



**HABILITAČNÍ A INAUGURAČNÍ PŘEDNÁŠKY
NA 1. LÉKAŘSKÉ FAKULTĚ UK V PRAZE
2004**



K vydání připravila
Mgr. Vlasta Helekalová, MBA
oddělení pro vnější vztahy 1. LF UK v Praze

HABILITAČNÍ A INAUGURAČNÍ PŘEDNÁŠKY
NA 1. LÉKAŘSKÉ FAKULTĚ UK V PRAZE
2004

Vydalo nakladatelství Galén, Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5, www.galen.cz
Editor PhDr. Lubomír Houdek
Šéfredaktorka PhDr. Soňa Dernerová
Odpovědný redaktor Radek Lunga
Dokumentace z archívu autorů
Sazba Ing. Milena Pohlová, Galén
Tisk GLOS, Špidlenova 436, 513 01 Semily
G 251041

www.galen.cz

Copyright © 1. LF UK, 2005
Copyright © authors, 2005

ISBN 80-7262-338-9



OBSAH

ÚVODNÍ SLOVO	7
<i>Štěpán Svačina</i>	
HABILITAČNÍ PŘEDNÁŠKY	
Rakovina prsu – celospolečenský problém	11
<i>Jitka Abrahámová</i>	
Klinicko-genetický přístup ku geneticky podmieněným vývinovým vadám skeletu	25
<i>Alice Baxová</i>	
Transplantace kmenových buněk krvetvorby – vybrané komplikace a možnosti ovlivnění jejich výskytu	32
<i>Petr Cetkovský</i>	
Dlouhodobé trendy základních rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění v české populaci	39
<i>Renata Cífková</i>	
Vývojová dysfázie – porucha zpracování řečového signálu	47
<i>Olga Dlouhá</i>	
Význam tukové tkáně a jejích endokrinních produktů při rozvoji metabolických změn u malnutrice, obezity a inzulinové rezistence	54
<i>Martin Haluzík</i>	
Role imunitní odpovědi v patogenezi bakteriální sepse	66
<i>Michal Holub</i>	
Produkty pokročilé glykace a oxidace	72
<i>Marta Kalousová</i>	
Genetické varianty cystathionin β -syntázy jako příčina lidských onemocnění	78
<i>Viktor Kožich</i>	

Vývojové a biochemické aspekty hyperkinetické poruchy (ADHD)	86
<i>Ivo Paclt</i>	
Fotodynamická terapie maligních nádorů v experimentu	95
<i>Pavla Poučková</i>	
Elektrofyzilogické nálezy u centrálních míšních lézí	100
<i>Ivana Štětkařová</i>	
Význam pozitronové emisní tomografie a vysokodávkované terapie s autologní transplantací krvetvorných buněk v léčbě maligních lymfomů	107
<i>Marek Trněný</i>	
Virová hepatitida C: 15 let a další perspektiva	114
<i>Petr Urbánek</i>	
Metabolismus bilirubinu ve střevě	120
<i>Libor Vitek</i>	
Úloha hepcidinu v regulaci kinetiky železa v organismu	127
<i>Martin Vokurka</i>	
 INAUGURAČNÍ PŘEDNÁŠKY	
Robotika v laparoskopické chirurgii	137
<i>Martin Fried</i>	
Borreliosis lymensis cutis	143
<i>Jana Hercogová</i>	
Diastolické srdeční selhání	148
<i>Jaromír Hradec</i>	
Súčasný stav a perspektívy orofaciálnej onkológie	155
<i>Andrej Jenča</i>	
Disperze intervalu QT – mýtus, nebo diagnostický ukazatel?	163
<i>Otomar Kittnar</i>	
Aktivační a regulační mechanismy mozkových buněk a lymfocytů	171
<i>Hana Kovářů</i>	
Diagnostické a terapeutické aspekty hypertrofie levé komory	182
<i>Aleš Linhart</i>	
Klinický obraz a patogeneze u polycystické choroby ledvin autosomálně dominantního typu	194
<i>Miroslav Merta</i>	
Přínos farmakologie k individualizaci farmakoterapie	199
<i>František Perlík</i>	
Bez znalosti předchozího není budoucnost	204
<i>Milada Říhová</i>	
Systémová sklerodermie – klasifikace a závažnost onemocnění	207
<i>Jiří Štork</i>	
Endokrinní hypertenze	214
<i>Jiří Widimský</i>	
 ODBORNÉ BIOGRAFIE	 223



ÚVODNÍ SLOVO

Jsem rád, že se na konci šestiletého působení současného kolegia děkana 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy podařilo obnovit tradici vydávání sborníku habilitačních a inauguračních přednášek. Za přípravu sborníku chci poděkovat především proděkanovi pro vědu prof. MUDr. Vladimíru Tesařovi, DrSc., a vedoucí oddělení vědy paní Jitce Buczkové. Získat od pracovně přetížených docentů a profesorů všechny texty bylo možné jen zásluhou jejich velkého úsilí. Paní Buczková koncem srpna tohoto roku odchází do důchodu a tato knížka je rovněž určitým završením práce pro fakultu. Jejím rukama prošly desítky habilitačních a jmenovacích řízení. Nedávno jsme činnost paní Buczkové ocenili velkou Pamětní medailí 1. LF UK a za její rozsáhlou práci pro fakultu jí musíme poděkovat i na tomto místě. Rovněž profesor Tesař se ve svém šestiletém působení ve funkci proděkana pro vědu významně zasloužil o kvalitu jmenovacích a habilitačních řízení.

Naše fakulta má habilitační práva téměř ve všech lékařských oborech. V poslední době probíhají na každé vědecké radě každý měsíc tři řízení a nedávno jsme museli uspořádat mimořádnou vědeckou radu s pěti řízeními.

Proto jsme se rozhodli vydávat sborník, který kdysi již vycházel. Některé fakulty a univerzity publikují jmenovací a habilitační přednášky ve svých časopisech. Univerzita Karlova podobný soubor nevydává, ale samostatné svazky jednotlivých přednášek publikuje například České vysoké učení technické.

Jaké motivy nás vedly k obnovenému vydávání sborníku a k čemu může sloužit?

1. Zcela jistě je dokumentem doby. Je dokladem toho, jakou úroveň jednotlivé obory v naší době měly.
2. Zpřístupňuje obsah řízení širší veřejnosti. Sám mohu říci, že mne často mrzelo, že některé krásné přednášky slyšela jen naše vědecká rada.
3. Je to reprezentativní publikace, kterou můžeme k propagaci fakulty nabídnout odborné veřejnosti, zatímco každoročně vydávané Křeslo pro Fausta je určeno spíše veřejnosti širší.

4. Je osobní památkou pro ty, kdo řízení podstoupili, i pro členy vědecké rady, kteří je vyslechli.

Téměř všechny přednášky proběhly na deseti zasedáních vědecké rady v roce 2004. Přiřadili jsme i některá řízení z konce roku 2003, kde ke jmenování profesorem došlo v průběhu roku 2005.

Přeji knížce, aby čtenáře zaujala, aby se její tradice udržela, a z historických důvodů připomínám, že byla poprvé uvedena dne 28. června 2005 na závěrečném zasedání vědecké rady 1. LF UK, která nyní působí tři roky. Mnozí členové vědecké rady jsou ve své funkci šest, deset i více let.

Ještě jednou děkuji všem, kdo se na vzniku sborníku podíleli, a také nakladatelství Galén za jeho přípravu a vydání.

prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc., MBA
děkan 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy



HABILITAČNÍ PŘEDNÁŠKY

- Doc. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.
- Doc. MUDr. Alice Baxová, CSc.
- Doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D.
- Doc. MUDr. Renata Cífková, CSc.
- Doc. MUDr. Olga Dlouhá, CSc.
- Doc. MUDr. Martin Haluzík, CSc.
- Doc. MUDr. Michal Holub, Ph.D.
- Doc. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D.
- Doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc.
- Doc. MUDr. Ivo Pačt, CSc.
- Doc. RNDr. Pavla Poučková, CSc.
- Doc. MUDr. Ivana Štětkářová, CSc.
- Doc. MUDr. Marek Trněný, CSc.
- Doc. MUDr. Petr Urbánek, CSc.
- Doc. MUDr. Libor Vítek, Ph.D.
- Doc. MUDr. Martin Vokurka, CSc.



RAKOVINA PRSU – CELOSPOLEČENSKÝ PROBLÉM



Doc. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Fakultní Thomayerova nemocnice, Onkologické oddělení*

SOUHRN

Karcinom prsu je chronické onemocnění s dlouhodobým, mnohaletým průběhem. V letech 1996–1998 provádělo Onkologické oddělení FTN v rámci tříletého grantu IGA MZ ČR pilotní screeningovou studii směřující k včasnému zachytu rakoviny prsu. Do screeningu vstoupilo 2788 žen převážně z regionu Prahy 4. Šlo o ženy asymptomatické, které byly pozvány aktivně podle věku od 45 do 65 let.

Během screeningového programu bylo diagnostikováno celkem 43 karcinomů, z toho 6 karcinomů *in situ*, které by bez aktivního pozvání žen nebyly odhaleny. 19 karcinomů T1 bylo mamograficky rozpoznáno ve 13 případech, dalších 6 bylo diagnostikováno vzhledem k nejistotě v korelaci s klinickým nálezem. Karcinomy velikosti T2 byly ve dvou případech hodnoceny jako pravděpodobně benigní a vzhledem k nejistotě se ženy podrobily dalšímu vyšetření. Karcinomů T2 bylo 12 a T3 bylo 5. Tyto pokročilejší karcinomy jsou obrazem zanedbanosti cílové populace.

38 karcinomů bylo odhaleno v prevalenčním kole. Jen 2 ženy ze všech žen, které přiznaly, že vědí o rezistenci v prsu, byly nositelkami karcinomu. Zbytek afekcí byl benigní. Srovnáním s údaji NOR byla incidence zjištěných karcinomů signifikantně vyšší, než by odpovídalo dané věkové kategorii a regionu. Diagnostikovali jsme 5 intervalových karcinomů.

U patientek s karcinomem prsu byl zaznamenán přibližně dvojnásobně vyšší výskyt nádorových onemocnění v rodinné anamnéze, a to jak u matky, tak u otce i sourozenců. Ve skupině žen s karcinomem prsu byl dále pozorován vyšší podíl matek, které v době mateřství nekojily, a bezdětných žen. Analýza faktorů životního stylu neprokázala výraznější rozdíly v kouření, pití kávy a příjmu alkoholu u žen s karcinomem prsu. Zajímavá zjištění se týkala samovyšetřování prsu, kdy přibližně 90 % žen ve studii

avedlo, že vědí, co je to samovyšetřování prsu, ale pouze asi 20 % žen provádí samovyšetřování prsu pravidelně.

Během screeningu byl zachycen poměrně velký počet benigních lézí. V počátečním kole skriningu byl vyšší počet chirurgických výkonů (53) pro benignitu a z nich 40 představovalo léze již rizikové, hodné dalšího sledování. V dalších kolech se podíl chirurgických výkonů pro benigní nálezy prudce snížil na polovinu. Při tomto jevu sehrála svou roli nepochybně i hormonální léčba, jejíž užívání je relativně vysoké jak u žen premenopauzálních (antikoncepce), tak postmenopauzálních (substituce). Přehled provedených chirurgických výkonů svědčí pro větší podíl záchovných operací u žen s diagnostikovaným karcinomem během screeningu, než je obvyklé u symptomatických žen.

Zabývali jsme se posléze problematikou žen na obou koncích incidenční křivky, tj. problematikou žen mladých a problematikou žen přestárých. Obě tyto skupiny nespádají nikde do screeningu a mají svou specifickou problematiku, kterou autorka dále dokládá na vlastním materiálu.

Pilotní screeningová studie pro včasný záchyt rakoviny prsu byla vůbec první svého druhu v ČR a prokázala platnost screeningu v naší populaci.

SUMMARY

Breast cancer – a major social problem

Breast carcinoma is a chronic disease that develops over a number of years. The oncological dept. of the Thomayer Teaching Hospital in Prague carried out, as part of a three-year IGA grant of the Czech Ministry of Health, in 1996–1998 a pilot screening study focusing on an early detection of breast cancer. 2788 women, mainly from the borough Prague 4, were included in the screening. All women were asymptomatic, aged 45 to 65 years, who were invited to join the study.

During the screening we diagnosed 43 carcinomas, including 6 carcinomas in situ that would not have been detected had the women not been invited to join the screening. 13 of 19 T1 carcinomas were found on mammography, the remaining 6 were diagnosed due to a vague correlation with the clinical finding. In two instances T2 carcinomas were evaluated as probably benign – and as there was some uncertainty the women were referred to additional investigations. There were 12 T2 and 5 T3 carcinomas. These advanced carcinomas reflect the negligence of the target population.

38 carcinomas were detected during the prevalence phase. Only 2 of the total number of women in the study who admitted knowledge of breast resistance, presented with a carcinoma. All the remaining disorders were benign. Compared with NOR data the incidence of detected carcinomas was significantly higher than corresponding to the given age group and locality. We diagnosed 5 interval carcinomas.

In the family history of patients presenting with breast carcinoma we found approx. a twice as high incidence of tumorous diseases – this concerned their mothers, fathers and siblings. In the group of women presenting with breast carcinoma we saw a higher proportion of mothers who did not breast-feed their babies and of childless women. An analysis of life-style factors did not reveal any significant differences in smoking, drinking coffee and alcohol between women presenting with breast carcinoma and the others. An interesting finding concerned breast self-examination – cca

90% of the women in the study declared that they knew what self-examination meant, but only some 20% practised regular self-examination.

During the screening we detected a relatively high number of benign lesions. In the early phase of the screening we had a higher number of surgical interventions (53) for benign disorders – of these 40 were risk lesions requiring a further follow-up. In the subsequent phases the proportion of surgical interventions for benign disorders rapidly dropped by 50%. There was certainly a significant role of hormonal treatment – its proportion is relatively high in both premenopausal (contraception) and postmenopausal (replacement) women. A list of surgeries shows a higher proportion of preservation operations in women with a carcinoma diagnosed during the screening than is usual in symptomatic women.

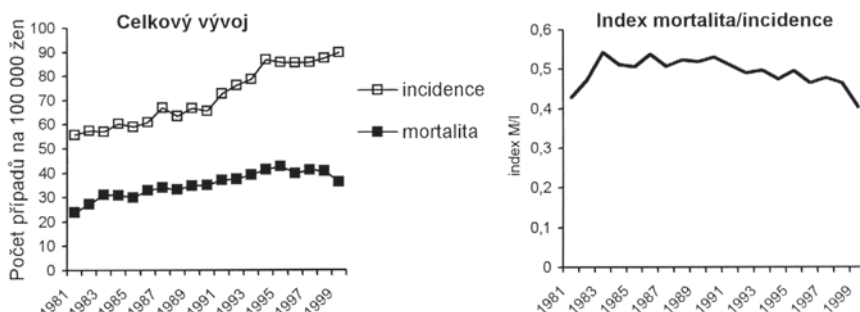
Last but not least we also looked into the situation of women at both ends of the incidence curve, i.e. of young women and of women of an advanced age. These two groups are never included in screenings. Their situation is specific, as the author demonstrates on material from her own clinical practice.

The pilot screening study focusing on an early detection of breast cancer was the first of its kind in the Czech Republic. It confirmed the significance of screening for our population.

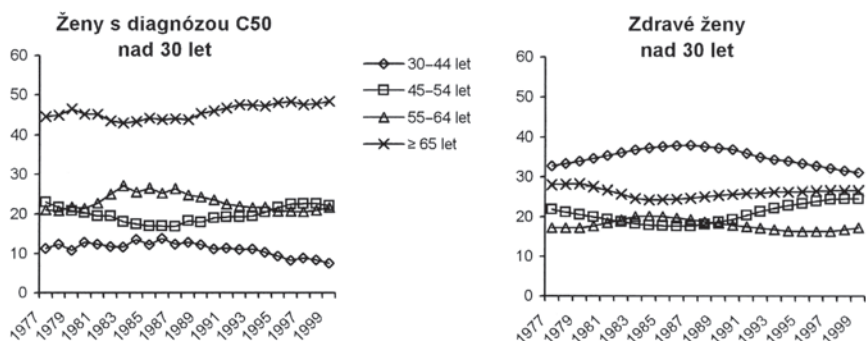
RAKOVINA PRSU – CELOSPOLEČENSKÝ PROBLÉM

Karcinom prsu je chronické onemocnění s dlouhodobým mnohaletým průběhem. V České republice patří k nejčastějším zhoubným onemocněním žen, nárůst hrubé incidence za období 1980–1999 činí 68 %, průměrný věk žen s touto chorobou činí 62,8 roku. Křivka incidence stoupá zejména po 45 roce věku. V posledních 5–8 letech je patrný zlepšený záchyt časnějších stadií a snižování mortality. Nejúčinnějšími zbraněmi v boji proti rakovině prsu je časná detekce a účinná léčba. Obojí se odráží v příznivém výše uvedeném trendu (obr. 1–4, tab. 1).

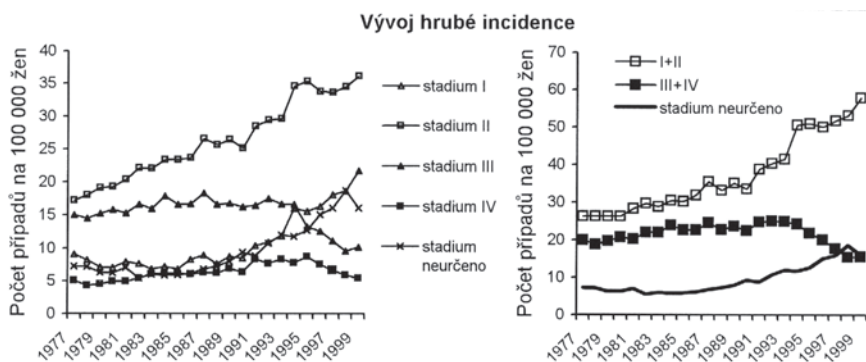
V letech 1996–1998 provádělo onkologické oddělení FTN v rámci tříletého grantu IGA MZ ČR pilotní screeningovou studii směřující k včasnému zachytu rakoviny prsu.



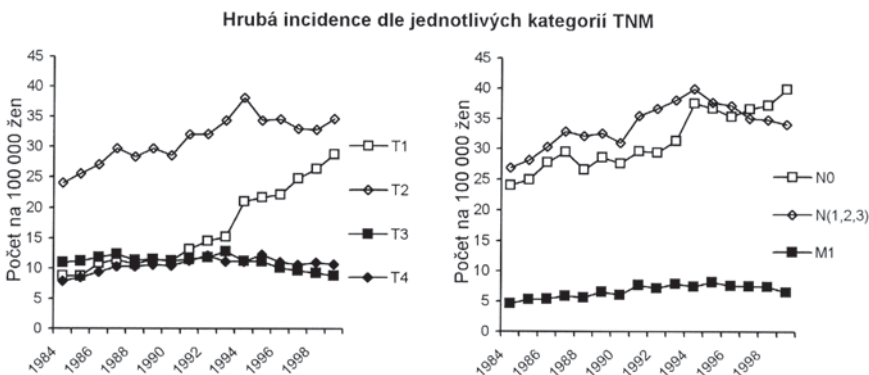
Obr. 1. Incidence a mortalita diagnózy C50 – existující trendy v České republice. Podle: ÚZIS ČR



Obr. 2. Podíl výskytu věkových kategorií



Obr. 3. Časové trendy v zachytu klinických stadií. Podle: ÚZIS ČR



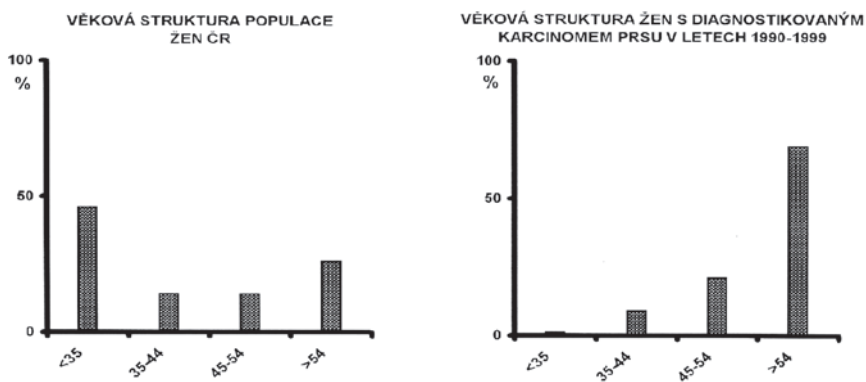
Obr. 4. Vývoj hrubé incidence dle TNM v čase. Podle: ÚZIS ČR

Tab. 1. Průměrný věk žen s karcinomem prsu diagnostikovaným v různých klinických stádiích – časový rozvoj

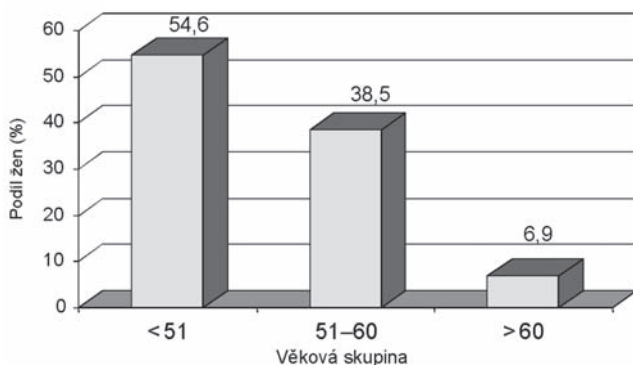
	1977–1987	1988–1993	1994–1999	p
Stadium I	58,1 ± 0,4 (n = 4516)	58,8 ± 0,5 (n = 3085)	59,5 ± 0,3 (n = 5638)	<< 0,01
Stadium II	59,6 ± 0,2 (n = 12 501)	60,2 ± 0,3 (n = 8764)	60,8 ± 0,2 (n = 11 031)	<< 0,01
Stadium III	62,8 ± 0,3 (n = 9451)	63,0 ± 0,4 (n = 5332)	63,6 ± 0,4 (n = 3888)	0,02
Stadium IV	65,7 ± 0,4 (n = 3177)	65,9 ± 0,5 (n = 2332)	65,8 ± 0,5 (n = 2225)	NS
Stadium neurčeno	64,4 ± 0,5 (n = 3728)	67,6 ± 0,5 (n = 2992)	69,3 ± 0,4 (n = 4795)	<< 0,01
Všechny případy	61,4 ± 0,1 (n = 33 373)	62,3 ± 0,2 (n = 22 505)	62,8 ± 0,2 (n = 27 577)	<< 0,01

Do screeningu vstoupilo 2788 žen převážně z regionu Prahy 4. Šlo o ženy asymptomatické, které byly pozvány aktivně podle věku od 45 let do 65 let (obr. 5–7).

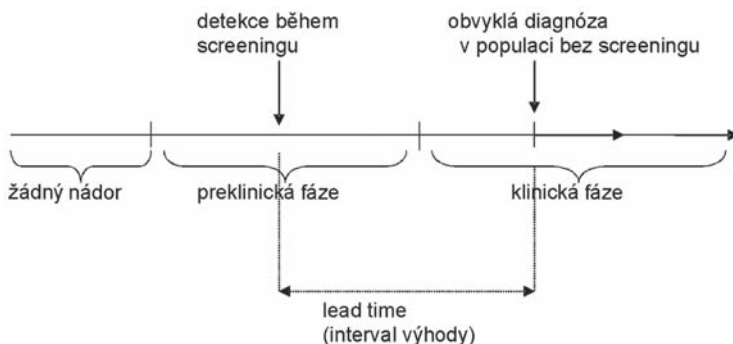
Každá žena vyplnila dotazník zaměřený na rodinný výskyt karcinomu prsu v přímé horizontální a vertikální linii a výskyt jiných nádorových onemocnění v rodině. Další pozornost byla věnována gynekologické anamnéze (menstruace, porody, potraty, kojení, hormonální léčba) a rizikovým faktorům dávaným do souvislosti se vznikem karcinomu prsu. Zjišťovali jsme vědomosti a praktické znalosti samovyšetřování. Posléze zkušený klinik (klinický onkolog) provedl pohovor s pacientkou nad dotazníkem, nácvik samovyšetřování a pak se věnoval klinickému vyšetření. Palpační nález byl pečlivě slovně i graficky zaznamenán. Každá žena se podrobila mamografickému vyšetření ve dvou projekcích. Mastogramy vyhodnotili dva vysoce kvalifikovaní rentgenologové nezávisle na sobě. Nález klinický a mamografický byl korelován a podle výsledku byla část žen pozvána k opakované návštěvě s doplňující sonografií, popřípadě k bioptickému ověření. V rozmezí 18 měsíců byly ženy pozvány do dalšího screeningového kola. Návštěvnost v dalším kole byla 85 %. Během screeningového pro-



Obr. 5. Věk jako základní rizikový faktor vývoje karcinomu prsu



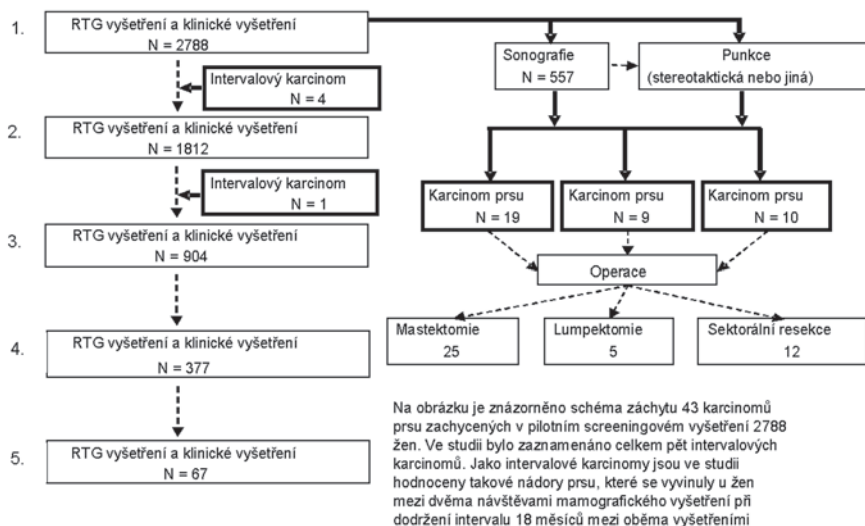
Obr. 6. Pilotní projekt mamografického screeningu v ČR – věková struktura žen při vstupu do projektu



Obr. 7. Vztah mezi trváním preklinické fáze, screeningovou epizodou a intervalem výhody

gramu bylo diagnostikováno celkem 43 karcinomů, z toho 6 karcinomů *in situ*, které by bez aktivního pozvání žen nebyly odhaleny. 19 karcinomů T1 bylo mamograficky rozpoznáno ve 13 případech, dalších 6 bylo diagnostikováno vzhledem k nejistotě v korelaci s klinickým nálezem. Karcinomy velikosti T2 byly ve dvou případech hodnoceny jako pravděpodobně benigní a vzhledem k nejistotě se ženy podrobily dalšímu vyšetření. Karcinomů T2 bylo 12 a T3 bylo 5. Tyto pokročilejší karcinomy jsou obrazem zanedbanosti cílové populace. Karcinomy velikosti T3 nečinily samozřejmě žádné diagnostické obtíže. Těchto 5 žen navštívilo screening po aktivním pozvání. Dvě z nich o své afekci věděly, ale do té doby k lékaři nešly. Tři další o nádoru ve svém prsu neměly tušení. Všechny těchto 5 žen by bez screeningu pravděpodobně žádné zdravotnické zařízení nenavštívilo. 38 karcinomů bylo odhaleno v prevalenčním kole. Jen 2 ženy ze všech 56 žen, které přiznaly, že vědí o rezistenci v prsu, byly nositelkami karcinomu. Zbytek afekcí byl benigní (obr. 8, tab. 2).

Diagnostikovalo se 5 intervalových karcinomů a z toho 4 po prvním kole screeningu a 1 po kole druhém. Při podrobné analýze všech 5 případů nebyly ve dvou případech na předchozím screeningovém snímku nalezeny žádné změny, v dalších třech



Obr. 8. Pilotní projekt mamografického screeningu v ČR – schéma záchytu karcinomu prsu ve studii

Tab. 2. Zjištěné karcinomy během pilotní studie ve věkových kategoriích

věk / pT	< 51	51–60	> 60	Celkem
Tis	3	3	–	6
pT1	9	10	–	19
pT2	3	3	6	12
pT3	–	2	3	5
pT4	–	–	–	–
Nezn. pT	–	1	–	1
Celkem	14	18	9	43

případech byly patrné minimální známky, které by eventuálně mohly svědčit o přítomnosti nádoru. Během screeningu byl zachycen poměrně velký počet benigních lézí. V počátečním kole screeningu byl vyšší počet chirurgických výkonů (53) pro benignitu a z nich 40 představovalo léze již rizikové, hodné dalšího sledování. V dalších kolech se podíl chirurgických výkonů pro benigní nálezy prudce snížil na polovinu. Na tomto jevu sehrála svou roli zřejmě i hormonální léčba, její užívání je relativně vysoké jak u žen premenopauzálních (antikoncepce), tak postmenopauzálních (substitute).

Přehled provedených chirurgických výkonů (tab. 3) svědčí pro větší podíl zachovných operací u žen s diagnostikovaným karcinomem během screeningu, než je obvyklé u symptomatických žen. Celkový počet odhalených karcinomů je signifikantně vyšší než by odpovídalo incidenci podle NOR ($p < 0,001$). Rozložení klinických stadií je rovněž rozdílné, a to ve prospěch nižších stadií ve screeningové skupině oproti NOR.

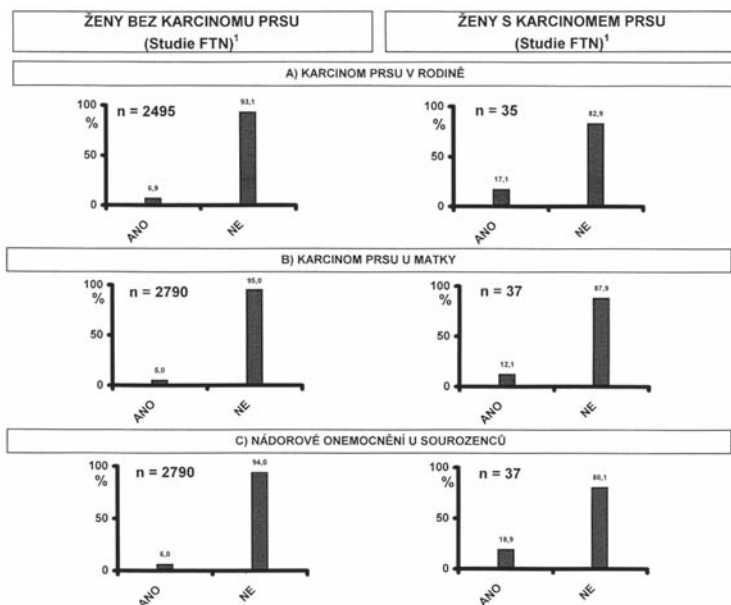
U pacientek s karcinomem prsu byl zaznamenán přibližně dvojnásobně vyšší výskyt nádorových onemocnění v rodinné anamnéze, a to jak u matky, tak u otce i sourozenců

Tab. 3. Chirurgické výkony u zjištěných karcinomů

pT	Ablace	Lumpektomie	Parc. resekce	Celkem
Tis	—	3	3	6
pT1	8	2	9	19
pT2	12	—	—	12
pT3	5	—	—	5
Celkem	25	5	12	42

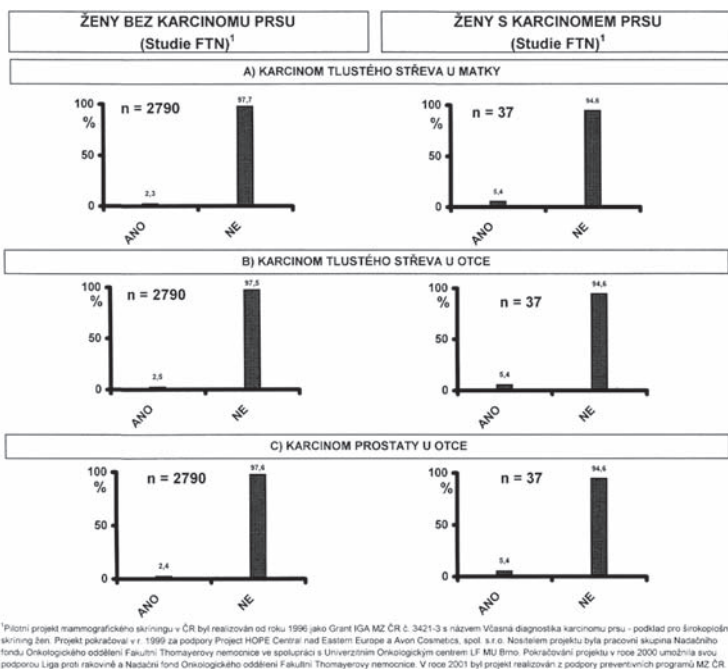
(obr. 9, 10). Ve skupině žen s karcinomem prsu byl dále pozorován vyšší podíl matek, které v době mateřství nekojily, a vyšší podíl bezdětných žen. Analýza faktorů životního stylu neprokázala výraznější rozdíly v kouření, pití kávy a příjmu alkoholu u žen s karcinomem prsu oproti ženám zdravým. Zajímavá zjištění se týkala samovyšetřování prsu, kdy přibližně 90 % žen ve studii uvedlo, že vědí, co je to samovyšetřování prsu, ale pouze asi 20 % žen provádí samovyšetřování prsu pravidelně (viz obr. 8; obr. 9–13).

V našem screeningu ženy starších ročníků (nad 60 let) reagovaly na vyzvání do našeho screeningu nejméně a karcinomy byly pokročilé (T2, T3). Karcinomy starších žen (nad 65 let) rostou většinou pomalu, mají spíše příznivý průběh. Ve screeningových studiích se neprokázal efekt na snížení mortality u starších žen. Argumenty proti zařazování starších žen nad 69 let věku hovoří o menší efektivitě dané menším počtem uspořené let života. Screeningový program má po 69. roce věku malý vliv na zvýšení předpokládaných let života a celá organizace screeningu včetně nepříjemných

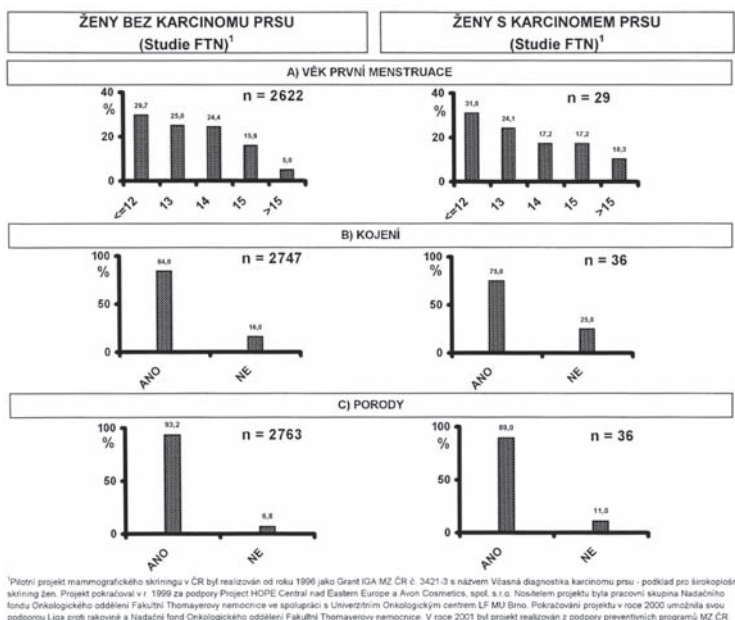


¹Pilotní projekt mamografického skríningu v ČR byl realizován od roku 1996 jako Grant IGA MZ ČR č. 3421-3 s názvem Vládní diagnostika karcinomu prsu - podklad pro širokoplošný skríning žen. Projekt pokračoval v r. 1999 za podpory Project HOPE Central nad Eastern Europe a Avon Cosmetics, spol. s r.o. Nositelem projektu byla pracovní skupina Národního fondu Onkologického oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice ve spolupráci s Univerzitním Onkologickým centrem LF MU Brno. Pokračování projektu v roce 2000 umožnila svou podporou Liga proti rakovině a Národní fond Onkologického oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice. V roce 2001 byl projekt realizován z podpory preventivních programů MZ ČR.

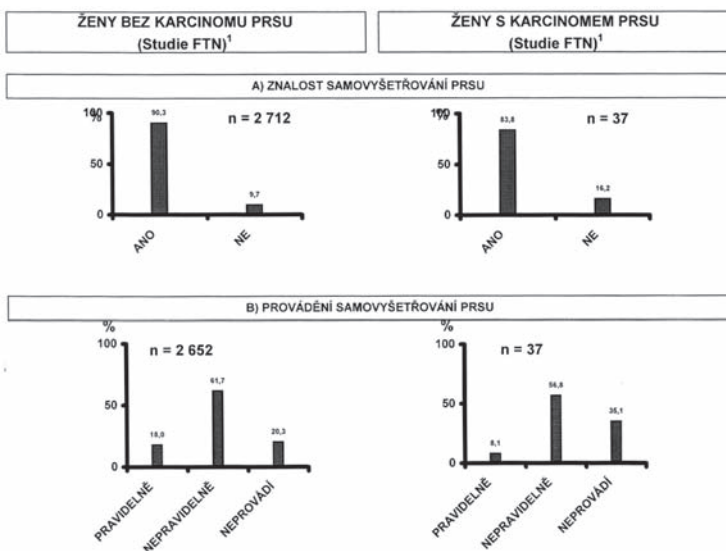
Obr. 9. Výskyt rizikových faktorů karcinomu prsu – genetické faktory I



Obr. 10. Výskyt rizikových faktorů karcinomu prsu – genetické faktory II

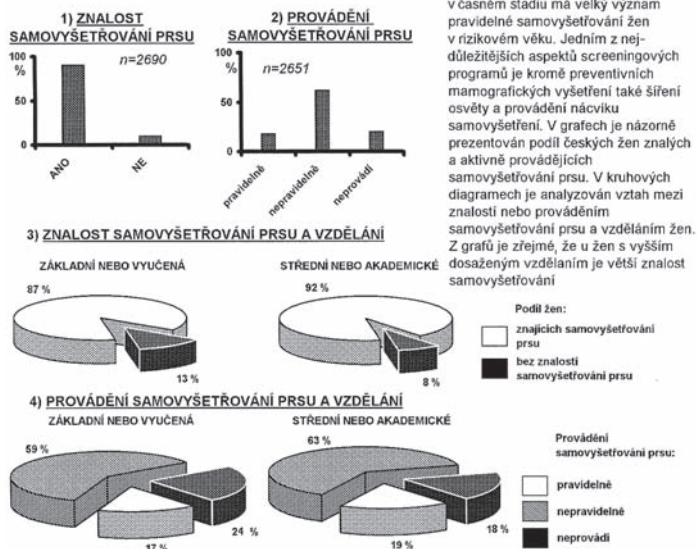


Obr. 11. Výskyt rizikových faktorů karcinomu prsu – hormonální faktory



¹Pilotní projekt mamografického screeningu v ČR byl realizován od roku 1996 jako Grant IGA MZ ČR č. 3421-3 s názvem Všeobecná diagnostika karcinomu prsu - podklad pro širokoplošný screening žen. Projekt pokračoval v r. 1999 za podpory Project HOPE Central and Eastern Europe a Avon Cosmetics, spol. s r.o. Následně projektu byla pracovní skupina Národního fondu Onkologického oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice ve spolupráci s Ústavem Onkologickým centrem LF MU Brno. Pokračování projektu v roce 2000 umožnila svou podporou Liga proti rakovině a Nadační fond Onkologického oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice. V roce 2001 byl projekt realizován z podpory preventivních programů MZ ČR.

Obr. 12. Výskyt rizikových faktorů karcinomu prsu – samovyšetřování prsu



¹Pilotní projekt mamografického screeningu v ČR byl realizován od roku 1996 jako Grant IGA MZ ČR č. 3421-3 s názvem Všeobecná diagnostika karcinomu prsu - podklad pro širokoplošný screening žen. Projekt pokračoval v r. 1999 za podpory Project HOPE Central and Eastern Europe a Avon Cosmetics, s.r.o. Následně projektu byla pracovní skupina Národního fondu Onkologického oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice ve spolupráci s Ústavem Onkologickým centrem LF MU Brno. Pokračování projektu v roce 2000 umožnila svou podporou Liga proti rakovině a Nadační fond Onkologického oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice. V roce 2001 byl projekt realizován z podpory preventivních programů MZ ČR.

Obr. 13. Pilotní projekt mamografického screeningu v České republice¹ – znalost samovyšetřování prsu u českých žen

pocitů bolesti během vyšetření může přivodit úzkost a značný dyskomfort, který není vyvážen přiměřeným přínosem (obr. 14).

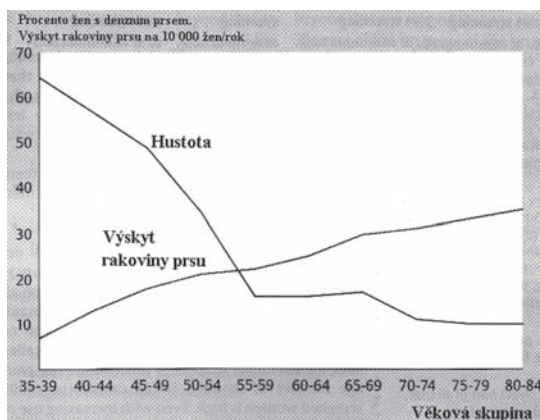
V naší pilotní studii jsme prokázali platnost a účelnost screeningu v naší populaci ve všech parametrech. Ženy s karcinomem zjištěným ve screeningu se podrobily adekvátní léčbě a všechny dosud žijí. Od října 2002 platí vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR týkající se screeningu žen ve věku 45–69 let, na nějž mají ženy nárok po doporučení gynekologem nebo praktickým lékařem.

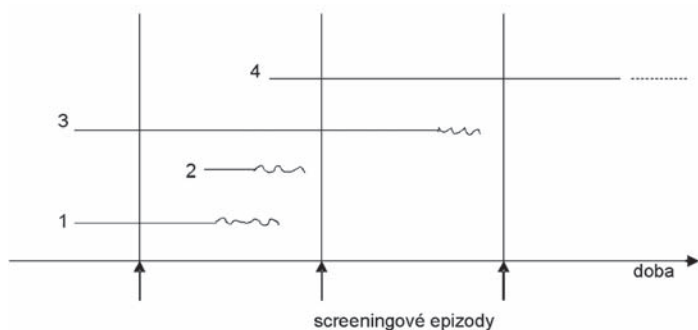
Kromě pilotní screeningové studie se každoročně musíme postarat o 150 nově diagnostikovaných žen s karcinomem prsu přicházejících mimo jakýkoliv screening. Jelikož se žádné studie ani screeningové programy nezabývají problematikou žen přestárých ani problematikou žen velmi mladých, obrátili jsme svou pozornost na karcinom prsu u žen na obou stranách incidenční křivky. Obě tyto skupiny mají svou specifickou problematiku. U žen nad 65 let a zejména u žen nad 70 let panuje mezi řadou lékařů onkologů terapeutická skepse.

Neznamená to, že si přestárle ženy s karcinomem prsu nezaslouží léčbu. Tam, kde je nález nepokročilý a je operabilní, rozhodnutí o léčebném postupu většinou nečiní obtíže. Nejistoty panují v případě lokálně pokročilého a diseminovaného onemocnění. V rozhodovacím procesu hraje zásadní roli celkový stav nemocné a komorbidita, neboť léčbou nesmí být snížena kvalita života.

Z našich 67 žen s pokročilým karcinomem ve věku 69–78 let bylo 55 lokálně pokročilých a 12 diseminovaných. V první skupině bylo 10 nemocných se závažnými komorbiditami, 45 žen bylo ve velmi dobrém stavu. Vhodnou kombinací hormonální léčby a monochemoterapie jsme dosáhli u této skupiny parciální remise ve 44 případech, z nichž 39 se podrobilo operaci (ablaci) a další lokální radiaci. Žádná nezemřela na generalizaci nádoru a přežívají po skončené léčbě 2–4 roky dosud při výborné kvalitě života. Z 12 diseminovaných nemocných (plíce, kosti) bylo kombinovanou léčbou hormonální a event. chemickou (monochemoterapie) dosaženo stabilizace ve 2/3 případů. Z nich 4 se stabilizací (s kostními metastázami) přežívají déle než 3 roky při dobré kvalitě života. Z uvedeného vyplývá, že přestárle ženy si zaslouží pozornost a samotný věk není jednoznačně kontraindikací systémové protinádorové léčby (viz obr. 14; obr. 15, tab. 4–6).

Obr. 14. Vztah denzity k prsu v určitém věku a věkový výskyt rakoviny prsu





Plné čáry znamenají preklinickou fázi nádoru. Špičaté křivky znamenají invazivní růst. Přerušovaně je znázorněn neprogredující karcinom. Karcinomy č. 1 a 3 byly zachyceny v preklinické fázi, první z nich by v intervalu mezi vyšetřeními přešel v invazivní karcinom, druhý z nich (č. 3) by byl zachytitelný v preklinické fázi ještě při druhém vyšetření. Karcinom č. 2 byl vzhledem ke krátké preklinické fázi zachycen již jako invazivní. Karcinom č. 4 má dlouhou preklinickou fázi a přechází v neprogredující karcinom (overdiagnosis)

Obr. 15. Možnosti zásahu screeningu v různých fázích rozvoje nádorové choroby

Tab. 4. Absolutní počty nově hlášených případů podle věkových kategorií

Rok	< 44 let	45–54 let	> 55 let z toho > 65 let		Celkem
1980	374	576	1885	1335	2835
1985	390	531	2215	1448	3136
1990	402	664	2427	1544	3493
1995	444	982	3121	2070	4547
1999	371	1050	3316	1366	4737

Tab. 5. Ženy s pokročilým karcinomem prsu ve věku nad 69 let

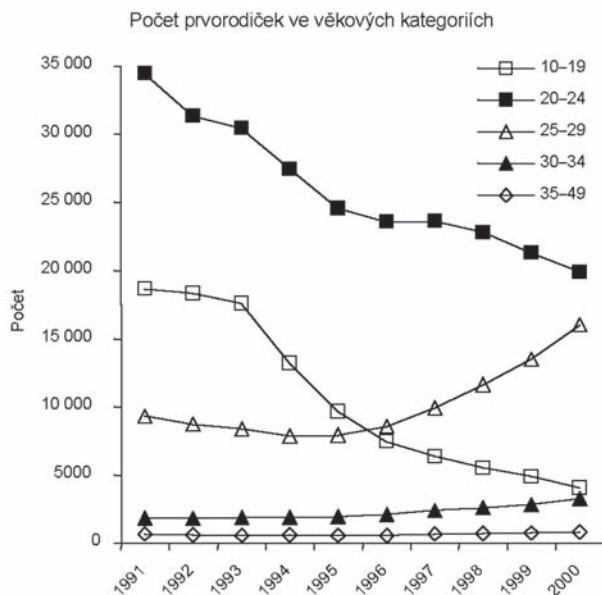
Léčit? Neléčit?	Rozhodně léčit Rozhodující je PS		
	HR+	HR–	Celkem
Lokálně pokročilé	40	5	45
Diseminované	10	2	12
			57

Tab. 6. Léčba

Počet	Horm.	Chem.	PR	Op.	Rad.
40 (HR+)	40	38	40	37	3
5 (HR–)	3	5	4	2	3
45					

S problematikou starých žen se budeme muset zabývat stále více, vzhledem ke stárnutí naší populace a vysokému výskytu rakoviny prsu u starých žen (u nás takřka 50 %). Gerontoonkologie je čím dál aktuálnější.

Změnou reprodukčních zvyklostí našich žen, a to zejména v souvislosti se zvyšujícím se věkem primipar (obr. 16, 17), se budeme stále více setkávat za prvé s karcinomem prsu diagnostikovaným během gravidity a za druhé s graviditou po úspěšně odléčeném karcinomu prsu. První případ je zatím poměrně vzácný. Druhý případ však přestává být výjimkou, jak o tom svědčí naše sestava 17 žen s karcinomem prsu ve věku 30–35 let (tab. 7–9).



Obr. 16. Časové trendy ve věku prvoroďiček v České republice



Obr. 17. Vývoj porodnosti ve vztahu k věku matky

V uvedené skupině nemocných bylo 6 nulipar, z nichž 5 plánuje v budoucnu koncepci. Dvanáct dalších žen porodilo 1–2 děti 3–8 let před diagnózou karcinomu a 6 z nich rovněž plánuje koncepci. 5 ze 17 uvedených nemocných však mělo řadu nepříznivých prediktivních a prognostických faktorů. U dvou došlo k diseminaci nádoru. Pacientky dostávaly kombinovanou chemickou a radiační léčbu a 12 z nich se léčilo LHRH analogy. Pět dalších mělo vlivem razantní chemoterapie amenoreu. Pět nemocných si vyžádalo přerušení léčby Zoladexem po 2–3 letech. Pacientky žijí od

Tab. 7. Ženy s karcinomem prsu ve věku 30–35 let

Stadium		Parc. výkon	Ablace	HR + –		LHRH	Rekonstr. operace	Chemo	Radiace	Gener. po dvou letech
I	10	9	1	9	1	9	1	8	10	–
II	6	2	4	3	3	3	4	6	6	1
III	1	–	1	–	1	–	1	1	–	1
IV	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Celkem	17	11	6	12	5	12	6	15	16	2

Tab. 8. Rodičovství u žen (s C50) ve věku 30–35 let

Stadium	Počet	Rodičky		Nerodičky	
		Počet	Plán. koncepce	Počet	Plán. koncepce
I	10	7	5	3	2
II	6	3	1	3	3
III	1	1	–	–	–
IV	–	–	–	–	–
Celkem	17	9	6	6	5

Tab. 9. Problematika mladých žen

- Karcinom prsu diagnostikovaný během gravidity (puerperia, laktace)
- Gravidita v době po odléčení karcinomu prsu

diagnózy 1–4 roky (viz tab. 5–7). U většiny z nich i přes negativní rodinnou anamnézu bylo provedeno genetické vyšetření vesměs s negativním výsledkem.

Kolik žen se v nedaleké budoucnosti skutečně rozhodne pro graviditu, a jak bude probíhat, se teprve ukáže. Zatím dostupná data svědčí pro to, že gravidita nemá na odléčený karcinom prsu vliv. Není dostatek podkladů pro její nedoporučení. Otázkou zůstává kvalita zachované fertility a případná ochranná úloha analogů LHRH.

Širokoplošný screening skýtá možnosti snížení mortality, posun diagnostikovaných karcinomů k nižším stadiím, a tím umožňuje větší podíl zachovných operací. Zvyšuje tak kvalitu života onemocnělých žen. Léčba nižších stadií je méně náročná a ekonomicky méně nákladná. Zvláštní přístup si vyžadují ženy s karcinomem prsu, které neprocházejí screeningem, a to značně početná skupina žen přestárých a nepočetná, ale velmi problematická skupina žen velmi mladých.

Literatura

- ABRAHÁMOVÁ, J., POVÝŠIL, C., HORÁK, J., et al. *Atlas nádorů prsu*. Praha : Grada Publishing, 2000.
- ABRAHÁMOVÁ, J., DUŠEK, L., et al. *Možnosti včasného zachytu rakoviny prsu*. Praha : Grada Publishing, 2003.
- ABRAHÁMOVÁ, J., WÁGNEROVÁ, M., KUBALA, E., et al. *Vinorelbine, Epirubicin and Methotrexate (VEM) as Primary Treatment in Locally Advanced Breast Cancer*. *Oncologist*, 2001, 6, p. 347–352.



KLINICKO-GENETICKÝ PRÍSTUP KU GENETICKY PODMIENENÝM VÝVINOVÝM VADÁM SKELETU



Doc. MUDr. Alice Baxová, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice,
Ústav biologie a lékařské genetiky*

SÚHRN

Skeletálne dysplázie (osteochondrodysplázie) a dyzostózy predstavujú rozsiahlu skupinu monogénovo podmienených ochorení s variabilnou manifestáciou klinických príznakov. Diagnostika jednotlivých vývojových anomálií skeletu je obtiažna, vyžaduje mnohoročné skúsenosti a úzku spoluprácu medzi klinickými genetikmi, röntgenológmi, ortopédami a pediatrami. Poznatky molekulovej genetiky v posledných 10 rokoch posunuli poznanie o etiológii vrodených vývinových porúch skeletu. Uvádzam skúsenosti s diagnostikou najčastejšie sa vyskytujúcich skeletálnych dysplázií podmienených mutáciami génu receptora pre fibroblastové rastové faktory 3 (FGFR3). Do tejto skupiny patrí achondroplázia, thanatoforická dysplázia, hypochondroplázia. Okrem uvedených skeletálnych dysplázií do skupiny FGFR3 viazaných vývojových väd skeletu bolo zaradené klinicky odlišné monogénové ochorenie s predčasným zrástom lebečných švov – kraniostenóza.

SUMMARY

Osteochondrodysplasias and dysostosis are a group of monogenic skeletal disorders. Diagnostics of these developmental skeletal abnormalities are very difficult and require years of experience and close cooperation of clinical geneticists, radiologists, orthopedists and pediatricians. Latest studies demonstrate that they are mostly caused by mutations in one of three fibroblast growth factor receptors (FGFR). Achondroplasia, hypochondroplasia and thanatophoric dysplasia are all caused by a mutation in the FGFR3 gene. The original contribution of the applicant in this field was demonstrated.

SÚČASNÝ STAV PROBLEMATIKY

Skeletálne dysplázie (osteochondrodysplázie) a dyzostózy predstavujú geneticky heterogénnu skupinu ochorení s variabilnou manifestáciou klinických príznakov. Najtypickejší prejav je malá (často disproporčná) postava, malformácie alebo deformácie skeletu. Závažnosť klinickej manifestácie sa líši medzi jednotlivcami podľa typu ochorenia, v rozsahu od minimálneho postihnutia až po úmrtie v neonatálnom období. Významne sa podieľa na neonatálnej mortalite. U prežívajúcich pacientov je riziko komplikácií v podobe progredujúcich skeletálnych deformít a extraskeletálnych manifestácií vrátane porúch CNS. Do poloviny minulého storočia sa väčšina skeletálnych dysplázií radila pod spoločný názov »chondrodystrofia fetalis«. Až v ostatných 50 rokoch sa začali vývojové vady skeletu logickejšie triediť do viacerých foriem. Kritériá, ktoré sa používali na odlíšenie jednotlivých skeletálnych dysplázií, boli určované na základe klinickej manifestácie, ako je dĺžka pri narodení, závažnosť rastovej retardácie, čas nástupu klinických príznakov, typ disproporcie tela, alebo charakter malformácie. U dyzostóz boli dysmorfické syndrómy určované podľa charakteristických anomálií skeletálnych, ale aj extraskeletálnych a objavovali sa »klasické syndrómy«. V tejto oblasti zohrali výnimočnú rolu klinickí genetici a pediatri špecializujúci sa na malformačné syndrómy. Postupne sa včleňovali aj nové poznatky z oblasti biochémie. Bolo potrebné utriediť rýchlo sa hromadiace poznatky o skeletálnych dyspláziách v podobe vytvorenia klasifikácie osteochondrodysplázií (1983). V roku 1992 došlo k reklasifikácii nozologických jednotiek. Táto zahrňovala viac ako 200 jednotiek pod názvom »Nomenclature and Classification of the Osteochondrodysplasias« (Spranger, 1992). Nová klasifikácia sa orientovala predovšetkým na röntgenologické a morfológické kritériá a spojila morfológicky podobné jednotky do »rodín«, u ktorých predpokladala spoločnú patogenézu klinického prejavu (Spranger, 1992). Nová klasifikácia obsahovala už 24 veľkých skupín kostných dysplázií. Táto klasifikácia umožnila väčšiu flexibilitu v zatriedovaní jednotlivých skeletálnych dysplázií s rozličným klinickým priebehom a pomohla v procese identifikácie génov zodpovedných za skeletálne dysplázie. V roku 1998 došlo k ďalšej revízii na základe nových informácií ohľadom patogenezy týkajúcej sa génových alebo proteínových defektov zodpovedných za skeletálne dysplázie. Progres v identifikácii génov zodpovedných za poruchy skeletu priniesol aj radu prekvapivých poznatkov. Niektoré dyzostózy boli rozpoznané ako alelické so skeletálnymi dyspláziami. V roku 2001 boli zohľadnené nové poznatky a dyzostózy boli začlenené medzi skeletálne dysplázie do novej »nomenklatúry«, ktorá bola zovšeobecnená a zvolil sa spoločný názov Nosology (Hall, 2002). Nové poznatky o génoch a proteínoch zodpovedných za genetické poruchy skeletu umožnili vytvoriť nový systém molekulárno-patogenetickej klasifikácie genetických porúch skeletu. Klasifikácia uľahčuje a zjednodušuje komunikáciu medzi klinickými genetikmi, pediatriami, molekulárnymi biológmi a pomáha aj pri vývoji diagnostických stratégií.

Výskyt skeletálnych dysplázií (SD) v populácii sa odhaduje na 1 na 2000–2500. Najčastejšou SD je achondroplázia, najčastejšou letálnou skeletálnou dyspláziou je thanatoforická dysplázia.

VLASTNÉ SKÚSENOSTI A VÝSLEDKY

Súbor pacientov

V priebehu rokov 1986 až 2004 sme vyšetrili 720 pacientov s vývojovými vadami skeletu. Väčšinu z nich tvorili skeletálne dysplázie, menšia časť predstavujú dyzostózy, event. izolované vývojové vady.

Metódy vyšetrenia

Klinické vyšetrenie

Skeletálne dysplázie a dyzostózy predstavujú poruchu vývoja skeletu a zvyčajne sa klinicky manifestujú malou postavou, malformáciou alebo deformáciou. Klinickým vyšetrením objektivizujeme povahu malformácie alebo deformácie, v prípade rastovej retardácie určujeme proporčnosť jednotlivých segmentov tela. Často je možné už klinickým vyšetrením odlišiť letálne formy od nezávažných foriem (thanatoforickú dyspláziu od achondroplázie). Disproporčný rast (často prítomný pri skeletálnych dyspláziách) je v mnohých prípadoch ľahko rozpoznateľný bežným klinickým vyšetrením. Presnejšie a objektívnejšie je antropometrické meranie. Detailné klinické vyšetrenie často pomôže odhodiť správnu diagnózu, alebo zaradiť do pravdepodobnej skupiny. Niektoré fenotypové prejavy sú natoľko typické, že môžu byť dôležitými znakmi pri určení diagnózy.

Hlava:

- Disproporčne veľká hlava: achondroplázia, thanatoforická dysplázia, achondrogenéza.
- Kraniostenóza (hlava tvaru trojlístku): thanatoforická dysplázia, Apertov syndróm, Crouzonov syndróm, Pfeifferov syndróm.
- Wormianské kosti: osteogenesis imperfecta, cleidokraniálna dysplázia.

Ústa:

- Rázštep podnebia môže mať Kniestova dysplázia, spondyloepifyseálna dysplázia (SED), diastrofická dysplázia, campomelická dysplázia.
- Mnohopočetné frenulá máva chondroektodermálna dysplázia.

Uši:

- Akútne zdurenie ušného boltca typické pre diastrofickú dyspláziu.

Ruky a nohy:

- Polydaktília: chondroektodermálna dysplázia, letálne short-rib polydactyly syndróm, Jeune syndróm, Greigova cefalopolysyndaktília.
- Aplázia/hypoplázia radiálneho lúča: Holtov-Oramov syndróm.
- Autostopársky palec: diastrofická dysplázia.
- Syndaktília: Apertov syndróm, Pfeifferov syndróm, Greigova cefalopolysyndaktília.
- Pedes equinovarus: diastrofická dysplázia, Kniestova dysplázia, osteogenesis imperfecta.

Kĺby:

- Mnohopočetné kĺbové dislokácie: Larsenov syndróm a oto-palato digitálny syndróm.

Vývojová vada srdca:

- Chondroektodermálna dysplázia, Majewského syndróm, Holtov-Oramov syndróm.

Diabetes mellitus:

- Wolcott-Rallisonov syndróm.

Imunodeficiencia:

- Schimkeho imunoskeletálna dysplázia, cartilage-hair dysplázia.

Genealógia

Genealógia patrí do základného genetického vyšetrenia. Je nutné pátrať po konsanguinite rodičov, ale často aj po etniku rodičov (niektoré skeletálne dysplázie sú typické pre etniká s vysokým výskytom konsanguinných manželstiev). Dôležitá je anamnéza zameraná na spontánne potraty, predčasné pôrody, napr. plody s hydropsom, mŕtvorodené deti. U rodičov detí s dominantným typom vývojovej vady skeletu s variabilnou expresivitou (veľmi časté u osteogenesis imperfecta, kranioostenózy) hľadáme často diskretnú manifestáciu u ďalších členov rodiny. Vyšší vek otca v čase koncepcie dieťaťa s anomáliou skeletu vedie k podozreniu z mutácie *de novo*.

Röntgenové vyšetrenie

Röntgenové vyšetrenie ostáva naďalej kľúčovým pri určovaní typu skeletálnej dysplázie. Rtg snímky spravidla zahŕňajú predozadnú a bočnú snímku chrbtice, predozadnú snímku panvy, lebky a končatín. Röntgenové znaky podobne ako vonkajšie fenotypové prejavy sa vyvíjajú, závisia od veku a niektoré formy skeletálnych dysplázií s neskoršou manifestáciou je možné rozpoznať až v priebehu detstva alebo dospievania. Na druhej strane v dospelosti sa strácajú niektoré dôležité rtg znaky (zmeny na metafýzách a epifýzách) a bez porovnania so snímkami z detstva niekedy diagnózu v dospelosti nemožno určiť. Osobitnou skupinou je čoraz častejšie indikované rtg vyšetrenie plodu.

Ultrazvukové vyšetrenie

S rozvojom prenatálnych ultrazvukových skríningových vyšetrení vzrástol počet prípadov, kde na základe ultrazvukového nálezu malformácie alebo disproporčného rastu plodu prenatálne určujeme diagnózu skeletálnej dysplázie, event. dyzostózy, alebo podozrenie na ňu. Ide o relatívne novú metódu, ktorá sa rozvíja a nesie so sebou isté úskalia. Väčšinou ide o náhodné ultrazvukové nálezy u plodov zdravých rodičov bez predchádzajúcej anamnézy malformácií v rodine. Ultrazvukové nálezy v niektorých prípadoch umožnia urobiť diagnózu malformácie skeletu často s upresnením prognózy. Rozlíšia, či ide o letálnu malformáciu alebo miernejšiu, so životom zlučiteľnú formu anomálie skeletu.

Molekulové vyšetrenie

Molekulové vyšetrenie vybraných skeletálnych dysplázií a dyzostóz u pacientov z našej ambulancie zaisťuje MUDr. Anna Křepelová, CSc. DNA pacientov, event. ďalších členov rodiny sa vyšetruje metódami molekulovej genetiky. Na našom pracovisku sa vyšetrujú vývinové chyby skeletu podmienené mutáciami receptorov pre fibroblastové rastové faktory FGFR1, FGFR2 a FGFR3 a mutácie génu ROR2. K detekcii mutácií v génoch pre FGFR1,2,3 je používaná polymerázová reťazová reakcia (PCR), event. RT-PCR analýza konformácie jednoreťazcovej DNA (SSCP), denaturačnej gradiento-

vej gelovej elektroforézy (DGGE) a sekvenovania DNA. Bežné typy mutácií sú vyšetrované kombináciou PCR a reštrikčného štiepenia. Na našom pracovisku sme vytvorili DNA banku, ktorá sa nachádza na Ústave biológie a lekárskej genetiky 1. LF UK a VFN, kde uschovávame DNA so súhlasom pacientov s klinicky definovanými vývinovými chybami skeletu, u ktorých nie je známa molekulová podstata, alebo nie je známa diagnóza. Súčasťou tejto banky je podrobná klinická a röntgenologická dokumentácia pacienta.

Achondroplázia

Achondroplázia (ACH) je najčastejšou skeletálnou dyspláziou s výskytom 0,1–1,5 na 10 000 novorodencov. Je charakterizovaná disproporčne nízkou postavou s proximálnym skrátením končatín, makrocefaliou, širokým prominujúcim čelom, hypopláziou strednej časti tváre, lumbálnou lordózou, trojzubcovou rukou. Na rtg sú charakteristické zmeny. ACH sa dedí neúplne dominantne s úplnou penetranciou. Viac ako 90 % prípadov je sporadických, sú spôsobené *de novo* mutáciou (spravidla paternálnou). V roku 1994 bol zmapovaný gén pre ACH na chromozóme 4p16, blízko lokusu pre Huntingtonovu chorobu (Le Merrer et al., 1994a; Francomano et al., 1994). Počas dlhého hľadania génu pre Huntingtonovu chorobu bol označený ako kandidátny gén kódujúci receptor fibroblastového rastového faktoru 3 (FGFR3), ktorý sa exprimuje v chrupavke. Čoskoro po lokalizácii génu pre ACH, dve nezávislé vedecké skupiny našli mutácie v transmembránovej oblasti génu FGFR3 u pacientov s achondropláziou (Shiang et al., 1994; Rousseau et al., 1994). Táto mutácia bola zistená u 38 z 39 pacientov s ACH. Išlo o zámenu glycínu na arginín v kodóne 380 (G380R) vo FGFR3 géne. Molekulárne vyšetrenie pomocou polymorfizmov analyzovali pôvodcu mutácií a potvrdili u ACH podobne ako u Apertovho syndrómu (FGFR2) a Muenkeho syndrómu (FGFR3) paternálny pôvod mutácií. Potvrdili klinické pozorovania, že *de novo* vzniklé dominantné mutácie sú spojené s vyšším vekom mužov.

V našom súbore sme vyšetrili 72 pacientov s ACH. Klinicko-röntgenologický obraz ACH je pomerne uniformný, diagnostické problémy sa zjavujú vzácne len v ojedinelých prípadoch s atypickou manifestáciou ACH.

Vzhľadom na závažnosť individuálnej prognózy pre dieťa je vhodné, aby diagnózu ACH robil špecialista s dobrou skúsenosťou s diagnostikou skeletálnych dysplázií. Zvlášť v prípadoch atypickej manifestácie je indikované molekulové vyšetrenie na potvrdenie diagnózy. Dôležité miesto má molekulové vyšetrenie v prenatalnej diagnostike ACH, kde doterajšie mnohoročné skúsenosti s prenatalným ultrasonografickým vyšetrením varujú pred nepresnosťou a chybnými diagnózami. Klinickú diagnózu ACH sme overovali molekulovým vyšetrením u 66 pacientov. Z celkového počtu molekulovo vyšetrených pacientov (66) s klinickou diagnózou ACH sme potvrdili diagnózu ACH na molekulovej úrovni nálezom typickej mutácie v géne pre FGFR3 u 62 pacientov (tab. 1). DNA analýzu realizovala MUDr. Anna Křepelová, CSc., Ústav biológie a lekárskej genetiky 1. LF UK a VFN.

Tab. 1. Prehľad diagnostikovaných mutácií v našom súbore

Molekulárna genetika achondroplázie	
Známe mutácie	Vlastné pozorovanie
GGG (Gly380) → AGG (Arg)	60 prípadov
GGG (Gly380) → CGG (Arg)	2 prípady

Thanatoforická dysplázia

Thanatoforická dysplázia typ I a II (TDI a TDII) je najčastejšia letálna skeletálna dysplázia s výskytom 1 na 20 000 až 60 000 novorodencov. Naprostá väčšina prípadov je sporadických, predstavujú novú dominantnú mutáciu. Typické znaky TD zahŕňujú extrémne skrátenie končatín, relatívnu makrocefaliu s vypuklým čelom a vpáčeným koreňom nosa, s úzkym hrudníkom a prominujúcim bruchom. Postihnutí novorodenci zomierajú krátko po narodení následkom respiračného zlyhania. Na základe špecifických röntgenových znakov sa TD delí na typ I, ktorý máva ohnuté femury a môže, ale nemusí mať kraniostenózu. TD typ II máva kraniostenózu (hlava tvaru trojlístku) a rovné femury. Početné mutácie génu *FGFR3* rozdelili túto dominantnú letálnu skeletálnu dyspláziu na niekoľko podtypov. V prípadoch TD typ II u postihnutých jedincov bola zistená jediná mutácia *Lys650Glu* v tyrosinkinázovej oblasti. TD II reprezentuje geneticky homogénnu jednotku. Naproti tomu TDI (ohnuté femury s rôznym stupňom kraniostenózy) predstavuje geneticky heterogénnu skupinu s variabilnou klinickou expresiou. Od roku 1983, kedy sme diagnostikovali prvý prípad TD u novorodenca, sa výrazne zmenil názor na túto najčastejšiu letálnu SD. Nedávne molekulové objavy potvrdili, že TD typ I je spôsobená početnými mutáciami génu *FGFR3*. Objav molekulovej podstaty TD bol v súlade so skúsenosťou, že TD typ II sa javila klinicky a röntgenologicky identická. Objav jedinej mutácie (*Ly650Glu*) v géne *FGFR3* vysvetľuje fenotypovú uniformitu TDII. Naproti tomu TDI je podmienená početnými mutáciami génu *FGFR3*, a to zodpovedá výraznejšej variabilite klinického aj röntgenového obrazu. Detekcia mutácií sa stala základom pre skúmanie fenotypových odlišností. Identifikované mutácie vo všetkých prípadoch klinicky potvrdených TD umožňujú porovnávať genotyp s fenotypom. V prípadoch s upresnenou mutáciou porovnáваме fenotyp a genotyp. Istou prekážkou v presnom hodnotení klinických a röntgenologických znakov je variabilný gestačný týždeň plodov a pomerne malý súbor pacientov. Na základe korelácie typu mutácie a nami hodnotených röntgenov možno konštatovať, že mutácia *Arg248Cys* v géne *FGFR3* má miernejšiu röntgenovú manifestáciu (dlhšie a rovnejšie femury, zriedkavo kraniostenózu).

Väčšina prípadov TD je v posledných rokoch diagnostikovaná prenatálne vďaka ultrasonografickému skriningovému vyšetreniu. Zo 16 prípadov TD (všetky boli TDI) 11 bolo diagnostikovaných prenatálne s následným ukončením gravidity. Naše skúsenosti dokumentujú, že diagnózu TD je možné s veľkou pravdepodobnosťou stanoviť postnatálne röntgenologicky u plodu už v 18.–20. týždni gravidity. Základom stále ostáva klinicko-röntgenologická diagnostika. Následné potvrdenie diagnózy TD molekulovým vyšetrením – identifikovanie kauzálnej mutácie génu *FGFR3* – poskytuje istotu v diagnóze aj u plodov vo včasných gestačných týždňoch.

Tab. 2. Prehľad diagnostikovaných mutácií v našom súbore

Molekulárna genetika TDI	
Zistené typy mutácií	Počet prípadov
CGC (<i>Arg248</i>) → TGC(<i>Cys</i>)	6
TCC (<i>Ser249</i>) → TGC(<i>Cys</i>)	2
GGC (<i>Ser370</i>) → TGC(<i>Cys</i>)	1
TAT (<i>Tyr 373</i>) → TGT (<i>Cys</i>)	3
TGA (<i>Ter807</i>) → TGT(<i>Cys</i>)	1

DNA analýzu sme robili u 13 vzorkov DNA plodov a novorodencov s diagnózou TD I (MUDr. Anna Křepelová, CSc., Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN). Mutácie vo FGFR3 géne boli identifikované v 13 prípadoch (tab. 2). Mutácie boli určené štandardnými molekulárno-biologickými metódami. V našom súbore bolo zistených 5 rôznych mutácií.

ZÁVER – VÝSTUP PRE PRAX

Naše skúsenosti sa opierajú o rozsiahly súbor pacientov so skeletálnymi dyspláziami prakticky zo všetkých regiónov Českej a Slovenskej republiky. Najčastejšími skeletálnymi dyspláziami v našom súbore je skupina skeletálnych dysplázií viazaných na FGFR3 gén (achondroplázia, thanatoforická dysplázia). Možno konštatovať, že achondropláziu je možné spoľahlivo diagnostikovať už v novorodeneckom veku za predpokladu, že diagnózu určuje skúsený odborník. Diagnózu achondroplázie je možné potvrdiť molekulárnym vyšetrením. Z 65 vyšetovaných pacientov s klinickou diagnózou achondroplázie sme našli mutáciu (Gly380Arg) v 62 vyšetrených prípadoch. Tento vysoký záchyt mutácie svedčí o klinickej homogenite tejto najčastejšej skeletálnej dysplázie a o spoľahlivej klinickej diagnóze. S menšou spoľahlivosťou býva diagnostikovaná najčastejšia letálna skeletálna dysplázia – TD typ I a II. Pod touto diagnózou sa často radia iné vzácne letálne formy SD. Hlavnou príčinou chýb pri stanovovaní diagnózy thanatoforickej dysplázie býva nízky gestačný týždeň plodov. V takýchto prípadoch je nutná veľká skúsenosť na posúdenie jednak prenatálneho ultrazvukového nálezu a následne posúdenie röntgenového nálezu a fenotypu plodu spravidla po ukončení gravidity. Molekulové vyšetrenie je v prípade thanatoforickej dysplázie potrebné na potvrdenie diagnózy práve vo včasných gestačných týždňoch. Z 13 prípadov s podozrením na thanatoforickú dyspláziu sme v 13 prípadoch potvrdili mutácie FGFR3 génu. Zavádzaním nových metód molekulovej genetiky sme vyšetrovali nedávno objavené mutácie génu FGFR3 pokúsili sme sa o koreláciu fenotypu–genotypu. U skeletálnych dysplázií spôsobených rôznymi mutáciami identického génu je možné na základe porovnania fenotypu-genotypu upresniť individuálnu prognózu. V rámci diagnostiky vývojových väd skeletu podmienených mutáciami FGFR3 génu sledujeme alelické ochorenia s poruchou membránovej osifikácie, ktoré vedú k predčasným zrastom švov lebky – Muenkeho koronárnu kraniostenózu. Ukázalo sa, že mutácie identického génu môžu viesť ku klinicky celkom odlišným jednotkám.

Diagnóza skeletálnych dysplázií vyžaduje značnú skúsenosť v posudzovaní röntgenového nálezu a fenotypových prejavov u pacienta. Skúsenosť odborníka (pediatra, genetika, röntgenológa) sa zvyšuje s počtom diagnostikovaných prípadov skeletálnych dysplázií. Osobitne raritnejšie formy skeletálnych dysplázií vyžadujú tým odborníkov so skúsenosťami a s prehľadom o nových poznatkoch z oblasti molekulovej podstaty skeletálnych dysplázií. Uvedené podmienky spĺňajú centrá so zameraním na diagnostiku a liečbu skeletálnych dysplázií. Správna diagnóza umožní rodine poskytnúť presnú genetickú prognózu a v prípadoch zvýšeného genetického rizika v mnohých prípadoch umožní včasnú prenatálnu diagnostiku. Multidisciplinárny prístup k problematike skeletálnych dysplázií v tesnej návaznosti na rodinu je hlavným predpokladom komplexného riešenia tohoto často závažného ochorenia detského, ale aj dospelého veku.

TRANSPLANTACE KMENOVÝCH BUNĚK KRVETVORBY – VYBRANÉ KOMPLIKACE A MOŽNOSTI OVLIVNĚNÍ JEJICH VÝSKYTU



Doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D.

Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha



SOUHRN

Vysoké dávky chemoterapie s autologní transplantací kmenových buněk krvetvorby (blood stem cell transplantation, BSCT) jsou stále více používány v léčbě maligních hematologických i nehematologických nemocí. Navzdory mnoha vylepšením však přetrvává mnoho problémů. Podávání faktoru stimulujícího granulocytární kolony (G-CSF) zkracuje dobu trvání neutropenie. Avšak optimální čas pro zahájení podávání G-CSF po BSCT zůstává stále nejasný. Vzhledem k tomu, že najít kritéria vhodná pro všechny nemocné není pravděpodobně reálné, a také protože je vhodné brát v úvahu individualitu nemocného, byla provedena studie u 70 nemocných. Bylo podáváno G-CSF u dvou skupin nemocných: u skupiny A byla aplikace G-CSF zahájena ihned po BSCT, u skupiny B bylo podávání G-CSF zahájeno dle kritérií závislých na nemocném (od prvního dne, kdy hodnota granulocytů poklesla pod $0,5 \cdot 10^9/l$). Ve skupině B opožděné zahájení aplikace G-CSF vedlo k významné finanční úspoře, současně nedošlo k ovlivnění rychlosti hematopoetické rekonstituce, počtu podaných transfúzí či antibiotik ani délky hospitalizace. Druhá studie byla provedena za účelem analyzování příčin způsobujících prodloužení hospitalizace u 100 nemocných s příhojeným štěpem. Hospitalizace byla prodloužena u 27 % nemocných, především v důsledku infekcí a toxicity pro gastrointestinální trakt. Nebyly nalezeny žádné rizikové faktory, které by umožnily předpovědět prodloužení hospitalizace. Z výsledků studie vyplynulo, že navzdory rychlému příhojení štěpu nehematologická toxicita a infekce zůstávají limitujícími faktory možného zkrácení délky hospitalizace u významného počtu nemocných po BSCT.

SUMMARY

High-dose chemotherapy with autologous blood stem cell transplantation (BSCT) has been used for treatment of variety hematological as well as nonhematological malignancies. Hence, despite innovations, several important problems remain. Application of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) can shorten the duration of severe neutropenia. The optimal time for starting G-CSF after BSCT still remains undetermined. As the attempts to find general criteria suitable for every patient may not be successful and to take also the patients' individuality into account, 70 patients were enrolled into study comparing immediate (Group A) versus patient dependent (Group B: first day with ANC below $0,5 \cdot 10^9/l$) therapy with G-CSF. Delayed G-CSF application in Group B led to significant cost saving without detectable differences in the hematopoietic recovery, use of blood products and antibiotics or in numbers of days of hospitalization. The second study was performed to assess the incidence and analyze reasons which cause prolongation of hospital stay in 100 engrafted patients. Discharge was delayed in 27 % patients, in majority of patients due to infections or GIT toxicity. No risk factors determining hospital stay prolongation were determined. In spite of rapid engraftment, non-hematological toxicities and infections remain important limitation of the length of patient hospitalisation in significant number of patients after BSCT.

ÚVOD

Časné komplikace autologních transplantací kmenových buněk krvetvorby (blood stem cell transplantation, BSCT) tvoří především problémy plynoucí z hematologické a akutní nehematologické toxicity. Hematologická toxicita je očekávanou komplikací (provedení autologní BSCT zkracuje její trvání); jejími nejčastějšími projevy jsou krvácení při trombocytopenii, infekce při granulocytopenii či komplikace plynoucí z anémie. Nehematologická toxicita vysoce dávkované chemoterapie (high-dose chemotherapy, HDC) se projevuje na gastrointestinálním traktu (GIT) jako mukozitida, především následujícími symptomy: nauzea, zvracení, průjemy, bolesti. Aplikací HDC, často až v dávce hraničící s maximální tolerovanou dávkou, jsou dále postiženy i následující systémy: urogenitální trakt (hemoragická cystitida), játra (v nejtěžších případech až venookluzivní choroba jaterní), plíce (syndrom intersticiální pneumonitidy), srdce, ledviny atd.

Hlavní faktory, které ovlivňují přihojení štěpu u autologních BSCT, jsou následující: druh štěpu (periferní BSCT vedou k rychlejšímu přihojení než BSCT získané z kostní dřevě), dávka transplantovaných buněk (vyšší dávka CD34+ buněk je spojena s rychlejším přihojením štěpu), kvalita štěpu (některá cytostatika negativně ovlivňují počet a kvalitu kmenových buněk), příznivé podmínky po BSCT (vhodné mikroprostředí, nepřítomnost fibrózy, splenomegalie atd.), podávání G-CSF (aplikace G-CSF má pozitivní dopad jak při mobilizaci před sklizní BSCT, tak i po PBSCT), komplikace průběhu BSCT (negativní dopad mají např. infekční komplikace atd.).

STUDIE 1

Kritéria závislá na nemocném mohou být ideální pro zahájení podávání faktoru stimulujícího granulocytární kolony po autologní transplantaci kmenových buněk krvetvorby (Individual criteria could be optimal for starting G-CSF application after autologous stem cell transplantation. Bone Marrow Transplantation, 1997, 20, p. 639–641, IF-2.184).

Úvod

Infekční komplikace v prvních týdnech po BSCT jsou jednou z nejčastějších a nezávažnějších komplikací. Incidence infekcí závisí především na stupni a délce trvání období neutropenie; je proto snaha zaváděním nových metod toto období zkrátit. Vzhledem k tomu, že aplikace G-CSF vede k rychlejší normalizaci hodnoty granulocytů, tak v posledních letech byl proveden větší počet studií, které sledovaly účinek podávání G-CSF na dobu trvání neutropenie. Závěry prokázaly, že aplikace G-CSF zkracuje období trvání granulocytopenie, avšak doposud nebyly zodpovězeny následující otázky:

1. Má aplikace G-CSF též vliv na incidenci infekčních komplikací?
2. Vede podávání G-CSF ke snížení spotřeby antibiotik (ATB)?
3. Vede aplikace G-CSF ke zkrácení trvání doby hospitalizace?

Nezodpovězena zůstává i doba optimálního zahájení aplikace G-CSF po BSCT. Stanovení tohoto období je stále předmětem výzkumu a v posledních 10 letech bylo v mnoha klinických studiích porovnáváno »časné« (v den 0 či +1) versus »pozdní« (den +3 až +9 po BSCT) zahájení aplikace G-CSF po BSCT. Navíc doposud není deklarováno ani stanovisko Americké společnosti pro klinickou onkologii (ASCO), neboť dle posledních guidelines jak optimální čas, tak trvání aplikace G-CSF po autologní PBSCT jsou nadále předmětem zkoumání. Dle doporučení ASCO je nejužitečnějším nepřímým parametrem možného přínosu aplikace G-CSF po myelosupresivní léčbě délka trvání neutropenie. Toto období by se mělo porovnat s ostatními významnými údaji, např. incidencí infekcí a jejich morbiditou i mortalitou, dále s dobou trvání hospitalizace, počtem podaných substitucí transfúzními přípravky, délkou podávání ATB a rovněž i celkovou cenou PBSCT. Obvykle bývá doporučováno zahájit aplikaci G-CSF později než v den 0 či +1; optimální čas pro zahájení je však stále předmětem hledání. Avšak vzhledem k tomu, že nemocní po BSCT tvoří velmi nehomogenní skupinu, lišící se mnoha parametry (např. stavem nemoci, dávkou a typem předchozí chemoterapie, postižením kostní dřeně, typem předtransplantační přípravy atd.), tak nalezení kritérií vhodných pro zahájení aplikace G-CSF u všech nemocných může být nemožné. Vzhledem k tomu, že většina léků má pro zahájení podávání jasná, na nemocném závislá (individuální) kritéria, a též vzhledem k tomu, že k ukončení aplikace G-CSF jsou používána striktní, individuální kritéria (např. tři po sobě následující dny, kdy je hodnota granulocytů vyšší než $1,0 \cdot 10^9/l$ či hodnota granulocytů vyšší než $10 \cdot 10^9/l$ atd.), byla provedena následující studie, zkoumající tyto otázky:

1. Může se zahájení podávání G-CSF po BSCT řídit individuálními kritérii?
2. Má pozdější zahájení aplikace G-CSF po BSCT vliv na frekvenci dalších (především infekčních) komplikací a je ovlivněna doba hospitalizace i celková cena PBSCT?

Soubor nemocných

Do studie bylo zařazeno 70 nemocných, 35 v každé skupině. Jejich bližší charakteristiku uvádí tab. 1.

Tab. 1. Charakteristika souboru 70 nemocných

	Skupina A (»časné podávání«)	Skupina B (»opozděné podávání«)
Věk: roky (medián, rozmezí)	43 (21–63)	42 (21–61)
Pohlaví (muži/ženy)	22/13	25/10
Nemoc (n):		
– non-hodgkinský lymfom	16	18
– maligní lymfogranulom	9	7
– mnohočetný myelom	10	10

Výsledky

Výsledky jsou uvedeny v tab. 2.

Tab. 2. Porovnání výsledků ve dvou skupinách

	Skupina A (»časné podávání«)	Skupina B (»opozděné podávání«)
Dny do ANC > $0,5 \cdot 10^9/l$	12 (9–17)	13 (9–18)
Dny do dosažení hodnot trombocytů > $50 \cdot 10^9/l$	24 (15–49)	24 (13–126)
Transfúze erytrocytů (TU)	3 (0–7)	3 (0–8)
Transfúze trombocytů (TU)	6 (0–14)	6 (0–17)
Dny podávání ATB	7 (0–13)	8 (0–16)
Dny hospitalizace	23 (16–34)	24 (15–36)
Dny aplikace G-CSF	15 (8–28)	12 (7–22)*
Dávky G-CSF ($\mu g/pacient/den$)	704 (510–980)	700 (540–1060)
Cena G-CSF pro jednoho pacienta	112 024 Kč	89 110 Kč

ANC = absolute neutrophil count, TU = transfusion unit

* $p < 0,05$

Závěry studie

Studie prokázala, že zahájení podávání G-CSF po BSCT se může řídit individuálními kritérii, především u těch pacientů, u nichž byla předtransplantační příprava provedena režimem jen pomalu navozujícím aplazii dřeně. Pozdější zahájení podávání G-CSF nemá vliv na frekvenci infekčních a dalších komplikací, počet podaných transfúzních přípravků ani trvání hospitalizace; kratší podávání G-CSF ušetřilo na jedné BSCT průměrně 22 914 Kč.

STUDIE 2

Faktory způsobující prodloužení hospitalizace přes období engraftmentu u nemocných po autologní transplantaci kmenových buněk krvetvorby (Causative factors for prolonged hospitalization beyond the point engraftment in patients after autolo-

gous peripheral blood stem cell transplantation. Bone Marrow Transplantation, 2000, 26, p. 877–880, IF-2.396).

Úvod

Vysoce dávkovaná chemoterapie (high-dose chemotherapy, HDC) s podporou autologní BSCT je finančně velmi náročná léčebná metoda. Snížit cenu BSCT lze více způsoby, například prováděním transplantace periferních kmenových buněk krvetvorby (PBSCT). Po PBSCT dojde, v porovnání s časem potřebným po podání kostní dřeně, k rychlejšímu engraftmentu. Vzbudilo se tak očekávání, že by tento léčebný postup, spojený s rychlejším engraftmentem, mohl vyústit ve zkrácení hospitalizace, a tak by mohlo dojít ke snížení ceny BSCT. Avšak vzhledem k tomu, že část pacientů zůstává hospitalizována i po konstatování engraftmentu (nejčastěji jako následek přetrvávajících infekcí či pomalejšího odeznívání nehematologické toxicity HDC, především pro GIT), naplnila se původní očekávání (že rychlejší rekonstituce krvetvorby povede ke zkrácení hospitalizace a tím i ceny BSCT) pouze částečně.

Cíle studie

Tato studie byla provedena především proto, aby bylo možno stanovit incidenci a příčiny prodloužení hospitalizace u pacientů, u nichž byl po PBSCT konstatován engraftment. Byly zkoumány hlavně tyto otázky:

1. Vyústily všechny nové postupy skutečně ve zkrácení hospitalizace a nezůstává část nemocných hospitalizována i po konstatování engraftmentu, především v důsledku perzistujících infekcí či pomalejšího odeznívání nehematologické toxicity HDC?
2. Měl druh použité předtransplantační přípravy vliv na typ komplikací?
3. Lze najít rizikové faktory k předpovědi možného prodloužení hospitalizace?

Soubor nemocných

Soubor 100 nemocných s jejich předtransplantačními daty je uveden v tab. 3.

Tab. 3. Předtransplantační charakteristika 100 nemocných

Počet nemocných/cyklů HDC	100/123
Věk: roky	44 (19–69)
Pohlaví: (muži/ženy)	54/46
Nemoc (počet):	
– non-hodgkinský lymfom	58
– maligní lymfogranulom	1
– mnohočetný myelom	27
– karcinom prsu	14

Výsledky

Výsledky jsou uvedeny v tab. 4–6.

Závěry

1. Téměř tři čtvrtiny nemocných byly propuštěny ihned po konstatování engraftmentu (průměrně v den +12 po PBSCT). Studie prokázala, že i navzdory rychlému engraftmentu zůstávají ostatní komplikace, především infekce a doznívající nehema-

Tab. 4. Důvody opožděného propuštění z nemocnice

Propuštění v den příhojení	90 (73 %)
Opožděné propuštění:	33 (27 %)
– aferéza PBSC	2
– problémy GIT	15
– infekce	15
– kardiotoxicita	1

Tab. 5. Vliv přípravného režimu na prodloužení hospitalizace

	BEAM	HD-L-PAM	Statistická významnost
Opoždění dimise z důvodů toxicity GIT	5/61 (8,2 %)	7/48 (14,7 %)	NS
Prodloužení hospitalizace z důvodu infekce	12/61 (19,7 %)	2/48 (3,7 %)	p < 0,05

BEAM, HD-L-PAM = druhy předtransplantační přípravy

Tab. 6. Vliv různých proměnných na prodloužení hospitalizace

	Počet transplantovaných nemocných	Počet prodloužených hospitalizací	Statistická významnost
Chemoterapie			
• < 6 cyklů	97	24 (24,7 %)	
• > 6 cyklů	26	7 (27 %)	NS
Věk			
• > 60 let	20	6 (30 %)	
• < 60 let	103	25 (24,3 %)	NS
Pohlaví			
• ženy	58	14 (24,1 %)	
• muži	65	17 (26,1 %)	NS
Pořadí HDC			
• první HDC	100	24 (24 %)	
• druhá HDC	23	7 (30 %)	NS
CD 34+ dávka			
• < 5 · 10 ⁶ /kg	46	13 (28,3 %)	
• > 5 · 10 ⁶ /kg	77	18 (23,4 %)	NS
Diagnóza			
• nonhodgkinský lymfom a maligní lymfogranulom	61	17 (27,9 %)	
• mnohočetný myelom	37	8 (21,6 %)	
• karcinom prsu	25	6 (24 %)	NS
Příprava			
• BEAM	61	17 (27,9 %)	
• HD-L-PAM	48	10 (21 %)	
• CECb	14	4 (28,6 %)	NS

NS = nesignifikantní, BEAM, HD-L-PAM = druhy předtransplantační přípravy, CD 34+ = buňky nesoucí povrchový antigen CD 34

tologická toxicita pro GIT, významnou překážkou dalšího zkrácení hospitalizace nemocných po PBSCT.

2. Při analýze dle jednotlivých přípravných předtransplantačních režimů bylo prokázáno, že po podání HDC v kombinaci BEAM byly významně častěji diagnostikovány infekční komplikace v porovnání s nemocnými připravovanými HD-L-PAM, u nichž nejčastěji odložení dimise způsobila toxicita režimu pro GIT. Důležitým zjištěním studie je rovněž skutečnost, že se nepodařilo nalézt žádné rizikové faktory umožňující předpovědět prodloužení hospitalizace.

BUDOUCNOST A PERSPEKTIVY AUTOLOGNÍCH PBSCT

V budoucnosti budou mít stále větší význam nové cytokiny či jejich kombinace. Velkou perspektivu mají rovněž *ex vivo* manipulace se štěpem, které by mohly nejen snížit počet invazivních procedur nutných k získání štěpu, ale především vést k jeho zkvalitnění. Budoucnost je zřejmě též v genové terapii (tč. se například provádí zkoumání účinku transferu genu pro mnoholékovou rezistenci atd.).

Vzhledem k tomu, že od chemoterapie, která se v současnosti používá, nelze očekávat další významné zlepšení výsledků, lze u určitých selektovaných nemocných léčebně využít reakce štěpu proti nádoru po provedení alogenní PBSCT, obvykle po přípravě s redukovanou intenzitou.



DLOUHODOBÉ TRENDY ZÁKLADNÍCH RIZIKOVÝCH FAKTORŮ KARDIOVASKULÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ V ČESKÉ POPULACI



Doc. MUDr. Renata Cífková, CSc., FESC

*Institut klinické a experimentální medicíny v Praze,
pracoviště preventivní kardiologie*

SOUHRN

Kardiovaskulární onemocnění (KVO) jsou hlavní příčinou úmrtí v České republice. Pokles úmrtnosti na KVO, který je u nás pozorován od roku 1985, může být způsoben poklesem incidence nebo letality. Letalita onemocnění souvisí především s úrovní léčebné péče, zatímco incidence KVO je ovlivněna rizikovým profilem obyvatelstva. Cílem této práce je sledování dlouhodobých trendů hlavních rizikových faktorů KVO v české populaci. Analýza dlouhodobého vývoje rizikového profilu populace může přispět k rozboru trendů morbidity a mortality na KVO.

Metodika a výsledky. V letech 1985, 1988, 1992, 1997/1998 a 2000/2001 bylo v České republice provedeno pět nezávislých průřezových šetření základních rizikových faktorů KVO u 1 % náhodně vybraného vzorku populace šesti okresů ve věku 25–64 let (celkem vyšetřeno 5736 mužů a 6027 žen).

Od roku 1985 klesá průměrný systolický i diastolický krevní tlak a prevalence hypertenze u obou pohlaví (muži: z 51,9 % na 45,6 %, $p < 0,001$; ženy: z 42,5 % na 33,0 %, $p < 0,001$). Přibývá osob, které vědí o hypertenzi (muži: z 41,4 % na 62,1 %, $p < 0,001$; ženy: z 58,9 % na 73,8 %, $p < 0,001$). Zvyšuje se počet medikamentózně léčených hyperteniků (muži: z 21,1 % na 41,8 %, $p < 0,001$; ženy: z 38,9 % na 59,1 %, $p < 0,001$). Kontrola hypertenze se zlepšuje u obou pohlaví (muži: z 2,8 % na 13,1 %, $p < 0,001$; ženy: z 5,2 % na 22,2 %, $p < 0,001$). Ve sledovaném období je patrný signifikantní sestupný trend pro koncentraci celkového cholesterolu u obou pohlaví (muži: z $6,21 \pm 1,29$ na $5,88 \pm 1,08$ mmol/l, $p < 0,001$; ženy: z $6,18 \pm 1,26$ na $5,82 \pm 1,13$ mmol/l, $p < 0,001$).

Ve sledovaném období 15–16 let klesá počet kuřáků (z 49,2 % na 37,8 %, $p < 0,001$) v mužské populaci, u žen se prevalence kuřáctví nemění. U mužů signifikantně stou-

pá BMI ($z\ 27,0 \pm 4,0$ na $28,1 \pm 4,4\ \text{kg/m}^2$, $p < 0,001$), u žen jsou změny BMI na hranici významnosti.

Závěry. U reprezentativního vzorku české populace byl v letech 1985–2000/2001 zaznamenán příznivý vývoj většiny základních rizikových faktorů KVO, který se velmi pravděpodobně podílí na poklesu kardiovaskulární mortality.

SUMMARY

Longitudinal trends in major cardiovascular risk factors in the Czech population

Cardiovascular disease (CVD) is the main cause of death in the Czech Republic. The decline in CVD mortality observed in our country since 1985 may be due to a decrease in its incidence or case fatality. Case fatality is mostly related to the standard of care whereas the incidence of CVD is associated with the risk profile of the population. The aim of this study is to monitor longitudinal trends in major CVD risk factors in the Czech population. Assessment of longitudinal trends in the population risk profile may help in analyzing the trends in CVD morbidity and mortality.

Methods and results. In the years 1985, 1988, 1992, 1997/1998 and 2000/2001, five independent cross-sectional surveys of CVD risk factors were conducted in a 1 % population random sample, aged 25–64 years, selected from six districts of the Czech Republic (with a total of 5,736 males and 6,027 females examined).

Mean systolic and diastolic blood pressure as well as the prevalence of hypertension are decreasing in both sexes since 1985 (from 51,9% to 45,6% in males, $p < 0,001$; from 42,5% to 33,0% in females, $p < 0,001$). There is an increase in awareness of hypertension (from 41,4% to 62,1% in males, $p < 0,001$; from 58,9% to 73,8% in females, $p < 0,001$). The proportion of individuals treated by antihypertensive drugs is increasing (from 21,1% to 41,8%, $p < 0,001$ in males; from 38,9% to 59,1% in females, $p < 0,001$). Hypertension control has improved in either sex (males: from 2,8% to 13,1%, $p < 0,001$; females: from 5,2% to 22,2%, $p < 0,001$). Over the study period, there is a clear significant downward trend in total cholesterol levels in both sexes (males: from $6,21 \pm 1,29$ to $5,88 \pm 1,08\ \text{mmol/l}$, $p < 0,001$; females: from $6,18 \pm 1,26$ to $5,82 \pm 1,13\ \text{mmol/l}$, $p < 0,001$).

Over the study period of 15/16 years, the proportion of male smokers is decreasing (from 49,2% to 37,8%, $p < 0,001$) whereas there is no change in the prevalence of smoking in the female population. There is a significant increase in BMI in males (from $27,0 \pm 4,0$ to $28,1 \pm 4,4\ \text{kg/m}^2$, $p < 0,001$) while the changes in BMI in females are of borderline significance.

Conclusions. In a representative Czech population sample, a favorable trend in most major CVD risk factors was observed in the 1985–2000/2001 period. This plays most likely a role in the decrease in CVD mortality.

ÚVOD

Podle statistických údajů Světové zdravotnické organizace patří Česká republika mezi státy vykazující nejvyšší úmrtnost na kardiovaskulární onemocnění (KVO). Tato nemocnění jsou u nás hlavním příčinou úmrtí. V roce 2002 byla KVO zodpovědná za 52,8 % všech úmrtí.

V úmrtnosti na KVO v Evropě jsou patrné rozdílné vývojové trendy. Zatímco v zemích severní, západní a jižní Evropy úmrtnost na KVO dlouhodobě klesá, v zemích střední a východní Evropy je v posledních 10 letech zřejmý vzestupný trend.

Výjimkou mezi zeměmi bývalého východního bloku je mimo jiné Česká republika, kde od poloviny 80. let úmrtnost na KVO pozvolna klesá. Výrazný pokles nastal po roce 1990 a trvá dosud. V roce 2002 byla u nás standardizovaná úmrtnost na KVO 560,5 u mužů a 379,4 u žen na 100 000 obyvatel. V porovnání se zeměmi EU je to hodnota vysoká – průměrná úmrtnost na KVO v 15 zemích EU byla 341,2 u mužů a 216,5 u žen (data z roku 1997).

Pokles úmrtnosti na KVO může být obecně způsoben poklesem incidence nebo letality (case-fatality). Letalita onemocnění souvisí především s úrovní léčebné péče, zatímco incidence KVO je ovlivněna rizikovým profilem obyvatelstva. Nejasnosti v příčinách snižování úmrtnosti na KVO byly podnětem pro realizaci mezinárodního projektu MONICA (MONItoring of trends and determinants in Cardiovascular disease) koordinovaného Světovou zdravotnickou organizací. K ověření těchto hypotéz byla v rámci projektu získána rozsáhlá databáze ve 37 centrech 26 zemí obsahující podrobné údaje o úmrtnosti, incidenci a léčbě akutních koronárních příhod a o prevalenci rizikových faktorů KVO v období deseti let.

Rizikové faktory můžeme obecně definovat jako vlastnosti, které se častěji vyskytují u osob zdravých, resp. bez klinické manifestace určitého onemocnění, avšak ohroženými rozvojem tohoto onemocnění v pozdějším věku. Za vytvoření pojmu rizikových faktorů KVO vdčíme Framinghamské studii, která byla zahájena v USA v roce 1948. Byla identifikována celá řada rizikových faktorů a riziko ICHS s nimi spojované bylo kvantifikováno. Kvantifikace absolutního rizika ischemické choroby srdeční (ICHS) vycházející z dat Framinghamské studie byla použita již ve dvou společných evropských doporučeních pro prevenci ICHS a v poslední verzi amerického Národního cholesterolového programu.

Existuje obecná shoda v základních rizikových faktorech KVO, které lze dělit na **modifikovatelné** a **nemodifikovatelné** (tab. 1).

Tab. 1. Životní styl a charakteristiky spojené se zvýšeným rizikem KVO

Životní styl (životospráva)	Biochemické nebo fyziologické charakteristiky (modifikovatelné)	Osobní charakteristiky (nemodifikovatelné)
Stravovací zvyklosti (strava bohatá na kalorie, saturevané tuky a cholesterol)	hypertenze zvýšený celkový (LDL) cholesterol	věk pohlaví
Kouření	snížený HDL-cholesterol	předčasný výskyt KVO v rodině
Nízká fyzická aktivita Nadměrná konzumace alkoholu	zvýšené triglyceridy zvýšená glykémie / diabetes nadváha / obezita trombogenní faktory markery chronického zánětu	KVO v anamnéze genetické markery

Epidemiologické studie ukazují, že kardiovaskulární onemocnění jsou podmíněna celou řadou rizikových faktorů, z nichž každý přispívá k celkovému riziku. Existují však nemocní, u nichž se může objevit klinická manifestace aterosklerózy a kteří nemají přítomny klasické rizikové faktory. V některých studiích jsou rizikové faktory schopny předpovědět méně než 50 % příhod.

Cílem této práce je sledování dlouhodobých trendů hlavních rizikových faktorů KVO v české populaci. Analýza dlouhodobého vývoje rizikového profilu populace může přispět k rozboru trendů morbidity a mortality na KVO.

METODIKA

Soubor vyšetřených

V České republice bylo provedeno celkem pět nezávislých průřezových šetření základních rizikových faktorů KVO. V letech 1985, 1988 a 1992 byla data získávána v rámci mezinárodní studie MONICA. Byl proveden 1% náhodný výběr vzorku populace šesti okresů ČR (Benešov, Cheb, Chrudim, Jindřichův Hradec, Pardubice, Praha-východ) ve věku 25–64 let, stratifikovaný podle věku a pohlaví. Náhodný výběr obyvatel v jednotlivých okresech byl proveden z registru obyvatel.

V letech 1997/1998 a 2000/2001 jsme navázali na studii MONICA a provedli další dvě nezávislá průřezová šetření u 1% náhodně vybraného vzorku populace devíti okresů ČR ve věku 25–64 let, stratifikovaného podle věku a pohlaví. Šest z devíti okresů již dříve participovalo ve studii MONICA. Náhodný výběr obyvatel v jednotlivých okresech byl proveden z registru pojištěnců, který ze zákona spravuje Všeobecná zdravotní pojišťovna a jenž je de facto aktualizací registru obyvatel (spravovaného MV ČR). První informace vybraným osobám zasílaly jejich zdravotní pojišťovny a další kontakt byl možný pouze v případě souhlasu probanda. Studie byla schválena Etickou komisí Institutu klinické a experimentální medicíny a Fakultní Thomayerovy nemocnice. U všech vyšetřených osob byl získán informovaný souhlas.

Vyšetření

Screeningové vyšetření sestávalo z vyplnění standardního dotazníku, získání základních antropometrických údajů (tělesná výška a hmotnost, změření obvodu pasu a boků), opakovaného měření krevního tlaku a odběru krve. Standardní dotazník vyplňoval vždy lékař. Dotazník zahrnoval základní demografické a socioekonomické údaje, rodinnou a osobní anamnézu, údaje o přítomnosti rizikových faktorů KVO a informace o současné farmakoterapii.

Odběr venózní krve byl prováděn u sedící osoby po 12hodinovém lačnění, optimálně bez zaškrcení nebo jen s krátkodobým zaškrcením paže. Vzorky venózní krve byly centrifugovány při 1500 G a následně zmrazeny.

Laboratorní vyšetření

Všechny analýzy lipidových parametrů byly prováděny v lipidové laboratoři IKEM, která v době trvání projektu MONICA sloužila jako referenční lipidová laboratoř Světové zdravotnické organizace. V letech 1985–1992 byl stanovován pouze celkový a HDL-cholesterol. Při průřezovém šetření v roce 1997/1998 a 2000/2002 byly navíc analyzovány i triglyceridy.

V letech 1985–1992 byl celkový cholesterol stanovován enzymatickou metodou CHOD-PAP kity firmy Boehringer, Mannheim, SRN. HDL-cholesterol byl stanovován rovněž enzymatickou metodou po vysrážení lipoproteinů obsahujících apolipoprotein B fosfowolframanem hořečnatým. Vzorky byly analyzovány za podmínek důsledné interní i externí kontroly kvality práce s následnou kontrolou všech vysokých i nízkých hodnot. V průběhu realizace projektu MONICA byla kontinuálně kontrolována přesnost stanovení a zjišťována odchylka od deklarovaných hodnot referenčních vzorků systémem externí kontroly kvality v Centers for Disease Control and Prevention (Atlanta, USA). Od roku 1997/1998 byly lipidové parametry analyzovány automaticky pomocí autoanalyzátoru COBAS MIRA S za použití enzymatických kitů stejné provenience.

Definice základních rizikových faktorů KVO

Hypertenze byla definována jako systolický krevní tlak (STK) ≥ 140 mm Hg nebo diastolický krevní tlak (DTK) ≥ 90 mm Hg (průměr 2. a 3. měření) nebo užívání anti-hypertenziv. Kontrola hypertenze byla definována jako dosažení TK $< 140/90$ mm Hg. Pro potřeby longitudinálního sledování jsou použity průměrné hodnoty z 1. a 2. měření, neboť v rámci studie MONICA byla prováděna pouze dvě měření krevního tlaku.

Dyslipidémii jsme definovali jako koncentraci celkového cholesterolu $\leq 5,0$ mmol/l nebo HDL-cholesterol $< 1,0$ mmol/l nebo LDL-cholesterol $\geq 3,0$ mmol/l nebo triglyceridy $\geq 2,0$ nebo užívání hypolipidemik.

Pro definici **kouření** jsme použili definici WHO a za pravidelného kuřáka jsme považovali osobu, která pravidelně kouří nejméně jednu cigaretu denně. Jako příležitostného kuřáka jsme označili osobu, která v současnosti kouří příležitostně, tj. méně než jednu cigaretu denně. Za bývalého kuřáka považujeme osobu, která v minulosti kouřila a v současné době nekouří, za nekuřáka osobu, která nikdy nekouřila.

Obezitu jsme definovali v souladu s WHO jako hodnoty BMI ≥ 30 kg/m². Hodnoty BMI v rozmezí 25,0–29,99 kg/m² jsme považovali za nadváhu.

Statistické hodnocení

Statistické hodnocení bylo provedeno za použití programu BMDP. Pro analýzu spojitých veličin byla použita analýza rozptylu (ANOVA). Analýza trendů byla provedena metodou lineárního kontrastu. Diskrétní veličiny byly analyzovány pomocí chí-kvadrát testu v kontingenčních tabulkách. Pro spojitě veličiny byly vypočítány průměry a směrodatné odchylky, pro diskrétní veličiny byly vypočítány absolutní a relativní četnosti. Všechny testy byly dvoustranné, hladina významnosti byla zvolena 0,05.

VÝSLEDKY

Soubory vyšetřených v letech 1985, 1988, 1992, 1997/1998 a 2000/2001 – pět nezávislých průřezových šetření (cross sectional survey).

Do pěti nezávislých průřezových šetření bylo v šesti okresech ČR zahrnuto 5736 mužů a 6027 žen ve věku 25–64 let. V tab. 2 jsou uvedeny počty vyšetřených osob a response – podle věku a pohlaví. Při všech pěti průřezových šetřeních byla response vyšší mezi ženami, nejvyšší účasti bylo dosaženo ve věkové skupině 45–54 roků u obou pohlaví. Response byla nejvyšší při vyšetření v roce 1988

Tab. 2. Soubor vyšetřených osob a response v letech 1985, 1988, 1992, 1997/1998 a 2000/2001 (pět průřezových šetření v šesti okresech ČR)

		1985		1988		1992		1997/1998		2000/2001	
	věk. sk. r.	n	respond. %	n	respond. %	n	respond. %	n	respond. %	n	respond. %
Muži	25–34	306	76,9	322	86,6	248	65,8	194	50,8	189	45,5
	35–44	295	78,7	323	82,8	355	70,6	230	60,2	234	56,4
	45–54	342	86,4	361	88,3	310	80,5	332	86,9	297	71,6
	55–64	313	83,9	351	84,2	229	77,4	283	55,8	292	70,4
	25–64	1256	81,5	1357	85,5	1142	73,2	1066	63,4	1012	60,9
Ženy	25–34	326	81,4	342	91,7	265	71,0	212	54,9	216	51,3
	35–44	341	87,4	369	88,9	358	76,8	266	68,9	280	66,5
	45–54	338	87,3	360	91,8	313	80,7	326	84,5	287	68,2
	55–64	313	83,9	341	81,7	275	78,1	217	56,2	283	67,2
	25–64	1317	85,0	1412	88,4	1211	76,7	1021	66,2	1066	63,3

a nejnižší při posledním vyšetření v roce 2000–2001. V žádném z okresů neklesla response pod 60 %, výsledky je tedy možno považovat za reprezentativní.

Krevní tlak

V období 15–16 let významně klesá průměrný systolický i diastolický krevní tlak u obou pohlaví (tab. 3). Průměrný pokles TK je přitom výraznější u žen (5,64/3,16 mm Hg) než u mužů (3,88/2,19 mm Hg). Přestože pokles diastolického krevního tlaku je menší než systolického krevního tlaku, signifikantně klesá i pulsní tlak (rozdíl systolického a diastolického krevního tlaku).

Ve sledovaném období 15–16 let statisticky významně klesá prevalence hypertenze u obou pohlaví (muži: z 51,9 % na 45,6 %, $p < 0,001$; ženy: z 42,5 % na 33,0 %, $p < 0,001$; tab. 3). Přibývá osob, které vědí o hypertenzi (muži: z 41,4 % na 62,1 %, $p < 0,001$; ženy: z 58,9 % na 73,8 %, $p < 0,001$). Zvyšuje se počet hypertoniků medikamentózně léčených pro hypertenzi (muži: z 21,1 % na 41,8 %, $p < 0,001$; ženy: z 38,9 % na 59,1 %, $p < 0,001$). Kontrola hypertenze se zlepšuje u obou pohlaví (muži: z 2,8 % na 13,1 %, $p < 0,001$; ženy: z 5,2 % na 22,2 %, $p < 0,001$).

Lipidové parametry

V období 15–16 let je patrný signifikantní sestupný trend pro koncentraci celkového cholesterolu u obou pohlaví (muži: z $6,21 \pm 1,29$ na $5,88 \pm 1,08$ mmol/l, $p < 0,001$; ženy: z $6,18 \pm 1,26$ na $5,82 \pm 1,13$ mmol/l, $p < 0,001$; viz tab. 3). Ve stejném období mírně klesala i hladina HDL-cholesterolu (muži: z $1,35 \pm 0,36$ na $1,25 \pm 0,32$ mmol/l, $p < 0,001$; ženy: z $1,57 \pm 0,36$ na $1,49 \pm 0,38$ mmol/l, $p < 0,001$). Významně klesá i vypočtená hladina non-HDL-cholesterolu (muži: z $4,85 \pm 1,35$ na $4,63 \pm 1,11$ mmol/l, $p < 0,001$; ženy: z $4,61 \pm 1,29$ na $4,33 \pm 1,18$ mmol/l, $p < 0,001$).

Kouření

V období 15–16 let v šesti sledovaných okresech signifikantně klesá počet kuřáků u mužů (z 49,2 % na 37,8 %, $p < 0,001$). U žen se počet kuřacek nemění. Stále kouří

zhruba jedna čtvrtina ženské populace (tab. 3). Průměrná denní spotřeba cigaret se ve sledovaném období nemění. Podle posledního šetření v roce 2000/2001 muži kouří v průměru $17,2 \pm 8,8$ cigaret a ženy $11,3 \pm 6,5$ cigaret za den.

Dlouhodobý pokles počtu kuřáků je u mužů pozorován ve všech kategoriích podle vzdělání: u mužů se základním vzděláním pokles o 13,2 %, u středoškoláků pokles o 13,8 % a u vysokoškoláků pokles o 11,5%. U žen byl prokázán signifikantní sestupný trend pouze u vysokoškolaček a středoškolaček.

Antropometrické parametry

V období 15–16 let signifikantně stoupá hmotnost u mužů ($z\ 81,7 \pm 12,8$ na $86,5 \pm 14,6$ kg; $p < 0,001$; tab. 3). Přestože současně stoupá výška sledované mužské populace (ze $173,8 \pm 6,8$ na $175,3 \pm 7,0$ cm, $p < 0,001$), stoupá současně i hodnota BMI ($z\ 27,0 \pm 4,0$ na $28,1 \pm 4,4$ kg/m², $p < 0,001$). Obvod pasu od roku 1992 u mužů významně narůstá ($z\ 94,2 \pm 10,6$ na $96,7 \pm 11,9$ cm; $p < 0,001$). U žen se ve stejném období hmotnost signifikantně nemění a změny BMI jsou na hranici významnosti.

ZÁVĚRY

U reprezentativního vzorku české populace byl v letech 1985–2000/2001 zaznamenán:

- pokles průměrného systolického i diastolického krevního tlaku;
- pokles prevalence hypertenze;
- vzestup počtu osob užívajících antihypertenziva;
- zlepšení kontroly hypertenze.

Všechny uvedené změny byly nalezeny u obou pohlaví, významnější změny byly pozorovány u žen. Ženy častěji vědí o hypertenzi, jsou častěji medikamentózně léčeny, v důsledku toho mají i lepší kontrolu hypertenze.

U náhodně vybraného populačního vzorku jsme dále našli:

- pokles celkového a non-HDL-cholesterolu;
- pokles počtu kuřáků u mužů a stabilní prevalenci kuřáctví u žen (25 %).

Je velmi pravděpodobné, že se uvedené změny hlavních rizikových faktorů KVO podílejí na poklesu kardiovaskulární mortality, který je v České republice pozorován od roku 1985.

Tab. 3. Vývoj základních rizikových faktorů KVO v období 1985–2000/2001 v šesti okresech ČR

Muži	1985	1988	1992	1997/1998	2000/2001	p pro trend
STK, mm Hg	135,8 ± 19,18	134,9 ± 19,24	134,2 ± 20,00	132,3 ± 16,91	131,9 ± 16,77	0,001
DTK, mm Hg	85,9 ± 11,02	84,4 ± 11,00	86,1 ± 11,36	84,5 ± 10,04	83,7 ± 9,65	0,001
Prevalence hypertenze, (%)	650 (51,9)	639 (47,1)	508 (44,8)	408 (42,1)	457 (45,6)	0,001
Znalost hypertenze, (%)	269 (41,4)	320 (50,1)	232 (45,7)	230 (56,4)	284 (62,1)	0,001
Léčba hypertenze, (%)	137 (21,1)	197 (30,8)	123 (24,2)	151 (37,0)	191 (41,8)	0,001
Kontrola hypertenze, (%)	18 (2,8)	33 (5,2)	14 (2,8)	50 (12,2)	60 (13,1)	0,001
Celkový cholesterol, mmol/l	6,21 ± 1,29	6,29 ± 1,21	5,98 ± 1,30	5,65 ± 1,14	5,88 ± 1,08	0,001
HDL-cholesterol, mmol/l	1,35 ± 0,36	1,33 ± 0,32	1,34 ± 0,49	1,28 ± 0,32	1,25 ± 0,32	0,001
Kouření, %	49,2	44,9	43,9	36,8	37,8	0,001
BMI, kg/m²	27,0 ± 4,0	27,7 ± 3,8	27,1 ± 3,8	27,5 ± 3,8	28,1 ± 4,4	0,001
Ženy	1985	1988	1992	1997/1998	2000/2001	p pro trend
STK, mm Hg	131,6 ± 20,90	130,7 ± 20,91	130,2 ± 22,04	125,2 ± 18,05	125,9 ± 18,78	0,001
DTK, mm Hg	82,5 ± 11,25	81,4 ± 11,19	82,5 ± 12,13	79,3 ± 9,79	79,3 ± 9,80	0,001
Prevalence hypertenze, (%)	560 (42,5)	552 (39,1)	460 (38,0)	323 (31,6)	347 (33,0)	0,001
Znalost hypertenze, (%)	330 (58,9)	330 (59,8)	255 (55,4)	221 (68,4)	256 (73,8)	0,001
Léčba hypertenze, (%)	218 (38,9)	233 (42,2)	159 (34,6)	187 (57,9)	205 (59,1)	0,001
Kontrola hypertenze, (%)	29 (5,2)	51 (9,2)	28 (6,1)	70 (21,7)	77 (22,2)	0,001
Celkový cholesterol, mmol/l	6,18 ± 1,26	6,22 ± 1,21	5,95 ± 1,29	5,53 ± 1,21	5,82 ± 1,13	0,001
HDL-cholesterol, mmol/l	1,57 ± 0,36	1,56 ± 0,34	1,53 ± 0,46	1,50 ± 0,36	1,49 ± 0,38	0,001
Kouření, %	27,6	26,6	28,9	25,9	25,6	NS
BMI, kg/m²	27,3 ± 5,4	27,7 ± 5,4	26,9 ± 5,3	27,1 ± 5,5	27,3 ± 5,7	0,057

NS = nesignifikantní



VÝVOJOVÁ DYSFÁZIE – PORUCHA ZPRACOVÁNÍ ŘEČOVÉHO SIGNÁLU



Doc. MUDr. Olga Dlouhá, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, Foniatrická klinika*

SOUHRN

V posledních letech se vývojové poruchy řeči jasněji řadí mezi poruchy centrálního sluchového zpracování zvukových signálů. Porucha rozumění řeči způsobuje časové opoždění vývoje řeči a jeho odlišnosti, aberantní vývoj. Děti mají problémy s rozuměním řeči, zhoršené sluchové vnímání fonémů, a následně mají obtíže s vyjádřením syntaxe a fonologie. Přikláníme se k názoru, že podstatou vývojové dysfázie jsou porušené centrální sluchové procesy – zejména časové zpracování a binaurální integrace, jak je patrné z výsledků vyšetření korových sluchových potenciálů a z centrálního sluchového integračního a asociačního deficitu u dětí s vývojovou dysfázií.

- a) Při testování získaných hodnot latencí vlny P3 (P300) korového sluchového komplexu u dětí s vývojovou dysfázií metodou porovnávání rozdílů (t-test) bylo zjištěno, že jsou statisticky významné rozdíly v hodnotách po stimulaci slovem i tónem oproti kontrolní skupině a jsou významné rozdíly v hodnotách latencí z levé hemisféry i oproti pravé straně. Opoždění přenosu základní akustické informace a následně časově opožděné zpracování se zobrazuje v poruše fonemického sluchu a ve vnímání řeči. Variabilita odpovědí souvisí zřejmě s kolísající bioelektrickou aktivitou, která je patrná i v nativních abnormálních EEG záznamech - zjištěné abnormality až epileptické změny v oblastech řečových a sluchových center pravděpodobně vysvětlují příčinu této centrální poruchy řeči a sluchu.
- b) U dětí s vývojovou dysfázií se potvrzuje předpoklad ve smyslu poruchy centrálního sluchového zpracování – deficit v dekódování zvuků řeči, integrační deficit pro náročnost časového sledu podnětů, porucha krátkodobé paměti, které vedou k celkové redukci vnímaného sdělení a asociačním problémům. K těmto závěrům přispívají výsledky dichotických testů zaměřených na diagnostiku poruchy centrálního sluchového zpracování. Dichotické jsou stimuly, které sice vnímáme současně, ale tyto stimuly nejsou totožné. Jedná se o techniku současné prezentace soutěží-

cích stimulů do obou uší. Testy se snaží zohlednit možnosti dichotického vnímání pomocí jednoduchých slov (1–2slabičných) i s fonologickou prezentací a pomocí částí vět. Zjištěný integrační deficit u skupiny dysfatických dětí souvisí s poruchou časového zpracování složitějších akustických podnětů – řeči a poruchou krátkodobé paměti. Je tak patrný deficit v oblasti interhemisferální koordinace vjemů, porucha centrálního sluchového zpracování.

SUMMARY

The disorders of speech comprehension are typical for all patients with central auditory processing disorders (CAPDs). In speech perception, temporal processing is one of the functions necessary for the discrimination of phonemes and of similar words. Auditory decoding deficits, phonological, lexical, syntactic and associative deficits were diagnosed in children suffering from developmental dysphasia (this term is used in our country for SLI – a specific language impairment). Many of these children were unable to recognize acoustic contours and to identify key words within a spoken message. The author analyses the role of auditory perception in children suffering from specific language impairment (SLI) using central speech tests and long latency auditory evoked potentials (LAEPs).

- a) Cortical auditory potentials (LAEPs) were studied in children suffering from developmental dysphasia. After having compared the results of LAEPs after tonal and after verbal stimulation from the left hemisphere, a statistically significant difference was found: the latencies of wave P3 after verbal stimuli were longer on the left side than recorded latencies after tonal stimuli. Latency differences may be related to a common timing deficit suggested to be one of the possible underlying factors within developmental speech disorders. Great variability in the responses, which are probably related to the variation in the bioelectrical activity (i.e. abnormal native EEG records), can be found in the results. Abnormalities or epileptic seizures in the region of speech and hearing centers probably give an explanation of the cause of the central speech and auditory disorders.
- b) The dysphasic children (80) were tested by dichotic tasks – dichotic listening involves the presentation of stimuli to both ears simultaneously with the information presented to one ear being different from that one presented to the other. The listener may be required to repeat everything that is heard. The findings of preschool-aged (6–7 y. old) dysphasic children confirmed disability to synthesize two two-syllabic words during the dichotic listening. Our results indicate a relationship between developmental dysphasia and the central auditory processing disorder (CAPD): these dysphasic children have the auditory processing deficit – not only the integration deficit, but also the associative deficit.

ÚVOD

Sledování vývojových poruch řeči je zaměřeno na děti s vážnými problémy s rozuměním řeči, kdy je snaha zjistit, do jaké míry jsou tyto obtíže sluchové či jazykové. Hledají se souvislosti mezi vadnou řečovou produkcí a abnormální řečovou percepcí. Specific language impairment (SLI) je upřednostněný termín: děti mají problémy

s rozuměním řeči, zhoršené sluchové vnímání fonémů, a následně mají obtíže s vyjádřením syntaxe a fonologie. Sluchově-fonologické zpracování prezentuje heterogenitu specifických poruch řeči. Poněvadž zde nejsou neměnná kritéria, je zobecňování velice těžké a výrazně závisí na věku, kdy jsou děti diagnostikovány a sledovány.

Pokus o jasné rozlišení vývojových poruch řeči (Bishopová, 2001):

- a) děti s žádnou anatomickou nebo motorickou abnormalitou řečového orgánu (které nikdy nedělají chyby v produkci zvuků řeči);
- b) děti s typickým SLI (specific language impairment) – řečové rozumění je postiženo, ale evidentní potíže jsou s vyjádřením syntaxe a fonologie;
- c) děti s těžkými problémy v rozumění řeči (verbal-auditory agnosia).

Identifikace zvuků řeči se ukazuje jako problém u všech dětí z těchto tří skupin.

Vývojová dysfázie je termín užívaný tradičně v naší oblasti. Existence poruch kognitivních funkcí je u dysfatických dětí důležitější než vlastní porucha řečové produkce. Typické znaky:

- a) poruchy na fonologické úrovni, v řazení slabikových sledů, na lexikální a gramatické úrovni, na úrovni syntaxe a v oblasti sémantické a asociační;
- b) porucha fonemického sluchu, zvl. v rysu znělost x neznělost;
- c) nerovnoměrné rozložení rozumových schopností;
- d) porucha krátkodobé paměti;
- e) latence korového sluchového zpracování;
- f) poruchy koordinace v oblasti hrubé a jemné motoriky (grafomotoriky), projevy syndromu LMD;
- g) EEG abnormality až epileptické projevy v nativním záznamu, ale s malým výskytem klinických paroxysmů.

Poruchy centrálního sluchového zpracování (central auditory processing disorders, CAPD) mohou existovat u dětí – u vývojových řečově-jazykových poruch, u poruch učení, u poruch pozornosti, obecně u různých poškození CNS, u dospělých – obdoba etiopatogeneze ve vztahu k věku: centrální složka poruchy u periferní percepční nedoslýchavosti, u afází, RS, degenerativních procesů, epilepsie. Záleží na plasticitě sluchového analyzátoru a mozku dále reorganizovat a organizovat odpovědi na vnitřní a /či vnější změny, které jsou základní ve vývoji paměti a učení.

VLASTNÍ POZOROVÁNÍ

A. Sledování korových sluchových evokovaných potenciálů

V posledních letech se většina autorů, zabývajících se vývojovými poruchami řeči ve spojení s možností využití audiologických metod k objasnění poruchy centrální funkce CNS v rámci rozumění řeči, obrací k využití korových evokovaných potenciálů (Chermak, Musiek, 1997). Zjišťují prodloužené latence u základních vln korových sluchových komplexů, abnormality či chybění základních charakteristik odpovědí po různém typu stimulace. Nápadná je variabilita v topografických znázorněních odpovědí, která by mohla být vysvětlena nedostatkem synchronizace, nedozráním (maturační teorie) nebo špatným spojením mezi kortikálními oblastmi a hlubšími strukturami CNS.

Výsledky sledování korových sluchových evokovaných potenciálů. Byla použita stimulace tónem 2000 Hz/70 dB vpravo a vlevo u dysfatické skupiny a u kontroly, a stimulace slovem »máma«, »auto« vpravo a vlevo u dysfatické skupiny a u kontroly. Byla hodnocena latence vlny P3 v ms.

Tab. 1. Výsledky statistického zhodnocení – LAEP – vlna P3 (ms)

Stimul slovo				
Skupina	Latence vpravo n		Latence vlevo	n
Kontrola	321 ± 22	10	311 ± 28	10
Dysfázie	410 ± 68	27	440 ± 62	31

± = rozptyl hodnot od průměrné hodnoty

Stimul tón				
Skupina	Latence vpravo n		Latence vlevo	n
Kontrola	327 ± 30	16	335 ± 25	16
Dysfázie	380 ± 60	17	382 ± 78	17

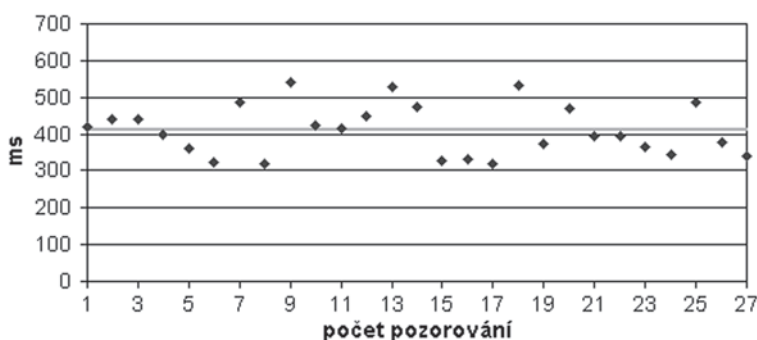
± = rozptyl hodnot od průměrné hodnoty

Výsledky statistického zhodnocení – LAEP – vlna P3 (ms) ukazují tab. 1.

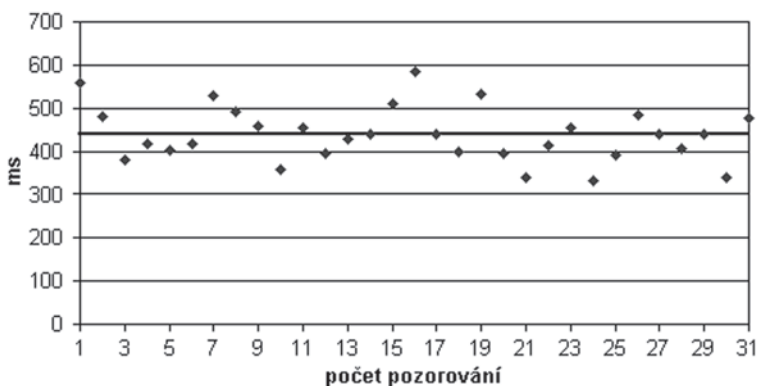
Při testování hypotéz o rozdílech mezi hodnotami latence vlny P3 u dětí s vývojovou dysfázií byly shledány tyto vztahy (k testování byla vlna P3 vybrána jako nejdůležitější odpověď vzhledem ke stimulaci verbálním podnětem):

- tonální stimulace – mezi latencemi vlny P3 vpravo a vlevo nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl;
- stimulace slovem – v záznamech z pravé a levé strany byly zjištěny statisticky významné rozdíly v hodnotách latencí vlny P3 oproti kontrolní skupině (na 1% hladině významnosti). Záznam z levé hemisféry je statisticky nejlepší, nejvýznamnější (0,001);
- při porovnání výsledků po stimulaci slovem a tónem – na pravé straně nebyl zjištěn významný rozdíl v hodnotách latencí vlny P3, ale vlevo je difference na 1% hladině statistické významnosti: po stimulaci slovem jsou vlevo latence P3 delší než po tonálním podnětu (obr. 1 a 2).

Posun latencí u verbální stimulace oproti tonální zřejmě souvisí s působením endogenních faktorů v rámci dominantní řečové hemisféry, může potvrzovat poruchu kognitivních funkcí dětí s vývojovou dysfázií, zvláště poruchu řečové percepce související s poruchou časového zpracování (temporal processing), opožděním přenosu a zpracováním řečového signálu. Pozdní sluchové odpovědi se vztahují k vyšším sluchovým funkcím.



Obr. 1. Vývojová dysfázie – latence vlny P3 vpravo – stimul slovo

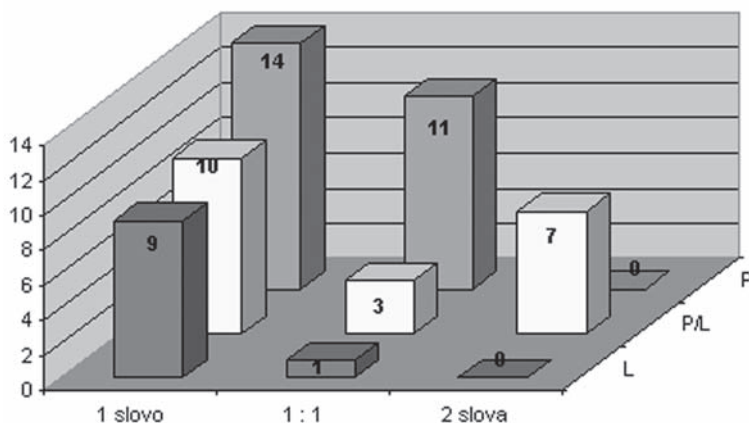


Obr. 2. Vývojová dysfázie – latence vlny P3 vlevo – stimul slovo

B. Vyšetřování centrální sluchové funkce pomocí dichotického testu

V dichotických testech se používají jako stimuly slabiky (souhláska–samohláska), slova jednoslabičná (typu souhláska–samohláska–souhláska) nebo dvouslabičná, části vět nebo celé věty několikaslovné (prezentované jako soutěžící nebo jen k identifikaci). Tyto testy slouží jednak k posouzení binaurální integrace či naopak separace, k určení interhemisferální koordinace vjemů, k posouzení, jak posluchač vnímá, integruje základní informaci při binaurálním poslechu (Bellis, 1996). Testování má navodit prakticky situaci, která je bližší běžnému vnímání zvuků řeči. Dichotické jsou stimuly, které sice vnímáme současně, ale tyto stimuly nejsou totožné. Jedná se o techniku současně prezentace soutěžících stimulů do obou uší a využívá se k hodnocení binaurální integrace či separace stimulů. Prezentuje opožděnou nebo abnormální interhemisferální komunikaci. S poruchami binaurální integrace souvisí velice úzce tzv. asociační deficit. Primárním znakem asociačního deficitu u poruch řeči je neschopnost aplikovat jazyková pravidla na přicházející informace. V testech centrální sluchové funkce děti s tímto problémem mají obtíže právě v dichotickém poslouchání. Vykazují deficit v receptivní oblasti řeči, v percepci slovníku, sémantiky, syntaxe.

Pokusili jsme se v našem rodném jazyce zkonstruovat řečové testy, které by umožňovaly zachytit a analyzovat funkce centrálního sluchového vnímání u dětí i dospělých. Předpokladem absolvování těchto testů je normální periferní sluch, průměrný intelekt, dostatečné receptivní a expresivní jazykové dovednosti – a vyplývající nutnost věkového omezení možností testování. Protože na foniatrické klinice dlouhodobě sledujeme děti s vývojovými poruchami řeči, zaměřili jsme se na porovnání výsledků testů u dětí s vývojovou dysfázií a u dětí s normálním řečovým vývojem. Testy se snaží zohlednit možnosti dichotického vnímání pomocí jednoduchých slov (1–2slabičných) i s fonologickou prezentací a pomocí částí vět, kdy je možno hodnotit i centrální integraci, časové zpracování a v návaznosti i kvalitu krátkodobé paměti. Testy nabízejí i hodnocení hemisferální dominance, popřípadě i asociační schopnosti dětí. Slova byla vybírána z dětského slovníku, podstatná jména a slovesa, tedy podmět a přísudek tvořící v syntéze holou větu pro skupinu mladších dětí. Zadané úkoly byly prezentovány nadprahově na 60 dB HL – tato úroveň byla vybrána podle vnímání příjemnosti poslechu u kontrolních osob. Při vyšetření je nutné zaznamenávat co nej přesněji reprodukci sly-



Obr. 3. Výsledky dichotického testu – 33 dysfatických dětí opakuje jen 1 slovo

šeného – jednak je přínosem zjištění jazykových schopností, např. na úrovni fonologické, jednak je i přínosné sledovat chování dětí, rychlost reakcí, popřípadě neurotizaci.

Výsledky u skupiny 6–7letých předškolních dětí (obr. 3) potvrdily integrační problémy v oblasti centrální percepce. Z celkového počtu 55 dětí jen 7 dětí dokázalo opakovat 2 dvouslabičná dichoticky prezentovaná slova, tedy složit je do holé věty. 33 dětí opakovalo jen 1 slovo, 15 dětí identifikovalo 1 či 2 slova v poměru 1 : 1. Celkově výrazně převažovala preference pravého ucha – tzn. dítě opakovalo jen slovo prezentované jako stimul do pravého ucha. Vnímané výrazy byly často reprodukovány s redukcí počtu slabik či s hláskovou asimilací (např. kámen padá – kádá, paní myje – pamyje, koník skáče – káče). Při totožných úkolech stejně staré děti z kontrolní skupiny nevykazovaly žádné problémy ve skládání dvou dvouslabičných výrazů z dichotického poslechu, opakovaly slova bez obtíží hned při prvním vyšetření.

ZÁVĚR

První výsledky tohoto typu testování u dětí s vývojovou dysfázií potvrzují očekávaný předpoklad v souvislosti s poruchou vnímání řeči ve smyslu poruchy centrálního sluchového zpracování – deficit v dekódování zvuků řeči, integrační deficit pro náročnost časového sledu podnětů, porucha krátkodobé (pracovní) paměti, které vedou k celkové redukcí vnímaného sdělení a asociačním problémům. Integrační deficit (neschopnost integrovat dvouslabičná slova do holé věty) souvisí s poruchou časového zpracování složitějších akustických podnětů – řeči, poruchou krátkodobé paměti. Redundantní schopnost centrálního sluchového systému mohou využít až starší děti a dospělí (vzhledem ke sluchové zkušenosti lépe asociují). Deficit v oblasti interhemisferální koordinace vjemů, porucha centrálního sluchového zpracování. Diferenciálně diagnostický přínos testů (potvrzení vztahu poruchy rozumění řeči a poruchy centrální sluchové funkce) není jen v oblasti vývojových poruch řeči, ale testy mohou sloužit jednak k posouzení stadia vývoje řeči, jednak k posouzení úspěšnosti rehabilitace řeči.

Testy zaměřené na diagnostiku poruchy centrálního sluchového zpracování, na integrační deficit, potvrzují u dětí s vývojovou dysfázií i potíže v návazné oblasti asociální. Při vnímání řeči je časové zpracování jednou z funkcí nutných pro rozeznání fonémů. Přikláníme se k názoru, že podstatou vývojové dysfázie je porucha zpracování řečového signálu, což naznačují výsledky korových sluchových potenciálů i uvedených dichotických testů.

Literatura

- BELLIS, TJ. *Assessment and management of central auditory processing disorders in the educational setting*. Singular Publishing Group, Inc. 1996.
- BISHOP, DVM. *Uncommon understanding*. East Sussex : Psychology Press, 1999.
- DLOUHÁ, O. *Vývojové poruchy řeči*. Praha, 2003.
- DLOUHÁ, O. *Central auditory processing disorder in children with developmental dysphasia*. Elsevier Science, ICS 1240, 2003 IFOS, p. 231–234.
- DLOUHÁ, O., NOVÁK, A. *Využití sluchových evokovaných odpovědí ve foniatrii*. Evokované odpovědi a jejich klinické využití. Stejskal a kol. Praha, 1993, s. 324–332.
- DLOUHÁ, O., NEVŠÍMALOVÁ, S. *EEG changes and epilepsy in developmental dysphasia*. *Clinical Neurophysiology at the Beginning of the 21st Century*. Supplements to Clin Neurophysiol, 2000, 53, p. 271–274.

VÝZNAM TUKOVÉ TKÁNĚ A JEJÍCH ENDOKRINNÍCH PRODUKTŮ PŘI ROZVOJI METABOLICKÝCH ZMĚN U MALNUTRICE, OBEZITY A INZULINOVÉ REZISTENCE



Doc. MUDr. Martin Haluzík, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, III. interní klinika
– klinika endokrinologie a metabolismu*



SOUHRN

Poslední desetiletí přineslo významné pokroky v porozumění mechanismu metabolických změn spojených s malnutricí, obezitou a inzulinovou rezistencí. Do popředí zájmu vědců se postupně dostala tuková tkáň, jejíž význam již dnes zdaleka není chápán pouze jako pasivní energetické rezervy uložené ve formě triglyceridů, ale považuje se za aktivní endokrinní orgán ovlivňující prostřednictvím svých hormonálních produktů prakticky všechny orgánové systémy v lidském organismu. Zájem o tukovou tkáň byl odstartován objevem leptinu, hormonu produkovaného převážně adipocyty s významným regulačním vlivem na příjem potravy a energetickou homeostázu. Další výzkumy přispěly k identifikaci řady nových hormonů produkovaných adipocyty (resistin, adiponectin a další), jejichž význam v metabolických regulacích je v současné době intenzivně zkoumán. Kromě endokrinní funkce tukové tkáně je dalším pojítkem mezi obezitou a inzulinovou rezistencí tzv. ektopické ukládání tuků především ve svalové a jaterní tkáni a v pankreatu. K tomuto procesu dochází především u obezity, ale také u úplného chybění bílé tukové tkáně. Ektopicky uložené lipidy a jejich metabolity vedou k inzulinové rezistenci interferencí s inzulinovou signální kaskádou. Ektopické ukládání lipidů v pankreatu vede k narušení inzulinové sekrece. Kombinace ektopického ukládání lipidů s endokrinní dysfunkcí tukové tkáně je v současné době považována za hlavní etiopatogenetický podklad vzniku diabetes mellitus 2. typu a dalších metabolických komplikací obezity.

SUMMARY

A lot of progress have been reached over the last decade in our understanding of the mechanism of metabolic changes associated with malnutrition, obesity and insulin

resistance. A major attention has been paid to the adipose tissue. At present, its role in the human body is not limited to that of passive energy storage place. Many recent studies demonstrated that adipose tissue is, in fact, a very active endocrine organ affecting by its endocrine products almost all organ systems in human body. The interest of scientist on the endocrine function of adipose tissue has been started by a discovery of leptin: protein hormone produced predominantly by adipocytes with an important regulatory influence on food intake and energy homeostasis. Further studies have identified a number of new hormones produced by adipocytes (resistin, adiponectin and others). The role of these new hormones in the metabolic regulations is intensively investigated.

Another connection between insulin resistance and adipose tissue represents ectopic lipid storage in non-adipose tissues such as muscle, liver and pancreas. This process accompanies mostly obesity, but also the complete lack of white adipose tissue. Ectopic lipid storage induces insulin resistance by interference with insulin signalling pathway. Moreover, ectopic lipid storage in pancreas impairs insulin synthesis and secretion. The combination of ectopic lipid storage in non-adipose tissues with impaired endocrine function of adipose tissue is currently considered a principal cause of type 2. diabetes mellitus and metabolic complication of obesity.

ÚVOD

S rostoucím počtem poznatků o fyziologickém významu jednotlivých tkání a orgánů v lidském organismu se postupně mění náš pohled na celkový mechanismus, kterým jsou děje v lidském těle regulovány. Většinou se postupně ukazuje, že skutečnost je daleko složitější než původní představy, a tak s každým novým vydáním učebnic fyziologie musejí být jednotlivé kapitoly upravovány a měněny. Orgánem, který je patrně nejtypičtějším příkladem výše uvedeného tvrzení, je v poslední době nepochybně tuková tkáň. Názory na význam této původně vědecky vcelku »nezajímavé« tkáně prošly v posledním desetiletí velmi bouřlivým vývojem, který zřejmě ještě stále není zcela ukončen.

Podíváme-li se do učebnice »Fyziologie pro lékařské fakulty« z roku 1988, je význam tukové tkáně v lidském organismu definován následujícím způsobem: »Hlavní význam tuku je jeho význam energetické rezervy (6–7 kg lipidů je u jedince vážícího 70 kg schopno krýt jeho energetickou spotřebu po dobu cca 1 měsíce). Lipidové rezervy v podkoží mají také význam pro termoregulaci, podkožní tuk totiž představuje izolační vrstvu mezi teplým jádrem organismu a chladnějším zevním prostředím. Podkožní tuk představuje do jisté míry i mechanickou ochranu. Snadná deformovatelnost podkožního vaziva a podkožního tuku tlumí nárazy či údery a snižuje nebezpečí mechanického poškození organismu.« Tuková tkáň byla tedy ještě na počátku 90. let považována za v podstatě pasivní zásobárnu energie regulovanou hormonálními vlivy a vegetativním nervovým systémem, která sama ostatní orgány a tkáně žádným způsobem neovlivňuje.

Tento pohled se zásadním způsobem změnil v roce 1994, kdy skupina J. Friedmanna z americké Rockefellerovy univerzity identifikovala metodou pozičního klonování první hormon produkovaný převážně tukovou tkání, který byl tehdy nazván leptin (z řeckého leptos = tenký, štíhlý) (Zhang et al., 1994). Friedmannův objev spolu se stále rostoucí incidencí obezity, diabetu a s tím spojených komplikací vedl k velkému množ-

ství studií přímo zaměřených na možnost, že tuková tkáň sama produkuje látky, které inzulinovou rezistenci buď vyvolávají, nebo mají naopak význam protektivní proti jejímu rozvoji (Havel, 2002). Výsledkem těchto studií byla identifikace řady dalších hormonů, jejichž fyziologický a patofyziologický význam v regulaci příjmu potravy, reperfektive metabolismu lipidů a glukózy, je v současné době studován.

EKTOPICKÉ UKLÁDÁNÍ LIPIDŮ A INZULINOVÁ REZISTENCE

Kromě ovlivňování metabolických dějů prostřednictvím produkce hormonů existují ještě další mechanismy, kterými tuková tkáň ovlivňuje produkci inzulinu v Langerhansových ostrůvcích pankreatu a jeho působení v periferních inzulin-dependentních tkáních (Boden and Shulman, 2002; Shulman, 2000). Tuková tkáň je významným zdrojem mastných kyselin, které vznikají štěpením triglyceridů. U zdravých subjektů dochází k lipolýze pouze při hladovění, zatímco příjem potravy prostřednictvím vstupu hladin inzulinu tento děj potlačuje. Inzulinová rezistence vede k defektnímu působení inzulinu v adipocytech. Následkem je nedostatečná suprese lipolýzy a chronické zvýšení hladin volných mastných kyselin, což má významné patofyziologické následky. Zvýšená nabídka volných mastných kyselin vede k ektopickému ukládání triglyceridů a jiných lipidových metabolitů ve svalové a jaterní tkáni a v Langerhansových ostrůvcích pankreatu. Toto ektopické ukládání souvisí kromě nedostatečné suprese lipolýzy také s nedostatečnou diferenciační schopností adipocytů přetížených chronicky zvýšeným přívodem energie, což sekundárně snižuje kapacitu tukové tkáně k dalšímu ukládání triglyceridů. Hromadění triglyceridů v extradiadipocytárních tkáních pak ovlivňuje tkáňové působení inzulinu na úrovni postreceptorové signální kaskády a rovněž vede k inzulinové rezistenci. Je tedy pravděpodobné, že na vzniku a rozvoji inzulinové rezistence vyvolané obezitou se podílejí oba uvedené mechanismy: jak porucha produkce adipocytárních hormonů, tak ektopické ukládání tuku v periferních tkáních a orgánech.

K ektopickému ukládání tuku dochází především u obezity při přetížení adipocytů nadměrným přívodem triglyceridů, paradoxně však k inzulinové rezistenci vede i úplné chybění bílé tukové tkáně. Velmi typickým příkladem jsou lipoatrofické transgenní myši s úplným chyběním tukové tkáně, které mají těžkou inzulinovou rezistenci a diabetes mellitus 2. typu. Objevena byla řada postupů, jak inzulinovou rezistenci u těchto myší zlepšit, včetně transplantace tukové tkáně (Gavrilova et al., 2000), podávání agonistů receptorů PPAR- α a PPAR- γ (Chou et al., 2002; Kim et al., 2003) a provedení adrenalectomie (Haluzik et al., 2002). Uvedené postupy jsou (s výjimkou transplantace tukové tkáně) efektivní nejen u lipoatrofie, ale také u experimentálních modelů obezity.

JAKÉ HORMONY PRODUKUJE TUKOVÁ TKÁŇ

V současné době je známo, že tuková tkáň produkuje kromě klasických metabolitů typu glycerolu a mastných kyselin několik desítek působků, které jsou řazeny mezi hormony (přehled: Havel, 2002; Ravussin and Smith, 2002). Tyto působky je možno rozdělit do několika skupin. Jednak jde o látky, které jsou primárně a za normálních okolností převážně produkovány v jiných tkáních (například tumor necrosis faktor- α produko-

Tab. 1. Přehled nejdůležitějších proteinových hormonů produkovaných adipocyty a jejich vztah k inzulinové senzitivitě

Název hormonu	Vliv na inzulinovou senzitivitu
Leptin	zvyšuje (u pacientů s deficitem leptinu)
Adiponectin	zvyšuje (v experimentu)
Resistin	snižuje (v experimentu)
ASP (acylation stimulating protein)	snižuje (v experimentu)
PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1)	snižuje (v experimentu)
Agouti protein	přímý vztah není znám
Angiotensin	přímý vztah není znám
Bone morphometric protein	přímý vztah není znám
IGF-1 (insulin-like growth factor 1)	zvyšuje (u lidí i v experimentu)
IGFBPs (IGF-binding proteins)	přímý vztah není znám
TNF- α (tumor necrosis factor- α)	snižuje (v experimentu)
Interleukin 6	snižuje (v experimentu)
TGF- β (tumor growth factor- β)	přímý vztah není znám
FGF (fibroblast growth factor)	přímý vztah není znám
EGF (epidermal growth factor)	přímý vztah není znám

vaný primárně aktivovanými makrofágy) a tuková tkáň je pouze jedním a obvykle nikoliv hlavním místem jejich produkce. Další skupina látek je sice produkována převážně v tukové tkáni, na jejich produkci se však podílejí jak adipocyty, tak i další buňky vyskytující se v tukové tkáni (například imunokompetentní buňky). Toto je patrně případ resistinu, který bude podrobněji popsán níže. Početně nejmenší skupinou jsou hormony produkované výlučně nebo převážně adipocyty (například leptin nebo adiponectin). Tyto působky lze nazvat »pravými« adipocytárními hormony, a uvažujeme-li o mechanismu, jakým samotná tuková tkáň vyvolává inzulinovou rezistenci, jeví se deficit nebo naopak nadprodukce těchto hormonů jako jeden z možných mechanismů. Přehled nejdůležitějších hormonů produkovaných tukovou tkání a jejich účinek na inzulinovou senzitivitu je uveden v tabulce.

V další části textu budou podrobněji popsány adipocytární hormony, jejichž studium je předmětem habilitační práce. Nejpodrobněji se věnujeme v úvodu leptinu, který byl objeven v roce 1994 a poznatků o tomto hormonu je k dispozici nejvíce. Rovněž většina originálních prací autora se zabývá změnami sérových koncentrací leptinu a jejich významem u různých onemocnění. Adiponectin a resistin byly objeveny později, a poznatků o nich je proto méně. Habilitační práce je zkoumala pouze v souvislosti s některými publikacemi v experimentální části. Z těchto důvodů je jim věnováno méně prostoru než leptinu.

Leptin

Leptin je proteinový hormon produkovaný převážně adipocyty, který byl identifikován metodou pozičního klonování v roce 1994 (Zhang et al., 1994). Objev leptinu vyvolal velkou pozornost vědecké veřejnosti. Důvodem byl fakt, že úplný deficit leptinu u myšího modelu (tzv. ob/ob myši) vede k extrémní obezitě a inzulinové rezistenci v důsledku setrvalé hyperfagie. Podávání rekombinantního leptinu vyvolalo u leptin-deficitních ob/ob myší pokles příjmu potravy a postupnou normalizaci tělesné hmotnosti (o leptinu podrobněji Haluzík, 2002).

Objev leptinu byl tedy spojován s nadějí, že lidská obezita může být provázána deficitem tohoto hormonu a že podávání leptinu by se mohlo stát novou terapeutickou

možností v její léčbě. Tento předpoklad se však ukázal jako nesprávný. Bylo naopak zjištěno, že obezita je ve velké většině případů spojena s hyperleptinemií a že obsah tuku v organismu je hlavním determinujícím faktorem cirkulujícího leptinu.

Dnes je známo, že sérové koncentrace leptinu pozitivně korelují s obsahem tuku v organismu, a jsou tedy zvýšeny u obézních a sníženy u štíhlých jedinců. Fakt, že ani zvýšené hladiny leptinu netlumí u obézních jedinců příjem potravy, je vysvětlován rezistencí na účinky tohoto hormonu, která by mohla být do jisté míry analogická inzulinorezistencí. Všeobecně je však akceptováno, že leptin je důležitým regulátorem energetické homeostázy působícím jako periferní signál informující hypotalamické centrum sytosti o stavu tukových energetických zásob organismu. Někteří vědci se kloní k názoru, že hlavní význam leptinu spočívá ve spuštění komplexní adaptační reakce organismu při dlouhodobém nedostatku potravy (Ahima et al., 1996). Hypoleptinémie je skutečně provázena snížením bazálního energetického výdeje, celkovým hypometabolismem a u žen také amenoreou. Pokud by hlavní význam leptinu byl skutečně spojen s adaptací na dlouhodobě negativní energetickou bilanci, vysvětlovalo by to i skutečnost, že leptin netlumí příjem potravy u obezity. Z fylogenetického hlediska je totiž pochopitelná přítomnost mechanismů adaptace na hladovění, nikoliv však na dlouhodobě nadměrný příjem potravy, který je problémem ve vyspělých zemích pouze v posledních několika desetiletích. Řada publikací včetně našich výsledků svědčí pro zásadní význam leptinu u malnutričních stavů. Hladiny leptinu jsou sníženy jak u pacientek s mentální anorexií (Grinspoon et al., 1996; Haluzik et al., 1999a; Haluzik et al., 1999b), tak i u pacientů s malnutricí jiné etiologie, například syndromem krátkého střeva (Haluzik et al., 1999a; Soliman et al., 2000). Realimentace vede ke vzestupu sérových koncentrací leptinu. Míra tohoto vzestupu je přímo úměrná zvýšení obsahu tuku v organismu. Kromě významu při regulaci příjmu potravy má leptin nepochybně i další účinky periferní: prokázáno je ovlivnění oxidace lipidů stimulací AMP kinázy, imunitního systému a snad i angiogeneze a regulace krevního tlaku (Mikhail et al., 1997; Shek et al., 1998).

Resistin

Resistin je polypeptid složený ze 114 aminokyselin, který je produkován převážně v tukové tkáni. Kromě resistinu existuje i skupina tzv. molekul podobných resistinu (resistin like molecules α a β , RELM), které vykazují vlastnosti do jisté míry příbuzné resistinu, mají však také některé odlišné biologické funkce (Ukkola, 2002). Kromě tukové tkáně jsou exprimovány v menší míře také v srdečním svalu, jazyku a plicích (RELM α), respektive v tlustém střevě (RELM β). Zatímco u myši a potkanů jsou přítomny jak RELM α , tak RELM β , u lidí je kromě resistinu přítomen pouze RELM β .

Resistin byl objeven v roce 2001 jako jeden z genů, jejichž exprese v tukové tkáni je suprimována po přidání aktivátorů PPAR- γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ), které *in vivo* zvyšují inzulinovou senzitivitu (Steppan et al., 2001). Tehdy bylo zjištěno, že resistin je exprimován především zralými formami adipocytů. Sérové koncentrace resistinu byly zvýšeny u experimentálních modelů obezity a diabetu 2. typu. Imunoneutralizace resistinu vedla u myši s inzulinovou rezistencí ke zlepšení glukózové tolerance a k poklesu hladin glukózy a inzulinu. Podání resistinu *in vivo* naopak inzulinovou senzitivitu zhoršilo. Autoři na základě těchto výsledků formulovali hypotézu, že resistin může být oním dlouho hledaným faktorem produkováným tukovou tkání způsobujícím inzulinovou rezistenci.

Krátce po tomto objevu bylo ovšem publikováno několik prací do značné míry zpochybňujících kauzální význam resistinu při vzniku a rozvoji inzulinové rezistence vyvolané obezitou (Savage et al., 2001; Way et al., 2001). V první práci byla měřena expresi mRNA pro resistin u myších modelů obezity a inzulinové rezistence včetně leptin-deficitní ob/ob myši s extrémní obezitou (Way et al., 2001). Překvapivě bylo zjištěno, že expresi mRNA pro resistin byla v tukové tkáni obézních zvířat výrazně snížena ve srovnání s kontrolní skupinou. Podání agonistů PPAR- γ vedlo v této studii ke zvýšení expresi mRNA pro resistin v tukové tkáni, což byl nálezn opačný oproti výše popsané původní studii. Vysvětlení přináší nově publikované výsledky ukazující, že u obézních myši jsou cirkulující koncentrace resistinu zvýšeny i přes výrazně sníženou expresi resistinové mRNA v tukové tkáni (Haluzik et al., 2004; Rajala et al., 2004). Přesný mechanismus těchto změn dosud není objasněn.

V další práci autoři sledovali změny expresi mRNA pro resistin ve vzorcích lidské tukové tkáně a izolovaných lidských adipocytů (Savage et al., 2001). Ve vzorcích celé tukové tkáně obézních subjektů byla expresi mRNA pro resistin zvýšena ve srovnání s kontrolní skupinou štíhlých subjektů. Ve vzorcích z izolovaných adipocytů (tedy bez příměsi jiných buněk normálně přítomných v tukové tkáni) byla však expresi mRNA pro resistin velmi nízká a nebyla prakticky nijak ovlivněna tělesnou hmotností – nebyl zde tedy rozdíl mezi obézními a štíhlými subjekty. Autoři navíc měřili expresi mRNA pro resistin i u probanda s dominantně-negativní mutací receptoru PPAR- γ a ani v tomto případě nebyla expresi resistinové mRNA v adipocytech detekovatelná. Relativně vysoká expresi resistinu byla naopak zachycena v cirkulujících mononukleárních leukocytech. Tato leukocytární expresi nebyla ovlivněna podáním agonistů PPAR- γ . Na základě obou výše uvedených studií byl význam resistinu jako faktoru způsobujícího inzulinovou rezistenci u pacientů s obezitou značně zpochybněn až téměř odmítnut. Uvedené výsledky u lidí byly poté ale opět částečně zpochybněny studií McTernana, ve které byla expresi resistinu měřena ve vzorcích tukové tkáně z různých částí těla u štíhlých i obézních subjektů. Kromě vzorků celé tukové tkáně (tedy včetně imunokompetentních buněk) byla expresi resistinu sledována i u vzorků izolovaných adipocytů (McTernan et al., 2002). V této studii bylo na rozdíl od práce předchozí potvrzeno, že resistin je exprimován přímo v lidských adipocytech a míra expresi u obézních subjektů byla mírně (nesignifikantně) vyšší než u subjektů štíhlých. Množství resistinového proteinu odpovídalo expresi mRNA. Autoři zde na rozdíl od předchozí studie připouštějí význam resistinu při vzniku inzulinové rezistence. Konstatují že i při srovnatelné produkci na gram tukové tkáně mohou být cirkulující hladiny resistinu u obézních pacientů zvýšeny vzhledem k výrazně vyššímu procentu tuku v organismu.

Velmi rozporné jsou i poznatky o faktorech ovlivňujících expresi resistinu v tukové tkáni: například inzulin podle některých prací tuto expresi zvyšuje, podle jiných naopak snižuje, totéž platí i o thiazolidindionech a agonistech β -3-adrenergických receptorů (Ukkola, 2002).

Další překvapivý příspěvek do diskuse o významu resistinu při vzniku inzulinové rezistence přinesla studie Rajala (Rajala et al., 2003). Autoři pomocí euglykemického-hyperinzulinemického clampu velmi přesvědčivým způsobem prokázali, že akutní infúzní podání resistinu nebo resitinu podobné molekuly β vedlo u potkanů k významnému zhoršení jaterní inzulinové rezistence, zatímco inzulinová senzitivita ve svalu a tukové tkáni nebyla podáním resistinu ovlivněna.

Lidské genetické studie i přes velmi rozporuplné výsledky uvedené výše připouštějí možný význam resistinu v etiopatogenezi inzulinové rezistence. Například nedávno

publikované výsledky ukazují vyšší výskyt obezity a inzulinové rezistence u subjektů se 2 polymorfismy genu pro resistin, jiní autoři uvádějí asociaci genu pro resistin s obezitou a inzulinovou rezistencí (Ukkola, 2002). Výsledky klinických studií zaměřených na změny sérových koncentrací resistinu u obezity a diabetu dosud jsou rovněž velmi rozporné.

Původně velmi přesvědčivé výsledky prokazující kauzální význam resistinu při vzniku a rozvoji inzulinové rezistence byly řadou dalších studií poněkud zpochybněny. Navíc podobně jako u jiných hormonů tukové tkáně existuje značný rozpor mezi experimentálními výsledky publikovanými různými skupinami na rozdílných experimentálních modelech. Význam resistinu v etiopatogenezi lidské inzulinové rezistence zůstává zatím nejasný i pro nedostatek klinických údajů o změnách koncentrací tohoto hormonu za různých fyziologických patofyziologických stavů.

Adiponectin

Adiponectin je protein o hmotnosti 30 kDa produkovaný převážně adipocyty, který byl objeven a popsán nezávisle na sobě několika skupinami v roce 1996 (Scherer et al., 1995). Vzhledem k tomu, že tento protein objevilo prakticky současně několik různých vědeckých týmů, dostalo se mu také několika různých pojmenování (Acrp30, AdipoQ, apM1, gelatin-binding protein 28). V současné době je však nejvíce vžitý název adiponectin.

Sekvence adiponectinu je strukturálně podobná komplementárnímu faktoru C1q a také některým dalším proteinům ze stejné skupiny, jejichž funkce je dosud neznámá. Velmi zajímavým faktem je podobnost struktury adiponectinu se strukturální stavbou TNF- α , což podle některých autorů svědčí pro určitou evoluční spojitost mezi adiponectinem a cytokiny z rodiny TNF- α . V cirkulaci se kromě kompletní formy adiponectinového proteinu vyskytují také některé fragmenty adiponectinu (například C-terminální fragment atd.), které mohou zřejmě mít různé biologické funkce a působit selektivně v různých orgánech. Cirkulující adiponectin tvoří heterodimery složené z několika molekul tohoto proteinu, struktura receptorů pro adiponectin ani jejich výskyt dosud není znám.

Adiponectin je produkován adipocyty a uvolňován do cirkulace, kde je přítomen v koncentracích o několik řádů vyšších, než je tomu u jiných proteinových hormonů (například u leptinu) (Hotta et al., 2000). Již první práce o adiponectinu popisují sníženou expresi mRNA pro tento protein u experimentálních modelů obezity, totéž bylo opakovaně popsáno i pro sérové koncentrace adiponectinu (Yang et al., 2001). Zajímavou skutečností je, že podle řady studií, včetně našich výsledků, exprese mRNA pro adiponectin v tukové tkáni obvykle příliš nekoreluje se sérovými koncentracemi tohoto hormonu. Experimentální výsledky přesvědčivě prokazují, že sérové koncentrace adiponectinu negativně koreluje s obsahem tuku v organismu, respektive inzulinovou senzitivitou, a jsou tedy obvykle sníženy u pacientů s obezitou, diabetem a inzulinovou rezistencí (Arita et al., 1999; Hotta et al., 2000).

Longitudinální studie Hotty (Hotta et al., 2001) provedená na opicích prokázala, že sérové koncentrace adiponectinu u těchto zvířat klesají paralelně se snižováním inzulinové senzitivity. V této studii byla nalezena negativní korelace mezi hladinami adiponectinu a tělesnou hmotností, obsahem tuku v organismu a bazálními hladinami inzulinu. Naopak nejsilnější pozitivní korelace byla nalezena mezi sérovými koncentracemi adiponectinu a celotělovým vychytáváním glukózy během euglykemického-hyperinzulinemického clampu, které je velmi přesným měřítkem inzulinové senziti-

vity. Při rozdělení zvířat se srovnatelnou tělesnou hmotností na skupinu s nižšími a vyššími hladinami adiponektinu měla zvířata s relativně vyššími koncentracemi adiponektinu vyšší inzulinovou senzitivitu. Zajímavým zjištěním této studie také bylo, že hladiny adiponektinu poklesly již ve stadiu počínající obezity a teprve v dalších stadiích došlo k rozvoji inzulinové rezistence a diabetu. Tato skutečnost může svědčit pro kauzální vliv poklesu adiponektinu na vznik diabetu. Kromě modelů obezity a inzulinové rezistence byly hladiny adiponektinu měřeny také u myši s lipoatrofickým diabetem vyvolaným částečným nebo úplným vymizením tukové tkáně (Colombo et al., 2002). U těchto myši byly hladiny adiponektinu buď významně sníženy (u parciální lipoatrofie) nebo zcela neměřitelné (u kompletní lipoatrofie).

Vzhledem k výsledkům uvedených studií svědčících pro možný kauzální vztah adiponektinu ke vzniku a rozvoji inzulinové rezistence a diabetu 2. typu byla velká pozornost věnována podávání rekombinantního adiponektinu u experimentálních modelů obezity a diabetu 2. typu. V této souvislosti je nutno zdůraznit, že kromě celé molekuly adiponektinu byly v některých studiích také používány jen některé fragmenty tohoto proteinu.

Některé studie prokázaly zlepšení lipoatrofického diabetu po podávání adiponektinu, ještě lepších výsledků však bylo dosaženo při kombinovaném podávání adiponektinu a leptinu (Yamauchi et al., 2002). Jiné skupiny však účinnost substituce adiponektinu u myšiho modelu těžkého kompletního lipoatrofického diabetu neprokázaly (Colombo et al., 2002).

V několika studiích byl sledován vliv podávání rekombinantního adiponektinu na metabolismus glukózy *in vivo* u normálních myši případně u myši s obezitou různé etiologie. Fruebis podával myším v injekční formě C-terminální fragment adiponektinu připravený rekombinantní technikou s následnou trypsinizací (Fruebis et al., 2001). Podávání tohoto fragmentu v této studii potlačilo potravou vyvolané zvýšení hladin glukózy, volných mastných kyselin a triglyceridů. Podání kompletního adiponektinového proteinu žádný z uvedených parametrů neovlivnilo. Naopak dlouhodobé podávání adiponektinu v této studii částečně potlačilo vzestup hmotnosti vyvolaný dietou s vysokým obsahem tuků i přes nezměněný příjem potravy. Autoři tuto skutečnost vysvětlují vzestupem oxidace volných mastných kyselin ve svalu.

Vliv podávání kompletního adiponektinového proteinu připraveného poněkud odlišnou technikou byl zkoumán skupinou Scherera. Akutní podání adiponektinu zde vedlo k přechodnému poklesu hladin glukózy bez ovlivnění sérových koncentrací inzulinu (Pajvani and Scherer, 2003). Skutečnost, že účinky adiponektinu nejsou zprostředkovány změnami v hladinách inzulinu, byla potvrzena studiemi na myších s experimentálně vyvolaným výrazným snížením sekrece inzulinu (diabetes indukovaný podáním cytotatika streptozotocinu). I u těchto modelů, podobně jako u normálních zvířat, vedlo podání adiponektinu ke snížení glykémie.

V další studii Schererovy skupiny byly metodou hyperinzulinemického-euglykemického clampu měřeny změny inzulinové senzitivity po podání adiponektinu u myši (Combs et al., 2001). Bylo zjištěno, že podání adiponektinu vede *in vivo* k výraznému snížení endogenní produkce glukózy v játrech, zatímco inzulinová senzitivita ve svalové a tukové tkáni výrazněji ovlivněna nebyla. Další velmi zajímavá studie byla provedena Yamanuchim (Yamanuchi et al., 2002). Zde bylo prokázáno, že podání adiponektinu vedlo ke stimulaci enzymu 5'-AMP-aktivované protein kinázy jak ve svalové, tak i jaterní tkáni, s následnou stimulací oxidace volných mastných kyselin ve svalové i jaterní tkáni. Zatímco podání kompletního adiponektinového proteinu zvyšovalo

oxidaci volných mastných kyselin jak ve svalové, tak jaterní tkáni, podávání fragmentu adiponectinu (globulární domény) mělo tyto účinky pouze ve tkáni svalové. Kromě stimulace oxidace volných mastných kyselin vedlo podání adiponectinu v játrech i k poklesu exprese glukoneogenetických enzymů glukózo-6-fosfatázy a fosfoenolpyruvát kinázy.

Velmi zajímavé poznatky o fyziologickém významu adiponectinu v regulaci metabolismu glukózy přinesl molekulárně genetický přístup s vytvořením transgenních myší s kompletním vyřazením genu pro adiponectin (ADP^{-/-} myši). Tyto transgenní myši byly paralelně vytvořeny nezávisle na sobě třemi vědeckými skupinami. V první publikaci Maedy et al. byla u ADP^{-/-} myší významně zpomalená clearance mastných kyselin, ale normální hladiny glukózy, inzulinu i normální glukózová tolerance (Maeda et al., 2002). Podávání diety s vysokým obsahem tuků ovšem u těchto myší vedlo k rozvoji inzulinové rezistence podstatně těžšího stupně než u kontrolní skupiny normálních myší krměných stejnou potravou. Ve svalové tkáni těchto myší byla snížena exprese mRNA pro enzymy stimulující transport volných mastných kyselin do svalu a výrazně zvýšeny byly u ADP^{-/-} myší rovněž sérové koncentrace TNF- α . V *in vitro* studiích bylo navíc prokázáno, že současné podání adiponectinu potlačuje pokles inzulinové senzitivity v myocytech vyvolaný účinkem TNF- α .

V práci Kuboty et al. byl rovněž vytvořen transgenní model ADP^{-/-} myši a při zkoumání vlivu úplného chybění adiponectinu došli autoři k podobným výsledkům jako předchozí skupina: ADP^{-/-} myši se v této studii vyznačovaly sníženou inzulinovou senzitivitou již při krmení běžnou dietou (Kubota et al., 2002). Kontroverzní výsledky přinesla třetí studie, v níž byl zkoumán další model ADP^{-/-} myši. V této práci autoři nezjistili žádný vliv chybění adiponectinu na metabolismus glukózy (Ma et al., 2002). Transgenní myši měly navíc významně zvýšenou oxidaci lipidů ve svalové tkáni, což je v rozporu s dosud publikovanými výsledky. Jasný důvod pro rozpor mezi prvními dvěma a třetí studií není znám. Je však možné, že v případě posledního transgenního modelu nebyl knockout genu pro adiponectin úplný, a mohl tak být produkován některý z adiponectinových fragmentů, což mohlo vést k paradoxnímu zvýšení oxidace mastných kyselin.

Vztah inzulinové rezistence a diabetu k progresi aterosklerózy je všeobecně akceptován, přesný mechanismus však není znám. S objevem adiponectinu se objevila také řada prací zkoumající možnou souvislost tohoto hormonu se vznikem a rozvojem aterosklerózy. První publikovanou prací na toto téma byla studie Ouchiho et al., v níž byl zkoumán vliv adiponectinu *in vitro* na akumulaci lipidů v lidských makrofázích (Ouchi et al., 2001). Nadměrná akumulace lipidů makrofágy je jedním z důležitých procesů při vzniku a rozvoji aterosklerotického postižení cévního stěny. V uvedené studii bylo zjištěno, že přidání adiponectinu ke kultuře lidských makrofágů potlačilo expresi scavengerového receptoru typu A na povrchu těchto buněk a tím snížilo akumulaci lipidů. V důsledku tohoto působení byla potlačena transformace makrofágů v pěnové buňky, které jsou významným činitelem v rozvoji aterosklerózy.

Velmi pravděpodobnou úlohu adiponectinu při vzniku aterosklerózy potvrdily *in vivo* experimentální studie. Ve dvou pracích bylo ukázáno, že u transgenních myší s chyběním adiponectinu dochází k akceleraci aterosklerózy a zvýšené proliferaci intimální části cévní stěny v reakci na experimentální poranění ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých zvířat (Kubota et al., 2002; Maeda et al., 2002). Substituce rekombinantního adiponectinu tyto odchylky zcela upravila. Podobně podání adiponectinu

u jiného modelu aterosklerózy transgenní myši s deficitem apolipoproteinu E vedlo k redukci počtu aterosklerotických lézí a snížení obsahu lipidů v těchto lézích. Na základě uvedených studií lze tedy konstatovat, že význam adiponektinu při vzniku a rozvoji aterosklerózy je velmi pravděpodobný.

Řada klinických studií prokázala signifikantní snížení adiponektinu nejen u pacientů s obezitou, ale také u nemocných s inzulinovou rezistencí či prokázanou koronární aterosklerózou. Ve studii provedené na Pima indiánech sérové koncentrace adiponektinu pozitivně korelovaly s řadou parametrů inzulinové senzitivity měřených metodou euglykemického-hyperinzulinemického clampu. Některými skupinami byl prokázán i vztah hladin adiponektinu k sérovým koncentracím některých lipidů. V Aritově studii sérové koncentrace adiponektinu negativně korelovaly se sérovými hladinami triglyceridů, apo-A a apo-B lipoproteinů a aterogenním indexem (Arita et al., 1999). Pozitivní korelace byla naopak nalezena mezi hladinami adiponektinu a HDL-cholesterolu. V dynamické studii sledující vliv snížení tělesné hmotnosti na hladiny adiponektinu bylo prokázáno, že pokles tělesné hmotnosti sérové koncentrace adiponektinu zvyšuje (Yang et al., 2001). Velmi zajímavý se zdá být vztah aktivátorů receptorů PPAR- γ – thiazolidindionů a adiponektinu. Jak experimentálně, tak v několika klinických studiích podávání těchto látek vedlo k významnému zvýšení sérových koncentrací adiponektinu (Combs et al., 2002). Navíc u pacientů s mutací receptoru PPAR- γ jsou hladiny adiponektinu oproti zdravým jedincům až pětinasobně sníženy. Přesný mechanismus tohoto účinku thiazolidindionů dosud není znám, spekuluje se však o možnosti, že zvýšení hladin adiponektinu může být velmi důležitou součástí komplexního mechanismu, jakým thiazolidindiony zvyšují inzulinovou senzitivitu. Hladiny adiponektinu navíc mohou být důležitým biomarkerem účinků thiazolidindionů na tukovou tkáň.

Stejně jako u ostatních hormonů tukové tkáně byly také v případě adiponektinu prováděny genetické studie zaměřené na možnou souvislost polymorfismů genu pro adiponektin a obezity, respektive inzulinové rezistence či diabetu. V některých studiích byla prokázána asociace mezi diabetem 2. typu a specifickým polymorfismem adiponektinového genu (Hara et al., 2002). Rovněž mutace globulární domény adiponektinu byly spojeny s nízkými hladinami tohoto hormonu u diabetu 2. typu.

Na rozdíl od některých jiných adipocytárních hormonů, jejichž význam při vzniku inzulinové rezistence a diabetu je dosti sporný, se v případě adiponektinu zdá souvislost s těmito onemocněními být vcelku jasně prokázána. Lze předpokládat, že v blízké budoucnosti bude k dispozici rekombinantní adiponektin vhodný pro humánní použití. Teprve klinické studie zaměřené na sledování vlivu substituce adiponektinu na inzulinovou senzitivitu a aterosklerózu pak dají jednoznačnou odpověď na otázku, zda a jak významné bude klinické využití objevu adiponektinu.

ZÁVĚR

Objevy posledního desetiletí významným způsobem změnily náhled vědecké veřejnosti na význam tukové tkáně v lidském organismu. Dnes je již všeobecně uznáváno, že tato tkáň je velmi významným aktivním účastníkem metabolických dějů. Blížší poznání endokrinní funkce tukové tkáně by mělo umožnit vývoj nových postupů k prevenci a léčbě inzulinové rezistence, diabetu a dalších metabolických odchylek spojených s obezitou.

Literatura

- AHIMA, RS., PRABAKARAN, D., MANTZOROS, C., et al. *Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting*. *Nature*, 1996, 382, p. 250–252.
- ARITA, Y., KIHARA, S., OUCHI, N., et al. *Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 257, p. 79–83.
- BODEN, G., SHULMAN, GI. *Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction*. *Eur J Clin Invest*, 2002, 32 (suppl. 3), p. 14–23.
- COLOMBO, C., CUTSON, JJ., YAMAUCHI, T., et al. *Transplantation of adipose tissue lacking leptin is unable to reverse the metabolic abnormalities associated with lipodystrophy*. *Diabetes*, 2002, 51, p. 2727–2733.
- COMBS, TP., BERG, AH., OBICI, S., et al. *Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30*. *J Clin Invest*, 2001, 108, p. 1875–1881.
- COMBS, TP., WAGNER, JA., BERGER, J., et al. *Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPAR γ agonists: a potential mechanism of insulin sensitization*. *Endocrinology*, 2002, 143, p. 99–1007.
- FRUEBIS, J., TSAO, TS., JAVORSCHI, S., et al. *Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98, p. 2005–2010.
- GAVRILOVA, O., MARCUS-SAMUELS, B., GRAHAM, D., et al. *Surgical implantation of adipose tissue reverses diabetes in lipodystrophic mice*. *J Clin Invest*, 2000, 105, p. 271–278.
- GRINSPOON, S., GULICK, T., ASKARI, H., et al. *Serum leptin levels in women with anorexia nervosa*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81, p. 3861–3863.
- HALUZÍK, M. *Poruchy výživy a leptin*. Praha : Grada Publishing, 2002.
- HALUZIK, M., COLOMBO, C., GAVRILOVA, O., et al. *Genetic background (C57BL/6J versus FVB/N) strongly influences the severity of diabetes and insulin resistance in ob/ob mice*. *Endocrinology*, 2004, 145, p. 3258–3264.
- HALUZIK, M., DIETZ, KR., KIM, JK., et al. *Adrenalectomy improves diabetes in A-ZIP/F-1 lipodystrophic mice by increasing both liver and muscle insulin sensitivity*. *Diabetes*, 2002, 51, p. 2113–2118.
- HALUZIK, M., KABRT, J., NEDVIDKOVA, J., et al. *Relationship of serum leptin levels and selected nutritional parameters in patients with protein-caloric malnutrition*. *Nutrition*, 1999a, 15, p. 829–833.
- HALUZIK, M., PAPEZOVA, M., NEDVIDKOVA, J., et al. *Serum leptin levels in patients with anorexia nervosa before and after partial refeeding, relationships to serum lipids and biochemical nutritional parameters*. *Physiol Res*, 1999b, 48, p. 197–202.
- HARA, K., BOUTIN, P., MORI, Y., et al. *Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population*. *Diabetes*, 2002, 51, p. 536–540.
- HAVEL, PJ. *Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylated stimulating protein, and adiponectin*. *Curr Opin Lipidol*, 2002, 13, p. 51–59.
- HOTTA, K., FUNAHASHI, T., ARITA, Y., et al. *Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20, p. 1595–1599.
- HOTTA, K., FUNAHASHI, T., BODKIN, NL., et al. *Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys*. *Diabetes*, 2001, 50, p. 1126–1133.
- CHOU, CJ., HALUZIK, M., GREGORY, C., et al. *WY14,643, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) agonist, improves hepatic and muscle steatosis and reverses insulin resistance in lipodystrophic A-ZIP/F-1 mice*. *J Biol Chem*, 2002, 277, p. 24484–24489.
- KIM, JK., FILLMORE, JJ., GAVRILOVA, O., et al. *Differential effects of rosiglitazone on skeletal muscle and liver insulin resistance in A-ZIP/F-1 fatless mice*. *Diabetes*, 2003, 52, p. 1311–1318.

- KUBOTA, N., TERAUCHI, Y., YAMAUCHI, T., et al. *Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neonatal formation*. J Biol Chem, 2002, 277, p. 25863–25866.
- MA, K., CABRERO, A., SAHA, PK., et al. *Increased β -oxidation but no insulin resistance or glucose intolerance in mice lacking adiponectin*. J Biol Chem, 2002, 277, p. 34658–34661.
- MAEDA, N., SHIMOMURA, I., KISHIDA, K., et al. *Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30*. Nat Med, 2002, 8, p. 731–737.
- MCTERNAN, PG., MCTERNAN, CL., CHETTY, R., et al. *Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue*. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87, p. 2407.
- MIKHAIL, AA., BECK, EX., SHAFER, A., et al. *Leptin stimulates fetal and adult erythroid and myeloid development*. Blood, 1997, 89, p. 1507–1512.
- OUCHI, N., KIHARA, S., ARITA, Y., et al. *Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages*. Circulation, 2001, 103, p. 1057–1063.
- PAJVANI, UB., AND SCHERER, PE. *Adiponectin: systemic contributor to insulin sensitivity*. Curr Diab Rep, 2003, 3, p. 207–213.
- RAJALA, MW., OBICI, S., SCHERER, PE., et al. *Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule- β selectively impair insulin action on glucose production*. J Clin Invest, 2003, 111, p. 225–230.
- RAJALA, MW., QI, Y., PATEL, HR., et al. *Regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting*. Diabetes, 2004, 53, p. 1671–1679.
- RAVUSSIN, E., SMITH, SR. *Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus*. Ann NY Acad Sci, 2002, 967, p. 363–378.
- SAVAGE, DB., SEWTER, CP., KLENK, ES., et al. *Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor- γ action in humans*. Diabetes, 2001, 50, p. 2199–2202.
- SHEK, EW., BRANDS, MW., HALL, JE. *Chronic leptin infusion increases arterial pressure*. Hypertension, 1998, 31 (1 Pt 2), p. 409–414.
- SHULMAN, GI. *Cellular mechanisms of insulin resistance*. J Clin Invest, 2000, 106, p. 171–176.
- SCHERER, PE., WILLIAMS, S., FOGLIANO, M., et al. *A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes*. J Biol Chem, 1995, 270, p. 26746–26749.
- SOLIMAN, AT., ELZALABANY, MM., SALAMA, M., et al. *Serum leptin concentrations during severe protein-energy malnutrition: correlation with growth parameters and endocrine function*. Metabolism, 2000, 49, p. 819–825.
- STEPPAN, CM., BAILEY, ST., BHAT, S., et al. *The hormone resistin links obesity to diabetes*. Nature, 2001, 409, p. 307–312.
- UKKOLA, O. *Resistin – a mediator of obesity-associated insulin resistance or an innocent bystander?* Eur J Endocrinol, 2002, 147, p. 571–574.
- WAY, JM., GORGUN, CZ., TONG, Q., et al. *Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists*. J Biol Chem, 2001, 276, p. 25651–25653.
- YAMAUCHI, T., KAMON, J., MINOKOSHI, Y., et al. *Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase*. Nat Med, 2002, 8, p. 1288–1295.
- YANG, WS., LEE, WJ., FUNAHASHI, T., et al. *Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin*. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86, p. 3815–3819.
- ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., et al. *Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue*. Nature, 1994, 372, p. 425–432.

ROLE IMUNITNÍ ODPOVĚDI V PATOGENEZI BAKTERIÁLNÍ SEPSE



Doc. MUDr. Michal Holub, Ph.D.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Fakultní nemocnice Na Bulovce s poliklinikou,
III. klinika infekčních a tropických nemocí*

SOUHRN

Úvod. Bakteriální seps (BS) představuje významnou příčinu morbidit i mortality u hospitalizovaných pacientů. Na jednotkách intenzivní péče jde dokonce o vedoucí příčinu smrti. Přes diagnostické i terapeutické pokroky dosažené v posledních letech je letalita BS nepřiměřeně vysoká. V patogenезi BS hraje zásadní roli průnik bakterií do krevního oběhu a následný rozvoj systémové zánětlivé odpovědi, která může vést k polyorgánovému selhání – multiple organ failure syndrome (MOFS). Rozvoj MOFS tlumí protizánětlivá odpověď, která může způsobit imunosupresi, a vést tak k větší vnímavosti k sekundárním infekcím.

Cíle práce:

1. analýza kompartmentalizace imunitní odpovědi v plicích v modelu myší endotoxémie a její role v rozvoji plicního poškození při MOFS;
2. studium vlivu dysregulace pulmonální imunitní odpovědi na vnímavost k sekundární plicní infekci;
3. sledování dysregulace imunitní odpovědi u lidské seps, možnosti jejího ovlivnění léčbou a analýza kompartmentalizace imunitní odpovědi v modelu bakteriální meningitidy.

Výsledky:

1. při experimentální endotoxémii v plicích dochází k nahromadění makrofágů, zvýšení koncentrací IL-1 β a IFN- γ se současným snížením počtu rezidentních CD4+ T-lymfocytů;
2. na rozdíl od předpokladu, že tato dysregulace plicní imunity vede k větší vnímavosti k sekundární infekci, jsme u myší s endotoxémií a stafylokokovou pneumonií zaznamenali lepší likvidaci bakterií;
3. u pacientů s BS rovněž dochází k redukcii lymfocytárních subpopulací; jejich restituce je pomalejší u grampozitivní seps a při léčbě BS s použitím kontinuální ve-

novenózní hemodiafiltrace. V likvoru u bakteriální meningitidy vedle zvýšení prozánětlivých cytokinů dochází i ke zvýšení protizánětlivého IL-10 a kortizolu.

Závěry. Naše výsledky ukazují značnou komplexnost imunitní odpovědi u BS, která je charakteristická těsným vztahem mezi prozánětlivou a protizánětlivou reakcí – systémově i v zánětlivém kompartmentu. Další analýza i klinické využití námi uvedených imunitních parametrů může pomoci v léčbě BS i ve vývoji nových imunoterapeutických postupů.

SUMMARY

The role of immune response in pathogenesis of bacterial sepsis

Introduction. Bacterial sepsis (BS) represents an important cause of morbidity and mortality in hospitalized patients. Furthermore, BS is a leading cause of death in intensive care settings. Despite progress made in diagnostics and therapy in last decades, lethality of BS remains high. The pathogenesis of BS is closely related to invasion of bacteria into the bloodstream and subsequent development of systemic inflammatory response leading to syndrome of multiple organ failure – MOFS. The progression to MOFS is controlled with anti-inflammatory responses, which can cause immunosuppression responsible for increased susceptibility to secondary infections.

Specific Aims:

1. An analysis of lung compartmentalization of immune response and its role in the development of lung injury as a part of MOFS in a model of murine endotoxemia;
2. A study of an importance of the dysregulation of pulmonary immune responses to changes in susceptibility to secondary lung infection;
3. A follow-up study of dysregulation of immune responses in human sepsis, its modulation with treatment methods and analysis of compartmentalization of immune response in a model of bacterial meningitis (BM).

Results:

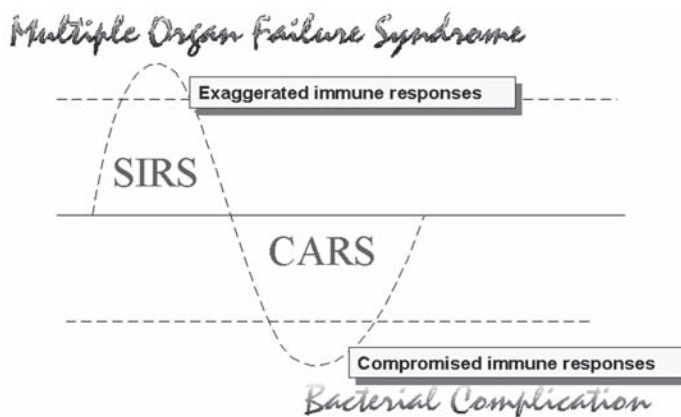
1. Experimental endotoxemia is characterized by accumulation of macrophages, increased concentrations of IL-1 β and IFN- γ as well as reduction of resident CD4+ T-lymphocytes in the lungs;
2. Despite a prerequisite that the dysregulation of lung immune response leads to increased susceptibility to secondary infection, in the mice with endotoxemia and staphylococcal pneumonia a better clearance of bacteria has been observed;
3. Patients with BS also demonstrated reductions of lymphocyte subsets; reconstitution of the subsets was slow in gram-positive sepsis as well as in patients treated with continuous veno-venous hemodiafiltration. Also, elevated levels of proinflammatory cytokines in cerebrospinal fluid during BM were associated with increases of antiinflammatory IL-10 and cortisol levels.

Conclusion. Our results demonstrate complexities of immune responses during BS, which are characterized by a tight relationship between pro- and antiinflammatory immune reactions – either systemic or local. Further analyses and clinical studies of these immune parameters can help in the therapy and development of new treatment modalities for BS.

ÚVOD

Sepse představuje významnou příčinu morbidity i mortality u hospitalizovaných pacientů. Na jednotkách intenzivní péče jde dokonce o vedoucí příčinu smrti. Přes diagnostické a terapeutické pokroky dosažené v posledních letech je letalita sepse nadále vysoká – dosahuje 70–90 % v případech septického šoku. Ačkoliv se klíčový význam v patogenezi sepse v současné době přisuzuje dysregulaci imunitní odpovědi, dosud navržené léčebné metody, jejichž principem byla právě modulace imunitní odpovědi, nepřinesly očekávané zlepšení prognózy septických nemocných. Přesné poznání mechanismů dysregulace imunitní odpovědi při sepsi je proto jedním z hlavních směrů současného výzkumu tohoto závažného onemocnění.

Proces dysregulace imunitní odpovědi, který je vyvolán septickým onemocněním, je velmi složitý. V první fázi sepse, k níž dochází po průniku infekčního agens (případně pouze jeho signálních molekul, jako je například endotoxin gramnegativních bakterií) do systémové cirkulace, se objevuje bouřlivá systémová zánětlivá reakce (systemic inflammatory response syndrome, SIRS). Ačkoliv cílem SIRS je likvidace infekčního agens (bakterií, virů, parazitů nebo plísní), může při nadměrné aktivaci dojít k poškození životně důležitých orgánů – především plic, mozku, cév a ledvin. V tomto případě většinou dojde k selhání více orgánů najednou, k tzv. polyorgánovému selhání (multiple organ failure syndrome, MOFS). Rozvoj autoagresivního SIRS je tlumen protizánětlivou reakcí, syndromem systémové protizánětlivé odpovědi (compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS). Rovněž protizánětlivá odpověď – CARS – může být nadměrná a v jejím důsledku pak dochází k významné imunopresi, kterou provází vyšší vnímavost k sekundárním infekcím (obr. 1).



Obr. 1. Dynamika imunitní reakce u sepse (Holub, M., et al. 40th IDSA, 2002)

VLASTNÍ PRÁCE

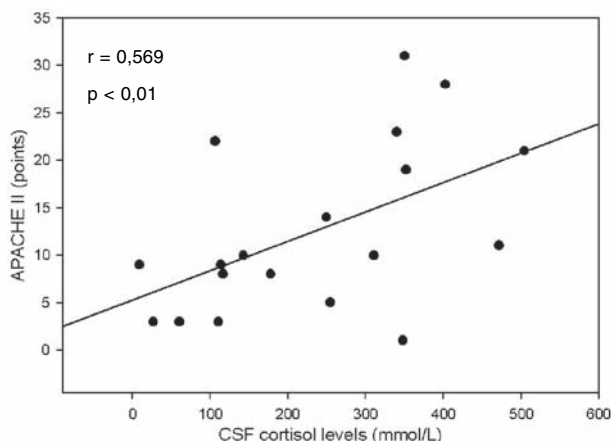
Cílem naší práce byla analýza kinetiky, charakteru a kompartmentalizace imunitní odpovědi indukované sepsí v klinických i experimentálních studiích. Vzhledem k vysoké

prevalenci sepse s bakteriální etiologií (až 90 % všech septických onemocnění v rozvinutých zemích) jsme jako modelovou situaci studovali vybrané imunitní parametry u bakteriální sepse (BS), a to zvláště u pacientů s purulentní meningitidou, pneumonií, pyelonefritidou i infekční endokarditidou. Jako experimentální model jsme využili endotoxémie a stafylokokovou pneumonii u BALB/c myši.

Experimentální část práce zahrnuje dvě studie, které byly provedeny u BALB/c myši. V obou pracích jsme se soustředili na studium role imunitní odpovědi v patogenezi dvou nejčastějších orgánových komplikací těžké bakteriální sepse – syndromu akutního plicního selhání (adult respiratory distress syndrome, ARDS) a nozokomiální pneumonie. Předpokládá se, že v patogenezi ARDS hraje zásadní roli nahromadění aktivovaných polymorfonukleárů v plicní cirkulaci a následné poškození alveolokapilární membrány. Méně je známo o úloze plicních makrofágů a lymfocytů v patogenezi ARDS při bakteriální sepsi. V experimentálním modelu ARDS vyvolaného endotoxémií u BALB/c myši jsme prokázali vysokou koncentraci prozánětlivých cytokinů IL-1 β , IL-6 a IFN- γ v plicní tkáni. Buněčným zdrojem IFN- γ v plicích v našem modelu byly plicní makrofágy. Rovněž jsme prokázali, že se jejich množstvím v plicích při experimentální endotoxémií významně zvyšuje. Počet lymfocytů v plicní tkáni je naopak v tomto modelu významně redukován. Tato deplece postihuje hlavně rezidentní CD4+ T-lymfocyty, které jsou důležitou buněčnou komponentou pulmonální specifické imunity. Naše výsledky naznačily, že při ARDS dochází vedle nadměrné aktivace přirozené imunity k současné supresi imunity specifické v plicích.⁽¹⁾

V myším modelu sekundární pneumonie komplikující ARDS jsme se proto dále soustředili na vnímavost ke stafylokokové infekci, která v současnosti představuje jednu z nejčastějších nozokomiálních infekcí. Provedené experimenty prokázaly snížené množství CD4+ T-lymfocytů v plicích u myši, kterým byl podán endotoxin a zároveň *S. aureus*, oproti zvířatům infikovaným pouze stafylokokem. Překvapivě byl počet bakteriálních kolonií *S. aureus* v plicích u skupiny, které byl aplikován endotoxin i *S. aureus*, významně snížen v porovnání se zvířaty infikovanými pouze stafylokokem. Tyto výsledky naznačují, že aktivace mechanismů přirozené imunity v plicích při endotoxémií má ochranný vliv před sekundární stafylokokovou infekcí a že tento efekt převažuje nad negativním účinkem endotoxinu.⁽²⁾

V klinické části vlastní práce jsme se soustředili především na popis a studium významu některých imunitních parametrů u bakteriální sepse vyvolané komunitními patogeny, včetně jejich ovlivnění vybranými terapeutickými metodami. Jedním z důležitých ukazatelů kritického onemocnění je počet lymfocytárních subpopulací v krvi. Jeho klinický význam byl dosud převážně studován u pacientů s polytraumatem nebo po velkém chirurgickém výkonu. V klinické studii jsme u nemocných s bakteriální sepsí vyvolanou komunitními patogeny sledovali, zda počty lymfocytárních subpopulací v krvi mohou rovněž sloužit jako prognostický ukazatel. Naše výsledky potvrdily předpoklad, že u bakteriální sepse, podobně jako u jiných kritických onemocnění, jsou počty i procenta jednotlivých lymfocytárních subpopulací v krvi významně sníženy.⁽³⁾ Závažnost této redukce ani restituce cirkulujících lymfocytárních subpopulací není závislá na tíži a prognóze septického onemocnění, odráží však jeho bakteriální etiologii. Normalizace cirkulujících subpopulací je významně rychlejší u gramnegativní sepse ve srovnání se sepsí vyvolanou grampozitivními bakteriemi.⁽⁴⁾ Do klinické části práce patří i studium dalších laboratorních ukazatelů sepse na modelové invazivní infekci – bakteriální meningitidě. V tomto případě jsme sledovali parametry imunitní odpovědi přímo v zánětlivém ložisku, když byly analyzovány v mozkomíšním moku.



Obr. 2. Lineární korelace mezi hladinou kortizolu v likvoru a tíží průběhu purulentní meningitidy skórovanou dle systému APACHE II (Holub, M., et al. 16th ECCMID, 2004)

Naše předběžné výsledky naznačují klinický význam stanovení hladin IL-10 a kortizolu v mozkomíšním moku jako prognostických ukazatelů bakteriální meningitidy, jelikož jejich vysoké hladiny korelují s těžkým průběhem onemocnění. Závažnost průběhu bakteriální meningitidy byla stanovena podle skórovacího systému APACHE II (Adult Physiologic and Chronic Health Evaluation); tento parametr lineárně koreloval s hladinou kortizolu v likvoru (obr. 2).⁽⁵⁾

Je známo, že kontinuální eliminační metody, které se používají při léčbě akutního renálního selhání u kriticky nemocných, mají imunomodulační efekt na některé imunitní parametry. V klinické multicentrické studii jsme sledovali vliv kontinuální venovenózní hemodiafiltrace (continuous veno-venous hemodiafiltration, CVVHDF) na aktivaci monocytů a T-lymfocytů u pacientů s bakteriální sepsí ve srovnání s neseptickými kriticky nemocnými. Zvýšenou aktivaci monocytů či T-lymfocytů jsme u septických pacientů nezaznamenali. Naopak u neseptických nemocných byl pozorován imunosupresivní vliv CVVHDF, který byl definován podle poklesu exprese lidského leukocytárního antigenu II. třídy (human leukocyte antigen, HLA-DR) na povrchu monocytů, což je jeden z obecně uznávaných parametrů imunosuprese indukované sepsí. Podobně u septických pacientů zařazených do studie jsme pozorovali v průběhu CVVHDF pokles exprese HLA-DR na T-lymfocytech, což je jeden z parametrů jejich aktivace.⁽⁶⁾ Tyto nálezy mohou být jednou z příčin vyššího výskytu infekčních komplikací, který je při použití této eliminační metody znám.

ZÁVĚRY

Naše experimentální i klinické studie potvrzují značnou složitost vzájemných vztahů prozánětlivé a protizánětlivé imunitní odpovědi u seps. Analýza i klinické sledování dokumentovaných složek imunitní odpovědi u bakteriální seps může pomoci při léčbě septických pacientů a v budoucnu i při výběru vhodných imunoterapeutických postupů.

Literatura

1. HOLUB, M., LAWRENCE, DA. *Influence of endotoxin-induced acute lung injury on pulmonary innate and adaptive immunity*. APMIS, 2003, 111, p. 571–580.
2. HOLUB, M., LAWRENCE, DA., MONDAL, T., et al. *Endotoxemia protects BALB/c mice from secondary staphylococcal infection of lungs*. Int Care Med, 2004, 30, p. S118.
3. HOLUB, M., KLUČKOVÁ, Z., BENEDA, B., et al. *Changes in lymphocyte subpopulations and CD3+/DR+ expression in sepsis*. Clin Microbiol Infect, 2000, 6, p. 657–660.
4. HOLUB, M., KLUČKOVÁ, Z., HELCL, M., et al. *Lymphocyte subset numbers depend on the bacterial origin of sepsis*. Clin Microbiol Infect, 2003, 9, p. 202–211.
5. HOLUB, M., BERAN, O., HNYKOVÁ, J., et al. *An importance of cytokine and cortisol levels in cerebrospinal fluid as clinical and biological markers of bacterial meningitis*. Clin Microbiol Infect, 2004, 10 (suppl. 3), p. 370.
6. ROKYTA Jr., R., HOLUB, M., HANZLÍKOVÁ, J., et al. *Continuous veno-venous hemodiafiltration: effects on monocyte and lymphocyte immunophenotype in critically ill patients*. Int J Artif Organs, 2002, 25, p. 1066–1073.

PRODUKTY POKROČILÉ GLYKACE A OXIDACE



Doc. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta,
Ústav lékařské biochemie*



SOUHRN

Produkty pokročilé glykace (AGE) a produkty pokročilé oxidace proteinů (AOPP) se spoluúčastní v patogenezi řady onemocnění (diabetes mellitus, selhání ledvin, ateroskleróza) a jejich závažných komplikací. Náš výzkum v oblasti AGE a AOPP byl zaměřen na studium těchto látek různými analytickými metodami u vybraných onemocnění, především v nefrologii a diabetologii.

V nefrologické problematice jsme se zabývali pacienty s chronickým renálním selháním léčenými hemodialýzou. Sérové koncentrace AGE i AOPP jsou u těchto pacientů významně zvýšeny ($p < 0,001$). Ve skupině hemodialyzovaných pacientů s diabetes mellitus jsou AGE ve srovnání s hemodialyzovanými nediabetiky signifikantně zvýšeny (rozdíl více než 20 %, $p < 0,001$) a jejich složení se liší. Většina AGE je vázána na proteiny a jejich odstraňování je v průběhu dialýzy s nízkopropustnými (low flux) membránami nedostatečné (pokles o 15 %, $p < 0,001$). AGE více souvisejí s nutričním stavem a mohou lépe sloužit jako marker chronického poškození. AOPP se signifikantně snižují od 0. do 15. minuty dialýzy, ale pak se signifikantně zvyšují, pravděpodobně vlivem stimulace neutrofilů cestou aktivace komplementu nebo akcelerovaným oxidačním stresem. AOPP mají navíc významnější vztah – fibrinogenem ($r = 0,49$, $p < 0,05$), orosomukoidem ($r = 0,39$, $p < 0,05$) a PAPP-A – pregnancy associated plasma protein A ($r = 0,46$, $p < 0,05$), novým markerem progresu aterosklerózy a potenciálním reaktantem akutní fáze.

Prokázali jsme vhodné využití stanovení parametrů glykace a oxidace – AGE a AOPP u některých onemocnění a jejich komplikací. AOPP jako marker oxidačního poškození popisují akutnější změny, zatímco AGE vzniklé vlivem neenzymatické glykace a oxidačního a karbonylového stresu mohou sloužit jako marker chronického poškození, závislý na nutričním stavu. Produkty pokročilé glykace a oxidace, jejich vznik,

metabolismus a biologické účinky jsou ovlivněny multifaktoriálně a je nutné se jimi komplexně zabývat, aby bylo možné správně preventivně a terapeuticky zasáhnout.

SUMMARY

Advanced glycation end products (AGE) and advanced oxidation protein products (AOPP) take part in the pathogenesis of many diseases (diabetes mellitus, renal failure, atherosclerosis) and their severe complications. Our research of on AGE and AOPP was focused to studies of these products using various analytical methods, mainly in nephrology and diabetology.

Concerning nephrology, we have studied patients with chronic renal failure treated with hemodialysis. Serum levels of both AGE and AOPP in there patients are significantly elevated ($p < 0,001$). In hemodialyzed patients with diabetes mellitus, AGE are significantly increased compared to hemodialyzed non-diabetics (difference more than 20 %, $p < 0,001$) and their composition differs. The majority of AGE is protein bound and their clearance during dialysis with low flux membranes is insufficient (decrease by 15 %, $p < 0,001$). AGE are linked to nutritional state and might describe chronic damage. AOPP decrease significantly from 0 to 15 min of dialysis and then increase, probably due to stimulation of neutrophils via complement activation and due to accelerated oxidative stress. Additionally, AOPP are closely related to inflammatory reaction. We have found a correlation with fibrinogen $r = 0,49$, $p < 0,05$, orosomucoid $r = 0,39$, $p < 0,05$ and PAPP-A – pregnancy associated plasma protein A $r = 0,46$, $p < 0,05$, new marker of progression of atherosclerosis and a potential acute phase reactant.

We have shown reasonable determination of two parameters of glycation and oxidation – AGE and AOPP in some diseases and their complications. AOPP as a marker of oxidative damage describe more acute changes, while AGE formed via non-enzymatic glycation and oxidative and carbonyl stress and related to nutritional state might better refer to chronic damage. Advanced glycation and oxidation products, their formation, metabolism and biological effects are regulated multifactorially and complex view is necessary in order to introduce adequate preventive and therapeutic measures.

ÚVOD

V posledních několika letech je v teoretickém i klinickém výzkumu velká pozornost věnována produktům pokročilé glykace (AGE), které se podobně jako další látky vzniklé vlivem oxidačního a karbonylového stresu spoluúčastní v patogenezi řady chronických onemocnění a jejich závažných, často fatálních komplikací, např. diabetes mellitus, kardiovaskulární onemocnění či chronické selhání ledvin.

Produkty pokročilé glykace

AGE byly poprvé popsány v roce 1912 francouzským chemikem Maillardem. Nejdříve se těmito látkami zabývali potravinoví chemici a teprve později se zjistilo, že se AGE spolupodílejí na vzniku a rozvoji diabetických komplikací, patří k novým uremickým toxinům a akumulují se v nervové tkáni při neurodegenerativních onemocněních. Je však třeba zmínit, že AGE vznikají i za fyziologického stavu organismu a s postupujícím věkem se jejich tvorba může mírně zvýšit.

AGE tvoří heterogenní skupinu látek, pro něž je charakteristická žlutohnědá pigmentace, fluorescence, schopnost vzájemného zesílení (crosslinking) a reakce s AGE-specifickým receptorem RAGE (existují ovšem i AGE nefluoreskující a AGE, které schopnost zesílení nemají, např. karboxymethyllysin). Struktura řady AGE není známa, ale některé z nich byly popsány jako modelové AGE a další jsou postupně charakterizovány. Mezi známé produkty pokročilé glykace patří např. karboxymethyllysin (CML), pentosidin, karboxyethyllysin (CEL), pyrrolin, imidazolon, glyoxal-lysin dimer (GOLD) a methyl-glyoxal-lysin dimer (MOLD).

Vznik AGE i jejich degradace je komplexní proces. AGE vznikají v organismu spontánně neenzymatickou glykací, tzv. Maillardovou reakcí. Neenzymatická glykace je pomalá reakce probíhající týdny až měsíce a má několik fází. Sled glykačních reakcí je zahájen reakcí aldehydové skupiny redukujícího cukru s ϵ -aminoskupinou lysinu v proteinu za vzniku Schiffovy báze, následně dochází k přesmyku na Amadoriho produkt a v pozdní fázi cyklickou kondenzací, dehydratací a oxidační reakcí vznikají produkty pokročilé glykace (AGE). Tato reakce je urychlena v přítomnosti oxidačního a karbonylového stresu – klíčovou úlohu zde hrají reaktivní karbonylové sloučeniny. Zdrojem exogenních prekursorů AGE je také potrava a tabákový kouř. AGE a jejich prekursory mohou být detoxifikovány enzymaticky prostřednictvím specifických reduktáz, degradovány makrofágy a vylučovány ledvinami, nebo se mohou akumulovat v tkáních. Snížená funkce ledvin stejně jako poškození funkce jater může vést k zvýšení jejich plazmatických koncentrací. Zmíněné mechanismy působí současně a určují tak výsledné množství AGE v organismu.

Tkáňová akumulace produktů pokročilé glykace má řadu toxických účinků. AGE mohou přímo poškodit strukturu extracelulární matrix, změnit její fyzikální a chemické vlastnosti, metabolismus a způsobit zesílení, blokovat působení oxidu dusnatého, indukovat lipoperoxidaci nebo působit přes specifické receptory. Bylo popsáno několik interakcí pro AGE, z nichž nejvýznamnější je RAGE (specifický receptor pro AGE). Po interakci AGE s receptorem je spuštěna signální kaskáda zahrnující p21^{ras}, MAP-kinázu a následuje aktivace nukleárního faktoru- κ B, což je také spojeno s oxidačním stresem. Následuje stimulace transkripce genů pro cytokiny a růstové faktory (TNF, IL-1, PDGF, IGF-1, interferon γ), adhezivní molekuly (ICAM-1, VCAM-1), stimulace buněčné proliferace, zvýšení vaskulární permeability, indukce migrace makrofágů atd. AGE–RAGE interakce a následný oxidační stres působí také poškození DNA.

AGE se spolupodílejí na vzniku a rozvoji diabetických komplikací – nefropatie, neuropatie, retinopatie a angiopatie. U pacientů se selháním ledvin léčených hemodialýzou přispívají k akceleraci aterosklerózy, poškození geometrie levé komory srdeční a rozvoji sekundární amyloidózy spojené s dialýzou. U pacientů léčených kontinuální ambulantní peritoneální dialýzou se spolupodílejí na poškození peritonea a selhání peritoneální dialýzy. AGE-proteiny se akumulují také v nervové tkáni u neurodegenerativních onemocnění – např. Alzheimerovy choroby a vaskulární demence, a význam těchto látek se předpokládá i u dalších onemocnění.

Stanovení produktů pokročilé glykace je velmi náročné vzhledem k heterogenitě této skupiny látek, obtížné přípravě standardů (nejsou komerčně dostupné), náročnosti některých analytických procedur a požadavkům na přístrojové vybavení. Existuje řada možností stanovení produktů pokročilé glykace: metoda imunochemická – ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) s použitím polyklonálních či monoklonálních protilátek, spektrofotometrie využívající charakteristického fluorescenčního spektra AGE, vysokoúčinná kapalinová chromatografie a hmotnostní spektrometrie (mass

spectrometry, MS), která je nejlepší, nejpresnější, ale také nejnáročnější metodou. Slouží také k charakterizaci nových AGE.

Produkty pokročilé oxidace proteinů

Produkty pokročilé oxidace proteinů (AOPP) byly poprvé popsány v roce 1996 Witko-Sarsatovou v plazmě hemodialyzovaných pacientů. Jedná se o proteiny poškozené oxidačním stresem, především vlivem chlorovaných oxidantů – kyseliny chlorné a chloraminů –, vznikající působením myeloperoxidázy a NADPH-oxidázy z aktivovaných neutrofilů.

Struktura produktů pokročilé oxidace proteinů není přesně známa. Bylo však prokázáno, že obsahují dityrosiny a karbonyly. AOPP existují ve dvou formách – jako LMW (low molecular weight), tvořené převážně oxidačně modifikovaným albuminem, a HMW (high molecular weight), tvořené agregáty oxidačně modifikovaného albuminu, vzniklémi pomocí disulfidových můstků a dityrosinových spojení.

AOPP mají řadu podobných charakteristik jako AGE-modifikované proteiny. Kromě účasti oxidačního stresu na jejich vzniku a poškození proteinů jsou to především jejich biologické vlastnosti – indukce prozánětlivých aktivit, adhezivních molekul a cytokinů, a to dokonce ve větší míře než AGE.

Proteiny poškozené oxidačním stresem mediovaným kyselinou chlornou byly detekovány v extracelulární matrix aterosklerotických plátů (Woods et al., 2003) a jejich plazmatické hladiny u dialyzovaných pacientů korelují s tloušťkou intimy–medie karotid. Významná je také jejich přítomnost v plazmě pacientů s nemocí koronárních tepen, kde korelují s pokročilostí choroby. AOPP mohou sloužit jako marker aktivity řady onemocnění, např. revmatoidní artritidy, ankylozující spondylitidy a Behčetovy choroby.

Stanovení produktů pokročilé oxidace proteinů je problematické vzhledem k tomu, že jejich struktura doposud nebyla přesně popsána. K detekci AOPP se proto využívá jejich charakteristické vlastnosti, tj. absorpčního maxima při 340 nm. K bližší charakterizaci těchto produktů je možno využít chromatografické metody (size exclusion chromatography) a elektroforézu na polyakrylamidovém gelu.

VLASTNÍ VÝZKUM

Náš výzkum v oblasti AGE a AOPP byl zaměřen na studium těchto látek různými analytickými metodami u vybraných onemocnění, především v nefrologii a diabetologii.

V analytické oblasti jsme se zaměřili na zavedení, modifikaci a vypracování nových metod – testování metody ELISA z hlediska možnosti jejího využití pro stanovení AGE jako celé skupiny látek, spektrofotometrické stanovení AGE, dělení fluoreskujících látek podle molekulové hmotnosti pomocí gelové permeační chromatografie (GPC), stanovení pentosidinu metodou HPLC, stanovení karboxymethyllysinu metodou ELISA a stanovení AOPP spektrofotometricky.

V nefrologické problematice jsme se zabývali pacienty s chronickým renálním selháním léčenými hemodialýzou a zaměřili jsme se na zjištění rozdílů v koncentraci AGE u hemodialyzovaných pacientů s diabetes mellitus a bez něj, a na bližší charakterizaci fluoreskujících látek, tj. jejich dělení podle molekulové hmotnosti, sledování změn koncentrace AGE a AOPP v průběhu dialýzy, určení vztahu AGE k nutričním parametřům a studium souvislosti AGE a AOPP s vybranými reaktanty akutní fáze.

Vliv snížené funkce ledvin a diabetes mellitus na hladinu produktů pokročilé glykoxidace

Sérové koncentrace AGE i AOPP jsou u pacientů s chronickým renálním selháním léčených hemodialýzou významně zvýšeny ($p < 0,001$). V závislosti na použité metodě je možné pozorovat 3,5–20krát vyšší sérové/plazmatické koncentrace ve srovnání se zdravými jedinci (závisí na použité metodě – je stanovena vždy jen část z velké heterogenní skupiny AGE). U jedné pacientky jsme naměřili dokonce 100krát vyšší pentosidin v séru ve srovnání se zdravými kontrolami. Pravděpodobnou příčinou tohoto enormního zvýšení je defekt glyoxylázy (enzym degradující reaktivní karbonylové sloučeniny, které jsou prekursory AGE).

Ve skupině hemodialyzovaných pacientů s diabetes mellitus jsou AGE ve srovnání s hemodialyzovanými nediabetiky signifikantně vyšší (rozdíl více než 20 %, $p < 0,001$) a jejich složení se liší. Rozdíl je dán především vyšším zastoupením nízkomolekulárních látek (studováno pomocí gelové permeační chromatografie). Toto zjištění podporuje hypotézu, že více vyjádřené komplikace a vyšší morbidita a mortalita hemodialyzovaných pacientů diabetiků by mohly být způsobeny větším oxidačním a karbonylovým stresem v přítomnosti diabetes mellitus.

Produkty pokročilé glykace a produkty pokročilé oxidace u hemodialyzovaných pacientů v průběhu dialýzy

V průběhu dialýzy pomocí low flux (nizkopropustných) membrán dochází k mírnému poklesu AGE (o 15 %), ale jejich odstraňování je vzhledem k převážné vazbě na proteiny nedostatečné. Lepšího odstranění je dle literárních údajů možné dosáhnout pomocí high flux (vysokopropustných) membrán nebo hemofiltrací. Snížení AGE jsme pozorovali především na začátku dialýzy, což vysvětlujeme clearancí volných AGE a adsorpcí AGE na membránu a její saturací v průběhu dialýzy.

Podle našich pozorování se AOPP v průběhu dialýzy pomocí low flux (nizkopropustných) membrán signifikantně snižují od 0. do 15. minuty dialýzy, ale pak se signifikantně zvyšují. Tyto změny AOPP během dialýzy vysvětlujeme několika mechanismy: odstraňování volných fragmentů oxidačně modifikovaných proteinů, adsorpce AOPP na dialyzační membránu a její saturace během dialýzy nebo tranzientní neutropenie během počáteční fáze dialýzy. Následný vzestup AOPP může být způsoben stimulací neutrofilů cestou aktivace komplementu nebo akcelerovaným oxidačním stresem. Podobně je v pozdější literatuře uváděn mírný vzestup jiného markeru oxidačního poškození proteinů – karbonylových skupin na proteinech (studie s high flux dialyzátory).

AOPP na rozdíl od AGE lépe popisují akutní oxidační stres během dialyzační léčby vzhledem k jejich rychlejším změnám během dialyzační procedury, zatímco AGE by tak mohly sloužit více jako marker chronického poškození.

Vztah produktů pokročilé glykace k vybraným parametřům zánětu

Naše studie popisuje současné zvýšení markerů glykoxidace (pentosidin, AGE a AOPP) a reaktantů akutní fáze (C-reaktivní protein, orosomukoid, fibrinogen a PAPP-A – pregnancy-associated plasma protein A, nový marker nestabilních ateromatózních plátů, potenciální reaktant akutní fáze) u hemodialyzovaných pacientů. Mikrozánět a oxidační a karbonylový stres pravděpodobně působí synergicky a spolupodílejí se na akceleraci aterosklerózy a tím vysoké kardiovaskulární morbiditě a mortalitě hemodialyzova-

ných pacientů. Proto jsou tyto látky také studovány v souvislosti s biokompatibilitou dialyzačních membrán a řada z nich je označována jako tzv. uremické toxiny.

AGE mohou modifikovat proteiny a působit přes specifické receptory, což má za následek produkci prozánětlivých cytokinů, růstových faktorů a adhezivních molekul. Navíc některé AGE (karboxymethyllysin) mohou vznikat v místě zánětu. V *in vitro* studiích je popisován jasný vztah mezi AGE a zánětem, avšak výsledky klinických studií se různí – u hemodialyzovaných pacientů, podobně jako v naší studii, většinou není nacházena signifikantní korelace mezi produkty pokročilé glykace a markery zánětu, nebo je korelace relativně slabá. Důvodem je komplexní reakce celého organismu – je nutné zvažovat také jiné zdroje zánětu než interakci AGE–RAGE (lipopolysacharid v dialyzátu, aktivace neutrofilů na dialyzační membráně) a jiné zdroje AGE, především vliv potravy. AGE významně souvisejí s nutričním stavem a mohou lépe popisovat dlouhodobé chronické poškození.

Produkty pokročilé oxidace proteinů mají ve srovnání s AGE těsnější vztah k zánětu – vznikají v souvislosti s aktivací neutrofilů a jsou významnějšími stimuly pro tvorbu prozánětlivých mediátorů. Korelují s některými cytokiny a s markery zánětu, jak jsme zjistili v naší studii. Nalezli jsme signifikantní korelaci s fibrinogenem ($r = 0,49$, $p < 0,05$), orosomukoidem ($r = 0,39$, $p < 0,05$) a PAPP-A – pregnancy associated plasma protein A ($r = 0,46$, $p < 0,05$), novým markerem nestabilních ateromatózních plátů a potenciálním reaktantem akutní fáze.

V naší práci prioritně popisujeme zvýšení PAPP-A u hemodialyzovaných pacientů. PAPP-A je glykoprotein s proteinázovou aktivitou štěpící IGFBP-4 (vazebný protein pro růstový faktor 4 podobný inzulinu – insulin-like growth factor binding protein-4), IGFBP-5 a IGFBP-2, identifikovaný původně v plazmě těhotných žen a používaný ke screeningu Downova syndromu v 1. trimestru těhotenství (medián v 9.–13. týdnu těhotenství 0,71–2,83 U/l). Nedávná práce popisuje zvýšení sérových/plazmatických koncentrací u nestabilní anginy pectoris (medián 14,9 mIU/l, range 6,3–63,4 mIU/l) a akutního infarktu myokardu (medián 20,6 mIU/l, range 9,2–46,6 mIU/l) – hodnoty podobné jako u dialyzovaných pacientů. Navíc byl PAPP-A prokázán v erodovaných a rupturovaných aterosklerotických plátech, přičemž jeho exprese ve stabilních plátech byla minimální. Význam PAPP-A v kardiologii a nefrologii je předmětem našeho dalšího studia.

Můžeme shrnout, že výsledky klinicko-biochemických vyšetření se mohou lišit od studií *in vitro*, vzhledem ke komplexní reakci celého organismu. AOPP jsou těsněji spjaty se zánětem a představují akutnější marker (těž změny v průběhu dialýzy), zatímco AGE mohou lépe popisovat dlouhodobé chronické poškození.

ZÁVĚR

Prokázali jsme využití stanovení parametrů glykace a oxidace – AGE a AOPP – u některých onemocnění a jejich komplikací. AOPP jako marker čistě oxidačního poškození popisují akutnější změny, zatímco AGE vzniklé vlivem neenzymatické glykace a oxidačního a karbonylového stresu mohou sloužit jako marker chronického poškození, závislý na nutričním stavu.

Ukazuje se tak, že produkty pokročilé glykace a oxidace, jejich vznik, metabolismus a biologické účinky jsou ovlivněny multifaktoriálně a je nutné se jimi komplexně zabývat, aby bylo možné správně preventivně a terapeuticky zasáhnout.

GENETICKÉ VARIANTY CYSTATHIONIN β -SYNTÁZY JAKO PŘÍČINA LIDSKÝCH ONEMOCNĚNÍ



Doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice,
Ústav dědičných metabolických poruch*



SOUHRN

Homocystein je neesenciální sirná aminokyselina, která již několik dekád přitahuje pozornost odborné veřejnosti jako možný rizikový faktor pro komplexní nemoci. Studium klíčového genu v metabolismu homocysteinu, cystathionin β -syntázy (CBS), je předmětem této habilitační přednášky.

Gen pro CBS a jeho běžné varianty. Gen je umístěn na 21. chromosomu, obsahuje 23 exonů, je veliký 28 kbp a obsahuje promotor typický pro tkáňově specificky exprimované geny. V genu je přítomna řada nepatogenních variant; pro 13 polymorfismů typu SNP, VNTR i STR byla stanovena frekvence jednotlivých alel.

Patogenní mutace v genu pro CBS a jejich důsledky. V souboru 19 českých a slovenských pacientů s deficitem CBS se klinický průběh nemoci neliší od průměrného literárně popsaného fenotypu; u pacientů jsme našli celkem 12 mutací, které vedou k agregaci a nestabilitě mutantního enzymu. V anonymních novorozeneckých vzorcích jsme určili frekvenci heterozygotů pro vybrané mutace a dopočítali jsme předpokládaný výskyt homozygotů (1 : 15 000), který je 23krát vyšší, než je incidence diagnostikovaných pacientů (1 : 349 000). U 16 pacientů ze zahraničí jsme našli 13 nových mutací, ve velké multicentrické studii (92 mutací na 310 alelách) jsme analyzovali možné mechanismy mutagenese a korelovali jsme genotyp s fenotypem.

Běžné varianty v genu pro CBS a riziko cévních nemocí. Ve třech studiích jsme vyšetřili frekvenci běžné varianty [c.833T > C; 844ins68] mezi kontrolami na straně jedné a pacienty s ICHDK, juvenilní hypertenzí a s ICHS na straně druhé. První dvě studie neprokázaly statisticky významnou asociaci, třetí studie ukázala významný protektivní efekt variantní alely (OR 0,56; 95% interval spolehlivosti 0,35–0,90) a její možný zesilující vliv na transsulfuraci homocysteinu.

Závěr. Práce přinesla poznatky o struktuře a alelické variabilitě genu pro CBS a o některých funkčních dopadech těchto variant na lidská onemocnění.

SUMMARY

Homocysteine is a non-essential sulfur amino acid, which is attracting the attention of medical community as possible risk factor for complex diseases. The habilitation lecture is aimed at studies of the cystathionine β -synthase (CBS) gene – the key gene in homocysteine metabolism.

CBS gene and its common variants. The gene is located at chromosome 21, spans 28 kbp, contains 23 exons and a promotor typical for tissue-specific genes. The CBS gene contains a number of non-pathogenic variants; frequency of variant alleles has been determined for 13 SNP, VNTR or STR loci.

Pathogenic mutations in the CBS gene and their consequences. Clinical picture of 19 Czech and Slovak patients suffering from CBS deficiency was similar to the published phenotype; these patients carried 12 different mutations, which all led to mutant enzyme instability and aggregation. We determined frequency of heterozygotes for selected mutations in anonymous newborn screening cards and calculated the expected frequency of homozygotes (1:15,000), which was 23 $\times$ higher than incidence of ascertained patients (1:349,000). In 16 patients from abroad we have detected 13 novel mutations, and in a large multicentric study (92 mutations at 310 alleles) we analyzed mutagenic mechanisms and genotype-phenotype correlations.

Common CBS variants and the risk of vascular disease. We determined the frequency of a common [c.833T > C; 844ins68] CBS variant in groups of patients with peripheral occlusive arterial disease, juvenile hypertension and coronary artery disease, and in controls. Although the two former studies did not reveal any statically significant associations, the latter study demonstrated a significant protective effect of the variant allele (OR 0.56; 95% CI 0.35–0.90) and its possible enhancing effect on homocysteine transsulfuration rate.

Conclusion. Our work has expanded the knowledge of CBS gene structure, its allelic variability and of different functional consequences of these variants.

ÚVOD

Historické souvislosti

Homocystein (Hcy) je přirozeně se vyskytující neproteinová sirná aminokyselina, která u savců vzniká v methioninovém cyklu. Homocystein byl poprvé syntetizován Butzem a de Vigneaudem v roce 1932 a jeho přítomnost v tělesných tekutinách u člověka byla popsána až po třech desetiletích u pacientů s mentální retardací a poruchami pojiva a cév. V roce 1964 prokázal H. Mudd u těchto pacientů s homocystinurií deficit cystathionin β -syntázy (CBS) a o dvě desetiletí později byl tentýž autor schopen analyzovat klinický obraz choroby u více než 600 pacientů z celého světa. Dalším milníkem v pochopení této choroby byl popis mRNA a následně i genu pro cystathionin β -syntázu v 90. letech 20. století, který otevřel pole pro studium patogenních mutací v genu pro CBS.

Homocystein je však látka, která poutá pozornost mnohem rozsáhlejší vědecké komunity než jen biochemických genetiků, a to především pro jeho možnou úlohu při vzniku komplexních nemocí. V roce 1969 publikoval K. McCully článek, v němž srovnával patologicko anatomické projevy dvou typů poruch metabolismu homocysteinu (a to jak deficitu CBS, tak poruchy ve zpětné remethylaci) a postuloval hypotézu, že

homocystein je látkou zodpovědnou za vznik cévních komplikací u různých typů homocystinurie a že by mohl být i příčinou aterosklerózy v běžné populaci. Homocystein v krvi byl v té době prokazatelný pouze u neléčených pacientů s homocystinurií, ale nebyl detekovatelný v tělesných tekutinách zdravých osob, ani osob s různými formami aterosklerózy. Hypotézu o možném aterogenním a trombogenním účinku homocysteinu podpořil McCully při analýze experimentální hyperhomocysteinémie u pokusných zvířat. Průlom do diskuse o patogenitě mírně zvýšených koncentrací homocysteinu přinesla až v roce 1976 práce D. Wilckena a spol., kterým se podařilo u pacientů s koronární aterosklerózou prokázat přítomnost vyšších koncentrací homocysteinu než u kontrol. Vypracování jednoduché HPLC techniky v roce 1987 a následné zavedení komerčních metod otevřelo cestu pro masové vyšetřování homocysteinu u pacientů s různými formami aterosklerózy, porodnických komplikací, demence a psychiatrických poruch, proliferativních onemocnění a mnoha dalších nemocí.

Po počátečním nadšení z konce 80. a začátku 90. let, že byl nalezen »nový cholesterol«, se ve druhé polovině 90. let dostavilo vystřízlivění a skepse, že by homocystein mohl být pouze doprovodným jevem studovaných chorob (tedy markerem nemoci) a že by nemusel hrát žádnou podstatnou úlohu v patogenезi těchto komplexních nemocí. Současné názory na úlohu homocysteinu při vzniku aterosklerózy jsou kontroverzní, převažujícím názorem je však přesvědčení o patogenitě zvýšených koncentrací homocysteinu a jejich možné úloze při vzniku komplexních nemocí.

Hyperhomocysteinémie u lidských onemocnění

Koncentrace celkového homocysteinu (tHcy) v plazmě závisí na poměru mezi jeho produkcí a eliminací. Homocystein je vytvářen jako vedlejší produkt při transmethylačních reakcích, jeho eliminace se uskutečňuje především ve dvou metabolických drahách – ireverzibilní transsulfurací, nebo zpětnou přeměnou na methionin v remethylační cestě; vylučování močí je kvantitativně málo významné. Zvýšená koncentrace homocysteinu může být důsledkem jeho nadprodukce např. u proliferativních a zánětlivých onemocnění, jako jsou revmatoidní artritida, lupus či psoriáza; někteří autoři předpokládají, že takovýmto možným příkladem hyperhomocysteinémie je zvýšená tvorba homocysteinu při generalizovaném zánětu cévní stěny u aterosklerózy. Dalším důvodem zvýšených hladin homocysteinu je jeho snížené odbourávání v remethylační či transsulfurační cestě, tento typ hyperhomocysteinémie může být způsoben alelickými variantami v příslušných genech, ale také sníženou funkcí ledvin či lékovými interференциemi. Hyperhomocysteinémie obvykle vzniká jako výsledek komplexních interakcí mezi faktory endogenními a exogenními.

Jako horní hranice doporučeného či fyziologického rozmezí uvádějí různí autoři koncentrace mezi 9 $\mu\text{mol/l}$ až 15 $\mu\text{mol/l}$, hladiny tHcy nad referenční rozmezí jsou nazývány hyperhomocysteinémií (HHC), klasifikace hyperhomocysteinémie na základě dosažené koncentrace na mírnou (do 30 $\mu\text{mol/l}$), střední (30–100 $\mu\text{mol/l}$) a těžkou (nad 100 $\mu\text{mol/l}$) byla zavedena Kangem v roce 1992 a je stále užívána.

Těžká hyperhomocysteinémie (nad 100 $\mu\text{mol/l}$) je nejvzácnějším typem HHC a nachází se téměř výlučně u pacientů se závažnými mutacemi v genech methioninového cyklu či začátku transsulfurační cesty, méně často lze těžkou HHC pozorovat u pacientů v pokročilých stadiích renálního selhání nebo u osob s výrazným vitamínovým deficitem. Diferenciálně diagnostickou rozvahu lze uskutečnit až po podrobnějším vyšetření metabolismu sirných aminokyselin a jejich derivátů, konečné ověře-

ní diagnózy lze zajistit metodami enzymologickými a molekulárně genetickými. Těžká hyperhomocysteinémie zvyšuje podstatným (ačkoliv dosud nekvantifikovaným) způsobem riziko vzniku venózních i arteriálních trombóz s event. embolizací a téměř vždy vyžaduje léčebná opatření.

Mírná hyperhomocysteinémie (do 30 $\mu\text{mol/l}$) je naproti tomu nejběžnějším typem HHC a je nejčastěji způsobena exogenními faktory, jako je mírný deficit příslušných vitaminů či podávání léků interferujících s metabolismem homocysteinu nebo vitaminů, a dále endogenními vlivy, jako jsou počínající renální insuficience či proliferativní nemoci. Dalším významným endogenním faktorem, který vede k mírné HHC, je nosičství běžných funkčně významných genetických variant (především homozygocie pro variantu c.677C > T v genu pro MTHFR). Diferenciální diagnostika by měla zahrnovat rozbor anamnézy, vyšetření vitaminů, renálních funkcí a přítomnosti homozygocie pro variantu c.677C > T v genu pro MTHFR. Názory na léčbu mírné HHC a především na její efektivitu jsou nejednotné, odpověď se očekává až od souhrnné metaanalýzy několika probíhajících velkých multicentrických studií, v nichž se mírná HHC léčí podáváním vitaminů.

Střední HHC (30–100 $\mu\text{mol/l}$) je etiologicky nejsložitější a může být způsobena všemi výše zmíněnými faktory, zejména však těžkými vitaminovými deficity, pokračilou fází renální insuficience a nosičstvím závažných alelických variant (většinou jejich mírnější formou s atypickým průběhem). Diferenciální diagnostika vyžaduje velmi podrobné vyšetření, léčebné postupy se vzhledem k předpokládanému vyššímu riziku trombóz řídí dle zjištěné etiologie.

Genetické varianty jako příčina hyperhomocysteinémie

Variety v genech, kódujících enzymy methionového cyklu, transsulfurační či remethylační cesty, a enzymy podílející se na metabolismu vitaminových kofaktorů mohou být funkčně neutrální nebo se mohou projevit změnou genovou dávkou plně funkčního enzymu či jeho změnou katalytickou aktivitou v důsledku abnormální struktury enzymu.

Rozsah alelické variability v genech remethylační a transsulfurační dráhy není dosud plně prozkoumán. Ve workshopu na 4. mezinárodním sympóziu o metabolismu homocysteinu v roce 2003 byl odhadnut počet genů, které mohou ovlivnit metabolismu homocysteinu, přibližně na 40 a celkový počet možných variantních alel na 10^4 – 10^5 . Ve veřejných databázích (např. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>) jsou dostupné informace o řadě genetických variant, u drtivé většiny těchto variant není jejich efekt na aktivitu enzymu známý. V malé skupině funkčně významných variant je nejznámější polymorfismus c.677C > T v genu pro methylenetetrahydrofolát reduktázu (MTHFR); v této tzv. termolabilní variantě vede záměna alaninu 222 za valin ke konformační změně enzymu a volnější vazbě kofaktoru FAD. Homozygocie pro tento polymorfismus se vyskytuje u 10 % bělošských populací, u nositelů zvyšuje celkový homocystein v plazmě přibližně o 2–3 $\mu\text{mol/l}$ a snižuje zásoby folátů. Velké množství studií zkoumalo asociaci této varianty s lidskými onemocněními, jasné závěry přinesly teprve rozsáhlé metaanalýzy, a to pouze v případě asociace s kardiovaskulárními onemocněními a s onemocněními nádorovými. Obecně lze konstatovat, že klinický efekt homozygocie pro MTHFR variantu c.677C > T je mírně rizikový, s odds ratiem (OR) okolo 1,2–1,5 pro koronární aterosklerózu, mozkovou mrtvici či tromboembolickou nemoc a zároveň mírně protektivní proti některým typům nádorů či leukémií s OR mezi 0,3 až 0,7. Den Heijger prezentoval odhad heritability homocysteinu a zjistil, že cca 40 % variability

v plazmatické koncentraci tHcy je způsobeno geneticky, přičemž MTHFR varianta vysvětluje jen malou část této variability. Lze tedy důvodně předpokládat, že v současnosti neznáme další důležité a běžně se vyskytující genetické varianty, které ovlivňují metabolismus sirmé aminokyseliny homocysteinu.

U člověka bylo dosud popsáno 8 nemocí způsobených těžkým enzymovým deficitem v jednotlivých krocích methioninového cyklu či transsulfurační dráhy, tj. deficitem methioninadenosyltransferázy I/III, glycin-N-methyltransferázy, S-adenosylhomocystein hydrolázy, cystathionin β -syntázy, cystathion γ -lyázy, methionin syntázy, methionin syntáza-reduktázy, methylenetetrahydrofolát-reduktázy. U všech těchto chorob byly analyzovány příslušné geny a byly zde nalezeny patogenní mutace.

Cystathionin β -syntáza a její deficit u člověka

Cystathionin β -syntáza je cytosolový enzym ze skupiny hydrolyáz, který katalyzuje první krok v transsulfurační cestě homocysteinu. V lidských tkáních se CBS vyskytuje jako tetramer složený z podjednotek o velikosti 63 kDa. Enzym není glykosylovaný, o dalších možných posttranslačních modifikacích CBS nejsou žádné literární údaje. Ačkoliv se CBS považuje za cytosolový enzym, starší práce se zmiňují o možné jaderné lokalizaci, pozorování z naší laboratoře ukazují na možnost transportu CBS do endoplazmatického retikula.

Cystathionin β -syntáza je enzym s modulární strukturou, regulační část enzymu s autoinhibiční aktivitou se nachází v karboxyterminální oblasti, katalyticky aktivní část je přítomna ve střední části molekuly mezi aminokyselinami 41–409. Toto aktivní jádro enzymu je vysoce evolučně konzervované, dokazuje to jak vysoká homologie s enzymy typu cysteinových syntetáz u rostlin a bakterií (např. 52 % u O-acetylserinlyázy), tak 90 % homologie s krysí a myší CBS. Každá podjednotka CBS obsahuje po jedné molekule kovalentně vázaného pyridoxinu (jako kofaktoru nezbytného pro katalýzu) a hemu (s několika postulovanými funkcemi), dále váže substráty reakce (homocystein a serin) a alosterický aktivátor S-adenosylmethionin.

Deficitní aktivita CBS byla popsána před čtyřiceti lety H. Muddem jako příčina lidského onemocnění nazývaného homocystinurie (MIM 236200). Klasická forma onemocnění se manifestuje během dětství postižením tří hlavních systémů: pojivové tkáně (luxace čoček, marfanoidní habitus a osteoporóza), cévního systému (tromboembolie v arteriálním i žilním řečišti, okluze arterií z postižení cévní stěny) a CNS (různá tíže mentální retardace, epilepsie, psychózy). Přibližně polovina pacientů s klasickou homocystinurií trpí těžší pyridoxin-nonresponzivní variantou, druhá polovina pacientů je postižena mírněji a reaguje biochemicky příznivě na podávání vysokých farmakologických dávek pyridoxinu. Incidence klasické formy deficitu CBS se pohybuje v různých populacích v rozmezí 1 : 60 000 až 1 : 355 000. V uplynulé dekádě se začaly objevovat zprávy o variantních mírných formách nemoci, které byly diagnostikovány především u dospělých pacientů s tromboemboliemi a bez postižení pojiva či CNS. Předpokládá se, že u řady takovýchto pacientů není diagnóza deficitu CBS stanovena a že skutečný výskyt homocystinurie je v bělošských populacích několikanásobně vyšší, než se nyní uvádí. Molekulárně epidemiologické studie tuto hypotézu podporují, neboť incidence deficitu CBS zjištěná selektivním biochemickým screeningem pacientů s různými typy příznaků je 4–10krát nižší než incidence vypočtená z frekvence heterozygotů pro nejčastější patogenní mutaci c.833T > C. Onemocnění se nyní léčí podáváním farmakologických dávek pyridoxinu, dietou chudou na methionin a obohacenou cysteinem, dále též podáváním β inu.

VLASTNÍ PRÁCE

V následující části kapitoly komentuji vybrané práce o fyziologii a patologii genu pro CBS, na jejichž vypracování jsem se podílel jako hlavní autor, spoluautor či dopisující autor řešitelského týmu. Hlavní výsledky prací uvádím bodově pro tři různé oblasti (tj. fyziologie genu, patologie genu u deficitu cystathionin β -syntázy a vztah genetických variant ke komplexním nemocem).

Organizace genu pro CBS a vybrané fyziologické aspekty

1. Na počátku 90. let jsme popsali mRNA pro CBS o velikosti 2554 bp a její kódující část s velikostí 1653 bp (551 aa), alternativní sestřih v 3' nepřekládané oblasti, a dále jsme popsali i tři nové polymorfismy typu SNP včetně určení jejich frekvence u bělochů.
2. Ještě v době před publikací sekvence celého lidského genomu jsme určili sekvenaci strukturu genu pro CBS (vč. 5 kbp promotoru). Gen o velikosti 28 046 bp obsahuje 23 exonů, z nichž 16 obsahuje kódující sekvenci. Pomocí *in silico* technik jsme předpověděli 5 potencionálních repetitivních elementů, v reprezentativním vzorku české populace jsme prokázali polymorfii u 3 repetitivních elementů a stanovili jsme frekvenci variantních alel v české populaci. Součástí práce byla i funkční analýza promotoru pro CBS gen.
3. V kultivovaných lidských buňkách a v kvasinkách jsme prokázali, že promotor genu pro CBS je aktivován při proliferaci buněk redox-senzitivním mechanismem, který ovlivňuje efektivitu transkripčního faktoru Sp1.
4. Ve spolupráci s laboratoří prof. Kocha jsme analyzovali přítomnost polymorfismů v distální části genu pro CBS a za použití 5 polymorfismů jsme našli celkem 4 haplotypy.

Spektrum a frekvence závažných mutací v genu pro CBS a jejich funkční dopady na molekulové, biochemické a klinické úrovni

1. V souboru 16 nepříbuzných pacientů původu amerického, italského a polského jsem se podílel na strukturální a funkční analýze mutací v genu pro CBS. V těchto studiích jsme se spolupracovníky našli celkem 22 mutací, z toho bylo 13 nových. Funkční dopad mutací na enzymovou aktivitu jsme analyzovali pro 17 mutací za použití mnou vypracovaného expresního systému. U těchto mutant se zbytkové aktivity obvykle pohybovaly v rozmezí 0–2 %, u několika mutant v regulační oblasti enzymu byly aktivity výrazně vyšší (50–100 %).
2. V uceleném souboru 19 nepříbuzných českých a slovenských pacientů s deficitem CBS jsme sekvenováním genu a mRNA pro CBS vyhledávali pathogenní mutace. V této studii jsme zjistili celkem 12 mutací, dvěma nejčastějšími mutacemi v naší populaci je c.833T > C (I278T) a IVS11-2 A > C (del exon 12). U čtyř mutantních alel s predikovaným předčasným terminačním kodonem jsme analyzovali stabilitu mRNA; dvě z těchto čtyř mutantních mRNA nejsou mechanismem »nonsense-mediated decay« odbourány, přestože splňují teoreticky požadovaná kritéria. Při analýze třinácti linií kultivovaných fibroblastů (reprezentujících celkem 10 různých mutací) jsme prokázali tvorbu agregátů mutantní CBS a absenci tetrameru. Při expresi pěti modelových mutant v *E. coli* jsme prokázali rovněž tvorbu agregátů a absenci hemu v těchto agregátech. Tato pozorování jsou základem hypotézy, že deficit CBS může být konformační nemocí.

3. Ve velké mezinárodní souhrnné práci jsme shromáždili údaje o celosvětovém výskytu mutací v genu pro CBS (celkem 92 mutací na 310 alelách), analyzovali jsme možné mechanismy jejich vzniku, možné funkční koreláty nerovnoměrného rozložení mutací v genu a zastoupení mutací v různých populacích. U vybrané skupiny pacientů jsme navíc analyzovali vztah genotypu a fenotypu, zejména s ohledem na pyridoxin-responzivitou.
4. V epidemiologické studii jsme vyšetřili frekvenci heterozygocie pro dvě nejběžnější české mutace c.833T > C a IVS11-2 A > C v souboru 1284 novorozenců, a dále pro nově popsanou mutaci c.1105C > T. Z frekvence heterozygotů jsme v modelu předpověděli incidenci homocystinurie v české populaci na 1 : 15 000, což je výskyt 23krát vyšší, než je incidence pacientů diagnostikovaných biochemickým screeningem.
5. U českých pacientů s deficitem CBS jsme prokázali, že neléčená homocystinurie vede k akumulaci S-adenosylhomocysteinu (medián u pacientů 246 nmol/l proti 99 nmol/l horního referenčního rozmezí kontrol) a depleci cystathioninu, cysteinu a serinu v plazmě. Tyto nálezy rozšířily naše znalosti o vzdálených biochemických dopadech deficitu CBS a mohou mít potenciální význam pro zlepšení léčby této nemoci.
6. Se spolupracovníky jsme analyzovali klinický obraz u 19 českých a slovenských pacientů s deficitem CBS. Klinický obraz a podíl pyridoxin-responzivních pacientů jsou v těchto dvou populacích v zásadě totožné s nálezy v souboru 629 pacientů z celého světa. Poměrně dlouhá prodleva mezi průměrným věkem manifestace nemoci v 7,5 roku a průměrným věkem stanovení diagnózy v 11,5 roku ukazuje, že toto onemocnění není v klinické praxi včas rozpoznáváno.

VLIV ALELICKÝCH VARIANT V GENU PRO CBS NA VZNIK NEMOCÍ KARDIOVASKULÁRNÍHO SYSTÉMU

1. U čtyř pacientů, kteří byli původně v literatuře uvedeni jako heterozygoti pro deficit CBS, jsme pomocí expresního systému a sekvenování DNA neprokázali heterozygocii pro patogenní mutace v kódující oblasti cDNA pro CBS a hypotézu o heterozygocii pro deficit CBS coby příčině předčasné aterosklerózy jsme nepodpořili. Heterozygocii pro pět běžných patogenních mutací jsme neprokázali ani u 296 českých pacientů s aterosklerózou.
2. Polymorfismus [c.833T > C; 844ins68] nebyl ve dvou souborech pacientů asociován ani s rizikem aterosklerózy periferních tepen, ani s rizikem esenciální hypertenze.
3. V rozsáhlejší epidemiologické studii (278 pacientů a 591 kontrol) jsme prokázali, že polymorfismus [c.833T > C; 844ins68] je asociován se sníženým rizikem koronární aterosklerózy s odds ratiem 0,56 (95% interval spolehlivosti 0,35–0,90). V biochemické části studie jsme objasnili možný mechanismus tohoto protektivního efektu, neboť u nosičů polymorfismu jsme našli známky účinnější transsulfurace homocysteinu a změny v koncentracích S-adenosylmethioninu a S-adenosylhomocysteinu, které by mohly vést ze zlepšenému methylačnímu statutu.

ZÁVĚR

Práce autora přispěly k objasnění normální struktury a organizaci genu pro CBS, variability polymorfismů v tomto genu, spektra závažných mutací v různých populacích, funkčních dopadů závažných mutací na úrovni RNA, proteinu i metabolitů i na klinické úrovni, a konečně úlohy běžných polymorfismů v CBS při vzniku komplexních nemocí.

VÝVOJOVÉ A BIOCHEMICKÉ ASPEKTY HYPERKINETICKÉ PORUCHY (ADHD)



Doc. MUDr. Ivo Pačt, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, Psychiatrická klinika*



SUMMARY

ADHD (attention hyperactivity disorder) is polygenetic disorder with various candidate genes. At this time more than thirty dopaminergic, noradrenergic, serotonergic and GABA-ergic genes are known. The most important candidate genes are: DRD4, DAT1, DR2A, DBH, MAO, 5HTT, 5HTR. Genetic influences are modifying by prenatal and perinatal factors (phenocopy). Behavior and biochemical markers are changed by the development (Pačt et al., 2004).

Results of our theoretical studies are in the first part of our paper. Suzuki et al., 1990, described developmental changes of DBH activity in cerebrospinal fluid in children, adolescents and adults. DBH activity represents noradrenergic developmental marker. Serum DBH activity is mainly genetically determined and as connected to abnormal regulation of hypothalamo-pituitary-adrenal functions. Hypothalamo-pituitary-adrenal functions modify expression of DBH protein, which alters the ratio of dopamine and norepinephrine in noradrenergic neurons (Cubells et al., 2002). The dopamine- β -hydroxylase in serum originates from the sympathetic nerves, where it, as well as in cerebrospinal fluid, released **only** from the independent noradrenergic neurons (Lewis et al., 1992) of the brain. Fujita et al., 1982 and Suzuki et al., 1990 found increasing activity dependently on age in cerebrospinal fluid in humans corresponding to changes in plasma. Lewis et al., 1992 described in primates **noradrenergic DBH neurons in the cortex**. Dopaminergic neurons do not contain DBH. The level of DBH in the plasma and CSF is a stable, heritable trait, and the DBH gene has been shown to be the major locus influencing this level. (Cubells et al., 2000, Wigg et al., 2002) The alleles of several polymorphisms identified for the DBH locus have been found to be associated with serum DBH levels, suggesting that these alleles are in linkage disequilibrium with a DNA variant controlling the function or expression of this gene.

In children and adolescents, in our study (250 healthy subjects) serum dopamine- β -hydroxylase (DBH) activity ($23,9 \pm 5,2$ to $57,1 \pm 17,5$ $\mu\text{mol/min/ml}$) increases with the age between 3–10, later it decreases approximately in the age of 10–14 years. In the age of 15 to 40 years DBH level is stable and decreases again after the age of 60. Our study described decreasing of DBH activity in adolescents in the age of 10–14 years in the studied sample of healthy persons.

Experimental model – rats (200 animals, 5–120 days old, race Wistar) show the same trend of enzymatic activity, similarly as in humans. DBH activity in rats is between $0,85 \pm 0,1$ to $2,8 \pm 0,05$ $\mu\text{mol/min/ml}$. This activity is highest in 5 days old rats; it decreases till the age of 14 and increases mainly in 14 to 35 days old animals. Decreasing of DBH activity in rats between 35 to 40 days is statistically significant and corresponds to decreasing of DBH activity in adolescent humans (10–14 years). Adult age (90–120 days) shows stability of DBH activity. Results corresponded with results in other experimental models, contrary to some previous papers.

DBH activity intermediately decreases in 10–14 years old children. This decreasing corresponds to intermediate developmental changes of electrophysiological parameters (decreasing EEG activity in healthy adolescents occurs in 10–14 years old children). Pubescence is coupled with intermediate decreasing of DBH activity in man and also in experimental animals in the period of prominent psychological and physiological changes.

Our MRI study of basal ganglia demonstrated in 6–10 year old children (13 ADHD children and controls) reverse asymmetry in globus pallidus.

Hypoxic postnatal etiology was studying in this paper on animal model – rat in hypobaric chamber and its influence on plasma DBH activity. DBH activity after born is highest and very young animals are very sensitive for hypoxia result in low DBH activity. 21-day-old animals are most vulnerable for hypoxia.

Genetic determination of DBH activity is one of the main influencing factors its activity. Acquired neurobiological or psychosocial risk factors could cause the same or similar abnormality. (Gerring et al., 1998) In response to the stimulation of sympathetic nerves and the adrenal gland, DBH releases with catecholamines. This enzyme activity **increases** in the blood of experimental animals and in humans under stress (Weinshilboum et al., 1973b). Changes of DBH activity (**decreasing**) were found in several psychiatric diseases such as infantile autisms, attention hyperactivity disorder, psychotic depression, DBH activity is decreases in child and depression, too. (Koudelová et al., 1989, Paclt et al., 1997, Robinson et al., 2001, Wood et al., 2002, Cubells et al., 2002, Wigg et al., 2002, Paclt et al. 2004). **This paper summarized our own results in this field.**

Part two summarize our dates from longitudinal 10 month, double blind placebo control study in 24 ADHD children treated by amphetaminil (dopaminergic and noradrenergic agonist). Amphetaminil normalized many symptoms of ADHD (attention, hyperactivity, impulsivity, motor functions, rhythm sense, short time memory a differentiation and morphodifferentiation). Unstable affectivity or headache eventually abdomen pain was seemed in some children. Appetite was decrease in some another children. Rarely was decreased height, but growth was not change.

ÚVOD

Hyperkinetický syndrom ADHD postihuje nejméně 4–6 % dětské populace (Pacit et al., 1998). Tato porucha představuje nejčastěji diagnostikovanou jednotku v dětské a dorostové psychiatrii. Základní příznaky jsou **porucha pozornosti, hyperaktivita a impulsivita**. Porucha nepostihuje pouze děti samotné, ale negativně ovlivňuje také jejich sociální interakce v rodině i ve škole. Neléčená hyperkinetická porucha je závažným rizikovým faktorem vzhledem k častému výskytu uvedené **poruchy v adolescenci a částečně také v dospělosti** (1/3 pacientů má závažné obtíže také v dospělém věku). Diagnóza ADHD je rizikovým faktorem také pro vznik **depresivního syndromu, anxiózního syndromu, poruch chování a drogové závislosti a delikvence**.

V etiologii hyperkinetické poruchy se uplatňují zejména **vlivy psychosociální, genetické, vývojové a perinatální**, popř. jejich kombinace. V patogenezi poruchy hraje zásadní význam ovlivnění **transmitterových systémů** (tab. 1), ať již je původ těchto změn genetický, perinatální, nebo vývojový.

Tab. 1. Vývoj neurotransmitterových systémů a nejdůležitější kandidátské geny

Systém	Změna aktivity s věkem	Jiné změny s věkem	Nejdůležitější kandidátské geny
Dopaminerní	pokles	pokles CSF HVA pokles D1, D2-receptorů	DRD4, DAT1, MAO
Noradrenergí	vzestup	sérum NE vzrůstá sérum DBH vzrůstá MAO v krevních destičkách klesá	DR2A, DBH, MAO
Serotoninerní	nezměněn(?)	CSF 5-HIAA se nemění mozková 5-HIAA se nemění krevní 5-HT klesá	5HTT, 5HTR
Cholinerní	vzestup(?)	mozková CAT vzrůstá	
GABAerní	pokles(?)	mozková GAD klesá (po 1. roce života)	

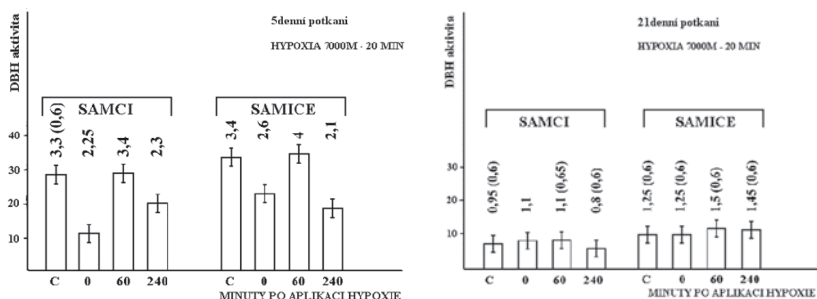
CAT = cholinacetyltransferáza, CSF = mozkomíšní mok, d = dopamin, DBH = dopamin- β -hydroxyláza, GABA = γ -aminomáselná kyselina, GAD = glutamátdekarboxyláza, HVA = homovanilová kyselina, 5-HT = serotonin, 5-HIAA = kyselina 5-hydroxyindolactová, MAO = monoaminoxidáza, NE = noradrenalin, DRD4 = dopaminový receptorový gen 4, DAT1 = dopaminový transportní gen 1, MAO = gen pro monoaminooxidázu, DR2A = dopaminový receptorový gen, 2ADBH = gen pro dopamin- β -hydroxylázu, 5HTT = gen pro serotoninový transportér, 5HTR = gen pro serotoninový receptor, GABA A3, GABA B3 = gen pro GABA A3 a gen pro GABA B3

VÝSLEDKY

Autor se spolupracovníky se zaměřili na studium ovlivnění biochemického periferního markeru noradrenergí transmise – dopamin- β -hydroxylázy (DBH) – vlivy vývojovými a perinatálními u zdravých jedinců a u jednotlivých psychických poruch. Pro-

blematiku studovali na experimentálních modelech, u zdravých dětí, adolescentů a dospělých v normě a patologii. V mozku primátů byly prokázány četné samostatné noradrenergní neurony ve frontálních a prefrontálních oblastech (Lewis et al., 1992). Aktivita DBH v plazmě a mozkomíšním moku vykazují výrazné korelace (Suzuki et al., 1990). V literatuře byl rovněž popsán polymorfismus B1/B2 genu DBH u ADHD (Wigg et al., 2002) – srov. tab. 1.

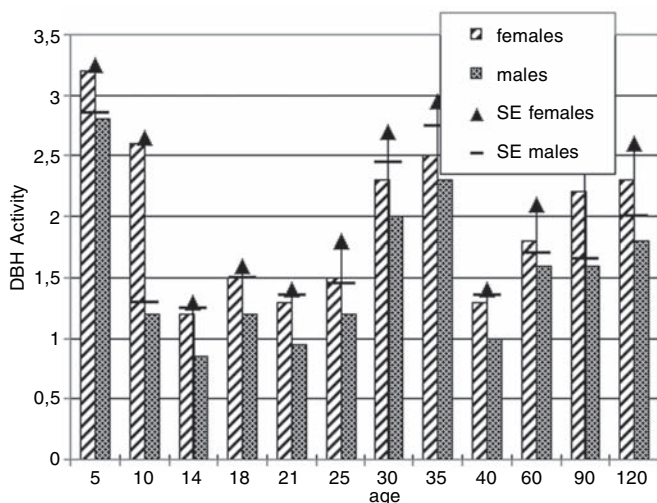
Vliv perinatální hypoxie byl sledován v experimentálním modelu ovlivnění aktivity enzymu DBH v plazmě u laboratorního potkana po aplikaci hypoxie (7000 m – v hypobarické komoře) – obr. 1. Výsledná aktivita DBH na konci měření po aplikaci hypoxie krátce po narození ve srovnání s potkany dospělými ukazuje, že aktivita DBH po narození je zřetelně vyšší než v dospělosti a pokles aktivity DBH vlivem hypoxie je méně výrazný. Výsledná aktivita DBH na konci měření je u nedospělých potkanů nižší než hodnoty kontrolní, zatímco u dospělých potkanů se tyto hodnoty neliší od kontrol u samců, resp. jsou zvýšené u samic, což svědčí pro výraznější vulnerabilitu nedospělých zvířat k hypoxii. Zvířata ve věku 21 dní jeví nejvyšší vulnerabilitu k hypoxickému stresu, neboť neodpovídají na zátěž přechodným zvýšením aktivity DBH.



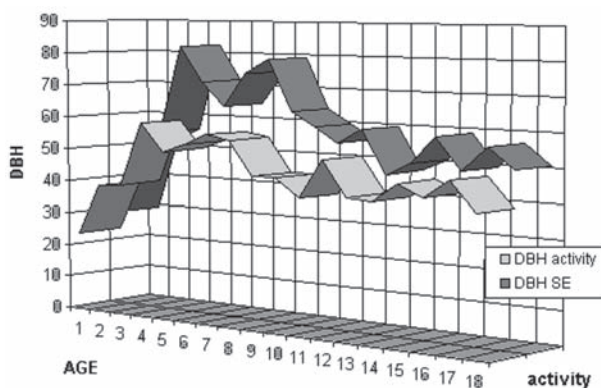
Obr. 1. Aktivita DBH v závislosti na aplikaci hypoxie u 5denního a 21denního potkana

Vývojové aspekty noradrenergního markeru autor se spolupracovníky studovali na experimentálním modelu – laboratorním potkanovi – a u zdravé populace dětí, dospívajících a dospělých. Na rozdíl od literárních údajů zjistili, že vývojové změny aktivity u laboratorního potkana jsou analogické jako u ostatních zvířecích modelů užitých v literatuře. Autor se spolupracovníky využili dostatečného počtu probandů jak v experimentálním modelu, tak při studiu zdravých experimentálních osob. Potvrdili vzestup aktivity DBH v průběhu dospívání s **přechodným snížením aktivity DBH v době puberty**, a to jak u experimentálního modelu, tak u zdravých osob. Tento poznatek rovněž dosud nebyl publikován. Vývojové změny aktivity DBH u laboratorní potkana a u člověka ukazuje obr. 2 a 3.

Vývojové aspekty hyperkinetické poruchy jsou v poslední době studovány také pomocí zobrazovacích metod. U ADHD se předpokládá **opačná (reverzní) asymetrie velikosti bazálních ganglií než u zdravých dětí**. Autoři vyšetřili u 13 dětí s ADHD bez komorbidit ve věku 6–11 let **metodou magnetické rezonance** objem bazálních ganglií a zjistili signifikantní reverzní asymetrii globus pallidus a reverzní asymetrii nucleus caudatus. Ve srovnání s jinými sděleními vývojově omezili zkoumaný vzorek a vyloučili komorbiditu. Autoři vyslovují hypotézu, že právě nerespektování těchto



Obr. 2. Vývojové změny aktivity DBH u laboratorního potkana

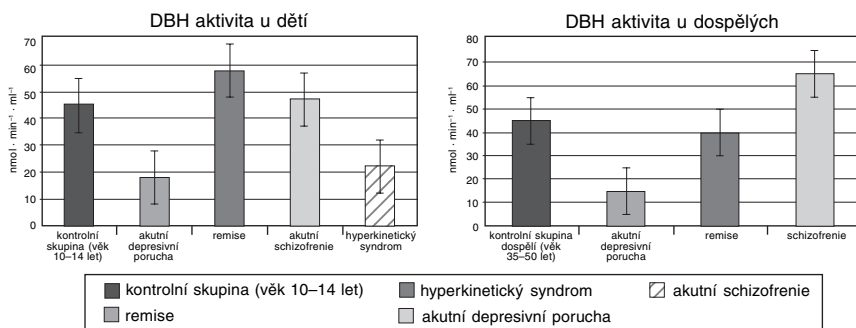


Obr. 3. Vývojové změny aktivity DBH u člověka

Tab. 2. Index symetrie bazálních ganglií (T-test rozdílu mezi zkoumanými subjekty a kontrolami stejného věku)

	Průměr (pacienti)	Průměr (kontroly)	t-value	Df	P
Nucleus caudatus	-0,0060	0,0662	-2,71	19	0,01
Putamen	-0,0012	-0,0248	0,80	19	0,43
Globus pallidus	-0,0624	0,0487	-4,11	19	0,00

omezení je vysvětlením disproporcí ve výsledcích publikovaných prací. Jsou si vědomi, že závěry jsou předběžné vzhledem k počtu vyšetřených pacientů a vzhledem k tomu, že výsledky nebyly přepočítávány ve vztahu k objemu celého mozku. Index symetrie bazálních ganglií ukazuje tab. 2.



Obr. 4. DBH aktivita u dětí a dospělých

Při studiu aktivity DBH u psychiatrických pacientů autoři potvrdili dříve publikované snížení aktivity DBH u dětí s hyperkinetickým syndromem ve srovnání se zdravými dětmi stejného věku. Toto zjištění je rovněž významné vzhledem k tomu, že dosud nebyly stanoveny věkové normy, a vzhledem k tomu, že aktivita DBH se s věkem mění. Autoři dále zjistili výrazně sníženou aktivitu DBH u prvozáchyťů dosud neléčených dětí s depresivní poruchou a normální hodnotu DBH u dětí s onemocněním schizofrenního spektra. Také tyto výsledky nebyly dosud v literatuře publikovány. Autoři potvrdili nízkou aktivitu DBH u těžké depresivní poruchy s paranoidní symptomatikou v dospělosti. DBH aktivitu u dětí a dospělých ukazuje obr. 4.

Léky první volby jsou u **ADHD stimulancia**, která **sníží riziko drogové závislosti v dospělosti a výrazně zlepšují pozornost, hyperaktivitu a impulsivitu**. Zásadní otázkou zůstává problematika **dlouhodobé léčby** vybranými farmaky, její účinnost a **výslyt event. nežádoucích účinků**.

Autor se spolupracovníky přeložil a upravil řadu posuzovacích škál. Použili je v **10měsíční placebem kontrolované klinické studii 24 dětí léčených amfetaminem v monoterapii**. Uspořádání studie uvádí tab. 3.

Výsledky této studie prokázaly výrazné zlepšení nejen základních příznaků hyperkinetické poruchy (porucha pozornosti, hyperaktivita, impulsivita – tab. 3), ale také statisticky významné zlepšení dalších parametrů ve srovnání s placebem (tab. 4). **T-test měl statistickou významnost 1 %, 5 %.**

Tab. 3. Uspořádání klinické studie 24 dětí léčených amfetaminem v monoterapii

Všechny děti byly na začátku studie hospitalizovány 7 dní na dětské psychiatrické klinice. Dítě bylo hospitalizováno v pondělí, v sobotu byl nasazen lék a další pondělí odcházelo domů s vydaným lékem, a to vždy na období devíti týdnů. 63. den byla provedena celodenní kontrola. Placebo (plac) bylo vydáno za dvojité slepých podmínek podle následujícího časového rozpisu (randomizované podmínky):

1 lék	2 plac	3 lék	4 lék	5 lék
1 lék	2 lék	3 plac	4 lék	5 lék
1 lék	2 lék	3 lék	4 plac	5 lék

Jedno období podávání trvalo devět týdnů, v prvním a v posledním se vždy podával lék. Prostřední tři období sloužila k variaci placebového intervalu.

Dávky léku: (1–6 dražé denně, 1 dr = 10 mg amfetaminu) podle volby ošetřujícího lékaře realizujícího studii.

Tab. 4. Průměrné hodnoty škály Werry, která hodnotí všechny psychopatologické příznaky, hyperaktivitu a vedlejší příznaky medikace

	1. vyšetření	2. vyšetření	po placebu	4. vyšetření
Celkem	31,43	26,21	24,15	19,88
Hyperaktivita	10,00	6,46	7,25	3,96
Vedlejší příznaky	1,73	3,00	1,42	2,08

Tab. 5. Statisticky významné zlepšení dalších parametrů ve srovnání s placebem

Zlepšení:
• jemná motorika (tapping, kresba)
• hrubá motorika (Dolanský, dyspraxie)
• smysl pro rytmus (tapping)
• tachistoskop
• schopnost koncentrace (tachistoskop, číselný čtverec)
• schopnost krátkodobé paměti (Meilly, Benderová)
• schopnost diferenciací a reprodukce tvarů (Benderová, tachistoskop)

Tab. 6. Sledování účinků medikace (včetně účinků nežádoucích)

Účinky léku, resp. placeba	Rodiče/děti Aponeuron	Rodiče/ děti Placebo
Jí méně než dříve/Máš menší hlad	25/36	3/5
Méně spí/V noci spíš méně	24/0	2/0
Hůře usíná/Hůř se ti usíná	18/30	2/0
Klidně sedí/Je lehčí klidně sedět	28/27	4/4
Chování se celkově zlepšilo/Od poslední kontroly se cítíš lépe	38/25	2/5
Má častěji bolesti hlavy/Bolí tě často hlava	14/16	3/1
Je rozladěný/Máš častěji špatnou náladu	17/0	0/0
Je svárlivý/Jsi často naštvaný	14/0	0/0
Lépe se soustředí/Lépe se soustřeďíš	20/0	0/5
Je šikovnější než dříve/Jsi šikovnější než dříve	12/25	6/6
Pije více než dříve/Máš větší žízeň než dříve	10/19	2/3
Více pláče než dříve/Cítíš se smutnější než dříve	15/6	3/0
Více mluví/Chce se ti víc mluvit	16/13	2/3
Je vážnější/Jsi vážnější	19/0	5/0
Zlepšení obratnosti/Cvičí se ti lépe	10/18	2/1
Je méně unaven/Cítíš se méně unaven	0/26	0/1
Lépe vychází s rodiči/Vycházíš nyní s rodiči lépe	0/25	0/4
Lépe vychází s dětmi/Vycházíš nyní s dětmi lépe	0/19	0/4
Vzteka se méně/Vztekáš se méně často	0/14	0/2
Vychází hůře s dětmi/Máš více problémy s dětmi	0/12	0/0

V tab. 6 uvádíme hodnocení změn způsobených užíváním medikace oproti placebu. Účinky medikace hodnotili rodiče i děti sami.

Nežádoucí účinky léků byly zjišťovány jednak dotazníkem pro rodiče, jednak strukturovaným rozhovorem s dítětem. Konstrukce dotazníku zahrnuje nejen nežádoucí účinky, ale také účinky žádoucí.

Je tedy zřejmé, že vedle výrazného zlepšení po aplikaci aktivní látky došlo jen k mírnému vzestupu neurastenických obtíží. Mírné snížení chuti k jídlu je ve většině případů spíše pozitivní vzhledem k časté nadváze v dětské populaci. Mírné výskyt afektivní lability se v praxi uplatňuje rovněž velmi omezeně. Další zjištěné nežádoucí účinky: mírné poruchy spánku, usínání, občasný výskyt zmnožení θ -vln na EEG. Nedošlo k dlouhodobým změnám somatotrofního hormonu (Paclet et al., 1996).

Naše výsledky, které byly poprvé publikovány v roce 1996, byly později potvrzeny obdobně koncipovanou studií Gilberga et al. (1997). Naše studie byla tedy, pokud je nám známo, první klinickou studií uvedeného zaměření a uspořádání ve světovém písemnictví. Ve studii Gilberga et al. (1997) byly sledováni také pacienti bez komorbidní diagnózy, počet pacientů byl 18, a to jak ve skupině léčené amfetaminem, tak i ve skupině léčené placebem. Pacienti byli léčeni vždy po dobu 15 měsíců, a to buď placebem, nebo aktivní látkou za dvojité slepých podmínek. Před tímto obdobím byla aplikována tříměsíční zaváděcí otevřená perioda s titrací dávkou.

ZÁVĚRY

Výzkumné studie ADHD budou stále více respektovat nejen aspekty genetické (polygenní dědičnost), ale budou muset při snaze o podrobnější identifikaci jednotlivých genetických a klinických subtypů ADHD přihlížet také k nově definovaným fenotypickým charakteristikám (vývojové charakteristiky, nálezy zobrazovacích metod, biochemické markery, odpověď na jednotlivé typy farmak). Bez těchto přístupů nebude možné rozvíjet znalosti o uvedeném poruše, ani zlepšovat výsledky farmakologické léčby.

Léky první volby jsou nepochybně stimulancia, která představují kauzální léčebný postup, upravují patologické behaviorální příznaky a **snížují** riziko drogové závislosti u dětí s ADHD, a jejich léčebný účinek se v průběhu dlouhodobé léčby nemění. Ani v průběhu dlouhodobé léčby se neobjevují žádné závažnější nežádoucí účinky.

Literatura

- CUBELLS, JF., KRANZLER, HR., McCANCE-KATZ, E., et al. *A haplotype at the DBH locus, associated with low plasma dopamine β -hydroxylase activity also associates with cocaine-induced paranoia*. Mol Psychiatry, 2000, 5, p. 56–63.
- CUBELLS, JF., PRICE, LH., MEYERS, BS., et al. *Genotype-controlled analysis of plasma dopamine- β -hydroxylase activity in psychotic unipolar major depression*. Biol Psychiatry, 2002, 51, p. 358–364.
- FUJITA, K., MARUTA, K., TERADAIRA, R., et al. *Dopamine- β -hydroxylase activity in human cerebrospinal fluid from various age groups*. Clin Chem, 1982, 28, p. 1403–1404.
- GERRING, IP., GRADY, RD., CHEN, A., et al. *Premorbid prevalence of ADHD and development of secondary ADHD after closed head injury*. J Am Child Adolesc Psychiatry, 1998, 17, p. 647–654.
- GILLBERG, CH., MELANDER, H., KNORRING, AL., et al. *Long-term stimulant treatment of children with Attention-Deficit Hyperactivity Disorder symptoms*. Arch Gen Psychiatry, 1997, 54, p. 857–864.
- KOUDELOVÁ, J., PACLET, I., MOUREK, J., TROJAN, S. Variability in dopamine- β -hydroxylase activity in plasma of rats (the effect of age and of hypoxia in plasma of children with mental disorders). In VAN LOUN, CR., KVETŇANSKÝ, K., MCCARTHY, R., AXELROD, J., *Stress: Neurochemical and Humoral Mechanismus*. New York : Gordon and Breach Science Publishers, S. A., 1989, p. 967–974.
- LEWIS, DA., HAYES, TL., LUND, JS., OETH, KM. *Dopamine and the neural circuitry of primate prefrontal cortex: implications for Schizophrenia research*. Neuropsychopharmacology, 1992, 6, p. 127–134.

- PACLT, I., KOUDELOVÁ, J. *The activity of the dopamin b hydroxylase (DBH) in an experiment in animals in norm and in humans suffering with special developmental dopaminergic disturbance*. IBC s International Conference on Dopaminergic Disorders, April 28–29 1997, Boston, MA, USA.
- PACLT, I., FLORIAN, J., BRUNCLÍKOVÁ, J., RŮŽIČKOVÁ, I. *Sledování účinku Aponeuronu v léčbě dětí s hyperkinetickým syndromem*. Čs psychiatr, 1996, suppl. 1, s. 41–57.
- PACLT, I., FLORIAN, J. *Psychofarmakoterapie dětského a dorostového věku*. Praha : Grada, 1998.
- PACLT, I., KOUDELOVÁ, J. *Changes of dopamine- β -hydroxylase activity during ontogenesis in healthy subjects and in an experimental model (rats)*. Physiol Res, 2004, 6, p. 661–667.
- ROBINSON, PD., SCHUTZ, CK., MACCIARDI, F., et al. *Genetically determined low maternal serum dopamine β -hydroxylase levels and the etiology of autism spectrum disorders*. Am J Med Genet, 2001, 100, p. 30–36.
- SUZUKI, H., SHIMOHIRA, M., IWAKAWA, Y., NAGATSU, T. *Developmental change of dopamine β -hydroxylase activity in cerebrospinal fluid of epileptic and non-epileptic children*. J Neural Transm Gen Sect, 1990, 80, p. 225–230.
- WEINSHILBOUM, RM., RAYMOND, FA., ELVEBACK, LR. *A twin study on three enzymes (DBH, COMT, MAO) of catecholamine metabolism. Correlations with MMPI*. Psychopharmacology, 1973, 57, p. 63–69.
- WIGG, K., ZAI, G., SCHACHER, R., et al. *Attention Deficit Hyperactivity Disorder and the Gene for Dopamine B-Hydroxylase*. Am J Psychiatry, 2002, 159, p. 1046–1048.
- WOOD, JG., JOYCE, PR., MILLER, AL., et al. *A polymorphism in the dopamine β -hydroxylase gene is associated with »paranoid ideation« in patients with major depression*. Biol Psychiatry, 2002, 51, p. 365–369.



FOTODYNAMICKÁ TERAPIE MALIGNÍCH NÁDORŮ V EXPERIMENTU



Doc. RNDr. Pavla Poučková, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta,
Ústav biofyziky a informatiky

SOUHRN

Fotodynamická terapie (PDT) je jednou z dalších možností léčby nádorového onemocnění, v ČR však není tato metoda příliš využívána. Fotodynamická terapie je založena na principu selektivní akumulace fotosenzibilizující látky do nádoru a jeho následném ozáření světelnou energií vhodné vlnové délky. Výsledkem této reakce je vznik cytotoxických agens (singletový kyslík, volné radikály), které jsou příčinou destrukce tumoru. Konečným terapeutickým efektem je nekróza a/nebo apoptóza nádorových buněk.

Cílem výzkumné práce byl vývoj nových fotosenzitizérů pro účely PDT. V Ústavu biofyziky a informatiky (ÚBI) 1. LF UK byly prováděny výhradně studie *in vivo* na laboratorních zvířatech. Ozáření oblasti s tumorem bylo prováděno diodovým laserem ($\lambda = 675$ nm), helium-neonovým laserem ($\lambda = 632$ nm) nebo xenonovou lampou Preciosa ($\lambda = 600$ – 700 nm). Většinou byl používán biomodel imunodeficientní nu/nu myši s s.c. xenotransplantovanými lidskými tumory (8 nádorových linií). Z tohoto důvodu byl v ÚBI založen nejen chov nu/nu myši, ale i banka lidských nádorových linií.

Pro zvýšení účinnosti PDT byly v minulých letech studovány následující fotosenzitizéry:

1. **meso-tetra-(4-sulfonatofenyl)-porfin (TPPS₄)**, ve spolupráci s prof. MUDr. Milanem Jirsou, DrSc., z I. interní kliniky a s dalšími pracovišti 1. LF UK.
2. **ftalocyaniny – zinečnatý disulfonovaný ftalocyanin, chlorhlinitý disulfonovaný ftalocyanin**, hydroxyhlinitý disulfonovaný ftalocyanin, ve spolupráci s VÚOS Pardubice, a. s., a Pliva-Lachema, a. s.
3. **liposomální meso-tetrakisfenylporfyrin (TPP)** ve spolupráci s Oddělením biofyziky membránového transportu Fyziologického ústavu AV ČR.
4. **Mono a bis-cyklodextrinový derivát pentafluorofenylporfyrinu (PFP)**, ve spolupráci s VŠCHT Praha a Ústavem molekulární genetiky AV ČR.

Ze získaných výsledků vyplynulo, že **meso-tetra-(4-sulfonatofenyl)-porfin** je účinným fotosenzitizérem pro PDT, jeho terapeutický účinek je možné zvýšit hyperbaroxií. TPPS₄ má však slabý neurotoxický účinek, a proto byl další výzkum prozatím zastaven.

Ze skupiny ftalocyaninů se ukázal jako nejúčinnější **disulfonovaný hydroxyhlinitý ftalocyanin**, který má velice výhodný časový interval pro PDT, a to za 10 minut po aplikaci fotosenzitizéru. Jeho výzkum byl v letošním roce ukončen a byl předán ke klinickému testování.

Liposomální meso-tetrakisfenylporfyrin a bis-cyklodextrinový derivát pentafluorofenylporfyrinu byly ze studovaných fotosenzitizérů terapeuticky nejúčinnější. 30. den po fotodynamické terapii byly tumory (karcinomy mammy) u všech léčených nu/nu myši zcela vyhojeny.

SUMMARY

Photodynamic therapy (PDT) is one of further possibilities of the treatment of tumorous diseases, however, it is not very frequently used in the Czech Republic. PDT is based on a selective accumulation of photosensitizing substance in a tumor, which is subsequently exposed to the light energy at a suitable wave length. This interaction results in the production of cytotoxic agents (singlet oxygen, free radicals), which cause a tumor destruction. The necrosis and/or apoptosis is the final therapeutic effect.

The purpose of the research work presented here was the development of new photosensitizers for PDT. Only in vivo studies on laboratory animals were carried out at the Institute of Biophysics and Informatics. The tumor areas were irradiated with the diode laser ($\lambda = 675$ nm), helium laser ($\lambda = 632$ nm) or Preciosa xenon lamp ($\lambda = 600$ to 700 nm). The biomodel of immunodeficient nude mice with s.c. xenotransplantations of human tumors (8 different lines) was mostly used. Due to this, not only a breed of nude mice, but also a bank of human tumor lines was established at the IBI.

The following photosensitizers were studied in the last year with an intention to enhance the PDT efficacy:

1. **Meso-tetra-(4-sulfonatophenyl)-porphyrin (TPPS₄)**, in a cooperation with Prof. MUDr. Milan Jirsa, DrSc., from the First Medical Clinic and with further institutions of the First Medical Faculty, Charles University.
2. **Phthalocyanines – disulfonated zinc phthalocyanine, disulfonated chloroaluminum phthalocyanine**, disulfonated hydroxyaluminium phthalocyanine, in a cooperation with the Research Institute of Organic Syntheses, a. s., and Pliva-Lachema, a. s.
3. **Liposomal meso-tetrakisphenylporphyrin (TPP)**, in a cooperation with the Department of Biophysics and Membrane Transport of the Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences.
4. **Mono and bis-cyclodextrin derivatives of pentafluorophenyl-porphyrin (PFP)**, in a cooperation with the Institute of Chemical Technology Praha and Institute of Molecular Genetics, Czech Academy of Sciences.

Based on the results obtained, **meso-tetra-(4-sulfonatophenyl)-porphyrin** was shown to be the effective photosensitizing agent for PDT, provided that its effect can even be potentiated by hyperbaroxia. TPPS₄, however, exerted weak neurotoxic effects and thus, its further investigation was suspended.

Out of the group of phthalocyanines, **disulfonated hydroxyaluminium phthalocyanine** was most effective, which has the most suitable time interval for PDT – 10 min after the photosensitizer administration. Its investigation was completed this year and the substance was promoted to clinical testing.

Liposomal meso-tetrakisphenylporphyrin and **bis-cyclodextrin derivative of pentafluorophenylporphyrin** exerted the highest therapeutic efficacy out of all the photosensitizers studied. In all the nude mice treated, the tumors (mammary carcinoma) were completely healed on the 30th day after the photodynamic therapy.

ÚVOD

Fotodynamická terapie maligních nádorů je jednou z možností léčby nádorového onemocnění, v ČR však není tato metoda příliš využívána.

Fotodynamická terapie (PDT) je založena na principu intravenózní aplikace fotosenzitizující látky pacientovi, tato látka by se měla specificky akumulovat do nádoru a po určitém časovém intervalu, kdy je obsah fotosenzitizéru v tumoru nejvyšší vzhledem k okolním tkáním, je oblast s tumorem ozářena dlouhovlnným světlem (600–800 nm). Výsledkem celého procesu je vznik nekrózy v oblasti s nádorem.

Fotodynamickou terapii objevil v roce 1900 student medicíny Oskar Raab, který studoval trepky v roztoku akridinu. Když jednou zapomněl sklenici s prvky na okně, kam dopadalo sluneční záření, všechny trepky v roztoku akridinu uhynuly. Jeho práci později publikoval jeho nadřízený, dr. Tappeiner, a poprvé použil pro uvedený jev pojem »fotodynamický účinek«.

Pro fotosenzitizující látky, které jsou pacientům aplikovány, platí, že musejí mít některé základní vlastnosti:

- **Být látkou o známé chemické struktuře.**
- **Efektivně se akumulovat v nádoru.**
- **Produkovat singletový kyslík.**
- **Aktivovat se světlem o vyšších vlnových délkách (penetruje hlouběji do tkáně).**
- **Být fotolabilní, snadno se rozkládat po ozáření světlem odpovídající vlnové délky.**

Fotosenzitizátory se dělí na tzv. fotosenzitizéry první a druhé generace. Mezi prvoгенераční fotosenzitizéry patří hematoporfyrinové deriváty (HpD), které byly připraveny z hematoporfyrinu. Mají řadu nevýhod, nejsou to zcela definované látky a vyvolávají kožní fotosenzitivitu, takže pacienti se po jejich intravenózní aplikaci nesmějí pohybovat na přímém světle po dobu přibližně 30 dní. Přesto se pod různými firemními názvy používají dodnes pro účely PDT. Jedná se např. o Photofrin (USA), Photocarcinorin (Čína), Photosan (Německo), Photogem (Rusko), Haematodrex (Bulharsko).

VÝSLEDKY

V Ústavu biofyziky a informatiky jsme se zaměřili na výzkum a vývoj nových fotosenzitizérů pro fotodynamickou terapii nádorů. Za posledních 14 let jsme se věnovali studiu následujících fotosenzitizérů:

- **meso-tetra-(4-sulfonatofenyl)-porfin (TPPS₄);**
- **zinečnatý disulfonovaný ftalocyanin;**
- **chlorthlinový disulfonovaný ftalocyanin;**

- **hydroxyhlinitý disulfonovaný ftalocyanin (OH-AIPcS₂);**
- **liposomální meso-tetrakisfenylporfyrin (TPP);**
- **mono a bis-cykloextrinový derivát pentafluorofenylporfyrinu (mono a bis-PFP).**

Pro tyto účely jsme zavedli chov imunodeficientních nu/nu myší a také jsme založili banku lidských nádorových linií.

V Ústavu biofyziky a informatiky byly prováděny výhradně studie *in vivo* na laboratorních zvířatech. Jednak to byly testy akutní toxicity jednotlivých preparátů, distribuční studie pro stanovení optimálního časového intervalu po aplikaci fotosenzitizéru pro PDT a vlastní terapeutické studie, ve kterých byla optimalizována aplikovaná dávka fotosenzitizéru a vyhodnocována účinnost terapie, a to makroskopicky 30. den po PDT, dále pomocí růstových křivek tumorů a na základě stanovení % TGI (tumor growth inhibition) 30. den po PDT. Příslušná oblast s tumorem byla také odebírána pro histologické hodnocení.

Pro vlastní ozáření tumorů se v průběhu 14 let používal:

- **helium-neonový laser** (Metro-Blansko), $\lambda = 632$ nm, hustota energie 300 J/cm², 150 J/cm², doba záření 60 minut, 30 minut;
- **xenonová lampa** (Preciosa, a. s.), $\lambda = 600$ –700 nm, doba záření 8 minut, hustota energie 120 J/cm²;
- **diodový laser** (Medicom, a. s.), $\lambda = 675$ nm, doba záření 10 minut, hustota energie 120 J/cm².

Výsledek 14leté práce shrnuje tab. 1.

Tab. 1. Účinnost jednotlivých fotosenzitizérů na léčení xenotransplantovaných lidských tumorů u nu/nu myší

Aplikovaná látka	LD₅₀ (mg/kg)	Aplikovaná dávka (mg/kg)	Časový interval pro PDT	Úspěšnost PDT (hodnoceno 30. den po ozáření) v %
TPPS ₄	352,5	5–10	72 h	20–30
AIPcS ₂	347	2	24 h	60
ZnPcS ₂	164	2	5 min	60
OH-AIPcS ₂	300	3,5	10 min	80
TPP s liposomy	netestováno	3,2	48 h	100
mono CD-PFP	netestováno	5	24 h	50
bis CD-PFP	netestováno	5	12 h	100

Z časových důvodů budou uváděny pouze některé výsledky, a to pro látku meso-tetra-(4-sulfonatofenyl)-porfin (TPPS₄) jako preparát s nejnižší účinností terapie, dále pro fotosenzitizéry – hydroxyhlinitý disulfonovaný ftalocyanin, liposomální meso-tetrakisfenylporfyrin, mono a bis-cykloextrinový derivát pentafluorofenylporfyrinu, preparáty s nejvyšší účinností terapie.

1. Meso-tetra-(4-sulfonatofenyl)-porfin. Z distribučních studií na nu/nu myších s xenotransplantovaným lidským karcinomem rekta vyplynulo, že optimální časový interval pro PDT je 72 hodin po aplikaci fotosenzitizéru. V této době byla hladina TPPS₄ v tumoru statisticky významně vyšší než v krvi a tlustém střevě, tedy v kritických tkáních pro PDT karcinomu rekta. Účinnost terapie v pokusech na nu/nu myších s transplantovaným karcinomem rekta byla však výrazně nižší, přibližně

20–30 % oproti ostatním novějším fotosenzitizérům. Znamená to, že 30. den po PDT nádor vymizel u 2–3 nu/nu myši z 10 pokusných myši. Tento výsledek jsme se snažili zlepšit potenciací účinku PDT hyperbarickou oxygenoterapií. Prokázali jsme, že hyperbaroxie zvyšuje účinnost PDT u nu/nu myši s xenotransplantovaným karcinomem rekta. V pozdějších histologických studiích však bylo zjištěno, že TPPS₄ má slabý neurotoxický účinek, a proto byl další výzkum zastaven.

2. **Hydroxyhlinitý disulfonovaný ftalocyanin – OH-AIPcS₂.** U této látky je pro budoucí klinické využití velice výhodný časový interval pro vlastní ozáření, a to 10 minut po aplikaci ftalocyaninu. Za 30 minut po aplikaci fotosenzitizéru již hladina ftalocyaninu v tumoru výrazně klesá. Jako optimální dávka pro PDT byla v pokusech na nu/nu myších s transplantovaným lidským nepigmentovaným melanomem stanovena dávka 3,5 mg/kg ftalocyaninu. Terapeutická účinnost tohoto preparátu 30. den po PDT byla 80 %. U 8 myši z 10 tumor zcela vymizel.
3. **Meso-tetrakisfenylporfyrin – v liposomech (TPP).** Z distribučních studií na nu/nu myších s nepigmentovaným lidským melanomem byl stanoven časový interval pro PDT po aplikaci TPP na 48 hodin. Optimální dávka TPP byla stanovena na 3,2 mg/kg. Zajímavé je srovnání terapeutického účinku po PDT u lipofilního preparátu TPP v liposomech s účinkem hydrofilního TPPS₄ v liposomech. Z výsledků je zřejmé, že lipofilní preparát je výrazně účinnější, všechny pokusné myši byly 30. den po PDT bez nádoru.
4. **Mono a bis-cykloextrinový derivát pentafluorofenylporfyrinu – mono a bis-PFP.** Novým výzkumným trendem ve vývoji nových fotosenzitizérů pro PDT je použití lipofilních porfyrinových makrocyclů, na které je navázán cykloextrin pro umožnění transportu tohoto preparátu do buňky. Z distribučních studií jsme zjistili, že mono-PFP se akumuluje do nádoru za 48 hodin po aplikaci fotosenzitizéru, zatímco bis-PFP se do tumoru akumuluje již za 12 hodin po aplikaci, tedy mnohem rychleji, ale v menším množství. Z terapeutických studií *in vitro* na nádorových buňkách karcinomu prsu jsme zjistili, že mono-PFP je účinnější než bis-PFP. Naopak ze studií fotodynamické terapie *in vivo* na nu/nu myších s transplantovaným karcinomem mammy vyplynulo, že naopak bis-PFP je účinnější preparát pro PDT než mono-PFP. Hlavním důvodem větší účinnosti látky bis-PFP bude pravděpodobně lokalizace tohoto preparátu přímo v lyzosomech nádorových buněk.

ZÁVĚRY

Ze získaných výsledků vyplývá, že pro fotodynamickou terapii maligních nádorů jsou nejúčinnější následující fotosenzitizéry:

- disulfonovaný hydroxyhlinitý ftalocyanin;
- liposomální meso-tetrakisfenylporfyrin;
- bis-cykloextrinový derivát pentafluorofenylporfyrinu.

Závěrem je nutné zdůraznit, že využitelnost fotodynamické terapie v klinické praxi je limitována velikostí tumoru. Fotodynamická terapie je určena pro nádory velmi malých rozměrů, ale také se využívá alespoň k částečnému zmenšení rozsáhlých tumorů, např. obturujících bronchus. Používání fotodynamické terapie je omezeno také lokalizací tumoru. Přístupné pro fotodynamickou terapii jsou např. kožní tumory, tumory orofaciální oblasti, endobronchiální tumory, tumory gastrointestinálního traktu i karcinomy močového měchýře.

ELEKTROFYZIOLOGICKÉ NÁLEZY U CENTRÁLNÍCH MÍŠNÍCH LÉZÍ



Doc. MUDr. Ivana Štětkářová, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta
a Nemocnice Na Homolce, Neurologické oddělení*



SOUHRN

Morfologické metody určí přesně anatomicky postiženou strukturu, ale nevypovídají o změnách funkce. Elektrofyziologických metod existuje v současné době k vyšetřování míšních funkcí poměrně málo. Funkci míšní šedi (motoneuronů, interneuronů apod.), spinálních ganglií a kořenů sledujeme pomocí EMG, F-vlny, H-reflexu. Poměrně málo používanou metodou je perioda útlumu po kožní stimulaci, která představuje míšní inhibiční reflexní děj. Funkce míšních drah vzestupných testujeme pomocí somatosenzorických evokovaných potenciálů a dráhy sestupné pomocí motorických evokovaných potenciálů. Siringomyelie představuje dobře definovanou klinickou jednotku s typickým postižením centrálního kanálu a okolní míšní tkáně. Jde o progresivní chronické degenerativní onemocnění míchy s disociovanou poruchou cití, slabostí a atrofií svalů ruky či paže, s postižením chůze. Patologickým podkladem je dutina v centrální části míchy. V našem souboru 10 nemocných se siringomyelií (7 žen, 3 muži, ve věku 17–69 let, průměr 44 let), kteří k nám byli referováni před eventuálním neurochirurgickým výkonem, jsme vyšetřili EMG, somatosenzorické a motorické evokované potenciály, kožní periodu útlumu a periodu útlumu po stimulaci smíšeného nervu. Magnetická rezonance ukázala u všech nemocných siringomyelickou dutinu v oblasti cervikální, šest z nich mělo dutinu i v oblasti hrudní a jeden v oblasti bulbární. Šest osob mělo Chiariho malformaci. Pět pacientů bylo operováno. V klinickém obraze dominovala u většiny osob jednostranná porucha vnímání tepla a chladu a bolesti, jedna osoba byla asymptomatická. U devíti nemocných bylo přítomno abnormální zkrácení nebo absence kožní periody útlumu na postižené straně. Snížení amplitudy cervikální SEP N13 bylo zjištěno u čtyř osob, u jednoho pacienta byla absence N13. Tři osoby měly lehce abnormální centrální motorický kondukční čas a u dvou osob byl zjištěn chronický neurogení EMG nález na postižené končetině. Nejvíce abnormálních nálezu bylo zjištěno pomocí vyšetření kožní periody útlumu (9 osob z 10), a to na stra-

ně poruchy termického a algického cití. Velmi často byla zjištěna abnormálně nízká voltáž spinální SEP N13, svědčící nepřímo pro porušenou funkci šedé hmoty míšni v oblasti zadních rohů. Porucha kortikospinální dráhy a dysfunkce motoneuronů v předních rozech míšních byla detekována nejméně často a souvisela s výraznější progresí onemocnění. Tyto metody umožní odkrýt subklinické léze při absenci klinických příznaků. Je nutná vzájemná korelace klinického, morfologického a funkčního obrazu, z kterého se pak odvíjí další léčebný postup – konzervativní léčba s pravidelným sledováním nemocného nebo operační řešení. Je potom možné sledovat účinek farmakoterapie nebo chirurgické léčby a monitorovat nervový systém během operací.

SUMMARY

Electrophysiological findings in intramedullar spinal cord lesions

Morphological methods offer detailed information about anatomy of the spinal cord and its surroundings but none about its function. Only a few electrophysiological methods exist to test spinal cord functional integrity. Functions of neurons, spinal ganglia and roots are tested by EMG, F wave and H reflex. Silent period is an uncommon electrophysiological test and represents spinal inhibitory reflex. Somatosensory and motor evoked potentials are used for assessment of afferent and efferent spinal cord pathways. Syringomyelia is a progressive chronic degenerative spinal disorder characterized by central lesion with segmental dissociation of pain and thermal sensation, atrophy of hand muscles and gait disturbances. In this study, electromyography and neurography, somatosensory and motor evoked potentials (SEPs and MEPs), cutaneous and mixed nerve silent periods (CSPs, MNSPs) were obtained in ten patients with cervical syringomyelia documented by magnetic resonance imaging. Six patients had thoracic syringomyelia, one subject had syringobulbia. Six patients presented Chiari malformation type I, five subjects underwent surgery. On clinical examination, all subjects but one presented dissociated loss of pain and temperature sensation. In nine patients, CSP and later part of MNSP were abolished or shortened on their affected side. The cervical SEP response N13 was of abnormally low amplitude in four patients on their affected sides and absent in one patient. Central motor conduction time was abnormally prolonged in three patients. Chronic neurogenic EMG pattern was observed in two patients at their affected upper extremities. Absence (and/or shortening) of CSP and MNSP were the most sensitive parameter of spinal cord dysfunction in cervical syringomyelia. The cervical SEP response N13 was a reliable parameter of gray matter dysfunction. Impairment of corticospinal tract was less frequently observed in syringomyelia and correlated with progression of the disease. Electrophysiological methods detect subclinical lesions in absence of clinical signs and symptoms. Clinical, morphological and functional assessment is important for therapeutic decision: follow-up or surgery. Electrophysiological methods are important for making a diagnosis, however, there are many animal and human experimental studies. These methods could be used for assessment of pharmacotherapy or surgical approach and monitoring of spinal cord function during the operation.

ÚVOD

Morfologické metody podrobně určí anatomické poměry pátečního kanálu a struktur, které se míchy týkají. Přecení-li se strukturální nález, může dojít ke stanovení mylné diagnózy a k nesprávnému léčebnému postupu s chybnou prognózou. Je nutná vzájemná korelace morfologických a funkčních metod, založená na detailní anamnéze a objektivním klinickém nálezu. Je stále řada chorob, které postihují míchu, jejichž příčina zatím není známa. Nebo je známa příčina míšní léze, ale neumíme dostatečně a adekvátně léčit důsledky této poruchy vzhledem k ireverzibilitě poškození a malé regenerační schopnosti míšních neuronů.

K vyšetření korových funkcí existuje celá řada funkčních metod (SPECT, PET, funkční magnetická rezonance, EEG, evokované potenciály, magnetoencefalografie apod.). Ke sledování funkce míchy slouží v současné době jen malé množství metod (evokované potenciály, elektromyografie, H-reflex, F-vlna, perioda útlumu).

Funkci míšní šedi, kterou tvoří motoneurony, buňky provazců, interneurony, neuroglie a koncová rozvětvení aferentních vláken, a funkci míšních kořenů a spinálních ganglií můžeme vyšetřovat pomocí:

- vyšetření vodivosti nervů (elektroencefalografie, ENG) včetně F-vlny a H-reflexu;
- jehlové elektromyografie (EMG);
- periody útlumu (silent period, SP).

Vyšetření vodivosti nervů a elektromyografie určí poškození nervosvalové ploténky, svalů nervů, plexu, kořenů a buněk předních rohů míšních. Míšní reflexní děje včetně excitability motoneuronu lze sledovat pomocí periody útlumu, H-reflexu a F-vlny.

Funkce jednotlivých míšních drah a příslušných nervových buněk vyšetřujeme pomocí těchto elektrofyziologických metod:

- somatosenzorickou dráhu, resp. zadní provazce a zadní rohy míšní, pomocí somatosenzorických evokovaných potenciálů (SEP);
- pyramidovou dráhu, resp. nejrychleji vedoucí vlákna tractus corticospinalis a míšní motoneurony, pomocí motorických evokovaných potenciálů (MEP).

RYŠETŘENÍ FUNKCE ŠEDÉ A BÍLÉ HMOTY MÍŠNÍ U INTRAMEDULÁRNÍ LÉZE

Syringomyelie představuje dobře definovanou klinickou jednotku s typickým poškozením centrálního kanálu a okolní míšní tkáně. Jde o progresivní chronické degenerativní onemocnění míchy s disociovanou poruchou čítí, slabostí a atrofií svalů ruky či paže, s poškozením chůze. Patologickým podkladem je dutina v centrální části míchy, a to nejčastěji v krční oblasti. Často se šíří i do oblasti prodloužené míchy a kmene nebo distálně směrem k hrudní míše. Pokud se na tuto diagnózu myslí, její určení není obtížné. Zobrazovací metody (zejména MR) umožní podrobně stanovit rozsah syringomyelické dutiny. Neurčí ale, do jaké míry jsou míšní funkce v této oblasti zachované nebo porušené. Klinické příznaky syringomyelie mohou být zpočátku nenápadné a mohou vést i k mylné diagnóze. K dalšímu léčebnému postupu je důležité odhalit časná stadia této choroby a podrobně určit rozsah dysfunkce míšních drah a míšní šedi.

Syringomyelie je onemocnění progredující, i když zpočátku velmi pomalu. Postupně se rozšiřující dutinky v oblasti centrálního kanálu tlačí na přilehlou míšní šed' a porušují probíhající míšní dráhy. Dochází k degeneraci pyramidové dráhy v míše s klinic-

kými projevy spastické parézy končetin. Objevuje se dysfunkce α -motoneuronů v předních rožích míšních se segmentálními svalovými atrofiemi. Dutina v oblasti zadních rohů míšních vyvolá poruchu všech senzitivních modalit. Porucha tractus intermediolateralis v horní hrudní míše vyvolá vegetativní poruchy. Postižení zkřížených vláken termoalgieckého čítí v oblasti commissura anterior vede k segmentálním disociovaným poruchám. Klinickým korelátem je segmentální porucha termického a algického čítí, která je často první manifestací onemocnění v časně fázi onemocnění.

Málo známou a používanou metodou při vyšetřování míšních funkcí je perioda útlu- mu, která představuje míšní inhibiční reflexní děj. Během volní kontrakce svalu do- chází po bolestivé stimulaci kožního nervu k přerušení EMG aktivity. Toto »ticho« v EMG signálu se nazývá kožní perioda útlu- mu. Aferentní podněty, generující kožní periodu útlu- mu, jsou vedeny převážně pomalými vlákny A- δ , které mají vyšší práh dráždivosti než A- β a A- γ vlákna. Míšní motoneuron je dráždivý na antidromní pod- něty i během kožní periody útlu- mu, která proto nemůže vznikat v důsledku jeho re- frakterní fáze. Pravděpodobným mechanismem vzniku je presynaptická inhibice korti- kospinální dráhy nebo presynaptická či postsynaptická inhibice míšních interneuronů, které vedou kortikospinální salvu k míšnímu motoneuronu.

Bylo prokázáno, že abnormální nálezy somatosenzorických evokovaných potenci- álů korelují s poruchou propriocepce. Impulsy jsou vedeny proprioceptivními aferent- ními myelinizovanými vlákny do míchy. Signály se šíří bez překřížení zadními pro- vazci do jader zadních provazců v prodloužené míše. Interneurony zadních rohů míšních v segmentech C₄–Th₁ jsou anatomickým substrátem spinální odpovědi N13. Tvoří spolu s kolaterálami vláken zadních kořenů v Rexedově zoně IV a V hustý ple- xus. Vlna N13 je postsynaptická a odráží aktivitu stimulovaných periferních aferentních vláken skupiny II. Nociceptivní míšní neurony aktivované tenkými nemyelinizovanými vlákny A- δ nebo C se na tvorbě této odpovědi nepodílejí. Neurony, které generují N13 se nacházejí v těsné blízkosti těchto neuronů nebo jsou zde vmezeřené. Výrazně nízká amplituda N13 je ukazatelem dysfunkce šedé hmoty míšní v této oblasti.

K testování míšních funkcí u centrální léze jsme použili tyto elektrofyziologické metody:

- **kožní a smíšenou periodu útlu- mu (CSP)**, která testuje spinální inhibiční mechanismy;
- **motorické evokované potenciály (MEP)**, které testují vedení signálu kortikospinální dráhou a po přepojení v míše pohyb impulsu až k cílovému svalu;
- **jehlovou EMG**, která určí případný zánik α -motoneuronu daného míšního segmentu;
- **somatosenzorické evokované potenciály (SEP)**, které sledují vedení signálu so- matosenzorickou dráhou z periferie až do centra korové projekční oblasti v gyrus postcentralis.

Řešené otázky

1. Která elektrofyziologická metoda je nejcitlivější v časných fázích klinické mani- festace u syringomyelie?
2. Jaká je nejtypičtější míšní dysfunkce u syringomyelie?
3. Je poslední část útlu- mové periody kožní a smíšené daná aktivací stejných vláken či neuronů?
4. Dochází k změnám vedení signálu somatosenzorickou dráhou i při lokalizaci duti- ny mimo oblast zadních rohů míšních?
5. Je korelace mezi abnormitou klinickou a elektrofyziologickou při progresi one- mocnění?

Materiál a metodika

V souboru 10 nemocných (3 muži a 7 žen, průměrného věku 44 let, v rozmezí od 17 do 69 let) se syringomyelií prokázanou na MR krční a hrudní míchy byla provedena celá paleta výše uvedených elektrofyziologických metod.

Jehlovou elektrodou byly vyšetřeny segmentální svaly na horní končetině (m. deltoideus, m. biceps brachii, m. extensor digitorum communis a m. interosseus dorsalis primus). Kromě rutinního vyšetření vedení motorickými a senzitivními vlákny n. medianus a n. ulnaris byly vyšetřeny také pozdní odpovědi (F-vlna). Další metodou byly somatosenzorické evokované potenciály po stimulaci n. medianus na zápěstí a n. tibialis za mediálním kotníkem. Snímací a referenční elektrody byly umístěny na Erbův bod (ipsilaterálně/kontralaterálně), Cv5–fossa suprasternalis, Cc'–kontralaterální rameno a Cc'–Fz, L₁–Th₁₀ a Cz'–Fz. Motorické evokované potenciály po transkraniální magnetické stimulaci na vertexu, v oblasti cervikální a lumbální intumescence, byly provedeny u pacientů celého souboru. Odpovědi byly snímány z m. abductor digiti minimi a m. tibialis anterior. Stimulovalo se kruhovou plochou cívku a dvojitou cívku. Kožní perioda útlumu a periodu útlumu při stimulaci smíšeného nervu byla vyšetřena po stimulaci kožního nervu (prsténkovými elektrodami na ukazováku) a stimulací katodou n. medianus na zápěstí intenzitou 20krát vyšší, než je senzitivní práh (bolestivý podnět). Při stimulaci vyšetřovaná osoba maximálně kontrahovala m. abductor pollicis brevis, na kterém byly umístěny povrchové mističkové elektrody.

Výsledky byly porovnávány s normami naší laboratoře. Kontrolní soubor tvořilo 30 osob (15 žen a 15 mužů, průměrného věku 31,4 roku, v rozmezí 16–64 let).

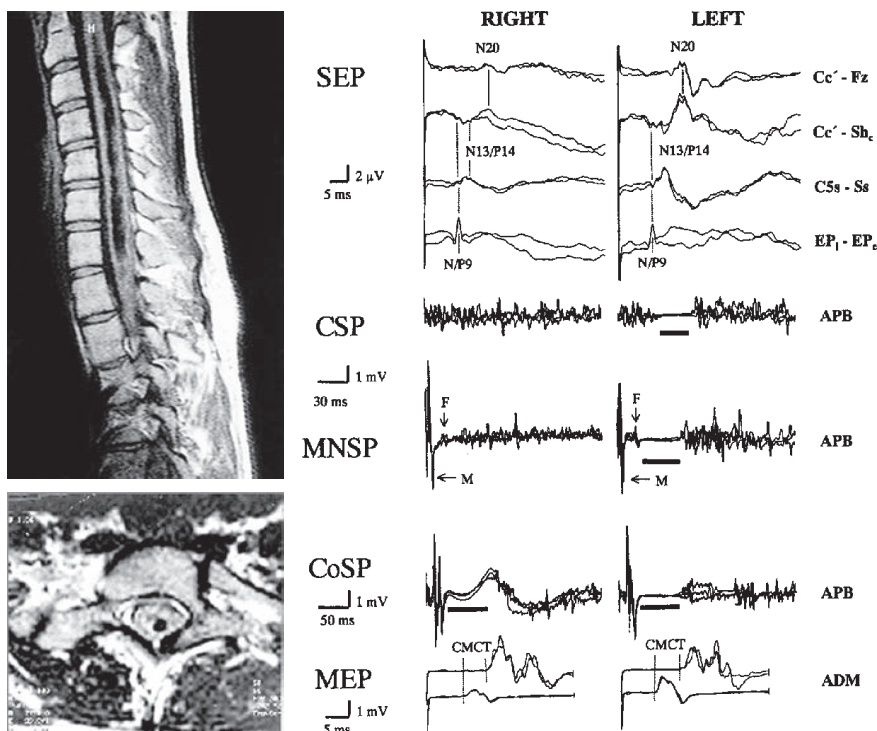
Výsledky

Všechny osoby měly syringomyelickou dutinu v oblasti cervikální, jedna z nich i v oblasti prodloužené míchy, šest v oblasti hrudní míchy. Šest osob mělo Chiariho typ IA malformace. U jedné osoby byla syringomyelická dutina zjištěna náhodně na MR. U této osoby byl neurologický nález normální. U většiny pacientů byly jen lehce vyjádřené klinické příznaky – jednostranná segmentální porucha cití na horní končetině a krku, spolu se snížením reflexů C₅–C₈, u jedné osoby byla patrná lehká akrální paréza na horní končetině. Jen dvě osoby měly syringomyelickou disociaci cití oboustrannou a výraznější postižení hybnosti na horní končetině spolu s postižením hybnosti dolních končetin a se spasticitou. Jeden pacient měl počínající kmenové příznaky. Pět osob bylo operováno.

Zkrácení nebo absence kožní a smíšené periody útlumu byla zjištěna nejčastěji, téměř u všech osob vyšetřovaného souboru (9 osob z 10), a to na straně poruchy termického a algického cití (obr. 1). U čtyř osob (téměř všech případech na straně abnormální periody útlumu) bylo zjištěno významné snížení amplitudy N13, resp. poměru amplitud N13/N9 nebo 50% stranový rozdíl amplitudy N13. U jedné osoby nebyla vlna N13 ani N20 detekovatelná. Zpomalení v úseku P9–P14 bylo zjištěno u dvou osob. U tří osob bylo zjištěno lehké zpomalení centrálního motorického vedení na postižené horní končetině. Abnormální nálezy SEP n. tibialis byly zjištěny u tří osob, v korelaci s postiženou propiocepcí dolní končetiny. Pouze jedna osoba měla také abnormálně zpomalené vedení centrálním úsekem motorické dráhy na končetině s pozitivním Babinského příznakem.

Závěry

Vyšetření kožní periody útlumu zachytilo největší množství abnormálních nálezů, svědčících pro počínající dysfunkci míšní. Z výsledků vyplývá, že tuto metodu je výhod-



Obr. 1. Pacientka s Chiariho malformací a syringomyelií C₂–C₇ (nález na MRI). Klinicky porucha termoalgieckého čítí v segmentech C₂–C₇ vpravo. Somatosenzorické evokované potenciály (SEP) ukazujú snížení amplitudy spinální N₁₃ vpravo na straně léze, i když se dutina přímo zadních míšních rohů nedotýká. Perioda útluhu kožní (CSP) a smíšeného nervu (MNSP) je na straně léze nevýbavná, jde o poruchu míšního inhibičního reflexního děje. Pyramidová dráha (MEP) a inhibiční kortikální mechanismy (CoSP) jsou intaktní

né použít na počátku onemocnění při stanovení diagnózy, neboť většina pacientů z našeho souboru měla jen malé klinické příznaky míšního postižení. Třetí část periody útluhu kožní a smíšeného nervu koresponduje s aktivací pomalu vedoucích kožních aferentních vláken A-δ. Častým nálezem byla abnormálně nízká amplituda spinální SEP N₁₃, svědčící pro dysfunkci šedé hmoty míšní v oblasti zadních rohů. Porucha kortikospinální dráhy a motoneuronů v předních rozích míšních byla zjištěna nejméně často a korelovala s těžším klinickým obrazem onemocnění. Je třeba znovu zdůraznit, že přesnější rozsah porušených funkcí dlouhých drah aferentních a eferentních a míšní šedi (přední a zadní rohy míšní) určí celá paleta výše použitých elektrofyziologických metod (SEP, MEP, EMG a vyšetření vodivosti). Umožní odhalit i subklinické léze při absenci klinických příznaků. Je však nutná vzájemná korelace klinického, morfologického a funkčního obrazu, z kterého se pak odvíjí další léčebný postup, a to buď konzervativní léčba s pravidelným sledováním nemocného, nebo operační řešení.

VÝZNAM A PERSPEKTIVY POUŽITÍ ELEKTROFYZIOLOGICKÝCH METOD U MÍŠNÍCH PORUCH

Přínos elektrofyziologických metod v diagnostice míšních dysfunkcí je nesporný. Tyto metody mají také velký význam na úrovni základního výzkumu ve studiích na zvířatech i v humánních studiích. Morfologické diagnostické metody pomáhají v akutní fázi míšní poruchy zjistit anatomický rozsah postižení. Výzkumy na celém světě směřují k možnostem další reparace nervové tkáně již na buněčné a molekulární úrovni.

Elektrofyziologické metody (zejména evokované potenciály) mají kromě již zmíněného diagnostického významu své místo také v problematice monitorování nervového systému během operací či výkonů dotýkajících se přímo nebo nepřímo nervových struktur. Monitorování umožňuje větší radikalitu výkonu, spolehlivou pooperační prognózu, úpravu operační strategie během výkonu v závislosti na detekci případného míšního postižení. Pomocí těchto metod je možné sledovat účinek farmakoterapie nebo vliv chirurgické léčby při dekompresi míšní u nádorů, cervikální spondylogenní myelopatie nebo syringomyelie. V poslední době vychází řada prací, které se zabývají funkční plasticitou centrálního nervového systému, tj. mozku a míchy. Po deafferentaci dochází ke kortikální reorganizaci, která je dána aktivací do té doby němých kortiko-kortikálních spojení. Dochází k lokálnímu snížení inhibice a ke změně efektivity synaptické aktivity. Plastické změny míšní zahrnují změny prahu dráždivosti motoneuronu, vodivou schopnost axonů a synaptické změny na motoneuronech. Předpokládá se, že k modulaci dochází již během života. Celý koncept rehabilitace s obnovením nervových funkcí vychází z indukce těchto plastických změn na míšní a kortikální úrovni. Reparační metody (farmakologické, rehabilitační apod.), které povedou k modifikaci a modulaci neuronálních míšních, supraspinálních a kortikálních okruhů s následnou obnovou porušených funkcí, budou i nadále využívat ke studiu jednotlivé elektrofyziologické metody.



VÝZNAM POZITRONOVÉ EMISNÍ TOMOGRAFIE A VYSOKODÁVKOVANÉ TERAPIE S AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACÍ KRVETVORNÝCH BUNĚK V LÉČBĚ MALIGNÍCH LYMFOMŮ



Doc. MUDr. Marek Trněný, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice,
I. interní klinika – klinika hematologie*

SOUHRN

Maligní lymfomy patří mezi potenciálně kurabilní onemocnění. Výsledek léčby závisí na řadě faktorů: na biologických faktorech, jako je zejména typ lymfomu, na rozsahu onemocnění, na faktorech spojených s nemocným. Jedním z nejvýznamnějších faktorů je odpověď na léčbu. Ta je standardně hodnocena zejména pomocí počítačové tomografie. V současné době se ukazuje, že pozitronová emisní tomografie (PET) by mohla již při časném hodnocení identifikovat nemocné, u nichž je odpověď neuspokojivá a vyžadují tak úpravu léčebné strategie. Na souboru 94 nemocných s agresivními lymfomy jsme ukázali, že dosažení PET negativity je významným faktorem zlepšujícím osud nemocných. U nemocných, kteří dosáhli PET negativity již v průběhu léčby, byla pravděpodobnost tříletého přežití bez známek progresu (PFS) 72,9 % proti 35,0 % ($p < 0,005$) u PET pozitivních a pravděpodobnost celkového přežití (OS) 95,8 % proti 62,2 % ($p < 0,005$). Jednou z možností, jak intenzifikovat léčbu, je vysokodávkovaná terapie s autologní transplantací krvetvorných buněk, která spočívá v překonání myeloablativního účinku intenzivní chemo(-radio)terapie záchranným podáním předem odebraných a kryokonzervovaných krvetvorných buněk. Provedli jsme analýzu 191 transplantací u 169 nemocných s diagnózou nehodgkinského maligního lymfomu transplantovaných na našem pracovišti od prosince 1993 do února 2003. Peritransplantační mortalita byla 2,6 %. Pravděpodobnost doby do progresu (PFS) byla v pěti letech v celém souboru 42,5 %, přežití bez významné události (EFS) 40,0 % a celkové přežití (OS) 51,1 %. V multivariační analýze se ukázaly jako významné faktory ovlivňující léčebné výsledky stav nemoci při transplantaci a nejlepší výsledek po transplantaci. Při hodnocení největších podskupin – nemocných s difúzním velkobuněčným lymfomem B řady (DLBCL) a folikulárním lymfomem (FL) – se ukázalo, že transplantace může být kurativní (dosažení fáze plateau při hodnocení PFS) u nemocných s DLBCL, zatímco u FL byl pozorován stálý pokles PFS. Další zlepšení terapie

tických výsledků souvisí s použitím imunoterapie. V současné době bylo ukázáno, že použití antiCD20 protilátky vede k lepší kontrole nemoci před transplantací a také k významně lepší depleci nádorových buněk z kostní dřeně, periferní krve a v konečném důsledku i z použitého štěpu krvetvorných buněk. Otevřenou kapitolou je udržovací imunoterapie po transplantaci, ať již pasivní pomocí protilátek, nebo využití vakcinace.

SUMMARY

Malignant lymphomas are considered to be a curable disease. There are number factors which can influence the patients' outcome. It is influenced by biological factors, mainly by the histological subtype of lymphoma, by the spread of disease (localized versus advanced) and by factors depending on the host. One of the most important factors is the response to the therapy. The standard response evaluation is based mainly on computer tomography examination, but it has some significant limitations. It has been recently shown that positron emission tomography (PET) could be used for identification of patients with unsatisfactory response and thus could serve as base for possible therapy modification. We have demonstrated on the cohort of 94 patients with aggressive lymphomas that the achievement of PET negativity is very significant predictive factor. The probability of progression free survival (PFS) at 3 years is 72,9 % in PET negative patients (examined early in the course of therapy) versus 35,0 % ($p < 0,005$) in PET positive patients. The probability of overall survival (OS) is significantly different as well, 95,8 % versus 62,2 % ($p < 0,005$). The high dose therapy and autologous stem cell transplantation is one of the possibilities how to intensify the therapy. It is based on the fact the stem cell rescue allows the overcome the myeloablative effect of high dose therapy. We have analyzed 191 procedures in 169 patients with Non-Hodgkin's lymphomas performed from December 1994 till February 2003. The observed treatment related mortality was 2,6 %. The probability of progression free survival (PFS) at 5 years was 42,5 %, the probability of event free survival (EFS) was 40 % and overall survival (OS) 51,1 %. The following factors were found as important for patients' outcome in multivariate analysis: the disease status at the time of transplantation and the best result after transplantation. The analysis of the largest subgroups – diffuse large B cell lymphomas (DLBCL) and follicular lymphomas (FL) – has revealed that high dose therapy could be curative for DLBCL (the plateau phase has been achieved in PFS) but it does not seem to be true for FL (continuous decrease), at least for relapsed patients. The further improvement of therapeutic results could be influenced by immunotherapy incorporation. It has been shown that anti CD20 antibody leads to the better disease control before high dose therapy as well to the significant lymphoma cells depletion from the graft. The open question is the importance of maintenance immunotherapy after the transplantation, either by the use of antibodies or by vaccination.

ÚVOD

Ve vývoji v oblasti maligních lymfomů došlo v posledních deseti letech k několika významným posunům. Patří mezi ně nové pohledy na patogenezi lymfoproliferací

v souvislosti s normálním vývojem lymfatického systému, umožněné rozvojem imunofenotypizačních, molekulárně biologických a cytogenetických metod, genové exprese a dalších. Na základě těchto poznatků byla vytvořena nová WHO klasifikace lymfoproliferativních onemocnění. Další významnou oblastí je zavedení klinicky jednoduchých, ale přitom silných prognostických systémů, které mohou být doplněny novými diagnostickými metodami, případně biologickými faktory. K významnému posunu došlo i v terapeutické oblasti, kdy zavedení transplantace krvetvorných buněk a zejména užití monoklonálních protilátek znamená pro řadu nemocných výrazné zlepšení osudu.

Habilitační přednáška je zaměřena na dvě z těchto oblastí. Za prvé na význam pozitronové emisní tomografie (PET) a za druhé na význam vysokodávkované terapie s autologní transplantací krvetvorných buněk (HDT s ASCT).

1. POZITRONOVÁ EMISNÍ TOMOGRAFIE

Jedním z nejdůležitějších prognostických faktorů u nemocných s lymfomem je rozsah onemocnění a odpověď na danou léčbu. Standardní součástí zjišťování rozsahu onemocnění i hodnocení léčebné odpovědi je provedení počítačové tomografie (CT) se zaměřením na oblast lymfatických uzlin v hrudníku, břichu a malé pánvi a popřípadě na další oblasti. Zatímco při zjišťování rozsahu onemocnění je ve velké většině případů CT suverénní metodou, při hodnocení odpovědi se objevují problémy. Nález, který neregduje zcela, ještě nemusí znamenat přítomnost viabilního tumoru, a naopak při normálním CT nálezu dochází u řady nemocných k relapsu. Pozitivní i negativní prediktivní hodnota CT je poměrně nízká.

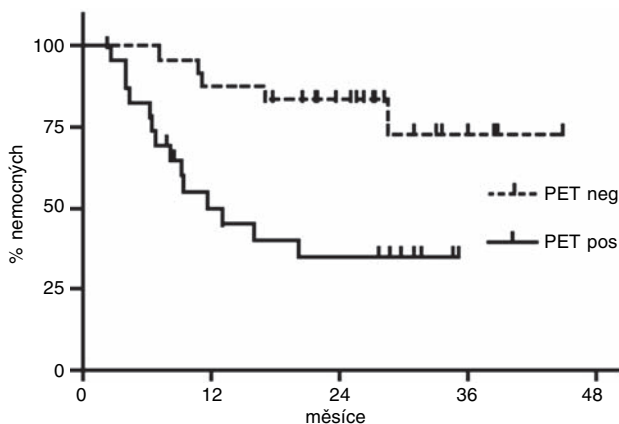
Pozitronová emisní tomografie využívá vychytávání radioaktivní 2-(¹⁸F)fluoro-2-deoxy-D-glukózy (FDG) v metabolicky aktivní tkáni. V nestabilním jádře pozitronového zářiče dochází k přeměně protonu na neutron, což je provázeno vyzářením kladného náboje ve formě pozitronu. Délka dráhy pozitronu závisí na jeho energii a na jejím konci je setkání s elektronem okolní hmoty a jejich zánik – anihilace, provázená emisí dvou kvant záření γ . Detekční systémy jsou pak založeny na detekci průvodního anihilačního záření. Je tak možné zobrazit nádorové léze, které bývají obvykle výrazně hypermetabolické. Bylo prokázáno, že většina lymfomů je výrazně pozitivních. V současné době však chybějí prospektivní klinické studie, které by ukázaly, jaký má PET negativita nebo naopak PET pozitivita dopad na osud nemocných.

Ve spolupráci s vídeňským pracovištěm jsme provedli retrospektivní analýzu souboru 94 nemocných, u nichž byla provedena PET v průběhu a/nebo po skončení indukční léčby. U všech nemocných s ne Hodgkinským maligním lymfomem (NHL) bylo při diagnóze provedeno tzv. druhé čtení. U nemocných bylo stanoveno riziko podle mezinárodního prognostického indexu (IPI). PET byla prováděna po 2–4 cyklech indukce a/nebo po skončení léčby. Jednalo se o 94 nemocných s věkovým mediánem 51 let (17–88). Histologické typy byly zastoupeny především difúzním velkobuněčným lymfomem řady B (n = 84, 89,4 %), dále ve dvou případech folikulárním lymfomem »grade« III (2,1 %) a po 4 případech tvořily anaplastický velkobuněčný lymfom a periferní T-lymfom. Charakteristika onemocnění ukázala, že 60 % nemocných bylo diagnostikováno v pokročilém stavu, více než 50 % mělo vyšší hladinu LDH při diagnóze a podle mezinárodního prognostického indexu bylo 60 % hodnoceno jako riziko nízké nebo středně nízké a téměř 40 % jako riziko vysoké nebo středně vysoké.

U všech nemocných kromě jednoho byla použita jako indukční terapie chemoterapie obsahující antracyklinová antibiotika. U 21 nemocných byla provedena vysokodávková terapie s autologní transplantací krevetvorných buněk. Časně (po 2–4 cyklech terapie) bylo hodnoceno 48 nemocných (51,8 %), na konci plánované terapie 71 nemocných (75,5 %). Jak časně, tak na konci bylo vyšetřeno 25 nemocných (26,6 %).

Odpověď na léčbu byla hodnocena standardními kritérii. V průběhu sledování (1999–2002) byla postupně zaváděna kritéria hodnocení podle mezinárodního projektu, který definuje kategorie kompletní remise, nejistá kompletní remise, parciální remise a rezistentní nebo progredující onemocnění.

Pravděpodobnost přežití bez známek progresu (PFS) a celkové přežití (OS) ve 3 letech byla v celém souboru 64,9 % a 76,4 %. Při porovnání nemocných podle míry rizika byly rozdíly v PFS i OS signifikantní. PFS u nemocných s nízkým rizikem byl 82,3 % proti 53,9 % u nemocných s vysokým rizikem ($p = 0,005$), OS bylo v těchto skupinách 85,9 % proti 60,3 % ($p = 0,05$). Při hodnocení PFS a OS podle výsledku PET se ukázal statisticky významný rozdíl. U nemocných hodnocených již v průběhu léčby jako PET negativní bylo PFS 72,9 % proti 35,0 % ($p < 0,005$) u PET pozitivních (obr. 1) a OS 95,8 % proti 62,2 % ($p < 0,005$). Obdobný výsledek byl dosažen při hodnocení PET na konci léčby, kdy PFS bylo 73,6 % proti 51,7 % ($p < 0,05$) pro PET negativní skupinu proti PET pozitivní a OS bylo 88,1 % proti 59,1 % ($p < 0,05$). Výsledky byly výraznější ve skupině s klinicky nízkým a středně nízkým rizikem podle mezinárodního prognostického indexu.



Obr. 1. Pravděpodobnost přežití bez známek progresu (PFS) v celém souboru podle časného PET (pozitronová emisní tomografie) hodnocení: negativní (PET neg) proti pozitivním (PET pos); $p < 0,005$

Na základě dosažených výsledků se ukazuje významná prediktivní hodnota PET vyšetření pro nemocné s agresivním NHL, kteří jsou léčeni intenzivním chemoterapeutickým režimem. Na základě prospektivních klinických studií by bylo možné podle časného vyšetření upravovat intenzitu léčby, obzvláště u nemocných, kteří jsou jinak považováni při diagnóze za méně rizikové, a tudíž je u nich plánována méně intenzivní terapie.

2. VYSOKODÁVKOVANÁ TERAPIE S AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACÍ KRVETVORNÝCH BUNĚK

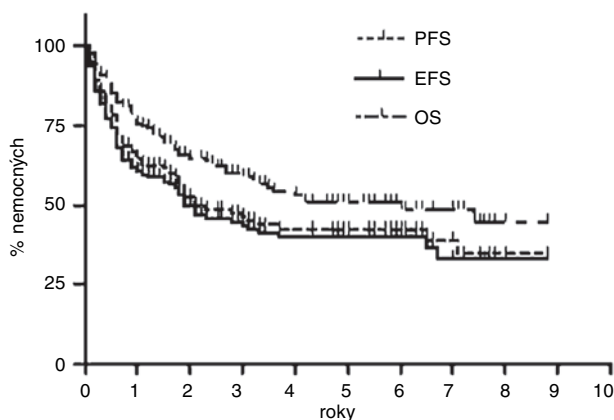
Vysokodávkovaná terapie s autologní transplantací (ASCT) se v průběhu deseti let, co jsme ji začali zavádět, stala nedílnou součástí léčby maligních lymfomů, které jsou stále nejčastější indikací k provedení ASCT, i když se očekává, že v budoucích letech prvé místo zaujme myelom. Jejím principem je překonání myelotoxického, respektive myeloablačního účinku eskalované dávky chemoterapie, případně kombinované s radioterapií, podáním krvetvorných buněk, které byly nemocnému odebrány v předchozí fázi a po dobu podávání vysokodávkované terapie byly uchovávány kryokonzervované obvykle při teplotě tekutého dusíku. Maximální tolerovatelnou dávkou léčby potom limitují jiné toxické účinky chemoterapiem, mezi něž patří zejména slizniční toxicita gastrointestinálního traktu, hepatotoxicita, renální toxicita, kardiotoxicita a další. Peritransplantační toxicita je však vcelku dobře tolerována a úmrť na toxicitu léčby poklesla v posledních letech pod 5 %. Na terapeutických modelech bylo prokázáno, že eskalovaná dávka chemoterapie je schopna překonat chemorezistenci, avšak v klinické praxi se ukazuje, že nemocní, kteří mohou mít největší benefit, jsou osoby s chemosenzitivním tumorem v relapsu. Jako zdroj krvetvorných buněk sloužila kostní dřeň, avšak v posledních deseti letech byla nahrazena tzv. periferními progenitorovými buňkami, které jsou vyplavovány (mobilizovány) do periferní krve ve fázi reparace po chemoterapii a po podávání hematopoetických růstových faktorů, zejména faktoru stimulačního granulocytové kolonie. V klinické praxi je identifikujeme jako buňky exprimující CD34 antigen, který nesou prekursorové a progenitorové krvetvorné buňky. Předpokladem úspěšného provedení tohoto zákroku je tedy správně indikovaný nemocný ve fázi onemocnění, kdy eskalace dávky může přinést větší prospěch i za cenu zvýšeného rizika komplikací proti standardní léčbě, bez závažných kontraindikací, a sběr dostatečného množství krvetvorných buněk.

Celkem bylo hodnoceno 191 transplantací u 169 nemocných s diagnózou ne Hodgkinského maligního lymfomu, transplantovaných na našem pracovišti od prosince 1993 do února 2003. Indikací nemocných k provedení autologní transplantace byl relaps onemocnění, nedosažení kompletní remise jako konsolidace indukční terapie v rámci prospektivních klinických studií. Nejčastější diagnózou byl difúzní velkobuněčný lymfom řady B (DLBCL), který byl diagnostikován u 77 nemocných (45,6 %), následován folikulárním lymfomem s 57 případy (33,7 %), dále lymfomem z pláštových buněk (MCL) s 11 případy (6,5 %). Míru předlčení charakterizuje počet terapeutických linií, jejichž medián byl 2 (1–5), nebo počet cyklů s mediánem 9 (2–23), které byly nemocným podány od diagnózy do provedení HDT s ASCT. Radioterapii prodělalo 45 nemocných (26,6 %).

Důvodem k indikaci HDT s transplantací bylo ve 24 případech (14,2 %) plánované provedení jako součást indukční terapie u nemocných s rizikovým NHL. Nedosažení kompletní remise při indukční terapii bylo důvodem u 42 nemocných (24,9 %). V 11 případech se jednalo o primární progresi na indukční terapii (6,5 %). Zcela nejčastějším důvodem k provedení ASCT byl relaps onemocnění, který byl jako chemosenzitivní hodnocen v 79 případech (46,8 %) a chemorezistentní ve 13 případech (7,7 %). Při restagingu před transplantací nebo při hodnocení léčebné odpovědi bylo 53 nemocných hodnoceno jako kompletní remise (CR), ve 27 případech byl stav hodnocen jako nejistá CR (uCR) (16,0 %), v 65 případech (38,5 %) byl stav hodnocen jako parciální remise (PR) a ve 24 případech jako rezistentní onemocnění (14,2 %).

Vysokodávkovaná terapie se skládala nejčastěji z režimu BEAM ($n = 133$; 78,7 %), dále bylo 26 nemocných (15,4 %) zařazeno do protokolu s tandemovou transplantací. Při restagingu před transplantací nebo při hodnocení léčebné odpovědi bylo 53 nemocných hodnoceno jako kompletní remise (CR), ve 27 případech byl stav hodnocen jako nejistá CR (uCR) (16,0 %), v 65 případech (38,5 %) byl stav hodnocen jako parciální remise (PR) a ve 24 případech jako rezistentní onemocnění (14,2 %).

Při všech 191 transplantacích byly použity periferní progenitorové buňky, v 7 případech k nim byla přidána kostní dřeň. Medián CD34+ buněk ve štěpu byl $6,4 \cdot 10^6/\text{kg}$. Odpověď se standardně hodnotí do dne +100 po transplantaci, přičemž se uvažuje nejlepší dosažená odpověď. Celkem bylo konstatováno dosažení (nebo potvrzení) kompletní remise u 92 nemocných (54,4 %), u 16 (9,5 %) byl stav hodnocen jako nejistá kompletní remise (uCR), u 42 (24,9 %) jako parciální remise (PR), u 14 jako progredující, respektive rezistentní onemocnění (8,3 %). Pravděpodobnost doby do progresu (PFS) byla v pěti letech v celém souboru 42,5 %, přežití bez významné události (EFS) 40,0 % a celkové přežití 51,1 % (obr. 2).



Obr. 2. Pravděpodobnost přežití bez progresu (PFS), bez významné události (EFS) a celkového přežití (OS) u 169 nemocných transplantovaných pro nehodgkinský maligní lymfom (NHL)

Analyzovali jsme následující faktory, které by mohly ovlivnit výsledek léčby: věk, pohlaví, diagnóza, postižení kostní dřeně, selekce, stav při transplantaci, míra předléčení, množství CD34+ buněk, transplantační režim, dosažený výsledek po transplantaci. V univariační analýze se jako významné faktory ukázaly diagnóza, doba od diagnózy k relapsu, fáze nemoci při transplantaci, stav nemoci (chemosenzitivita) při transplantaci, nejlepší výsledek po transplantaci. V multivariační analýze zůstaly významným faktorem pouze stav nemoci při transplantaci a nejlepší výsledek po transplantaci. Při hodnocení největších podskupin – DLBCL a FL – se ukázalo, že transplantace může být kurativní (dosažení fáze plateau při hodnocení PFS) u nemocných s DLBCL, zatímco u FL byla pozorován stálý pokles PFS.

Nejčastější příčinou selhání transplantační léčby je relaps onemocnění. Diskutuje se o původu relapsu, který může vzniknout z perzistujícího nádoru v nemocném, nebo z buněk nádoru, které kontaminují odebraný štěp s krvetvornými buňkami, nebo z obo-

jího. Zkoušela se proto eliminace nádorových buněk ze štěpu *in vitro* pomocí tzv. pozitivní selekce CD34+ progenitorových buněk, kdy je dosahováno deplece nádorových buněk o 2–3 řády, nebo negativní selekcí, většinou pomocí monoklonálních protilátek, kdy je dosahováno deplece až o 4–5 řádů. Výsledky těchto klinických studií nejsou jednoznačné a ani naše limitované zkušenosti (celkem u 13 nemocných) neopravňují ke standardnímu použití této metody.

Při hledání cest k dalšímu zlepšení výsledků autologních transplantací u lymfomů se jako nejslibnější jeví inkorporace imunoterapie do léčebné strategie. V současné době se ukázalo, že použití antiCD20 protilátky vede k lepší kontrole nemoci před transplantací a také k významně lepší depleci nádorových buněk z kostní dřeně, periferní krve a v konečném důsledku i z použitého štěpu krvetvorných buněk. Další možností je využití monoklonálních protilátek s navázaným radionuklidem (antiCD20 protilátka např. s yttriem 90 nebo jodem 131), které umožní dopravení zářiče k tumoru a tím relativní ochranu ostatních nepostižených tkání a orgánů a následně tak zvýšení celkové dávky záření proti standardně užívanému celotělovému ozáření. Otevřenou kapitolou je udržovací imunoterapie po transplantaci, ať již pasivní pomocí protilátek, nebo využití vakcinace.

ZÁVĚR

Léčba ne Hodgkinských maligních lymfomů zaznamenala výrazný pokrok. V současné době se jako klinicky nejvýznamnější faktory jeví možnost individualizace léčby pomocí biologických a klinických prognostických faktorů, které mohou být významně doplněny časným hodnocením léčebné odpovědi pozitronovou emisní tomografií. Ve vybraných případech je efektivní možností intenzifikace léčby vysokodávkovaná terapie s autologní transplantací krvetvorných buněk. Její účinné využití se v současné době zvyšuje s možností inkorporace imunoterapie do léčebné strategie.

VIROVÁ HEPATITIDA C: 15 LET A DALŠÍ PERSPEKTIVA



Doc. MUDr. Petr Urbánek, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, IV. interní klinika
– klinika gastroenterologie a hepatologie



SOUHRN

Úvod. Virus hepatitidy C (HCV) byl identifikován v roce 1989. Jeho genom je tvořen jednovláknovou RNA pozitivní polarit. Rozlišit lze oblasti kódující strukturální proteiny a nestrukturální proteiny. Transkripce a translace genomu vzniká jeden velký polyprotein, který je s účastí hostitelských signálních peptidáz štěpen na jednotlivé funkční proteiny. Počet osob infikovaných HCV se v současné době odhaduje na 170–200 miliónů. Jednotlivé geografické oblasti se liší genotypovým zastoupením HCV. Mezi cesty šíření infekce HCV patří především přenos pomocí krevních derivátů. Nově vzniklé případy infekce HCV jsou zaznamenávány především mezi intravenózními toxikomany, postupně narůstá i význam sexuálního a vertikálního přenosu infekce HCV. Průběh infekce HCV je velmi individuálně rozdílný. Celkově se uvádí, že přibližně 20 % osob chronicky infikovaných dospěje za 20–30 let do stadia jaterní cirhózy. Standardní terapií chronické infekce HCV je dvojkombinace pegylovaných interferonů α (PEG-IFN) a ribavirinu.

Vlastní výsledky. 1. epidemiologická analýza: výskyt rizikových faktorů (RF) přenosu byl posouzen u souboru 302 osob. Rizikové faktory byly prokázány s následující četností: krevní převody 17 % osob, intravenózní aplikace drogy 17 %, pravidelné dialyzační léčení 9 %, profesionální riziko 7 %, sexuální kontakt s osobou HCV RNA pozitivní 4 %, chirurgický výkon 15 %, invazivní vyšetření 7 %, tetováž 4 %. U 20 % osob nebyl prokázán žádný RF. **2. prevalence genotypů HCV:** vyšetření bylo provedeno u 210 osob. Největší prevalenci vykázal genotyp HCV 1b 57 %, genotypem HCV 1a bylo infikováno 30 % osob. **3. stanovení HCV RNA v mononukleárních buňkách periferní krve (PBMK):** HCV RNA byla prokázána v 60 % případech u pacientů s akutní infekcí HCV, v 76 % u chronické hepatitidy C a ve 100 % případech u pacientů s jaterní cirhózou při infekci HCV. **4. terapie akutní infekce HCV u dialyzovaných osob:** kritéria akutní infekce HCV byla splněna u 19 osob. Léčba byla zahájena u 18 z nich.

Použito bylo dvoufázové terapeutické schéma. Fáze A: interferon $\alpha 2b$ 10 MU s.c. po dobu 21 dnů. Fáze B: interferon $\alpha 2b$ 3 MU s.c. 3× týdně po dobu 12 týdnů. Setrvalé virologické odpovědi (negativní sérová HCV RNA ve 48. týdnu léčby) bylo dosaženo u 72 % osob.

Závěr. V 55 % případů lze infekci HCV považovat za iatrogenní či nozokomiální – na přenosu se pravděpodobně podílel zdravotní systém. V České republice dle očekávání dominuje infekce genotypem HCV 1b (57 %). Akutní infekce HCV představuje nejlépe léčitelnou formu infekce HCV, proto by mělo být u osob v riziku (například osob zařazených do pravidelného dialyzačního léčení) po infekci aktivně pátráno. V budoucnu je třeba očekávat nárůst obtížně léčitelných případů infekce HCV a pokročilých jaterních onemocnění charakteru jaterní cirhózy a jejích komplikací (hepatocelulární karcinom a dekompenzace jaterní cirhózy).

Klíčová slova: virus hepatitidy C – chronická hepatitida – jaterní cirhóza.

SUMMARY

Hepatitis C virus (HCV) was originally described in 1989. The genome of HCV encodes a single large open reading frame and highly conserved untranslated regions (UTR) at the 5' and 3' ends. There is approx. 170–200 millions of people infected worldwide. The prevalence of HCV is different according to the economical status of the region. The most common risk factor associated with chronic HCV infection is an exposure to blood or blood products before 1990. Most individuals develop chronic infection after exposure to HCV. The long-term natural history may never be known, but the figure of 20 % is widely accepted as a rough estimate. Antiviral treatment for HCV infection is currently based on the combination of pegylated interferons and ribavirine.

Original results. 1. Analysis of risk factors for HCV infection: known risk factors were found in the following prevalence: exposure to blood transfusions or to other blood products 17 %, injection drug use 17 %, regular hemodialysis 9 %, occupational risk 7 %, sexual contact with HCV positive person 4 %, surgery 15 %, invasive procedures 7 %, and tattoo 4 %. In 20 % of all cases no any risk factor for transmission was identified. **2. Prevalence of HCV genotypes:** We have found the highest prevalence of HCV genotype 1 (87 %). Subtype 1a was found in 30 % of pts. **3. HCV infection of peripheral blood mononuclear cells (PBMC):** We have found significantly lower prevalence of HCV infection of PBMC in pts with acute HCV infection (60 %) and in chronic hepatitis pts (76 %) in comparison with liver cirrhosis (100 %). Therefore we conclude that the HCV infection of PBMC does not occur in early phases of HCV infection. Clinical relevance of this finding as well as the clinical impact of the infection of PBMC has to be established in the future studies. **4. Antiviral therapy of acute HCV infection in patients undergoing regular hemodialysis treatment:** sustained virological response (SVR) was achieved in 72 % of cases (13 pts). In 22 % of pts the end of treatment response was achieved but after treatment discontinuation HCV relapsed (CR + R). 6 % of pts did not achieved any kind of response therefore these pts were classified as nonresponders.

Conclusions. In 55 % HCV infection may be classified as an iatrogenic infection. There is a genotype HCV 1b the most prevalent in Czech republic (57 %). Acute HCV infection seems to be the best treatable phase of HCV infection.

ÚVOD

Chronické virové infekce jater představují v současné době jeden z největších celosvětových zdravotních problémů. Tato skutečnost je dána jednak velkým počtem osob, které jsou viry nakaženy, jednak tím, že v řadě případů v důsledku chronických virových infekcí jater dochází k rozvoji jaterní cirhózy, případně primární rakoviny jater – hepatocelulárního karcinomu. Péče o nemocné v těchto pokročilých stádiích jaterního onemocnění je přitom finančně velmi náročná. Další nepřímé náklady vznikají i vyřazením nemocných osob z pracovního procesu. V současné době je udáváno, že infekce HCV je prokazatelná u asi 200 miliónů lidí na celé planetě.

Vzhledem k uvedeným skutečnostem není divu, že problematika virových hepatitid patří mezi nejdynamičtější se rozvíjející oblasti hepatologie. V posledních 10 letech jsme svědky nebývale rychlého pokroku na poli diagnostiky, terapie ale i prevence virových hepatitid. V důsledku nových poznatků došlo k významnému poklesu incidence potransfúzních hepatitid. Dramaticky se zvýšila i úspěšnost léčby chronických virových hepatitid.

Virologická a genetická charakteristika

Virus hepatitidy C (HCV) byl identifikován v roce 1989. Jedná se o virus řazený do čeledi *Flaviviridae* jako jediný zástupce rodu *Hepacivirus*. Kompletní virion má velikost přibližně 40–60 nm. Obsahuje jednovláknovou RNA pozitivní polarity. V jeho genomu jsou rozlišovány oblasti kódující strukturální proteiny (cca 1/3 genomu u 5' konce) a nestrukturální proteiny (cca 2/3 u 3' konce). Kromě těchto kódujících sekvencí jsou na obou koncích přítomny ještě sekvence nekódující, jejichž význam je znám dnes pouze částečně. Oblast u 5' konce je vysoce konzervativní a oblast u 3' konce je naopak velice heterogenní. Zajímavostí je, že tato oblast u 3' konce u ostatních flavivirů předurčuje spektrum hostitelů daného viru. Virus existuje v 6 genotypech a několika desítkách subtypů.

Transkripce a translace genomu HCV vzniká jeden velký polypeptid, obsahující zhruba 10 000 aminokyselin. Tento polypeptid je dále s účastí hostitelských signálních peptidáz štěpen na jednotlivé funkční proteiny. Strukturálními proteiny jsou jaderný (core) protein a dva proteiny povrchové (E1 a E2). V oblasti E2 bývá rozlišována ještě jedna část, která je označována jako hypervariabilní oblast 1. Kóduje zhruba 30 aminokyselin, které jsou považovány za hlavní neutralizační epitopy HCV. Produkty nestrukturálních oblastí genomu označovaných NS2–NS5 jsou především enzymy, účastníci se procesu virové replikace (helikáza, lipáza, RNA polymeráza). U několika proteinů jejich funkce zatím známa není.

Epidemiologie

Infekce virem hepatitidy C je rozšířena po celém světě. Počet infikovaných osob se v současné době odhaduje na 170–200 miliónů. Jednotlivé geografické oblasti se liší genotypovým zastoupením HCV. V Evropě dominuje genotyp HCV 1.

Možné rizikové faktory pro přenos infekce HCV ukazuje obr. 1. Přenos kontaminovanými krevními deriváty byl nejvýznamnější až do počátku 90. let 20. století, kdy všichni dárci krve začali být vyšetřováni na případnou reaktivitu anti-HCV protilátek. Zavedení těchto screeningových metod vedlo k tomu, že incidence potransfúzní hepatitidy C je celosvětově téměř 0 %. V období od roku 1992 nastala významná změna. Nově vzniklé případy infekce HCV jsou v 60 % případů zaznamenávány mezi intra-



Obr. 1. Možné rizikové faktory přenosu HCV

venózními toxikomany, postupně narůstá i význam sexuálního a vertikálního přenosu infekce HCV.

Česká republika patří zjištěnou prevalencí anti-HCV 0,11 % v běžné populaci mezi země s prevalencí nízkou či velmi nízkou. Podobně je tomu i v dalších vyspělých zemích v Evropě a Americe. Celosvětově největší prevalence je v Egyptě, 15–20 %.

Průběh neléčené infekce HCV

Průběh infekce HCV je velmi individuálně rozdílný. Akutní infekce v 80 % případů přechází do chronického stadia. Asi u 70–80 % osob chronicky infikovaných se během let vyvine postižení jater charakteru chronické hepatitidy. Přibližně 20 % osob chronicky infikovaných však za 20–30 let dospěje do stadia jaterní cirhózy. Nejspolehlivějším vodítkem pro odhad individuálního rizika rozvoje jaterní cirhózy je určení stupně jaterní fibrózy v okamžiku stanovení diagnózy infekce HCV. K rozvoji jaterní cirhózy dojde přibližně u 50 % pacientů se středně pokročilou fibrózou (např. stage 3 dle Ishaka) během 5 let od provedení vstupní jaterní biopsie.

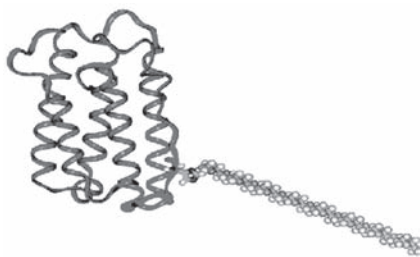
Protivirová terapie

Standardní terapií chronické infekce HCV je dvojkombinace pegylovaných interferonů α (PEG-IFN) a ribavirinu (RBV) – obr. 2. Navázání polymeru polyethylenglykolu na molekulu interferonu α vede k prodloužení jeho biologického poločasu ve srovnání s původním, tzv. konvenčním IFN. Tato skutečnost umožnila podávat PEG-IFN pouze jedenkrát týdně, což vedlo k významnému zlepšení komfortu pacientů. Nezanedbatelné jsou i příznivější parametry virologické odpovědi po podání pegylovaných interferonů α . Vyléčení infekce HCV je v současné době dosahováno v 60 % případů. Historické srovnání účinnosti dosud používaných léčebných schémat ukazuje obr. 3.

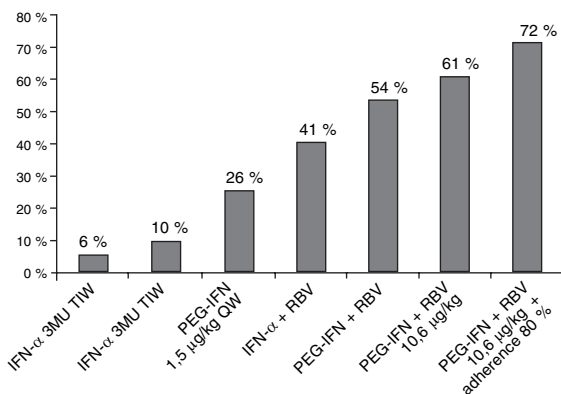
VLASTNÍ VÝSLEDKY

1. Epidemiologická analýza souboru

Soubor nemocných. Soubor pacientů pro epidemiologickou analýzu tvořily osoby, u nichž byla v období od 1. ledna 1995 do 31. prosince 2002 stanovena diagnóza akutní



Obr. 2. Schematické znázornění struktury pegylovaného IFN- α 2b



Obr. 3. Srovnání účinnosti léčebných schémat užívaných v letech 1991–2003

či chronické infekce virem hepatitidy C (HCV). Diagnostickým kritériem byla reaktivita sérových anti-HCV protilátek a pozitivita sérové HCV RNA metodou polymerázové řetězové reakce (PCR). Tato vstupní kritéria byla splněna u 302 osob (167 mužů, 135 žen) průměrného věku 37,2 roku.

Výsledky. Sledované rizikové faktory (RF) byly prokázány s následující četností: krevní převody 17 % osob, intravenózní aplikace drogy 17 %, pravidelné dialyzační léčení 9 %, profesionální riziko 7 %, sexuální kontakt s osobou HCV RNA pozitivní 4 %, chirurgický výkon 15 %, invazivní vyšetření 7 %, tetováž 4 %. U 20 % osob nebyl prokázán žádný RF. Byly zaznamenány velké rozdíly v expozici RF podle věku infikovaných osob.

2. Výskyt genotypů HCV v souboru

Soubor nemocných. Genotypizace byla provedena u osob s prokázanou infekcí HCV od roku 1998 včetně (rok zavedení metodiky) do 31. prosince 2002. Vyšetření bylo provedeno u 210 osob.

Výsledky. V souladu s údaji ze sousedních zemí byla prokázána největší prevalence genotypu HCV 1b (57 %), následoval genotyp 1a prokazatelný ve 30 % případů. Genotyp 2a byl prokázán ve 4 % případů, genotyp 2b v 7 % případů.

3. Průkaz HCV RNA v mononukleárních buňkách periferní krve

Soubor nemocných. Stanovení HCV RNA v mononukleárních buňkách periferní krve (PBMC) bylo provedeno u 10 osob s akutní infekcí HCV, u 45 osob s chronickou infekcí HCV s histologicky prokázanou chronickou hepatitidou a u 10 osob s histologicky verifikovanou jaterní cirhózou.

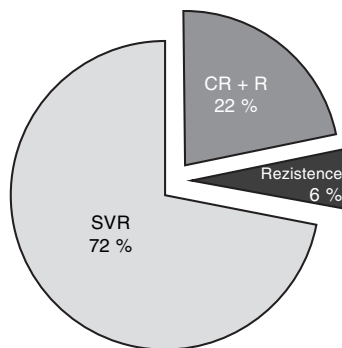
Výsledek. Podařilo se prokázat, že výskyt HCV infekce PBMC (pozitivita HCV RNA v PBMC) je významně nižší u pacientů s akutní infekcí (60 %) a pacientů s chronickou hepatitidou (76 %) proti pacientům s jaterní cirhózou (100 %). Protože podstatným faktorem, který určuje závažnost jaterní léze, je doba trvání infekce, je pravděpodobné, že k infekci mononukleárních buněk nedochází v časných fázích infekce.

4. Terapie akutní infekce HCV u pacientů v pravidelném dialyzačním léčení (PDL)

Soubor nemocných. Akutní infekce HCV byla diagnostikována v letech 1996–2001 u 19 osob v PDL na dialyzačním středisku I. interní kliniky 1. LF UK a VFN. Terapie byla zahájena u 18 osob.

Terapeutické schéma. Fáze A: interferon $\alpha 2b$ 10 MU s.c. denně po dobu 21 dnů, Fáze B: interferon $\alpha 2b$ 3 MU 3× týdně po dobu 12 týdnů.

Celková účinnost léčby. Setrvalé virologické odpovědi (SVR, kritérium vyléčení infekce) bylo dosaženo v 72 % případů (13 osob). Ve 22 % případů bylo dosaženo odpovědi během terapie, avšak po ukončení došlo k relapsu infekce (CR + R). Pouze v 6 % případů nebyl zaznamenán žádný účinek, šlo o rezistenci na terapii (obr. 4).



Obr. 4. Celková účinnost protivirové léčby pacientů s akutní infekcí virem hepatitidy C v PDL (48. týden po skončení léčby)

SHRNUTÍ A ZÁVĚR

Analýza vlastního souboru nemocných s infekcí HCV ukazuje na závažnou skutečnost, že až v 55 % případů se na přenosu HCV mohl podílet zdravotní systém. Dále se nám podařilo prokázat, že v řadě případů je prokazatelná HCV RNA v mononukleárních buňkách periferní krve (PBMC). Virová hepatitida C tedy infikuje nejen hepatocyty, ale také PBMC. Tento fenomén může mít určitý vztah k vysvětlení vzniku některých extrahepatálních manifestací HCV, jako je například smíšená kryoglobulinémie. Naše vlastní zkušenosti svědčí dále pro to, že akutní infekce HCV představuje nejlépe léčitelnou formu infekce HCV. V souboru 18 nemocných zařazených do pravidelného dialyzačního léčení jsme dvoufázovým léčebným schématem monoterapie IFN- α dosáhli setrvalé virologické odpovědi v 72 % případů.

METABOLISMUS BILIRUBINU VE STŘEVĚ



Doc. MUDr. Libor Vítek, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice,
Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky
a IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie



SOUHRN

Úloha střevního metabolismu bilirubinu je neprávem podceňována, a to i přes významné klinické důsledky. V předkládané práci jsou shrnuty poznatky z oblasti metabolismu žlučových pigmentů ve střevě dosažené autorem a spolupracovníky a zdůrazněna je úloha enterohepatální cirkulace bilirubinu v patogenezi určitých patologických stavů, jako jsou například novorozenecká hyperbilirubinémie nebo některé formy pigmentové cholelithiázy či vrozené nekonjugované hyperbilirubinémie. Byla prokázána úloha střevní motility v patogenezi hyperbilirubinémie vyvolané hladověním, kdy v důsledku oblenění střevní peristaltiky dochází k významné enterohepatální a enterosystémové cirkulaci bilirubinu. Na základě detailních studií byl za podmínek těžkých nekonjugovaných hyperbilirubinemií podrobně charakterizován alternativní způsob vylučování bilirubinu z krevního řečiště pasivní difúzí přes střevní stěnu. Poprvé byl kvantifikován vliv střevní mikroflóry na vznik a rozvoj novorozenecké hyperbilirubinémie. Na zvířecím modelu byla prokázána úloha střevní mikroflóry na homeostázu bilirubinu v systémovém řečišti s úzkou souvislostí mezi stupněm katabolismu bilirubinu ve střevě a koncentrací bilirubinu v systémovém řečišti. Podobný efekt na sérové hladiny bilirubinu byl zjištěn na zvířecím modelu i po podání zinkových solí, které narušují enterohepatální cirkulaci bilirubinu. Dále byly postulovány nové názory na patogenezi pigmentové cholelithiázy sdružené s malabsorpcí žlučových kyselin doprovázející afekce postihující distální ileum, kde je lokalizován aktivní transport žlučových kyselin ze střeva. Byly navrženy diagnostické postupy, stejně tak jako terapeutické přístupy, které by měly v budoucnu zásadně ovlivnit výskyt pigmentové cholelithiázy doprovázející tato onemocnění. Všechny zjištěné poznatky lze využít v diagnostice a léčbě onemocnění, v jejichž patogenezi se uplatňuje enterohepatální a enterosystémová cirkulace bilirubinu. Zejména lze očekávat vyvinutí selektivních sekvstrantů bilirubinu ve střevním lumen, které by bylo možno využít hlavně v terapii novorozenecké žloutenky.

Velmi atraktivní se jeví možnost zvýšit degradaci bilirubinu ve střevním lumen pomocí probiotik redukujících bilirubin na netoxické deriváty, eventuálně genová léčba pomocí modifikovaných mikroorganismů s implementovaným genem pro enzym redukující bilirubin. Tento navrhovaný terapeutický způsob by mohl nejen významně snížit výskyt novorozenecké žloutenky i jejích komplikací s výraznými socioekonomickými dopady, ale mohl by mít využití i v léčbě některých vzácnějších poruch metabolismu bilirubinu, jako je například Criglerův-Najjarův syndrom, a samozřejmě i v prevenci pigmentové cholelithiázy u predisponovaných jedinců.

SUMMARY

In spite of substantial clinical impact the role of intestinal metabolism of bilirubin has been underestimated. In this thesis findings from the field of intestinal metabolism of bilirubin discovered by the author and collaborators are summarized and the role of enterohepatic cycling of bilirubin in the pathogenesis of certain pathologic conditions such as neonatal jaundice, some forms of pigment gallstones or inborn unconjugated hyperbilirubinemias is emphasized. The role of intestinal motility in the pathogenesis of fasting hyperbilirubinemia was proved and it was found that decreased intestinal peristalsis is responsible for enhanced enterohepatic and enterosystemic cycling of bilirubin. Based on detailed studies on animals with severe unconjugated hyperbilirubinemia alternative disposal of bilirubin via passive diffusion of bilirubin through the intestinal wall was characterized. For the first time the influence of intestinal microflora for development of neonatal jaundice was quantified. The role of intestinal microflora for bilirubin catabolism and its association with metabolism of bilirubin in the intravascular compartment was proved on animal model. Similar effect on serum bilirubin levels in hyperbilirubinemic animals was demonstrated also for zinc salts. In addition, novel views on the pathogenesis of pigment gallstone disease associated with bile salt malabsorption accompanying diseases of distal ileum were postulated. Diagnostic algorithms as well as therapeutic approaches, which could affect prevalence of pigment gallstones were proposed. All the findings discussed might be utilized in the diagnosis and treatment of diseases, whose pathogenesis is influenced by enhanced enterohepatic and enterosystemic circulation of bilirubin. In particular, one may expect development of novel selective bilirubin sequestrants in the intestinal lumen, which could be used namely in the treatment of neonatal jaundice. Enhancement of bilirubin degradation on the intestinal lumen using probiotics reducing bilirubin onto non-toxic derivatives, or gene therapy with modified microorganisms with implemented gene for bilirubin reductase seems very attractive. This proposed therapeutic option might not only decrease prevalence of neonatal jaundice and its complications with substantial socio-economic impacts, but may be also used in the treatment of rare disorders of bilirubin metabolism such as Crigler-Najjar syndrome and of course for the prevention of pigment gallstones in predisposed subjects.

ÚVOD

Bilirubin je hlavní organický produkt katabolismu hemu v systémové cirkulaci a jeho produkce, metabolismus i vylučování jsou v organismu udržovány v rovnováze. Při narušení této rovnováhy dochází k akumulaci bilirubinu v séru a hovoříme o tzv. hyperbilirubinémii. Ačkoliv mírná elevace hladin bilirubinu v séru má v důsledku jeho silných antioxidačních vlastností pro organismus protektivní charakter, dochází při překročení určité hladiny bilirubinu v séru k nebezpečí rozvoje toxických účinků zejména v oblasti centrálního nervového systému. Tímto nebezpečím jsou ohroženi především jedinci s novorozeneckou hyperbilirubinémií a dále pak pacienti s těžkými vrozenými nekonjugovanými hyperbilirubinémiemi. U všech těchto patologických stavů se v patogenezi významně uplatňuje enterohepatální a enterosystémová cirkulace bilirubinu.

Střevní metabolismus bilirubinu

Konjugovaný bilirubin biotransformovaný v jaterní tkáni vazbou s kyselinou glukuronovou je vyloučen do žluči a žlučovými cestami se dostává do tenkého střeva a odtud do střeva tlustého. Zde je dekonjugován zejména bakteriálním enzymem β -glukuronidázou za odštěpení zbytku kyseliny glukuronové. Dekonjugovaný bilirubin je poté degradován bakteriálními oxidoreduktázami na hydroderiváty bilirubinu souborně nazývané urobilinoidy. Bakterie, které osidlují střevní trakt, představují velmi složitý, ale relativně stabilní ekosystém. V proximální polovině tenkého střeva se bakterie prakticky nevyskytují z důvodu kyselého prostředí udržovaného žaludeční šťávou. Distální polovina tenkého střeva představuje přechodovou zónu, počet bakterií zde postupně roste a složení mikroflóry (hlavně G^- a anaerobní bakterie) se podobá složení v tlustém střevě. Tlusté střevo je nejhustěji osídlenou částí střevního traktu. Obsahuje přibližně 10^{10} mikroorganismů/ml střevního obsahu a více než 400 různých bakteriálních druhů. Počet anaerobních bakterií převažuje nad aeroby. Mezi hlavní druhy patří zejména *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* a v menším počtu *Clostridium*, *Lactobacillus* a *Streptococcus*. Stabilita a složení mikroflóry je ovlivněna metabolickou aktivitou vyskytujících se mikroorganismů. Vzájemně ovlivňují svůj růst a tím mezi sebou udržují rovnováhu a zároveň tak chrání svého hostitele před infekcemi gastrointestinálními patogeny.

U člověka je střevní exkrece bilirubinu a jeho katabolitů hlavní vylučovací cestou. Bilirubinu se denně vyloučí zhruba 10 % celkové denní produkce, zatímco jeho hydroderivátů urobilinoidů zhruba 50 %, i když toto procento velice kolísá. Zbýlá část denní produkce bilirubinu je metabolizována na jiné, nepřesně charakterizované metabolity, jako jsou například mesobilifusciny nebo dipyrolické fragmenty bilirubinu. Metabolizace bilirubinu na urobilinoidy představuje tedy pro bilirubin přirozenou katabolickou cestu a je skutečně podmíněna střevními bakteriemi. Tento fakt byl potvrzen trvalou absencí urobilinoidů ve stolici potkanů bez střevní mikroflóry a také vymizením urobilinoidů ve stolici potkanů a lidí po podání perorálních antibiotik. Bakteriální mikroflóra redukující bilirubin je v gastrointestinálním traktu dospělého člověka přítomná obligatorně. Produkce urobilinoidů v zažívacím traktu dospělého člověka dosahuje za normálních podmínek zhruba 2,2 mg/den, což reprezentuje více než 150 mg urobilinoidů u 70 kg vážícího jedince. Navzdory takové enormní produkci urobilinoidů zůstává mikrobiální konverze bilirubinu stále neobjasněna. Ačkoliv mikrobiální hydrogenace bilirubinu byla připsána rodu *Clostridium* už ve 20. letech

20. století, první bakterie s katalytickou aktivitou redukující bilirubin byla izolována až v roce 1960. Jednalo se o kmen *C. ramosum* izolovaný ze stolice potkanů kmene Gunn. Druhá bakterie s podobnými katalytickými vlastnostmi, patřící do rodu *Bacteroides fragilis*, byla izolována v roce 1972. Všechny studie a experimenty s těmito bakteriemi byly zaměřena na *in vitro* stanovení katalytické aktivity těchto bakterií za různých kultivačních podmínek. Enzym či enzymy zodpovědné za redukci bilirubinu nebyly doposud izolovány.

Alternativní dráhy metabolismu bilirubinu ve střevě

Tenké střevo hraje v metabolismu bilirubinu významnou úlohu v několika ohledech. Jak již bylo řečeno, bilirubin vyloučený játry a biliárním systémem do střeva podléhá za určitých okolností enterohepatální cirkulaci. Tenké střevo však disponuje stejným enzymovým aparátem nezbytným pro konjugaci bilirubinu jako játra. Aktivita bilirubin UDP glukuronosyltransferázy (UGT1A1) byla prokázána ve sliznici tenkého střeva laboratorních zvířat i člověka. Tenké střevo má tedy kapacitu tvořit konjugáty bilirubinu s kyselinou glukuronovou, jak bylo prokázáno akumulací bilirubin diglukuronidu v plazmě hepatektomizovaných zvířat. Tohoto jevu lze využít i terapeuticky u nemocných s vrozenou těžkou nekonjugovanou hyperbilirubinemií v důsledku chybění aktivity UGT1A1 v jaterní tkáni (Criglerův-Najjarův syndrom I. typu), u kterých po transplantaci tenkého střeva dochází k významnému snížení hladin bilirubinu v séru.

Kromě této metabolické funkce se sliznice tenkého střeva uplatňuje také v katabolismu bilirubinu na dipyrolické fragmenty. Tato reakce je katalyzována monooxygenázami se smíšenou substrátovou specifitou pocházejícími z hepatocytů nebo enzymy přenášenými enterocyty do střevního lumen. Otázkou však zůstává, nakolik se tato metabolická dráha uplatňuje za fyziologických podmínek.

Enterohepatální cirkulace bilirubinu

Existence enterohepatální cirkulace nekonjugovaného bilirubinu byla definitivně prokázána až pomocí radioaktivně značeného bilirubinu v 60. letech 20. století. Bylo zjištěno, že resorbován může být pouze nekonjugovaný bilirubin, zatímco konjugovaný bilirubin musí být předem hydrolyzován, neboť bilirubin diglukuronid nemůže být pro svou velikost a polaritu ze střeva resorbován. K absorpci může docházet v tenkém i v tlustém střevě. Navíc bylo prokázáno, že po resorpci bilirubinu ze střevního lumen do portálního řečiště dochází během prvního průchodu játry k vyloučení pouze 30 % resorbovaného pigmentu, zatímco zbylé dvě třetiny jsou uvolněny do systémové cirkulace a mohou způsobit elevaci sérových hladin bilirubinu.

Tato enterohepatální a enterosystémová cirkulace bilirubinu je však za fyziologických podmínek jen minimální a nemá příliš velký vliv na hladinu bilirubinu v séru. Střední resorpcce bilirubinu však významně stoupá při splnění některé ze specifických podmínek. Z klinického pohledu se enterohepatální cirkulace bilirubinu uplatňuje nejvíce v neonatologii, zejména v důsledku chybění střevní mikroflóry redukující bilirubin, a tento faktor je považován za možný činitel v patogenezi novorozenecké žloutenky. Toto tvrzení je podporováno také celou řadou experimentálních i klinických důkazů, které prokázaly, že perorální látky, které buďto váží bilirubin, inhibují β -glukuronidázu nebo degradují bilirubin ve střevním lumen, mohou vést ke snížení sérových hladin bilirubinu a částečně snížit potřebu fototerapie a výměnných transfúzí u novorozenců.

VLASTNÍ PRÁCE

Hyperbilirubinémie vyvolaná hladověním

Fakt, že během hladovění dochází k elevaci hladin bilirubinu, je znám již déle než sto let. Ačkoli patogeneze tohoto stavu je jistě multifaktoriální, významnou roli v jeho rozvoji hraje střevní motilita. Na experimentálních zvířecích modelech bylo zjištěno, že během hladovění dochází vlivem snížené střevní motility k akumulaci bilirubinu ve střevním lumen a k výrazné enterohepatální a enterosystémové cirkulaci bilirubinu. Studie byly provedeny na potkanech kmene Gunn s vrozenou deficiencí UGT1A1, enzymu konjugujícího bilirubin v játrech a umožňujícího tak jeho eliminaci střevním traktem. Výsledky byly potvrzeny také na zdravých potkanech kmene Wistar po instilaci nekonjugovaného i konjugovaného bilirubinu do střeva v množství odpovídající denní produkci bilirubinu i množství bilirubinu akumulovaného ve střevě během 24hodinového hladovění. Vliv hladovění na hladiny bilirubinu v séru bylo možno zvrátit podáním neabsorbovatelného materiálu do střeva pokusných zvířat. Ačkoli ve studiích nebyl použit radioaktivně značený bilirubin, který by umožnil kvantifikaci zjištěných vztahů, přinesla tato práce jednoznačné důkazy o roli enterohepatální a enterosystémové cirkulace v patogenezi hyperbilirubinémie vyvolané hladověním. Zjištěné poznatky mají i klinické konsekvence, neboť vysvětlují například princip testu hladověním používaného pro diagnostiku Gilbertova syndromu nebo patogenezi hyperbilirubinémie doprovázející střevní hypomotilitu.

Střevní sekrece bilirubinu za podmínek těžké hyperbilirubinémie

Již v minulosti bylo prokázáno, že pacienti s úplným defektem UGT1A1 nemohou vylučovat bilirubin do žluče, avšak odpad jejich žlučových pigmentů stolicí je srovnatelný se zdravými jedinci. Z těchto důvodů bylo zřejmé, že musí existovat alternativní způsob vylučování bilirubinu z krevního řečiště pasivní difúzí přes stěnu střevní za podmínek těžkých nekonjugovaných hyperbilirubinemií. Naše studie byly provedeny na zvířecím modelu představovaném potkany kmene Gunn a dále na pacientech s Criglerovým-Najjarovým syndromem charakterizovaným stejným enzymovým defektem. Ačkoli při této deficienci dochází pouze k zanedbatelné biliární sekreci bilirubinu, je exkrece žlučových pigmentů stolicí zcela srovnatelná s fyziologickým stavem, což zjevně ukazuje na extrahepatální exkrece bilirubinu do střeva. Toto potvrzuje také zjištění, že biliární drenáž vede k vymizení žlučových pigmentů ze stolice zdravých zvířat, zatímco zvířata s defektem UGT1A1 vylučují žlučové pigmenty v nezměněné míře. Přímý důkaz extrahepatální exkrece bilirubinu byl podán v experimentech s intravenózní aplikací radioaktivně značeného nekonjugovaného bilirubinu potkanům s izolovanými kličkami střeva rozděleného na pět segmentů. V těchto experimentech byl prokázán přímý transport značeného nekonjugovaného bilirubinu přes stěnu všech segmentů střeva dle koncentračního gradientu. Celá práce přináší jednoznačné důkazy o alternativních cestách vylučování nekonjugovaného bilirubinu za podmínek nekonjugované hyperbilirubinémie.

Vliv střevní mikroflóry na hladiny bilirubinu v séru v novorozeneckém věku

V této práci jsou shrnuty výsledky studie zaměřené na určení vlivu střevní mikroflóry na vznik a rozvoj novorozenecké hyperbilirubinémie. Ačkoli uvedená problematika

byla zkoumána již dříve a enterohepatální cirkulace bilirubinu byla považována za možný patogenní faktor pro vznik novorozenecké hyperbilirubinémie již od 70. let, přináší uváděná studie nová data týkající se zejména kvantitativních aspektů střevního metabolismu žlučových pigmentů. Bylo prokázáno, že nedostatečná redukce bilirubinu ve střevním lumen novorozenců je významným faktorem uplatňujícím se v patogenezi novorozenecké žloutenky. Dále bylo zjištěno, že urobilinoidy, tedy produkty redukce bilirubinu, se vyskytují ve stolici většiny novorozenců již pátý den po narození. Na rozdíl od dřívějších názorů bylo demonstrováno, že již šest týdnů po narození dosahuje střevní redukce bilirubinu bakteriální mikroflórou hodnot pozorovaných v dospělosti. Navíc byly ze stolice zdravých novorozenců izolovány dva zcela nové bakteriální kmeny redukující bilirubin patřící do rodu *C. perfringens* a *C. difficile*. Ačkoli mikrobiální flóra redukující bilirubin se vyskytuje ve střevním traktu zcela obligatorně, bakterie zodpovědné za katabolismus bilirubinu ve střevě nejsou prakticky známy a redukce bilirubinu střevní mikroflórou nebyla doposud objasněna. Vzhledem k těmto skutečnostem je izolace výše uvedených bakterií velkým přínosem, neboť umožňuje detailní studium enzymu(ů) zodpovědných za redukci bilirubinu.

Katabolismus bilirubinu ve střevním lumen

Práce diskutované v této kapitole byly zaměřeny na studium katabolismu bilirubinu ve střevním lumen. Ačkoli tyto studie nejsou ještě zcela uzavřeny, přinášejí prezentované výsledky nové pohledy na problematiku redukce bilirubinu ve střevním lumen. Na zvířecím modelu potkanů kmene Gunn byla jednoznačně prokázána úloha střevní mikroflóry na homeostázu bilirubinu v systémovém řečišti. Eradikací bakterií redukujících bilirubin ze zažívacího traktu pokusných zvířat došlo k významné elevaci hladin bilirubinu v séru, zatímco opětovná kolonizace střeva bakteriemi redukujícími bilirubin vedla k poklesu sérového bilirubinu. Z těchto studií vyplývá úzká souvislost mezi stupněm katabolismu bilirubinu ve střevě a koncentrací bilirubinu v systémovém řečišti. Podobný účinek na sérové hladiny bilirubinu byl zjištěn na zvířecím modelu i po podání zinečnatých solí, které narušují enterohepatální cirkulaci bilirubinu a mohly by mít i terapeutické využití u pacientů s těžkými nekonjugovanými hyperbilirubinemiemi či jedinců predisponovaných ke vzniku černých pigmentových kamenů. Vyzkoušena byla celá řada adsorbentů, avšak hypobilirubinemický efekt byl zjištěn pouze pro zinečnaté soli. Tyto výsledky jsou v souladu s recentními pracemi popisujícími podobný účinek u jedinců s benigní hyperbilirubinemií (Gilbertův syndrom), což naznačuje, že tyto látky by mohly být potenciálně využity i v terapii těžkých vrozených nekonjugovaných hyperbilirubinemií, k prevenci novorozenecké žloutenky například u nedonošených novorozenců, stejně tak jako k prevenci pigmentové cholelithiázy u predisponovaných jedinců. V dalších experimentech byly částečně charakterizovány nové produkty bakteriální redukce bilirubinu a zjištěna široká substrátová specifita bakteriálního enzymu(ů) vůči celé řadě žlučových pigmentů.

Vliv enterohepatální cirkulace bilirubinu na patogenezi pigmentové cholelithiázy

Tato práce je rozsáhlým přehledovým článkem týkajícím se úlohy enterohepatální cirkulace bilirubinu v patogenezi pigmentové cholelithiázy. Na základě kritické analýzy publikovaných prací i vlastních studií autorů byly předloženy zcela nové názory na patogenezi pigmentové cholelithiázy sdružené s malabsorpcí žlučových kyselin doprovázející afekce postihující distální ileum, kde je lokalizován aktivní transport žlučo-

vých kyselin ze střeva. Mezi hlavní tato onemocnění a patologické stavy patří zejména Crohnova choroba, resekce či bypass ilea, ale také cystická fibróza, abúzus alkoholu, celková parenterální výživa, diety s vysokým obsahem určitých živin, nebo léčba žlučovými kyselinami. Malabsorpce žlučových kyselin vede ke zvýšené solubilizaci nekonjugovaného bilirubinu s jeho následnou reabsorpcí ze střevního lumen do portálního řečiště a biliární hypersekrecí bilirubinu, který má tendenci vypadávat z roztoku ve formě kalcium bilirubinátových solí tvořících základ pigmentových žlučových kamenů. Na základě veškerých známých poznatků o enterohepatální cirkulaci bilirubinu a úloze bilirubinu v patogenezi pigmentové cholelithiázy zasazených do kontextu posledních objevů týkajících se buněčných mechanismů transportu žlučových pigmentů i solí žlučových kyselin v játrech i v tenkém střevě a na základě těchto dat byl definován nový syndrom pigmentové cholelithiázy.

ZÁVĚR

Střevní metabolismus bilirubinu hraje významnou úlohu v homeostáze žlučových pigmentů a spolupodílí se za určitých okolností na patogenezi nekonjugovaných hyperbilirubinemií i pigmentové cholelithiázy. Úloha střevního metabolismu bilirubinu je neprávem podceňována, a to i přes významné klinické důsledky. S rozvojem poznání lze očekávat využití poznatků z této oblasti metabolismu žlučových pigmentů v diagnostice a léčbě onemocnění, v jejichž patogenezi se uplatňuje enterohepatální a enterosystémová cirkulace bilirubinu. Zejména lze očekávat vývoj selektivních sekvstrantů bilirubinu ve střevním lumen, které by bylo možno využít hlavně v terapii novorozenecké žloutenky. Velmi atraktivní se jeví také možnost zvýšit degradaci bilirubinu ve střevním lumen pomocí probiotik redukujících bilirubin na netoxické deriváty, eventuálně genová léčba pomocí modifikovaných mikroorganismů s implemmentovaným genem pro enzym redukující bilirubin. Možným přístupem je samozřejmě také přímá enzymoterapie imobilizovanou bilirubin reduktázou. Tento navrhovaný terapeutický způsob by mohl nejen významně snížit výskyt novorozenecké žloutenky i jejích komplikací s výraznými socioekonomickými dopady, ale mohl by mít využití i v léčbě některých vzácnějších poruch metabolismu bilirubinu, jako je například Criglerův-Najjarův syndrom, a také v prevenci pigmentové cholelithiázy u predisponovaných jedinců.



ÚLOHA HEPCIDINU V REGULACI KINETIKY ŽELEZA V ORGANISMU



Doc. MUDr. Martin Vokurka, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta,
Ústav patologické fyziologie*

SOUHRN

Železo je prvek, který má v lidském organismu mnoho zásadních funkcí, ale v nadbytku je toxický. Regulace jeho množství a distribuce má proto zásadní význam. Heparin, peptid s antimikrobiálními vlastnostmi produkován v játrech, je považován za klíčový regulátor kinetiky železa se vztahem k lidským onemocněním. Snižuje resorpci železa ve střevě a působí jeho sekvestraci v monocyto-makrofágovém systému. Jeho exprese v játrech je zvýšena při přetížení železem, ale je rovněž stimulována zánětovými podněty.

Patogenetická role hepcidinu byla prokázána u hereditární hemochromatózy (HH) a zřejmě i u anémie chronických chorob. Jeho mutace je příčinou vzácné formy juvenilní hemochromatózy a jeho exprese je nepřiměřeně nízká i u dalších forem HH, a to i přes přítomnost přetížení železem. U anémie chronických chorob se předpokládá, že zvýšená exprese hepcidinu snižuje dostupnost železa, což má primárně význam v obraně proti mikroorganismům.

Heparin je v Ústavu patologické fyziologie studován na úrovni množství mRNA pomocí real-time PCR za různých stavů měnících kinetiku železa. K experimentálním modelům na myších patří zejména hemolýza, záření, jejich kombinace, transfúze navozená polycytémie, erythropoetin, exprese ve fetálních játrech a v postnatálním období. Kromě hepcidinu jsou studovány i exprese dalších genů včetně transferinových receptorů, transportérů železa (DMT1, ferroportin1) a hemojuvelinu, a to nejen v játrech, ale i v duodenu a v dalších orgánech.

Exprese hepcidinu citlivě reaguje zejména na přesuny železa do jater a jeho mobilizaci pro erytropoézu. Výrazný vzestup je patrný po uvolnění železa hemolýzou a současném zablokování erytropoézy. Naopak jeho uvolnění ze zásob při vystupňované erytropoéze expresi hepcidinu snižuje. Exprese hemojuvelinu v játrech se ukazuje jako

železem a jeho přesuny neovlivněná. V játrech většina dalších studovaných genů expresi nemění, v duodenu pozorujeme změny na úrovni genů pro molekuly na apikální části enterocytů.

SUMMARY

Iron is essential trace element with many fundamental functions in humans. However, excess of iron is potentially harmful. Therefore, the regulation of iron content and distribution in the organism is crucial. Hepcidin, an antimicrobial peptide produced in the liver, is considered to be a key regulator of iron kinetics with relation to human diseases. It decreases iron resorption in the duodenum and causes its sequestration in monocyte-macrophage system. Its expression in the liver is increased in iron overload and is stimulated by inflammation; hepcidin is thus considered as an acute phase reactant.

The pathogenetic role of hepcidin in hereditary hemochromatosis (HH) and probably also in anemia of chronic diseases (ACD) was proved. Its mutation causes a rare form of juvenile hemochromatosis and its expression is inadequately low in other forms of HH despite the presence of iron overload. In ACD the increased expression of hepcidin is supposed to decrease iron availability which is primarily important in antimicrobial defense.

We study hepcidin expression in mice as the amount of mRNA using real-time PCR in several experimental situations with changed iron kinetics such as hemolysis, irradiation and their combination, posttransfusional polycythemia, erythropoietin administration, expression in fetal liver and during postnatal period. Apart from hepcidin, we study the expression of other genes such as transferrin receptors, iron transporters (DMT1, ferroportin1), and hemojuvelin in the liver, in the duodenum and other organs.

The expression of hepcidin reacts sensitively mainly to iron flux to the liver and its mobilization for erythropoiesis. Important increase of expression was observed after iron release due to hemolysis in the situation of radiation-suppressed erythropoiesis. Conversely, iron store depletion due to enhanced red blood cell production distinctly decreased hepcidin expression. Hemojuvelin expression in the liver was not modulated by iron status. Similarly, most of other studied genes in the liver did not change their expression. In the duodenum, the changes of gene expression for apical enterocyte proteins were observed.

ÚVOD

Železo je kovový prvek, který je nezbytný pro základní životní procesy. Jako součást několika set proteinů, zejména hemových, ale i nehemových, hraje roli při přenosu kyslíku v organismu (hemoglobin, myoglobin), v přenosu elektronů v dýchacím řetězci (cytochromy), v detoxifikačních a biotransformačních procesech (cytochromy P450), při metabolismu kyslíkových radikálů (kataláza, peroxidáza), syntéze oxidu dusnatého (NO syntáza) i syntéze DNA (ribonukleotid reduktáza).

Zároveň je volné dvojmocné železo prvkem potenciálně toxickým; katalyzuje reakce, při nichž vznikají kyslíkové radikály – např. Fentonovu reakci. Proto je železo v organismu za fyziologických okolností vázáno na proteiny a je nutná pečlivá regulace jeho množství a kinetiky. V přírodě a i v lidském organismu existuje ve formě dvoj-

mocné (Fe^{2+} , ferro-) a trojmocné (Fe^{3+} , ferri-). Přechod mezi těmito formami zajišťují v organismu enzymy, které se formálně jmenují ferroxidázy, resp. ferrireduktázy.

V poslední době bylo dosaženo velkého pokroku při poznávání mechanismů, kterými se kinetika železa v organismu řídí, avšak mnoho z její regulace je dosud nepoznáno.

Kinetika železa

Hlavními procesy kinetiky železa jsou jeho resorpce v trávicím traktu, distribuce železa do jednotlivých orgánů a buněčných kompartmentů a regulace těchto dějů. Výdej železa není regulovaný, existují jen větší nebo menší ztráty. Je popsána řada proteinů, transportérů, oxidoreduktáz a dalších molekul, které se těchto dějů účastní.

V lidském organismu jsou cca 3–4 gramy železa, dvě třetiny se přitom nacházejí v erytronu. Zhruba 1 gram je v játrech, 0,3 gramu v myoglobinu a v respiračních enzymech.

Kvantitativně významnější složkou kinetiky železa je jeho recyklace v uzavřeném okruhu mezi kostní dříví, makrofágy a zásobárnami, a množství této recyklace převyšuje nad denní resorpci. Denní obrát železa vázaného na transferin je cca 25 mg, tj. obrát železa vázaného na transferin (asi 4 mg) je několikanásobný. Drobné ztráty (odloupání buňky apod.) tvoří cca 0,025–0,05 % celkového množství železa v organismu a jsou doplňovány denní resorpcí v tenkém střevě, která tvoří cca 1–2 mg. Z dlouhodobého hlediska je rovnováha mezi příjmem a ztrátami rozhodující pro udržení přiměřeného množství železa v organismu a vstřebávání železa je místem její regulace.

S ohledem na nutnost přestupu membrán a distribuci železa do jednotlivých buněk (orgánů) a na distribuci subcelulární musejí být jednotlivé kroky při transportu železa zabezpečeny transportéry.

Na enterocytech lze rozlišit apikální membránu s mikrokly, která je v kontaktu se střevním obsahem, a membránu bazolaterální, která slouží transportu látek z/do krve. Na apikální membráně je přítomen transportér dvojmocných kovů, a tedy i železa, DMT1 (divalent metal transporter). Navíc je zde přítomen i enzym schopný redukovat železo trojmocné (v potravě hojnější) na dvojmocné. Jde o duodenální cytochrom b (DcytB). Na bazolaterální membráně exportuje železo ferroportin1 (FPN1, synonymum Ireg1). Při exportu do krve a vazbě na transferin je železo opět oxidováno membránovým proteinem hephaestinem, analogem sérového ceruloplazminu. Přenos a distribuce železa do buněk se děje převážně na transferinu (je schopen vázat dva atomy trojmocného železa), který se váže v cílových orgánech na transferinové receptory (TfR). Kromě ubikviterního TfR1, hlavního transportéru železa do buněk, existuje ještě TfR2 přítomný převážně na hepatocytech, kterému se přisuzuje regulační funkce. Po endocytóze holotransferinu transferinovým receptorem je železo uvolněno v endosomu z transferinu vlivem snížení pH (apotransferin je recyklován na buněčnou membránu), pomocí DMT1 transportováno do cytosolu, kde je buď uskladněno ve feritinu, nebo se dosud neznámým mechanismem dostává do mitochondrie, kde slouží buď k syntéze hemu, nebo [Fe-S] clusterů.

Recyklace železa ze zaniklých erytrocytů se děje fagocytózou erytrocytů, katabolismem hemoglobinu a hemu; železo je následně exportováno z buněk ferroportinem, oxidováno ceruloplazminem a opět vázáno na transferin.

Principy regulace

V regulaci lze popsat mechanismy na úrovni jednotlivých molekul a buněk a mechanismy působící na úrovni organismu. Předpokládá se, že regulace je tvořena koopera-

cí několika orgánů a molekul, přičemž jejich vzájemné vztahy jsou stále předmětem studia a rovněž našeho výzkumu.

Každá z molekul kinetiky železa je potenciálním místem regulace; její porucha (mutace) pak může způsobit onemocnění, popř. být neslučitelná se životem (jako v případě nefunkčnosti TfR1). V regulaci jsou důležité i informace, které existují mezi jednotlivými kompartmenty, zejm. informace z erytroidních a neerytroidních zásobáren, jejich hierarchizace a koordinace. Kromě vlastních transportérů existují i molekuly, které do kinetiky železa zasahují jako její regulátory.

Jednotlivé molekuly mohou být regulovány na úrovni transkripční (např. hypoxií), posttranskripční i na úrovni proteinové (posttranslační modifikace, konformační či funkční změny apod.). Jednou z možností, jak zvýšit tvorbu cílového proteinu, je stabilizovat příslušnou mRNA. Tento mechanismus se uplatňuje u některých molekul účastnících se metabolismu železa. Je zprostředkován vazbou regulačních proteinů – iron responsive proteins (IRP1 a IRP2) – na speciální vlásenkové struktury na nepřekládaných oblastech (UTR) mRNA – iron responsive elements (IRE). Vazba těchto molekul, k níž dochází při nedostatku železa v buňce, stabilizuje příslušnou mRNA, pokud má IRE na 3' (což je případ molekul, které slouží k získávání železa, typicky TfR1), zatímco jejich vazba na IRE v oblasti 5' způsobuje její degradaci (což platí pro molekuly, jejichž funkce souvisí s dostatkem železa, např. feritin). Při dostatku železa se vazba neuskuteční (IRP1 se mění na akonitázu a IRP2 je degradován) a výsledek stabilizace mRNA je opačný. Na úrovni organismu se v současnosti jeví jako významný regulátor peptid hepcidin.

Hepcidin

Vztah tohoto peptidu k železu byl popsán v roce 2001, rok po jeho objevu jako antimikrobiálního peptidu. Hepcidin (LEAP-1 – liver expressed antimicrobial peptide; HAMP – hepatic antimicrobial peptide) je peptid tvořený v játrech (hepatocytech). Bylo prokázáno, že snižuje resorpci železa ve střevě a působí jeho sekvestraci v monocytomakrofágovém systému. V současnosti je považován za klíčový regulátor kinetiky železa se vztahem k lidským onemocněním. Jeho exprese se zvyšuje při přetížení železem a je rovněž stimulována zánětovými podněty: lipopolysacharidem (LPS), interleukinem 6. Hepcidin je řazen k proteinům akutní fáze II. typu.

U člověka je hepcidin syntetizovaný jako prekursor o délce 84 aminokyselin (pro-hepcidin), který obsahuje signální peptid o délce 24 aminokyselin a 35 aminokyselinový úsek (pro-region). Secernovaná forma prokázaná v lidské krvi a moči je tvořena peptidy z C-konce o velikosti 20, 22 nebo 25 aminokyselin, které se liší se v přítomnosti aminokyselin na svém N-konci. Gen hepcidinu je lokalizován na 19. chromosomu (19q13), je tvořen třemi exony a dvěma introny. Výskyt mRNA pro hepcidin byl v lidských orgánech prokázán metodou Northern blot a RT-PCR. Vysoká exprese byla patrna jen v játrech. Další orgány, kde se ji výrazněji podařilo prokázat, bylo srdce a CNS.

Myši mají geny pro dva hepcidiny (hepcidin 1 a 2) na 7. chromosomu. Hepcidin 2 sice reaguje na změny kinetiky železa obdobně, ale jak bylo prokázáno na transgenických myších, sám ji neovlivňuje. Jeho funkce není známá.

Struktura hepcidinu je u všech druhů, kde byl dosud zkoumán, obdobná. Je charakteristická formou β -skládaného listu se čtyřmi disulfidovými můstky mezi 8 cysteiny.

Mechanismus regulace exprese hepcidinu ani jeho účinku není dosud přesně znám. Předpokládá se, že jeho exprese je ovlivňována saturací transferinu a řízena či modu-

lována transferinovým receptorem 2, HFE a hemojuvelinem. Není známa kinetika hepcidinu, jeho inaktivace a poločas. Lze jej prokázat v moči. Možnou cílovou molekulou pro jeho působení je ferroportin, a to na úrovni proteinové (internalizace membránového proteinu).

Vztah hepcidinu k onemocněním

Nedostatek hepcidinu vyvolává v experimentu klasický obraz hereditární hemochromatózy (HH), naopak jeho nadbytek vyvolá změny kinetiky železa obdobné těm, které provázejí anémii chronických chorob. To vedlo k výzkumu etiopatogenetické role hepcidinu při těchto onemocněních.

Hereditární hemochromatóza je charakterizována zvýšenou resorpcí železa trávicím traktem, jeho akumulací v mnoha orgánech (zejména játrech, pankreatu, srdci, endokrinních žlázách) a jejich poškozením. Mutace hepcidinu byla prokázána jako příčina vzácné formy juvenilní hemochromatózy (JH), ale bylo zároveň zjištěno, že i u dalších typů je jeho produkce nepřiměřeně nízká, ačkoliv je přítomno přetížení železem. To vede k domněnce o dysregulaci hepcidinu u těchto forem HH a k hypotézám o vzájemném funkčním propojení jednotlivých regulačních molekul a jejich hierarchickém uspořádání.

V současnosti se rozlišuje několik forem HH spojených s konkrétními geny. Nejčastější typ 1 je způsoben mutací HFE, membránové molekuly blízké molekulám HLA komplexu. V membráně tvoří komplex s TfR1 a zřejmě zvyšuje jeho afinitu k transferinu. Běžné jsou dvě mutace HFE, časté zejména v severské populaci. C282Y narušuje cystinový můstek v $\alpha 3$ doméně a způsobuje, že HFE nemůže vytvořit komplex s β_2 -mikroglobulinem a množství HFE na membráně je nižší. Druhá mutace je H63D, která tuto vazbu neovlivňuje a je fenotypově méně závažná. Přesný mechanismus, jakým mutace HFE vyvolává hemochromatózu, však není dosud znám, což je významné i proto, že jde o nemoc se značnou variabilitou postižení a neúplnou penetrancí.

Typ 2 je juvenilní hemochromatóza s těžkým průběhem a časným rozvojem příznaků, která je způsobena buď mutací hemojuvelinu – HJV (typ 2A, 1q21 lokus), nebo řidčeji hepcidinu (typ 2B). Hemojuvelin je molekula dosud neznámé funkce, exprimována je zejména v játrech, kosterním a srdečním svalu, ledvinách, mozku. Typ 3 je způsoben mutací TfR2, typ 4 mutací ferroportinu 1 (ferroportinová nemoc). Popsány byly i formy digenické formy HH – kombinace heterozygotní mutace hepcidinu a mutace C282Y HFE. Větší význam než skutečné mutace hepcidinu může mít pochopení vzájemných regulačních vztahů mezi HFE, TfR2, HJV a hepcidinem, pro jejichž existenci svědčí i dysregulace hepcidinu u HFE, TfR2 i HJV hemochromatózy i u HFE či TfR2 deficientních myší.

Anémie chronických chorob je druhou nejčastější anémií po anémii sideropenické. Provází řadu chorob (chronické infekční i neinfekční záněty, autoimunitní nemoci, malignity aj.). Je nejčastěji normocytární a normochromní a významné jsou při ní změny kinetiky železa. Je snížena koncentrace sérového železa, ale na rozdíl od anémie sideropenické je snížena celková vazebná kapacita pro železo, zatímco sérová koncentrace feritinu je zvýšena. Železa nemusí být skutečný nedostatek, o čemž svědčí i přítomnost železa v makrofázích.

V anémii chronických chorob se propojuje vztah zánětu a železa. Železo je prvek nezbytný pro invadující mikroorganismy, zároveň umožňuje vznik volných radikálů, které mohou být využity při jejich likvidaci. Ve změnách kinetiky železa, jejichž smyslem by mělo být zabránit mikroorganismům získat železo, se přisuzuje role hepcidi-

nu, ale význam může mít i působení oxidu dusnatého na regulační proteiny IRP, při němž by došlo k snížení vazby IRP na IRE, stabilizovala by se mRNA pro feritin a železo by bylo zadrženo v makrofázích.

Ve změněném metabolismu železa při zánětlivých stavech hrají významnou roli játra a leukocyty (neutrofily, makrofágy). Játra produkují transferin, jsou zásobárnou železa, syntetizují hepcidin a další proteiny akutní fáze. Makrofágy se podílejí na recyklaci železa a zároveň to jsou významné buňky imunitního systému schopné fagocytózy a produkce řady cytokinů. Ve vztahu zánětlivých procesů a makrofágů existují přinejmenším tři souvislosti – přímé ovlivnění některých molekul zánětem (LPS, cytokiny), působení oxidu dusnatého (NO) na IRP a účinky hepcidinu. Dalšími látkami, které jsou tvořeny v leukocytech, uplatňují se při infekci a ovlivňují kinetiku železa, jsou laktoferin (protein vázající železo) a lipocalin 2/NGAL (protein, který váže bakteriální siderofory).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Náš výzkum se soustředí na sledování vlivu změn kinetiky železa na expresi hepcidinu a dalších genů účastnících se kinetiky železa. Expresi studujeme v játrech i v dalších orgánech myši na úrovni mRNA pomocí polymerázové řetězové reakce v reálném čase (real-time PCR – LightCycler fy Roche).

K experimentálním postupům měnícím kinetiku železa, které používáme v našem výzkumu, patří: hemolýza navozená fenylhydrazinem (PHZ), subletální záření, polycytémie navozená transfúzí, podávání erytropoetinu, sledování změn exprese ve fetálních a postnatálních játrech. Hemolýza, která zrychluje cirkulaci železa, nevyvolá signifikantní změnu exprese hepcidinu, pokud není provázena výraznější anémií. Samotné ozáření expresi hepcidinu zvyšuje, což může souviset jak s působením samotného záření, tak s útlumem krvetvorby, a tudíž i užití železa. Právě kombinace obou zásahů, ozáření a hemolýzy, způsobila nejvýraznější vzestup exprese hepcidinu. V této situaci železo uvolněné hemolýzou nemůže recyklovat do kostní dřeně a směřuje do zásobáren, zejména jater, kde jeho množství (měřené jako nehemové železo) stoupne. Vzestup hepcidinu byl patrný i po navození polycytémie transfúzí, zatímco podání erytropoetinu expresi hepcidinu snížilo až o dva řády. Erytropoetin aktivuje tvorbu červených krvinek, a tak stoupá potřeba železa v kostní dřeni. Zvyšuje se jak jeho resorpce ve střevě, tak jeho uvolnění ze zásobáren. Ozáření efekt erytropoetinu zcela zablokovalo, což ukazuje na nepřímý, přes erytropoézu zprostředkovaný, vliv erytropoetinu na expresi hepcidinu. Během vývoje fetálních jater se exprese hepcidinu zvyšuje, ale postnatálně prudce klesá, což je zřejmě v souvislosti s vyšší potřebou železa pro rostoucí organismus.

Na rozdíl od hepcidinu jiné geny důležité pro kinetiku železa v játrech výrazněji nereagovaly, s výjimkou TfR1, jehož exprese se měnila ve vztahu k množství železa, což je v souladu s jeho posttranskripční regulací pomocí interakce IRE/IRP. Naopak exprese hemojuvelinu nereagovala na podání železa, kombinaci záření a hemolýzy ani na erytropoetin.

V duodenu se při anemizaci myši, která vedla v souladu s očekáváním i literárními údaji k poklesu exprese hepcidinu, zvyšovala exprese genů pro molekuly účastnících se transportu železa na apikální části enterocytu – DMT1 a DcytB.

ZÁVĚR

V posledním desetiletí byly získány zcela nové poznatky o kinetice železa v organismu a jeho řízení a byly objeveny nové transportní a regulační proteiny. Hepcidin je klíčový regulátor kinetiky železa v organismu. Snižuje resorpci železa ve střevě a působí jeho sekvestraci v makrofázích. Stimuly pro jeho expresi jsou železo a zánět. V našich experimentech výrazně reaguje na přesuny železa do jater a jeho mobilizaci pro erytropoézu. Mutace hepcidinu způsobuje vzácnou formu juvenilní hemochromatózy, ale jeho dysregulace je patrná i u dalších forem hereditární hemochromatózy. Zvýšená exprese hepcidinu při zánětlivých stavech působí změny kinetiky železa typické pro anémii chronických chorob. Hepcidin by se mohl uplatňovat v diagnostice těchto stavů a potenciálně i v jejich léčbě.



INAUGURAČNÍ PŘEDNÁŠKY

- Prof. MUDr. Martin Fried, CSc.
- Prof. MUDr. Jana Hercogová, CSc.
- Prof. MUDr. Jaromír Hradec, CSc.
- Prof. MUDr. Andrej Jenča, CSc.
- Prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.
- Prof. RNDr. Hana Kovářů, DrSc.
- Prof. MUDr. Aleš Linhart, DrSc.
- Prof. MUDr. Miroslav Merta, CSc.
- Prof. MUDr. František Perlík, DrSc.
- Prof. PhDr. Milada Říhová, CSc.
- Prof. MUDr. Jiří Štork, CSc.
- Prof. MUDr. Jiří Widimský, CSc.



ROBOTIKA V LAPAROSKOPICKÉ CHIRURGII



Prof. MUDr. Martin Fried, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Fakultní Thomayerova nemocnice s poliklinikou,
Chirurgická klinika*

SOUHRN

Robotika představuje další z technických prvků (například vedle miniinvazivní chirurgie), které se nově objevily v posledním desetiletí v oboru chirurgie a mohly by významně přispět k rozvoji praktické chirurgie i její pregraduální a postgraduální výuky.

V klinické praxi nabízí především následující výhody: I na velké vzdálenosti schopnost zcela přesného kopírování a identického opakování pohybů chirurgovy ruky a nástrojů, při odstranění některých fyziologických nedokonalostí. Po zácviku robotika zrychluje některé operační výkony, při nižších personálních nárocích. Může zlepšit dostupnost vysoce kvalitní chirurgické péče v geograficky odlehklých oblastech.

Její nevýhody spočívají především ve vysoké pořizovací ceně, rozměrnosti, neskladnosti a relativně složité přípravě, nastavení a manipulaci, i nutnosti podrobného zaškolení obsluhujícího personálu.

V oblasti výuky přináší robotika zlepšení kvality pregraduální i postgraduální výuky, možnosti výuky »virtuální realitou« – od dokonalých trojrozměrných anatomických modelů až po trenážery s téměř »reálným«, interaktivním nácvikem nejrůznějších operačních zákroků. Robotika zprostředkovává při výuce operací reálný »pocit« tkáňového odporu v chirurgických nástrojích, reaguje na použitou sílu i operační techniku (simulaci krvácení, zhmoždění tkání), a vyžaduje i řešení nepředvídaných situací.

V laparoskopické robotice dosáhla 1. LF UK v Praze významného prvenství ve střední a východní Evropě. Na počátku roku 2000 byla na Urologické klinice provedena prof. Dvořáčkem první urologická operace asistovaná robotem a v druhé polovině téhož roku byl s pomocí robotického systému operován na 1. chirurgické klinice doc. Friedem první obézní nemocný.

SUMMARY

In the last decade robotics can be counted among other technical features (i.e. besides minimally invasive surgery) that might contribute to substantial development of surgery itself as well as to development of pre- and post-graduate education.

In clinical practice robotics offers following advantages:

Long-distance transfer, copying and identical repeating surgeon's hand movements, moreover being able to filtrate some physiological imperfections of human hand.

After a learning curve robotics could speed-up certain surgical procedures and/or decrease number of trained people necessary for the respective procedure. Robotics can enhance availability of high quality surgical care in remote areas.

Main disadvantages of surgical robotics are:

High costs, bulky size, relatively complex setting-up and manipulation which usually necessitates presence of skilled and trained auxiliary staff.

In surgical pre and postgraduate education robotics offers:

Improvement in quality of pre and post-operative education. Virtual reality type of education with excellent 3D anatomical models and lab-trainers offering almost »real« interactive teaching and practice of various surgical procedures.

Robotics offers almost realistic feeling of tissue resistance in surgical instruments, reacts to used force and operative technique (simulates bleeding, tissue damage etc.). Through robotics various surgical emergency situations can be simulated and solved as well.

1st Medical Faculty, Charles University in Prague achieved substantial priorities in minimally invasive robotics in Central and Eastern Europe.

In the beginning of 2000 at Urology Department Professor Dvoracek performed the first robotic assisted urology operation and at the 1st Surgical Department, Ass. Professor Fried performed the first robotic assisted bariatric operation at the end of year 2000.

VZNIK A VÝVOJ ROBOTIKY

Snahy o vytvoření strojů, které by pracovaly na principech, jež odpovídají našemu dnešnímu chápání pojmu robot, jsou známy již po mnoho staletí.

Označení robot dal však světu teprve ve 20. letech 20. století významný český spisovatel a dramatik Karel Čapek. Nazval tak stroj, který provádí opakovanou činnost s maximální přesností. Zároveň ve svém dramatu RUR poukázal na to, že by se vývoj robotiky mohl ubírat i směrem výrazného zvyšování umělé inteligence robotů a jejich možného zneužití.

K rozvoji moderní robotiky jako takové však přispěl především vědecký výzkum a vývoj, zejména na poli počítačové techniky, kybernetiky a ostatních technicko-medicínských disciplín.

V roce 1948 byla například publikována významná práce »Kybernetika« profesora Wienera, na přelomu 40. a 50. let 20. století byl vyvinut stroj (manipulátor), se schopností provádět kontrolovaný, přesně opakovaný pohyb s různými nástroji.

Vývoj pokračoval i v oblasti počítačové techniky. V 50. a 60. letech 20. století byly vytvořeny počítačové modely živých bytostí, vícevrstevné neuronové sítě a v druhé polovině 70. let byl vyvinut první stolní počítač.

K celkovému rozvoji robotiky přispěl pokrok i v jiných oborech, například Edisonův vynález zdroje světla, jeho vedení optickými vlákny (Hopkins, 1950), či vývoj čipových kamer v Japonsku v 80. letech.

Vývoj medicínské robotiky je postaven na třech pilířích:

- vojenských projektech;
- projektech kosmických letů;
- komerčních zájmech.

Vojenské projekty počítají s využitím robotiky v medicíně především ve válečných konfliktech. Robotické systémy, přenášející a kopírující na dálku s naprostou přesností pohyby ruky operátora a laparoskopických nástrojů, by zastoupily chirurgické odborníky v místě konfliktu. Zranění by tudíž byli převezeni do polních nemocnic, kde by byli připraveni k nutnému výkonu pouze dostatečně zaškoleným vojenským personálem. Samotný operační výkon by ve skutečnosti provedl s pomocí robotického systému chirurg, který by byl daleko od místa konfliktu.

Při kosmických letech s lidskou posádkou ke vzdáleným vesmírným tělesům, trvajících týdny i měsíce, se budou muset řešit podobné problémy. Třeba i nekomplikovaný chirurgický zákrok bude v takových případech představovat problém, neboť chirurg nemůže být členem každé jednotlivé vesmírné expedice. Za přispění zdravotnický vyškolené posádky lze i za takových okolností využít k operaci robotické systémy. Ty by byly ovládány chirurgy na Zemi a naprosto přesně by kopírovaly pohyby operátora ruky i nástrojů, které drží.

Technicky je jistě nutné vyřešit celou řadu dílčích překážek, avšak v zásadě jsou uvedené scénáře zapojení robotiky do chirurgie zcela reálné.

V neposlední řadě výrazně přispívají k vývoji robotiky i firemní, komerční zájmy. Lze totiž předpokládat, že po vyřešení některých současných nedostatků robotiky (velké rozměry, nesnadné nastavení před výkonem, vysoká pořizovací cena apod.), dojde v následujících letech k jejímu značnému rozšíření.

ZÁKLADNÍ TERMINOLOGIE

Pro snadnější orientaci v textu přednášky uvádíme v přehledu některé základní použité termíny z medicínské robotiky:

- roboty (robotické systémy): stroje a systémy, které kopírují či samy opakovaně provádějí činnost s maximální přesností;
- robotická chirurgie: chirurgický zákrok provedený s pomocí robotu (robotického systému). Operující, jehož pokyny robot provádí, nebo jehož pohyby kopíruje, je v dosahu pacienta;
- telechirurgie: chirurgický zákrok prováděný s pomocí robotu (robotického systému) na delší vzdálenost. Přenos pokynů a informací od operujícího k robotu je zajištěn bezdrátovými komunikačními systémy;
- počítačově asistovaná chirurgie: on-line využití počítačových i jiných technologií, (stereotaxe, CT, MR, US aj.), k přenášení dat a navádění a práci robotického systému (s možností zpětné vazby).

PROBLEMATIKA ROBOTIKY V CHIRURGII

V 90. letech 20. století se na chirurgických pracovištích po celém světě začaly objevovat jednoduché, mechanické manipulátory, schopné vykonávat různé typy pohybů. Tyto manipulátory nemají umělou inteligenci, to znamená, že nejsou vybaveny schopností jakkoliv »samostatně« kombinálně využít dané informace. Jedním z nejznámějších mechanických manipulátorů je hlasem ovládaný systém AESOP, který pohybuje mechanickým ramenem v šesti základních směrech. Hlasem lze u tohoto systému ovládat nejen směr, ale i délku, rychlost a trvání pohybu, AESOP si je schopen uložit do paměti i trajektorie pohybů a na pokyn je v požadovaném sledu opakovat.

V polovině 90. let 20. století byly připraveny k použití robotické systémy s určitým stupněm umělé inteligence. Tyto roboty jsou vybaveny senzory, schopnými anatomicky »mapovat« určitou oblast, obraz převést do systému souřadnic a informaci využít pro zpětné nastavení svých pracovních parametrů (zpětnou vazbu). Příkladem takového systému může být ROBODOC, robot využívaný například v ortopedii k velmi přesné přípravě kostí pro usazení implantátů.

Na konci 20. století začaly laboratorní zkoušky zatím nejvyspělejších robotických systémů, autonomně pohyblivých, vybavených vysokým stupněm umělé inteligence. Takové roboty jsou schopny nejen anatomicky »mapovat« různé oblasti lidského těla a získané informace vyhodnotit a využít k autonomnímu pohybu, ale jsou schopny hodnotit ultrazvukem a jinými vyšetřovacími metodami různé tkáně a podle získaných informací i provádět jednoduché úkony v dané oblasti (elektrokoagulaci a disekci tkání ultrazvukem apod.). Takové robotické systémy se zatím mimo výzkum nepoužívají, i když se blíží doba jejich klinických zkoušek.

V současné době se v klinické praxi používají pouze první dva uvedené typy robotických systémů.

Oba je možné použít při vybraných operačních výkonech v kardiovaskulární (např. mikrovaskulární chirurgie robotem ZEUS) a laparoskopické chirurgii, ortopedii a urologii.

Ve všech těchto oborech je dnes možné využít některých předností robotiky:

- dokonale přesného pohybu s odchylkou < 10 mikronů (pro porovnání, pohyb lidské ruky má přesnost kolem 100 mikronů);
- schopnosti odstranit fyziologický třes lidské ruky;
- možnosti přesného opakování a rozfázování zadaných trajektorií pohybu;
- zprostředkování zvětšeného a naprosto stabilního »makro« pohledu na danou, opeřovanou oblast, bez nutnosti využití jiných, technických pomůcek;
- výrazné omezení nežádoucích (nechtěných) pohybů laparoskopickou kamerou;
- po dokonalém zácviku je možné, u některých operačních výkonů, zkrátit operační čas;
- schopnost »zhodnotit« anatomickou oblast a optimálně ji připravit pro daný implantát (ortopedie);
- snížit personální nároky na operační týmy.

VÝZKUM A PŘEDPOKLÁDANÝ VÝVOJ V ROBOTICE V NÁSLEDUJÍCÍCH LETECH

Výzkum v oboru robotiky pro laparoskopickou chirurgii řeší tyto hlavní úkoly:

- a) miniaturizace a zjednodušení obsluhy;

- b) zvýšení »umělé inteligence« a samostatnosti rozhodování robotických systémů;
 - c) ekonomickou dostupnost;
 - d) úloha robotiky v pregraduální i postgraduální výuce.
- Miniaturizace a zjednodušení obsluhy je jedním z klíčových předpokladů dalšího rozšíření robotiky. Dnešní robotické systémy jsou rozměrné, neskladné a obtížné se s nimi manipuluje. V důsledku toho trvá příprava před jejich každým jednotlivým použitím relativně dlouho a vyžaduje přítomnost vyškolené obsluhy.

Zvýšením »umělé inteligence« robotických systémů by se otevřelo větší pole jejich využití. Dovolilo by to přejít od »pouhých« manipulátorů k autonomním systémům, které by dokázaly vyšetřit a zhodnotit tkáň a anatomické oblasti z mnoha pohledů. Poskytovaly by přesné údaje o struktuře (funkci) tkání, například peroperačním ultrasonografickým vyšetřením (dopplerovským vyšetřením apod.) a nabízely by i možnost samostatného provedení některých jednoduchých chirurgických postupů (ultrazvuková disekce tkání, elektrokoagulace struktur aj.).

Ekonomická dostupnost je další ze stěžejních podmínek pro rozvoj a rozšíření robotiky v chirurgii. Dnešní ekonomicky nákladné systémy nejsou schopny konkurovat dosud relativně levné pracovní síle ve zdravotnictví, ani poskytnout jiné, zásadní diagnostické či terapeutické výhody, které by vyvážily jejich vysokou cenu.

Úloha robotiky ve výuce. Robotika může výrazně zlepšit kvalitu pregraduální i postgraduální výuky. Nabízí možnosti výuky »virtuální realitou« – od dokonalých trojrozměrných anatomických modelů až po trenažéry s téměř »reálným«, interaktivním nácvikem nejrůznějších operačních zákroků. Robotika zprostředkovává při výuce operací reálný »pocit« tkáňového odporu v chirurgických nástrojích, reaguje na použitou sílu i operační techniku (simulaci krvácení, zhmoždění tkání). Může vyžadovat rovněž řešení nepředvídaných, učitelem předem naprogramovatelných situací. Umožňuje také sledovat a hodnotit dosažené pokroky a měnit stupeň obtížnosti daných úkolů.

Především využití robotických trenažérů v chirurgii by mohlo přinést zlepšení kvality výuky, bez zvýšení nároků na čas vyučujících i studentů.

Je však zcela jasné, že mechanická, »robotická« výuka nemůže nahradit klasický typ výuky, což si ostatně ani neklade za cíl. Robotika by měla pouze zlepšit názornost výuky a některé manuální a koordinační dovednosti studentů.

VLASTNÍ PŘÍNOS K ROZVOJI ROBOTIKY

Od roku 2001 jsem se aktivně podílel na některých rozvojových programech v robotice. Jde především o vytvoření třírozměrných (3D), interaktivních anatomických modelů horní části dutiny břišní, určených pro pregraduální i postgraduální výuku. Tyto modely umožňují interaktivní zapojení studentů do výuky chirurgicky orientované anatomie prostorově prezentované, s možností 360° otáčení a pohledu na jednotlivé orgány, jejich strukturu a anatomickou polohu. Model také umožňuje postupné »odstranění« orgánů a »chirurgický typ« operačního postupu po vrstvách, dále nabízí interaktivní výuku operačního postupu – adjustabilní gastrické bandáže. Ve výuce operační techniky spojuje metodiku reálného obrazu operačního pole s »virtuální realitou« tak, aby byl co nejvíce didaktivní a umožnil aktivní zapojení studenta do procesu výuky. Modely jsou dostupné na CD nosiči, jako součást monografie »Moderní chirurgické metody léčby obezity« (Praha : Grada Publishing, 2005).

V letech 2003 a 2004 jsem se také zúčastnil na vývoji a klinických zkouškách minikamery a částečně robotizovaného systému pro vyšetření tlustého střeva bez nutnosti konvenční kolonoskopie. Systém je nyní ve stadiu klinických zkoušek na prestižních pracovištích ve Velké Británii.

ZÁVĚR

Rychlý vývoj robotiky dává reálný předpoklad jejího dalšího rozšíření v příštím desetiletí jak v chirurgických, tak i nechirurgických oborech.

Zatím je však zcela nezbytné uvědomit si jasná omezení robotiky i skutečnost, že robotika nemůže nahradit klasickou chirurgii ani výuku tohoto oboru. Bezesporu však může přispět ke zkvalitnění chirurgie i její výuky.

V laparoskopické robotice dosáhla 1. LF UK v Praze významného prvenství ve střední a východní Evropě. Na počátku roku 2000 byla na Urologické klinice provedena prof. Dvořáčkem první robotem asistovaná urologická operace a v druhé polovině téhož roku byl s pomocí robotického systému operován na 1. chirurgické klinice doc. Friedem první obézní nemocný.



BORRELIOSIS LYMENSIS CUTIS



Prof. MUDr. Jana Hercogová, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta
a Fakultní nemocnice Na Bulovce s poliklinikou,
Dermatovenerologická klinika

SOUHRN

Lymeská borrelióza je infekční onemocnění působené spirochetou *Borrelia burgdorferi sensu lato*, přenášenou na člověka z rezervoárových zvířat klíšťaty. Kožní projevy lymeské borreliózy jsou nejčastějšími manifestacemi této antropozoonózy a jejich rozpoznání může významně přispět k včasné diagnostice a léčbě tohoto systémového onemocnění. Kožní formy se mohou objevit ve všech stádiích onemocnění a zahrnují erythema migrans, lymphocytoma borreliens a acrodermatitis chronica atrophicans. Kromě těchto dermatóz byly borrelie prokázány v lézích sclerodermia circumscripta a lichen sclerosus et atrophicus. V poslední době vyvstává do popředí otázka možné koincidence borrelií a dalších patogenů přenášených klíšťaty, zejména *Anaplasma phagocytophilum* (dříve *Ehrlichia phagocytophila*) v etiopatogenezi erythema migrans. V práci jsou shrnuty výsledky vyšetření 1159 pacientů s kožními projevy lymeské borreliózy.

SUMMARY

Lyme borreliosis is an infection caused by the spirochaete *Borrelia burgdorferi sensu lato* transmitted by the Ixodes ticks from animals to human beings. Skin manifestations of this anthroponozoonosis are the most frequent and their recognition can significantly contribute to the early diagnostics and therapy of this systemic disorder. Skin manifestations could be present at any stage of the disease and include erythema migrans, lymphocytoma borreliens and acrodermatitis chronica atrophicans. Furthermore, the *Borreliae* were identified in the skin lesions of sclerodermia circumscripta and lichen sclerosus et atrophicus. Lately, coinfections with the other tick-born pathogens, especially *Anaplasma phagocytophilum* (earlier *Ehrlichia phagocytophila*) are under discussion in relationship to the erythema migrans etiopathogenesis. The study summarizes the experience on 1159 patients with skin manifestations of Lyme borreliosis.

Lymeská borrelióza (LB) je antropozoonóza, systémové infekční onemocnění způsobené spirochetou *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* a *B. garinii*). Rezervoárem borrelií jsou zejména savci a vektorem klíšťata, v Evropě klíšťata rodu *Ixodes*. Incidence onemocnění se v ČR odhaduje na 30–40/100 000 obyvatel, z toho kožní formy představují asi 70 %. Od popisu prvního příznaku Buchvaldem v roce 1883 uplynulo přes 100 let, než byly izolovány borrelie z kožních lézí Asbrinkovou a Hovmarkem.

Podmínkou přenosu borrelií je přísátí klíštěte po dobu alespoň 24–48 hodin, neboť až poté se borrelie dostávají ze střeva klíštěte do jeho slinných žláz. Přirozená odolnost lidského organismu vůči nákaze neexistuje. Borrelie se po proniknutí do kůže množí a šíří za vzniku typických kožních příznaků nebo putují do lymfatických uzlin, kde vzniká první specifická imunitní reakce. Pokud vniknou borrelie do krevního oběhu, dochází k orgánovému rozsevu. Cílovými orgány mohou být kůže, CNS, srdce, játra, kloubní synovie.

Organismus borrelií aktivuje nespecifickou a posléze i specifickou humorální a buněčnou imunitu. Pro virulenci mají význam lipoproteiny, povrchové antigeny Osp a bičkové proteiny. Tyto mají různou velikost a antigenní reaktivitu. Rozeznáváme proteiny Osp A, B, C, D, E. V současnosti je k dispozici i přesnější charakteristika sérotypů OspA a OspC. Přítomnost určitých sérotypů OspA je dáována do souvislosti s konkrétními orgánovými projevy onemocnění.

Borrelie adherují ke kolektinovým receptorům hostitelských buněk (zejména fibrocytů, Langerhansových buněk kůže) pomocí glykoproteinů na svém povrchu. Zásadním patogenetickým mechanismem je i schopnost borrelií pronikat do hostitelských buněk, zejména pomocí tzv. coiling fagocytózy. Intracelulární perzistence borrelií hraje roli v rezistenci k antimikrobiální léčbě, při latentní infekci a dále u některých orgánových projevů LB. Kromě přímého působení mikroorganismu se na poškození tkání podílejí i mechanismy imunitní odpovědi, jako jsou tvorba imunokomplexů, zkrácená reakce buněčné i humorální imunity proti povrchovým antigenům borrelií a neuronů (gangliosidy), myelinových pochev nebo poškození cévní stěny zánětlivou reakcí.

Průběh LB je možné rozdělit do tří stadií (časného lokalizovaného, diseminovaného a pozdního), charakterizovaných různými symptomy včetně postižení kůže. V prvním stadiu mohou být patognomickými příznaky **erythema migrans** (EM) a borreliový lymfocytom (BL, **lymphocytoma borreliensis**), ve druhém stadiu se u našich nemocných zřídka objevují sekundární erythemata migrantia a pro třetí stadium onemocnění je typická **acrodermatitis chronica atrophicans** (ACA). Nejčastějším kožním projevem LB je EM, vyskytuje se u 85 % pacientů, ACA u 10 % a BL jen u 5 % nemocných. Jednotlivé kožní projevy LB mají rozmanitý klinický obraz. Erythema migrans bývá solitární a objevuje se v místě přísátí klíštěte obvykle za 2 týdny. Primární EM může být anulární (u našich nemocných se tato forma vyskytuje ve 40 % případů), homogenní – makulární v 36 % či koncentrické u 20 % pacientů, u zbývajících nemocných mohou být kožní změny méně typické (např. může být centrum infiltrované, hemoragické apod.). Sekundární EM následuje za týden po primární lézi, jde o mnohočetné makuly menšího průměru, než bylo původní EM. Lymphocytoma borreliensis můžeme nejčastěji (v 90 %) vidět u nemocných ve formě papuly, jež bývá lokalizována na lalůčku ucha, popř. na dvorci prsní bradavky. Mnohem méně často vidíme formu infiltrativní, a to i na jiných místech těla. Pacienti udávají v anamnéze přísátí klíštěte nepravidelně. Acrodermatitis chronica atrophicans se manifestuje makulami či plaky (u 75 % pacientů), teleangiektaziemi nebo v klinickém obraze domi-

nuje nad zarudnutím kůže lokalizovaný otok (ve 13 % případů), ojediněle vidáme i tzv. fibrózní uzly. Acrodermatitis chronica atrophicans začíná za několik týdnů až měsíců po přísátí klíštěte a její průběh bývá dělen na fázi zánětlivou a atrofickou. Všechny kožní formy LB mohou být doprovázeny regionální lymfadenitidou a celkovými příznaky (necharakteristickými nebo příznaky postižení jiných orgánů).

Diagnostika kožních projevů LB se opírá o klinický obraz (status localis a status praesens), o údaj o kontaktu s klíštětem (ten ale může v předchorobí až u poloviny nemocných chybět), o výsledek histopatologického vyšetření u nemocných s podezřením na BL a ACA, jež je na rozdíl od histopatologického obrazu při EM charakteristické (typickou buňkou přítomnou v zánětlivém infiltrátu je buňka plazmatická). Optimální je průkaz původce onemocnění přímými či nepřímými metodami. Nepřímé metody průkazu borrelií jsou vhodné pro rutinní diagnostiku a zahrnují:

- 1) nepřímou imunofluorescenci;
- 2) metodu ELISA využívající celobuněčný sonifikovaný antigen nebo rekombinantní antigeny borrelií, např. p37, p41, p83, OspC, OspE;
- 3) imunobloty, doporučené ke confirmaci výsledků získaných metodou ELISA.

U pacientů s ACA bývají vždy přítomny zvýšené hladiny antiborreliových protilátek třídy IgG. Ve sporných případech připadá v úvahu přímý průkaz borrelií pomocí PCR (LightCycler PCR v reálném čase), vyšetření v elektronovém mikroskopu (pomocí monoklonálních protilátek proti antigenům borrelií imunosorbentní metodou), izolace původce z krve, kůže, popř. jiných tkání. Pro stanovení správné diagnózy je proto vždy nutné vycházet z kombinace klinických projevů a výsledků laboratorních testů.

Léčba kožních forem LB závisí na stadiu onemocnění, přítomnosti dalších celkových či orgánových příznaků, na věku a celkovém zdravotním stavu pacienta. Lékem volby je doxycyclin (je doporučován nově i vzhledem k možné koincidenci s dalšími nemocemi přenášenými klíšťaty) podávaný po dobu 2–4 týdnů, popř. amoxicillin, azithromycin, při celkových příznacích a u těhotných žen užíváme draselnou sůl penicilinu G, popř. cefalosporiny III. generace.

Třebaže v posledním desetiletí přibýlo nových poznatků o LB, zůstává řada otázek neuspokojivě zodpovězena (spektrum klinických příznaků, standardizace sérologických testů, terapie, profylaxe, vakcinace, ale i možné teratogenní působení borrelií, etiopatogeneze a v poslední době i koincidence s jinými mikroby). V souvislosti s kožními projevy LB vyvstávají zejména dvě otázky:

- 1) Působí *B. burgdorferi sensu lato* pouze EM, BL a ACA?
- 2) Jsou EM, BL a ACA způsobeny výhradně *B. burgdorferi sensu lato*?

Odpovědi na první otázku jsou studie, jejichž autoři demonstrovali borrelie v lézích sclerodermia circumscripta (SC), lichen sclerosus et atrophicus, granuloma anulare. Obdobně, navzdory několikaletému názoru o výhradní roli *B. burgdorferi sensu lato* v etiopatogenezi EM, BL a ACA (jež bývají proto také někdy nazývány »klasickými kožními projevy LB« na rozdíl od polyetiologických nozologických jednotek právě zmíněných), byly recentně prokázány ehrlichie (*Anaplasma phagocytophilum*) v klíštětech i v bioptických vzorcích EM. Ehrlichie jsou intracelulární gramnegativní organismy, přítomné v cytoplazmatických vakuolách, parazitují zejména v buňkách bílé krevní řady. Kromě toho, podobně jako borrelie, napadají srdce, CNS, kloubní synovii, ledviny či játra. Příznaky onemocnění (lidská monocytární a granulocytární ehrlichioza) vyplývají z porušení rovnováhy mezi novotvorbou a odbouráváním infikovaných krevních buněk (cytopenie, petechie, hepatosplenomegalie) s následnými oportunními infekty, popř. závažnějšími orgánovými komplikacemi. Klinický obraz je

nespecifický a zahrnuje horečku, slabost, bolesti hlavy, myalgie, artralgie, u 2–5 % pacientů se objevuje exantém. Kromě průkazu původce jsou v diagnostice důležité laboratorní nálezy (leukopenie, trombocytopenie, anémie, zvýšené hladiny sérových transamináz).

Soubor nemocných. Od roku 1987 jsme vyšetřili 1159 pacientů s kožními projevy LB (EM – 950, BL – 46, ACA – 139, jiné dermatózy dávané do souvislosti s infekcí borreliemi – 24). Dvě třetiny nemocných byly ženy a pětinu tvořily děti do 15 let. 58 žen mělo LB v průběhu gravidity. Navrhli jsme klasifikaci kožních projevů LB. Zásluhou mezioborové spolupráce se nám podařilo poprvé prokázat borrelie v ultratenkých řezech u nemocných s ACA. V 15 případech ze 127 (12 %) vyšetřených bioptických vzorků kůže byly borrelie detekovány pomocí elektronové mikroskopie, 7krát se zdařila jejich kultivace a u 9 pacientů z 41 (22 %) vyšetřených byly borrelie nalezeny pomocí metody PCR. Tyto nálezy byly učiněny u 9 pacientů s EM, u 4 s ACA a u 2 nemocných s SC. Pozitivní nález borrelií v krvi našich nemocných pomocí PCR byl přítomen v 16 ze 130 vyšetření (12 %). V 6 případech ze 17 vyšetřených (35 %) byly borrelie demonstrovány ve vzorcích placenty, a to jak u jednoho abortu, tak u 5 žen, jež porodily zdravé děti.

Recentně se zdařil průkaz koincidence infekce borrelií a ehrlichii (*Anaplasma phagocytophilum* var. *Frankonia*) pomocí elektronového mikroskopu a PCR v bioptickém vzorku kůže z anulární léze EM o průměru 20 × 50 cm, která trvala 2 týdny a následovala 8 týdnů po přisátí klíštěte. Tento nález vyžaduje ověření na velkém souboru nemocných, nicméně objasnění etiopatogenetické role ehrlichii by mělo praktický význam pro diagnostiku i léčbu pacientů – zavést do rutinní diagnostiky kožních projevů LB vyšetření hematologické a biochemické a v léčbě používat tetracykliny.

Vysoká incidence, variabilita projevů, obtížná diagnostika, problematický účinek léčby a možné závažné důsledky staví LB mezi nejdiskutovanější infekční onemocnění. Znalost jejích kožních projevů může významně přispět ke zrychlení diagnostiky, a tím k včasnému zahájení antibiotické terapie. Mezioborová spolupráce je v péči o pacienty s LB nezastupitelná.

Literatura

- BARTŮNĚK, P. *Lymeská borrelióza*. Postgrad Med, 2003, 5, s. 378–385.
- HULÍNSKÁ, D., VOTÝPKA, J., PLCH, J., et al. *Molecular and microscopical evidence of Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in patients, animals and ticks in the Czech Republic*. Microbiologica, 2002, 25, p. 437–448.
- HUNFELD, KP., KRAICZY, P., KEKOUKH, E., et al. *Standardised in vitro susceptibility testing of Borrelia burgdorferi against well-known and newly developed antimicrobial agents – Possible implications for new therapeutic approaches to Lyme disease*. Int J Med Microbiol, 2002 (suppl. 33), 291, p. 125–137.
- LANGE, R., SEYYEDI, S. *Evidence of a Lyme borreliosis infection from the viewpoint of laboratory medicine*. Int J Med Microbiol, 2002 (suppl. 33), 291, p. 120–124.
- LINDER, S., HEIMERL, C., FINGERLE, V., et al. *Coiling phagocytosis of Borrelia burgdorferi by primary human macrophages is controlled by CDC42Hs and Rac1 and involves recruitment of Wiskott-Aldrich syndrome protein and Arp2/3 complex*. Infect Immunol, 2001, 69, p. 1739–1746.
- NADELMAN, RB., NOWAKOWSKI, J., FISH, D., et al. *Prophylaxis with single-dose doxycycline for the prevention of Lyme disease after an Ixodes scapularis tick bite*. N Engl J Med, 2001, 345, p. 79–84.
- OLANO, JP., WALKER, DH. *Human ehrlichioses: diagnostic challenges and therapeutic recommendations*. Infect Med, 2002, 19, p. 318–325.

- ORNSTEIN, K., BERGLUND, J., NILSSON, I., et al. *Characterization of Lyme borreliosis isolates from patients with erythema migrans and neuroborreliosis in southern Sweden*. J Clin Microbiol, 2001, 39, p. 1294–1298.
- SEHGAL, VN., SRIVASTAVA, G., AGGARWAL, AK., et al. *Localized scleroderma/morphea*. Int J Dermatol, 2002, 41, p. 467–475.
- SIGAL, LH. *Immunologic mechanisms in Lyme neuroborreliosis: the potential role of autoimmunity and molecular mimicry*. Semin Neurol, 1997, 17, p. 63–68.
- STEERE, AC., MCHUGH, G., SUAREZ, C., et al. *Prospective study of coinfection in patients with erythema migrans*. Clin Infect Dis, 2003, 36, p. 1078–1081.
- TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA, S., CHMIELEWSKI, T. *Limitation of serological testing for Lyme borreliosis: Evaluation of ELISA and Western blot in comparison with PCR and culture methods*. Wien Klin Wochenschr, 2002, 114, p. 601–605.
- WEIDE, B., WALZ, T., GARBE, C. *Is morphea caused by Borrelia burgdorferi? A review*. Br J Dermatol, 2000, 142, p. 636–644.
- ZORE, A., RUZIC-SABLJIC, E., MARASPIN, V., et al. *Sensitivity of culture and polymerase chain reaction for the etiologic diagnosis of erythema migrans*. Wien Klin Wochenschr, 2002, 114, p. 606–609.

DIASTOLICKÉ SRDEČNÍ SELHÁNÍ



Prof. MUDr. Jaromír Hradec, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, III. interní klinika
– klinika endokrinologie a metabolismu



SOUHRN

Epidemiologické studie z posledních let ukazují, že 30–50 % všech nemocných s chronickým srdečním selháváním má normální ejekční frakci levé srdeční komory. Předpokládá se, že u těchto nemocných je primární příčinou srdečního selhávání diastolická dysfunkce levé komory. U části těchto nemocných jsou však jejich symptomy (dušnost, periferní otoky) způsobeny extrakardiálními příčinami, jako jsou např. chronická obstrukční plicní nemoc, obezita, chronická žilní insuficience apod. To činí klinickou diagnostiku diastolického srdečního selhávání velmi nespolehlivou.

Podle definice Evropské kardiologické společnosti musejí být ke stanovení diagnózy diastolického srdečního selhávání splněna tři kritéria: (1) příznaky srdečního selhávání, (2) zachovaná systolická funkce levé komory ($EF > 0,45$), (3) objektivní průkaz abnormální relaxace, distenzibility nebo plnění levé komory. Všechna tato tři kritéria jsou však diskutabilní. Příznaky srdečního selhávání mají nízkou specifitu a pozitivní predikční hodnotu. Systolická dysfunkce levé komory může být jen přechodná, např. při dekompenzované hypertenzi, ischemii, arytmií apod. Nejproblematictější je ale objektivní průkaz diastolické dysfunkce levé komory. Neexistuje pro ni žádný jednoduchý parametr, jako je ejekční frakce pro funkci systolickou. Prakticky všechny neinvazivní parametry a metody, které jsou užívány v rutinní klinické praxi (většinou odvozené z dopplerovské echokardiografie), mají závažné limitace.

Prevalence diastolického srdečního selhávání stoupá s věkem. Postihuje častěji ženy (kolem 60 %), méně nemocné po prodělaném infarktu myokardu (kolem 20 %) a hypertenze je při něm častější než při selhávání systolickém. Prognóza nemocných s diastolickým srdečním selháváním se zdá být lepší než se selháváním systolickým. Mortalita je ve většině epidemiologických studií asi o 30 % nižší. Liší se také příčiny úmrtnosti. Závažná morbidita, vyjádřená počtem hospitalizací, je u systolického i diastolického srdečního selhávání zhruba stejná. Liší se ale důvody k hospitalizacím.

Na rozdíl od systolického srdečního selhávání u diastolického selhávání prakticky chybějí mortalitní/morbiditní klinické studie. Léčení tohoto klinického stavu proto zůstává stále více méně empirické.

SUMMARY

Epidemiological studies from recent years are showing that 30–50% of all patients with chronic heart failure have a normal or almost normal left ventricular ejection fraction. It is presumed that left ventricular diastolic dysfunction is the primary cause of heart failure in these patients. Nevertheless, part of the patients have symptoms (dyspnoea, peripheral oedema) caused by extracardiac diseases (such as obstructive lung disease, obesity, venous insufficiency etc.). This makes clinical diagnosis of diastolic heart failure inaccurate.

According to the European Society of Cardiology Working Group on Heart Failure definition there are three criteria to be fulfilled for the diagnosis of diastolic heart failure: (1) signs and symptoms of heart failure; (2) preserved left ventricular systolic function ($EF > 0,45$); (3) an objective evidence of abnormal relaxation, distensibility and/or left ventricular filling. But all these three diagnostic criteria are questionable. Symptoms of heart failure have very low both, specificity and positive predictive value. Systolic dysfunction can be only temporary due to e.g. decompensated hypertension, ischaemia, arrhythmias etc. Most problematic is the objective evidence of left ventricular dysfunction. There is no such simple parameter for diastolic heart function like ejection fraction is for systolic function. Practically all of the routinely used noninvasive parameters and methods (mostly derived from Doppler echocardiography) have inherited serious limitations.

Prevalence of diastolic heart failure is increasing with age. There are more females (about 60%), less post-MI patients (about 20%) and more hypertension (60–80%) among diastolic heart failure patients compared to systolic heart failure ones. Prognosis of diastolic heart failure seems to be a little better than that of systolic heart failure. Mortality is lower by about 30% in most of the epidemiological studies. Cause specific mortality also differs. Morbidity (expressed as hospitalization rate) is about the same in both, systolic and diastolic heart failure. But again, the reasons for hospitalization are different.

Contrary to systolic heart failure, there are missing therapeutic mortality/morbidity clinical trials in diastolic heart failure. Therefore, treatment of this clinical entity still remains empiric.

ÚVOD

Srdeční selhání, stručně definované jako neschopnost levé komory udržet adekvátní srdeční výdej v klidu nebo při zátěži při normálním plicním tlaku, bylo donedávna takřka výhradně spojováno se systolickou (kontraktilní) dysfunkcí levé komory. Příznaky a známky srdečního selhání se však mohou objevit i u nemocných bez systolické dysfunkce levé komory. U těchto nemocných je primární příčinou klasických klinických symptomů srdečního selhání, jako je dušnost a únava, diastolická dysfunkce levé komory. Pro klinický obraz srdečního selhání, které se rozvine na podkladě di-

astolické dysfunkce a při zachované normální systolické funkci levé komory, se začal používat termín diastolické srdeční selhání. Vznikla tak nová samostatná klinická jednotka.

Řada epidemiologických studií v posledních 10 letech naznačila, že diastolické srdeční selhání je daleko častější, než jsme si ještě před nedávnem mysleli. Je diagnostikováno až u jedné poloviny všech nemocných s chronickým srdečním selháním v populaci. Jeho podíl na všech případech chronického srdečního selhání narůstá s věkem. A protože populace u nás stejně jako ve všech vyspělých zemích stárne, zvyšuje se a bude se zvyšovat i počet nemocných s diastolickým srdečním selháním.

Srdeční diastola je děj komplexní a velmi složitý. Skládá se z aktivního, energii vyžadujícího procesu relaxace myokardu, který je navíc významně ovlivňován předchozí myokardiální kontrakcí, a z pasivního děje plnění levé komory, významně ovlivňovaného fyzikálními vlastnostmi levé komory, především její tuhostí, respektive její poddajností. Všechny tyto složité děje mohou být ovlivňovány celou řadou faktorů. Právě multifaktoriální charakter diastolické dysfunkce a její možná koincidence se systolickou dysfunkcí činí definici, diagnostiku, diferenciální diagnostiku a tím i zjištění přesné prevalence diastolického srdečního selhání velmi obtížné.

DEFINICE

V literatuře i v klinické praxi se více méně promiskue používají dva termíny – **diastolické srdeční selhání** a **srdeční selhání se zachovanou systolickou funkcí**. Tyto dva termíny nejsou totožné! Diastolické srdeční selhání je specifická jednotka, způsobená primárním poškozením myokardu, např. ischemií, hypertrofií, fibrózou atd. K diagnóze je nezbytný objektivní průkaz diastolické dysfunkce levé komory. Srdeční selhání se zachovanou systolickou funkcí je termín širší. Objektivní průkaz diastolické dysfunkce levé komory není obvykle vyžadován. K diagnóze stačí klinický obraz srdečního selhání a průkaz normální nebo takřka normální systolické funkce, obvykle vyjádřené hodnotou ejekční frakce levé komory větší než 0,50 (normální) nebo rovnou či větší než 0,45 (takřka normální). Potíž je v tom, že vzhledem k malé specifitě, a tedy malé diagnostické spolehlivosti hlavních klinických symptomů srdečního selhání (viz dále) se pod diagnózu srdečního selhání se zachovanou systolickou funkcí často dostávají nemocní, kteří vůbec srdeční selhání nemají a jejichž symptomy jsou způsobeny jinými, nekardiálními onemocněními, např. chronickou obstrukční pulmonální nemocí, obezitou a podobně.

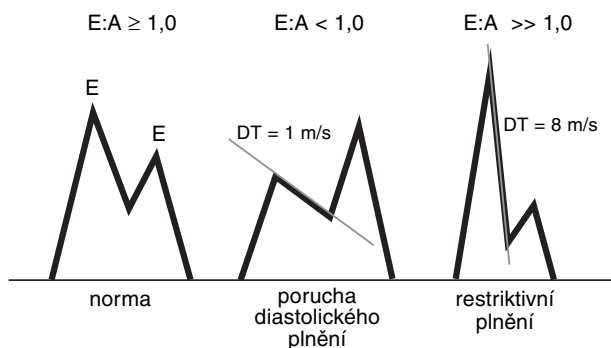
DIAGNOSTIKA

Studijní skupina pro diastolické srdeční selhání Evropské kardiologické společnosti publikovala nedávno zprávu, ve které navrhla diagnostická kritéria primárního diastolického srdečního selhání. K diagnóze musí nemocný splňovat následující tři kritéria: (1) Musí mít příznaky (dušnost, únavnost,) a/nebo fyzikální známky (venostatické chřípky na plicích, tachykardii, slyšitelnou třetí srdeční ozvu, srdeční cval, popř. periferní otoky) srdečního selhání. (2) Musí mít zachovanou systolickou funkci levé komory ($EF \geq 0,45$), což se v klinické praxi obvykle prokáže echokardiograficky. (3) Musí mít objektivně prokázanou diastolickou dysfunkci levé komory, ať již abnor-

mální relaxaci, distenzibilitu a/nebo plnění levé komory. V praxi se takový průkaz získává nejnázne a nejčastěji opět echokardiografií kombinovanou s dopplerovským vyšetřením.

Tato diagnostická kritéria však v sobě mají celou řadu úskalí. Především to je již výše zmíněná malá diagnostická spolehlivost příznaků a známek srdečního selhání. Podle studie, která proběhla v letech 1985–1988 na 40 574 nemocných sledovaných u 22 holandských praktických lékařů, má dušnost jako příznak srdečního selhání pozitivní předpovědní hodnotu u nemocných ve věkové kategorii 65–74 let jen 25 %, ve věkové kategorii nad 74 let pak 44 %. Pozitivní předpovědní hodnota periferních otoků pro diagnózu srdečního selhání je ještě nižší – ve věkové kategorii 65–74 let pouze 11 % a ve věkové kategorii nad 74 let 27 %. Ani bod (2) definice Evropské kardiologické společnosti není jednoznačný. Zachovaná systolická funkce u nemocného s klinickými projevy srdečního selhání může být důsledkem toho, že příčina systolické dysfunkce, která vedla k srdečnímu selhání, byla jen přechodná, např. dekompenzovaná hypertenze, přechodná ischemie myokardu nebo arytmie. Původně nízká ejekční frakce se také může normalizovat po zahájení adekvátní léčby srdečního selhání. Největší problémy jsou však s bodem (3) definice Evropské kardiologické společnosti, tedy s objektivním průkazem diastolické dysfunkce levé komory.

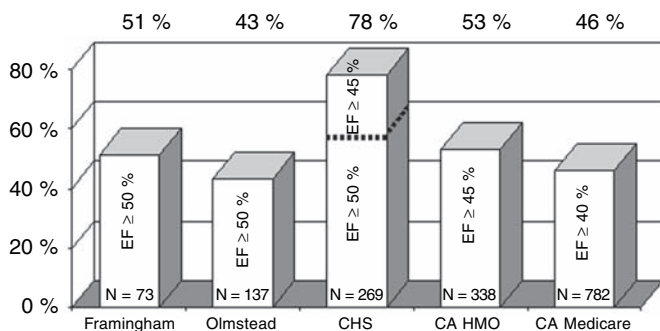
Bohužel pro posouzení diastolické funkce chybí takový jednoduchý parametr, jaký představuje ejekční frakce pro posouzení funkce systolické. Přesné hodnocení diastolické funkce levé komory je možné pouze invazivně – změřením plicního tlaku, konstrukcí tlakově-objemové křivky levé komory a výpočtem konstanty tau a konstanty myokardiální tuhosti. To je však postup složitý a rozhodně není použitelný v běžné klinické praxi. V klinice se k posouzení diastolických vlastností levé komory běžně používá echokardiografie v kombinaci s dopplerovským vyšetřením. Možností je celá řada – tou nejjednodušší a nejběžnější je hodnocení transmitrální dopplerovské průtokové křivky a stanovení poměru časné diastolické (E) a pozdně diastolické (A) rychlosti, tedy poměru $E : A$. Normální hodnoty $E : A$ jsou větší než 1, hodnoty menší než 1 jsou obvykle projevem abnormálního plnění levé komory (obr. 1). Současně se také prodlužuje decelerační čas a snižuje decelerační rychlost. Problémem je, že poměr $E : A$ je ovlivňován celou řadou faktorů – kardiálních i nekardiálních – a jeho výsledná hodnota je určována jejich vzájemnou interakcí. Hodnota $E : A$ se snižuje při zhoršené relaxaci levé komory, ale také např. se stoupajícím věkem, zvyšuje se naopak se stoupajícím tlakem v levé síni. Při zhoršujícím se selhávání stoupá plicní tlak v levé komoře, a tedy i tlak v levé síni a poměr $E : A$ se zvyšuje opět do normálních hodnot – transmitrální dopplerovská křivka se tzv. pseudonormalizuje. V praxi proto často stojíme před otázkou, zda normální transmitrální dopplerovská křivka s poměrem $E : A > 1$ je skutečně normální při normální diastolické funkci levé komory, nebo pseudonormalizovaná při těžší diastolické dysfunkci. Rozhodnutí obvykle přinese posouzení některého dalšího echo/dopplerovského parametru, např. dopplerovské vyšetření systolické a diastolické rychlosti toku krve v plicních žilách. Projevem diastolické dysfunkce je také prodloužení izovolumického relaxačního času (IVRT), které odráží poruchu aktivní relaxace levé komory. Nejpresnějším způsobem neinvazivního hodnocení diastolické funkce je měření pohybu mitrálního prstence rychle se rozšiřující metodou tkáňového Dopplera (TDI – Tissue Doppler Imaging). Zdá se, že v budoucnosti by mohla diagnózu diastolického srdečního selhání zpřesnit a učinit exaktnější kombinace stanovení plazmatické koncentrace natriuretického peptidu B (průkaz, že se skutečně jedná o srdeční selhání) a vyšetření tkáňovým Dopplerem (průkaz, že je přítomná diastolická dysfunkce levé komory).



Obr. 1. Transmitrální dopplerovské křivky za fyziologické situace (norma), při lehké (porucha diastolického plnění) a těžší diastolické dysfunkci levé komory (restriktivní charakter plnění). E = časně diastolická transmitrální rychlost krevního proudu, A = pozdně diastolická transmitrální rychlost krevního proudu, DT = decelerační rychlost

EPIDEMIOLOGIE

Vzhledem k výše popsaným problémům s diagnostikou je obtížné určit přesnou prevalenci diastolického srdečního selhání v populaci. Průřezové populační echokardiografické studie (jen v Evropě jich bylo v poslední době provedeno 7) ukázaly, že diastolické srdeční selhání tvoří přes 50 % (rozpětí 40–70 %) všech případů chronického srdečního selhání (obr. 2). Od roku 2000 bylo publikováno celkem 9 nemocničních kohortových studií (většinou z USA), které zjistily, že kolem 40 % (rozpětí 24–55 %) nemocných hospitalizovaných pro srdeční selhání má diastolické srdeční selhání. Podíl diastolického srdečního selhání na všech případech chronického srdečního selhání výrazně stoupá s věkem. Ve srovnání se systolickým srdečním selháním jsou tedy nemocní s diastolickým srdečním selháním starší a je mezi nimi daleko větší podíl žen – asi 60 % oproti 30 % u systolického selhání, tedy dvojnásobek. Mezi nemocnými



Obr. 2. Prevalence srdečního selhání se zachovanou systolickou funkcí (normální nebo takřka normální ejekční frakcí) levé komory v různých epidemiologických studiích z USA. EF = ejekční frakce levé komory (v %)

s diastolickým srdečním selháním je více hypertoniků (70–80 %) než mezi nemocnými se systolickým srdečním selháním (60 %), méně nemocných s ischemickou chorobou srdeční – nemocných po prodělaném infarktu myokardu je kolem 20 % oproti 40–70 % mezi nemocnými se systolickým srdečním selháním.

PROGNÓZA

Nemocní s diastolickým srdečním selháním mají o něco lepší prognózu než nemocní se systolickým srdečním selháním. Např. ve studii z Helsinek (Helsinki Ageing Study) byla čtyřletá mortalita nemocných se srdečním selháním se zachovanou systolickou funkcí 43 % ve srovnání s 54 % u nemocných se systolickým selháním. Podobně ve Framinghamské studii byla šestiletá mortalita nemocných se srdečním selháním se zachovanou systolickou funkcí 46 % oproti 75 % u nemocných se systolickým selháním. A konečně v Cardiovascular Health Study byla jednoroční mortalita nemocných se srdečním selháním a zachovanou systolickou funkcí 8,1 %, větší než u nemocných s asymptomatickou systolickou dysfunkcí, ale menší než u nemocných se systolickým srdečním selháním (tab. 1). Liší se také příčiny úmrtí. Nemocní s diastolickým srdečním selháním umírají ve srovnání s nemocnými se systolickým srdečním selháním méně často na progresi srdečního selhání, ale častěji na nekardiovaskulární příčiny.

Tab. 1. Mortalita nemocných v Cardiovascular Health Study v závislosti na přítomnosti srdečního selhání a hodnotě ejekční frakce

Skupina nemocných	bez SS	bez SS	se SS	se SS
norm. EF	↓ EF	norm. EF	↓ EF	
Jednoroční mortalita (%)	1,9	5,9	8,1	14,6

SS = srdeční selhání, EF = ejekční frakce

Morbidita nemocných se srdečním selháním a zachovanou systolickou funkcí je srovnatelná s morbiditou nemocných se systolickým srdečním selháním. Počet hospitalizací je prakticky stejný – do 6 měsíců po první hospitalizaci pro srdeční selhání je rehospitalizováno 20–25 % nemocných a do jednoho roku 30–35 %. V dnes již klasické studii DIG, která hodnotila u nemocných se srdečním selháním účinek digoxinu proti placebo a do níž bylo zařazeno také takřka tisíc nemocných s normální ejekční frakcí, bylo za průměrnou dobu sledování 37 měsíců rehospitalizováno 67,1 % nemocných s nízkou ejekční frakcí a srovnatelných 66,5 % nemocných s normální ejekční frakcí. Tyto dvě podskupiny se však výrazně lišily co do příčin hospitalizací. Nemocní se srdečním selháním a normální ejekční frakcí byli daleko častěji hospitalizováni pro nekardiovaskulární příčiny a daleko méně často pro zhoršení srdečního selhání.

LÉČENÍ

V posledních letech jsme získali ohromné množství informací o epidemiologii a prognóze diastolického srdečního selhání. Co však stále nevíme, je, jak tyto nemocné správně léčit. Zatímco u systolického srdečního selhání máme k dispozici výsledky

desítek velkých a pečlivě provedených randomizovaných klinických studií, na jejichž základě byla postulována racionální léčba, u diastolického srdečního selhání zatím existuje jediná ukončená mortalitní nebo morbiditní léčebná klinická studie. Je to studie CHARM-preserved, ve které blokátor receptorů A₁ pro angiotenzin II candesartan snížil proti placebo výskyt kombinovaného primárního cíle – kardiovaskulární mortality a hospitalizací pro srdeční selhání – o 14 %, což bylo na hranici statistické významnosti. Toto snížení bylo dáno výhradně snížením počtu hospitalizací pro srdeční selhání, kardiovaskulární mortalita nebyla candesartanem vůbec ovlivněna.

Současná doporučení k léčbě chronického srdečního selhání berou tuto situaci na vědomí a poskytují jen minimální návod. Léčba diastolického srdečního selhání je zatím více méně empirická, i když založená na dobrých teoretických předpokladech. V současnosti však probíhá několik velkých klinických studií hledajících optimální léčbu nemocných se srdečním selháním a zachovanou systolickou funkcí levé komory. Doufejme, že jejich výsledky pomohou zodpovědět dosud chybějící a přitom mimořádně důležité otázky.

Prozatím lze pro praxi i formulovat pouze obecné cíle léčení diastolického srdečního selhání:

1. Odstranit nebo alespoň snížit městnání krve diuretiky. Je nutné je opatrně dávkovat, aby nevznikla hypovolémie, která by zhoršila plnění levé komory a tím i diastolickou dysfunkci.
2. Obnovit a udržet síňovou kontrakci – antiarytmika, elektrická kardioverze, dvou-dutinová kardiostimulace.
3. Zabránit tachykardii a navodit bradykardii – β -blokátory, bradykardizující blokátory kalciových kanálů, digoxin, popř. jejich opatrné kombinace.
4. Léčit a předcházet ischemii myokardu – β -blokátory, dlouhodobě působící nitráty, dihydropyridinové blokátory kalciových kanálů vyšších generací.
5. Kontrolovat hypertenzi a navodit regresi hypertrofie levé komory – všechna anti-hypertenziva, zejména pak inhibitory ACE a blokátory receptorů pro angiotenzin II (tzv. sartany).
6. Zmírnit neurohumorální aktivaci – β -blokátory, inhibitory ACE, sartany, spironolacton.
7. Zabránit fibróze myokardu, popř. navodit její regresi – inhibitory ACE, sartany, spironolacton.
8. Zlepšit relaxaci komor (lusitropii) – zatím nemáme žádný specifický lék.



SÚČASNÝ STAV A PERSPEKTÍVY OROFACIÁLNEJ ONKOLÓGIE



Prof. MUDr. Andrej Jenča, CSc.

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košicih,
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Louise Pasteura,
Klinika stomatologie a maxilofaciální chirurgie*

SÚHRN

Karcinóm jazyka patrí vzhľadom k svojej incidencii, klinickému správaniu a prognóze medzi najzávažnejšie malignity v rámci dutiny ústnej. Jeho incidencia v celosvetovom meradle stúpa a to aj napriek mohutnej protinádorovej kampani zameranej na rizikové skupiny. Najvyšší výskyt je popisovaný v krajinách Ázie, najnižší v Európe a Severnej Amerike. Problematickým je odstraňovanie exogénnych etiologických faktorov, ktorými sú najmä fajčenie, alkohol a ostatné dráždivé faktory v rámci dutiny ústnej. V našom súbore pacientov fajčilo viac ako 10 cigariet denne až 83 %. Medzi najčastejšie anatomicke lokalizácie patrí hrana jazyka (34 %), najmenej častou bola špička jazyka (3,4 %). Problematickým je neskorý záchyt ochorenia, väčšina pacientov sa dostavuje na oštenie až v treťom klinickom štádiu ochorenia (41,5 %). Najčastejšími liečebnými modalitami boli kombinácie chirurgickej liečby s rádioterapiou a kombinácia chirurgie, rádiochemoterapie. Chemoterapia ako samostatná liečebná modalita nebola použitá v žiadnom prípade. Jednou z kritérií účinku a efektívnosti liečby je doba prežívania pacientov s nádorom jazyka. V našom súbore prežíva 60 chorých (20,5 %), zdravotný stav sa nám napodarilo zistiť u 70 chorých (23,8 %). Do jedného roku po zahájení liečby z nášho súboru zomrelo 80 chorých (27,6 %). Najmenšiu šancu a najnižšie percento chorých, ktorí prežívajú obligátorne dávanú dobu 5 rokov, je v III. klinickom štádiu 52 chorých (17,7 %) a v IV. klinickom štádiu 42 chorých (14,5 %). Problematika karcinómu jazyka je pomerne zložitá a poskytuje miesto pre širokú interdisciplinárnu spoluprácu v rámci diagnostiky, terapie, ale i prevencie.

ÚVOD

Incidencia zhubných nádorov má v celosvetovom meradle stúpajúci trend. Údaje WHO ukazujú, že asi 30 % obyvateľstva je postihnuté malígnym ochorením a asi 20 obyvateľov na následky malígneho ochorenia zomiera. V súčasnej dobe vo vyspelých krajinách je postihnutý nádorovou chorobou každý piaty človek. V prípade, že sa nechá ľudstvo napriek vážnym výstrahám biológov, onkológov i hygienikov naďalej a stále vo väčšom rozsahu ohrozovať ďalšími kancerogénmi, ktoré moderná doba so sebou prináša, dá sa očakávať, že okolo roku 2010 ochorie takmer každý tretí človek.

Stúpajúci trend výskytu zhubných nádorov nie je len u dospelého obyvateľstva planéty, ale v posledných rokoch sa začína prejavovať vo zvýšenej miere aj u detí, priemerne 14–25 na 100 000 detí. Úmrtnosť detí na zhubné nádory sa dostala na druhé miesto v poradí za úmrtnosťou následkom úrazov a otráv.

Z našich teoreticko-klinických skúseností a poznatkov má medzi anatomickými lokalitami orofaciálnych karcinómov najvážnejšiu prognózu karcinóm jazyka. Je to spôsobené jeho nepriaznivými biologickými vlastnosťami predovšetkým častým metastázovaním a z toho vyplývajúcim nízkym percentom dlhodobu prežívajúcich chorých.

Touto prácou chcem prispieť k riešeniu tohto problému, analyzujúc doterajšie teoretické a klinické skúsenosti s cieľom zaviesť do praxe nové metódy a postupy, ktoré napomôžu efektívnej diagnostike, prevencii a terapii malígnych ochorení v orofaciálnej oblasti.

FORMY KARCINÓMU JAZYKA

- A. Vyskytuje sa ako endofytická forma, ktorá spočiatku predstavuje tuhý, centrálné vtiahnutý infiltrát. Karcinóm tohoto typu vyrastá na spodine interpapilárnej rýhy, šíri sa smerom do hĺbky, pozdejšie infiltruje subslizničné tkanivá, svalovinu jazyka a v pokročilejších štádiách rastu exulceruje. Vzhľadom k tomu, že rastie interpapilárne, je mnohokrát nimi maskovaný a často môže uniknúť pozornosti.
- B. Vyskytuje sa ako exofytická forma, tiež nazývaná papilárna, hypertrofická, či karfiolovitá, ktorá začína ako malý výrastok nad niveau epiteliálneho povrchu. Postupným rastom a bujnením nádorového tkaniva vzniká útvar karfiolovitého tvaru.
- C. Vyskytuje sa ako skirhotická, alebo tiež nazývaná intersticiálna forma, ktorá infiltruje postupne celý jazyk. Tento sa stáva tvrdým, nepohyblivým, pričom povrch jazyka nemusí byť zmenený.
- D. V literatúre sú popísané formy hybridného karcinómu jazyka, ktorý vzniká na patologicko anatomickom podklade pri syfilise, alebo forma papiliformná, ktorá vzniká na podklade leukoplakie a leukokeratóz. Obe tieto formy sa v našich podmienkach vyskytujú vzácné.

Rakovina jazyka, ktorá vzniká na podklade syfilitickom, môže byť kombinovaná s tromi formami terciálneho štádia syfilisu: s tuberoulceróznym, gumóznym a sklerogumóznym štádiom choroby.

Carcinoma in situ jazyka vzniká obvykle na podklade leukoplakie. Najčastejšie to býva ohraničená lézia malej veľkosti, cca do 1 cm. Infiltruje povrchovú časť sliznice jazyka. Po chirurgickom odstránení nerecidivuje, môže sa však vyskytnúť v inej lokalizácii jazyka. Prognóza tohoto typu karcinómu je dobrá, spravidla nezakladá metastázy do lymfatických uzlín.

Z uvedených klinických foriem karcinómu sa najčastejšie vyskytuje forma exofytického karcinómu. Jeho lokalizácia môže byť v pohyblivej časti, i vo fixovanej časti jazyka. Väčšinou môžeme to vysvetliť tým, že v týchto partiách je jazyk najčastejšie iritovaný a traumatizovaný. Margo linguae je častým sídlom leukoplakií a leukokeratóz. V prípade lokalizácie karcinómu na margo linguae zostáva jeho unilaterálnosť dlho. Pri lokalizácii karcinómu na báze jazyka, tj. vo fixovanej časti jazyka, rýchle prerastá na kontralaterálnu stranu, infiltruje celý jazyk a šíri sa na arcus palatoglossus, na arcus palatopharyngeus a v pokročilejších štádiách do sulcus glossoepiglotticus a na epiglottis.

Karcinóm jazyka sa ďalej môže lokalizovať na spodine jazyka. V tejto lokalizácii sa vyskytuje najčastejšie v exofytickej forme, ktorá sa rýchle šíri na spodinu ústnej dutiny, mnohokrát infiltruje aj alveolárny výbežok sánky. Pri tejto lokalizácii karcinóm nazývame pelvilinguálnou formou. Výskyt karcinómu na dorsum linguae pred sulcus terminalis a na apex linguae je vzácny.

DIAGNOSTIKA KARCINÓMU JAZYKA

V celej klinickej problematike nádorových ochorení je najvýznamnejším činiteľom rozpoznanie novotvaru. Vzhľadom k vzrastajúcej incidencii karcinómu jazyka a taktiež k jeho nepriaznivým biologickým vlastnostiam je znalosť symptomatológie a stanovenie včasnej diagnózy najvážnejšou kapitolou klinickej onkológie. V iniciálnom štádiu nádor rastie asymptomaticky. Ťažkosti, ktoré spočívajú v obmedzenej pohyblivosti jazyka, bolesť ako symptóm ochorenia sa objavujú až neskoršie, pri pokročilejších proliferáciách nádoru. Významnú úlohu v neskorom diagnostikovaní má i malá skúsenosť lekárov predovšetkým v línii prvého kontaktu s chorým na túto chorobu. Postihnutí karcinómom jazyka sú častejšie muži než ženy v piatom až siedmom decéniu. V súčasnej dobe pribúda chorých v mladšom veku. Lokalita dutiny ústnej je dobre prístupná všetkým formám fyzikálneho vyšetrenia. Okrem toho máme k dispozícii celú škálu pomocných a doplnkových vyšetrení, vďaka ktorým môžeme suverénne povedať, že diagnostika karcinómu jazyka je dnes na špičkovej úrovni.

TERAPIA

Komplexná liečba zahŕňa nielen vlastnú onkologickú liečbu, ale i všetky ostatné opatrenia a starostlivosť, ktoré priaznivo ovplyvňujú celkový stav chorého, ale i liečbu doplnkovú a rehabilitáciu po skončení terapie. Komplexná starostlivosť je teda kvalitatívnym a kvantitatívnym zhrnutím všetkých opatrení v prevencii, v diagnostike, v liečení a ošetrovaní chorých s nádorom podľa individuálnych potrieb chorého a jeho choroby. V klinickej praxi sa terapia karcinómu jazyka opiera o tri základné pilere, ktorými sú chirurgická liečba, rádioterapia a chemoterapia. Okrem toho máme k dispozícii aj širokú škálu liečebných metód uplatňujúcich sa najmä ako nešpecifická podporná liečba.

Chirurgická liečba

Úlohu chirurgickej liečby chápeme z dvoch základných hľadísk. Za prvé je potrebné vychádzať z toho, že zhubný nádor začína ako miestne ochorenie, ktoré sa z miesta primárnej lokalizácie šíri do prílehlých tkanív a do miazgového systému. Preto je prvoradou úlohou odstrániť nádor v bezpečnostnej zóne a spolu s ním i regionálne lym-

fatické uzliny postihnuté metastázami. Druhým hľadiskom je vývoj choroby, ktorý je spojený narušením imunitnej odpovedi chorého na ochorenie. Odstránením väčšieho množstva nádorovitého tkaniva sa znižuje špecifické i nešpecifické imunosupresívne pôsobenie organizmu indukované nádorom a tým napomáha organizmu vyrovnať imunologickú rovnováhu.

Chirurgická liečba primárneho nádoru:

- výkony na pohyblivej časti jazyka;
- kombinované operácie;
- rozšírené operácie;

Chirurgická liečba uzlinových metastáz:

- exstirpácia uzliny – petit evident;
- suprahyoidná blokovaná krčná disekcia;
- funkčná blokovaná krčná disekcia;
- radikálna blokovaná krčná disekcia.

Rádioterapia

Rádioterapia je neoddeliteľnou súčasťou komplexnej terapie karcinómu jazyka. O jej indikácii, o ožarovacom zdroji, o dávke a frakcionovaní žiarenia, rovnako ako o ožarovacej dobe a objeme ožarovaneho tkaniva rozhodujú príslušní odborníci – onkológ, rádioterapeut a rádiofyzik. Užíva sa buď ako metóda kuratívna (radikálna), alebo ako metóda paliatívna. Cieľom radikálnej rádioterapie je dosiahnuť úplného vyhojenia chorobného ložiska, paliatívna rádioterapia má odstrániť alebo zmierniť subjektívne ťažkosti chorého. Paliatívna rádioterapia priaznivo ovplyvňuje psychický stav pacienta zmiernením nepriaznivých príznakov nádorovej choroby, ako sú bolesti, rozpad nádoru, krvácanie a pod.

V kombinácii s chirurgickou liečbou sa ožaruje buď predoperačne, alebo pooperačne. Cieľom predoperačnej rádioterapie je zmenšiť rozsah nádoru, ovplyvniť jeho biologické vlastnosti, vitalitu a zabrániť tvoreniu metastáz. Pooperačné ožiarovanie má potom za úlohu likvidovať zvyšky nádoru, ktoré sa z rôznych dôvodov nedali odstrániť operáciou. V súčasnej dobe existuje veľké množstvo zaužívaných algoritmov rádioterapie. O vhodnosti toho ktorého postupu rozhoduje rádioterapeut po konzultácii s chirurgom.

Chemoterapia

Stanovenie optimálnej cytostatickej liečby je jedným z najobtiažnejších a najzodpovednejších problémov komplexnej terapie, lebo existuje celý rad činiteľov, ktoré štandardné postupy a liečebné dávky ovplyvňujú. Sú to predovšetkým histologický typ nádoru, jeho lokalizácia, objem, vek chorého, jeho biologický stav, skúsenosť liečebného tímu a možnosť voľby cytostatika a jeho dostupnosť. Chemoterapia zaznamenala v posledných 20 rokoch prudký rozvoj. Umožňuje podanie účinnej látky parenterálne (intravenózne alebo intraarteriálne) a intratumorálne. Najúčinnnejšou liečebnou formou chemoterapie pri karcinóme jazyka je regionálna intraarteriálna aplikácia cytostatika.

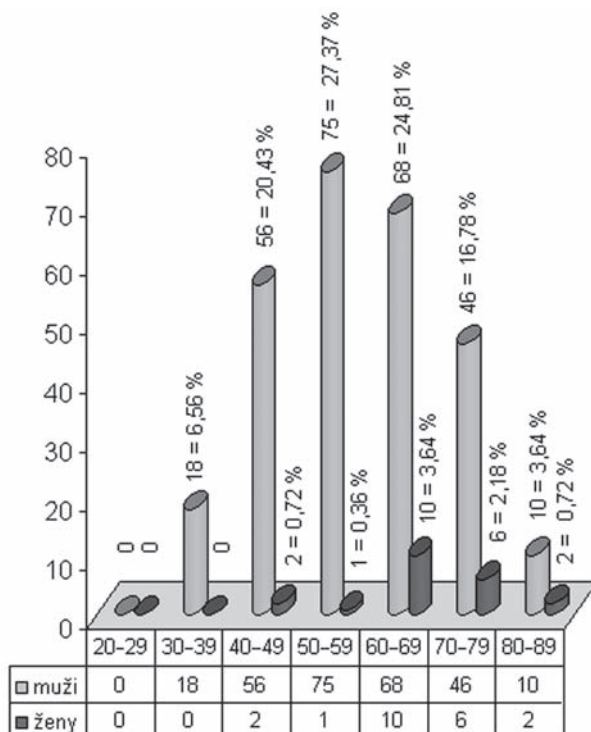
MATERIÁL A METODIKA

V klinickom súbore sme spracovali údaje o 294 chorých, ktorí boli liečení na II. stomatologickej klinike LF UPJŠ a FN L. Pasteura v Košiciach v rokoch 1984–2003 pre karcinóm jazyka.

Súbor predstavuje 273 mužov (92,85 %) a 21 žien (7,14 %). Údaje sme získali spracovaním zdravotnej dokumentácie archivovanej na klinike, röntgenového vyšetrenia, klinického vyšetrenia a histologického nálezu. Sledovali sme dynamiku metastázovania karcinómov do regionálnych lymfatických uzlín, nakoľko považujeme túto časť práce za najdôležitejšiu, pretože metastázy sú príčinou vysokej mortality. Mnohokrát sa totiž primárny nádor vylieči, avšak zabráneniu rozsevu metastáz nevieme predísť. Údaje o prežívaní chorých po zahájení liečenia sme získavali jednak z klinických záznamov o dispenzarizácii, jednak dotazníkom, ktorý sme zasielali obvodným lekárom. Dotazník obsahoval údaje o zdravotnom stave, spoločenskom postavení chorého počas ochorenia, dátum a príčinu smrti chorého.

VÝSLEDKY

V rokoch 1984–2003 bolo na II. stomatologickej klinike (t.č. Klinika stomatológie a maxilofaciálnej chirurgie) LF a FN v Košiciach liečených 294 pacientov s karcinómom jazyka. Z tohoto celkového počtu bolo 273 mužov (92,85 %) a 21 žien (7,14 %). Najviac postihnutých sme pozorovali vo vekovej skupine 60–69ročných 78 pacientov (26,53 %), ďalej potom medzi rokmi 50–59 76 pacientov (25,85 %). Značne vysoké percento karcinómu jazyka je u mladších jedincov medzi 40–49ročnými 58 chorých (19,72 %) a 30–39ročnými 18 chorých (6,12 %) – obr. 1.



Obr. 1. Rozdelenie súboru podľa decínií za roky 1984–2003

Lokalizácia nádoru na jazyku môže byť na rôznych jeho častiach. V našom súbore bola najčastejšia lokalizácia na hrane jazyka, 100 chorých (34,01 %), potom na koreni jazyka, 82 pacientov (27,89 %) a jazyku s prechodom na spodinu ústnej dutiny (pelvilinguálna forma) 84 chorých (28,57 %). Najmenej bol postihnutý hrot jazyka 10 pacientov (3,40 %).

Z anamnestických údajov sme spracovali skladbu našich chorých podľa zamestnania. V priemysle bolo zamestnaných 112 pacientov (38,09 %), v poľnohospodárstve 60 pacientov (20,40 %), značné percento postihnutých boli dôchodcovia – 98 pacientov (33,33 %), ktorých sme brali, že sú najmenej 1 rok na dôchodku. Skupinu »ostatní« predstavovalo len 24 pacientov (8,16 %).

Pri zameriavaní sa na zistenie dôvodu vyhľadania lekárskej starostlivosti pacienti uvádzali, predovšetkým bolesť a pálenie jazyka – 80 chorých (26,9 %), nasledovali patologické zmeny na jazyku (nehojaci sa vred, opuch) – 56 chorých (18,1 %). V hodnotenom súbore fajčilo 244 probantov (82,99 %). Fajčenie do 10 cigariet na deň predstavovalo 60 probantov (20,4 %), do 20 cigariet 106 probantov (36,05 %), nad 20 cigariet 68 probantov (21,76 %), fajku fajčilo 10 probantov (3,4 %) a nefajčiarov bolo 50 probantov (17,0 %).

Pravidelnú konzumáciu alkoholických nápojov nám priznalo 256 postihnutých (87,0 %). Najčastejšie boli konzumované liehoviny, 116 chorých (39,1 %), v kombinácii s vínom 90 chorých (30,6 %), víno požívalo 50 pacientov (17 %), len 38 chorých z našich probantov (13,0 %) nepoužívalo alkoholické nápoje častejšie ako 1krát za 2 týždne.

Z rodinnej anamnézy vyplynulo, že 52 probantov (17,68 %) má pozitívnu nádorovú anamnézu. V osobnej anamnéze sme zaznamenali, že 56 probantov (19,04 %) má pozitívnu osobnú anamnézu. Prekancerózne ochorenia boli liečené u 20 chorých (6,80 %) a 56 chorých

(19,04 %) trpelo na chronické dráždenie ostrými okrajmi zubov a výplní koreňov zubov a nevyhovujúcimi zubnými náhradami.

Výsledky účinku liečby sme sledovali zisťovaním vzniku miestnych a uzlinových recidív. Vysoké percento miestnych recidív u 36 postihnutých (12,24 %) a uzlinových recidív u 92 postihnutých (31,2 %) sme pozorovali u tých postihnutých, ktorým bola aplikovaná monoterapia žiarením alebo kombinovaná aktinoterapia so systémovým podávaním cytostatík.

Jednou z kritérií účinku a efektívnosti liečby je doba prežívania pacientov s nádorom jazyka. V našom súbore prežíva 60 chorých (20,5 %), zdravotný stav sa nám napodarilo zistiť u 70 chorých (23,8 %). Do jedného roku po zahájení liečby z nášho súboru zomrelo 80 chorých (27,6 %).

Najmenšiu šancu a najnižšie percento chorých, ktorí prežívajú obligátorne dávanú dobu 5 rokov, je v III. klinickom štádiu 52 chorých (17,7 %) a v IV. klinickom štádiu 42 chorých (14,5 %) – tab. 1.

DISKUSIA

Predkladaná práca sumarizuje výsledky onkologického výskumu na Klinike stomatológie a maxilofaciálnej chirurgie LF UPJŠ a FN L. Pasteura v Košiciach za časové obdobie 1984–2003, tj. za dvadsaťročný časový interval. Analyzuje súbor 294 chorých na karcinóm jazyka, ktorí boli liečení na uvedenej klinike.

Tab. 1. Rozdelenie súboru podľa dôvodu vyhľadávania lekára za roky 1984–2003

	Dôvod vyhľadania lekára – jazyk	Častosť v %
1.	bolesť, pálenie jazyka	26,9
2.	patologická zmena na jazyku	18,1
3.	obťažné, alebo bolestivé prehltávanie, obťažne pri jedle	14,3
4.	bolesť zubov v sánke s vyžarovaním do ucha a tváre	10,8
5.	traumatizácia jazyka (ostré hrany zubov, korene, nevyhovujúca protéza)	9,7
6.	pocit cudzieho telesa v ústach, v krku, obmedzená pohyblivosť jazyka, obťažne pri artikulácii	7,4
7.	krvácanie z úst	5,7
8.	opuch podsánkovej oblasti	3,6
9.	náhodné zistenie pri vyšetrení	2,6
10.	kontraktúra	0,9

V uvedenom súbore bolo 272 mužov, tj. 92,5 %, a 22 žien, tj. 7,5 %, vo veku od 30 do 89 rokov. Pomer mužov k ženám bol 12,3 : 1. Z anamnestických údajov bolo zistené, že 87,0 % konzumovalo destilované alkoholy pravidelne a len 13 % nepoužívalo alkohol častejšie ako 1x za dva týždne. Tento činiteľ spolu s fajčením (pri ktorom sme zistili, že 82,6 % je aktívnych fajčiarov, z toho 23,5 % sú fajčiari nad 20 cigariet denne), nesprávna psychohygiena, hygiena ústnej dutiny a nedostatočný príjem správne zastúpených jednotlivých zložiek potravín považujeme ako etiologický činiteľ pri vzniku a progresii zhubného nádoru, čo je v súlade s výsledkami v prácach. Prikláňame sa k práci, že tabakový dym pôsobí na aktívnych fajčiarov, ale i nefajčiarov, ktorí sú nútení pohybovať sa v zafajčených priestoroch, kancerogénne. Zvlášť je tento účinok zintenzívnený v interakcii s alkoholom, tak ako to vyplýva z práce.

Najväčšie percento maligných procesov v ústnej dutine zapríčiňujú vplyvy ako sú cigarety, alkohol, chronická traumatizácia. Náš súbor najviac bol tvorený 63 pacientmi (21,5 %) z okresu Košice-vidiek, 62 chorých (21,1 %) bolo z okresu Košice-mesto, 48 chorých (16,3 %) z okresu Spišská Nová Ves, 42 chorých (14,2 %) z okresu Trebišov, najmenej, tj. po 1 %, sa podieľali pacienti z okresov Bardejov a Stará Ľubovňa.

Najvyšší výskyt karcinómu jazyka sme zaznamenali vo veku od 60 do 69 rokov, 78 pacientov, čo činí 26,4 %, a vo veku od 50 do 59 rokov, 76 pacientov, čo činí 25,7 %. Zarážajúce je to, že nastáva presun karcinómu jazyka do nižších vekových kategórií vo veku 30–39 rokov – 18 pacientov (6,6 %). Z nášho súboru bolo najviac postihnutých pracujúcich v priemysle – 112 postihnutých (37,8 %), kým kategória »ostatní« najmenej – 24 chorých (8,3 %). V závislosti na ročnom období sme zistili, že najviac diagnostikovaných prípadov bolo v letnom období, 86 chorých (29,2 %), a zhodujeme sa s názorom, že protinádorová imunita v jednotlivých ročných obdobiach kolíše.

Topograficky najvyšší výskyt sme zaznamenali na hrane jazyka (35,0 %), jazyk a spodina ústnej dutiny (28 %) a koreň jazyka (27,5 %). Najviac diagnostikovaných nádorov bolo v III. klinickom štádiu, 66 pacientov (44,9 %), potom v IV. klinickom štádiu – 74 pacientov (25,2 %). Liečba týchto klinických štádií z pohľadu prognózy choroby je najkomplikovanejšia s vysokými nákladmi a mnohokrát s nízkym efektom. Konštatujeme, že onkologická depistáž je právom v ostatných rokoch uznávaná za najmodernejšiu protinádorovú terapiu.

Z anamnestických údajov sme zistili, že pokročilý stav ochorenia je väčšinou zavinený samotným pacientom, jeho nevšimavosti k vlastnému zdravotnému stavu. Dôkazom toho je zistený časový interval od prvých príznakov ochorenia po vyhľadanie lekárskej starostlivosti. Na sledovanie dynamiky zakladania metastáz do lymfatických uzlín sme kladli veľký dôraz a to preto, že v súčasnej dobe je najväčší problém liečba reziduálnej nádorovej choroby. Primárny malígny proces sa nám darí vyliečiť, avšak blízke, či vzdialené metastázy diagnostikujeme dosť neskoro, a preto mnohokrát zlyháva aj komplexná protinádorová liečba. Metastázy do lymfatických uzlín pred terapiou sme zaznamenali z predných 2/3 jazyka najčastejšie do submandibulárnych uzlín (35,7 %) a po liečbe do cervikálnych (15 %).

Metastázovanie pri lokalizácii tumoru v zadnej 1/3 jazyka pred liečbou bolo do cervikálnych uzlín (34,4 %) najčastejšie a po liečbe taktiež do cervikálnych uzlín (32,9 %).

Naším probantom bola poskytovaná protinádorová terapia na základe rozhodnutia onkologickej komisie vo FN, ktorej členom je aj maxilofaciálny chirurg. V 92 prípadoch, tj. 33,3 %, bola aplikovaná komplexná protinádorová liečba. Z chirurgickej liečby boli indikované nasledovné zákroky: excízia nádoru v 46 prípadoch (15,64 %), parciálna resekcia jazyka v 46 prípadoch (15,64 %), hemiglosektómia v 52 prípadoch (15,64 %), kombinované operácie v 90 prípadoch (30,61 %) a rozšírené operácie v 60 prípadoch (20,4 %). Veľké operačné zákroky sú v prevahe, a to preto, že bol vysoký výskyt nádorov v pokročilom štádiu. Prežívanie pacientov v našom súbore je 20,5 %.

ZÁVER

Analytický a deskriptívny charakter retrospektívnych epidemiologických štúdií má podľa nášho názoru svoju cenu i v budúcnosti. Je základňou, na ktorej sa plánujú a vyvíjajú ďalšie výskumné úlohy. Z pohľadu moderného výskumu bude potrebné rozšíriť pôvodné dve formy epidemiologickej štúdie o epidemiologickú štúdiu metabolickú, ktorá by vychádzala z cielených laboratórnych vyšetrení.

Tieto štúdie spolu s prospektívnymi liečebnými štúdiami sa v budúcnosti musia uskutočňovať s cieľom zhromaždiť, čo najväčšie počty chorých na niekoľkých pracoviskách, ktoré by boli schopné dôsledne plniť liečebné protokoly, a to i na úrovni medzinárodnej spolupráce, aby sa vytvorili národné resp. medzinárodné tímy jednotného postupu pri malígnych ochoreniach. Nevyhnutný predpoklad pre takýto postup je využitie výpočtovej techniky pre spracovanie anamnestických, paraklinických dát a pri hodnotení liečebných výsledkov.

Na úrovni súčasných poznatkov o etiológii a patogenéze nádorovej choroby aj napriek značnému pokroku, ktorý bol v onkologickom základnom výskume dosiahnutý, zostávajú metódy primárnej a sekundárnej prevencie najúčinnejšími a najrealizovanejšími opatreniami z pohľadu organizačného i ekonomického pre zlepšenie výsledkov v starostlivosti o chorých s karcinómom jazyka a zhubných nádorov v iných lokalizáciách.



DISPERZE INTERVALU QT – MÝTUS, NEBO DIAGNOSTICKÝ UKAZATEL?



Prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta,
Fyziologický ústav*

SOUHRN

Disperze intervalů QT na elektrokardiogramu je klasicky vysvětlována jako obraz nehomogenity trvání repolarizace (a tedy i refrakterity) komorového myokardu. Nabízí se ovšem i další možná interpretace, která je v poslední době intenzivně diskutována na stránkách odborných periodik. Ta vysvětluje existenci disperze QT rozdílnou projekcí sumárního repolarizačního vektoru do příslušného svodu. Navíc je reprodukovatelnost stanovení disperze QT poměrně nízká, protože může být ovlivněna celou řadou faktorů jak elektrokardiografických (například amplituda vlny T nebo přítomnost vlny U), tak extrakardiálních (šum, amplitudové i časové parametry záznamu). Jako známku abnormálního průběhu repolarizace tak lze chápat jen výrazně zvýšenou hodnotu disperze QT. Zatím ji však nelze seriózně interpretovat jinak než pouze jako další nespecifickou změnu repolarizační části EKG křivky, jejíž přesnější interpretace zatím není (a je otázkou, zda v budoucnu bude) možná.

SUMMARY

Dispersion of QT intervals has been proposed as a measure of repolarization process inhomogeneity (and thus refractority inhomogeneity) of ventricular myocardium. Recently other possible explanation of this phenomenon has been intensively discussed. According to this concept QT dispersion is explained by different projections of the heart repolarization vector. Moreover, the reproducibility of the measurement of QT dispersion is rather low as it could be influenced both by intrinsic (eg, amplitude of the T wave or U wave) and extrinsic (eg, noise, amplitude and time parameters of recording). Only grossly prolonged QT dispersion must be therefore interpreted as a sign of the abnormal course of the repolarization. Nevertheless according to all mentioned

facts the only serious interpretation of increased QT dispersion is that it reflects unspecific repolarization changes. More precious explanation is by then not possible (and it is disputable if it ever will be).

ÚVOD

Navzdory velkému pokroku v rozvoji elektrokardiografie v průběhu 20. století zůstávají některé vztahy mezi různými mechanickými a fyzi chemickými faktory a konfigurací elektrického pole srdce stále nejasné. Takřka učebnicovým příkladem takové nejasnosti je takzvaná disperze intervalu QT (QTd).

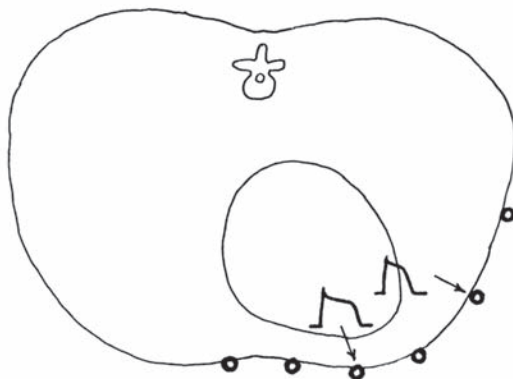
Vše začalo v roce 1964, kdy Han a spolupracovníci⁽¹⁾ experimentálně prokázali souvislost mezi disperzí ukončení repolarizace v různých úsecích srdeční svaloviny komor a pravděpodobností vzniku arytmií. V 70. a 80. letech pak byla opakovaně prokázána úloha nehomogenity trvání repolarizace při vzniku podmínek pro spuštění mechanismu reentry, zodpovědného za nejzávažnější typy poruch srdečního rytmu.^(2,3) Následovala řada prací, která v polovině 80. let znovuobjevila^(4,5) a dokonce i kvantitativně vyjádřila⁽⁶⁾ skutečnost, že trvání intervalu QT není ve všech elektrokardiografických svodech totožné. Celkem logicky tak brzy nato vznikla koncepce, která předpokládá, že nehomogenita trvání QT je vlastně zobrazením nehomogenity trvání repolarizace (a tedy refrakterity) komorového myokardu. A odsud již nebylo daleko k úvaze, že vhodně vyjádřená by tato nehomogenita mohla být snadno stanovitelným a dobře kvantifikovatelným parametrem, vyjadřujícím míru rizika vzniku závažných komorových arytmií. Tento parametr byl velmi rychle definován jako rozdíl mezi trváním nejdelšího a nejkratšího intervalu QT (ms) v dané skupině EKG svodů a byl pojmenován disperze QT.⁽⁷⁾

Uvedená koncepce byla brzy podpořena experimenty na pokusných zvířatech a později i peroperačním měřením na lidech,⁽⁸⁾ při kterých byly simultánně měřeny monofázické akční potenciály z povrchu srdce a 12svodové EKG z povrchu těla a které potvrdily korelaci mezi QTd a disperzí trvání akčních potenciálů v myokardu. Diskutabilním se tak pouze zdál být závěr, který QTd povýšil na možný marker zvýšeného rizika srdečních arytmií podmíněných reentry mechanismem. Jednoznačnému přijetí takového závěru totiž bránil hlavně fakt, že samotná velikost disperze konce repolarizace v myokardu není jediným klíčovým faktorem pro arytmogenezi.^(9,10) Významnou roli hraje i vzdálenost mezi oblastmi myokardu, které vykazují rozdílný okamžik ukončení repolarizace, a ta je standardním elektrokardiografickým vyšetřením nepostizitelná.⁽¹¹⁾

V poměrně nedávné době byla však přímá spojitost mezi QTd a heterogenitou repolarizace v myokardu přinejmenším zpochybněna, a zaslouží si proto jistou rekapitulaci, která by pomohla se orientovat v současných pohledech na význam a možnou interpretaci QTd. Tradiční interpretace může být shrnuta následovně:

Při snímání EKG se standardně používá více definovaných svodů a každý z nich reprezentuje elektrické změny v jisté konkrétní části svaloviny myokardu – poskytuje část z komplexního pohledu na elektrickou aktivitu srdce. Myokard je obecně nehomogenní tkáň, a proto se v něm vyskytují i lokální nepravidelnosti v trvání elektrických potenciálů. V některých svodech se tak interval QT musí objevit delší – v souladu s delší repolarizací příslušné části tkáně, jinde naopak kratší, při kratším trvání depolarizace (obr. 1). QTd je pak mírou celkové variability délky repolarizace.^(1,12) Nenu-

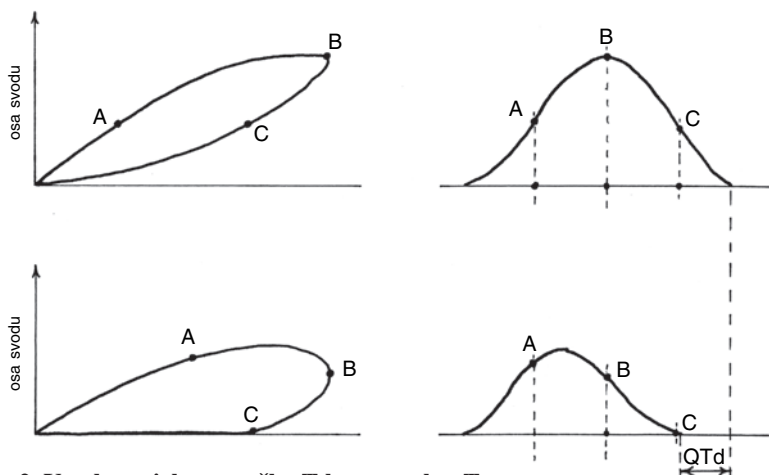
lová QTd je přitom vzhledem k obecné heterogenitě myokardu do jisté míry fyziologická. Za patologické situace, v myokardu alterovaném, se difference v trvání akčních potenciálů ještě zvyšuje.^(6,13,14) Předpokládá se, že právě zvýšená **nehomogenita srdečního svalu** např. při poškození ischemií při akutním infarktu myokardu je odpovídá za rozdíly v trvání intervalu QT v jednotlivých svodech povrchového EKG, tj. za zvýšení QTd.



Obr. 1. Projekce různých průběhů repolarizace do jednotlivých svodů

Vedle uvedeného vysvětlení QTd jako projevu regionální heterogenity repolarizace srdečního svalu existuje pro tento fenomén ještě další možná interpretace, o které se v nedávné době intenzivně diskutovalo na stránkách odborných periodik. Vysvětluje existenci QTd **rozdílnou projekcí** sumárního repolarizačního vektoru do příslušného svodu.⁽¹⁵⁾ Konec vlny T v daném svodu neodpovídá přímo ukončení akčního potenciálu v korespondující oblasti srdečního svalu. Na konci srdečního cyklu, kdy poslední myokardiální buňka ukončí svou repolarizaci, se elektrické pole generované tímto posledním zdrojem šíří tkáněmi hrudníku a může být snímáno elektrodami umístěnými na povrchu těla. Na všech elektrodách musí být trvání repolarizace stejně dlouhé. Jestliže je signál v příslušném svodu rovný nule, znamená to, že vektor elektrického pole srdce se orientoval kolmo na svod. Fyzikálně existuje tedy jen jeden konec repolarizace, který je společný pro všechny svody, kdy se elektrické pole srdce definitivně vrací na úroveň klidového membránového potenciálu a tím se veškeré rozdíly potenciálů v komorovém myokardu ztratí. To, že se v některém ze svodů objevila nulová amplituda dříve než v jiném, znamená, že svod byl v daném okamžiku kolmý na vektor elektrického pole v hranicích přesnosti měření. U intervalu QT to tedy prakticky znamená, že na přímkou svodu by byla kolmá poslední část smyčky T vektorkardiogramu (obr. 2).

Přestože byla jako možná příčina QTd diskutována také **nepřesnost** (a obtížná reprodukovatelnost) měření intervalu QT,^(16,17) zdá se, že QTd není jen problémem přesnosti měření a v souladu s výsledky mnohých studií bude mít i určitý, byť přes počáteční optimismus dosud ne zcela jednoznačný diagnostický význam. Na druhou stranu je ale problematika přesnosti stanovení QTd závažná a její absolutní zpochybnění pak vylučuje použití QTd v klinické praxi, takže je třeba se jí při měření věnovat.



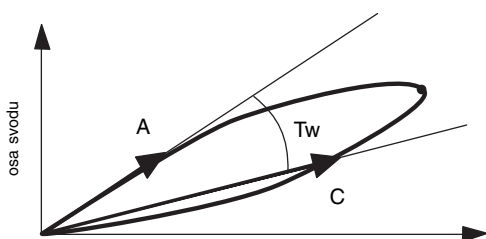
Obr. 2. Vztah projekce smyčky T k tvaru vlny T

METODIKA

Elektrokardiografická měření byla provedena na souborech:

1. 37 mladých zdravých těhotných žen ve věku 19–36 let v 36.–40. týdnu fyziologického těhotenství a znovu 2.–6. den po fyziologickém porodu.
2. 20 ambulantních psychiatrických pacientek trpících depresemi a léčených ve fázi remise denními dávkami dosulepinu 25–125 mg.
3. Na kontrolní skupině 18 dobrovolnic, zdravých neobězních a netěhotných žen ve věku od 20 do 36 let.

Vyšetření bylo prováděno za standardizovaných podmínek v dopoledních hodinách a vyšetřované osoby byly před vlastním vyšetřením vždy několik minut v naprostém tělesném i duševním klidu. Během vyšetření byly požádány vyšetřované osoby o naprostý tělesný klid, aby výsledky nebyly pokud možno zatíženy svalovými artefakty. Kompletní elektrokardiografické měření bylo prováděno na přístroji Cardia 112.2.⁽¹⁸⁾ Z výsledků vyšetření elektrického pole srdečního pomocí mnohasvodového systému byla pak dále zpracovávána řada elektrokardiografických dat,^(19,20) zde se však zmíníme pouze o QTd, disperzi intervalu QT normalizované pomocí Bazettova vzorce na tepovou frekvenci 60 min^{-1} (QTc), parametrech vektoru vlny T (obr. 3) a amplitudě vlny T. Reprodukovatelnost stanovení intervalu QT byla ověřena nezávislým opakovaným stanovením dvěma nezávislými měřeními.⁽¹⁹⁾



Obr. 3. Stanovení prostorové šířky smyčky T (T_w)

Naměřená data byla statisticky zpracována metodou ANOVA pro opakované měření.

VÝSLEDKY

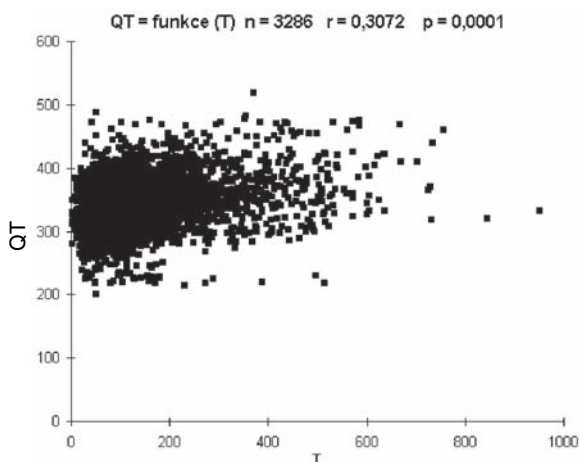
Průměrná QTd byla u skupiny těhotných v pozdním těhotenství signifikantně vyšší než u skupiny zdravých dobrovolnic ($p < 0,001$). Obdobné výsledky byly nalezeny také u disperze QTc (tab. 1). Ačkoliv po porodu došlo k částečnému snížení disperze QTc, ani QTd ani disperze QTc se po porodu významně nezměnily. QTd byla obdobně oproti kontrolám zvýšena i u pacientek léčených dosulepinem ($p < 0,001$), QTd u této skupiny navíc vysoce významně korelovala s plazmatickou koncentrací dosulepinu ($p < 0,001$).

Průměrná amplituda VKG smyčky vlny T (Ta) byla v pozdním těhotenství významně nižší a šířka smyčky T (Tw) významně vyšší než tomu bylo u skupiny zdravých dobrovolnic ($p < 0,001$). Ani v tomto případě nebyly změny po porodu statisticky významné. Jak u kontrolní skupiny, tak u skupiny těhotných žen v pozdním těhotenství i po porodu korelovala statisticky významně hodnota QTd s Tw ($p < 0,001$), ale nikoliv s Ta. U dosulepinové skupiny nebyly parametry smyčky T signifikantně změněny.

Amplituda vlny T s délkou intervalu QT sice statisticky významně korelovala ($p < 0,001$), ale pohled na grafické znázornění této závislosti ji jednoznačně zpochybňuje (obr. 4).

Tab. 1. Statisticky významné rozdíly disperze QT a parametrů konfigurace smyčky T ($X = p < 0,05$) oproti kontrole. Uvedené hodnoty jsou průměry (standardní odchylky), použité zkratky jsou uvedeny v textu

	Kontrolní skupina (n = 18)		Pozdní těhotenství (n = 37)		Po porodu (n = 37)	Dosulepin (n = 20)	
Disperze QT (ms)	34	(12)	X 73	(18)	X 64 (20)	X 70	(21)
Disperze QTc (ms)	36	(13)	X 79	(21)	X 62 (23)	X 75	(18)
Ta (mV)	793	(114)	X 532	(98)	X 547 (123)	779	(101)
Tw (deg)	7,2	(3,0)	X 21,2	(11,5)	X 11,1 (6,1)	7,7	(4,5)



Obr. 4. Korelace intervalu QT a amplitudy vlny T u všech sledovaných souborů a všech hodnotitelných svodů

DISKUSE

Pro stanovení QTd jsme použili metodu povrchového mapování elektrického pole srdečního. Použití většího počtu hrudních svodů jednoznačně zvyšuje přesnost stanovení QTd oproti postupům, které využívají pouze 12 nebo dokonce 6 svodů klasického standardního EKG. Použití menšího počtu svodů bylo bezpochyby příčinou opakovaně nalezené nízké reprodukovatelnosti stanovení QTd.^(21,7) Reprodukovatelnost stanovení QTd v naší studii byla dostačující a jednoznačně umožňuje použít zvolenou metodu, neboť průměrná chyba stanovení QTd zůstává hluboko pod nalezenými rozdíly mezi sledovanými soubory.⁽¹⁹⁾

Uvedené výsledky naznačují, že bude nutné změnit pohled na možný klinický význam QTd. Na jedné straně by mohly být regionální změny vedení vzruchu a trvání akčního potenciálu v komorách (zvýšená nehomogenita komorového myokardu) významným faktorem určujícím QTd, na druhou stranu nelze opominout fakt, že do hry mohou vstoupit i jiné faktory, a to jak intrakardiální, tak extrakardiální (mezi těmito zejména elektrická vodivost tkání mezi srdcem a měřicími elektrodami na povrchu hrudníku). Je třeba zdůraznit, že výsledný elektrokardiografický obraz včetně intervalu QT je výsledkem »... komplexu vzájemně provázaných aspektů srdeční elektrofyzologie, geometrie myokardiálního uspořádání, tvaru hrudníku, rozdílné elektrické vodivosti tkání a postupů zpracování biosignálů«.⁽²²⁾

Jako možnou determinantu QTd jsme uvažovali změnu nitrohrudního uspořádání orgánů, tedy obecně změněné geometrické poměry v hrudníku. Změna uspořádání orgánů v dutině břišní v důsledku růstu dělohy během těhotenství vede ke zvýšenému tlaku břišních orgánů na bránici a nitrohrudní orgány. To je bezpochyby spojeno se změnou polohy srdce, která pak může být příčinou »abnormálního« obrazu elektrického pole srdečního včetně změny prostorových vztahů mezi srdcem a EKG svody. To se nutně musí projevit na tvaru vektorkardiografických smyček. Změny disperze QT i QTc se 4. den po porodu upravují jen částečně, což je v souladu s přetrvávající zvýšenou tělesnou hmotností a také zcela jistě s přetrvávající změnou geometrie nitrohrudních orgánů, neboť redukce rozměrů dělohy nastává po porodu jen postupně.

QTd je ovšem zvýšeno i u osob léčených dosulepinem, jehož kardiotoxicita je známa,⁽²³⁾ a to, jak jsme prokázali, dokonce i udržovacích dávek, které jinak nevyvolávají žádné změny EKG záznamu – QTd navíc velmi úzce korelovala s plazmatickou koncentrací dosulepinu.

Již v úvodu bylo zmíněno, že QTd může být výsledkem dvou základních parametrů popisujících morfologii vektorkardiografické smyčky vlny T: její amplitudy (T_a) a šířky (T_w), jak uvádějí ve své zásadní stati Kors et al.⁽¹⁵⁾ Obecně snížení prostorové amplitudy smyčky T rezultuje ve snížení amplitudy vlny T na EKG, což může samo o sobě teoreticky vést ke zvýšení naměřené QTd.^(21,17) Ačkoliv jsme v pozdním těhotenství našli zvýšení QTd a současně odpovídající pokles T_a , mezi oběma parametry nebyla statisticky významná korelace. Zajímavé však je, že skutečná amplituda vlny T evidentně QTd neovlivňuje.

Nalezená širší smyčka T zvyšuje pravděpodobnost, že terminální úsek smyčky T bude kolmý na osu některého ze svodů, a tedy že v tomto svodu bude významně kratší interval QT. (Tento fakt by mohl také vysvětlit již zmíněnou větší přesnost vícetrojových systémů pro stanovení QTd – čím více svodů, tím pravděpodobněji bude skutečně koncový úsek širší smyčky T na některý z nich skutečně kolmý.) Otázkou však

zůstává, zda pouze změna šířky smyčky T (T_w) může vysvětlit nalezené zvýšení QTd v pozdním těhotenství. To, že zvýšení T_w může teoreticky dobře vysvětlit zvýšení QTd, ale neznamená jednoznačnou kauzální souvislost obou parametrů. Domníváme se totiž, že reprezentovat elektrické pole srdeční v celé jeho komplexnosti pouhou vektorkardiografickou smyčkou a jejími parametry, je velkým zjednodušením vzhledem k celé řadě faktorů, které hrají roli pro výslednou konfiguraci pole. Je tedy velmi dobře možné, že změna QTd a T_w jdou ruku v ruce proto, že prostě reflektují stejnou změnu v průběhu repolarizace komorového myokardu.

Závěrem je asi možné konstatovat, že řada patologických situací⁽²⁴⁾ je bezesporu spojena se signifikantním zvýšením QTd, často daleko nad rozmezí možné chyby měření. Nicméně klinický význam hraničních hodnot, kolidujících zcela evidentně s možnou chybou měření, je nutno posuzovat přinejmenším velmi opatrně. Při správně volených parametrech EKG záznamu (především amplitudové a časové měřítko) a dostatečném počtu svodů (nejlépe více než standardních 12) lze zřejmě považovat metodu stanovení QTd za reprodukovatelnou a s největší pravděpodobností pak lze i vyloučit, že zdrojem QTd je pouze nepřesnost měření (to podporuje i nezávislost na amplitudě vlny T).

Na druhou stranu se zdá být velmi nepravděpodobnou také teorie, která dává QTd do přímé souvislosti s repolarizační heterogenitou komorového myokardu. Daleko pravděpodobnější (být je spojeno s neúměrně velkým zjednodušením pojetí elektrického pole srdečního) se zdá vysvětlení odvozené od projekce vektorkardiografické smyčky vlny T. Také její variace, nebo přesněji změny jejích parametrů zodpovědných za amplitudu a tvar vlny T, však jistě vypovídají o určitých změnách průběhu repolarizace komor, nespíše většinou opravdu patologických. Naše nálezy ale jednoznačně dokazují, že se podobný nález může objevit i za zcela fyziologických podmínek, pouze v důsledku změny geometrie nitrohruďního uspořádání orgánů. Ve světle těchto skutečností lze formulovat nejdůležitější závěr naší studie: QTd nelze seriózně interpretovat jinak než jako nespecifickou repolarizační změnu EKG křivky nezávislou na amplitudě vlny T, jejíž přesnější interpretace zatím není (a je otázkou, zda v budoucnu vůbec bude) možná.

Literatura

1. HAN, J., MOE, G.K. *Nonuniform recovery of excitability in ventricular muscle*. Circ Res, 1964, 14, p. 44–60.
2. ALLESSIE, MA., BONKE, FIM., SCHOPMAN, FJG. *Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. II: The role of nonuniform recovery of excitability in the occurrence of unidirectional block, as studied with multiple microelectrodes*. Circ Res, 1976, 39, p. 168–177.
3. KUO, CS., MUNAKATA, K., REDDY, P. et al. *Characteristics and possible mechanism of ventricular arrhythmia dependent on the dispersion of action potential durations*. Circulation, 1983, 67, p. 1356–1367.
4. CAMPBELL, RWF., GARDINER, P., AMOS, PA., et al. *Measurement of the QT interval*. Eur Heart J, 1985, 6 (suppl. D), p. 81–85.
5. COWAN, JC., YUSOFF, K., MOORE, M., et al. *Importance of lead selection in QT interval measurement*. Am J Cardiol, 1988, 61, p. 83–87.
6. MIRVIS, DM. *Spatial variation of the QT intervals in normal persons and patients with acute myocardial infarction*. J Am Coll Cardiol, 1985, 5, p. 625–631.
7. DAY, CP., MCCOMB, LM., CAMPBELL, RWF. *QT dispersion: An indication of arrhythmia risk in patients with long QT intervals*. Br Heart J, 1990, 63, p. 342–344.

8. ZABEL, M., PORTNOY, S., FRANZ, MR. *Electrocardiographic indexes of dispersion of ventricular repolarization: An isolated heart validation study.* J Am Coll Cardiol, 1995, 25, p. 746–752.
9. MORGAN, JM., CUNNINGHAM, D., ROWLAND, E. *Dispersion of monophasic action potential duration: Demonstrable in humans after premature ventricular extrastimulation but not in steady state.* J Am Coll Cardiol, 1992, 19, p. 1244–1253.
10. SURAWICZ, B. *Ventricular fibrillation and dispersion of repolarization.* J Cardiovasc Electrophysiol, 1997, 8, p. 1009–1012.
11. BATCHVAROV, V., MALIK, M. *Measurement and interpretation of QT dispersion.* Progress Cardiovasc Dis, 2000, 42, p. 325–344.
12. DAY, CP., MCCOMB, JM., CAMPBELL, RWF. *QT dispersion in sinus beats and ventricular extrasystoles in normal hearts.* Br Heart J, 1992, 67, p. 39–41.
13. HIGHAM, PD., HILTON, CJ., AITCHESON, DA., et al. *QT dispersion does reflect regional variation in ventricular recovery.* Circulation, 1992, 86 (suppl.), p. 392.
14. VAN DE LOO, A., ARENDTS, W., HOHNLOSER, SH. *Variability of QT dispersion measurements in the surface electrocardiogram in patients with acute myocardial infarction and in normal subjects.* Am J Cardiol, 1994, 74, p. 1113–1118.
15. KORS, JA., VAN HERPEN, G., VAN BEMMEL, JH. *QT dispersion as an attribute of T-loop morphology.* Circulation, 1999, 99, p. 1458–1463.
16. KORS, JA., VAN HERPEN, G. *Measurement error as a source of QT dispersion: a computerised analysis.* Heart, 1998, 80, p. 453–458.
17. MURRAY, A., MCLAUGHLIN, NB., BOURKE, JP., et al. *Errors in manual measurement of QT intervals.* Br Heart J, 1994, 71, p. 386–390.
18. KITTNAR, O., ŠTOVÍČEK, P. *Contemporary body surface potential mapping in electrocardiology and its perspectives.* Physiol Res, 1993, 42, p. 141–143.
19. LECHMANOVÁ, M., KITTNAR, O., MLČEK M., et al. *QT Dispersion and T-Loop Morphology in Late Pregnancy and After Delivery.* Physiol Res, 2002, 51, p. 121–129.
20. KITTNAR, O., SLAVÍČEK, J., VÁVROVÁ, M., et al. *Repolarization Pattern of Body Surface Potential Maps (BSPM) in Coronary Artery Disease.* Physiol Res, 1993, 42, p. 123–130.
21. KAUTZNER, J., JI, G., CAMM, AJ., MALIK, M. *Short- and long-term reproducibility QT, QTc and QT dispersion measurement in healthy subjects.* Pacing Clin Electrophysiol, 1994, 17, p. 928–937.
22. HIGHAM, PD., CAMPBELL, RWF. *QT dispersion.* Br Heart J, 1994, 71, p. 508–510.
23. KITZLEROVÁ, E., SLAVÍČEK, J., PACLT, I., et al. *Plasma levels of dosulepine and heart electric field.* Physiol Res, 2003, 53, p. 319–325.
24. LEE, KW., KLIGFIELD, P., OKIM, PM., DOWER, GE. *Determinants of precordial QT dispersion in normal subject.* J Electrocardiol, 1998, 31 (suppl.), p. 128–133.



AKTIVAČNÍ A REGULAČNÍ MECHANISMY MOZKOVÝCH BUNĚK A LYMFOCYTŮ



Prof. RNDr. Hana Kovářů, DrSc.

Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, Psychiatrická klinika,
Neurochemická laboratoř

SOUHRN

Neuroimunomodulační aspekty aktivačních a regulačních mechanismů buněk byly studovány ve dvou modelových systémech. Jednak byla studována míra schopnosti rozpoznávat cizí a vlastní v mozkových buňkách nebo lymfocytech (alogenní reakce) vedle sledování imunomodulačních účinků psychofarmak *in vitro* a *in vivo* v mozku a imunitním systému na úrovni transdukce membránového buněčného signálu.

V časně alogenní reakci slezinných lymfocytů nebo mozkových buněk myší byla dokázána specifická rozpoznávací role $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPázy}$, resp. K^+ -dependentní a ouabain-senzitivní p-nitrofenylfosfatázy jako vnější části $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPázového}$ komplexu. Rozpoznávací úloha $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPázy}$ je závislá dominantně na H-2 aloantigenních rozdílech, uplatňuje se velmi rychle po navození přímého alogenního buněčného kontaktu a je vázána na populaci astrocytů. Pozornost byla věnována působení peptidů uvolněných v alogenní reakci a imunosupresivním mechanismům alfafetoproteinu a jeho strukturálního analogu, glykovaného albuminu.

Srovnávací studie *in vitro* po působení různých typů antidepresiv vykazuje specifické charakteristiky profilů exprese α -subjednotek heterotrimerních G-proteinů jak u mozkových buněčných linií, tak buněk přirozené imunity (přirozených zabíječů nebo granulocytů). Srovnávací studie ukazují působení antidepresiv *in vivo* na α -subjednotky G-proteinů CNS nebo lymfoidních orgánů, naznačující podobnosti v modulaci buněčného signálu ve funkčně odlišných systémech.

SUMMARY

Neuroimmunomodulatory aspects of activation and regulation cell mechanisms were studied in two model systems. We analyzed ability of brain cells to recognize self and

non-self in comparison with lymphocytes (allogeneic reaction), besides assays of immunomodulatory effects of psychotropics *in vitro* and *in vivo* in brain and immune system at the level membrane cell signal transduction.

Allogeneic reaction of spleen lymphocytes or brain cortex cells was demonstrated specific recognition role of Na^+K^+ -ATPase, or K^+ -dependent and ouabain sensitive p-nitrophenylphosphatase as external parts of Na^+K^+ -ATPase complex. Recognition role of Na^+K^+ -ATPase is dependent dominantly on H-2 alloantigen differences and is very early during alloreactive cell interaction and is related to astrocyte population. Attention was focused on immunosuppressive effects of both peptides released in allogeneic reaction and glycoprotein alphafetoprotein in comparison with its structural analogues – glycated albumins.

Comparative study *in vitro* of various antidepressant type influence exhibits specific profiles of heterotrimeric GTP binding protein alpha subunits in brain cell lines as well as natural immunity cells (natural killers and granulocytes). These findings are indicated also *in vivo* after chronic effects of antidepressants on CNS or lymphoid organs. Common signs of antidepressant influence based on G alpha subunit profiles brain and spleen indicate possibility of similar cell signalling modulation in functionally different organ systems.

1. ÚVOD

Biologická podstata vyšších živých organismů vychází z buněčných principů životních dějů. Životní funkce jsou založeny na souhře biochemických, biofyzikálních a molekulárních fyziologických procesů, které vykonávají somatické buňky. V organismu se však musejí uplatňovat také mechanismy souhry buněčných a orgánových systémů. Zvláště významná je z tohoto hlediska regulace negativní zpětnou vazbou, zajišťující fyziologickou stabilitu organismu, ale i buněk a orgánů, tzv. homeostáza.

Nervová soustava se podílí na přímém nebo nepřímém řízení orgánových funkcí, chování organismu a komunikaci s okolním prostředím. Centrální část nervové soustavy – mozek – představuje zásadní řídící a integrující systém živého organismu. Jeho základními funkcemi je přenos a uchování informací – paměť. Přenos informací musí být rychlý a přesný z receptorů, které jsou centrálně zpracovány a vysílají se příslušné signály na efekторы. Přenášené informace (vzruchy) jsou primární charakteristikou nervové soustavy, založené na vzniku vzruchu, jeho vedení a přenosu mezi jednotlivými neurony velmi složité a komplexní neuronální síť.

Při studiu CNS a imunitního systému a jejich funkčních a kooperačních vztahů vypovídají neuroimunologické analýzy o průběhu imunitních reakcí v mozku, kdežto neuroimunomodulace zahrnuje také imunitní reakce regulované mechanismy původně vlastní nervovému systému, např. neurotransmitery – dopaminem nebo noradrenalinem a jejich specifickými receptory.

Současným zaměřením neuroimunomodulace jako interdisciplinární specializace je zkoumání interakcí mezi imunitním a nervovým systémem na všech úrovních včetně neuroendokrinních regulací z mozku přes adenohypofýzu, periferní nervový systém, endokrinní orgány a buňky lymfatických orgánů. Studují se obousměrné principy regulace mozek – imunitní systém na buněčné i molekulární úrovni.

V pohledu buněčné biologie má plazmatická membrána klíčovou roli nejen v kontrole metabolismu buněk, ale i při regulaci buněčné proliferace, diferenciace a dalších

bazálních dějů. Buněčná membrána je funkčně definovaná struktura, nikoliv tedy podle starých představ nepříliš významný »váček na buněčné organely«, jak se původně uvažovalo. Představa role buněčné membrány při interakcích s okolím, tedy s dalšími buňkami a fyziologickým prostředím, včetně návrhu koncepcí specifických farmakologických, imunologických a transportních receptorů, pochází od Paula Ehrlicha, a je tedy nejméně 100 let stará. Zásadní je úloha lipidové dvouvrstvy plazmatické membrány a enzymů, jejichž funkce je na lipidech závislá. Fyziologická úloha polynenasycených mastných kyselin je studována ve vztahu k membránovým i buněčným funkcím, ale i vlivu na imunitní systém a neuroendokrinní regulace na nutričních modelech.

V biologické říši se s velkým fylogenetickým dosahem vyskytuje další membránový systém – heterotrimerní GTP-vazebné (G) proteiny, mající zásadní roli integrační a amplifikační v dějích přenosu buněčného signálu, takže nepřekvapuje, že anomálie v expresi nebo ve funkci různých G-proteinů jsou podstatou četných patofyziologických stavů. Patří k nim srdeční selhání, endokrinní tumory, diabetes, chronické požívání kokainu a opiátů, hypotyreoidismus a hypertyreoidismus, pseudohypoparathyroidismus, medikace kortikosteroidů, ale i stárnutí. V řadě z nich se studia přiklání k primární mutaci genové exprese s následnou dysfunkcí dané subjednotky $G\alpha$, u některých dalších bude pravděpodobně G-proteinová dysfunkce sekundární, ale nesporně bude součástí patofyziologie onemocnění.

U afektivních poruch a účinků psychofarmak se vychází především z funkčního významu neurotransmiterů, zvláště serotoninu a četných serotoninových subtypů receptorů spřažených s více druhy G-proteinů, umožňujících širší působení na efektorové systémy a diverzitu intracelulárních odpovědí. Aberace přenosu signálu na receptorové i na postreceptorové úrovni jak presynaptického, tak postsynaptického typu může být jedním z významných mechanismů působení antidepressiv a patrně i patofyziologickou součástí afektivní poruchy.

Četná data neurobiologická, imunologická i z biologické psychiatrie ukazují, že imunitní systém je kromě autonomního principu ovlivňován také humorálními faktory řízenými CNS – neurotransmitery, hormony a cytokiny. Tyto informace jsou přijímány imunitním systémem vzhledem k přítomnosti katecholaminových a monoaminových receptorů na leukocytech. Zvláštní pozornost zaujímá z různých buněčných složek imunity přirozená imunita, nevyžadující předchozí setkání s antigenem. Specifické postavení v imunitním systému zaujímají v tomto směru přirození zabíječi (NK), tvořící samostatnou buněčnou skupinu vedle T a B-lymfocytů. Proliferační i funkční aktivita této populace NK je nejcitlivější k působení neurotransmiterů a podléhá řízení CNS (hypothalamus, katecholaminy sympatiku a dřeně nadledvin). Stimulační účinky na imunitní systém má především dopamin, prostřednictvím specifických receptorů na lymfocytech. Analogicky β -adrenergní receptory funkci lymfocytů zvyšují oproti snížením efektům zprostředkovaným α -adrenoreceptory.

Lze tedy očekávat neuroimunomodulační souvislosti mezi odezvou imunitního systému na působení psychofarmak nebo v průběhu afektivních onemocnění. Jedním z významných projevů velké depresivní poruchy je potlačení cytotoxické aktivity NK a další snížení parametrů buněčné i humorální imunity. V experimentálních studiích je potlačení buněčné imunity pozorované po vystavení určitému stresoru podobné změnám u depresivních pacientů. Je nutné zde rozlišovat, neboť mírný nebo akutní stres může stimulovat některé imunitní funkce, zatímco stres chronický nebo závažný spíše potlačuje buněčné imunitní odpovědi. Je evidentní, že k objasnění složitých dějů je

nutno využívat jak studium molekulární a buněčné, tak integrující mechanismy regulace orgánových systémů organismu.

2. EXPERIMENTÁLNÍ PŘÍSTUPY NEUROIMUNOMODULACE. ALOREAKTIVITA LYMFOCYTŮ A MOZKOVÝCH BUNĚK

Buněčné interakce

V neurobiologii a imunologii se na buněčné interakce pohlíží obvykle z různých hledisek. Imunologové vidí specifitu v kooperacích lymfoidních buněk mezi T-lymfocyty (pocházejících z thymu) a B-lymfocyty (odvozeno od bursy Fabriciovy), které se účastní nejrůznějších imunitních reakcí. Na druhé straně významným znakem stavby mozkové tkáně, odlišujícím ji od ostatních orgánů, je její heterogenní charakter jak z hlediska buněčného složení, tak anatomické struktury. Spolu se složitě organizovanými kontakty hlavních buněčných elementů – neuronů – existují i těsná spojení mezi neurony a gliovými buňkami, astrocyty, která jsou podmíněna tvarovými vlastnostmi těchto buněk a jejich vzájemnými funkčními vztahy. Neurony i různé typy gliových buněk (astrocyty, mikroglie a oligodendrocyty), případně další buněčné typy se vyznačují zcela rozdílnými funkčními i biochemickými vlastnostmi. Studium funkčních projevů mozkové tkáně na buněčné úrovni je vázáno na tyto strukturální specifity a podmínkou je vysoká metabolická aktivita buněk s co nejvíce zachovanou neporušeností membrán. Rozmanité metabolické údaje lze získat vybranými studiemi *in vitro*, kdy např. stimulačním podnětem (vysokou extracelulární koncentrací iontů K⁺, elektrické impulsy) jsou simulovány děje spojené s depolarizací vzrušivých membrán se sledem řady biochemických dějů, podobných vedení nervového impulsu *in vivo*, s významnou kooperací neuronů s astrocyty.

Přítomnost histokompatibilních (transplantačních) antigenů je považována za hlavní biologické rysy savčích buněk a tyto antigeny jsou příčinou genetické nesnášenlivosti tkání.

Vzhledem k významu tohoto systému silných histokompatibilních (H) antigenů pro osudy tkáňových transplantátů je tento systém označován za hlavní (Klein, 1974).

V podmínkách *in vitro* byla popsána směsná leukocytární reakce (MLR) Bachem a Hirschhornem (1964) a Bainem a Loewensteinem (1964), založená na genetických rozdílech v histokompatibilních antigenech. Je to jedna z četných reakcí buněčné imunity, kde alogenní T-lymfocyty hrají klíčovou roli. Směsná leukocytární reakce představuje rozpoznávací fázi *in vitro* reakce aloštěpu, lymfolýza zprostředkovaná buňkami je destrukční fází reakce. Nejčastěji je MLR prokazována proliferací aktivovaných buněk a zvýšenou inkorporací značeného thymidinu do DNA. Proliferační odpověď charakterizovaná syntézou DNA v interagujících buňkách je založena na schopnosti rozeznat vzájemné genetické rozdíly mezi leukocyty. Transformační a proliferací procesy v MLR jsou řízeny hlavním histokompatibilním systémem (MHC) a výsledná odpověď je výsledkem synergistického působení rozdílů v MHC, u myši označovaného jako H-2 systém.

Antigenicita mozku

O mozku se velmi dlouho tvrdilo, že je imunologicky privilegovaný, tj. orgán bez imunitních reakcí také pro nepřítomnost lymfatické drenáže a oddělení od organismu bariérou. Později se ukázalo, že mohou existovat některé efektorové funkce imunitního

systemu uvnitř CNS, když bylo zjištěno odhojení alogenních kožních štěpů implantovaných do mozku prezenzibilizovaných králíků. V posledních 20 letech byly podány další důkazy o nekompletnosti tohoto imunologického privilegia, k nimž je možno zařadit přenos experimentální autoimunní encefalomyelitidy, syntézu imunoglobulinů u pacientů se sklerózou multiplex a další. Histokompatibilní antigeny jsou složkami buněčných membrán. Jejich přítomnost na vnějším straně buněčného povrchu byla prokázána vazbou specifických protilátek a to platí i pro pozitivitu buněk zralé myši mozkové kůry (Schachner a Sidman, 1973; Schachner a Hämmerling, 1974). Autoři ukázali výskyt H-2 aloantigenů na povrchu všech typů izolovaných mozkových buněk s jejich přirozeným nárůstem v prvním měsíci života myši. Z podobného východiska pochází také náš průkaz pravděpodobné účasti aloantigenních rozdílů na funkčně změněné metabolické aktivitě během interakce geneticky rozdílných buněk myši mozkové kůry (H. Kovářů et al., 1972, 1976, 1980), podpořený dalšími detailními analýzami. Pro naše studium interakce geneticky rozdílných (alogenních) buněk mozkové kůry byla tedy hledána analogie u jiných buněk – z imunitního systému.

Časná alogenní reakce lymfocytů ve srovnání s alogenními mozkovými buňkami

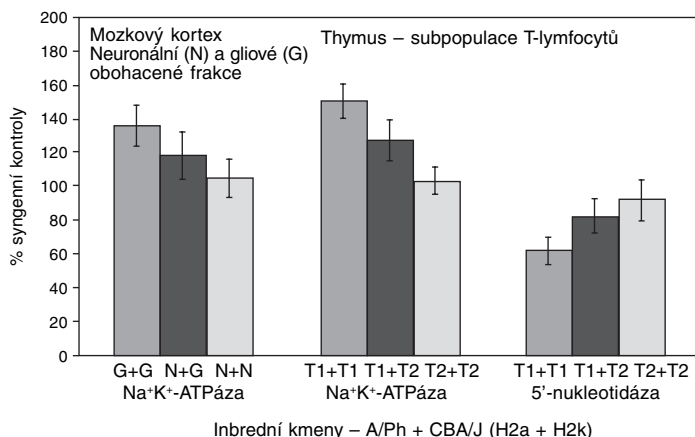
Směsná leukocytární reakce (MLR) představuje rozpoznávací děje v jedné ze základních reakcí buněčné imunity, která je korelovatelná s reakcí štěpu proti hostiteli (GvH reakcí). Transformační a proliferační děje v MLR vrcholí po 5–7 dnech, kdy se objeví efektorové buňky. Alospecifita v MLR je řízena především rozdíly v MHC systému. Z funkčního hlediska je pozornost dominantně soustředěna na finální odpověď alogenně reagujících lymfocytů. Pozdní změny v alogenních lymfocytech jsou citlivé na přítomnost selektivního inhibitoru Na^+K^+ -ATPázy – ouabainu.

Alogenní reakce mozkových buněk

Předpokladem pro naše studium velmi časně alogenní reakce mozkových buněk do 90 minut bylo zajištění jejich optimální metabolické aktivity *in vitro* s odpovídajícími funkčními projevy – stimulovatelnost oxidativního metabolismu vysokou K^+ koncentrací, rychlou resyntézou energetických rezerv – ATP a kreatinfosfátu po buněčné izolaci. Tato kritéria patří mezi nejvýznamnější biochemické požadavky pro studium buněk mozku *in vitro*. Alogenní mozkové buňky byly studovány z hlediska změn oxidativního metabolismu. Rozpoznání cizího a vlastního bylo analyzováno na vysoce specializovaných mozkových buňkách jako změny jejich metabolického stavu. Změny oxidativního metabolismu a povrchově vázané enzymové aktivity byly stanoveny u H-2 inkompatibilních buněk v porovnání s H-2 kompatibilními buňkami nebo syngenními kontrolami.

Po těchto pokusech bylo účelné dále analyzovat možnou H-2 alospecifitu rozpoznávacích dějů v podobě enzymových změn. Byly použity kongenní linie myši v kombinaci s H-2 rozdíly, dále non-H-2 rozdíly (H-13), a rozdíly H-Y představovaly směsné suspenze téže kongenní linie ze samic a samců. Na rozdílech v H-2 systému byla prokázána závislost stimulace Na^+K^+ -ATPázy i její extracelulární části, představované K^+ -dependentní a ouabain specifickou p-nitrofenylfosfatázovou aktivitou (pNNP-ázou). Na druhé straně nebyly zaznamenány změny v závislosti na non-H-2 rozdílech nebo H-Y rozdílech mezi lymfocyty nebo interagujícími mozkovými buňkami. Ca^{2+} -ATPázová aktivita byla stimulována nespecificky.

Další pokusy byly zaměřeny na izolaci funkčně zralých subpopulací T-lymfocytů pro alogenní reakci. V gradientu Percollu vytvořeném *in situ* byly získány dvě denzit-

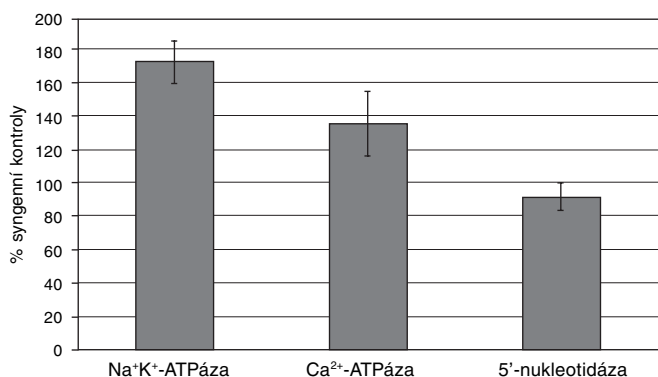


Obr. 1. Alogenní interakce *in vitro*

ně odlišné frakce, značené jako subpopulace T1 a T2. Byly dále charakterizovány a subpopulace T1 odpovídala funkčně zralým, malým lymfocytům. V původní proporci tato subpopulace představovala 5 % celkového počtu lymfocytů thymu. Subpopulace T2 představovala převážně nezralé lymfocyty. Jak shrnuje obr. 1, byla dokázána nejvýraznější stimulace Na⁺K⁺-ATPázy u alogenní T1×T1 kombinace lymfocytů. Byla také prokázána participace předpokládaného buněčného typu mozkových buněk – astroglie v obohacených frakcích na rozdíl od nereaktivních frakcí neuronálních perikaryí.

H-2 alorekognice nekonvenčními povrchovými ději – Na⁺K⁺-ATPáza

Získané výsledky nejen v této kapitole nutí posoudit v širším kontextu experimentálně prokázanou roli Na⁺K⁺-ATPázy. Enzym se jeví jako zesilovač odpovědi buněčného povrchu na aktivační signál. Aktivační signál a jeho přenos je nutno chápat jako mnohočetnou a vzájemně regulovanou kaskádu reakcí. Prokázali jsme alogenní stimulaci Na⁺K⁺-ATPázové aktivity, popřípadě její externí části, K⁺-závislé pNNPázy, mezi neurogliovými buňkami nebo maturovanými lymfocyty thymu, srovnatelnou s referenčními kontrolami. Byla stanovena také alogenní reakce mezi C6-gliomovými (astrocytomovými) a slezinovými lymfocyty vysokou stimulací aktivity Na⁺K⁺-ATPázy (obr. 2). Schopnost Na⁺K⁺-ATPázy reagovat na rozdíly v H-2 aloantigenech jak u interakce lymfocytů, tak mozkových buněk může souviset s další vlastností enzymu. Byly publikovány i nálezy o Na⁺K⁺-ATPáze a její roli ve fylogeneticky starém principu rozpoznání cizího a vlastního u imunocytů (granulocytů) kraba (*Limulus polyphemus*), založeném na GlcNAc/NANA cukerné specifitě vysoce glykosylovaného β-řetězce enzymové molekuly s regulačními vlastnostmi oproti katalytické α-subjednotce. Tyto lektinové receptory byly stanoveny na Na⁺K⁺-ATPáze plazmatické membrány imunocytů zmíněného kraba, který na Zemi přebývá již asi 200 miliónů let. Zvláště vazba lektinu pšeničných klíčků na Na⁺K⁺-ATPázu s cukernou afinitou GlcNAc/NANA naznačuje úlohu této cukerné specifity jako »adresy« účastníci se přenosu signálu včetně iniciálního rozpoznání cizího. Nezbytnou podmínkou nástupu alogenní reakce je přímý buněčný kontakt, kdy jsou modulovány děje, v nichž se účastní molekuly ovlivňující



Obr. 2. Alogenní rozpoznání slezinných lymfocytů C6-gliomovými buňkami potkana

buněčnou adhezi. V mozku byly studovány adhezivní molekuly exprimované glií, mezi nimi také molekula AMOG, a porovnáním aminokyselinové sekvence byly nalezena 40% homologie se strukturou β -subjednotky Na^+K^+ -ATPázy. Tyto nálezy podporují hypotézu o molekulárních mechanismech působení Na^+K^+ -ATPázy v rozpoznávacích dějích alogenního projevu v souvislosti s adhezivními interakcemi buněk, prokázaných nejen v aktivaci, ale i diferenciaci lymfocytů. Další homologie se ukazuje z porovnání β -řetězce molekuly enzymu s li-peptidem invariantního řetězce molekuly MHC II. třídy. Lze hypotetizovat, že aloreaktivita mozkových buněk nebo lymfocytů založená na vysoké aktivitě Na^+K^+ -ATPázy a ouabain-senzitivní, K^+ -dependentní pNPPázy nese znaky H-2 aloreaktivity, pravděpodobně mimikry podobné hlavnímu histokompatibilnímu systému. V časně alogenní reakci slezinných lymfocytů myši byla prokázána specifická rozpoznávací role Na^+K^+ -ATPázy, resp. K^+ -dependentní a ouabain-senzitivní p-nitrofenylfosfatázy jako vnější části Na^+K^+ -ATPázového komplexu. Rozpoznávací úloha Na^+K^+ -ATPázy je závislá na H-2 aloantigenních rozdílech a uplatňuje se velmi rychle po navození přímého alogenního buněčného kontaktu.

Imunoregulace

Peptidy. V časně fázi alogenní reakce slezinných lymfocytů nebo mozkových buněk byly získány supernatanty. Ze supernatantů byly izolovány oligopeptidové frakce (1,5–2,5 kDa) ultrafiltrací a gelovou filtrací. Byly stanoveny výrazné imunosupresivní účinky oligopeptidových frakcí inhibicí proliferace lymfocytů v sekundárních reakcích po stimulaci mitogenními lektiny.

Alfafetoprotein. Z hlediska fyziologických regulací během vývoje byla věnována pozornost alfafetoproteinu, který je dominantním proteinem fetálního krevního séra v prvním období nitroděložního vývoje. Dále byl sledován imunomodulační účinek AFP v modelových reakcích na principu časně aktivovaného lymfocytu mitogenem enzymovými technikami a metodou měření anizotropie fluorescenčních sond analýzou povrchových charakteristik FACs aparaturou stejně jako i dalšími technikami – polyklonální aktivace Ig syntézy, fagocytózy HEMA partikulí, tvorby spontánních E-roset a lokální GvH reakce. Byl sledován účinek celé molekuly AFP, dále jeho cukerných izoformem podle vazby na ConA a strukturálních cukerných analogů albuminů po neenzymové glykaci.

Ukázali jsme, že AFP ovlivňuje aktivovaný lymfocyt ve fázi časné aktivace Go–Go* a odehrává se na úrovni buněčného povrchu jak specifickou inhibicí Na⁺K⁺-ATPázové aktivity, tak změnou mikroviskozity membránových lipidů. Inhibiční účinky jsou pravděpodobně spojeny s cukernými zbytky v ConA vazebné AFP variantě, tj. existuje spojitost s terminálními cukernými zbytky v molekule AFP při regulaci buněčné aktivity. Regulace aktivity lymfocytů AFP se děje na úrovni povrchu buňky a představuje inhibici amplifikace extracelulárního signálu vyvolaného mitogenním lektinem určujícím odpověď buňky na intracelulární úrovni až po proliferační děje, zvláště u T-lymfocytů.

3. ALTERACE TRANSDUKCE BUNĚČNÉHO SIGNÁLU PSYCHOFARMAKY

Nové trendy rozšiřují dřívější představy o abnormalitách v přenosu buněčného signálu po působení antidepresiv nebo při afektivních poruchách, které zahrnují jak uvolňování presynaptického neuromediátoru, tak postsynaptické receptory. Rozšiřují se tak znalosti o další molekulární mechanismy transmembránových postreceptorových změn s nezastupitelnou rolí heterotrimerních GTP-vazebných (G) proteinů jako přenašečů a zesilovačů extracelulární informace na efektorové enzymy nebo iontové kanály. Alfa-subjednotky G-proteinů jsou funkčně významné a ovlivňují efektorovou adenylylcyklázu (Gαs a Gαi1,2) a fosfolipázu C (Gαq/11). Psychofarmakologické studie *in vitro* potvrzují, že tricyklická antidepresiva mohou zesilovat postreceptorovou složku transdukce signálu G-protein s adenylylcyklázou u linií C6-gliomových (astrocytomových) buněk, které jsou modelem postsynaptických změn. Ukazuje se význam exprese G-proteinů v regulacích kaskády přenosu signálu z receptoru působením psychofarmak.

Změny subjednotek Gα u afektivních poruch

Afektivní poruchy bývají popisovány v souvislosti se změněnými profily subjednotek Gα granulocytů periferní krve pacientů. Rovněž jsou popsány změny v imunitní odpovědi, např. byla prokázána snížená odpověď jedné ze složek přirozené imunity, snížená cytotoxická aktivita NK lymfocytů, přirozených zabíječů u nemocných s velkou depresí.

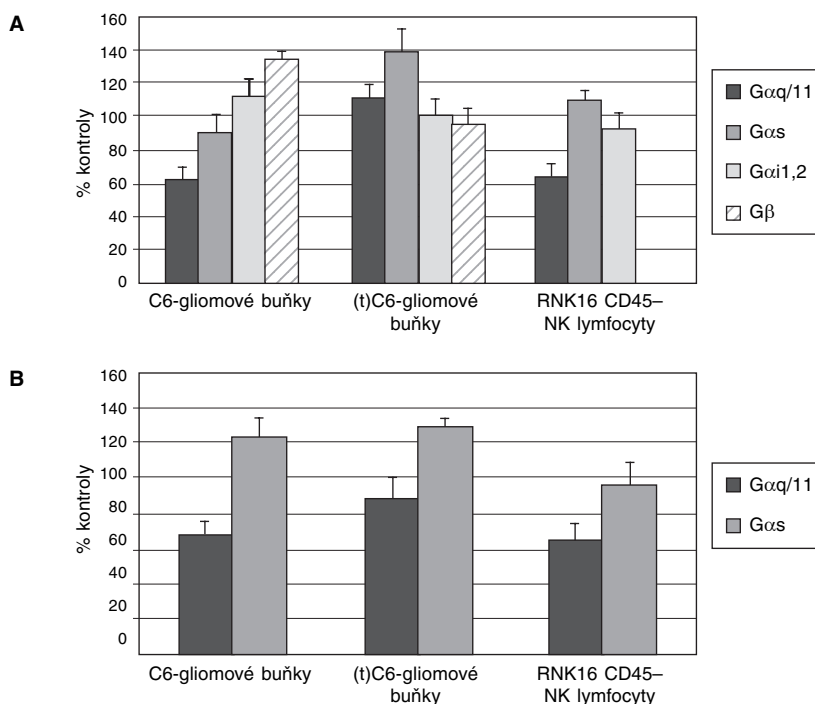
Důkazem dysfunkce transmembránového přenosu signálu bylo především zvýšení hladin Gαs v mozkové tkáni frontálního a okcipitálního kortexu pacientů s bipolární afektivní poruchou vzhledem k nepsychiatrickým kontrolám. Další změny jednotek Gαi, Gαo a Gβ nebyly signifikantní. Jiná data ukazují, že G-proteiny také indukují aktivaci fosfoinositidového metabolismu vedle G-proteinů indukujících syntézu AMP, jak bylo stanoveno *post mortem* v mozkové kůře sebevrahů s velkou depresí. Tyto literární údaje přispívají k širšímu problému podstaty afektivních poruch ve vztahu k abnormálnímu spřažení receptoru s efektorovým systémem s důrazem na aberaci buněčného signálu vázanou na G-proteiny.

Účinky antidepresiv na expresi profilů subjednotek Gα *in vitro* a *in vivo*

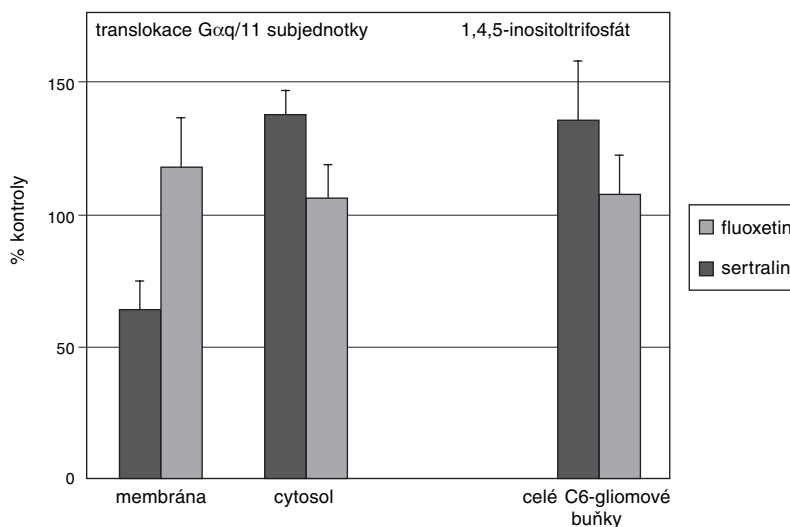
Zaměřili jsme se dále především na analýzu dalších typů antidepresiv, vzhledem k velké četnosti studií na tricyklických antidepresivech. Naše studie ukázaly změny profilu

změn subjednotek $G\alpha$ základních typů heterotrimerních GTP-vazebných (G) proteinů v závislosti na typu antidepresiva, tj. charakteristické profily α -subjednotek Gq/11, G(s), Gi1,2, odlišující se pro TCA, SSRI, NaSSA a IMAO A nejen *in vitro* u C6-gliomových buněk, ale i *in vivo* v mozku potkana. V modelových studiích je chronické působení antidepresiva *in vivo* po dobu 3 týdnů srovnatelné s pětidenním působením psychofarmaka na C6-gliomové buňky. Působení antidepresiva během 24 hodin na C6-gliomové buňky se označuje jako akutní. C6-gliomové buňky představují model postsynaptických změn po působení antidepresiva.

Provedli jsme srovnávací analýzu účinku fluoxetinu na membránové subjednotky $G\alpha$ nejen za modelových situací *in vitro* s využitím C6-gliomových buněk, ale i izolovaných a kultivovaných lidských NK lymfocytů (přirozených zabíječů) periferní krve. NK lymfocyty představují efektorové buňky přirozené imunity. Prokázali jsme výrazné *in vitro* působení fluoxetinu na snížení koncentrace Gq/11 C6-gliomových buněk podobně jako lidských NK lymfocytů. Podobné změny byly stanoveny u buněčné linie NK lymfocytů potkana RNK 16 (obr. 3). Dále byla prokázána translokace membránové $G\alpha$ /11 do cytosolu indukovaná akutním působením fluoxetinu, a rovněž spojená s poklesem koncentrace 1,4,5 IP₃ jako druhého posla příslušné efektorové dráhy regulované fosfolipázou C na rozdíl od nezměněných hladin 2. posla po působení dalšího SSRI antidepresiva sertralinu (obr. 4).



Obr. 3. Expres subjednotek $G\alpha$ v liniích mozkových buněk a NK lymfocytů. A – fluoxetin; B – NECA



Obr. 4. Vliv antidepresiva fluoxetinu nebo sertralinu na hladinu subjednotek Gα a 2. posla 1,4,5-inositoltrifosfátu C6-gliomových buněk

Dalšími intracelulárními důsledky aberace buněčného signálu mohou být změny apoptózy, programované buněčné smrti. Zjistili jsme, že důsledkem působení fluoxetinu je apoptóza C6-gliomových buněk, na rozdíl od neúčinného imipraminu, TCA. Apoptóza může být regulována adenosinovými receptory, jak se ukázalo v kombinaci s působením fluoxetinu.

Byly sledovány další neuroimunomodulační aspekty, a to jak u profilů Gα-subjednotek C6-gliomových buněk, tak NK lymfocytů stabilní linie RNK16 po ovlivnění antidepresivem *in vitro*, vedle působení agonisty adenosinového receptoru NECA. Kromě toho byla studována možnost alterace exprese subjednotek Gα po působení modulátoru na modifikované povrchové struktury buněčných linií C6-gliomových buněk transfekcí (t) povrchovými znaky lymfocytů – (t)C6-gliomové buňky, jakož i RNK16 linie s deficitním CD45 znakem (viz obr. 3). Působení fluoxetinu nebo NECA na pokles subjednotky Gαq/11 bylo srovnatelné u RNK16 CD45(–) i C6-gliomových buněk. Profily subjednotek Gα u (t)C6-gliomových buněk byly odlišné po působení modulátorů vzhledem k výchozí linii. Byly také prokázány podobnosti v expresi zvláště subjednotek Gαs jak u C6-gliomových buněk, tak i *in vivo* v mozku a slezině, vyvolaných antidepresivem citalopramem, na rozdíl od odlišné odpovědi v thymu. Tyto studie lze uzavřít tím, že uvedené neuroimunomodulátory mohou působit podobné změny při přenosu buněčného signálu G-proteiny do funkčně odlišných buněk nebo orgánových systémů. Na přenosu signálu v kaskádě z receptoru přes G-proteiny na efektorové systémy se podílejí i další kooperující membránové struktury.

Uvádíme současnou koncepci úlohy rodiny heterotrimerních GTP-vázajících (G) proteinů, její molekulární mnohočetnosti a sprážení systému receptor – G-protein – efektor (RGE) v mechanismu účinku depresiv. Předpokládá se, že postreceptorové mechanismy zahrnují modulaci exprese a translokace G-proteinů, funkční aktivitu

G-proteinů v intrasignálních a intersignálních systémech komunikace na úrovni plazmatické membrány buněk (rychlé a krátkodobé), které mohou modulovat i děje transkripční.

Alterace přenosu signálu vlivem antidepresiv nebo patofyziologické poruchy mohou zahrnovat jak reaktivitu receptoru nebo G-proteinu, tak odlišnou interakci mezi receptorem a G-proteinem, vyúsťující v alterovaný přenos signálu na efektorové systémy. Otázkou zůstává, zda mohou v budoucnu G-proteiny sloužit jako molekulární indikátory účinku psychofarmak nebo patologických stavů.

V textu použity materiály z knihy Kovářů, H., Kovářů, F. Základy neuroimunomodulace. Praha : Galén, 2005.

DIAGNOSTICKÉ A TERAPEUTICKÉ ASPEKTY HYPERTROFIE LEVÉ KOMORY



Prof. MUDr. Aleš Linhart, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice,
II. interní klinika – klinika kardiologie a angiologie*



SOUHRN

Hypertrofie levé komory (LK) představuje adaptační mechanismus myokardu na různé fyziologické a patologické podněty. V klinické praxi bývá spojována s patologickými ději a je prognosticky závažným jevem. Fyziologickou hypertrofii nacházíme především u vysoce trénovaných sportovců. U atletů je však nutno odlišit případy, kdy za hypertrofií stojí například hypertrofická kardiomyopatie, u níž fyzická aktivita může být spouštěcím mechanismem maligních arytmí.

V posledních deseti letech jsme se intenzivně zabývali výzkumem patologických i fyziologických aspektů hypertrofie LK. U mužů s vysokým rizikem kardiovaskulárního onemocnění jsme prokázali, že nezávisle na přítomnosti hypertenze, kouření či hypercholesterolemie dochází v časných fázích k paralelním změnám velkých tepen a LK. Tento společný patogenetický mechanismus by mohl zčásti objasňovat významný a nezávislý prediktivní vliv hypertrofie levé komory na kardiovaskulární morbiditu a mortalitu.

Velká pozornost byla věnována změnám indukovaným sportem. Studovali jsme strukturu LK a velkých tepen u vrcholových cyklistů – závodníků Tour de France. Ve srovnání s netrénovanými jedinci u nich byl prokázán téměř dvojnásobný vzestup hmotnosti LK, avšak i obtížně vysvětlitelné změny na velkých tepnách. Ty by mohly nasvědčovat tomu, že se již nemusí jednat pouze o »fyziologickou« adaptaci na sportovní zátěž. Pro tuto skutečnost by svědčily i zcela normální výsledky vyšetření tepen, které jsme získali v nedávné době u amatérských cyklistů.

V dalších studiích jsme se zaměřili také na studium mechanismů odpovídajících za fyziologickou variabilitu hmotnosti LK. Studovány byly genové polymorfismy systému renin-angiotensin-aldosteron a polymorfismus tyrosin hydroxylázy, enzymu odpovědného za klíčový krok syntézy katecholaminů. Pozitivní průkaz asociace polymorfismu Val-81-Met a hmotnosti LK patří mezi zcela nová pozorování.

Naše recentní studie se zaměřily na monogenně podmíněná onemocnění. Hlavní výsledky, které dále rozvíjíme, byly získány mezioborovou spoluprací mezi fakultními pracovišti například u nemocných s Fabryho chorobou.

Výzkum hypertrofie LK je klinicky významný, neboť umožňuje pochopení patogenetických mechanismů a jejich účelnější ovlivnění terapeutickými zásahy, které máme k dispozici.

SUMMARY

Left ventricular (LV) hypertrophy represents an adaptational mechanism of the myocardium to physiological and pathological stimuli. In clinical routine, LV hypertrophy is usually associated with pathological conditions and impaired prognosis. Physiological hypertrophy could be also found, in particular in highly trained athletes. However, this type of hypertrophy should be distinguished from hypertrophic cardiomyopathy. In this disease, physical activity is considered as a powerful trigger for malignant arrhythmias.

In the past decade we performed an extensive research of pathological and physiological aspects of LV hypertrophy. In men at high risk for cardiovascular disease we demonstrated early parallel cardiac and vascular changes independent of hypertension, smoking and hypercholesterolemia. This common pathogenetic mechanism might to some extent explain the significant and independent prognostic importance of LV hypertrophy for cardiovascular morbidity and mortality.

Particular attention was paid to sport-induced cardiovascular changes. We studied LV and arterial structure in highly trained cyclists – participants of the Tour de France race. As compared to sedentary individuals we found almost two-fold increase in LV mass. However, we detected also an increase in intima-media thickness of carotid arteries, a finding difficult to explain. These changes suggest that the physical effort of these athletes already exceeds the physiological level. This explanation is supported by our recent observation of normal intima-media thickness in amateur cyclists.

In other studies we focused on mechanisms responsible for LV mass physiological variability. We analyzed gene polymorphisms of renin-angiotensin system and tyrosine-hydroxylase – the rate-limiting enzyme of catecholamine biosynthesis. The positive association of Val-81-Met polymorphism of the gene encoding this enzyme appears to be a novel and original observation.

Our recent studies were focused on monogenic diseases. Key results were obtained in patients with Fabry disease. This continuing research was mainly allowed thanks to interdisciplinary collaboration of different departments and institutions of our faculty.

Investigations of LV hypertrophy are of clinical relevance as they allow to improve our understanding of pathogenetic mechanisms and better selection of therapeutic strategies.

ÚVOD

Hypertrofie levé komory je jedním z adaptačních mechanismů myokardu, kterým se vyrovnává s řadou fyziologických a patologických podnětů. Vznik hypertrofie je zprostředkován celou řadou hemodynamických podnětů, na něž navazuje komplikovaná

signalizace zahrnující více úrovní mezibuněčné signalizace. Vedle trofických působků se uplatňuje rozhodujícím způsobem i genetická výbava, která determinuje stupeň i typ odpovědi myokardu.

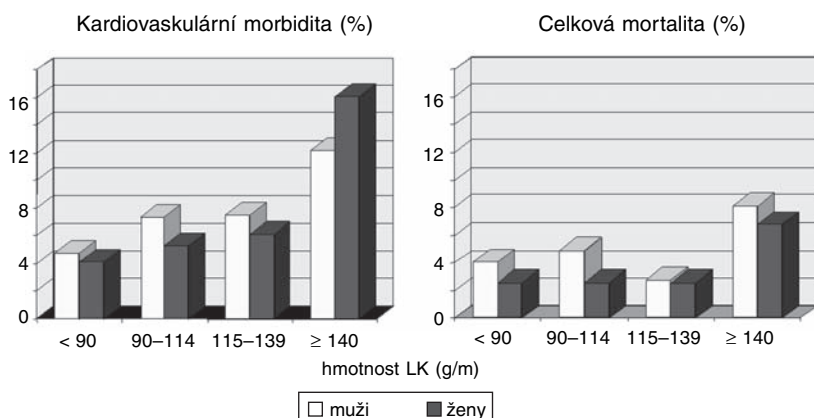
U lidí je příkladem fyziologického podnětu sportovní trénink. Takto vzniklá hypertrofie není spojena ani s negativním prognostickým dopadem ani s funkčním omezením funkce levé komory. Nedochozí ke zmnožení intersticia, není snížena koronární rezerva, diastolická funkce je normální nebo dokonce lepší než u netrénovaných jedinců.

Patologickými podněty hypertrofie jsou tlakové přetížení (vyvolané například arteriální hypertenzí nebo aortální stenózou) nebo objemové přetížení (spojené například s regurgitačními chlopenními vadami nebo hyperdynamickou cirkulací – anémie, zkratky).

Patologická hypertrofie levé komory je spojena s negativní prognózou. Rozsáhlé epidemiologické studie prokázaly, že přítomnost hypertrofie znamená horší prognózu ve smyslu vyšší mortality, výskytu komplikací ischemické choroby srdeční (ICHS), ale dokonce i výskytu cévních mozkových příhod.

PROGNOSTICKÝ VÝZNAM HYPERTROFIE LEVÉ KOMORY

Dlouhodobé epidemiologické populační studie prokázaly, že jak elektrokardiograficky, tak echokardiograficky diagnostikovaná hypertrofie levé komory má prediktivní význam pro řadu klinických příhod, jakými jsou např. koronární příhody, mozkové cévní příhody, kardiovaskulární i celková mortalita (obr. 1). Význam přítomnosti hypertrofie levé komory je přitom nezávislý na jiných tradičních rizikových faktorech, jako jsou výše krevního tlaku, přítomnost hypercholesterolémie či kuřáctví.⁽¹⁾



Obr. 1. Riziko kardiovaskulární morbidity a mortality podle kvartilů distribuce hmotnosti levé komory (upraveno podle Framinghamské studie)⁽¹⁾

DIAGNOSTICKÉ METODY HODNOCENÍ HYPERTROFIE LEVÉ KOMORY

Diagnostika hypertrofie levé komory je vždy kompromisem mezi cenou použité metody a její výtěžností (tab. 1). Nejrozšířenější metodou, která je schopna hypertrofii odhalit, je EKG. Korelace EKG voltážových změn s hmotností levé komory je však poměrně slabá. Proto byly vyvinuty nové algoritmy zahrnující vedle voltáže i trvání komplexu QRS a repolarizační změny. Hodnocení EKG se tím stává poměrně komplikovaným. Mimo to většina těchto komplexních indexů má různé limity pro muže a pro ženy, ale také pro různé etnické skupiny.⁽²⁾

Tab. 1. Hlavní metody stanovení hmotnosti levé komory srdeční (+ = výhodná, – = nevýhodná)

Metoda	Dostupnost	Cena	Výtěžnost	Výhody	Nevýhody
EKG	+++	+++	+/-	Vysoká dostupnost, prognostický význam	Pouze semikvantitativní, volná korelace s hmotností LK
Echokardiografie	++	+	++	Dostupnost, kvantitativní, prognosticky významná	Omezená reprodukovatelnost, nejednotný způsob indexace tělesnou stavbou, nejednotné limity
NMR	–	–	+++	Velmi přesná, reprodukovatelná	Časová a technická náročnost, cena

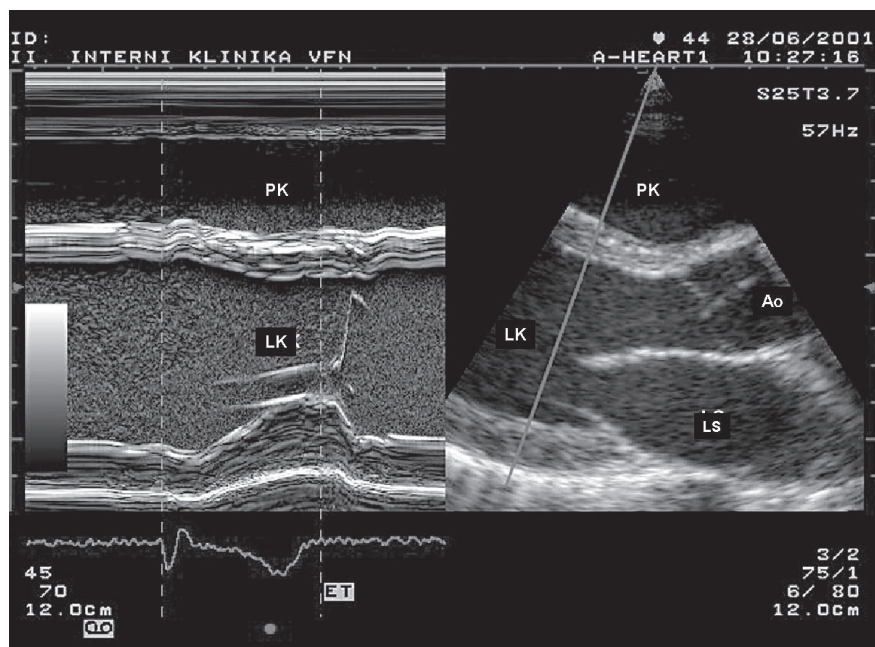
Na druhé straně spektra stojí velmi přesné zobrazovací metody zahrnující nukleární magnetickou rezonanci (NMR), ale také velmi rychlou výpočetní tomografii. Nukleární magnetická rezonance je dnes považována za »zlatý standard«. Bohužel se jedná o velmi nákladné a poměrně technicky náročné vyšetření. Proto je dnes klinicky nejvíce využívána echokardiografie. Jde o metodu výrazně závislou na operátorovi. Reprodukovatelnost vyšetření není ani zdaleka ideální. Vyšetření je však velmi dostupné a nedávné pokroky v zobrazovacích technikách jeho výtěžnost posunuly výrazně vpřed.

METODOLOGICKÁ ÚSKALÍ ECHOKARDIOGRAFIE

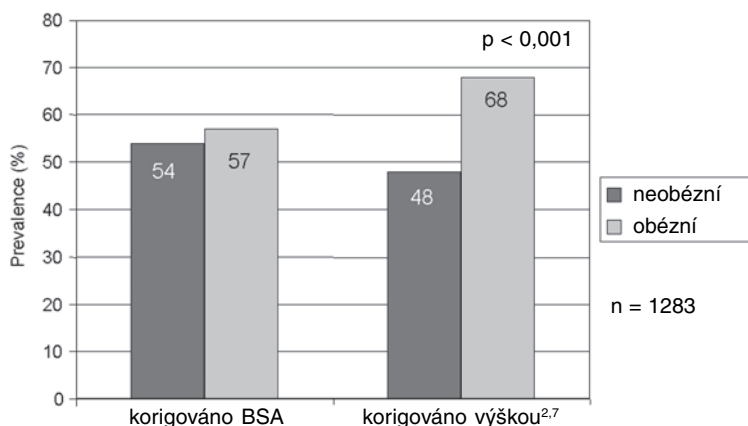
Korelace mezi echokardiograficky stanovenou hmotností levé komory a skutečností zjištěnou při pitvě je velmi dobrá.⁽³⁾ V klinické praxi je sice možné využít metod vycházejících z dvojrozměrného obrazu, nejběžnější metodou však nadále zůstává tzv. způsob M (obr. 2).

Daleko větším problémem, než je samotná reprodukovatelnost vyšetření, je nalezení adekvátního způsobu tzv. indexace. Jde o korekci velikosti levé komory různými

indexy odrážejícími tělesnou stavbu. Pravděpodobně nejlepší je indexace netučnou tělesnou hmotností, avšak pro běžnou praxi tato metoda vhodná není. Nejvíce bylo využíváno indexace velikostí tělesného povrchu. Tato metoda však vede k zastření přítomnosti hypertrofie u jedinců s nadváhou. To prokázaly i naše studie u nemocných s ICHS a arteriální hypertenzí (obr. 3). Výrazného rozšíření proto doznaly metody



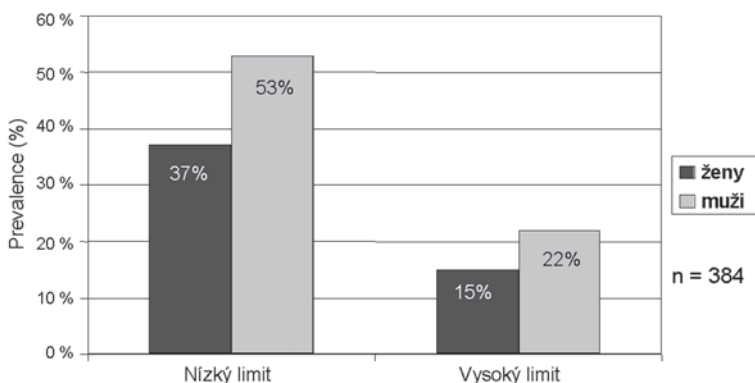
Obr. 2. Příklad echokardiografického záznamu levé komory způsobem M



Obr. 3. Rozdíl v prevalenci hypertrofie levé komory u neobézních a obézních nemocných v závislosti na použité indexaci – tělesným povrchem (BSA) nebo 2,7 mocninou výšky⁽⁵⁾

indexace pomocí mocnin výšky. V našich studiích bylo nejvíce využíváno korekce pomocí výšky^{2,7}.⁽⁴⁾

Dalším klinickým úskalím je výběr správného limitu. Na populaci našich hypertenzních nemocných jsme testovali, jak dalece ovlivní výběr limitu prevalenci hypertrofie levé komory. Použili jsme nejvyšší a nejnižší limit publikovaný literárně za posledních 10 let. Při použití nejvyššího limitu byla prevalence u mužů a u žen 15 a 22 %, nejnižší limit ukázal prevalenci 37 a 53 %. V celé populaci se tak ocitlo v tzv. šedé zóně nejisté diagnózy hypertrofie celkem 28 % nemocných (obr. 4).⁽⁵⁾ To je nepochybně obtížně akceptovatelné a výběr kompromisního limitu by měl být založen pokud možno na výsledcích prospektivních epidemiologických studií.



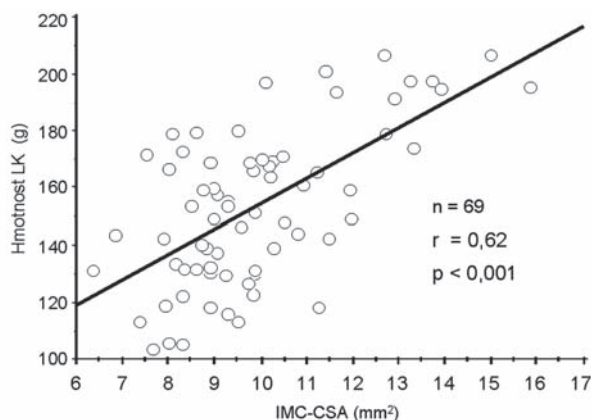
Obr. 4. Rozdíl v prevalenci hypertrofie levé komory při použití nejvyšších a nejnižších limitů publikovaných za posledních 15 let⁽⁵⁾

KORELACE MEZI VASKULÁRNÍMI ZMĚNAMI A HMOTNOSTÍ LEVÉ KOMORY

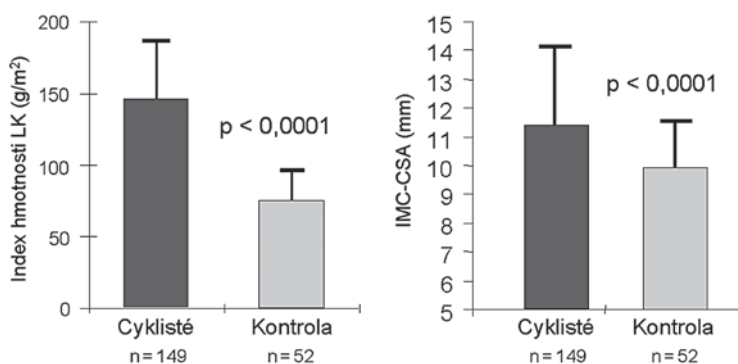
V několika studiích, včetně naší práce u nemocných s vysokým kardiovaskulárním rizikem, byla prokázána existence korelace mezi změnami velkých tepen a nárůstem hmotnosti levé komory. Podobné nálezy prokázala i naše studie u mužů s vysokým kardiovaskulárním rizikem, avšak dosud bez klinického postižení (obr. 5). To ukazuje na možnost spolupůsobení společných trofických faktorů na obou úrovních, ale také na možnost vzájemné interakce mezi tepnami a srdcem, kdy na jedné straně hemodynamické změny navozují alterace vaskulární stěny spojené se snížením poddajnosti a zvýšením periferní rezistence. Na druhé straně však tyto změny vedou k další progresi hypertrofie levé komory.⁽⁶⁾

FYZIOLOGICKÉ TYPY HYPERTROFIE LEVÉ KOMORY

Fyziologický typ hypertrofie levé komory navozuje pouze sportovní trénink. Změny morfologie levé komory závisí na typu vykonávaného sportu. Silové, statické sporty vedou ke zvýšení rezistence a navozují především koncentrický typ hypertrofie. Na



Obr. 5. Korelace mezi hmotností levé komory a plochou komplexu intimy a medie na společné karotidě (IMC-CSA) u mužů s vysokým rizikem⁽⁶⁾



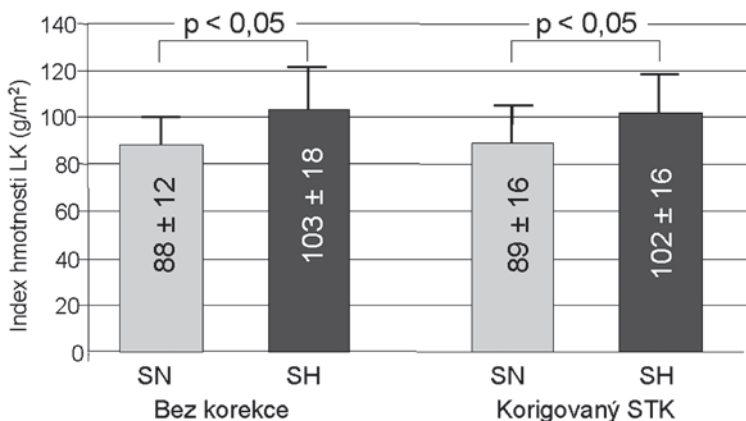
Obr. 6. Srovnání průměrného indexu hmotnosti levé komory a plochy komplexu intimy a medie na společné karotidě (IMC-CSA) u závodníků Tour de France 1995 a u netréované populace⁽⁷⁾

druhé straně vytrvalostní sporty jsou spojeny především s dilatací levé komory, a tedy s hypertrofií excentrickou.

Předmětem našeho výzkumu v minulých letech byli především amatérští a profesionální cyklisté. Cyklistika v sobě kombinuje zátěž izotonickou vykonávanou dolními končetinami a zátěž izometrickou, která je vykonávána končetinami horními. Cyklisté mají všeobecně jedny z nejvyšších hodnot hypertrofie levé komory. V roce 1995 jsme před startem Tour de France vyšetřili 149 profesionálních cyklistů. Jejich průměrný index hmotnosti levé komory přesahoval výsledek zjištěný u kontrolní netréované populace téměř dvojnásobně (obr. 6). Zajímavým zjištěním byl nárůst tloušťky intimy a medie, který by mohl svědčit buď pro neadekvátní tlakové zatížení během vykonávané extrémní fyzické aktivity, nebo pro vliv tréninkových metod vedoucích k nárůstu průměrného hematokritu a tím i celkové viskozity krve.⁽⁷⁾

VÝZNAM GENETICKÝCH DISPOZIC A GENOVÝCH POLYMORFISMŮ

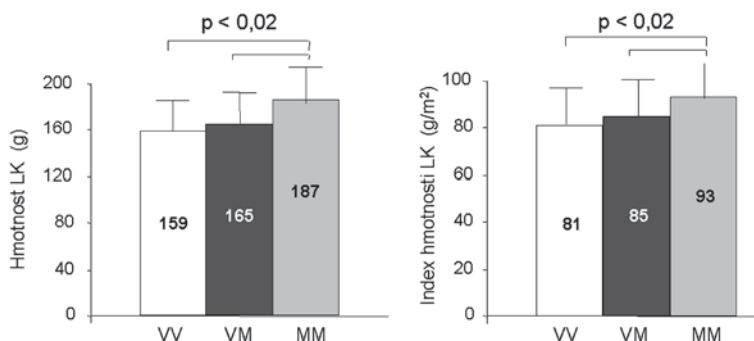
Výzkum genetických faktorů, které ovlivňují strukturu levé komory srdeční, je velmi extenzivní. Všeobecně panuje shoda v tom, že s výjimkou monogenně podmíněných patologických forem hypertrofie je variabilita hmotnosti levé komory determinována polygenně. Na tuto skutečnost poukázala i naše studie u normotenzních potomků hypertenzních rodičů, kdy i po korekci hodnotami krevního tlaku měli potomci hypertoniků vyšší průměrnou hmotnost levé komory (obr. 7).⁽⁸⁾



Obr. 7. Srovnání indexu hmotnosti levé komory u normotenzních mužů bez rodinné anamnézy arteriální hypertenze (SN) a s pozitivní rodinnou anamnézou arteriální hypertenze (SH)⁽⁸⁾

Velká pozornost je věnována také výzkumu polymorfismu genů, které by mohly vedle kontroly krevního tlaku ovlivňovat také strukturu levé komory. Naše studie se věnovaly především polymorfismům genů systému renin-angiotenzin-aldosteron. Přes hraničně statisticky významná zjištění jsme však za bazálních podmínek nenalezli významný dopad ani inserčního-delečního (I/D) polymorfismu genu pro enzym konvertující angiotenzin (ACE), ani polymorfismu M-235-T genu pro angiotenzinogen.⁽⁹⁾ Tyto geny by však mohly hrát významnou roli v regulaci hmotnosti levé komory v odpovědi na patologické nebo fyziologické stimuly. Bylo například zjištěno, že jedinci s genotypem DD genu pro ACE mají větší nárůst hmotnosti levé komory v odpovědi na fyzickou zátěž.⁽¹⁰⁾

Mezi významná pozorování, která byla v naší laboratoři učiněna, lze označit průkaz významu polymorfismu Val-81-Met genu pro tyrosin hydroxylázu. Tyrosin hydroxyláza je enzym ovlivňující rychlost syntézy katecholaminů. Zejména noradrenalin je označován za hormon hypertrofie, je schopen navodit významný nárůst masы myokardu i bez měřitelného dopadu na krevní tlak a tepovou frekvenci. Významně vyšší hmotnost levé komory u normotenzních jedinců s polymorfismem MM genu pro tyrosin hydroxylázu v naší studii (obr. 8) z něj činí nepochybně zajímavý kandidátní gen.⁽¹¹⁾



Obr. 8. Srovnání celkové a indexované hmotnosti levé komory v závislosti na Val-81-Met polymorfismu genu pro tyrosin-hydroxylázu⁽¹¹⁾

MONOGENNÍ FORMY HYPERTROFIE LEVÉ KOMORY

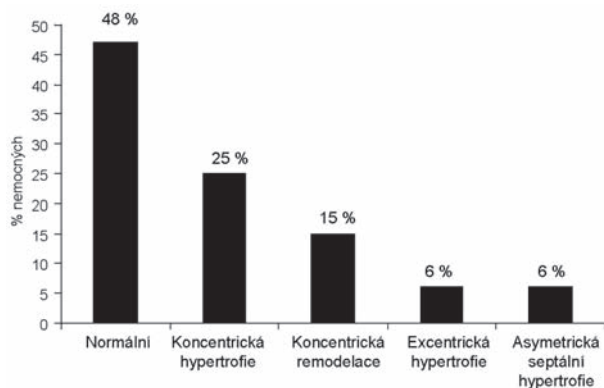
Mezi monogenně podmíněnými formami hypertrofie levé komory dominuje hypertrofická kardiomyopatie. Předpokládá se, že většina případů je způsobena mutací některého ze sarkomerických proteinů. Klinicky se však hypertrofická kardiomyopatie může podobat řada jiných onemocnění, zejména metabolických. Jedním z takových onemocnění může být defekt α -galaktosidázy A, podmiňující tzv. Fabryho-Andersonovu chorobu. Jde o onemocnění vázané na chromosom X. Metabolický defekt vede k lyzozomálnímu stádání neutrálních glykosfingolipidů, zejména globotriaosylceramidu (Gb3). Kardiální postižení je komplexní, hlavní manifestací je hypertrofie myokardu, klinicky jen těžko odlišitelná od klasické hypertrofické kardiomyopatie.⁽¹²⁾ Nedávne práce ukázaly, že mezi nemocnými sledovanými pro diagnózu hypertrofické kardiomyopatie může být Fabryho choroba podkladem změn až u 6 % nemocných, pokud se jejich onemocnění manifestovalo až po 40. roce věku.

V posledních letech jsme věnovali výzkumu Fabryho choroby značnou pozornost. Charakterizovali jsme různé morfologické formy změn levé komory. Nejčastějším typem postižení je koncentrická hypertrofie (obr. 9). Ta se rozvíjí s postupujícím věkem u většiny nemocných, a to nejen u hemizygotních mužů. Je možné ji prokázat ve vysokém procentu i u heterozygotních žen, které byly až donedávna považovány za přenašečky onemocnění. Pravděpodobnou příčinou je náhodná inaktivace chromosomu X, kdy část buněk má aktivní alelu nesoucí mutaci.⁽¹³⁾

TERAPEUTICKÉ OVLIVNĚNÍ HYPERTROFIE LEVÉ KOMORY

Atletická hypertrofie může u části nemocných představovat diferenciálně diagnostický problém. Bylo prokázáno, že přerušení tréninku vede k poměrně rychlé regresi hypertrofie levé komory. U některých atletů však regrese není úplná, pokud změny přetrvávají, jde především o dilataci levé komory, zatímco tloušťka stěn po ukončení tréninku ustupuje u všech sportovců.⁽¹⁴⁾

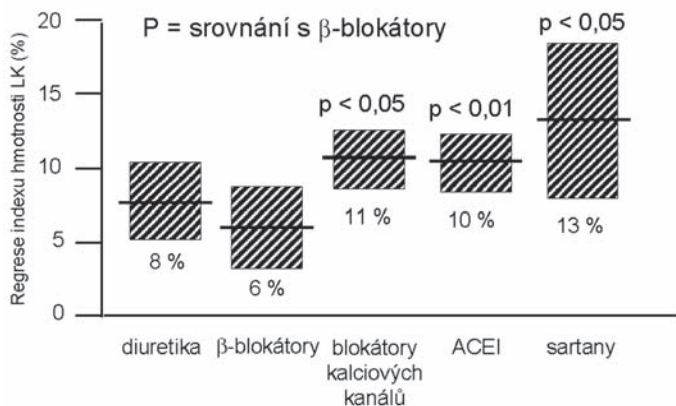
Většina případů hypertrofie levé komory v klinické praxi je nalézána u nemocných s arteriální hypertenzí. Současná antihypertenziva vedou nejen k navození poklesu krev-



Obr. 9. Srovnání prevalence jednotlivých typů geometrických změn u nemocných s Fabryho chorobou⁽¹²⁾

ního tlaku, ale také k regresi hypertrofie levé komory. Nedávno provedená metaanalýza klinických studií (obr. 10) prokázala, že nejúčinnějšími skupinami léků jsou v tomto směru inhibitory ACE a blokátory AT_1 -receptorů pro angiotenzin II (tzv. sartany). Výrazný efekt mají však také blokátory kalciových kanálů. Daleko menší efekt mají například β -blokátory.⁽¹⁵⁾ V dlouhodobých studiích bylo prokázáno, že u léčených nemocných, u kterých dojde k regresi hypertrofie komory, je prognóza významně lepší, než pokud se nárůst masы myokardu nepodaří zvrátit.⁽¹⁶⁾

Vedle terapie hypertenzní hypertrofie byl významný pokrok dosažen i v terapii metabolických onemocnění vedoucích k hypertrofii. Mezi tato onemocnění patří také již zmíněná Fabryho choroba. Opakované pravidelné infuze α -galaktosidázy A jsou schopny navodit regresi hypertrofie a dle některých sdělení i zlepšení funkce myokardu.⁽¹⁷⁾



Obr. 10. Metaanalýza regrese hypertrofie levé komory u nemocných léčených pro arteriální hypertenzi⁽¹⁵⁾

ZÁVĚR

Hypertrofie levé komory je významným prognostickým ukazatelem kardiovaskulární morbidity i mortality. V současné době je dominantní metodou v její diagnostice echokardiografie. Její význam poněkud snižuje závislost výsledků na vyšetřujícím (omezená reprodukovatelnost výsledků u individuálního nemocného) a aplikace nejednotných způsobů indexace parametry tělesné stavby a nejednotných limitů normálních hodnot.

Dominantní příčinou hypertrofie levé komory je v klinické praxi arteriální hypertenze. Vedle toho však existují i fyziologické typy hypertrofie navozené intenzivním sportovním tréninkem. Ty však nikdy nejsou spojeny s poruchou plnění, fibrózou myokardu ani se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. Největší stupeň hypertrofie mají sportovci, jejichž aktivita sdružuje izotonické a izometrické prvky, například cyklisté či veslaři.

V rozvoji hypertrofie se významně uplatňují genetické faktory. Jen velmi omezený počet nemocných má hypertrofii podmíněnou defektem jediného genu. U většiny jde o polygenně determinovanou dispozici k nárůstu hmotnosti levé komory v odpovědi na různé stimuly. Velmi intenzivní pozornost je věnována genovým polymorfismům. Na základě našich dat se zajímavým jeví polymorfismus v genu kódujícím tyrosin hydroxylázu, enzym limitující rychlost syntézy katecholaminů.

Z monogenních forem je vedle hypertrofické kardiomyopatie věnována v poslední době velká pozornost Fabryho chorobě, jednak z diferenciálně diagnostických důvodů, jednak proto, že pro tyto nemocné je nově k dispozici substituční enzymatická terapie.

Regresi hypertrofie levé komory lze navodit různými způsoby. U nemocných s arteriální hypertenzí je navození poklesu hmotnosti komory prognosticky velmi příznivé.

Další výzkum hypertrofie bude směřovat k detailnějším objasnění a pochopení mechanismů, které k ní vedou. Od toho se pak budou odvíjet i terapeutické snahy o ovlivnění tohoto procesu, který sice představuje z krátkodobého a střednědobého pohledu významný kompenzační mechanismus myokardu, z hlediska dlouhodobého se však stává nevýhodným a prognosticky závažným.

Literatura

1. LEVY, D., GARRISON, RJ., SAVAGE, DD., et al. *Prognostic implication of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study*. N Engl J Med, 1990, 322, p. 1561–1566.
2. DENARIÉ, N., LINHART, A., GARIEPY, J., et al. *Improved prediction for echocardiographic left ventricular mass using electrocardiographic modified Cornell index*. Am J Hypertens, 1998, 11, p. 861–865.
3. DEVEREUX, RB., ALONSO, DR., LUTAS, EM., et al. *Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: Comparison to necropsy findings*. Am J Cardiol, 1986, 57, p. 450–458.
4. LINHART, A., ABERGEL, E., HRUDOVÁ, J., HORKÝ, K. *Význam a metody echokardiografického stanovení hmotnosti levé komory srdeční u nemocných s arteriální hypertenzí*. Cor Vasa, 1999, 41, s. 393–402.
5. LINHART, A., PALEČEK, T., HLUBOCKÁ, Z., et al. *Vliv obezity a typu indexace na prevalenci hypertrofie levé komory u nemocných s arteriální hypertenzí a s ICHS*. Abstrakt. Cor Vasa-Kardio, 2002, 44 (suppl. 4), s. 66.

6. LINHART, A., GARIEPY, J., GIRAL, P., et al. *Carotid artery and left ventricular structural relationship in asymptomatic men at risk for cardiovascular disease*. *Atherosclerosis*, 1996, 127, p. 103–112.
7. ABERGEL, E., LINHART, A., CHATELLIER, G., et al. *Vascular and cardiac remodeling in world class professional cyclists*. *Am Heart J*, 1998, 136, p. 818–823.
8. LINHART, A., VONDRÁČEK, V., HORKÝ, K., et al. *Left ventricular morphology and function in normotensive men with a positive family history of arterial hypertension*. *Cor Vasa* 1994, 36, p. 219–223.
9. LINHART, A., SEDLÁČEK, K., JÁCHYMOVÁ, M., et al. *Lack of association of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes polymorphisms with left ventricular structure in young normotensive men*. *Blood Pressure*, 2000, 9, p. 47–51.
10. MONTGOMERY, HE., CLARKSON, P., DOLLERY, CM., et al. *Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training*. *Circulation*, 1997, 96, p. 741–747.
11. LINHART, A., JINDRA, A., GOLÁŇ, L., et al. *Association between tyrosine hydroxylase polymorphisms and left ventricular structure in young normotensive men*. *British Journal of Biomedical Science*, 2002, 59, p. 90–94.
12. LINHART, A., LUBANDA, JC., PALEČEK, T., et al. *Cardiac manifestations in Fabry disease*. *J Inherit Metab Dis*, 2001, 24 (suppl. 2), p. 75–83.
13. LINHART, A., PALEČEK, T., BULTAS, J., et al. *New Insights in Cardiac Structural Changes in Patients with Fabry's Disease*. *Am Heart J*, 2000, 139, p. 1101–1108.
14. PELLICIA, A., MARON, BJ., DE LUCA, R., et al. *Remodeling of left ventricular hypertrophy in elite athletes after long-term deconditioning*. *Circulation*, 2002, 105, p. 944–949.
15. KLINGBEIL, AU., SCHNEIDER, M., MARTUS, P., et al. *A meta-analysis of the effects of treatment on left ventricular mass in essential hypertension*. *Am J Med*, 2003, 115, p. 41–46.
16. MATHEW, J., SLEIGHT, P., LONN, E., et al., for the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) investigators. *Reduction of cardiovascular risk by regression of electrocardiographic markers of left ventricular hypertrophy by the angiotensin-converting enzyme inhibitor ramipril*. *Circulation*, 2001, 104, p. 1615–1621.
17. WEIDEMANN, F., BREUNIG, F., BEER, M., et al. *Improvement of cardiac function during enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: a prospective strain rate imaging study*. *Circulation*, 2003, 108, p. 1299–1301.

KLINICKÝ OBRAZ A PATOGENEZE U POLYCYSTICKÉ CHOROBY LEDVIN AUTOSOMÁLNĚ DOMINANTNÍHO TYPU



Prof. MUDr. Miroslav Merta, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, Klinika nefrologie



SOUHRN

Rozeznáváme celou řadu cystických onemocnění ledvin, která se odlišují dobou vzniku, původem, klinickou závažností a přítomností extrarenálních projevů. Polycystická choroba ledvin autosomálně dominantního typu (PCHLAD) se klinicky projevuje ve středním a pozdnějším věku a patří ke klinicky nejvýznamnějším dědičným onemocněním ledvin. Frekvence výskytu se odhaduje na 1 : 500–1000 osob. Genetickým podkladem onemocnění jsou geny PKD1 (80–85 % všech nemocných s PCHLAD) a PKD2 (15–20 % nemocných s PCHLAD). Gen PKD1 je lokalizován na 16. chromosomu a jeho genovým produktem je polycystin 1; gen PKD2 je lokalizován na 4. chromosomu a jeho genovým produktem je polycystin 2.

K renálním projevům onemocnění patří především zvětšené ledviny, bolesti beder, arteriální hypertenze (AH) (70 %), infekce močových cest (50 %), hematurie (50 %), urolitiáza (20 %), a progresse do chronického selhání ledvin (CHSL). Typickým nálezem jsou cysticky změněné ledviny, prokazatelné při ultrazukovém vyšetření. Cysty vznikají cystickou dilatací renálních tubulů, jejichž epitel se vyznačuje abnormální schopností sekrece tekutin, podmiňující další růst cyst. Nejčastějším extrarenálním projevem jsou jaterní cysty. Patogeneticky se jedná o cystickou transformaci intrahepatálních žlučových cest. Funkce jater zůstává zachována, výjimečně se mohou projevit obstrukce žlučových cest či volumové obtíže. Mozková aneuryzmata (prevalence kolem 8 %) jsou nejzávažnější komplikací PCHLAD; jejich ruptura může způsobit subarachnoidální krvácení. Předmětem diskusí je otázka screeningového vyšetření aneuryzmat a otázka případných preventivních zákroků. Arteriální hypertenze se vyvíjí velmi záhy, přičemž patogeneticky se uplatňuje především aktivace systému renin-angiotenzin-aldosteron (RAS) vlivem ischemizace ledvinového parenchymu cystami. Arteriální hypertenze představuje významný negativní prognostický faktor. V léčbě AH jsou doporučeny především blokátory RAS, kterými lze dosáhnout nejen dostatečného

poklesu arteriálního krevního tlaku, regrese hypertrofie levé komory, ale předpokládá se rovněž určitý renoprotektivní účinek. V diagnostice PCHLAD se kromě zobrazovacích metod uplatňují i metody DNA (přímé i nepřímé), přičemž jejich užití s sebou přináší i některé etické otázky. Léčba má přes výrazné pokroky stále charakter symptomatické terapie renálních a extrarenálních komplikací.

Prognózu onemocnění determinuje zejména genový podklad – progresse onemocnění do stadia CHSL probíhá u PKD1 přibližně o 15–20 let dříve než u onemocnění vázané na PKD2. Zda se na prognóze uplatňuje lokalizace a typ mutace, je předmětem výzkumu. Prognózu PCHLAD však nejspíše ovlivňují i další modifikující geny, zvláště geny zasahující do vzniku a vývoje AH a progresse renální insuficience. Poznatky o patogenezi onemocnění se prohloubily zásluhou identifikace genových produktů – polycystinů. Dnes jsou již známy některé signální sekvence, kterých se polycystin 1 a polycystin 2 ve vzájemné interakci účastní. Další výzkum patogenetických mechanismů je nutný pro nalezení kauzální léčby pro nemocné s PCHLAD.

SUMMARY

Clinical picture and pathogenesis of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD)

A large number of cystic kidney diseases does exist, which can be listed according to the period of onset of clinical symptoms, their origine and clinical impact and/or the presence of extrarenal manifestations. ADPKD clinically manifests during the middle and elderly age and ranges between the most important hereditary kidney diseases. ADPKD has not only a relatively high frequency (ADPKD affects 1: 500–1000 individuals) but responds for 5–7% of all cases of chronic renal failure (CRF). The diseases is encoded by two different genes – PKD1 gene (80–85% of all ADPKD patients) and PKD2 gene (15–20% of ADPKD patients).

Renal manifestations of ADPKD consist of kidney enlargement, pain, arterial hypertension (AH), urinary tract infections (50%), hematuria (50%), urolithiasis (20%) and progression to CRF. Renal manifestations are closely related to the enlargement of renal cysts and kidneys – as can be typically observed with ultrasound imaging. Cysts originate from cystic dilatations of renal tubules. Renal tubular epithelial cells display abnormal capacity of fluid secretion into cyst lumen, potentiating thus further enlargement of the cysts. Polycystic liver disease is the most common extrarenal manifestation of ADPKD. Developmentally, liver cysts arise from a ductal plate abnormality with abnormal development and differentiation of the bile ducts. Typically liver cysts are asymptomatic. Clinical symptoms can be caused by massive enlargement of the liver or by mass effect from a single or limited number of cysts. Intracranial aneurysms occur in approximately 8% of the ADPKD population and represent the most serious extrarenal complication of ADPKD because they can rupture and cause subarachnoid hemorrhage. Widespread screening of asymptomatic aneurysms (magnetic resonance angiography being the imaging modality of choice) and preventive surgery are not usually recommended because of low risk of rupture. AH develops very early, even in patients with preserved renal functions, and pathogenetically is connected with the activation of the system renin-angiotensin-aldosterone (RAS) initiated by the ischemia of renal parenchyme caused by the growth of renal cysts. AH represents an important negative prognostic factor and its treatment (preferentially with the blockers of RAS) not only

reduces the blood pressure values and target organ damage (as left ventricular hypertrophy) but highly probably slows the progression to CRF (renoprotective effect). Presymptomatic screening of patients at risk for ADPKD is by ultrasound, or more recently by identification of the genes for ADPKD by linkage or direct mutational analysis (raising possibly some ethical equivocalities, due to the lack of causal treatment). Noneless the effectiveness of current symptomatic therapies directed toward renal and extrarenal complications of ADPKD has remarkably improved. The prognosis of ADPKD is highly (but not exclusively) determined by the genes encoding the disease – while the mean age of renal death in patients with PKD1 gene is 54 years, CRF affects the patients with PKD2 gene 15 years later. New insights into the pathogenesis of ADPKD derived from the identification of the two ADPKD gene products – polycystin-1 and polycystin-2. Some signal pathways in which both polycystins (in interaction) are involved have been described and further research activity in the field of the genes and gene products is necessary to uncover the causal treatment for patients with ADPKD.

ÚVOD – ROZDĚLENÍ CYSTICKÝCH ONEMOCNĚNÍ LEDVIN

Rozeznáváme celou řadu cystických onemocnění ledvin, která se odlišují dobou vzniku, původem, klinickou závažností a/nebo přítomností extrarenálních projevů.

Kromě polycystické choroby ledvin autosomálně dominantního typu (PCHLAD) existuje polycystická choroba ledvin autosomálně recesivního typu, dále nefronoftiza, houbovitě ledviny, tuberózní skleróza, Von Hippelova-Lindauova choroba, prosté cysty a řada dalších.

PCHLAD se klinicky typicky projevuje ve středním a pozdějším věku. Proto se také dříve (na rozdíl od varianty autosomálně recesivní, projevující se převážně v dětském věku) označovala jako polycystická choroba ledvin dospělých.

Dědičná onemocnění ledvin tvoří specifickou podskupinu cystických onemocnění ledvin, která je dnes charakterizována nejen klinicky, ale i molekulárně geneticky. PCHLAD patří ke klinicky nejvýznamnějším dědičným onemocněním ledvin, a to především z důvodu jejího značného rozšíření a dále z hlediska časté progresse onemocnění do stadia chronického selhání ledvin (CHSL). Frekvence výskytu se odhaduje na 1 : 500–1000 osob. Genetickým podkladem onemocnění jsou geny PKD1 (80–85 % všech nemocných s PCHLAD) a PKD2 (15–20 % nemocných s PCHLAD). Gen PKD1 je lokalizován na 16. chromosomu a jeho genovým produktem je polycystin 1; gen PKD2 je lokalizován na 4. chromosomu a jeho genovým produktem je polycystin 2.

KLINICKÝ OBRAZ PCHLAD

Klinické projevy onemocnění lze rozdělit na renální a extrarenální. K renálním projevům onemocnění patří především zvětšené ledviny, bolesti beder, arteriální hypertenze (AH) (70 %), infekce močových cest (50 %), hematurie (50 %), urolitiáza (20 %), a progresse do CHSL. Průměrná doba vzniku CHSL se přitom liší v závislosti na genovém podkladu – u varianty nemoci vázané na gen PKD1 je průměrný věk vzniku CHSL 54 let, u varianty druhé, vázané na gen PKD2, je tato doba posunuta – přibližně o 15 let později. K extrarenálním projevům patří cysty jater (70 %), pankreatu (9 %),

aneuryzmata cév spodiny lebeční (4–20 %), střevní divertikly, hernie (až 50 %), abnormality srdečních chlopní (25 %), seminální cysty (až 40 %) a některé další.

Renální projevy jsou úzce vázány na morfologické změny, které ledviny prodělávají. Typickým obrazem jsou mnohočetné cysty v kůře i dřeni ledvin nalézající se ve zvětšených ledvinách, jejichž korelátem v ultrazvukové diagnostice jsou mnohočetné anechogenní útvary v ledvinách. Arteriální hypertenze se vyvíjí velmi záhy, přičemž patogeneticky se uplatňuje především aktivace systému renin-angiotenzin-aldosteron (RAS) vlivem ischemizace ledvinného parenchymu cystami. Arteriální hypertenze představuje významný negativní prognostický faktor. V léčbě AH jsou doporučeny především blokátory RAS, kterými lze dosáhnout uspokojivého poklesu arteriálního krevního tlaku a regrese hypertrofie levé komory; předpokládá se rovněž jejich určitý renoprotektivní účinek.

Jaterní cysty u PCHLAD patří k nejčastějším extrarenálním komplikacím PCHLAD. V jejich patogenezi se uplatňuje cystická transformace intrahepatálních žlučodů. Incidence jaterních cyst stoupá s věkem (20 % do 30 let, 70 % nad 70 let). Prevalence u genů PKD1/PKD2 je stejná. Častější výskyt je pozorován u žen (zvláště po opakované těhotenství, případně ve vazbě na hormonální antikoncepci). Klinicky a laboratorně lze pozorovat spíše nárůst volumu jater než úbytek funkčního parenchymu, jaterní testy zůstávají dlouhodobě v normě, u masivního postižení může výjimečně dojít ke vzestupu obstrukčních enzymů. Léčba je symptomatická (punkce jaterních cyst, resekce jater). Mozková aneuryzmata jsou nejzávažnější extrarenální komplikací u PCHLAD. Prevalence aneuryzmat je u nemocných s PCHLAD zřetelně zvýšená proti výskytu v běžné populaci (8 % u PCHLAD oproti 1,5 % u běžné populace). Závažnost této komplikace tkví především v možné ruptuře výduti a následném subarachnoidálním krvácení (SAK). K ruptuře a SAK dochází ve zvýšené míře u nemocných s pozitivní rodinnou anamnézou SAK (až u 16 % z nich); v celkové populaci nemocných s PCHLAD dochází k ruptuře aneuryzmatu přibližně u 1 osoby z 2000. Průměrný věk, při kterém dojde k ruptuře se pohybuje kolem 41 let, přitom u 10 % ruptura vznikne již ve věku do 21 let. Za rizikové faktory se považují velikost (> 6–9 mm), pozitivní rodinná a osobní anamnéza SAK, lokalizace aneuryzmat, přítomnost AH. Screeningovou metodou volby je magnetická rezonanční angiografie; screening je prováděn pouze u rizikových skupin pacientů s PCHLAD. Otázka preventivních zákroků na dosud asymptomatických aneuryzmatech je předmětem polemik.

V diagnostice PCHLAD se kromě zobrazovacích metod (zvláště diagnostikou ultrazvukovou) nově uplatňují i metody DNA (přímé i nepřímé). V ultrazvukové diagnostice PCHLAD je třeba respektovat kritéria užívaná pro určení/vyloučení nemoci, která jsou úzce vázána na věk vyšetřovaných. Přímá diagnostika se uplatňuje především u formy nemoci vázané na PKD2, v ostatních případech se obvykle používají metody vazebné analýzy. Užití metod molekulární genetiky s sebou může nést i některé etické otázky, dané především absencí kauzální léčby pro diagnostikované jedince. Léčba má dosud povahu symptomatických opatření, zaměřených na renální a extrarenální projevy nemoci, i když je třeba vyzdvihnout, že v posledních letech došlo k znatelnému rozšíření jejich možností i úspěšnosti. Týká se to mimo jiné úspěchů v léčbě močových infekcí u nemocných s PCHLAD, v léčbě AH a v neposlední řadě i v léčbě CHSL. Ta má u nemocných s PCHLAD své specifické rysy (na jedné straně zůstává díky přítomnosti cystických ledvin relativně dlouho zachována diuréza a erytropoéza, na druhé straně mohou infekční komplikace a nárůst volumu ledvin a jater komplikovat průběh dialyzační či transplantační léčby).

Prognózu onemocnění determinuje zejména genový podklad – progrese onemocnění do stadia CHSL probíhá u PKD1 přibližně o 15–20 let dříve než u onemocnění vázaného na PKD2. Existuje významná interfamiliální a intrafamiliální fenotypová variabilita. Zda se na prognóze uplatňuje lokalizace a typ mutace PKD1 a PKD2, je předmětem výzkumu. Prognózu PCHLAD však nejspíše ovlivňují i další modifikující geny, zvláště geny zasahující do vzniku a vývoje AH a progrese renální insuficience.

PATOGENEZE PCHLAD

Poznatky o patogenezi onemocnění se významně prohloubily s identifikací genových produktů – polycystinů. Jejich struktura a velikost se výrazně liší (zatímco polycystin 1 je poměrně velký genový produkt, značně strukturovaný a s řadou duplikovaných oblastí, je polycystin 2 relativně malý a jednoduchý genový produkt). Významným poznatkem je, že polycystin 1 a polycystin 2 působí ve vzájemné interakci. Účastní se tak v řadě signálních sekvencí ovlivňujících procesy, jako jsou genová transkripce, zástava buněčného cyklu, proliferace, diferenciace, sekrece tekutin apod. Lokalizace polycystinů je předmětem intenzivního výzkumu – např. značná pozornost byla v posledních letech věnována nálezům polycystinů v ciliích savčích renálních epiteliálních buněk. Ohýbání cilií při toku moči vede v buněčných kulturách k vzestupu intracelulárního vápníku. Porucha ciliární funkce se patrně uplatňuje v patogenezi renálních cyst, které vznikají cystickou dilatací tubulů a vyznačují se řadou specifických morfologických a funkčních abnormit (např. přítomností hyperplastického epitelu obdařeného schopností sekrece tekutin do cyst aj.). Další výzkum patogenetických mechanismů u PCHLAD je nutný pro nalezení kauzální léčby pro nemocné s touto chorobou.

Literatura

- ŠTEKROVÁ, J., REITEROVÁ, J., MERTA, M., et al. *PKD2 mutations in a Czech population with autosomal dominant polycystic kidney disease*. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19, p. 1116–1122.
- MERTA, M., REITEROVÁ, J., RYŠAVÁ, R., et al. *Role of endothelin and nitric oxide in the pathogenesis of arterial hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease*. Physiol Res, 2003, 52, p. 433–437.
- MERTA, M., REITEROVÁ, J., ŠTEKROVÁ, J., et al. *Influence of the alpha-adducin and ACE gene polymorphism on the progression of autosomal dominant polycystic kidney disease*. Kidney Blood Press Res, 2003, 26, p. 42–49.



PŘÍNOS FARMAKOLOGIE K INDIVIDUALIZACI FARMAKOTERAPIE



Prof. MUDr. František Perlík, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, Farmakologický ústav*

SOUHRN

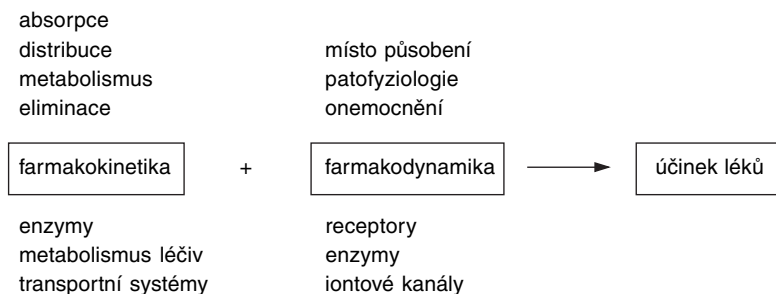
Variabilita lékové odpovědi je vyvolána vzájemnou interakcí farmakokinetiky, farmakodynamiky a faktorů onemocnění. Přehled se soustřeďuje na metabolické změny vyvolané polymorfismem cytochromu P450 a uvádí příklady indukce a inhibice tohoto enzymatického systému při vzniku nežádoucích lékových interakcí. Z klinického hlediska je nutné věnovat pozornost zejména antidiabetikům, antikoagulanciím a phenytoinu. Lze předpokládat, že výskyt nežádoucích účinků léčiv s genetickým polymorfismem a malou terapeutickou šíří může být snížen pomocí terapeutického monitorování léčiv a terapií individualizovanou na základě genetických poznatků získaných určováním fenotypu, případně genotypu nemocných.

SUMMARY

Contribution of pharmacology to individualization of pharmacotherapy

Drug response variability is produced by mutual interplay between pharmacokinetics, pharmacodynamics and disease-associated factors. The review is focused on metabolic changes caused by polymorphism in the cytochrome P450 and gives examples of induction and inhibition of this enzymatic system in occurrence of adverse drug interactions. From the clinical point of view, attention should be paid especially to antidiabetics, anticoagulants and phenytoin. Therapeutic drug monitoring and genetics-based individualization of the therapy, based on phenotyping or genotyping the patients, is supposed to decrease the occurrence of undesired effects of drugs with genetic polymorphism and narrow therapeutic range.

Používání léčiv v klinické praxi je spojeno s velkou interindividuální variabilitou lékové odpovědi (obr. 1). Odchytky v reakci na podání léčiva se nejčastěji projevují v oblasti farmakokinetiky, tj. během vstřebávání, distribuce, metabolismu a vylučování. Ukazuje se, že variační koeficient, který vyjadřuje míru variability farmakokinetických parametrů v populaci, je až $\pm 50\%$. Výrazná variabilita je způsobena též změnami při farmakodynamickém působení léčiv. Na variabilitě lékové odpovědi se podílí zejména základní i souběžně probíhající onemocnění, věk, interakce léčiv, genetické vlivy i další faktory zevního prostředí. Variabilita lékové odpovědi se může projevit nedostatečnou účinností, někdy je léčba provázána vznikem nežádoucích účinků a interakcí.



Obr. 1. Faktory ovlivňující účinek léčiv

K odhalování lékové variability přispívá zejména terapeutické monitorování hladin léčiv a kvantifikace léčiv a jejich metabolitů ve vztahu k polymorfismu.

TERAPEUTICKÉ MONITOROVÁNÍ HLADIN LÉČIV

Strategie dosažení cílové koncentrace léčiva se označuje též jako terapeutické monitorování léčiv (TDM). K rozvoji této problematiky přispěl rozvoj nových analytických metod vhodných k určování koncentrace léčiv v séru a ostatních biologických tekutinách. Rozvoj v této oblasti usnadnila i výpočetní technika, umožňující vyhodnocovat získané údaje bezprostředně v laboratorních podmínkách. Provádí se u léčiv, kde existuje korelace mezi velikostí podané dávky, koncentrací léčiva v biologických tekutinách a mezi výsledným účinkem terapie. Dosažení cílové koncentrace u vybraných léčiv výrazně snižuje nebezpečí z předávkování na straně jedné, a nedostatečné dávkování na straně druhé. Tímto postupem se může zkrátit doba léčení nemocného a zlevnit farmakoterapie. Nezbytnou podmínkou racionálního monitorování léčiv jsou následující předpoklady:

- nemožnost přímého měření účinku léku;
- lineární a reverzibilní vztah mezi koncentrací a účinkem;
- malá terapeutická šíře;
- strmá závislost mezi dávkou a účinkem;
- znalost cílové koncentrace léčiva;
- spolehlivá, přesná a specifická analytická metoda.

Nejčastějším důvodem provádění TDM jsou zejména: ověření koncentrace léčiva na začátku terapie, výskyt nežádoucích účinků, sledování lékových interakcí, optimalizace dávkování u nemocných se sníženou funkcí eliminačních orgánů a vyloučení nedostatečné spolupráce nemocného při neodpovídající terapeutické odpovědi.

Terapeutické monitorování léčiv se uplatňuje různým způsobem při optimalizaci farmakoterapie. Určování koncentrace léčiv pomáhá, společně s aplikací farmakokinetických poznatků, individualizovat léčbu. Tento postup je mnohem přesnější, než je predikce koncentrací prováděná na základě populačních farmakokinetických parametrů. V současnosti podmínkám TDM nejlépe vyhovují např. phenytoin, carbamazepin, digoxin, lithium, ciclosporin a theophyllin. Častým problémem je správná interpretace **neočekávané koncentrace léčiva**, na které se může podílet například:

- nedostatečná spolupráce nemocného;
- nevhodné dávkování;
- změna biologické dostupnosti;
- lékové interakce;
- onemocnění jater a ledvin;
- porucha vazby na bílkoviny;
- horečnatý stav nemocného;
- genetické vlivy.

Ve vlastní práci jsme se snažili přispět například k významu stanovování volného podílu phenytoinu. Při studiu vazebných parametrů phenytoinu jsme zjistili, že současně podávaná další antiepileptika mají různý vliv na jeho volný podíl. Výsledky lze shrnout takto: phenobarbital, ethosuximid, diazepam neovlivňují vazbu phenytoinu na sérový albumin. Vliv carbamazepinu a medazepamu není jednoznačný. Naopak současné léčení kyselinou valproovou a primidonem snižuje vazbu phenytoinu statisticky významně. S touto otázkou souvisí i téma naší další práce, ve které jsme sledovali volný podíl phenytoinu v séru a jeho vztah k hyperplazii dásní, jež je relativně častou komplikací dlouhodobého používání phenytoinu. U 54 epileptiků jsme pozorovali, že stupeň hyperplazie dásní se zvyšuje s délkou podávání léčiva i s použitou dávkou. U všech nemocných byla prokázána statisticky významná tendence mezi závažností projevů hyperplazie a mezi celkovou a volnou koncentrací phenytoinu. Nepodařilo se prokázat, že by volný podíl léčiva zvyšoval možnost predikce hyperplazie dásní. Z pozorování vyplývá, že u nemocných s normálními hodnotami albuminu a bez významných vazebných interakcí není nutné stanovovat volnou hladinu léčiva.

Dále se monitorují také další antikonvulziva, antiarytmika, tricyklická antidepresiva, aminoglykosidová antibiotika a cytostatika, která splňují alespoň základní podmínku terapeutického monitorování, tj. průkaz korelace mezi intenzitou farmakologického působení a koncentrací léčiva v krvi v ustáleném stavu.

Monitorování koncentrace léčiv v průběhu terapie se značně rozšířilo, ale možný přínos pro nemocného není vždy plně využit. Někdy se odběry provádějí ještě před dosažením ustáleného stavu, často chybí kritické zhodnocení změřené koncentrace a následná aktivní intervence. Výsledky určování koncentrace léčiv musejí být vždy konfrontovány se soustavným a pečlivým klinickým hodnocením účinku léčiva u každého nemocného. Terapeutické monitorování léčiv nemůže být samostatné a nesmí se vyvíjet odtrženě od praktických potřeb lékové terapie.

KVANTIFIKACE LÉČIV A JEJICH METABOLITŮ VE VZTAHU K POLYMORFISMU

Invaze genetiky do všech lékařských věd se ve farmakologii projevila vznikem farmakogenetiky, která se zabývá geneticky podmíněnou variabilitou odpovědi organismu na podané léčivo. **Variabilita metabolické aktivity** je způsobena různým typem alel daného enzymu. U některých jedinců jsou alely zodpovídající za rychlý metabolismus substrátu daného enzymu (rychlí metabolizátoři), jindy se naopak vyskytují alely způsobující snížení metabolické kapacity enzymu (pomalí metabolizátoři). Heterozygoti mají metabolickou aktivitu buď normální, nebo jen lehce sníženou (intermediární metabolizátoři). Pokud se v populaci vyskytuje více než v 1 % pomalých metabolizátorů, označujeme enzym jako polymorfní.

Ve své práci jsme využili fenotypizaci pomocí kofeinu, nejčastěji používané látky k určování katalytické aktivity CYP1A2, u nemocných s jaterní cirhózou. Nález snížené clearance kofeinu u nemocných s jaterní cirhózou svědčí o snížené rychlosti eliminace mateřské látky, což je v souladu se sníženou tvorbou paraxantinu a též se sníženým poměrem paraxantin/kofein. Naše výsledky lze vysvětlit sníženou aktivitou CYP1A2, která byla popsána v literatuře také u nemocných indikovaných k transplantaci jater. Stanovení poměru paraxantin/kofein po podání kofeinu lze proto použít jako indikátor funkční kapacity jater při jaterních lézích rozličné etiologie. Fenotypizace s použitím modelové látky kofeinu tak může být jedním z testů pro sledování tíže, progresu a úspěšnosti léčby u nemocných.

Studovali jsme též aktivitu izoenzymu cytochromu P450 CYP2D6, který katalyzuje metabolickou přeměnu řady léčiv ze skupiny antidepresiv, antipsychotik, analgetik, β -blokátorů a antiarytmik. Pomocí modelového substrátu sparteinu jsme u 50 zdravých dobrovolníků zjistili rozložení oxidativního fenotypu CYP2D6, jež je analogické metabolickému fenotypu západoevropské populace. V další části výzkumu jsme našli výsoce významnou korelaci metabolického poměru – spartein / (2-dehydrospartein + 5-dihydrospartein) jak s eliminačním poločasem, tak i s plochou pod křivkou koncentrace antiarytmika propafenonu. Na základě těchto výsledků jsme navrhli používat metabolický poměr propafenon/hydroxypropafenon, např. v období maximálních koncentrací po jednorázovém podání propafenonu k určení metabolického fenotypu CYP2D6.

V posledních letech se věnuje pozornost polymorfismu cytochromu P450 také v souvislosti se vznikem **nežádoucích účinků**. U pomalých metabolizátorů se na vzniku nežádoucích účinků nejčastěji podílejí CYP2C9, CYP2C19 a CYP2D6 (tab. 1).

Většina léčiv metabolizovaných CYP2C9 má slabě kyselý charakter a malou terapeutickou šíři, pro kterou jsou častým zdrojem nežádoucích účinků. Polymorfismus CYP2C9 je klinicky významný zejména pro metabolismus S-warfarinu. Projevuje se to značnou variabilitou dávky nutné k udržení optimální antikoagulace. Nemocní stabilizovaní na nízké dávce warfarinu, kteří jsou nositeli jedné nebo více variantních alel, mají při zahájení léčby pětikrát větší pravděpodobnost překročení terapeutického rozmezí a několikanásobně větší riziko krvácení než běžná populace. Polymorfismus CYP2C9 se také uplatňuje při metabolismu tolbutamidu, což se projevuje téměř desetinásobným rozdílem clearance léčiva. Pomalí metabolizátoři tolbutamidu mají větší pravděpodobnost vzniku hypoglykémie. Vznik této nežádoucí reakce mohou ovlivnit i další faktory, jako jsou např. distribuce receptorů pro sulfonyleureu a individuální rozdíly sekrece inzulinu.

Tab. 1. Nežádoucí účinky u pomalých metabolizátorů

Polymorní enzym	Metabolizovaný substrát	Nežádoucí účinek
CYP2C9 phenytoin losartan tolbutamid glibenclamid nesteroidní antirevmatika	S-warfarin ataxie hypotenze hypoglykémie hypoglykémie gastrotoxická	krvácivé komplikace
CYP2C19 diazepam	omeprazol zvýšený útlum	nevolnost, cefalea
CYP2D6 haloperidol perphenazin antiarytmika fluoxetin, paroxetin	tricyklická antidepresiva parkinsonský syndrom parkinsonský syndrom dysrytmie nauzea	kardiotoxická

Nejlépe je prozkoumán genový polymorfismus CYP2D6, který se podílí na metabolismu asi jedné čtvrtiny běžně používaných léčiv. Důsledky vyšších koncentrací závisí na terapeutické šíři daného léčiva a na přítomnosti alternativních metabolických cest, jež mohou zajistit metabolickou přeměnu při deficitu CYP2D6. Například zpomalený metabolismus β -blokátorů u pomalých metabolizátorů může vyvolat výraznou bradykardii. Někdy se geneticky podmíněné snížení metabolismu může projevit snížením léčebného účinku. U pomalých metabolizátorů codeinu byla pozorována nižší analgetická účinnost způsobená absencí aktivního metabolitu, který vzniká cestou CYP2D6. Kromě toho se u pomalých metabolizátorů codeinu častěji vyskytují nežádoucí účinky. Polymorfismus CYP2D6 se klinicky významně uplatňuje také při metabolismu neuroleptik a antidepresiv. Objevují se první náznaky individualizovaného dávkování zohledňujícího jednotlivé fenotypové skupiny.

Geneticky podmíněné změny metabolismu léčiv se podílejí na vzniku nežádoucích účinků tím, že zasahují do farmakokinetiky a farmakodynamiky léčiv. Genetické vlivy se obvykle neuplatňují samostatně, ale současně s dalšími faktory, jako jsou např. zároveň podávaná léčiva a předchozí nebo souběžně probíhající onemocnění.

Z **praktického pohledu** je nutné se soustředit na léčiva s malou terapeutickou šíří, např. perorální antikoagulantia, antiepileptika a perorální antidiabetika. Klinicky významné interakce v oblasti metabolismu léčiv zahrnují též antihistaminika, srdeční glykosidy, antidepresiva, imunosupresiva, cytostatika a léčiva kardiovaskulárního systému.

Důležitou zásadou **prevence nežádoucích účinků** je používání co nejmenšího počtu léků v nejnižších terapeuticky účinných dávkách. V indikovaných případech nám pomáhá určování koncentrace léčiv za předpokladu, že existuje korelace mezi koncentrací a účinkem. Pro individualizaci farmakoterapie jsou důležité nejenom metody určování koncentrace vybraných léčiv, ale též metody farmakogenetiky (určování fenotypu a genotypu nemocných), které vyhledávají subjekty s extrémním typem metabolismu. Lze předpokládat, že tyto postupy usnadní naše terapeutické rozhodování a přispějí ke snížení výskytu nežádoucích účinků.

BEZ ZNALOSTI PŘEDCHOZÍHO NENÍ BUDOUCNOST



Prof. PhDr. Milada Říhová, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta,
Ústav dějin lékařství a cizích jazyků*



Spectabilis pane děkane, honorabiles, dominae et domini doctissimi!

Přibližně před pěti lety jsem stála před touto váženou vědeckou radou se svou habilitační přednáškou o jednom z nejstarších profesorů pražské lékařské fakulty z doby jejích počátků, Zikmundu Albíkovi z Uničova. Věnovala jsem mu monografii, která byla výsledkem úsilí mnoha let. V první etapě své výzkumné práce jsem pracovala v rukopisných odděleních pražských knihoven a shledávala materiál, který by mohl být vhodnou látkou pro další vědeckou práci. Ve druhé etapě, po změně politických poměrů, jsem studovala v některých zahraničních knihovnách a zaměřila se na osobnost a dílo doposud takřka neznámého profesora pražské lékařské fakulty Albíka z Uničova. Těší mě, že od té doby vešel tento učenec i skvělý praktik jakožto vynikající lékař, jehož věhlas dalekosáhle překročil hranice této země, do širšího povědomí. Při tomto studiu jsem objevila i další osobnosti i spisy z okruhu pražské lékařské fakulty nebo královského dvora a tím i podněty k rozmnožení tematického okruhu mé badatelské práce. V posledním období jsem rozšířila téma na literární činnost v rámci odborné i popularizující středověké lékařské literatury, která byla v našich zemích pěstována ve 14. a 15. století bezesporu pod vlivem dávné předchůdkyně této lékařské fakulty.

Od počátků jsem se pohybovala na takřka úplně neznámé půdě. Po mnoha letech je dnes situace o něco málo lepší. Drtivá většina lékařských spisů pražské proveniencce z nejstaršího období univerzity je však stále dochována pouze v latinsky psaných a obtížně luštitelných rukopisech, které často nejsou ani katalogizačně dostatečně zpracovány; jejich vyhledávání a pracné opisování na místě samém patří k časově nejnáročnějším, ale nezbytným podmínkám mé další práce. Je to však vlastně to jediné, co z nejstaršího období pražské lékařské fakulty zbylo, neboť ostatní prameny jsou patrně nenávratně ztraceny. Touto po staletí takřka úplně opomenutou oblastí, tj. latinsky psanými lékařskými rukopisy, se v evropském měřítku zabývá pouze několik badatelů.

Pro zhodnocení každé vysoké školy, a to v kterékoliv době, je tím nejdůležitějším kritériem její pedagogická a vědecká činnost. Tu právě lze z nového pohledu posuzovat na základě studia rukopisů i na základě objevů dosud neznámých děl, v nichž lze někdy vystopovat tehdy aktuální zmínky o jménech profesorů a studentů, o přednáškách a jejich tématech či o fakultě samotné. Některé osobnosti profesorů se objeví jen ojedinělými zmínkami, jiné se nepochybně neobjeví vůbec. Není možné sestavit v úplnosti reprezentativní výběr, a to zvláště pro první polovinu století existence fakulty, z něhož jsou podle dosavadních studií dochovány pouze trosky. Přesto je oprávněné předpokládat, že každý univerzitní mistr musel vyvíjet, dnešními slovy řečeno, publikační činnost. Zároveň a především přednášel a zadával témata studentských vědeckých prací, tzv. kvestií, jejichž řešení a obhajobu také vedl a posuzoval, tzv. determinoval.

Lékařské kvestie, které jsem našla v kodexu Pal. lat. 1243 ve Vatikánské knihovně, jsou jedinými kvestiemi pražské lékařské fakulty, které byly až dosud objeveny. Kvestie byly tehdy determinovány závěrem studia a jejich potomkem jsou dnešní diplomové práce. Jejich hodnota se měřila nikoliv mírou originality, ale mírou snesení všech možných tvrzení známých a v oboru osvědčených autorit, zpaměti naučených dlouhých citací a mírou náležitěho rétorického vyjádření i co nejdůkladněji vedené logické argumentace. Proto jsou kvestie vlastně velmi nepřímým a skutečnosti neodpovídajícím důkazem o úrovni lékařské a léčebné praxe v oné době. Tento fakt byl však až dosud naprosto podceňen a středověká medicína byla posuzována právě podle výukových materiálů a studentských prací – kvestií, což však neodpovídalo živé skutečnosti.

Přes veškerou schematičnost, předem danou osnovu látky, scholastický způsob myšlení a písemného sdělování musela vznikat – přinejmenším v komentářích – díla, která tu více, tu méně nesla i znaky osobitosti a především odrážela lékařské teoretické myšlení své doby. Poněvadž medicína má i velmi významnou složku praktickou, a to v rozsahu jako žádná jiná věda, odráží tato díla i realitu tehdejšího skutečného života.

Od své habilitace jsem objevila další nové spisy a nová jména, dosud v této souvislosti zcela neznámé. Soudím těch nejvýznamnějších uvádím v dodatku, neuvádím však spisy anonymní, kterých je velké množství. Zatímco teoretické spisy a přednášky jsou především odrazem středověkého aristotelismu a arabismu, regimina sanitatis, středověké životosprávy, tlumočí do jisté míry kromě teorií i každodenní život, do nějž nemoc, prevence a léčba nedílně patří. Úvahy nesené nad způsobem života určité společenské vrstvy v tomto typu literatury uváděné dokazují – oproti dosavadním názorům – že zdraví a kvalita života v oblasti duševní i fyzické stály v centru pozornosti tehdejšího člověka stejně jako je tomu dnes. Studium starých rukopisů pražské univerzity prokazuje není pouhým čtením teorií, které dávno ztratily platnost, ale je to studium výpovědi o přístupu středověkého lékaře i pacienta ke zdraví a tělesnosti, které jsou v univerzitních lékařských spisech sice chápány jako dar boží, ale jako dar, který může lékař i pacient svým chováním, způsobem života, postoji a psychologickým přístupem ovlivňovat. To přináší opravdu nový pohled na chování člověka ve vzdálené době středního věku, dosud literaturou nereflektovaný.

V další práci budu stále shledávat, zpřístupňovat a hodnotit neznámou vědeckou i pedagogickou produkci pražské lékařské fakulty. Za svůj úkol pokládám postavit ji, oprávněně, do příznivějšího světla, než v jakém se na ni pro obecnou neznalost vědeckých i učebních materiálů v některých zahraničních pracích dosud pohlíží.

Nejvýznamnější objevené, dosud neznámé a již publikované nebo k publikaci připravované spisy:

Regimina sanitatis:

1. Johannes de Gottingen: Ad Iohannem regem Bohemie Polonieque. Praha, Národní knihovna, XI E 9, ff. 272v–275v; druhá část Vídeň, knihovna kláštera U Skotů (Schottenklosterbibliothek), 160, ff. 226v–237v.
2. Rembotus Eberhardi de Castro: Ad Carolum imperatorem. Vatikán, Apoštolská knihovna, Pal. lat. 1349, ff. 143r–160r.
3. Johannes dictus Bononiensis, rektor školy v Kutné hoře: Ad Sigismundum regem Hungarie. Vatikán, Apoštolská knihovna, Pal. lat. 1213, ff. 96r–146r.

Výuka na pražské lékařské fakultě:

1. Questiones medice. Determinované v r. 1409 na den sv. Jana pod vedením Mistra Johanna Sueba, profesora lékařské fakulty. Vatikán, Apoštolská knihovna, Pal. lat. 1243, ff. 265r–277r.
2. De modo studendi et legendi. Praha, Národní knihovna, I F 11, ff. 144v–152v; I D 12, ff. 202r–204v; XIV F 18, ff. 2r–12v; Vídeň, Österreichische Nationalbibliothek, 4342, ff. 272v–287r.

Seznam zahraničních knihoven, v jejichž rukopisných odděleních jsem prozatím studovala:

- Berlín, Státní knihovna;
- Krakov, Jagellonská knihovna;
- Lipsko, Univerzitní knihovna;
- Mnichov, Bavorská státní knihovna;
- Stuttgart, Württemberská zemská knihovna;
- Vatikán, Apoštolská knihovna;
- Vratislav, Univerzitní knihovna Na Piasku;
- Vídeň, Rakouská národní knihovna a knihovna kláštera U Skotů.



SYSTÉMOVÁ SKLERODERMIE – KLASIFIKACE A ZÁVAŽNOST ONEMOCNĚNÍ



Prof. MUDr. Jiří Štork, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice,
Dermatovenerologická klinika*

SOUHRN

Autor uvádí přehlednou klasifikaci sklerodermie jako celku, klasifikační kritéria systémové sklerodermie (SSc) a její členění do dvou základních forem: limitované a difúzní. Klinická variabilita průběhu, časné orgánové postižení u difúzní formy, obtížná detekce aktivity onemocnění vyžadují standardizované nástroje k monitorování závažnosti onemocnění (stavu nemoci), které jsou potřebné ke stanovení prognózy nemocného a k hodnocení klinických studií. Závažnost onemocnění je kombinací tkáňového poškození, tj. nevratné poruchy funkce orgánů, a aktivity nemoci, tj. případně vratné poruchy funkce orgánů. Předběžná kritéria závažnosti hodnotící 9 orgánových systémů ve čtyřstupňové škále doporučená k užívání v klinických studiích Evropskou skupinou studia sklerodermie (jejímž členem je i pracoviště autora) jsou uvedena v přehledu. Uvedena jsou i předběžná klinická kritéria aktivity vypracovaná touto skupinou na základě multicentrické studie, která jsou ověřována probíhající další studií v rámci založené evropské skupiny EUSTAR, tj. EULAR (European League Against Rheumatism) Scleroderma Trials And Research group. Potenciální sérologické ukazatele aktivity onemocnění vyplývající z jeho patogeneze jsou podány v přehledu. Současné jsou uvedeny základní a speciální potenciální sérologické ukazatele aktivity chorobného procesu navržené a doporučené evropskou sklerodermickou skupinou.

Klíčová slova: sklerodermie – systémová sklerodermie – klasifikace – závažnost – aktivita.

SUMMARY

Systemic sclerosis – classification and disease severity

The author presents an overview of scleroderma classification as a whole, classification criteria of systemic sclerosis (SSc) and its subclassification into two subsets: limited and diffuse. Variability of SSc clinical course, early organ dysfunction of diffuse subset, difficulty of the disease activity assessment need standardized tools for monitoring the disease severity (the disease status), which are necessary for predicting prognosis for an individual patient and for clinical trials evaluation. The disease severity at a given time represents combination of tissue damage, i.e. irreversible organ dysfunction, and disease activity, i.e. potentially reversible organ dysfunction. Preliminary disease severity criteria evaluating 9 organ systems in 4-grade-scale recommended for use in clinical trials by European Scleroderma Study Group, ESSG (including also the author's clinical center) are reviewed. Also preliminary clinical SSc activity criteria identified in multicenter clinical study designed by the same group, which are validated in another ongoing study organized by recently founded European group EUSTAR, i.e. EULAR (European League Against Rheumatism) Scleroderma Trials And Research group, are presented. The list of »core set« and special potential serological markers of the disease activity derived from the pathogenesis of SSc, which were selected for clinical trials by ESSG are included.

Key words: scleroderma – systemic sclerosis – classification – severity – activity

Systémová sklerodermie (SSc) je relativně vzácné onemocnění nejasné etiologie charakterizované zvýšenou produkcí vaziva a změnami cév postihující především kůži, zažívací trakt, plíce, srdce a ledviny.^(15,16) Obtížná porovnatelnost studií SSc vyplývající z velmi různorodého klinického obrazu zdůraznila nutnost stanovení kritérií klasifikace chorobného procesu a hodnocení jeho závažnosti. Kritéria klasifikace sklerodermie, která rozlišují nemocné s jinými chorobami a různé formy nemoci, jsou zárukou porovnatelnosti výsledků různých pracovišť. Kritéria závažnosti onemocnění jsou předpokladem stanovení prognózy nemocného, a proto mají zásadní význam pro osud nemocného.^(4,14) Protože tato problematika není stále dořešena, přinášíme poznatky posledního vývoje.

Sklerodermie jsou velice heterogenní skupinou onemocnění charakterizovaných produkcí vaziva a vznikem tuhé kůže. Základní klasifikace odlišuje sklerodermii lokalizovanou, tj. postihující pouze kůži, a sklerodermii systémovou, která kromě kůže postihuje i jiné orgány. Dále se odlišují tzv. nediferencovaná onemocnění pojiva, kdy příznaky nejsou dostatečné ke klasifikaci nemoci, překryvná onemocnění pojiva, kdy se kombinují příznaky různých nemocí pojiva, a tzv. pseudosklerodermie, tj. stavy sklerodermii napodobující.⁽¹⁴⁾

Základní klasifikační kritéria SSc zaručující určitou srovnatelnost výsledků studií byla stanovena v roce 1980 (tab. 1).⁽⁶⁾ V 90. letech 20. století bylo dosaženo shody v rozlišení dvou základních forem choroby dle rozsahu kožního postižení, tzv. difúzní SSc (dSSc) a limitované SSc (lSSc), které se liší průběhem, prognózou a přítomností antinukleárních protilátek (tab. 2).^(8,15) Výskyt antinukleárních protilátek (anticentromerových – ACA, proti DNA topoizoméráze I – anti-Scl70) vykazuje demografické odchylky. V naší populaci, oproti anglosaské, jsme prokázali nízký výskyt protilátek ACA a vysoký výskyt protilátek anti-Scl-70, podobně jako ve studiích polských a slo-

Tab. 1. ARA kritéria klasifikace systémové sklerodermie

Hlavní (dostatečné jedno): • proximální sklerodermie (tuhá kůže prstů a nad metakarpofalangeálními klouby)
Vedlejší (nutná dvě, pokud není hlavní): • sklerodaktylie • jamkovité jizvy na bříškách prstů • bilaterální plicní intersticiální fibróza při bazích (RTG)

Tab. 2. Klinický obraz limitované a difúzní formy systémové sklerodermie

Limitovaná systémová sklerodermie (acrosclerosis) • Raynaudův fenomén trvající roky a desetiletí • kůže aker tužší (ruce, nohy, předloktí, bérce, hlava, krk) • pozdní výskyt plicní hypertenze (s intersticiální plicní fibrózou nebo bez ní, kožní kalcifikace, teleangiektazie, postižení GIT) • kapilaroskopie – ektazie kapilár bez výrazné redukce počtu kapilár • vyšší výskyt anticentromerových protilátek
Difúzní systémová sklerodermie • Raynaudův fenomén trvá krátce – do 1 roku • od začátku vznik tuhé kůže trupu, paží a aker • krepitace šlach, časná a výrazná intersticiální plicní fibróza, výrazné postižení GIT, popř. ledvin, srdce • kapilaroskopie – výrazné ektazie a redukce počtu, avaskulární zóny • protilátky anti Scl-70

venských.⁽¹⁷⁾ V průběhu obou forem SSc často dochází k částečnému ústupu symptomatologie, a proto původně používaný přídomek »progresivní« SSc byl pro svou nepřesnost a negativní psychický dopad z názvu choroby vypuštěn. Navíc ústup kožní indurace, vznik teleangiektazií a kalcifikací i u dSSc může po několika letech vést až ke klinické neodlišitelnosti těchto forem.⁽⁸⁾ Vznik orgánové dysfunkce u SSc je největší v prvních 3–5 letech nemoci. Renální krize se objevuje v prvních 4 letech nemoci u 80 % nemocných,⁽¹³⁾ k největšímu úbytku objemu plic dochází v prvních 2 letech choroby u nemocných s těžkou plicní fibrózou.⁽¹¹⁾ Práce sledující závažné orgánové postižení (kůže, plic, gastrointestinálního traktu, srdce, ledvin) u 953 nemocných dSSc ukázala jeho vznik u 31 % pacientů, u kterých výrazně zkracovala dobu přežívání.⁽¹²⁾ Vznik závažného postižení kteréhokoliv z 5 orgánových systémů během prvních 5 let nemoci vedl k 10letému přežívání 38 % nemocných, zatímco u pacientů bez vzniku závažného postižení v prvních 5 letech choroby bylo přežívání 80 %. Pouze u 10 % těchto nemocných se závažné orgánové postižení objevilo po 6 letech trvání nemoci, přičemž vývoj od vzniku prvního příznaku orgánového postižení až k poškození klasifikovanému jako závažné probíhal často klinicky inaparentně. Práce proto zdůraznila potřebnost pečlivého monitorování chorobného procesu, zejména v prvních letech nemoci u difúzní SSc. Klinický průběh SSc tak zahrnuje širokou škálu manifestace nemoci od rychlého rozvoje příznaků až po velmi pozvolna chronicky se vyvíjející změny, jejichž obtížná předvídatelnost vyžaduje stanovení lepších klinických a laboratorních ukazatelů míry závažnosti a prognózy choroby, které jsou předpokladem stanovení prognózy daného nemocného a načasování léčby. I když v současné době není k dispozici účinná léčba SSc, terapie zaměřené na některá orgánová postižení

(cévní, kardiopulmonální, GIT, ledvin) ovlivňují průběh nemoci, což podporují i údaje o zlepšující se prognóze ve srovnání s minulostí.^(5,12)

Termín »závažnost« onemocnění je přitom pojímán tak, že zahrnuje jednak aktivitu nemoci, tj. vratnou poruchu funkce orgánů, jednak poškození, tj. nevratnou, trvalou poruchu funkce orgánů.^(4,8,14) Stupeň závažnosti onemocnění určuje jeho prognózu, tzn. mortalitu (přežívání) a morbiditu (tj. zdravotní omezení). K zajištění standardizované porovnatelnosti studií SSc byl v roce 1999 mezinárodní skupinou vypracován index závažnosti postižení,⁽⁹⁾ který byl použit ve studii 100 švédských nemocných sledovaných po 14 let a kde vysoký index koreloval s kratším přežitím (hlavními předurčujícími faktory byl velký rozsah kožního postižení, změny EKG, postižení plic a ledvin).⁽⁵⁾ Uplatněný index závažnosti respektuje i možnost zlepšení symptomatologie SSc (zlepšení kůže, plicních a renálních funkcí). V roce 2002 byl tento index modifikován a byl doporučen k používání v podobě hodnocení 9 orgánových systémů s bodovým hodnocením 0–4 (tab. 3).⁽¹⁰⁾

Určení kritérií aktivity nemoci má zásadní význam pro prognózu nemocného, protože v časně fázi procesu složka aktivity převažuje, předchází vzniku ireverzibilních změn a její ovlivnění léčbou může zabránit vzniku orgánového poškození. Současně umožní spolehlivé klinické sledování chorobného procesu a účinku léků.⁽⁸⁾ Na druhé straně pokud onemocnění již není aktivní, jedinou možnou léčbou je pouze terapie symptomatická či transplantace a jiné léčby by mohly být nebezpečné. Velké úsilí posledních let bylo věnováno určení klinických a laboratorních kritérií aktivity nemoci, která dosud chybí. Obtížnost jejich určení spočívá v klinické různorodosti choroby, relativně vzácném výskytu, indolentním průběhu limitované SSc, chybění korelace jasného ohrazení vzplanutí nemoci ukazateli zánětu (na rozdíl např. od revmatoidní artritidy či systémového erythematodu), horší hodnotitelnosti dominantních změn cév a pojiva.^(8,19) Potřeba velkého souboru nemocných ke stanovení kritérií aktivity nemoci (tj. změn reverzibilních) vedla v roce 1995 k založení European Scleroderma Study Group (EScSG) a k multicentrické evropské studii (290 nemocných z 11 zemí a 19 center včetně našeho).⁽¹⁸⁾ Studie byla zaměřena na určení takových potenciálních ukazatelů aktivity nemoci, jejichž uplatnění by bylo možné v běžné klinické praxi různých pracovišť. Tato studie potvrdila velmi rozdílný přístup k hodnocení SSc na různých pracovištích i v jedné zemi a zdůraznila nutnost vypracování standardizovaných postupů, které by sloužily jako jednotný prostředek společného výzkumu SSc. Na základě výsledků této studie pak byla vypracována a externě ověřena kritéria aktivity SSc s maximálním indexem 10 (tab. 4).^(19,20) V návaznosti na tuto studii v roce 2002 EScSG na konsensuální konferenci se světovými experty v této problematice navrhla ověření uvedených kritérií aktivity a modifikovaných kritérií závažnosti nemoci na velkých souborech nemocných v klinické praxi. V r. 2002 byla proto založena evropská skupina tzv. EUSTAR, tj. EULAR (European League Against Rheumatism) Scleroderma Trials And Research group, zahrnující v současné době 41 center včetně našeho pracoviště, která ověřuje navržená kritéria v probíhající prospektivní studii.

Potenciální laboratorní ukazatele aktivity vyplývají z patogeneze SSc zahrnující poruchy imunologické, cévní a metabolismu kolagenu, na kterých se bezprostředně uplatňují tři typy buněk.^(2,7) V časně fázi jsou to především lymfocyty a endotelie, v pozdní fázi fibroblasty. Aktivace a poškození těchto buněk jsou zdrojem různých potenciálních laboratorních markerů aktivity nemoci. Byly zkoumány desítky těchto ukazatelů, u řady z nich byla nalezena určitá klinická korelace, dosud však jejich role nebyla jednoznačně potvrzena. Stejně jako naše studie, které ukázaly určité korelace

Tab. 3. Revidovaná kritéria hodnocení závažnosti systémové sklerodermie

Orgánový systém	Stupně závažnosti systémové sklerodermie				
	0 (normální)	1 (mírná)	2 (střední)	3 (těžká)	4 (finální)
Celkový stav:					
zhubnutí %	< 5	5–9,9	0–14,0	15–19,9	20–
Hkt	37	36,9–33	32,9–29	28,9–25	25 <
Hb	12,3	12,2–11,0	10,9–9,7	9,6–8,3	8,3 >
Periferní cirkulace	Raynaud bez léčby	Raynaud léčený vazodilatací	jamkovité jizvy prstů	vředy prstů	gangréna prstů
Kožní skóre	0	1–14	15–29	30–39	40–51
Klouby (prst/dlaň)	0–0,9 cm	1–1,9 cm	2–3,9 cm	4–4,9 cm	5– cm
Svaly	normální	proximální slabost mírná	proximální slabost střední	proximální slabost těžká	chůze s cizí podporou
GIT	normální RTG jícen, tenké střevo	RTG jícnu dist. hypoperist., abnorm. tenkého střeva	ATB pro dysmikrobii střev	malabsorpce, epizody pseudo-obstrukce	umělá výživa
Plíce:		krepitus bází			
DLCO (%)	80 <	70–79	50–69	< 50	
FVC (%)	80 <	70–79	50–69	< 50	oxygeno-terapie
RTG	0	fibróza			
TK a. pulm. v mm Hg	< 35	35–49	50–64	65 <	
Srdce:					
EKG	normální	poruchy vedení	arytmie	arytmie léčená	kardiální insuficience
ejekční frakce LK	50 <	45–49	40–44	30–40	< 30
Ledviny:					
renal. krize	neg.	+ anamnéza	+ anamnéza	+ anamnéza	+ anamnéza
kreatinin s. μmol/l	< 115	< 132	< 220	220–442	442 < nebo dialýza

DLCO = difúzní kapacita plic pro CO, FVC = objem usilovného výdechu

Podle: MEDSGER Jr., TA., et al. Assessment of disease severity and prognosis. *Clin Exp Rheumatol*, 2003, 21, p. S42–S46.

(korelace von Willebrandova faktoru s dSSc, ukazatelů metabolismu kolagenu N-terminálního propeptidu prokolagenu typu III a deoxypyridinolinu s kožním postižením a funkčním dotazníkem, poklesu hladin velkého endotelinu 1 s poklesem hodnot DLCO, korelaci sIL-2r s funkčním dotazníkem), je většina prací těchto prací zatížena nedostatkem malých čísel nemocných.^(1,3,7) Potenciální základní a speciální laboratorní ukazatele doporučené v roce 2002 ESsSG k uplatnění v klinických studiích jsou uvedeny v tab. 5.⁽⁷⁾

Tab. 4. Navrhovaná kritéria aktivity systémové sklerodermie

Kritéria	Index
mR kožní skóre >14	1,0
skleredém	0,5
změna kůže*	2,0
nekróza prstů	0,5
změna cirkulace*	0,5
arthritis	0,5
TLCO	0,5
kardiopulmonální změna *	2,0
FW > 30 mm/h	1,5
hypokomplementémie (C3 či C4)	1,0
Celkový maximální index aktivity	10,0

*mR = modifikované dle Rodhana, * hodnocení pacientem*

Podle: VALENTINI, G., et al. European Scleroderma Study Group to define disease activity criteria for systemic sclerosis. III. Assessment of the construct validity of the preliminary activity criteria. Ann Rheum Dis, 2003, 62, p. 901–903.

Tab. 5. Laboratorní parametry doporučené ke sledování

Základní: • B-lymfocyty: antinukleární autoprotilátky (anti-Scl-70, anticentromerové, popř. anti-RNA polymeráza I–III) • jiné: FW, Hb, CPK, popř. CRP
<i>U studií zaměřených na cévy, T-lymfocyty a kolagen:</i> • endotelie: vWF (popř. VCAM-1, sE-selectin), perspektivně: propeptid vWF • T-lymfocyty: sIL-2R, perspektivně: sCD30, IL-17 • fibroblasty: PIIINPP, TIMP-I, CTGF • odběry k úschově: sérum, plazma, plná krev

vWF = von Willebrandův faktor, VCAM-1 = adhezní molekula vaskulárních buněk, PIIINPP = N-terminální propeptid prokolagenu typu III

Podle: MCHUGH, NJ. Non organ based laboratory markers in systemic sclerosis. Clin Exp Rheumatol, 2003, 21 (suppl. 29), p. S32–S38.

ZÁVĚR

Systémová sklerodermie je velmi komplexní onemocnění klasifikované do dvou základních klinických forem. K orgánové dysfunkci a poškození, zejména u difúzní SSc, dochází většinou v časně fázi nemoci a vyžaduje pečlivé monitorování choroby. Zatímco jsou vypracována kritéria závažnosti nemoci na základě hodnocení 9 orgánových systémů, stále chybí spolehlivá klinická a laboratorní kritéria aktivity nemoci, která mohou přispět ke zlepšení prognózy nemoci. Kritéria aktivity vypracovaná evropskou studijní skupinou zabývající se sklerodermií na základě multicentrické evropské studie jsou ověřována v další probíhající prospektivní multicentrické studii organizované skupinou EUSTAR za použití jednotných standardizovaných přístupů.

Literatura

1. BEČVÁŘ, R., PEŠÁKOVÁ, V., STÁŇOVÁ, A., et al. *Changes of big endothelin-1 and von Willebrand factor related antigen in systemic sclerosis*. Abstract. J Rheum, 1998, 24 (suppl. 52), p. 78.
2. BEČVÁŘ, R., ŠTORK, J. *Potenciální ukazatele aktivity systémové sklerodermie*. Koagulační faktory, ukazatele poškození endotelu, vazoregulační a růstové faktory a metabolismus pojiva. Čes Revm, 2002, 10, s. 19–26.
3. BEČVÁŘ, R., ŠTORK, J., PEŠÁKOVÁ, V., et al. *Klinické korelace potenciálních ukazatelů systémové sklerodermie*. Čes Revm, 2003, 11, s. 128–137.
4. FRIES, JF., HOCHBERG, MC., MEDSGER Jr., TA., et al. *Criteria for rheumatic disease*. Arthritis Rheum, 1994, 37, p. 454–462.
5. GEIRSON, AJ., WOLLHEIM, FA., AKESSON, A. *Disease severity of 100 patients with systemic sclerosis over a period of 14 years: using a modified Medsger scale*. Ann Rheum Dis, 2001, 60, p. 1117–1122.
6. MASI, AT., RODNAN, GP., MEDSGER Jr., TA., et al. *Subcommittee for scleroderma criteria of American Rheumatism Association diagnostic and therapeutic criteria committee*. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Arthritis Rheum, 1980, 23, p. 581–590.
7. MCHUGH, NJ., DISTLER, O., GIACOMELLI, R., et al. *Non organ based laboratory markers in systemic sclerosis*. Clin Exp Rheum, 2003, 21 (suppl. 29), p. S32–S38.
8. MEDSGER Jr., TA. *Natural history of systemic sclerosis and the assessment of disease activity, severity, functional status, and psychological well-being*. Rheum Dis Clin N Amer, 2003, 29, p. 255–273.
9. MEDSGER Jr., TA., SILMAN, A., STEEN, VD., et al. *A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing*. J Rheumatol, 1999, 26, p. 2159–2167.
10. MEDSGER Jr., TA., BOMBARDIERI, S., CZIRJAK, L., et al. *Assessment of disease severity and prognosis*. Clin Exp Rheum, 2003, 21 (suppl. 29), p. S42–S46.
11. STEEN, VD., CONTE, C., OWENS, GR., et al. *Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis*. Arthritis Rheum, 1994, 37, p. 1283–1289.
12. STEEN, VD., MEDSGER Jr., TA. *Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma*. Arthritis Rheum, 2000, 43, p. 2437–2444.
13. STEEN, VD. *Systemic sclerosis: organ involvement – renal*. In CLEMENTS, PJ., FURST, DE. (Eds), *Systemic sclerosis*. 1st ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1996, p. 139–148.
14. SYMMONS, DP. *Disease assessment indices: activity, damage, and severity*. Bailliere's Clin Rheum, 1995, 9, p. 267–276.
15. ŠTORK, J. *Sklerodermie*. Praha : Galén, 1996.
16. ŠTORK, J., BEČVÁŘ, R. *Systémová sklerodermie*. Přehledný článek. Postgrad Med, 1999, 1, s. 91–95.
17. ŠTORK, J., VENCOVSKÝ, J., KAFKOVÁ, J., BEČVÁŘ, R. *Klinické korelace antinukleárních autoprotilátek u sklerodermie*. Čes Revm, 1999, 7, s. 67–71.
18. DELLA ROSSA, A., VALENTINI, G., BOMBARDIERI, S., et al. *European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis*. I. Clinical and epidemiological features of 290 patients from 19 center. Ann Rheum Dis, 2001, 60, p. 585–591.
19. VALENTINI, G., DELLA ROSSA, A., BOMBARDIERI, S., et al. *European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis*. II. Identification of disease activity variables and development of preliminary activity indexes. Ann Rheum Dis, 2001, 60, p. 592–598.
20. VALENTINI, G., BENCIVELLI, W., BOMBARDIERI, S., et al. *European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis*. III. Assessment of construct validity of the preliminary activity criteria. Ann Rheum Dis, 2003, 62, p. 901–903.

ENDOKRINNÍ HYPERTENZE



Prof. MUDr. Jiří Widimský, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
a Všeobecná fakultní nemocnice, III. interní klinika
– klinika endokrinologie a metabolismu



SOUHRN

Arteriální hypertenze (dále hypertenze/vysoký krevní tlak) je nejčastějším onemocněním kardiovaskulárního systému s prevalencí v populaci dospělých osob 25–30 %. Etiopatogeneticky rozlišujeme esenciální (primární) hypertenzi s nejasnou vyvolávající příčinou a sekundární hypertenzi, kde zvýšení TK je jen symptomem jiného primárního onemocnění s identifikovatelným mechanismem vzniku. Sekundární hypertenze je ve srovnání s esenciálním typem sice méně častá (tvoří 5 %, esenciální 95 % všech forem hypertenze), avšak představuje většinou ty nejtěžší formy s vysokým rizikem orgánových komplikací.

V naší práci jsou diskutovány některé nálezy naší pracovní skupiny z posledních několika let týkající se klinických aspektů endokrinní hypertenze.

Na základě literárních dat a našich výsledků se zdá, že endokrinní hypertenze představují poměrně častou formu sekundární hypertenze, charakterizovanou změnami cirkadiálního rytmu krevního tlaku. Kardiovaskulární (KV) a endokrinologicko-metabolické změny mohou u endokrinní hypertenze přispět ke zvýšenému výskytu orgánových komplikací a zvýšenému KV riziku.

SUMMARY

Endocrine hypertension

Arterial hypertension is the most frequent cardiovascular disease with the prevalence 25–30% in adult population. Etiopatogenetic classification of hypertension consists of primary/essential form of idiopathic origin and secondary form caused by identifiable clinical disease. Secondary forms of hypertension are compared to essential form considered to be relatively rare (5%), but are usually the most severe types of hypertension with high risk of organ complications.

In our paper we have discussed some recent findings of our group related to the clinical aspects of endocrine hypertension.

In the basis of available data it seems, that endocrine hypertension is relatively frequent form of secondary hypertension, characterized by the abnormal circadian rhythm of blood pressure. Cardiovascular as well as endocrine and metabolic changes may lead to the increased occurrence of organ complications and higher cardiovascular risk.

Arteriální hypertenze (vysoký krevní tlak) je nejčastějším onemocněním kardiovaskulárního systému s prevalencí v dospělé populaci České republiky kolem 30 %. Vysoký krevní tlak představuje současně nejčastější problematiku každodenní praxe praktických lékařů a internistů. Za arteriální hypertenzi považujeme opakovaně zvýšený krevní tlak $\leq 140/90$ mm Hg při nejméně dvou nezávislých návštěvách u lékaře.

Arteriální hypertenze je spolu s hyperlipidemií, diabetes mellitus a nikotinismem nejdůležitějším rizikovým faktorem aterosklerotického postižení cév. Mezi nejzávažnější orgánové komplikace vysokého krevního tlaku patří kromě ischemické choroby srdeční také cévní mozkové příhody, alterace renálních funkcí a akcelerace periferní aterosklerózy.

Podle příčiny dělíme vysoký krevní tlak na primární/esenciální formu s multifaktoriální etiopatogenezí (zodpovědná za 90–95 % všech forem hypertenze) a sekundární/symptomatickou formu, která vzniká v důsledku konkrétního identifikovatelného onemocnění. Sekundární hypertenze sice tvoří pouze 5–10 % všech forem hypertenze, avšak zvýšení krevního tlaku zde často bývá středního až těžkého stupně.⁽¹⁾ Včasná a správná diagnostika sekundární hypertenze může vést v mnoha případech k trvalému vyléčení. Je proto vhodné pomýšlet na ni ve všech případech středně těžké až těžké hypertenze anebo v případě klinických, laboratorních či morfologických odchylek (podrobně viz dále). S ohledem na komplexní charakter diagnostických a terapeutických přístupů a jejich četná úskalí by každý nemocný s podezřením na sekundární hypertenzi měl být odeslán k vyšetření do specializovaného centra.

Nejčastější příčiny sekundární hypertenze shrnuje tab. 1.

Sekundární hypertenze bývá nejčastěji renálního, endokrinního a iatrogenního původu.

Tab. 1. Nejčastější příčiny sekundární hypertenze

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Renální:<ul style="list-style-type: none">– renoparenchymová forma: chronické pyelonefritidy, glomerulopatie/glomerulonefritidy, tubulointericiální nefritidy, polycystóza;– renovaskulární forma: významná stenóza (nad 70 %) renální tepny způsobena aterosklerózou nebo fibromuskulární dysplazií.• Endokrinní: mineralokortikoidní hypertenze, hyperkortizolismus, feochromocytom, akromegalie, primární hyperparatyreóza.• Hypertenze vyvolaná léky/iatrogenní.• Hypertenze v těhotenství.• Hypertenze při syndromu spánkové apnoe.• Koarktace aorty.• Hypertenze na podkladě onemocnění CNS. |
|---|

ENDOKRINNÍ HYPERTENZE

Do této skupiny řadíme hyperfunkční onemocnění některých endokrinních žláz, jež vedou k nadprodukci vazopresorických substancí zvyšujících krevní tlak. V klinické praxi se nejčastěji jedná o hyperfunkci nadledvin, vztah mezi postižením dalších endokrinních orgánů a výší krevního tlaku je u dalších onemocnění (akromegalie, primární hyperparatyreóza) méně zřetelný.

Mineralokortikoidní hypertenze

U mineralokortikoidní hypertenze jde o formu vysokého krevního tlaku vznikající v důsledku zvýšené mineralokortikoidní aktivity. Rozeznáváme následující typy mineralokortikoidní hypertenze:

1. nadprodukcí aldosteronu (primární hyperaldosteronismus);
2. nadprodukcí deoxykortikosteronu;
3. syndrom zjevného nadbytku mineralokortikoidů.

Primární hyperaldosteronismus (PH) – nadprodukce aldosteronu – je nejen nejčastější formou mineralokortikoidní hypertenze, ale i celé skupiny endokrinně podmíněných hypertenzí.

Příčiny: nejčastější příčinou PH je jednostranný adenom produkující aldosteron (APA – Connův syndrom) nebo bilaterální hyperplazie nadledvin (tzv. idiopatický hyperaldosteronismus, IHA). Ostatní formy jsou vzácné (karcinom kůry nadledvin a familiární dexametazon-supresibilní hyperaldosteronismus, DSH).

Patogeneze: PH je způsoben více či méně autonomní hypersekrecí aldosteronu kůrou nadledvin, vedoucí k hypertenzi.

Klinický obraz: hypertenze je přítomná ve 100 % případů, často bývá těžkého stupně. V případě hypokaliémie se může vyskytovat únavový syndrom a neuromuskulární poruchy.

Diagnostika. Laboratorní diagnostika spočívá v nálezů hypokaliémie, zvýšené kaliurézy a metabolické alkalózy. Tyto laboratorní změny se však vyskytují pouze u 50–60 % nemocných, převážně v pokročilejších stádiích choroby.

Přesnější je hormonální stanovení, kam se řadí záchyt potlačené plazmatické reninové aktivity (PRA), zvýšení plazmatického aldosteronu, a zejména zvýšení plazmatického poměru aldosteron (ng na 100 ml)/PRA (ng · ml⁻¹ za hodinu) nad 50. Tento poměr je spolu s plazmatickou koncentrací aldosteronu nad 20 ng na 100 ml považován za nejcitlivější diagnostický marker PH.

Dynamické hormonální testy se provádějí jednak pro potvrzení základního onemocnění (test se solnou zátěží, fludrokortizonový test) a jednak k odlišení jednotlivých forem PH (posturální, captoprilový a dexametazonový test). Nejcitlivější metodou pro detekci familiární formy DSH je genetické vyšetření s průkazem chimérického genu pomocí metody polymerázové řetězové reakce (PCR).

Morfologická diagnostika: adenomy či hyperplazie bývají ve srovnání s feochromocytomy či hyperkortizolismem poměrně malé (v průměru 1,5 cm), a proto nejvýše účinnější diagnostickou metodou je počítačová tomografie (CT) nadledvin. Vyšetření nadledvin magnetickou rezonancí (MR) nemá oproti CT zřejmé výhody. Podle některých pramenů může adrenální scintigrafie nadledvin s použitím iodocholesterolu-131 pomoci v rozlišení unilaterálního adenomu od bilaterální hyperplazie. Ve sporných případech lze provést separované odběry ze suprarenálních žil s následným stanove-

ním bilaterálního poměru aldosteronu a kortizolu. Tato technika je však invazivní a s ohledem na variabilní průběh odstupek pravostranné suprenální žíly je její použití mnohdy (asi u 25–30 % nemocných) zatíženo technickými problémy.

V praxi bývá nejčastějším problémem rozlišení dvou základních forem PH – unilaterálního adenomu (APA) od bilaterální hyperplazie (IHA).

Diferenciální diagnostika: diferenciálně diagnosticky je nutné zvažovat i jiné formy mineralokortikoidně podmíněné hypertenze (viz výše), nízkoreninovou esenciální hypertenzi, sekundární hyperaldosteronismus, pseudohyperaldosteronismus (Liddleův syndrom, pseudohyperaldosteronismus – vrozená forma, amilorid-senzitivní porucha renálních tubulů s excesivní konzervací Na^+ , hypokalémií, potlačenou aktivitou reninu, nízkou koncentrací aldosteronu a těžkou hypertenzí).

Terapie. Chirurgická léčba se provádí u jednostranných procesů typu adenomů nebo při vzácnější unilaterální hyperplazii. Výkon spočívá v provedení adrenalectomie otevřenou cestou. V poslední době se stále častěji začíná používat s dobrými výsledky laparoskopická adrenalectomie. Trvalého vyléčení s normalizací krevního tlaku je dosahováno u dvou třetin všech nemocných.

Farmakoterapie se používá u oboustranné hyperplazie (IHA), DSH anebo tam, kde není možné spolehlivě diagnostikovat jednotlivé formy PH, popřípadě tehdy, je-li operace kontraindikována.

V monoterapii se podává antagonist aldosteronového účinku spironolacton v počáteční dávce 100–200 mg/den, udržovací dávka se pohybuje v rozmezí 25–75 mg/den.

Spironolacton se používá při IHA či při ostatních formách PH (kromě DSH), volíme-li konzervativní postup. V poslední době se začíná zkoušet eplerenon, látka s vyšší afinitou k mineralokortikoidním receptorům, a tedy nižším výskytem nežádoucích účinků, než má spironolacton (dyspepsie, gynekomastie, poruchy menstruace). V případě nedostatečného antihypertenzního účinku spironolactonu se používají různé kombinace (spironolacton + hydrochlorothiazid v dávce 12,5 mg, spironolacton + déle působící blokátory kalciových kanálů). V případě intolerance spironolactonu i po snížení dávky na 12,5–25 mg/den je možné vyzkoušet amilorid v dávce 10–15 mg/den.

U familiálních forem (DSH) se doporučuje dexamethason v dávce 0,2 mg/den.

Nadprodukce deoxykortikosteronu, prekursoru aldosteronu

Tato forma hypertenze je poměrně vzácná. Může se jednat o vrozený defekt steroidogeneze (deficit 11- β -hydroxylázy nebo 17- α -hydroxylázy) nebo o velmi vzácnou nadprodukcí deoxykortikosteronu (DOC) nádory. Laboratorně prokazujeme hypokalémii a snížené koncentrace reninu, aldosteronu i kortizolu. Léčba spočívá v supresní léčbě glukokortikoidy.

Syndrom zjevného nadbytku mineralokortikoidů

Syndrom zjevného nadbytku mineralokortikoidů (apparent mineralocorticoid excess syndrome) je velmi vzácné dědičné onemocnění způsobené zvýšenou vazbou kortizolu na mineralokortikoidní receptory v důsledku vrozeného defektu enzymu 11- β -hydroxysteroidní dehydrogenázy.

Hyperkortizolismus (Cushingův syndrom)

Jedná se o různé typy poruch osy hypothalamus–hypofýza–nadledviny, vedoucích k nadprodukcí kortizolu se všemi dalšími klinickými důsledky.

Patogeneticky je hypertenze způsobena zvýšenými koncentracemi kortizolu v plazmě, které vedou k retenci Na⁺ a zvýšené citlivosti cévní stěny na další vazopresorické působky. Na rozdíl od primárního hyperaldosteronismu se u hyperkortizolismu hypertenze nevyskytuje ve všech případech (pouze asi u 70 % nemocných).

Klasifikace:

1. centrální forma (Cushingova nemoc) je nejčastější a je způsobena nadprodukcí ACTH mikroadenomy hypofýzy (asi 70 % všech případů);
2. periferní forma je vyvolána nádory nadledvin (adenom, karcinom – kolem 12 % případů);
3. ektopická/paraneoplastická forma je způsobena nádory (nejčastěji ovískový bronchogenní karcinom, karcinom pankreatu, popř. thymom) se sekrecí ACTH nebo CRF (asi 12 % případů);
4. iatrogenní Cushingův syndrom je způsoben exogenním podáváním glukokortikoidů pro současné další onemocnění.

Klinický obraz nemusí být vždy plně vyjádřen. Často (v 70 %) se vyskytují následující známky: hypertenze, centrální obezita, červenofialové skvrny (striae) na stehnech, hýždích, popřípadě i na trupu, ztenčená epidermis, hematomy, akumulace tuku v oblasti trnů C₆–C₇, porucha glukózové tolerance, osteoporóza, neuropsychické změny – agitovanost, či naopak deprese.

Diagnostika. Laboratorní diagnostika: za nejsenzitivnější marker Cushingova syndromu je považováno stanovení volného kortizolu v moči, užitečné je i stanovení ACTH. V rozlišení jednotlivých forem je důležité stanovení denního rytmu plazmatického kortizolu, supresní testy (dexamethasonový test – zkrácený (1 mg), střední nebo vysoké dávky), popřípadě adiuretinový test.

Morfologická diagnostika: užitečné je provedení CT či MR nadledvin. Vyšetření hypofýzy s použitím MR je oproti CT přesnější. V indikovaných případech se provádí katetrizace petrozních sinů se separovanými odběry krve na stanovení ACTH.

V diferenciální diagnostice je někdy obtížné odlišit Cushingův syndrom od Pseudocushingova syndromu u alkoholiků. Odlišení od prosté obezity či endogenní deprese je zpravidla snadnější.

Terapie. Metodou volby je chirurgická léčba. V případě postižení hypofýzy se provádí transsfenoidální resekce, mikroadenektomie anebo transfrontální hypofyzektomie. V případě jednostranného postižení nadledvin je vhodné provést unilaterální adrenalectomii. Bilaterální adrenalectomie je vyhrazena pro endogenní hyperkortizolismus nejasné lokalizace.

Radiace hypofýzy se provádí Lexellovým gamažerem u inoperabilních adenomů nebo u recidivujících mikroadenomů.

Farmakoterapie je vyhrazena pro inoperabilní adenomy/karcinomy, má však sporný účinek, a používané léky (viz dále) mají velké množství nežádoucích účinků. Používáme tři skupiny léků:

- látky ovlivňující CNS neurotransmise (bromocriptin, cyproheptadin);
- látky ovlivňující adrenokortikální syntézu steroidů (mitotan, metyrapon, aminogluthetimid, trilostan, ketoconazol);
- kompetitivní antagonisty glukokortikoidů (RU 486).

Feochromocytom

Příčinou feochromocytomu jsou nádory chromafinní tkáně, nejčastěji lokalizované adrenálně (90 %), méně často extraadrenálně (paragangliom) (10 %) – sympatická tkáň v abdominální dutině, hrudníku, krku. U feochromocytomů platí tzv. pravidlo 10: přibližně 10 % všech nádorů je maligních, 10 % je lokalizovaných v obou nadledvinách a 10 % je součástí syndromu mnohočetné endokrinní adenomatózy (MEN II. typu).

Patogeneze: arteriální hypertenze vzniká v důsledku autonomní nadprodukce katecholaminů (KA) – nejčastěji noradrenalinu (NA), méně často adrenalinu (A) či dopaminu (DA).

Klinický obraz: bývá velmi rozmanitý, nejčastěji daný biologickými účinky KA, hypertenzí, či dokonce současnou ektopickou nadprodukcí dalších substancí – neuropeptidu Y (NPY), vazoaktivního intestinálního peptidu (VIP), serotoninu, ACTH, kalцитoninu aj.:

Arteriální hypertenze bývá nejčastěji trvalá, popř. paroxysmální, může být i normotenze! (častější u feochromocytomu v rámci MEN II).

Nemocní mívají bolesti hlavy, zblednutí, pocení, palpitace, úzkost, třes, nauzeu, poruchy vizu, flushe, bolesti břicha, obštipaci, hyperglykémii.

Hypertenzní paroxysmy mohou být vyvolány posturálními změnami, mechanickým tlakem na nádorovou tkáň, fyzickou námahou, úzkostí, intubací, diurézou či přívodem tyraminu v potravě. Některé léky však rovněž mohou vést v přítomnosti feochromocytomu k vyvolání hypertenzních paroxysmů (β-blokátory!, některá anestetika, kontrastní látky, inhibitory monoaminoxidázy – MAO).

Orgánové komplikace u nerozpoznaných forem nebývají vzácné a mohou se vyskytovat závažné komplikace typu náhlé smrti, akutního IM, CMP, disekujícího aneurysmatu aorty, srdečního selhání, hemoragické nekrózy tumorózní tkáně či ischemické enterokolitidy.

Diagnostika. Laboratorní diagnostika spočívá ve stanovení katecholaminů (noradrenalin, adrenalin a dopamin) v moči. Za nejcitlivější marker bývá považováno stanovení koncentrace metabolitů katecholaminů v moči – normetanefrinu (NMN) a metanefrinu (MN), anebo stanovení celkových metanefrinů v plazmě. Stanovení volných plazmatických katecholaminů bývá o něco méně spolehlivé, zatížené větší variabilitou.

V nejasných případech se provádějí dynamické testy (supresní clonidinový test).

Morfologická diagnostika feochromocytomu spočívá v provedení sonografie, CT či MR adledvin. U extraadrenálních forem je doporučováno provést izotopové vyšetření pomocí značeného metaiodobenzylguanidinu (MIBG). Toto vyšetření je však finančně náročné, vyžaduje vysazení celé řady interferujících léků a mnohdy nedává jednoznačnou diagnostickou odpověď.

Terapie. Chirurgická léčba spočívající v adrenalektomii je metodou volby. Operovat se má vždy po předchozí pečlivé (alespoň desetidenní) přípravě α-blokátory a později i β-blokátory. Podmínkou je pečlivé vedení anestezie a provedení výkonu zkušeným chirurgickým týmem. Operace u nedostatečně připravených nemocných či provedené méně zkušeným týmem mají vysoké procento komplikací včetně úmrtí!

Farmakoterapie se provádí v rámci předoperační přípravy (minimálně 10 dní), při kontraindikaci operace anebo u inoperabilních maligních nádorů.

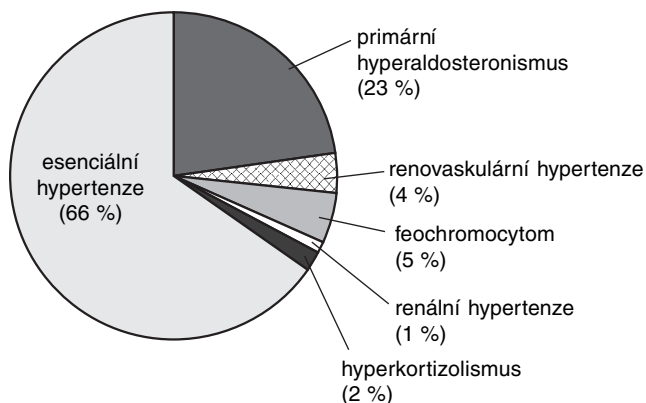
V první době přípravy vždy nejprve podáváme α-blokátory – selektivní doxazosin (v celkové dávce 4–8 mg/den rozdělené do dvou dávek), popř. prazosin (3× 0,5 mg až

3× 4 mg). Beta-blokátory (bez ISA) podáváme vždy až po předchozí α -blokadě! Blokátory kalciových kanálů (verapamil) se podle některých zpráv doporučují u normotenzních forem.

Chemoterapie a iradiace (vysoké dávky MIBG) se používá u maligních forem, mívá však mizivý účinek a je zatížena množstvím nežádoucích účinků.

VLASTNÍ VÝSLEDKY

V naší práci jsme se zabývali otázkou prevalence jednotlivých forem endokrinní hypertenze v populaci nemocných se středně těžkou až těžkou hypertenzí, hospitalizovaných na III. interní klinice I. LF UK. Podrobné výsledky jsou sumarizovány na obr. 1.



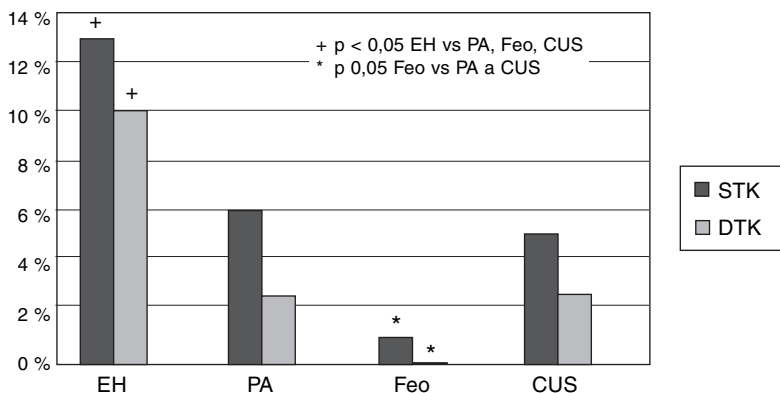
Obr. 1. Prevalence různých forem sekundární hypertenze

Zdá se, že primární hyperaldosteronismus představuje nejčastější formu endokrinní hypertenze a jednu z nejčastějších forem sekundární hypertenze. Prevalenci různých typů renální hypertenze je obtížné v našem souboru posoudit s ohledem na absenci nefrologického zaměření naší kliniky.

V našem dalším projektu jsme se zabývali 24hodinovým monitorováním krevního tlaku u nemocných s esenciální hypertenzí a u různých forem endokrinní hypertenze. Pacienti s primárním hyperaldosteronismem vykazovali nejvyšší hodnoty krevního tlaku ve srovnání s dalšími zkoumanými skupinami (esenciální hypertenze, feochromocytom, Cushingův syndrom). Nejvýraznější rozdíly byly zaznamenány mezi skupinou esenciální hypertenze a všemi dalšími skupinami v relativním nočním poklesu TK jako ukazateli diurnálního rytmu TK. Všichni pacienti s endokrinními typy hypertenzí měli ve srovnání s esenciální hypertenzí signifikantně nižší pokles nočního TK, což bylo nejmarkantnější u feochromocytomu.⁽³⁾

Obr. 2 ukazuje relativní (vyjádřeno v procentech) noční pokles TK u esenciální a endokrinní hypertenze.

Specifická léčba (adrenalektomie) vedla nejen k normalizaci TK, ale i k restauraci normálního cirkadiálního rytmu TK. Naše výzkumy se dále týkaly problematiky po-



Zelinka, T., Widimský, J., et al., J Hum Hypertens, 2004

Obr. 2. Relativní noční pokles TK (vyjádřeno v procentech) u esenciální a endokrinní hypertenze

ruch glukózové tolerance a inzulinorezistence u PH. Neprokázali jsme, že by PH měl patřit mezi specifické formy diabetes mellitus,⁽⁴⁾ což se běžně uvádí. Nalezli jsme však u PH inzulinovou rezistenci, která po adrenalectomii zase mizí.⁽⁵⁾

Zdá se tedy, že endokrinní hypertenze představují poměrně častou formu sekundární hypertenze, charakterizovanou změnami cirkadiálního rytmu krevního tlaku. Kardiovaskulární (KV) a endokrinologicko-metabolické změny mohou u endokrinní hypertenze přispět ke zvýšenému výskytu orgánových komplikací a zvýšenému KV riziku.

Literatura

1. WIDIMSKÝ Jr., J. *Sekundární hypertenze*. Praha : Triton, 2003, s. 1–151.
2. ŠTRAUCH, B., ZELINKA, T., WIDIMSKÝ Jr., J., et al. *Prevalence of primary hyperaldosteronism in middle Europe region*. J Human Hypertension, 2003, 17, p. 349–352.
3. ZELINKA, T., ŠTRAUCH, B., PECEN, L., WIDIMSKÝ JR., J. *Diurnal blood pressure variation in pheochromocytoma, primary aldosteronism and Cushing's syndrome*. J Human Hypertension, 2004, 18, p. 107–111.
4. ŠTRAUCH, B., WIDIMSKÝ Jr., J., ŠINDELKA, G., ŠKRHA, J. *Does the treatment of primary hyperaldosteronism influence glucose tolerance?* Physiol Res, 2003, 52, p. 503–506.
5. ŠINDELKA, G., WIDIMSKÝ, J., HAAS, T., et al. *Insulin action in primary hyperaldosteronism before and after surgical or pharmacological treatment*. Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes, 2000, 108, p. 21–25.



ODBORNÉ BIOGRAFIE

DOCENTI

Doc. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc., 1. LF UK a Onkologické oddělení FTN s poliklinikou v Praze.

Habilitační řízení pro obor onkologie. Obhajoba habilitační práce s názvem »Možnosti včasného zachytu rakoviny prsu«. Habilitační přednáška s názvem »Možnosti včasného zachytu rakoviny prsu«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 30. 3. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Systém HLA a některé nádory« obhájila v roce 1985 a doktorskou disertační práci s názvem »Nádory varlat« obhájila v roce 1990 na 1. LF UK.

V roce 1988 byla na 1. LF UK jmenována docentkou pro obor onkologie.

Docentka Abrahámová se věnuje výzkumné činnosti systematicky od poloviny 70. let 20. století. Jejím dominantním zájmem je problematika terminálních testikulárních nádorů. Od roku 1995 je předsedkyní Společnosti pro komplexní onkologickou péči.

Doc. MUDr. Alice Baxová, CSc., Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze.

Habilitační řízení pro obor lékařská genetika. Obhajoba habilitační práce s názvem »Klinicko-genetický přístup ku geneticky podmíneným vývinovým vadám skeletu«. Habilitační přednáška s názvem »Skeletálne dysplázie z pohľadu klinického genetika«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 23. 11. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Klinicko-genetický přístup ku skeletálnym dyspláziám« obhájila v roce 2001 na 1. LF UK.

Vědecko-výzkumná činnost docentky Baxové je zaměřena především na problematiku klinické, radiodiagnostické a molekulární diagnostiky skeletálních dysplazií.

Doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D., Ústav hematologie a krevní transfúze v Praze. Habilitační řízení pro obor vnitřní nemoci. Obhajoba habilitační práce s názvem »Vybrané aspekty intenzivní hematologicko-onkologické léčby: některé problémy spojené s chemoterapií a transplantacemi kmenových buněk krvetvorby«. Habilitační přednáška s názvem »Transplantace kmenových buněk krvetvorby – vybrané komplikace a možnosti ovlivnění jejich výskytu«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 27. 4. 2004.

Doktorskou disertační práci s názvem »Možnosti ovlivnění výskytu febrilních epizod a délky hospitalizace u neutropenických nemocných« obhájil v roce 2003 na Masarykově univerzitě v Brně. Ve své vědecko-výzkumné práci se zaměřil na problematiku změn hemostázy v souvislosti s maligními chorobami, jejich terapií a vyvolanými komplikacemi, na problematiku hematopoetických faktorů u nemocných před transplantací kmenových buněk krvetvorby a po ní a na intenzivní péči v hematonekologii.

Doc. MUDr. Renata Cífková, CSc., FESC, přednostka Pracoviště preventivní kardiologie IKEM v Praze.

Habilitační řízení pro obor vnitřní nemoci. Obhajoba habilitační práce s názvem »Rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění v české populaci«. Habilitační přednáška s názvem »Dlouhodobé trendy základních rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění v české populaci«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 27. 4. 2004.

Kandidátskou disertační práci na téma »Možnosti ovlivnění srdeční a cévní hypertrofie u hypertenze« obhájila v roce 1986 v IKEM v Praze. Hlavními oblastmi vědec-

kého zájmu docentky Cífkové jsou arteriální hypertenze (její epidemiologie, orgánové postižení, klinické studie) a dále epidemiologie a prevence kardiovaskulárních nemocí obecně. V uvedených oblastech je přední odbornicí nejen v ČR, ale i v celosvětovém měřítku. Jako jedna z mála českých odborníků pronikla do nejvyšších řídicích struktur European Society of Hypertension, kde se stala vědeckou sekretářkou výboru ESC.

Doc. MUDr. Olga Dlouhá, CSc., přednostka Foniatrické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze.

Habilitační řízení pro obor otorinolaryngologie. Obhajoba habilitační práce s názvem »Vývojová dysfázie – porucha zpracování řečového signálu«. Habilitační přednáška s názvem »Vývojová dysfázie – porucha zpracování řečového signálu«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 24. 2. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Diagnostický přínos vyšetření sluchových evokovaných potenciálů u vývojových poruch řeči« obhájila v oboru ORL na 1. LF UK v roce 2000. Zabývá se problematikou, která úzce souvisí s neurofyziologií, výzkumem evokovaných sluchových potenciálů korových a kmenových, nejdříve u pacientů s afázií a později u dětí s vývojovými poruchami řeči.

Doc. MUDr. Martin Haluzík, CSc., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze.

Habilitační řízení pro obor vnitřní nemoci. Obhajoba habilitační práce s názvem »Význam tukové tkáně a jejích endokrinních produktů při rozvoji metabolických změn u malnutrice, obezity a inzulinové rezistence«. Habilitační přednáška s názvem »The role of adipose tissue and its endocrine products in the development of metabolic changes in malnutrition, obesity and insulin resistance«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 25. 5. 2004.

Kandidátskou disertační práci na téma »Modulační vliv scavengeru volných kyslíkových radikálů methylenové modři na endokrinní systém« obhájil v roce 1997 na 1. LF UK. Docent Haluzík se účastnil vědecko-výzkumné práce od roku 1992, kdy jako student medicíny začal pracovat v laboratoři profesora Schreibera. Je autorem velmi instruktivní a přehledné monografie »Poruchy výživy a leptin«, kde použil řadu výsledků vlastních výzkumů. Měla mimořádně velký čtenářský ohlas. O mezinárodním uznání docenta Haluzíka svědčí jeho kapitola v prominentní monografii o diabetes mellitus, publikované v USA.

Doc. MUDr. Michal Holub, Ph.D., přednosta III. kliniky infekčních a tropických nemocí 1. LF UK a FN Na Bulovce s poliklinikou v Praze.

Habilitační řízení pro obor infekční nemoci. Obhajoba habilitační práce s názvem »Bakteriální seps: imunitní odpověď a některé možnosti její modulace«. Habilitační přednáška s názvem »Role imunitní odpovědi v patogenezi bakteriální seps«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 26. 10. 2004.

Doktorskou disertační práci na téma »Současné experimentální a klinické pohledy na některé aspekty dysregulace imunitní odpovědi u seps« obhájil na 1. LF UK v roce 2003.

Docent Holub svůj odborný růst posílil dvouletým pobytem v Laboratoři experimentální endokrinologie a imunologie Wadsworth Center v USA. Svou klinickou zkušenost uplatnil při studiu imunopatogeneze seps. Díky svým experimentálním a klinickým zkušenostem dokonale propojuje experimentální práci s klinickými studiemi.

Doc. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D., Ústav lékařské biochemie 1. LF UK v Praze. Habilitační řízení pro obor lékařská chemie a biochemie. Obhajoba habilitační práce s názvem »Produkty pokročilé glykace a oxidace v patobiochemii vybraných onemocnění«. Habilitační přednáška s názvem »Produkty pokročilé glykace a oxidace«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 23. 11. 2004.

Doktorskou disertační práci s názvem »Produkty pokročilé glykace a produkty pokročilé oxidace proteinů a jejich klinický význam« obhájila v roce 2002.

Vědecká činnost docentky Kalousové je od počátku zaměřena na problematiku oxidačního stresu a antioxidační ochrany organismu, zejména při onemocnění ledvin a dalších metabolických poruchách. Zavedla metodiky na stanovení parametrů modifikace proteinů a sacharidů oxidačním a karbonylovým stresem.

Doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc., Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN v Praze.

Habilitační řízení pro obor lékařská genetika. Obhajoba habilitační práce s názvem »Genetické varianty cystathionin β -syntázy jako příčina lidských onemocnění«. Habilitační přednáška s názvem »Genetické varianty cystathionin β -syntázy jako příčina lidských onemocnění«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 14. 12. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Úloha cystathionin β -syntázy v patogenezi lidských onemocnění« obhájil na 1. LF UK v roce 1995.

Docent Kožich se výzkumně zaměřil na studium struktury organizace genu pro cystathionin β -syntázu. Přínosem jeho studií je nejen popis a objev variant tohoto genu, ale též studie jeho exprese a objasnění biochemických a funkčních následků mutací a úlohy polymorfismu CBS v patogenezi komplexních kardiovaskulárních chorob.

Doc. MUDr. Ivo Paclt, CSc., zástupce přednosty pro vědu a výzkum, Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN v Praze.

Habilitační řízení pro obor psychiatrie. Obhajoba habilitační práce s názvem »Vývojové a biochemické aspekty hyperkinetické poruchy«. Habilitační přednáška s názvem »Vývojové a biochemické aspekty hyperkinetické poruchy«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 27. 4. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Biologické základy hyperkinetické poruchy v dětském a dorostovém věku« obhájil v roce 2001 na 1. LF UK.

Docent Paclt se dlouhodobě zabývá dětskou psychiatrií, problematikou hyperkinetického syndromu s poruchou pozornosti u dětí a dospělých.

Doc. RNDr. Pavla Poučková, CSc., vedoucí radiobiologického oddělení Ústavu biofyziky a informatiky 1. LF UK v Praze.

Habilitační řízení pro obor lékařská biofyzika. Obhajoba habilitační práce s názvem »Fotodynamická terapie maligních nádorů a protinádorový účinek ribonukleáz v experimentu«. Habilitační přednáška s názvem »Fotodynamická terapie maligních nádorů v experimentu«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 21. 9. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Příspěvek k použití meso-tetra/para-sulfo-fenyl/-porfinu v experimentální fotodynamické terapii nádorů« obhájila v roce 1990 na Vojenské lékařské akademii JEP v Hradci Králové. Ve vědecko-výzkumné práci se věnuje aplikaci fotodynamické terapie a studiu nových fotosenzitizérů, protinádorové účinnosti ribonukleáz a komplexů ribonukleáz s polymery u experimentálních biomodelů, zvláště u imunodeficientních zvířat s xenotransplantovanými lidskými nádory.

Doc. MUDr. Ivana Štětkařová, CSc., Neurologické oddělení Nemocnice Na Homolce v Praze.

Habilitační řízení pro obor neurologie. Obhajoba habilitační práce s názvem »Mícha a její funkce v klinické neurofyzilogii«. Habilitační přednáška s názvem »Elektrofyzilogické nálezy u centrálních míšních lézí«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 21. 9. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Využití somatosenzorických evokovaných potenciálů v průmyslové neurologii a neurotoxikologii« obhájila docentka Štětkařová na 1. LF UK v roce 1993. Ve své vědecko-výzkumné práci se věnuje problematice neurofyzilogických metod a jejich využití ve výzkumu funkce míšních funkcí a diagnostice míšních funkcí.

Doc. MUDr. Marek Trněný, CSc., I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze.

Habilitační řízení pro obor lékařská chemie a biochemie. Obhajoba habilitační práce s názvem »Nové postupy v léčbě a diagnostice maligních lymfoproliferací«. Habilitační přednáška s názvem »Nové postupy v léčbě a diagnostice maligních lymfoproliferací«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 25. 5. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Faktory ovlivňující přihojení krvetvorných buněk po vysokodávkované terapii s následným záchranným podáním periferních krvetvorných buněk« obhájil na 1. LF UK v roce 2000. Docent Trněný je předním českým hematologem a mezinárodně uznávaným odborníkem v oblasti moderní diagnostiky a léčby lymfoproliferativních stavů. Je předním reprezentantem a pokračovatelem tradice I. interní kliniky 1. LF UK a VFN zaměřené na problematiku maligních lymfomů, zejména NHL. Je spoluzakladatelem programu transplantace krvetvorných buněk (CST) na I. interní klinice, ale byl také jedním ze zakladatelů Kooperativní lymfomové skupiny ČR v roce 1998.

Doc. MUDr. Petr Urbánek, CSc., IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie 1. LF UK a VFN v Praze.

Habilitační řízení pro obor vnitřní nemoci. Obhajoba habilitační práce s názvem »Infekce virem hepatitidy C«. Habilitační přednáška s názvem »Virová hepatitida C: 15 let a další perspektiva«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 25. 5. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Diagnostika a terapie chronické hepatitidy C« obhájil v roce 2002 na 1. LF UK. Docent Urbánek se od začátku své odborné činnosti systematicky věnuje problematice virových hepatitid, zejména chronické virové hepatitidě C, která představuje celosvětově významný, odborný i sociálně-ekonomický problém. Docent Urbánek je v současné době předním odborníkem v této oblasti. Je vedoucím pracovní skupiny pro virové hepatitidy při České hepatologické společnosti a dispensarizuje největší skupinu nemocných chronickou hepatidou C v Česku.

Doc. MUDr. Libor Vítek, Ph.D., Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, a IV. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze.

Habilitační řízení pro obor lékařská chemie a biochemie. Obhajoba habilitační práce s názvem »Metabolismus bilirubinu ve střevě«. Habilitační přednáška s názvem »Metabolismus bilirubinu ve střevě«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 25. 5. 2004.

V roce 2001 obhájil na 1. LF UK doktorskou disertační práci s názvem »Nekonjugované hyperbilirubinémie«. Výzkum docenta Vítka je zaměřen na problematiku žlučových barviv, zejména střevního metabolismu těchto látek z hlediska biochemického, biologického a klinického. Obohatil tuto oblast vědění o prioritní poznatky, uznané ve světě. Jeho výsledky jsou významné pro zavedení nových terapeutických poznatků.

Doc. MUDr. Martin Vokurka, CSc., Ústav patologické fyziologie 1. LF UK v Praze. Habilitační řízení pro obor patologická fyziologie. Obhajoba habilitační práce s názvem »Molekulárně biologické přístupy k studiu etiopatogeneze onemocnění«. Habilitační přednáška s názvem »Úloha hepcidinu v regulaci kinetiky železa v organismu«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 14. 12. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Porfyrity v očních žlázách potkana – model pro studium porfyrií« obhájil na 1. LF UK v roce 1997. Vědecko-výzkumná činnost docenta Vokurky je od počátku zaměřena na problematiku porfyrů u experimentálních modelů, působení xenobiotik na metabolismus hemu a na ovlivnění a studium exprese genů na proteiny ovlivňující a regulující metabolismus železa. Studuje též procesy apoptózy a způsoby detekce v biologických materiálech.

PROFESOŘI

Prof. MUDr. Martin Fried, CSc., vedoucí chirurg Centra pro léčbu obezity Iscare, a. s., v Praze, a Chirurgická klinika 1. LF UK a FTN s poliklinikou v Praze. Jmenovací řízení pro obor chirurgie. Inaugurační přednáška s názvem »Úloha robotiky v laparoskopické chirurgii«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 26. 10. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Možnosti chirurgické léčby morbidní obezity« obhájil na 1. LF UK v roce 1994. Docentem pro obor chirurgie byl jmenován na 1. LF UK v roce 1997 na základě obhajoby habilitační práce »Přínos laparoskopie k léčbě morbidní obezity«. Profesor Martin Fried je u nás i ve světě uznávaným chirurgem s přínosem především v oboru bariatrické chirurgie (chirurgie obezity), i v zatím experimentálním oboru telechirurgie (chirurgie na dálku, robotizace). Je propagátorem miniinvazivních chirurgických metod u nás a školí v tomto oboru i chirurgy ze zahraničí. Působí aktivně v zahraničních odborných společnostech. Byl viceprezidentem a posléze prezidentem Světové společnosti bariatrické chirurgie (IFSO).

Prof. MUDr. Jana Hercogová, CSc., přednostka Dermatovenerologické kliniky 2. LF UK a FN Na Bulovce s poliklinikou v Praze.

Jmenovací řízení pro obor dermatovenerologie. Inaugurační přednáška s názvem »Borrelia lymensis cutis«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 27. 1. 2004.

Převážná část praxe profesorky Jany Hercogové proběhla na Dermatovenerologické klinice 2. LF UK ve FN Na Bulovce s poliklinikou a ve FN Motol. Kandidátskou disertační práci s názvem »Kožní formy lymeské borreliózy« obhájila v roce 1990 na Fakultě všeobecného lékařství v Praze, docentkou pro obor dermatovenerologie se stala v roce 1994 na základě obhajoby habilitační práce pod názvem »Dlouhodobé sledování pacientů s kožními formami lymeské borreliózy« na 2. LF UK. Profesorka Hercogová je členkou mnoha významných tuzemských i zahraničních odborných společností

a vědeckých rad. Ve vědecko-výzkumné práci se věnuje především problematice lymeské borreliózy, i když její zájem je daleko širší a zahrnuje problematiku autoimunitních chorob a léčby různých dermatóz včetně laserové terapie.

Prof. MUDr. Jaromír Hradec, CSc., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze.

Jmenovací řízení pro obor vnitřní nemoci. Inaugurační přednáška s názvem »Diastolické srdeční selhání«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 24. 2. 2004.

Profesor Jaromír Hradec zahájil vědeckou činnost již v době, kdy pracoval na Ústavu lékařské chemie 1. LF UK. Kandidátskou disertační práci s názvem »Melanocyty stimulující hormony – klinická a laboratorní studie« obhájil na 1. LF UK v roce 1977. Docentem pro obor vnitřní nemoci byl jmenován na 1. LF UK v roce 1987. Habilitační práci s názvem »Kardiovaskulární systém a růstový hormon« obhájil v roce 2003 na 1. LF UK. Profesor Hradec je naším předním kardiologem. Je předsedou České kardiologické společnosti. Jeho vysoké odborné kvality byly v roce 2000 potvrzeny tím, že byl ve velmi tvrdé konkurenci zvolen do výboru Evropské kardiologické společnosti. Jeho přínos pro evropskou a světovou kardiologii byl v roce 2000 oceněn hodností »Fellow of European Society of Cardiology«. Je desátým českým kardiologem, který tento titul získal.

Prof. MUDr. Andrej Jenča, CSc., děkan LF Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košicích a přednosta Kliniky stomatology a maxilofaciální chirurgie LF UPJŠ a Fakultní nemocnice Louise Pasteura v Košicích.

Jmenovací řízení pro obor stomatology. Inaugurační přednáška s názvem »Súčasný stav a perspektivy orofaciálnej onkológie«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 24. 2. 2004.

Od roku 1999 je přednostou Kliniky stomatology a maxilofaciální chirurgie LF UPJŠ v Košicích a od roku 2003 je děkanem Lékařské fakulty UPJŠ Košice. Kandidátskou disertační práci na téma »Onkologická prevence a onkologická depistáž u včasné diagnostiky karcinomů orofaciální oblasti« obhájil v roce 1988. Docentem pro obor stomatology byl jmenován na 1. LF UK v roce 2003 na základě obhajoby habilitační práce s názvem »Problematika karcinómu jazyka«. Profesor Andrej Jenča se zaměřuje hlavně na oblast orální a maxilofaciální chirurgie. Kvalita i kvantita jeho publikací stejně jako počet citací svědčí o tom, že profesor Andrej Jenča je vědeckým pracovníkem respektovaným domácí i zahraniční odbornou veřejností.

Prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc., přednosta Fyziologického ústavu 1. LF UK v Praze.

Jmenovací řízení pro obor lékařská fyziologie. Inaugurační přednáška s názvem »Disperze intervalu QT. Mýtus, nebo diagnostický ukazatel?« Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 22. 6. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Simulace dynamiky levé komory srdeční« obhájil v roce 1982 ve Fyziologickém ústavu ČSAV a titul kandidáta lékařských věd mu byl udělen v roce 1984. Docentem pro obor fyziologie a patologická fyziologie byl jmenován v roce 1996 na základě obhajoby habilitační práce »Model mechanické činnosti srdeční«. Profesor Kittnar je pedagogicky činný při výuce fyziologie na lékařských fakultách nepřetržitě od roku 1982. Specializuje se na problematiku počítačového modelování fyziologických dějů a od roku 1990 je na 1. lékařské fakultě

odpovědný za výuku obecných principů fyziologických regulací. Podílel se na různých formách výuky fyziologie na dvou lékařských fakultách Univerzity Karlovy v Praze. Vědecká práce profesora Otomara Kittnara je zaměřena na počítačové mapování elektrických a elektromechanických funkcí myokardu.

Prof. RNDr. Hana Kovářů, DrSc., Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN v Praze. Jmenovací řízení pro obor lékařská chemie a biochemie. Inaugurační přednáška s názvem »Aktivační a regulační mechanismy mozkových buněk a lymfocytů«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 23. 11. 2004.

Kandidátskou disertační práci s názvem »Ovlivnění metabolické aktivity buněk mozkové kůry *in vitro*« obhájila na Fyziologickém ústavu ČSAV v roce 1976, doktorskou disertační práci »Aktivační a regulační mechanismy lymfocytů a mozkových buněk« obhájila v Ústavu živočišné fyziologie a genetiky Mikrobiologického ústavu ČSAV v Brně v roce 1992. Docentkou pro obor lékařská chemie a biochemie byla jmenována na 1. LF UK na základě obhajoby habilitační práce »Modulace aktivačních mechanismů buněk imunitního systému a mozku«. Profesorka Kovářů dosáhla významných mezinárodních úspěchů ve výzkumu metabolické aktivity buněk mozkové kůry, aktivačních a regulačních mechanismů lymfocytů a mozkových buněk a modulace aktivačních mechanismů buněk imunitního systému a mozku.

Prof. MUDr. Aleš Linhart, DrSc., vedoucí Echokardiografické laboratoře a zástupce přednosta kliniky pro vědu a výzkum, II. interní klinika – klinika kardiologie a angiologie 1. LF UK a VFN v Praze.

Jmenovací řízení pro obor vnitřní nemoci. Inaugurační přednáška s názvem »Diagnostické a terapeutické aspekty hypertrofie levé komory«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 27. 1. 2004.

V minulosti dlouhodobě působil jako odborný lékař Centra preventivní kardiovaskulární medicíny pářížské nemocnice Broussais a kromě atestací z vnitřního lékařství a kardiologie absolvoval i dvouleté studium Diplomu echokardiografie na Univerzitě Pierre et Marie Currie v Paříži. Kandidátskou disertační práci s názvem »Některé metabolické a kardiovaskulární charakteristiky normotenzních mužů s pozitivní rodinnou anamnézou arteriální hypertenze« obhájil v roce 1995. Doktorskou disertační práci s názvem »Ultrazvukové hodnocení strukturálních změn kardiovaskulárního aparátu« obhájil na 1. LF UK v roce 2001 a v témž roce byl jmenován na základě obhajoby habilitační práce pod názvem »Strukturální změny levé komory srdeční a velkých tepen v odpovědi na fyziologické a patologické podněty« docentem pro obor vnitřní nemoci. Profesor Linhart je členem řady odborných společností, autorem mnoha vědeckých publikací a abstrakt. V klinické oblasti se věnuje především diagnostickým ultrazvukovým metodám v kardiologii a angiologii. Ve své vědecké práci se zaměřil především na využití ultrazvukových technik v diagnostice kardiovaskulárních onemocnění a na výzkum rizikových faktorů aterosklerózy.

Prof. MUDr. Miroslav Merta, CSc., Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN v Praze. Jmenovací řízení pro obor vnitřní nemoci. Inaugurační přednáška s názvem »Klinický obraz a patogenese u polycystické choroby ledvin autosomálně dominantního typu«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 26. 10. 2004.

Profesor Merta byl zapojen do pedagogické činnosti na Fakultě všeobecného lékařství a později na 1. LF od roku 1987. Do vědecko-výzkumné činnosti byl zapojen od

nástupu do IKEM, kde absolvoval nejprve studijní pobyt a poté zde působil jako aspirant na III. interní výzkumné základně s nefrologickým zaměřením. Kandidátskou disertační práci s názvem »Cystické choroby ledvin« obhájil v roce 1988 v Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze. Habilitační práci nazvanou »Polycystická choroba ledvin« obhájil v roce 1997 na 1. LF UK a jmenován docentem pro obor vnitřní nemoci byl v roce 1998.

Zaměřil se na polycystickou chorobu ledvin a dědičné choroby ledvin, na patogenetiku renálního postižení u mnohočetného myelomu a amyloidózy ledvin a dále na komplikace dialyzační léčby včetně peritoneální dialýzy.

Prof. MUDr. František Perlík, DrSc., přednosta Farmakologického ústavu 1. LF UK v Praze.

Jmenovací řízení pro obor lékařská farmakologie. Inaugurační přednáška s názvem »Přínos farmakologie k individualizaci farmakoterapie«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 30. 3. 2004.

Od roku 1985 působí na Farmakologickém ústavu 1. LF UK a od roku 2002 je jeho přednostou. Kandidátskou disertační práci s názvem »Adjuvantní nemoc krys jako farmakologický model« obhájil na Farmaceutické fakultě v roce 1972. Docentem pro obor vnitřní nemoci byl jmenován v roce 1988. Doktorskou disertační práci s názvem »Klinické využití koncentrace léčiv« obhájil v roce 2001 na UK. Habilitační práci s názvem »Klinické využití určování koncentrace léčiv« obhájil v roce 2002 na 1. LF UK v oboru lékařská farmakologie. Profesor František Perlík dosáhl významného uznání ve světě lékařské vědy u nás i v zahraničí. Jako autor některých priorit významných pro medicínu se zasloužil především o moderní predikci a individualizaci dávkování léčiv v rámci terapeutického monitorování. Vědecký zájem profesora Perlíka se rozšířil na genetický polymorfismus ve farmakokinetice a použití modelových látek jako bioindikátorů při hodnocení funkčního stavu eliminačních orgánů. Stal se členem Komise Národní antibiotické politiky.

Prof. PhDr. Milada Říhová, CSc., přednostka Ústavu dějin lékařství a cizích jazyků 1. LF UK v Praze.

Jmenovací řízení pro obor dějiny lékařství. Inaugurační přednáška s názvem »Es gibt keine Zukunft ohne Vergangenheit«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 16. 12. 2003.

Od roku 1990 byla přednostkou Ústavu cizích jazyků 1. LF UK a od roku 1998 přednostkou sloučeného Ústavu dějin lékařství a cizích jazyků 1. LF UK.

V roce 1971 ukončila promocí studium na Filozofické fakultě UK v Praze (obor latina, francouzština), v roce 1973 složila na téže fakultě rigorózní zkoušku – obor antická literatura a historie. O dva roky později ukončila státní závěrečnou zkoušku studium staré řečtiny na FF UK. V roce 1993 se stala kandidátkou věd pro obor teorie literatury a dějiny konkrétních národních literatur – literatura latinská a starořecká. V roce 1998 se stala docentkou pro obor dějiny lékařství a lékařská deontologie a v roce 2004 získala titul profesorky pro obor dějiny lékařství. Ve své práci se zaměřila na dějiny pražských lékařských fakult, na středověkou lékařskou literaturu okruhu pražské předhusitské univerzity a na lékařskou terminologii z komparativního pohledu.

Prof. MUDr. Jiří Štork, CSc., přednosta Dermatovenerologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze.

Jmenovací řízení pro obor dermatovenerologie. Inaugurační přednáška s názvem »Systémová sklerodermie – klasifikace a závažnost onemocnění«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 27. 1. 2004.

Od začátku svého působení v oboru působil na Dermatovenerologické klinice 1. LF UK a VFN, s výjimkou dlouhodobého pobytu v Itálii, kde získal diplom specialisty v oboru dermatovenerologie. Kandidátskou disertační práci s názvem »Změny humorální a buněčné imunity u systémové sklerodermie« obhájil v roce 1993 na 1. LF UK a docentem pro obor dermatovenerologie byl jmenován na 1. LF UK v roce 1998 na základě obhajoby habilitační práce s názvem »Sklerodermie«. Od roku 1989 se věnuje především výzkumu problematiky sklerodermie a onemocnění pojiva, při němž spolupracuje s Revmatologickým ústavem v Praze a s Evropskou skupinou studia sklerodermie. Je členem řady odborných společností doma i v zahraničí, členem oborové komise IGA MZ ČR, pracuje jako vedoucí redaktor časopisu ČLS JEP »Česko-slovenská dermatologie«.

Prof. MUDr. Jiří Widimský, CSc., vedoucí Centra pro výzkum, diagnostiku a léčbu hypertenze, lůžkového oddělení a Laboratoře pro hypertenzi III. interní kliniky – kliniky endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze.

Jmenovací řízení pro obor vnitřní nemoci. Inaugurační přednáška s názvem »Endokrinní hypertenze«. Zasedání Vědecké rady 1. LF UK dne 30. 3. 2004.

Profesor Widimský patří mezi přední české odborníky v oblasti patogeneze a terapie arteriální hypertenze. V roce 1993 obhájil na 1. LF UK kandidátskou disertační práci s názvem »Atriální natriuretický faktor a jeho kinetika a potenciální úloha u různých experimentálních a klinických stavů«. V roce 1997 byl na 1. LF UK jmenován docentem pro obor vnitřní nemoci na základě obhajoby habilitační práce »Vybrané hormonální půdovky v regulaci krevního tlaku«. V problematice sekundárních hypertenzí dosáhl mezinárodního ohlasu. O jeho uznání svědčí zvolení do výborů odborných společností kardiologické, hypertenziologické a internistické. K odbornému a vědeckému růstu profesora Widimského výrazným způsobem přispěl i dlouhodobý studijní pobyt na předním světovém pracovišti Clinical Research Institute of Montreal.