integrovaného záchranného systému.

5. Je třeba zařadit reedici studijních materiálů, původně vydaných v roce 1992 a v roce 2000 plzeňskými autory.

6. Je nutné publikovat odborné články v našich i zahraničních časopisech a pokračovat ve výzkumných úkolech se zahraničím, například se zaměřením na léčbu diabetické nohy apod. Jen tak je možné rychle zintenzivnit informovanost především odborné veřejnosti, aby hyperbaroxie více pronikla jako účinná léčebná metoda do medicínské praxe.

Odborné přednášky na kongresu nepřinesly sice tentokrát žádné zcela nové poznatky, potvrdily se však dosavadní předpoklady, že hyperbaroxie má místo všude tam, kde jde o podkysličení některého z orgánů, například vnitřního ucha, mozku, končetin, srdce, anebo tam, kde jde o povšechně akutní podkysličení, jako je například při otravě kouřovými nebo výfukovými plyny apod.

Její místo je v případech napadení organismu bakteriemi, které nesnášejí kyslík v nadbytku, tzv. anaerobů. Absolutně je také indikovaná v případě dekompresních nehod potápěčů a vzduchových embolií. Její význam lze vidět v případech těžkých polytraumat, a to především s postižením mozku. Tzv. Sudeckova dystrofie, tj. komplikace úrazu nebo operace na končetině, je hyperbaroxií dobře léčitelná, zatímco jiné dosud doporučované metody jsou zatíženy výraznými nesnáze a komplikacemi. Abnormální cévní reakce v inkriminované končetině totiž vede k provleklé hypoxii, a tím k iniciaci celého řetězu chorobných reakcí s následnými trofickými změnami irreverzibilního charakteru. Bludný kruh lze přetnout aplikací kyslíku o vysokém parciálním tlaku. Hyperbaroxie přitom nikdy neublíží, ale pomoci může zcela určitě. Při nejisté diagnóze je i cenným terapeutickým testem, který je vyloučen jen malým počtem kontraindikací.

Předseda ČSHM MUDr. Růžička z Plzně se zabýval problematikou postgraduálního vzdělávání, jehož aktuálnost vznikla nově v loňském roce po přijetí zákona č. 95/2004 Sb., o způsobilosti k výkonu zdravotnického povolání lékaře, zubního lékaře a farmaceuta.

Velmi pěkné bylo též sdělení kolegy Pavla Macury z Hradce Králové, který se věnuje potápěčům v ambulantní praxi. Spolupracuje s odborníky z hygieny práce a upozornil na některé předpisy, které je nutno upřesňovat a racionalizovat. Jeho zkušenosti bude nutné využít pro potřeby potápěčské praxe, ale i postgraduálního vzdělávání v IPVZ. Na podobné téma hovořil i ostravský kolega David Skoumal, který se převážně věnoval problematice dekompresní choroby potápěčů a její léčby.

Jako obvykle přednesl velmi atraktivní sdělení profesor Novomeský. Týkalo se komplexního působení soudního znalce při posuzování většinou smrtelných potápěčských nehod. Jeho výhodou je vlastní potápěčská aktivita, která mu dovoluje provádět rekonstrukce potápěčských nehod s dokazováním příčin tragédie ve vadných, často amatérsky přizpůsobených technických prostředcích, ale i ve znalosti techniky vlastního potápění apod.

Velmi dobře se představili i jeho mladší kolegové, především z Trenčína. V posledních třech letech pilně sbírají zkušenosti o účincích kyslíku v přetlaku, zejména u cévních poruch dolních končetin včetně těžkých trofických změn při diabetické noze. Pokročilost některých z nich, které jsme shlédli na promítaných fotosnímčích, budí podezření na zanedbání zdravotní péče ze strany aktérů v přednemocniční péči ... Povzdech mladého kolegy ze Slovenska, abychom nekopírovali jejich reformu zdravotnictví, svědčí o nedobrych dopadech omezené dostupnosti péče na Slovensku. A o tom, že na Slovensku dostupnost zdravotní péče skutečně nepovažují za jednu z nejdůležitějších priorit, jsem se nedávno utvrdila na jiném oficiálním fóru, kde hovořil ing. Peter Pažitný, poradce slovenského ministra Zajace.

Z uvedeného vyplývalo, že omezená dostupnost vede k daleko horším a nezvratným chorobným změnám, které nejen že ohrožují život nemocného, ale málokdy také vedou k totálnímu zhojení defektu na dolní končetině diabetika. Stranou jde tedy i kvalita, a tím spíše medicínská i ekonomická efektivnost.

Na kongresu byly také představeny moderní barokomory, které musejí vyhovovat evropským směrnicím. Vystavený model dával celkem jasnou představu o komfortním vybavení barokomory, především pro nemocného a jeho bezpečnost.

Závěrem jsme se shodli, že všichni budeme dále usilovat o to, aby se naše, tak málo početná pracoviště v ČR a zvláště v SR, mohla spolupodílet na rozvoji vzájemné spolupráce v organizaci zdravotní péče na poli hyperbaroxie.

doc. MUDr. Milada Emmerová, CSc.

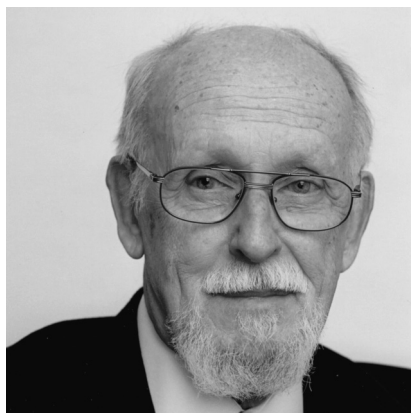
*Ředitelství FN
305 99 Plzeň-Bory, dr. Edvarda Beneše 13
e-mail: emmerova@volny.cz*

OSOBNÍ ZPRÁVY

DOCENT MUDr. ZDENĚK WÜNSCH, CSc. – MUŽ, KTERÝ O CELOU GENERACI PŘEDBĚHL SVOU DOBU

Dne 3. ledna 2006 se dožívá 80 let doc. MUDr. Zdeněk Wunsch, fyziolog a zakladatel oboru kybernetika a informatika u nás. Původně psychiatr se scházel v kybernetickém kroužku s osobnostmi, jako byl prof. Charvát či prof. Svoboda, a zde začal formovat nový obor. Byl první, kdo v našem regionu přeložil knihu Norberta Wienera o kybernetice. Jako první na světě pravděpodobně použil termín biokybernetika.

Do Fyziologického ústavu 1. lékařské fakulty (tehdy Fakulty všeobecného lékařství) UK v Praze přišel jako vědecký pracovník v roce 1970 se svojí skupinou, která vznikla v polovině 60. let minulého století v rámci Výzkumné laboratoře psychiatrické kliniky Fakulty všeobecného lékařství UK v Praze pod názvem Kybernetické oddělení. Oddělení mělo od počátku svého vzniku náplň pedagogickou, výzkumnou a servisní orientovanou i celofakultně. Jeho vzniku předcházela řada oslavencových přednášek na různých zdravotnických pracovištích fakultních i mimofakultních a dále pak vznik rezortního výzkumného plánu MZD pro lékařskou kybernetiku (který docent Wunsch v roce 1962 inicioval a jehož komise byl předsedou do jeho ukončení v roce 1992). Ve Fyziologickém ústavu byla skupina organizačně převedena jako Biokybernetické oddělení na podnět tehdejšího proděkana a před-



nosty ústavu prof. Jílka, mj. pro možnost vhodnějšího uplatnění pedagogického programu Biokybernetického oddělení ve výuce fyziologie. Ten spočíval především v nových tématech praktických cvičení a přednášek. Mimo pedagogické činnosti – přednášky, původní učební texty a příklady, tvorba nových výukových programů, přednášky na ČVUT apod. doc. Wunsch věnoval veliké úsilí vědecko-organizační práci v Čsl. kybernetické společnosti při ČSAV, v ministerské komisi pro lékařskou kybernetiku, ve Vědeckotechnické společnosti a v přípravných výborech seminářů a konferencí. Působil mj. také jako člen rektorátní komise pro výpočetní techniku a koncem 70. let inicioval vybudování výpočetní laboratoře při Biokybernetickém oddělení ve Fyziologickém ústavu s možností celofakultního

uplatňování; na jejím vybudování, provozu a řízení pak řadu let participoval. Jeho výzkumný program byl orientován jednak na realizaci počítačových modelů vybraných témat (regulace v antagonistických fyziologických systémech, generování struktur v celulárním systému, modely neuronu a modely kontraktálního aparátu svalů), jednak na zjišťování a metody analýzy dynamických vlastností m. gastrocnemius králíka. V roce 1976 předložil habilitační práci, habilitace však byla z kádrových důvodů zastavena. Práci úspěšně obhájil až v roce 1990.

Je nositelem následujících významných ocenění: V roce 1988 pamětní medaile Ústřední rady ČSVTS, 1990 pamětní medaile 1. LF UK v Praze, 1995 stříbrná medaile UK Praha, 1998 pamětní medaile UK Praha a pamětní medaile 1. LF UK Praha u příležitosti 650. výročí založení UK a LF UK v Praze. Je zakládajícím a čestným člen Československé kybernetické společnosti (tč. Česká společnost pro kybernetiku a informatiku ČAV), čestný člen České společnosti zdravotnické informatiky a vědeckých informací. V 90. letech se významně podílel i na činnosti Akademického senátu naší fakulty.

Jménem všech žáků děkujeme panu docentovi za vše, co pro obor a fakulty udělal, a přejeme mu vše nejlepší do dalších let.

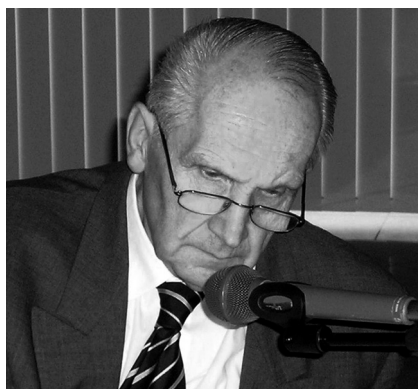
*prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.,
Fyziologický ústav 1. LF UK
prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc.,
III. interní klinika 1. LF UK a VFN*

DOCENT MUDr. MILAN ŠPÁLA, CSc. – 75 LET

(* 20. 11. 1930)

V listopadu se dožil ve zdraví, v plné práci a hlavně v rodinné pohodě 75 let doc. MUDr. Milan Špála, CSc. Lékařská studia na tehdy ještě jediné lékařské fakultě Univerzity Karlovy začal na podzim roku 1950 ještě za posledního voleného děkana prof. F. Kostečky. Měl štěstí, že se během studií setkal s výtečnými profesory předválečné generace teoretiků, jako byli anatom L. Borovanský, biochemik A. F. Richter, fyziolog V. Laufberger, patofyziolog J. Hepner, farmakolog B. Polák, patolog V. Jedlička a mikrobiolog F. Patočka. Možná, že to ho právě předurčilo nastoupit po promoci celoživotní dráhu na „experimentálce“, tedy experimentální patologii, dnes patofyziologii, u prof. J. Hepnera. Za studií na fakultě v rámci interní propedeutiky se setkal v roce 1953 na IV. interní klinice prof. B. Prusíka s asist. O. Riedlem, pozdějším docentem vnitřního lékařství a významnou osobností tehdejšího fakultního života, zvláště pokud jde publikační a ediční činnost.

Bylo to zřejmě jeho druhé předznamenání pro další odbornou kariéru na fakultě i celé univerzitě, tím spíše, že od šedesátých let při redigování Acta Universitatis Carolinae Medica zažil jako předsedu redakční rady, nezapomenutelného V. Jedličku, který v tomto již tehdy výlučně anglicky vydáva-



Doc. MUDr. Milan Špála moderuje sekci „Elektronické zdroje – výzva pro informační pracovníky“ v rámci 11. konference o profesionálních informačních zdrojích INFORUM 2005 konané 24.–26. května 2005 ve velké aule VŠE v Praze

ném časopise navazoval na své předválečné šéfredaktorování Časopisu lékařů českých. Doc. Špála, jako tajemník redakční rady, na pracovní jednání s prof. Jedličkou často vzpomíná. Byla to neocenitelná škola, kterou pak mohl zúročit jako šéfredaktor fakultního oficiálního publikačního orgánu „Sborník lékařský“ (založeného J. Hlavou), který doc. Špála vedl po smrti doc. F. Macholdy od roku 1990 až do roku 2003, kdy bylo jeho vycházení

fakultou ukončeno. Jedenáct ročníků (Vol. 94–104 z let 1993–2003), které za účinné podpory redakční rady a zvláště i výkonné redaktorky RNDr. E. Táborské vznikly, znamenaly přerod tohoto obsahu i typografickým provedením klasického časopisu na časopis moderní, zpracovávaný elektronickou cestou od přijetí rukopisů až po tisk, čímž v té době daleko předběhl mnohé lékařské časopisy vydávané ČLS JEP. Včetně zveřejňování i anglických rukopisů. Jak v editorialech posledního čísla (No. 4, Vol. 104, 2003) nazvaném příznačně „Per aspera ad astra“ doc. Špála píše, podařilo se převést časopis z éry „analogové“ do „digitální“, při důsledném respektování formálních, ale zvl. etických mezinárodních moderních principů požadovaných Vancouverkou deklarací. Vzhledem k tomu, že se v redakci podařilo zavést fungující „peer review“ systém zpracovávání (často spíše přepracovávání) rukopisů, mohl ukončit tento poslední úvodník plně v duchu jeho „astrálního“ titulu slovy: „Výsledky našeho snažení svědčí o tom, že jsme učinili vše, aby našim následovníkům byla hvězdná stálice, třeba velikosti „SCI“ (pozn. red. Science Citation Index), na dosah.“

Mezitím samozřejmě pokračoval ve své pedagogické i výzkumné činnosti v Ústavu patologické fyziologie 1. lékařské fakulty UK (po prof. J. Hepnerovi ho vedl prof. T. Trávníček a nakonec i prof. V. Janoušek). V jeho odborném i rodinném životě byla významná léta 1970 až 1974, kdy byl vzhledem ke svým výtečným jazykovým znalostem

tem vyslán, ač nestranník, jako „expert“ na Lékařskou fakultu (Institut des Sciences Médicales) univerzity v alžírském Oranu. Tam přednášel na katedře patofyziologie, kterou i vedl, stejně jako na závěr pobytu i katedru fyziologie, protože při nedostatku kvalifikovaných examinatorů bylo třeba zajistit kontinuitu studia. Pak mu nedělalo problém mít v Praze po ranních praktikách ještě dopoledne přednášku a odpoledne seminář. Prošel ničím jiným nenahraditelný „docentský“ trénink. To vše se odehrávalo v krásném rodinném prostředí s oběma dětmi v kouzleném mediteránním podnebí a na samém pokraji tajemné Sahary. Často si vzpomněl, jako mu do Oranu napsal prof. V. Jedlička, zda tam ještě na pobřeží nad Mers el Kebirem stojí na skále z dálky viditelná katedrála Santa Cruz. Pamatoval si to totiž ze své návštěvy Oranu za první republiky. Samozřejmě v typickém jedličkovském podání to v dopise přibližně znělo: „...když jsem za doprovodu našeho honorárního konzula projížděl v jeho báječné limuzíně nad válečným přístavem oránskou pobřežní úzkou silnicí, čněla na námi do výše ...“

Po návratu do ústavu v 70. letech minulého století díky gentlemanskému příslibu prof. Janouška našel vše v pracovně i v laboratoři, tak jak to tam před odjezdem do Afriky zanechal. Opět mohl převzít přípravu a organizaci výuky v ústavu a zvláště „své“ demonstrátory. Někteří z nich v něm získali i životního přítele, když spolu pracovali v laboratoři i dlouho do noci. Někteří se svými experimentál-

ními výsledky pak stali účastníky a vítězi studentských vědeckých konferencí. K nejstarším z nich dnes patří klinický biochemik prof. A. Kazda, dále neurochirurg doc. P. Kozler, imunolog dr. T. Poch a dokonce i berlínský gastroenterolog dr. med. Klaus Uhlig, jeden z německých studentů z NDR, který svá studia na UK dokončil. V laboratoři doc. Špála si pak ještě udělal doktorskou práci, kterou pak obhájil v Berlíně na Charité.

Přesto doc. Špála asi nejvíce vzpomíná na své začátky na „experimentálce“, kdy jako řádný aspirant prof. Hepnera s ním v jeho pracovně trávil mnohé večery a probírali spolu stránky z jeho ne snadno se rodící učebnice „Patologická fyziologie“ (1961). Trvale je to zapsáno v předmluvě, kde prof. Hepner mimo jiné píše: „... Děkuji i asistentům ústavu, zvláště Dr. V. Janouškovi a prom. lékařovi M. Špálovi ...“ A tehdejší nejstarší asistent ústavu, dokonale experimentátor, erudovaný i biochemický, dr. Václav Zelenka, pozdější docent na FTVS, byl asi tím, kdo docenta Špála přivedl jak k teoretickému, tak i praktickému experimentálnímu a kritickému myšlení. To oceňovali často později třeba i autoři ze Sborníku, když jim radil jak upravit v rukopise oddíl „Materiál a metodika“.

Vedle patofyziologie a „žurnalologie“ (u nás málo známá i pěstovaná nauka, jak se dělá odborný časopis, kterou formuloval dlouholetý editor British Medical Journal S. Lock), zbývá se ještě zmínit o třetí oblasti, které významně zasvětil docent Špála zvláště posledních 15 let. Je to „infor-

matika“, resp. „bibliografie“. Vedle prof. V. Jedličky se o to zasloužil i prof. C. John, se kterým docent Špála vlastně „celý život“ dělal anglicky Acta Universitatis Carolinae Medica. I po roce 1980, kdy se jim podařilo resuscitovat jak periodickou, tak zvláště i monografickou řadu. Autoři to uvítali. Bez těchto dlouhodobých (od šedesátých let s dr. Riedlem) editorských zkušeností by jeho knihovnické znalosti, byť bohaté i po stránce teoretické, na moderní „information science“ nestačily. Podstatné je mít nějaký „exaktní“ vysokoškolský základ. Proto si asi tak porozuměl s dr. E. Garfieldem, základním vzděláním chemikem, který se stal zakladatelem a čestným předsedou „Institute for Scientific Information“, jakož i duchovním otcem „Science Citation Index“, Current Contents“ a všeho, co s tím souvisí. Osobně se poprvé setkali 1994 v Oslo a o rok později v Karolinu, kdy mu Univerzita Karlova udělila čestný doktorát.

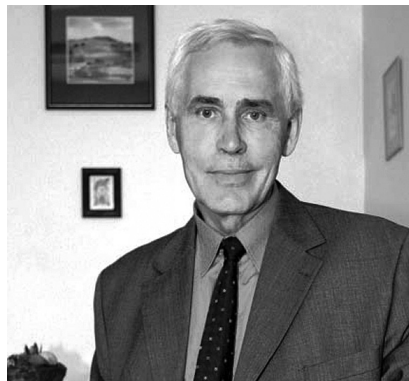
Na závěr tohoto biografického medailonu docenta Milana Špála, bych chtěl právě proto připojit slova E. Garfielda (jsou od sebe vzdáleni právě o pět let), která proslovil u příležitosti svých osmdesátých narozenin tak, jak je cituje *The Scientist* z 24. října 2005: „...Myslím, že přístup k informacím vykoná na světě něco dobrého. Přes to přese všechno, co jsem udělali, myslím však, že máme ještě dlouhou cestu před sebou ...“

doc. MUDr. Petr Bartůněk
128 00 Praha 2, U Nemocnice 2

FARMAKOLOG PROF. MUDr. FRANTIŠEK PERLÍK, DrSc. PĚTAŠEDESÁTILETÝ

(*12. srpna 1940)

Z ranějších fází „curricula“ profesora Perlíka lze vyčíst, že pochází z Prahy, že vysokoškolské studium absolvoval na Fakultě všeobecného lékařství Univerzity Karlovy v roce 1963 a že jeho prvním popromočním postem bylo interní oddělení nemocnice v Kladně. Svou farmakologickou kariéru nastartoval v roce 1968, kdy začal působit v pražském Farmakologickém ústavu Československé akademie věd nejprve jako vědecký aspirant, později jako samostatný vědecký pracovník. V té době byly jeho dominantními výzkumnými tematikami experimentální modely zánětu, zejména pak geneticky podmíněné rozdíly při vzniku a vývoji zánětlivé reakce. Tento badatelský záběr se stal impulzem pro další Perlíkovu profesionální etapu (1977–1983) v pražském Výzkumném ústavu chorob revmatických, ve kterém obohatil svou předklinickou erudici o klinické aspekty. Roční studijní pobyt na lékařské fakultě v Paříži (u prof. P. Lechata a prof. F. Delbarre) vyprovokoval jeho následný a trvalý zájem o tehdy se rodící sub-disciplínu „klinickou farmakologii“. Logicky se tak stal zásadním budovatelem a realizátorem pracoviště klinické farmakologie v rámci 1. interní kliniky 1. LF UK a Všeobecné fakultní nemocnice, které se podařilo vytvořit v roce 1983. Perlíkovi se tak naskytla vynikající příležitost aplikovat své teoretické farmakologické zkušenosti jak směrem ke kli-



nickému terapeutickému využití, tak do klinického výzkumu. Jedním ze záměrů této klinicko-farmakologické báze, v jejíž čele po dvě desetiletí stál, bylo monitorování hladin léčiv v organismu cíleně vytypovávaných nemocných. Zákonitě proto soustředěval svůj tým jednak na metodologii analýz farmak a jejich metabolitů v biologickém materiálu a jednak na aplikační využití farmakokinetických přístupů pro upřesňování individualizovaného farmakoterapeutického dávkování. Postupný rozvoj farmakokinetického servisu ho přivedl k dalším výzkumným spektrům jak aplikačního tak teoretického charakteru, konkrétně k problematice klinického hodnocení léčiv, k vytypovávaní modelových látek jako indikátorů pro hodnocení bioeliminací kapacity organismu a až i k posuzování racionality spotřeby léčiv. Díky výsledkům, kterých v těchto oblastech dosáhl, se posléze stal uznávaným činitelem a členem výboru (1996–2000) mezinárodního sdružení

„European Drug Utilization Research Group“. Plejádu jeho výzkumných aktivit lze dohledat v autorství či spoluautorství více jak stovky publikací v odborných periodických a v šesti monografiích zaměřených na klinickou farmakologii.

Jako vysokoškolský pedagog se významně zasloužil o zavedení pregraduální výuky klinické farmakologie (od roku 1991) a o konsolidaci Subkatedry klinické farmakologie v rámci IPVZ, kterou převzal v roce 1997. Od roku 2002 stojí v čele i Farmakologického ústavu 1. LF UK a VFN. Docentem vnitřního lékařství se stal v roce 1988, docentem farmakologie v roce 2002, profesorem farmakologie byl jmenován v roce 2004.

Od roku 1990 je opakovaně volen do výboru České společnosti pro experimentální a klinickou farmakologii JEP (ČSEKFT) a do výboru sekce klinické farmakologie této společnosti, od roku 2002 je předsedou ČSEKFT a národním delegátem v European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics.

Je pro mě ctí, že mohu jménem výboru České společnosti pro experimentální a klinickou farmakologii a toxikologii ČLS JEP profesoru Perlíkovi co nejupřímněji poděkovat za to, co pro naši farmakologickou vědu, pro rozvoj oboru (zvláště pro klinickou farmakologii) a pro Farmakologickou společnost dosud vykonal, pográtulovat mu k tomu, co všechno se mu prozatím podařilo a do toho dalšího mu popřát co nejvíce vnitřního uspokojení a osobní pohody.

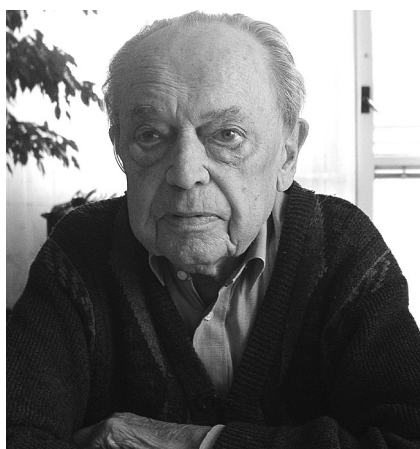
prof. RNDr. Jaroslav Květina, DrSc.
Ústav experimentální biofarmacie
500 05 Hradec Králové, Heyrovského 1207

POSLEDNÍ ROZLOUČENÍ S PROF. MUDr. EDUARDEM HRADCEM, DrSc.

Vážená pani Hradcová, Jakube a Jene Hradcovi, vážení pozůstalí, vážení smuteční hosté, dámy a pánové,

sešli jsme se dnes, abychom se naposledy rozloučili s panem prof. MUDr. Eduardem Hradcem, DrSc., zakladatelem a emeritním přednostou Urologické kliniky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a emeritním vedoucím Katedry urologie Institutu pro další vzdělávání ve zdravotnictví v Praze. Byl jsem dnes postaven před nelehký úkol, možná nejobtížnější v mém dosavadním životě, promluvit na tomto smutečním shromáždění a rozloučit se s panem profesorem jménem bývalých a současných spolupracovníků, jménem českých a slovenských urologů i jménem vedení naší nemocnice a fakulty.

Profesor Hradec byl mimořádnou osobností. Celý svůj velice plodný život zasvětil medicíně a hlavně své velké „životní“ lásce urologii. Během pozeňnaných 87 let dokázal realizovat tak říkajíc vše, co si zamlul, a nebylo toho rozhodně málo. Narodil se 21. září 1918 ve Slaném, kde také prožil své mládí. Vyrůstal v prostých poměrech a již jako jinoch vynikal výbornými studijními výsledky a jazykovým nadáním. Ve Slaném také odmaturoval a město Slané mu později udělilo za jeho zásluhy a reprezentaci čestné občanství. Těsně před válkou zahájil studium na lékařské fakultě v Praze. Po uzavření vysokých škol během okupace studoval obchodní akademii, později pracoval na železnici. Vysokoškolská studia ukončil na Karlově univerzitě v Praze v roce 1946. Po promoci nastoupil na krátkou dobu na chirurgické oddělení nemocnice v Turnově, odkud se dostal přes pražský Sanops zpět na almu mater. Na Divišově 2. chirurgické klinice tehdejší Fakulty všeobecného lékařství v Praze započal svoji urologickou dráhu, když se od sekundárního lékaře vypracoval až na post přednosta kliniky. V roce 1964 se habilitoval a v roce 1968 byl jmenován řádným profesorem pro obor chirurgie. V roce 1975 založil Urologickou kliniku, kterou dosud Fakulta všeobecného lékařství UK neměla, a stal se jejím prvním přednostou. Vsadil na mladý a nezkušený tým lékařů a sester, se kterým za krátko dosahoval léčebných výsledků, které vzbuzovaly respekt doma i v zahraničí. Přednostou kliniky a vedoucím Katedry urologie IPVZ byl až do odchodu do důchodu v roce 1988. Stalo se ironií osudu, že odchod „urologického supermatadóra“ z arény, kterého by jinde vynášeli až do nebes, spadl do ranně polistopadového období. V rámci „pseudosametových“ změn, režírovaných některými jeho „vděčnými“ žáky, se namísto glorioly dočkal naopak znevážení své



osoby a práce, a to ho přimělo ke smutnému a velmi nedůstojnému odchodu z kliniky. Ač jistě vnitřně hluboce zklamán, na kliniku a své skutečné žáky nikdy nezanevřel a živě se o zdejší dění i nadále zajímal. Ani později, když plevy vyplavaly a některé křivdy byly napraveny, se mu bohužel nedostalo odpovídajícího společenského ocenění.

Pan profesor pěstoval urologii v celém rozsahu, přičemž zvláštní pozornost věnoval rekonstrukčním a endoskopickým operacím. Vynikal brilantní operační technikou, která mu přinesla mezinárodní věhlas. Uznávaným lékařem se stal i přesto, že byl nestraník a neskrýval svůj obdiv k moderní urologii, kterou poznal při svých studijních cestách ve vyspělých západních zemích. Prosadil se hlavně proto, že dělal „zázraky“ tam, kde jiní, i renomovaní urologové rezignovali. Světovou prioritu si vydobyl především jako pionýr náhrad močového měchýře pomocí střevního segmentu. Jeho publikace na toto téma z roku 1965 je dodnes citována ve všech světových monografiích.

Profesor Hradec byl nejenom pilným a vynikajícím lékařem, ale i respektovaným pedagogem a mezinárodně uznávaným vědcem. Svoje znalosti i manažérské schopnosti uplatnil i jako dlouholetý předseda ČsUS a ČUS. Byl také zakládajícím členem Evropské urologické asociace a prezidentem II. kongresu této společnosti v roce 1976 v Praze. Jedenáct zahraničních urologických společností jej jmenovalo čestným členem a byl i členem korespondentem Americké a Britské urologické společnosti. Publikoval více než 250 odborných statí, napsal 3 monografie a přednášel na předních světových univerzitách včetně Harvardské. Své výsledky pravidelně prezentoval na odborných fórech po celém světě.

Jeho odborné i společenské zásluhy byly oceněny několika vyznamenáními. Mezi nimi i Medailí Friedricha Schillera z Jenské univerzity, Čestnou medailí J.E. Purkyně a Řádem práce.

Nepřehlédnutelným a trvalým pomníkem profesora Hradce je moderní budova urologické kliniky na pražském Karlově z roku 1976, mezi nemocnými známá dnes jako „Hradcova klinika“. Tu nejenom vymyslel, ale také s architektem Růžičkou vyprojektoval, prosadil její výstavbu a doslova i postavil. Měl jsem štěstí, že jsem v období výstavby kliniky mohl s panem profesorem Hradcem pracovat, a proto si dobře pamatuji, stejně jako jeho další spolupracovníci z této doby, že za vybudováním tohoto urologického Olympu bylo jen a jen nadlidské úsilí a vysoký morální i profesionální kredit prof. Hradce. Nic jiného. Jenom člověk jeho kvalit mohl něco tak kolosálního vybudovat.

Dámy a pánové,

v osobě pana profesora Hradce ztrácí naše nejen lékařská obec osobnost mimořádného formátu a člověka, jež za sebou zanechal obrovské dílo. Za vše, co pro nás a své nemocné vykonal, mu patří náš obdiv a dík. Naším úkolem zůstává rozvíjet jeho odkaz, to čemu nás naučil a co nám tak velkoryse předestřel.

Vážený pane profesore, před několika dny Vám čeští, slovenští i zahraniční urologové v pražském Rudolfinu, při zahájení kongresu České urologické společnosti, vzdali hold dlouhotrvajícím potleskem na otevřené scéně. Všichni jsme na Vás mysleli a moc si přáli, abyste alespoň na okamžik mohl být mezi námi. I když jsme věděli o vážnosti Vašeho zdravotního stavu, nikdo z nás si v tuto chvíli nepřipustil, že bychom se s Vámi měli zakrátko rozloučit natrvalo.

My, Vaši tovaryši z urologické bašty na Karlově, jsme Vás chtěli potěšit sepsáním další monografie. S novou Onkourologií, kterou jsme Vám věnovali, jsme velmi spěchali. Podařilo se to a první výtisky jsme dostali v předvečer kongresu. Velmi jsem se těšil, jak Vám ji s podpisy všech autorů osobně předám. Bohužel jsem to nestihl, a proto využívám této poslední příležitosti, abych Vám z ní přečetl alespoň naše věnování, ze kterého lze vycítit náš vztah k Vám, k našemu největšímu učiteli:

Věnováno prof. MUDr. Eduardu Hradcovi, DrSc., bardovi české urologie, který nás nejenom posadil do urologického zámku, kvalitně vyučil a poslal do světa, ale který také dokázal dosáhnout na věci, nad kterými jen obdivně kroutíme hlavami.

Děkujeme moc a moc.
Čest Vaší památce.

*prof. MUDr. Jan Dvořáček, DrSc.
128 00 Praha 2, Ke Karlovu 6*

ZPRÁVY

ČESKÝ LÉKAŘ MEZI SVĚTOVÝMI ŠPIČKAMI

Na slavnostním zasedání Světové lékařské asociace v Santiagu de Chile byla ve druhé polovině října inagurována exkluzivní kniha nejvýznamnějších lékařů světa. Mezi 65 lékaři je zařazen i český lékař – prof. MUDr. Jar-

oslav Blahoš, předseda České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. V knize je uveden jeho životopis a zmíněn přínos pro světovou medicínu. (pol)

Prosím, věnujte pozornost tomuto sdělení!

Po dohodě redakce ČASOPISU LÉKAŘŮ ČESKÝCH s Nakladatelským a tiskovým střediskem ČLS JEP počínaje číslem 1/2005 zpoplatňujeme publikaci článku s dedikací grantového či jinak finančně podporovaného výzkumu a vývoje z veřejných zdrojů. Cena jedné černobílé tiskové strany v časopisu je 1800 Kč včetně DPH, přičemž potřebnou částku lze čerpat z prostředků na tento výzkum.

Důvodem k zavedení poplatku je mj. skutečnost, že ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH v posledních dvou letech zveřejňuje téměř 53 % prací z oblasti výzkumu podporovaných z veřejných zdrojů.

Přes finanční podporu, které se prezidiálním časopisu dostává cestou vedení ČLS JEP, je ekonomická situace časopisu obtížná a limitující. Uvedené opatření považujeme za legitimní a doufáme, že se setká s pochopením autorů prací.

S oznámením o doručení rukopisu Vám redakce zašle formulář objednávky k publikaci vaší práce. Po navrácení vyplněné objednávky Nakladatelskému a tiskovému středisku ČLS JEP bude Vaše práce neprodleně předána k recenzi. Částka bude zálohově fakturována ve fázi korektury a daňový doklad Vám bude zaslán po zveřejnění článku.

Věnujte, prosím, zvýšenou pozornost aktualizovaným pokynům pro autory. Bližší informace Vám poskytne Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel./fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz

*doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc.
vedoucí redaktor*

Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých

Počínaje číslem 1/2005 Časopis lékařů českých zpoplatňuje publikaci článků s dedikací grantového či jinak finančně podporovaného výzkumu a vývoje z veřejných zdrojů. Cena jedné černobílé tiskové strany v časopisu je 1800 Kč včetně DPH a potřebnou částku lze čerpat z prostředků na tento výzkum.

S oznámením o doručení rukopisu redakce zašle autorovi formulář objednávky k publikaci práce. Po navrácení vyplněné objednávky Nakladatelskému a tiskovému středisku ČLS JEP bude práce neprodleně předána k recenzi. Částka bude fakturována ve fázi korektury a daňový doklad bude autorovi zaslán po zveřejnění článku.

Bližší informace Vám poskytne Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, telefon/fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Časopis lékařů českých je vydáván Českou lékařskou společností J. E. Purkyně. Je časopisem interdisciplinárním. Tím se liší od úzce oborově profilovaných časopisů odborných společností. Je časopisem vědeckým publikujícím přehledové články a původní vědecké práce ze všech oborů medicíny. Přináší rovněž informace z jednání, sjezdů, recenze nejnovějších knih, kapitoly z dějin medicíny, osobní zprávy aj.

Tyto Pokyny pro autory jsou v souladu s „Jednotnými požadavky na úpravu rukopisů určených k publikaci v lékařských a biologických časopisech“ (3. revize, 1988, „Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals“ publikovanými v plném překladu v Čas. Lék. čes., 139, 2000, č. 1. s. 31.

OBECNÉ POŽADAVKY NA ÚPRAVU RUKOPISŮ

K publikaci v Časopisu lékařů českých může být přijat pouze rukopis, který nebyl a nebude publikován v jiném časopise. Výjimku tvoří pouze abstrakta vědeckých konferencí.

Rukopisy zasílejte v originále a dvou kopiích. Na kopiích uveďte pouze název práce (bez jmen autorů a pracoviště). K rukopisu přiložte tabulky, obrázky, fotografie i seznam použité literatury a celý text na disketě (Word 6.0/95 a vyšší verze, disketa 3,5", typ písma Times New Roman, velikost 12). Pište po jedné straně kvalitního bílého nelesklého papíru formátu A4, minimálně 2,5 cm od obou okrajů. Mezery mezi řádky volte všude 2 řádky; na jedné straně nesmí být více než 30 řádek po 60 úhozech. Text, který má být zvýrazněn, podtrhněte, text, který má být vysazen kurzívou, podtrhněte vlnkou. Jinak text graficky neupravujte.

Redakce netrvá na „Imprimatur“ vedoucího

pracoviště; jeho udělení ponechává na zvyklostech pracoviště. K originálu rukopisu přiložte prohlášení podepsané všemi uvedenými autory, že splňují požadavky autorství a že souhlasí s jeho uveřejněním v předkládaném znění.

Práce musí být formulovány s konečnou platností.

Při autorské korektuře není dovoleno měnit, eventuálně doplňovat text. Korekturu je nutné provést podle platných korektorských značek (ČSN 88 0410), a to nejlépe výraznou (barevnou) tužkou. Korektury vracete obratem, nejozději však do 8 dnů od data odeslání z redakce. Na pozdější autorské korektury nemůže být brán z časových důvodů zřetel.

Pro urychlení komunikace uvádějte prosím svůj e-mailovou adresu a telefonní číslo.

MÍRY, HMOTNOSTI, JEDNOTKY

Výsledky chemických, fyzikálních i klinických vyšetření se uvádějí v jednotkách SI normy (Systžme international deUnités). Hodnoty pulzu, teploty a krevního tlaku je možné uvádět v konvenčních jednotkách.

NÁZVY LÉČIV

U léčivých specialit je nutné vedle výrobního názvu uvést i generický název.

ZKRATKY A SYMBOLY

Pokud je použita zkratka, musí před jejím prvním použitím v textu předcházet plný název. V nadpise a souhrnu zkratky nepoužívejte. Seznam zkratk v abecedním pořádku s vysvětlivkami a symboly statistického hodnocení. Číslo tabulky musí být uvedeno na příslušném místě v textu.

TABULKY

Rozsáhlé tabulky, přeplněné daty, nebudou přijaty. Každá tabulka musí být na zvláštním listu, číslovaná arabskými číslicemi, s popisem, vysvětlivkami a symboly statistického hodnocení. Číslo tabulky musí být uvedeno na příslušném místě v textu.

OBRAZOVÁ DOKUMENTACE

Obrázky, fotografie musí mít profesionální úroveň. Pérovky, fotografie a výstupy z přístrojů přijímá redakce ve formátech tif, eps a jpg, grafy v programu Excel zpracované pro jednobarevný tisk. Fotografie, obrázky, grafy a schémata dodejte na disketě 3,5", CD, zip

nebo jaz, ale veškerá dokumentace musí být zaslána i v papírové podobě. Pokud jsou obrázky ve formátu jpg, je třeba užít velkého rozlišení (nejlépe kompresní poměr 10–12) z důvodů kvality. Názvy obrázkových souborů musí vycházet ze jména autora a čísla obrázku (např. Macek1.tif). Názvy mohou být maximálně osmimístné.

U mikrofotografií musí být uveden způsob barvení a zvětšení. Každou ilustraci označte na rubu jménem autora a počátkem názvu práce a označte horní okraj obrázku. Jménem autora a názvem práce označte i médium (disketu, CD ...). Legendy k ilustracím se píší na zvláštní list. Autor je povinen zavit dokumentaci osobních iniciál pacienta.

Možnosti barevné reprodukce jsou v časopisu omezeny. Časopis přechází na systém úhrady barevných reprodukcí. V rukopisech předkládaných k publikaci je nutné přesně vyznačit, které obrázky mají být barevné, a připojit písemný souhlas s platbou. Je třeba uvést přesnou adresu plátce, v případě právnické nebo podnikající fyzické osoby také IČ a DIČ. Barevné strany bez ohledu na to, kolik obsahují barevných obrázků, si hradí autoři sami. Obrazová dokumentace, která nebude mít tyto náležitosti, bude automaticky publikována černobíle.

KLÍČOVÁ SLOVA

Tři až deset klíčových slov uveďte pod souhrnem/abstraktem. Užívejte termínů/hesel z Index Medicus (tezaurus MeSH).

LITERATURA

Smí obsahovat jen skutečné prameny, tj. publikace, na něž se autor v textu odvolává. Nesmějí se uvádět práce jen z důvodů formálních. Citace jsou sestaveny v pořadí, v jakém se vyskytují v textu. V textu citace vyznačte číslem v závorce, např. (1).

Vyhýbejte se odkazům na abstrakta; tzv. „nepublikovaná pozorování“ a „osobní informace“. Správnost odkazu (citace) by měla být ověřena. Při citacích upřednostňujte domácí autory a publikace před zahraničními.

Příklady citací monografické publikace (1), příspěvku v monografické publikaci (2), ve sborníku (3), článku v časopisu (4):

1. Medková, Z., Kalousek, J., Jarčuška, P.: Chlamydiové infekce. Praha, Triton, 2001, 111 s.
2. Trunečka, P., Ryska, M., Bělina, F.: Transplantace jater u dětí. In: Pozler, O. et al.: Trendy soudobé pediatrie. sv.1, Praha, Galén, 1999, s. 24–26.
3. Dunovský, J.: Úmluva o právech dítěte a práva dětí v České republice. In: Sborník z 1. mezinárodní konference o dětských právech, České Budějovice, Zdravotně sociální fakulta JU, 2003, s. 5–15.
4. Saudek, F., Bouček, P., Adamec, M.:

Transplantace pankreatu: komu a kdy? Čas. Lék. čes., 2001, 140, s. 195-199.

POUŽITÍ CIZÍCH MATERIÁLŮ

Materiály (schémata, obrázky, grafy aj.) převzaté z jiných pramenů/publikací mohou být publikovány pouze s písemným souhlasem osoby/nakladatelství, které mají příslušné autorské/nakladatelské právo (copyright ©). Vyžádejte si svolení i od autorů prací v tisku, nepublikovaných dat, eventuálně osobního sdělení. Písemné potvrzení o svolení přiložte k rukopisu.

ETICKÉ ASPEKTY

Je-li referováno o pokusech na lidech, přiložte čestné prohlášení, že studie byla před zahájením schválena místní etickou komisí. Zásadně **neuvádějte na ilustrujícím materiálu jména nebo iniciály nemocných nebo nemocniční či protokolová čísla**. U pokusů na zvířatech uveďte, zda byly dodrženy ústavní nebo národní předpisy a směrnice pro chov a experimentální používání zvířat, nebo přiložte čestné prohlášení o souhlasu místní etické komise.

KONFLIKT ZÁJMŮ

Autor má povinnost oznámit redakci podporu firmy, jejíž produkt v práci použil.

Předpokládá se, že autoři přehledových farmakoterapeutických článků nejsou finančně zainteresováni (nebo konkurenti) ve společnosti/firmě, o jejímž výrobku v článku referují.

Všechny informace tohoto druhu, které budou redakci svěřeny, budou drženy v tajnosti.

FORMY PUBLIKACÍ A JEJICH ROZSAH

Přehledový článek

Maximální rozsah 10 stran textu, tj. 2500 slov,

40 citací, 4 kusy libovolných ilustrací, pokud redakce nerozhodla jinak.

Aktuální téma, Původní práce, Speciální sdělení, Vyšetřovací metody
Maximální rozsah textu 10 stran, tj. 2500 slov, 6 tabulek, 40 citací, 4 ilustrace.

Farmakoterapie, Kazuistika, Lékařská etika, Dějiny lékařství
Maximální rozsah 8 stran, tj. 2000 slov, 30 citací, 4 ilustrace.

Komentáře
Maximální rozsah 4 strany, tj. 1000 slov, 5 citací.

Zprávy ze sjezdů a konferencí
Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov; u světových sjezdů 3 strany, tj. 750 slov.

Recenze
Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov.

Dopisy redakci, Diskuze
Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov, 5 citací.

Zprávy, Osobní zprávy
Maximální rozsah 1,5 strany. Jubilea významných osobností (pouze 60, 70, 80, 90 let). Maximální rozsah 2,5 strany + fotografie.

ÚPRAVA JEDNOTLIVÝCH TYPŮ ČLÁNKŮ

Aktuální téma, Přehledový článek, Farmakoterapie, Kazuistika, Speciální sdělení
Titulní strana:

- krátký, výstižný název práce,
- zkratka jména, příjmení autora/ů,
- úřední název pracoviště.

Souhrn: 2x (1x česky, 1x anglicky), maxim. rozsah 1 strana (200 slov) bez vnitřního členění, zakončeno 3–10 klíčovými slovy.

Vlastní text. Seznam použitých zkratk. Literatura. Poděkování.

Celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

Původní práce, Vyšetřovací metody
Titulní strana:

- krátký, výstižný název práce,
- zkratka jména, příjmení autora/ů,
- úřední název pracoviště.

Strukturovaný abstrakt: 2x (1x česky, 1x anglicky), maxim. rozsah 1 strana (200 slov).

Části abstraktu:

Východisko: 2–4 věty charakterizující stav problému, 2–3 věty udávající cíl práce.

Metody a výsledky: charakteristika sledované skupiny, použité metody. Nejvýznamnější výsledky, vyjádřené numericky s udáním statistické významnosti.

Závěry: co z dané studie vyplývá.

Klíčová slova: 3–10 slov.

Vlastní text, metody, výsledky, diskuze. Seznam použitých zkratk. Literatura.

Celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

Zprávy ze sjezdů, Dějiny lékařství, Dopisy redakci, Diskuze
Titulní strana:

- krátký, výstižný název,
- zkratka křestního jména, příjmení autora/ů,
- úřední název pracoviště.

Vlastní text, celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

U VŠECH FOREM RUKOPISŮ

Pod seznam použité literatury se uvádí informace o případné podpoře grantem (plný název agentury a číslo grantu), dále přesná adresa pracoviště i bydliště a rodné číslo prvního autora.

Každý rukopis je hodnocen redakcí a prochází zdvojeným recenzním řízením. Nepříjemné práce jsou na vyžádání vráceny zpravidla do 3 měsíců.

Redakce nepřijme práce:

- které neodpovídají uvedeným požadavkům,
- které byly nepříznivě posouzeny recenzenty,
- jestliže redakce v poslední době práci stejného tématu přijala nebo již publikovala, není-li v záměru redakce a posláni časopisu danou problematiku publikovat.

Rukopisy vyhovující uvedeným požadavkům zasílejte na adresu:

doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc.
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2
nebo petr.bartunek@lf1.cuni.cz

VÝZVA REDAKCE

Apelujeme na všechny přispěvatele Časopisu lékařů českých, aby ve svých publikacích *neopomýjeli citovat domácí autory.*

Uvádění citací českých autorů je nejen v zájmu publikujících, ale v zájmu celé naší lékařské veřejnosti. Děkujeme za porozumění a spolupráci.

Redakční rada Časopisu lékařů českých

NEJVÝZNAMNĚJŠÍ OSOBNOSTI PRAŽSKÉ LÉKAŘSKÉ FAKULTY

RUDOLF JEDLIČKA

(1869–1926)

Polovina dvacátých let byla pro lékařskou fakultu Univerzity Karlovy obdobím generačního zlomu. Zvláště neblahým na odchody starších kolegů byl rok 1926, kdy ve svém krkonošském zátíši na Novém Světě 26. října zemřel i Rudolf Jedlička. Tento vůdčí zjev české medicíny přelomu století, který neváhal svým pacientům obětovat veškerou energii, vlastní prostředky a dokonce i zdraví, se narodil 20. února 1869 v Lysé nad Labem v rodině oblíbeného lékaře. Po maturitě na pražském akademickém gymnáziu završil studia medicíny na české lékařské fakultě roku 1895. Již během studií praktikoval na interní klinice u profesora E. Maixnera a na klinice pro nemoci novorozenců, kojenců a kojných. Krátce po promoci nastoupil na chirurgickou kliniku profesora K. Maydla, nejprve jako elév, později jako asistent a docent (habilitován 26. června 1901). Během asistentury podnikl řadu studijních cest na špičková zahraniční pracoviště v Polsku a Rusku (1897), Německu a Dánsku (1899), Švýcarsku, Belgii, Nizozemí a Velké Británii (1900), Itálii (1901) a opakovaně ve Francii (1900, 1902). Po Maydlově smrti v roce 1903 kliniku a přednášky z chirurgie na rok suploval. Definitivní vedení kliniky a profesuru se mu ale nepodařilo získat, proto odešel jako vedoucí chirurgického oddělení na fakultní polikliniku, kde byl 14. září 1907 jmenován mimořádným profesorem. Současně provozoval soukromou praxi a operoval i v řadě pražských a venkovských

nemocnic. Po odchodu z kliniky až do vypuknutí světové války věnoval svou energii především úkolům na poli sociálně humánním, mimo jiné založením dodnes proslulého ústavu pro léčbu a výchovu tělesně postižených, otevřeného roku 1912 a pojmenovaného po svém zakladateli. Největších zkušeností s chirurgickou léčbou zmrzačených osob nabyl za lékařské expedice za balkánské války v letech 1912–1913 a posléze na počátku první světové války.

Těsně před vypuknutím války se v červnu 1914 dočkal také otevření Pražského sanatoria v Podolí, na jehož vybudování měl rozhodující podíl, organizační i finanční. Pražské sanatorium se stalo důstojným stánkem jeho dalších odborných aktivit. Jeho součástí byl od počátku radiologicko-rentgenologický ústav, jehož byl Jedlička přednostou až do smrti. Po válce, kdy nový československý stát podporoval rozvoj české lékařské fakulty, došlo na založení některých nových klinik a vlastního klinického pracoviště se konečně po zásluze dostalo i Jedličkovi. Řádným profesorem chirurgie (zpočátku jen ad personam, bez vlastní kliniky) byl jmenován 18. července 1921 a teprve v dubnu následujícího roku mu bylo povoleno otevřít v Pražském sanatoriu chirurgickou kliniku, označenou jako II. a systematizovanou 21. září 1922. Ve stejném roce mu byla pro obrovské vědecké a organizační zásluhy na poli rentgenologie a radiologie rozšířena *venia legendi* i o tento obor (15. prosince 1922). Přes nepřízeň osudu, která Jedličku po dlouhá léta provázela, vynikl rovnou měrou v obou oborech. Jeho první vědeckou prací byl článek o rentge-

nologii (O skiografii a skiaskopii Roentgenových paprsků a jejich diagnostické ceně v chirurgii. Čas. Lék. čes., 1899), jejímž se stal průkopníkem nejen u nás, ale v rámci celé střední Evropy. V rentgenologii spatřoval nejenom diagnostickou pomůcku, ale byl si vědom také mimořádného významu radiologie jako terapeutického prostředku a doplňku chirurgické léčby zhoubných nádorů. Jako mnoho dalších kolegů z první generace rentgenologů a radiologů neunikl poškození vlastního zdraví. Rovněž jako chirurg zanechal v české medicíně hlubokou stopu. Vytvořil vlastní vědeckou školu, jejíž nositelkou se stala II. chirurgická klinika v čele s Jedličkovým nástupcem Jiřím Divišem. Zaměřil se zvláště na břišní chirurgii (resekce žaludku, resekce žlučových, pankreatogastrostomie), i když rejstřík jeho zájmů byl neobyčejně široký (mj. kostní chirurgie, chirurgická léčba epilepsie atd.). Některé jeho publikace, zvláště prioritní monografie *Zur operativen Behandlung des chronischen Magengeschwürs und dessen Begleitscheinungen* z roku 1904, dosáhly světového ohlasu. Rudolf Jedlička byl ve všech směrech jednou z nejvýznamnějších osobností české lékařské fakulty, pražského zdravotnictví a sociální péče – jako učitel, vědec, organizátor a především jako člověk.

*doc. PhDr. Petr Svobodný,
Ústav dějin UK – Archiv UK
116 36 Praha 1, Ovocný trh 3
e-mail: petr.svobodny@ruk.cuni.cz*

*Je lépe litovat,
že jsme něco zažili,
než litovat,
že jsme nic nezažili.*

GIOVANI BOCCACIO