

Krátké sdělení

Působení infračerveného laserového záření na osteomyelitický kmen
Staphylococcus aureus
Egon Procházka

133

Ze života fakulty

Zpráva z 394. plenárního zasedání Fyziologické sekce České lékařské společnosti
J. E. Purkyně v Hradci Králové a pobočky Československé biologické společnosti
v Hradci Králové dne 4. března 1998

Vyšetření zdravotního stavu osob ve svářečských provozech
*Jaroslav Tejral, Vladimír Srb, Jindra Šmejkalová,
Zdeněk Fiala, Petr Bednarčík*

137

Biologické monitorování chemické expozice
(polycyklické aromatické uhlovodíky)
Zdeněk Fiala

139



LÉKAŘSKÉ ZPRÁVY

Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové

Obsah:

Vyžádáno redakcí

Pokroky molekulární biologie v roce 1997
Miroslav Červinka

97

Akutní pankreatitida - poznámky k etiologii a klasifikaci
Milan Kaška

105

Současné možnosti využití laseru v otorinolaryngologii
I. část: Vliv laserové energie na tkáň, typy laserů
Viktor Chrobok, Jan Vokurka

111

Současné možnosti využití laseru v otorinolaryngologii
II. část: Vlastní využití laseru v chirurgii hlavy a krku
Viktor Chrobok, Jan Vokurka

117

Kasuistika

Tři případy plicní granulomatózy z Langerhansových buněk
Pavel Rožánek, Vladimír Molnár, Milan Rešl

127

VYŽÁDÁNO REDAKCÍ

POKROKY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE V ROCE 1997

Miroslav Červinka

Katedra biologie LF UK v Hradci Králové;
(vedoucí: doc. MUDr. RNDr. M. Červinka, CSc.)

Summary

Achievements of Molecular Biology in 1997.

The article summarises the most important achievements of molecular biology in the year 1997. On the first place it is the cloning of sheep Dolly in Edinburgh. Next topics are: discoveries connected to prion diseases, sequencing the whole genomes of several micro-organisms, human genome project, analysis of mitochondrial DNA, new discoveries in the field of apoptosis.

Key words: Molecular biology; New discoveries

Souhrn

Cílem článku je podat stručnou informaci o nejdůležitějších objevech v molekulární biologii v roce 1997. Na prvním místě je zmíněno klonování ovečky Dolly v Edinburghu. Dále to jsou: priony a prionové choroby, kompletní sekvenování genomu mikroorganismů, projekt lidský genom, analýza mitochondriální DNA, objevy v oblasti apoptózy.

Úvod

Text tohoto článku vychází z přednášky, která byla letos poprvé zařazena do programu 2. ročníku PGS a přednesena 19. 1. 1998 a jejímž cílem bylo seznámení studentů PGS všech oborů s novinkami v molekulární biologii. V článku vycházím z údajů publikovaných v časopisech Nature, Science, Trends in Cell Biology a hlavně z informací získaných na Internetu. Nejsou to tedy žádné důvěrné informace, naopak každý měl možnost se s nimi seznámit. Jejich vyhledání a zpracování však zabralo dost času, a proto se chci

o výsledky svého snažení podělit. Myslím si, že zpracované informace mohou být zajímavé pro ty, kteří nemají času nazbyt, a přesto chtějí být informováni.

V molekulární biologii se každý rok publikuje několik tisíc původních vědeckých článků, je tedy obtížné vybrat ty nejvýznamnější. Přesto o nejdůležitější události roku není pochyb - je jí ovečka Dolly. Společně s dalším obrovským úspěchem vědy - misí na Mars - jsou to dva největší vědecké objevy roku 1997. O dalším kandidátovi - prionech - rozhodl Nobelův výbor ve Stockholmu, výběr ostatních je již osobní záležitostí autora.

1. Hallo, Dolly, aneb klonování ovcí (lidí??)

Klonování živočichů není úplná novinka. Dříve, dokonce již velmi dávno, v roce 1952, se prováděly pokusy s klonováním žab. Výsledky těchto pokusů jsou popsány i v našich učebnicích biologie jako tzv. TOTIPOTENCE, tj. skutečnost, že všechny buňky organismu mají kompletní genetickou informaci.

V čem tedy spočívá objev a úspěch skupiny z Roslin Institutu v Edinburhu (15)? Právě v klasických pokusech na žabách se ukázalo, že čím starší je dárc, tím menší je pravděpodobnost vzniku klonu. Z dospělých žab se nikdy nepodařilo vytvořit klon dospělých jedinců, vývoj skončil ve stadiu pulce. U myši byly výsledky podobných pokusů ještě horší. V tomto případě pouze buňky z velmi časného embrya (stadium 2 - 4 buněk) dávaly vzniknout klonům.

Vyklonovat organismus z buňky dospělého zvířete se tedy doposud nikomu nepodařilo, i když se o to mnoho lidí snažilo. Trik skupiny z Edinburhu spočívá v použití buněk v G0 fázi. Izolovali buňky z vemene 6 let staré ovce, jejich jádra přenesli do enukleovaného oocyty a oocyty přenesli do březí ovce. Tímto způsobem se 277krát pokusili o klonování. Jen jednou uspěli - vznikla ovečka Dolly.

Výsledek vyvolal obrovskou reakci veřejnosti i vědců. Například akcie všech soukromých firem zabývajících se genovými manipulacemi prudce stouply. Objevily se však i velmi negativní reakce - dokonce se mluví o tom, že nebyla klonována ovečka, ale vlk v beráncím kožíšku, který zničí všechny lidské hodnoty.

Jaké jsou tedy etické problémy klonování? Vynecháme-li problémy ovlivněné četbou sci-fi (klony diktátorů), zůstane např. problém tvorby dvojníků u lidí, kteří potřebují transplantovat nějaký orgán.

Věc byla natolik vážná, že prezident Clinton musel aktivovat National Bioethics Advisory Commission, a ta již v červnu 1997 vydala svoje doporučení (viz Internet <http://bioethics.gov/bioethics/pubs/chapter6.pdf>). Závěr komise zní: „At this time it is morally unacceptable for anyone in the public or private sector, whether in a research or clinical settings, to attempt to create a child using somatic cell nuclear transfer cloning“.

Evropská unie rovněž nezahálela - její vyjádření je obdobné. Zde se však řešil ještě jiný problém - na základě jakého zákona je možné klonování lidí zakázat? Nebo se bude muset připravit zvláštní zákon? To by trvalo mnoho let. Nakonec se příslušný paragraf našel v Listině základních lidských práv a svobod: „Každý člověk má nárok na ochranu individuality“. Výsledkem je zákaz klonování lidí, který platí v USA a mnoha evropských zemích. Z vědeckého hlediska je zajímavé, že se doposud nikomu nepodařilo

klonování zopakovat. Ani původ dárcovského jádra není zcela jasný. Pravděpodobně to nebyla obyčejná buňka z vemene, s velkou pravděpodobností to byla jedna z kmenových pluripotentních buněk, nacházejících se ve všech tkáních.

V klonování zvířat se však pokračuje.

Na konci roku 1997 stejná skupina vědců z Edinburhu publikovala další pozoruhodný výsledek - ovečku Polly (11). Tentokrát se jedná o transgenní organismus, ovečku, která produkuje ve svém mléce lidský protein, konkrétně faktor IX. Tato ovečka zdaleka není první transgenní organismus vytvořený v laboratoři. Nové na tom je pouze to, že tentokrát transgenní organismus nevznikl klasickou mikroinjekcí jádra do oplodněného vajíčka, ale fúzí geneticky modifikovaného fibroblastu s oocytem. Myslím si, že se před námi otevírá možnost pěstování hospodářských zvířat nikoli pro maso nebo mléko, ale pro vzácné lidské proteiny nebo pro orgány vhodné pro xeno-transplantace (příčímž orgány nebudou tak úplně xeno, budou třeba mít lidské HLA antigeny).

2. Priony

Priony si jistě také zaslouží naši pozornost, neboť za jejich objev byla v roce 1997 udělena dr. Stanley Prusinerovi Nobelova cena. Tento objev bourá jedno velké dogma biologie. Ukazuje se, že infekční agens nemusí být živý, nemusí mít nukleovou kyselinu. V tomto případě se jedná o prionový protein (PrP). Aberantní PrP má schopnost indukovat změnu normálního PrP na aberantní PrP.

V roce 1997 se podařilo prionové proteiny dále charakterizovat, velmi užitečné se ukázaly myši modely prionové infekce, založené na molekulárněbiologických metodách. První z nich využívá tzv. knock out myši (neboli null mice), tj. zvířat s vyřazeným genem pro PrP. Na takovéto myši není možné přenést prionovou infekci, zdá se, že myši bez prionů nemohou dostat prionovou chorobu. Druhý model zahrnuje transgenní myši s vysokou expresí prionového proteinu, u nich se projeví příznaky prionové choroby (1).

Přesto není celá věc definitivně uzavřena, přenos infekce pomocí prionů nebyl definitivně prokázán. Faktem je, že doposud nebylo prokázáno také žádné jiné infekční agens (a snaží se o to mnoho lidí) zodpovědné za tyto infekce. Infekční vzorky obsahují PrP a není v nich žádná DNA nebo RNA. Přesto je možné, že prionový protein funguje jenom jako nutný kofaktor.

Tento objev má další dopady do lékařské praxe. Stále více nemocí je podezřelých z toho, že mohou být prionového typu - patří sem např. přenosná spongiformní encefalopatie a tzv. nová varianta Creutzfeld-Jakobovy choroby, ale mluví se i o dalších (7).

Závažným problémem je přenos prionových infekcí ze zvířat na lidi nebo mezi lidmi. Priony jsou totiž velmi rezistentní k teplotě a k běžným chemikáliím. V roce 1997 se objevil nový fakt; práce Kleina a spol. z Žürihu (9) dokazuje, že při přenosu prionů hraje velmi důležitou roli B buňky. To by znamenalo, že transfuze krve může být za jistých okolností nebezpečná. V Anglii již zlikvidovali faktor VIII, který byl izolován z krve dárců trpících Creutzfeld-Jakobovou chorobou. Dokonce se již objevilo doporučení používat k transfuzím krev zbavenou B buněk.

3. Genomy - úplné sekvence

Mezi největší úspěchy molekulární biologie nepochybně patří úplný popis genomu u dalších organismů. Do konce roku 1996 byla známa úplná sekvence DNA u 5 druhů bakterií. Přehled je uveden v následující tabulce.

Organismus	Velikost genomu (kbp)	Rok popisu
<i>Haemophilus influenzae</i>	1830	1995
<i>Mycoplasma genitalium</i>	580	1995
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	820	1996
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1670	1996
<i>Synechocystis</i> sp.	3570	1996

V roce 1997 se intenzivně pracovalo na sekvenování dalších asi 40 organismů, práce byly ukončeny u sedmi z nich a publikovány převážně v časopise Nature. Kompletní informace jsou také zpřístupněny na Internetu. Z lékařského hlediska jsou zajímavé tyto organismy:

Helicobacter pylori (Gram negativní) - velikost 1,67 Mbp, 1590 genů. Tato bakterie byla objevena v roce 1983 a již je známa její sekvence (12).

Saccharomyces cerevisiae - první kompletně sekvenovaný eukaryontní genom se skládá ze 16 chromosomů, obsahuje 12068 Mbp a 5885 genů. Na projektu pracovalo 600 vědců (4).

Bacillus subtilis - velikost 4,21 Mbp, 4100 genů (8).

Escherichia coli - velikost 4,67 Mbp, 4288 genů. Nejdůležitější laboratorní modelový objekt pro molekulární biologii je tedy konečně také sekvenován (3).

Borrelia burgdorferi - velikost 0,91 Mbp, 853 genů. Analýza genomu této bakterie přinesla velké překvapení - chromosom je lineární. Kromě tohoto chromosomu se v buňce nachází ještě 17 plazmidů (2,6).

Sekvenování několika dalších mikroorganismů je ukončeno a výsledky jsou těsně před zveřejněním. Mezi tyto organismy patří *Mycobacterium tuberculosis*. Na sekvenaci pracoval stejný tým, který analyzoval genom kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Práce trvala 7 měsíců, neboť *M. tuberculosis* se obtížně pěstuje a navíc je jeho DNA velmi bohatá na guanin a cytosin, což působí určité technické problémy.

Co přinesou analýzy genomů lidstvu a medicíně? Mimo jiné se předpokládá, že se na jejich základě ve velmi krátké době objeví nové, zcela specifické diagnostické soupravy, založené na DNA diagnostice.

4. Projekt lidského genomu

Tento projekt tisíciletí, financovaný společně Ministerstvem energetiky a NIH, začal v roce 1990, upřesněn byl v roce 1993 a skončit má v roce 2005. Jeho cílem je „...to characterize all the human genetic material by determining the complete sequence of human DNA“.

V praxi to znamená určit pořadí 3 miliard bází v 50 000 lidských genech. V roce 1997 se podařilo sekvenovat 55 milionů bází, což jsou 2 % celkového genomu. Pokud se má pro-

jekt dokončit podle plánu, je nutné ročně sekvenovat 400 milionů bází. Rychlost sekvenování se tedy musí zvýšit alespoň 4krát. Výsledky projektu nejsou tajné, naopak veškeré nejnovější informace je možné najít na Internetu, <http://www.nhgri.nih.gov/HGP>.

Jak se sekvenování provádí? Sangerovou metodou, přičemž se využívá PAGE (polyacrylamidová gelová elektroforéza).

Proč to nejde rychleji? Najednou lze určit pořadí 700 - 800 bází. DNA se tedy musí napřed naštěpit na tisíce malých kousků, ty se sekvenují a pak se informace znovu spojuje. Více než 50 % času na řešení projektu zabere právě spojování fragmentů, tj. hledání překrývajících se oblastí.

I v tomto oboru jsou horké novinky. Jedna je opravdu velmi čerstvá. Vedoucí projektu, prof. Francis Collins, před Vánoce 1997 informoval o nutnosti změnit strategii projektu - je nutné zpracovat tzv. Single nucleotide polymorfism. Důvody nejsou vědecké, ale ekonomické a právní. Hrozí totiž, že soukromé firmy si výsledky analýzy nechají patentovat. Konkrétní představa je taková, že by se měla zpracovat DNA asi 500 lidí nejružnějších ras. Problém spočívá v tom, že analýzu je třeba udělat velmi rychle, jinak nebude co chránit, vše bude patentováno. Získat takto rychle vhodné vzorky DNA však není možné. Existují sice rozsáhlé databáze lidských buněčných kultur (asi 8000 stabilizovaných buněčných linií s lidskou DNA), které by se mohly pro tyto účely využít, chybí však informovaný souhlas od dárců. Vzorky byly totiž shromažďovány pro jiné účely. Zatím není jasné, jak se tento problém vyřeší.

5. Mitochondriální DNA - evoluce a revoluce

Evoluce je jedním z nejzajímavějších problémů biologie a rozvoj molekulární biologie přináší do této oblasti mnoho zcela nových poznatků. Velkou roli hraje zejména analýza mitochondriální DNA.

Mitochondriální DNA byla sice objevena již v roce 1981, ale popularitu si získala až s publikováním výsledků o mitochondriální paměti Evě. Mitochondriální DNA má totiž některé unikátní vlastnosti, a tak se dá využít při studiu evoluce člověka i jiných organismů. Pomohla rozřešit i několik historických revolučních otázek (vyvraždění carské rodiny v Rusku po VŘSR).

V letošním roce se zjistilo, že mitochondriální DNA mutuje mnohem rychleji, než se původně předpokládalo. Jak se na to přišlo? V roce 1991 se konečně podařilo objevit hrob posledního ruského cara Nikolaje II. a jeho rodiny, která byla vyvražděna na pokyn Lenina v roce 1917. Dohady o tom, zda je to pravý carský hrob, se vědci pokusili rozřešit metodami molekulární biologie - analýzou DNA. Jak to bývá, odpověď nebyla jednoznačná. U cara se našly dva druhy mitochondriální DNA, což všichni považovali za nemožné. Konečně objasnění přinesla opět molekulární biologie. Bylo nutné exhumovat ostatky dalšího Romanovce, velkoknížete Georgie, a k velkému překvapení se zjistilo, že obsahuje také dva druhy mitochondriální DNA. Jedná se o jev, který se nazývá heteroplasmie. Následovala studie velkého vzorku lidských mitochondriálních DNA a zjistilo se, že až u 20 % lidí je možné prokázat heteroplasmii. Výsledky této studie byly publikovány právě v roce 1997 a znamenají zásadní změny v našich názorech. Velmi podstatně se mění i názory na evoluci a na možné využívání mitochondriální DNA v soudní praxi (10).

Vzhledem k tomu, že mitochondriální geny jsou v buňce jaksi navíc, řada z nich vlastně není zcela nezbytná. V mitochondriální DNA může tedy probíhat mnoho změn. Výsledkem je to, že se organismy ve stavbě mitochondriální DNA od sebe liší více než ve stavbě jaderné DNA. Pro analýzu evoluční příbuznosti se využívají nekódující sekvence, které jsou selektivně neutrální a nejsou tedy podrobeny selekci.

Problémem je určit, jaká byla průměrná rychlost těchto mutací. Některé práce ukázaly, že nová mutace se objeví jednou za 300 - 600 generací. Jiné analýzy mitochondriální DNA ze známých rodokmenů ukázaly, že rychlost je podstatně nižší. Další autoři prokázali, že v mitochondriální DNA existují horká místa s velmi vysokou rychlostí mutací. V říjnu 1997 se konal ve Washingtonu D.C. kongres o mitochondriální DNA. Výsledky ale mají pořád velký rozptyl. Naše mitochondriální pramáti Eva tedy mohla žít před 6000 lety nebo před 200 000 lety, lidé a šimpanzi měli společného předka před 5 miliony let nebo před 30 miliony let.

Další zajímavý objev se týkal velkého dilematu evoluce člověka - jsme nebo nejsme přímými potomky neandrtálců? V Mnichově izolovali mitochondriální DNA z pažní kosti neandrtálce objeveného v roce 1856, kost je stará 30 tisíc let. Skoro se nechce věřit tomu, že je to možné. Výsledky však potvrdila nezávislá americká laboratoř. Segment DNA, který byl analyzován, je velmi odlišný od lidské mtDNA. Neandrtálec tedy nebyl naším přímým předkem (14).

Analýza DNA pomáhá i policii. Princip evoluční analýzy genomu aplikoval D. M. Millis na analýzu příbuznosti HIV viru u pacientů jednoho stomatologa, který měl HIV infekci. Podařilo se mu prokázat, kteří pacienti byli infikováni panem doktorem a kteří někým jiným.

6. Apoptóza

Dalším velmi aktuálním tématem molekulární biologie je smrt buněk - zvlášť apoptóza. Také v této oblasti se udělal velký pokrok. Základní charakteristiky apoptózy jsou:

- exprese fosfatidylserinu na povrchu buněčné membrány,
- ztráta oxidativních funkcí mitochondrií,
- internukleosomální fragmentace DNA.

V poslední době se intenzivně hledal mechanismus, který spojuje všechny tyto děje. Koncem roku 1997 byl popsán společný exekutivní mechanismus buněčné smrti (5). Je jím caspasa 3 (aspartate directed cysteine protease), která hraje klíčovou roli u všech typů fyziologické programované buněčné smrti. Za charakteristické štěpení DNA je zodpovědná caspasou 3 aktivovaná DNasa (CAD), která štěpí DNA v oblasti mezi nukleosomy. CAD se aktivuje tím, že caspasa 3 od ní oddělí specifický protein (inhibitor CAD). Caspasa 3 štěpí a inaktivuje mnoho dalších proteinů, mezi nimi poly(ADP-ribose)polymerasu. Rozštěpení poly(ADP-ribose)polymerasy odpojí mechanismus reparace DNA.

7. Genová terapie, onkogeny

Tato problematika byla shrnuta v časopise Nature (13). Zdá se, že v roce 1997 nedošlo k žádným zásadním objevům.

Co nás čeká v letošním roce?

Předpovědět to je velmi těžké. Časopis Science vypracoval v lednu 1997 seznam největších objevů, které nás čekají v roce 1997 - žádný z nich se neuskutečnil. Je zajímavé, že ten největší objev v této oblasti nikdo nečekal. Přitom pokusy s klonováním ovcí byly provedeny již v roce 1996 a ovečka Dolly bylo v době publikování výsledku již 6 měsíců.

Redaktoři časopisu Science se nicméně nedali neúspěchem odradit a toto je jejich předpověď největších objevů pro rok 1998:

- personalizovaná preskripce léků na základě analýzy DNA,
- struktura ribosomů,
- transgenní rostliny.

Za rok uvidíme, zda se předpověď splnila.

Literatura

1. Almond J, Pattison J. Human BSE. Nature 1997;389:437-8.
2. Barbour AG, Zuckert, WR. Genome sequencing - New tricks of tick-borne pathogen. Nature 1997;390:553.
3. Blattner FR, Plunkett G, Bloch CA et al. The complete genome sequence of Escherichia coli K-12. Science 1997;277:1453-62.
4. Clayton RA, White O, Ketchum KA et al. The first genome from the third domain of life. Nature 1997;387:459-62.
5. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H et al. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. Nature 1998;391:43-50.
6. Fraser CM, Casjens S, Huang WM et al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete Borrelia burgdorferi. Nature 1997;390:580-6.
7. Hill AF, Desbruslais M, Joiner S et al. The same prion strain causes vCJD and BSE. Nature 1997;389:448-50.
8. Hoch JA, Losick R. Genome sequencing - Panspermia, spores and the Bacillus subtilis genome. Nature 1997;390:237-8.
9. Klein MA, Frigg R, Flechsig E et al. A crucial role for B cells in neuroinvasive scrapie. Nature 1997;390:687-90.
10. Lang BF, Burger G, O'Kelly CJ et al. An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature. Nature 1997;387:493-7.
11. Schnieke AE, Kind AJ, Ritchie WA et al. Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. Science 1997;278:2130-3.
12. Tomb JF, White O, Kerlavage AR et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori. Nature 1997;388:539-47.
13. Verma IM, Somia N. Gene therapy - promises, problems and prospects. Nature 1997;389:239-42.
14. Ward R, Stringer C. A molecular handle on the Neanderthals. Nature 1997;388:225-6.
15. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature 1997;385:810-3.

*Doc. MUDr. RNDr. Miroslav Červinka, CSc.,
Katedra biologie LF UK, Šimkova 870,
500 01 Hradec Králové.*

KONCENTRACE EOSINOFILNÍHO KATIONOVÉHO PROTEINU (ECP) V INDUKOVANÉM SPUTU KORELUJE S TÍŽÍ BRONCHIÁLNÍHO ASTMATU

Aktivované eosinofily hrají důležitou roli v patogenezi bronchiálního astmatu. Autoři vyšetřili počet eosinofilů a koncentraci ECP v indukovaném sputu u 36 nemocných s různě těžkým průběhem astmatu a porovnali výsledky měření s hodnotami u 9 zdravých osob. Oba sledované parametry byly vysoce signifikantně zvýšeny u astmatiků. Autoři našli významnou závislost mezi hodnotami počtu eosinofilů, ECP v indukovaném sputu a výší týdenního skóre symptomů a významnou negativní korelaci s hodnotami vrcholové výdechové rychlosti (PEFR) jako objektivního ukazatele tíže obstrukce dýchacích cest. Tyto nálezy potvrzují úzkou souvislost mezi aktivací eosinofilů v dýchacích cestách a symptomy či obstrukcí dechového proudu. Z těchto důvodů se jeví vyšetřování koncentrace ECP v indukovaném sputu jako vhodný ukazatel hodnocení tíže a monitorace zánětu dýchacích cest pro dosažení optimální kontroly bronchiálního astmatu.

Fujimoto K et al. Chest 1997;112:1241-7.

B. Král

Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové, 43, 1998, 5-6, 105-110

VYŽÁDÁNO REDAKCÍ

AKUTNÍ PANKREATITIDA - POZNÁMKY K ETIOLOGII A KLASIFIKACI

Milan Kaška

Katedra chirurgie LF UK a FN v Hradci Králové;
(vedoucí: prof. MUDr. Z. Vobořil, DrSc.)

Summary

Acute pancreatitis - the comments of an etiology and a classification.

The basic knowledge about historical development of outlooks at pancreatic diseases and about the etiology and the classification of acute pancreatitis are summarized.

Key words: Acute pancreatitis; History; Etiology; Classification

Souhrn

Autor shrnuje základní poznatky o historickém vývoji náhledů na onemocnění slinivky břišní a etiologii a klasifikaci akutní pankreatitidy.

1. Historické poznámky

Historie znalostí o zánětlivém onemocnění slinivky břišní začíná již v období před Kristem, ale vývoj poznatků vztahujících se k současným pohledům na etiologii a klasifikaci akutní pankreatitidy má svoje kořeny teprve v poslední čtvrtině minulého století.

První anatomické poznatky o slinivce břišní uvádí Erasistratus (310-250 př.n.l.). V 16. stol. ji Vesalius popisuje jako žlázu, ale protože středověk nepřál příliš morfologickým vědám, dochází teprve v 17. stol. k průlomům do poznání o uspořádání lidského těla. V r. 1642 popisuje J. G. Wirsung vývod slinivky a v téže století byly zaznamenány první pokusy týkající se této žlázy. J. K. Brunner odstranil experimentálně slinivku u psa a vyslovil domněnku, že jde o nevýznamný orgán. Snad proto poklesl zájem o slinivku na dlouhou dobu.

S rozvojem mikroskopických technik se objevují i první informace o buněčné struktuře slinivky, a tak např. v r. 1869 popsal specifické ostrůvky buněk Langerhans. Vztah slinivky k diabetes mellitus udávali již v r. 1890 Mering a Minkovski, ale až v r. 1922 Banting a Best popsali význam Langerhansových ostrůvků při diabetu. Balsem uvádí v r. 1882 ve svém sdě-

lení poznatky o pozorování tukových nekróz v okolí slinivky provázející někdy zánětlivé onemocnění žlázy, které končí smrtí postiženého. V r. 1894 referoval Körte o pankreatickém „hnisání“, ale již Fitz v roce 1889 se zabýval zánětlivými stavy pankreatu.

Prvním, kdo operoval pseudocystu pankreatu, byl zřejmě Gussenbauer v r. 1883. První resekci slinivky (parciální pankreatektomií) provedl v r. 1909 Kausch. Ve 30. letech tohoto století Schmieden a Sebening shromáždili poznatky o onemocněních slinivky a jejich chirurgickém řešení v rámci multicentrické studie. Ta byla provedena na základě údajů získaných ze 104 klinik. Vzhledem k chirurgickým neúspěchům při léčbě akutní pankreatitidy (AP) doporučil Nordmann v r. 1938 operační zdrženlivost. Resekční výkony na slinivce byly určeny spíše pro chronická zánětlivá a zhoubná onemocnění slinivky. Tento stav trvá prakticky dodnes (11). Whipple provedl v r. 1935 první duodenopankreatektomií pro ampulární karcinom. Její modifikaci šetřící pylorus zavedl Watson v r. 1944. V r. 1972 uskutečnil Beger první parciální (subtotální) resekci hlavy pankreatu šetřící duodenum. Tento postup se užívá především při řešení chronického zánětu slinivky v oblasti hlavy. V současné době se zabývá řešením a terapií těžkých forem AP (TAP) na úrovni experimentálních i klinických studií řada pracovišť po celém světě. V jejich popředí stojí chirurgické kliniky v Ulmu (prof. Beger), Atlantě (prof. Bradley), New Yorku (prof. Ranson - zemřel v r. 1995), Los Angeles (prof. Reber).

2. Etiologie akutní pankreatitidy

Příčiny vzniku AP můžeme dělit z různých pohledů. Jedno z možných dělení uvádí následující tabulka zpracovaná dle údajů několika autorů (2,12,17):

Tab. 1: Rozdělení příčin akutní pankreatitidy

<p>Nutriční a metabolické:</p> <p>- alkoholický excés, onemocnění biliárního traktu, hypertriglyceridemie, tropická pankreatitida, hyperkalcemie, selhání ledvin, steatóza jater v těhotenství, dietní režim (např. CDE - cholin deficientní, 0,5% etioninem doplněná dieta).</p>
<p>Operační, traumatické, obstrukční:</p> <p>- intraabdominální operace, ERCP, biopsie, transplantace ledvin, břišní trauma, trans-lumbální aortografie, obstrukce Vaterovy papily tumorem, Crohnova nemoc, duodenální divertikl, penetrující peptický vřed, pancreas divisum, kongenitální anomálie vývodů biliopankreatického traktu.</p>
<p>Infekční:</p> <p>- spalničky, virová hepatitida, Coxackie virus, Echovirus, ascariáza, Mycoplasma sp.</p>
<p>Polékové:</p> <p>- kortikosteroidy, azathioprin, thiazidy, estrogeny, tetracyklin, valproát, chlorthalidon, kys. etakrynová, prokainamid, L-aspargináza, metyldopa, sulfonamidy, 6-merkaptopurin.</p>
<p>Ostatní:</p> <p>- systémový lupus erytematodes, nekrotizující angitida, trombocytopenická purpura, cévní onemocnění (trombóza a. mesentericae), hereditární, lymfangiopatie, lymfom, šok, extrakorporální oběh.</p>

Přes výše uvedený výčet možných příčin rozvoje akutní pankreatitidy je podstatný fakt, že nejčastějšími příčinami jejího vzniku jsou onemocnění biliárního traktu a zvýšený příjem alkoholu. Dle různých autorů činí podíl těchto etiologických faktorů celkem 75-85 % (12,17). V popředí stavů vedoucích bezprostředně k rozvoji AP stojí intrapan-kreatická aktivace vlastních enzymů způsobující autodigestci slinivky, což má závažný až devastující účinek na její strukturu a funkci (9,12). Klar uvádí 4 základní principy podmiňující patogenezi AP: biliární, intraacinární, alkoholický a poruchy mikrocirkulace. To je ve shodě se sděleními Latifiho i Waldnera (18,19). Aktivované pankreatické enzymy se uvolňují do intersticia žlázy a do okolí. Výsledkem je zánět, krvácení a nekrózy slinivky i relativně vzdálenějších tkání. Tak vznikají mj. typické tukové nekrózy a exsudát. Endotoxiny, exotoxiny, ischemie (hypoxie až anoxie) (16), virová infekce, lysosomální hydrolázy etc. aktivují a uvolňují proteolytické enzymy. Klíčovou roli zřejmě hrají poruchy v mikrocirkulaci pankreatu. Z pohledu uvedených skutečností je proto jednou z významných terapeutických metod navození izovolemické hemodiluce kombinované s podáváním reologicky aktivních substancí.

Biliární akutní pankreatitida může mít počátek duktální nebo acinární. Do teorie a praxe duktální geneze přispěl již v r. 1901 Opie. Zabýval se biliopankreatickým refluxem při zaklínění konkrementu ve Vaterově papile. K vyvolání biliární pankreatitidy stačí dle Acosty opakovaný průchod konkrementu papilou. Není nutná dlouhodobá obstrukce biliárního a sekundárně i pankreatického traktu (1). Biliární pankreatitida je tak způsobena zvýšením tlaku ve vývodech slinivky a jejich permeability. To potvrdil již Thal (18), který prokázal, že žluč injikovaná do pankreatických vývodů pod nízkým tlakem (do 20 mm Hg) nevyvolá AP. Kauzálním mechanismem rozvoje AP je zřejmě ruptura duktoacinárního spojení, kdy aktivované enzymy proniknou do intersticia slinivky. Intraacinární geneze je dobře popsána na experimentálním modelu AP užívajícím cerulein (syntetický analog cholecystokininu). Cerulein indukuje fúzi zymogenních granul, ty se patologicky přesunují do intersticia, kde aktivují lipázu (9).

Alkoholická AP je způsobena zřejmě kombinací dvou předešlých mechanismů (duktálního a acinózního) (8,9). Výsledkem výše uvedených procesů může být i přechod nekomplikované formy akutní pankreatitidy v TAP. Její hlavní příčinou však jsou zřejmě poruchy v mikrocirkulaci v tkáních slinivky vyvolané vazokonstrikcí, vazotoxickým efektem s poškozením endotelu, intravazálním srážením krve, přítomností nadměrného množství volných kyslíkových radikálů, venózní obstrukcí a zvýšením intersticiálního tlaku při sekvestraci plazmy. Opět tu vyvstává prospěšnost izovolemické hemodiluce (10). Hematokrit se při ní pohybuje kolem 0,30. Tato hodnota je určitým kompromisem, kdy je sice redukována kapacita pro přenos kyslíku, ale jsou zlepšeny reologické parametry krve. K navození izovolemické hemodiluce je doporučována i venepunkce. Odebraná krev může být dále užita ve formě erymasy jako autotransfúze (9).

Braganza a spol. (5) zahrnují do patofyziologie AP výše uvedené etiologické faktory, oxidační stres acinárních buněk a reverzní sekreční polaritu (lysosom - zymogenní polarita). V patogenezi pankreatitidy hrají hlavní roli trauma acinární a duktální buňky a pankreatická duktální obstrukce. Experimenty se zvířaty a studie v souborech pacientů vedou k některým závěrům o patogenezi AP. Schematicky pak lze popsat vývoj AP takto: kyslíkové hladovění acinárních buněk - kompenzatorní fúze lysosomálních a zymogenních struktur ve spojení s reverzní sekreční polaritou - lipidové fragmenty vytvořené působením

volných kyslíkových radikálů putují do intersticia - degranulace žírných buněk - současná aktivace trombocytů - buněčná zánětlivá odpověď s/nebo bez aktivace pankreatických zymogenů. Proto mj. je doporučováno podávání lapačů volných kyslíkových radikálů při rozvoji AP či TAP. Může tak být zmírněn nebo zastaven rozvoj TAP a jejich komplikací.

Gröngroos a spol. (8) se intenzivně zabývali cholinergní hypotézou alkoholické akutní pankreatitidy. Uzavírají, že zvýšený příjem alkoholu interferuje především s dvěma hlavními drahami regulujícími exokrinní pankreatickou sekreci: cholinergní a pankreozymínovou. Alkoholem indukované alterace v kontrole exokrinní pankreatické sekrece ústí do hyperstimulace pankreatických acinárních buněk a jejich muskarinových receptorů. Je to podobné mechanismu rozvoje akutní pankreatitidy způsobené bodnutím štíra, intoxikací insekticidy obsahujícími inhibitory acetylcholinesterázy nebo velmi vysokými dávkami ceruleinu. Kromě inhibitorů acetylcholinesterázy mohou AP indukovat např. salicyláty, L-aspargináza, thiazidová diuretika, valproát, alkaloidy vinky. Rozporuplné údaje uvádějí jiná sdělení o indukcii AP antituberkulotiky, metronidazolem, sulfonamidy, tetracykliny etc. (7).

Trauma je bezpochyby možným spouštěcím mechanismem rozvoje AP. Může to být přímé poranění žlázy (bodné, střelné) či tupé (blunt trauma) (13). Nežádka vede toto trauma k vývoji časné poúrazové pseudocysty pankreatu a často dojde ke spontánnímu vyhojení tohoto stavu.

3. Klasifikace akutní pankreatitidy

O prvním souboru nemocných léčených chirurgicky pro zánět slinivky břišní referoval zřejmě v r. 1894 Körte na 23. kongresu Německé chirurgické společnosti. Snahy klasifikovat AP začaly rovněž v minulém století. Fitz v r. 1889 rozdělil akutní zánětlivá onemocnění slinivky na supurativní, hemoragické a gangrenózní. Klasifikace navržená Mayo skupinou v r. 1946 rozlišovala akutní pankreatitidu v různých stupních dle klinického průběhu - od akutní fulminantní formy až po bezbolestnou. Klasifikace Marseilleská z r. 1963 byla založena na klinickopatologických nálezech a byla užívána až do 90. let našeho století. Její revidovaná podoba z r. 1989 dělila pankreatitidy na chronické a akutní (7,17). Jejich vznik je podmíněn stejnými faktory (2), ale rozvoj té které je dán již individuem postižené osoby a působením jak vnitřních, tak zevních faktorů. Ze současného pohledu je důležitý rok 1991, kdy na kongresu v Ulmu byla dohodnuta klasifikace zabývající se více chirurgickou problematikou onemocnění. Pod vedením prof. Begera se účastníci tohoto setkání dohodli na dělení akutních pankreatitid takto (3):

Tab. 2: Ulmská klasifikace AP

- edematózně-intersticiální
- nekrotizující
- pankreatický absces
- pseudocysta po akutní pankreatidě

Snaha o co nejpřirozenější a nejpraktičtější dělení zánětů slinivky akutního charakteru vedla přední pankreatology celého světa k vytvoření dosud poslední uznané klasifi-

kace tohoto onemocnění. Došlo k tomu v r. 1992 v Atlantě, kdy pracovní skupina tvořená předními světovými gastroenterology (Bradley III a spol.) uzavřela klasifikaci akutních pankreatitid takto (4):

Tab. 3: Atlantská klasifikace AP

- mírná akutní pankreatitida
- těžká akutní pankreatitida
- formy: - akutní akumulace tekutiny
- nekróza pankreatu
- akutní pseudocysta pankreatu
- pankreatický absces

Sdělení k tomuto problému (4) obsahuje definice jednotlivých výše uvedených, ale i dalších pojmů: akutní pankreatitida, těžká akutní pankreatitida, mírná akutní pankreatitida, akutní tekutinová kolekce, pankreatická nekróza, pseudocysta, pankreatický absces, infikovaná pseudocysta, hemoragická pankreatitida, přetrvávající akutní pankreatitida.

Definice některých pojmů:

Akutní pankreatitida - zánětlivý proces pankreatu s různými poruchami dalších regionálních tkání nebo poruchou orgánových systémů.

Těžká akutní pankreatitida - viz výše a spojení s orgánovým selháváním (selháním) a/nebo s lokálními komplikacemi jako jsou: nekróza, absces, pseudocysta. Může být dále potvrzená Ransonovými kritérii v počtu 3 a více (15).

Mírná akutní pankreatitida - minimální orgánová dysfunkce, dobré zotavení, nepřítomnost změn popsaných u TAP.

Účastníci atlantského symposia se tedy pokusili vytvořit ideální klasifikační systém pro akutní pankreatitidy, který má být jednoduchý, objektivní, kvantifikující, neinvazivní a ne příliš podrobný. Přesto, že výše uvedený systém nedosahuje všech těchto požadavků, je přijímáno, že v něm výše uvedené pojmy a jejich výklad představují průběžný stav našich znalostí. Tento atlantský klasifikační systém by tedy měl zlepšit dosud užívané klasifikační systémy pro akutní pankreatitidu (4).

Literatura

1. Acosta JM, Pellegrini CA, Skinner DB. Etiology and pathogenesis of acute biliary pancreatitis. *Surgery* 1976;80:488-92.
2. Bartoš V. Přehled etiopatogenetických faktorů pankreatitidy. *Prakt Lek* 1986;66:15-6.
3. Beger HG. Acute pancreatitis - a challenge to gastroenterologists and surgeons. *Hepatogastroenterology* 1991;38:90-1.
4. Bradley EL III. A clinically based classification system for acute pancreatitis. *Arch Surg* 1993;128:586-90.
5. Braganza JM. The pathogenesis of pancreatitis. Manchester-New York: Manchester University Press 1991,233s.
6. Freeny PC. Classification of pancreatitis. *Radiol Clin North Am* 1989;27:1-3.
7. Frick TW, Speiser DE, Bimmler D, Largiadér F. Drug-induced pancreatitis: Further criticism. *Dig Dis* 1993;11:113-32.

8. Grönroos JM, Aho HJ, Nevalainen TJ. Cholinergic hypothesis of alcoholic pancreatitis. Dig Dis 1992;10:38-45.
9. Klar E. Ätiologie und Pathogenese der Akuten Pancreatitis. Helv Chir Acta 1992;59:7-16.
10. Klar E, Schratt W, Foitzik T, Buhr H, Herfarth C, Messmer K. Impact of microcirculatory flow pattern changes on the development of acute edematous and necrotizing pancreatitis in rabbit pancreas. Dig Dis Sci 1994;39:2639-44.
11. Kozuschek W, Reith HB. Pancreas-Erkrankungen in der Operierte Patient-interdisziplinär - Bd.1. TM-Verlag: Hameln, Germany, 1989:87s.
12. Latifi R, McIntosh JK, Dudrick SJ. Nutritional management of acute and chronic pancreatitis. Surg Clin North Am 1991;71:579-95.
13. Lewis G, Krige JEJ, Bornman PC, Terblanche J. Traumatic pancreatic pseudocysts. Br J Surg 1993;80:89-93.
14. Marks IN. Classification of pancreatitis. In Disorders of the pancreas. Ed. Burns GP, Bank S, McGraw-Hill inc: New York 1990:19-26.
15. Ranson JHC, Rikfid KM, Roses DF, Fink SD, Eng K, Spencer FC. Prognostic signs and the role of operative management in acute pancreatitis. Surg Gyn Obstet 1974;139:69-81.
16. Schulz HU, Niederau C. Oxidative stress-induced changes in pancreatic acinar cells: Insights from in vitro studies. Hepatogastroenterology 1994;41:309-12.
17. Steer ML. Classification and pathogenesis of pancreatitis. Surg Clin North Am 1989;69:467-80.
18. Thal A. Studies on pancreatitis. IV. The pathogenesis of bile pancreatitis. Surg Forum 1954;5:391-3.
19. Waldner H. Vascular mechanisms to induce acute pancreatitis. Eur Surg Res 1992;24:62-7.

MUDr. RNDr. Milan Kaška,
Katedra chirurgie LF UK a FN,
500 05 Hradec Králové.

Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové, 43, 1998, 5-6, 111-115

VYŽÁDÁNO REDAKCÍ

SOUČASNÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ LASERU V OTORINOLARYNGOLOGII

I. část: Vliv laserové energie na tkáň, typy laserů

Viktor Chrobok, Jan Vokurka

Katedra otorinolaryngologie LF UK a FN v Hradci Králové;
(vedoucí: doc. MUDr. J. Vokurka, CSc.)

Summary

Present possibility of laser application in otolaryngology.

Authors demonstrate the physical principles of laser and characteristics of various types of laser beam. The application of laser in head and neck is shown in the second part of paper.

Key words: Lase; Types of laser; Application; Head and neck

Souhrn

Práce podává přehled o fyzikálních principech laseru a vlastnostech jednotlivých typů laserového paprsku. V druhé části jsou uvedeny možnosti využití laseru v oblasti hlavy a krku. Jsou zdůrazněny principy bezpečnosti práce s laserem.

Historie laseru v otorinolaryngologii

Albert Einstein vypracoval teorii spontánní a stimulované emise již v roce 1917; tato teorie byla později využita ke konstrukci laserového přístroje. Technika laseru byla prvně demonstrována v roce 1958 Arthurem Schawlowem a Charlesem Townesem. Na konci roku 1961 byl poprvé využit prototyp rubínového laseru v humánní medicíně k léčbě tumoru retiny. Základní principy rubínového laseru popsal v roce 1960 Theodor Maiman (dle Ossoffa /21/). Aktivní prostředí, do kterého bylo možné načerpat velké množství energie, bylo tvořeno krystalem rubínu.

Poté následoval prudký rozvoj laserové techniky v medicíně díky Leonu Goldmanovi, který založil laboratoř pro využití laseru v medicíně v Cincinnati (USA) v roce 1962 a propracoval techniku CO₂ laseru. Mezi první oblasti aplikace pulzního laseru patřila středoušní dutina a labyrint vnitřního ucha. Geza Jako studoval problematiku vlivu laserové energie na hlasivky. V roce 1967 Polányi použil CO₂ laser na sliznici hrtanu u kadaverů. Svého širšího použití se laser dočkal poté, když byla v roce 1972 vynalezena flexibilní světlovodná vlákna. S jejich pomocí mohl být energeticky bohatý laserový paprsek zaveden do dutých orgánů a různých tělních dutin. Tím byl umožněn rozvoj použití laseru při endoskopických výkonech. Beamis a Shapshay využili v roce 1984 pevnolátkový Nd:YAG laser k léčbě maligních a vaskulárních tumorů tracheo-bronchiálního stromu.

Co to je laser ?

LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation = zesílení světla stimulovanou emisí záření) je výkonný generátor produkující intenzivní, kolimovaný paprsek koherentního a monochromatického světla.

Vlastností *monochromatické* (jednobarevný) se využívá především v chemii a fyzice, k reakci s vybranými sloučeninami. Pro chirurgii je tato vlastnost méně využitelná, jelikož není možné selektivně odstranění určité tkáně, tedy reakce jen s určitým typem buněk (např. jen s nádorovými buňkami). *Koherece* (spojitost, uspořádání v prostoru a čase) světelného paprsku se v medicíně využívá okrajově, například při měření pohybu bubinky (28) či pohybu hlasivek. Třetí vlastností laserového paprsku, nejdůležitější pro medicínské účely, je *kolimace* (= seřízení osy paprsku či paralelnost paprsků), která umožňuje vysokou koncentraci energie, sloužící k ablaci tkání. Jedná se o malou rozbihavost laserových svazků, které mají velmi malý průměr (0,01 -1 mm).

Obecné principy vlivu laserové energie na živou tkáň

Interakce laseru s živou tkání má tři základní projevy:

1. termický efekt - laserová energie je absorbována chromofory (= skupina atomů podmiňující barevnost organické sloučeniny) ve tkáni. Absorpce laserového paprsku v chromoforech dochází ke vzniku tepla.
2. fotochemický efekt - radiační energie laseru stimuluje specifické molekuly uvnitř buněk, což vede k následným chemickým změnám uvnitř buňky.
3. netermický efekt - krátké pulsy laseru vysoké intenzity vedou k narušení buněčné struktury.

Obecné principy účinku laserové energie na živou tkáň jsou určeny způsobem aplikace; rozlišujeme techniku nekontaktní a kontaktní. Starší *nekontaktní technika* ozařuje tkáň ze vzdálenosti několika milimetrů až centimetrů. Optické záření je absorbováno do určité hloubky tkáně, kde dochází k optotermální konverzi. Laserová energie se mění na energii tepelnou, tkáň se zahřívá na poměrně vysokou teplotu, dochází k hypertermii, denaturaci proteinů, koagulaci, karbonizaci a evaporizaci tkáně. Nekontaktní technika (např. CO₂ laser) je výhodná pro odstranění (odpaření) velkého množství tkáně, na druhé straně nevýhoda je v poškození okolních tkání ve větším rozsahu.

Kontaktní technika umožnila výraznou měrou změnit způsob ošetření tkáně; díky kontaktní technice lze hovořit o jemných chirurgických výkonech. Podstata techniky spočívá v karbonizaci hrotu optického vlákna, které je použito k přenosu světelné (laserové) energie do tkáně. Vlivem kontaktu s tkání se na povrchu hrotu optického vlákna vytvoří vrstva uhlíku, která pohltí většinu vyzařovaného světla a v důsledku toho se rychle a efektivně zahřeje. Hrot vlákna se mění v horký nůž, velmi účinně řeže a koaguluje. Okolní tkáň jsou minimálně poškozeny, jelikož optotermální konverze neprobíhá ve tkáni, ale na hrotu optického vlákna. Z důvodu minimálního poškození okolní tkáně je možné označit kontaktní laser (Nd:YAG, diodový laser) za minimálně invazivní chirurgický nástroj.

Je třeba upozornit, že s vývojem laserové technologie se především měnilo aktivní prostředí, ve kterém laserový paprsek vzniká. Maiman použil světelný zdroj, a proto bylo správné hovořit o zesílení světla pomocí stimulované emise optického záření. Dnes lze využít i jiné aktivní prostředí, např. prostředí plynné u CO₂ laseru, pevnolátkové u Nd:YAG laseru nebo elektrické u diodového laseru. Je tedy možné čerpat i energii elektrickou, kterou lze konvertovat na energii laserovou, čímž byl výrazným způsobem zjednodušen provoz a současně zmenšena velikost laserových přístrojů. Z dřívějších velkých přístrojů s nutností chladicího systému, které zaplnily celou místnost a byly nepřenositelné, se přechází na laserové přístroje velikosti osobního počítače.

Každý typ laseru má určitou vlnovou délku emitovaného světla, která určuje absorpci v různých tkáních těla. Proto je nutné pro různé léčebné indikace použít různý typ laseru. Je však pravdou, že v některých případech mohou být indikační pole pro různé lasery společná.

Základní typy laseru

Lasery v medicíně je možno rozdělit na dvě skupiny: výkonové a biostimulační. *Výkonové lasery* slouží k chirurgickému ošetření, tedy k řezu (incize, excize), vaporizaci či koagulaci krevních cév. *Biostimulační lasery* mají účinek protizánětlivý, analgetický, vazodilatační a regenerační, využívají se v kožním lékařství a chirurgických oborech v procesu hojení tkání. Kromě stimulačního účinku v kolagenní fázi byl prokázán podpůrný vliv při epitelizaci, která začíná v okrajových inaktivních epitelálních bunkách (10,11).

A. Výkonové lasery

CO₂ laser

Vlnová délka je 10 600 nm a je mimo spektrum viditelnosti. Karbon dioxidový laser má vysoký koeficient absorpce ve vodě. Tudíž tato energie je dobře pohlcena ve všech měkkých tkáních, které mají vysoký obsah vody. Energie CO₂ laserového paprsku se při kontaktu s živou tkání mění v teplo, čímž dochází okamžitě k varu intracelulární a extracelulární tekutiny a denaturaci buněčných proteinů, což vede ke zničení tkáně. Tělesné tkáně jsou špatným vodičem tepla, a proto mezi vaporizovanými (odpařenými) a nepoškozenými buňkami je jen slabá vrstva minimálně poškozených buněk. Hloubka průniku CO₂ paprsku ve vodě a v měkkých tkáních se uvádí do 0,03 mm. CO₂ laser je využíván jako přesný, jemný a nekrvavý skalpel. Je často spojen s mikroskopem, paprsek je veden přes mikromanipulátor, který dovoluje přesné zacílení.

Jelikož vlnová délka CO₂ laseru není viditelná, je nutno laserový paprsek zviditelnit He-Ne laserem s vlnovou délkou 632 nm. Je pochopitelné, že při úplně rozdílné vlnové délce obou paprsků je technicky velmi obtížné docílit, aby tyto paprsky byly úplně souosé (koaxiální) při průchodu optickým systémem. Tento nekontaktní typ laseru je využíván u řady onemocnění v ORL, pokud je možný přímý pohled na ošetřovanou tkáň.

Argonový laser

Vlnová délka 514 a 488 nm. Argonový laser lze aplikovat v optickém vlákne a jeho barva je modrozelená. Energie argonového laseru je špatně absorbována v čirých tekutinách. Naopak hemoglobin a melanin silně pohlcují tuto laserovou energii. V okolní tkáni dochází k termickému efektu, který způsobuje destrukci okolních struktur. Nejčastěji se argonový laser využívá v léčbě vaskulárních kožních nádorů, je však třeba minimalizovat množství použité energie, aby vlivem termických změn nedošlo k jizvení okolní kůže. Otologové využívají argonový laser u třmínkové chirurgie díky možnosti koncentrace paprsku do úzkého svazku.

KTP laser

Vlnová délka 532 nm, laser obdobný argonovému, ale nosný plyn v laserové trubici je složen z draslíku, titanu a fosforu. KTP laser je veden optickým vláknem. Má nízký koeficient absorpce ve vodě, naopak je efektivně absorbován melaninem a hemoglobinem. KTP laser umožňuje dokonalou chirurgickou excizi s minimálním poškozením okolní tkáně. Využívá se u funkční endonazální chirurgie, dále v chirurgii ucha a hrtnu.

Nd:YAG laser

Vlnová délka 1 060 nm, tento typ laseru má největší hloubku penetrace do tkáně. Nd:YAG laserová energie je absorbována v tmavých strukturách, jako je hemoglobin a melanin, naopak prochází čirými tekutinami se ztrátou velmi malého množství energie. Neodymový YAG (ytrium, aluminium a granat dotovaný neodým) laser vytváří homogenní pás termické koagulace a nekrózy až v šíři 4 mm. Právě tento hluboký průnik do tkáně je největší nevýhodou a největším rizikem Nd:YAG laseru. Mezi aplikace Nd:YAG laseru patří obstrukční tracheobronchiální a jícnové léze, fotokoagulace vaskulárních tumorů a lymfangiomů. Používá se aplikace cestou optického vlákna.

Ho:YAG laser

Vlnová délka 2 100 nm je větší než u Nd:YAG. Holmiový YAG laser má malý průnik do hloubky tkáně, proto je využíván k dekompresi lícního nervu a v endoskopické chirurgii paranazálních dutin.

Diodový laser

Jedná se o polovodičový, vysoce výkonný laserový systém, vlnová délka 810 nm, k absorpci dochází v melaninu a hemoglobinu. Prvně byl diodový laser použit v oftalmologii v roce 1986 Pulifiatem. Vedení laserového paprsku je optickými vlákny, která slouží ke kontaktnímu i nekontaktnímu použití. Při použití tohoto laseru nedochází ke stimulaci nervů, svalů a orgánů, poškození okolní tkáně je minimální. Do laserové ener-

gie je konvertováno 30 % elektrické energie. Není nutný chladicí systém, velikou výhodou jsou malé rozměry přístroje.

B. Biostimulační lasery

He-Ne laser

Hlavní vliv helium-neonového laseru je přičítán migraci buněk do ozářené rány, zvýšení fagocytózy, zlepšení hojení ran (11). Horský (10) využívá He-Ne laser v pooperační péči u dětí po odstranění mediální krční cysty či operacích v oblasti příušní žlázy.

Literatura a závěr uvedeny na konci II. části.

*MUDr. Viktor Chrobok, CSc.,
Katedra otorinolaryngologie LF UK a FN,
500 05 Hradec Králové.*

VYŽÁDÁNO REDAKCÍ

SOUČASNÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ LASERU V OTORINOLARYNGOLOGII

II. část: Vlastní využití laseru v chirurgii hlavy a krku

Viktor Chrobok, Jan Vokurka

Katedra otorinolaryngologie LF UK a FN v Hradci Králové;
(vedoucí: doc. MUDr. J. Vokurka, CSc.)

1. Hrtan a průdušnice

V endolaryngeální chirurgii jsou využívány čtyři typy laseru: CO₂, Nd:YAG, KTP a argonový laser (6). Nejčastěji je užíván CO₂ laser, zvláště pro možnost mikroskopické kontroly a minimální pooperační otok, minimální termické poškození okolní tkáně a konečně pro příznivé a rychlé hojení. Jeho relativní nevýhodou je nemožnost aplikace optickým vláknem. Laserový paprsek slouží k řezání, vaporizaci a koagulaci.

CO₂ laser je využíván především k léčbě recidivující papilomatózy dýchacích cest (3). Nd:YAG laser je ideálním v léčbě vaskulárních lézí a maligních obturujících tumorů dýchacích cest vzhledem ke zvýšené absorpci ve tkáni a hlubší penetraci, nevýhodou je možnost následného jizvení. KTP laser nevaporizuje tkáně tak dobře jako CO₂ laser. KTP laser je využíván u papilomů, karcinomů a u fonochirurgických výkonů.

Stenózy hrtanu a průdušnice

Stenózy jsou nejčastěji způsobeny prodlouženou intubací či nedokonalou tracheotomií. Řešení stenóz, které jsou především lokalizovány v subglotické části hrtanu a krčním úseku průdušnice, je velmi obtížné. Vlastnímu ošetření předchází endoskopické a CT vyšetření se stanovením stupně a délky stenózy. K odstranění či incizi jizev lze využít laser. Retrospektivní studie (21) umožnily stanovit, které stenózy jsou vhodné k laserovému ošetření:

1. Endoskopicky lze ošetřit pouze stenózy, u kterých nedošlo k poškození chrupavky dýchacích cest. V případě použití laserového paprsku v místě malacie chrupavky hrozí perforace stěny s hrozbou následné komplikace (poranění okolních struktur, pooperační emfyzém).

2. Pro endoskopické ošetření jsou vhodné stenózy kratší než 1 cm. Pokud je stenóza délky 1 až 3 cm, je vhodné endoskopickou incizí kombinovat s dlouhodobým ponecháním dilatačního stentu.
3. Úplnou stenózu subglotického prostoru či trachey není vhodné ošetřovat pouze laserovým endoskopickým výkonem, nýbrž kombinovat endoskopický výkon s použitím stentu.
4. Nevhodní jsou nemocní, u kterých je stenóza způsobena tlakem útvaru lokalizovaným vně dýchacích cest.

Při endoskopickém ošetření laryngotracheálních stenóz je nutné šetřit sliznici dýchacích cest v co největším rozsahu. Jsou používány dvě techniky v řešení stenóz. První spočívá v radiálních incizích na několika místech stenotického kruhu, s následnou dilatací bronchoskopem. Incize jsou prováděny k mukoperichondriu a neměla by být zasažena chrupavka. Druhou možností je provedení horizontální incize těsně nad stenózou s následnou vaporizací podslizniční jizevnaté tkáně. Úspěšnost léčby tracheálních stenóz v literatuře (21) kolísá od 34 % do 77 %. Crockett (6) shledává příznivější výsledky při řešení stenóz u dospělých nemocných, u stenóz lokalizovaných na přední stěně dýchacích cest, při podávání antibiotik v pooperační době a současně dilataci stenózy stentem. Jedny z prvních zkušeností s použitím fibrolaseru Nd:YAG k řešení tracheobronchiálních stenóz v naší literatuře uvedl Fišer (7), který volil tuto metodu u nemocných, kde nebyla možná chirurgická léčba. Ryšánková (24) považuje Nd:YAG laser za metodu volby u nemocných s amyloidózou dýchacích cest.

Do skupiny onemocnění, která vedou ke zúžení lumina dýchacích cest, lze zařadit i tvorbu granulací v oblasti tracheostomatu. Ke snesení těchto granulací úspěšně využil CO₂ laser přes bronchoskopický tubus Werkhaven (29) u 13 dětí po tracheotomii.

Oboustranná nepohyblivost hlasivek

Postižení hybnosti hlasivek je nejčastěji iatrogenní etiologie po operacích štítné žlázy. Při oboustranném postižení jsou obě hlasivky v addukčním (paramediálním) postavení, které vede k výraznému zúžení hlasové štěrbině a dušnosti. Jednou z možností rozšíření hlasové štěrbině je CO₂ laserová totální arytenoidektomie, kdy je provedena vaporizace arytenoidní chrupavky, přilehlé sliznice a zadní části hlasivky. Neměla by být postižena interarytenoidní oblast. Tato metoda vede k minimálnímu postižení hlasu, jelikož zůstává zachována membránová část hlasivek, která se především účastní na fonaci.

Recidivující papilomatóza dýchacích cest

Benigni nádorové onemocnění, nejčastěji postihující sliznice hrtanu, je dnes téměř standardně ošetřováno CO₂ laserem při direktní laryngoskopii (4,16). Papilom postihující hlasivky by měl být vaporizován až na ligamentum hlasového vazů. Cílem je odstranění slizniční léze s minimálním termickým postižením okolní zdravé tkáně. Při endoskopických výkonech se většinou začíná se snesením nejdálší části tumoru. Je však třeba si uvědomit, že ošetření laserem nevyklučuje recidivu papilomu. Vzhledem k tomu, že Crockett (6) popisuje přítomnost papilomaviru v histologicky normální sliznici dýchacích cest, doporučuje vaporizaci všech ložisek papilomu a rozptýleným paprskem termicky ošetřit subepiteliální prostory, Reinkeho prostor a hlubší podslizniční vrstvy.

V současnosti se začíná doporučovat následující léčebná taktika recidivující papilomatózy dýchacích cest: nejprve endoskopické laserové ošetření papilomu s následnou adjuvatní medikamentózní terapií, jako je celkové podání interferonu nebo lokální chemoterapie (6). Laserová chirurgie papilomatózy hrtanu je doporučována jako metoda volby (16).

Hlasivkový polyp, zpěvácké uzlíky, granulom hlasivky

Opakovaně byly hodnoceny výsledky chirurgického ošetření studenými nástroji a laserovým paprskem (21). Současné zkušenosti hovoří pro studené nástroje. Při použití laseru hrozí termické postižení okolní tkáně s možností následného jizvení. Použití laseru u těchto benigních onemocnění je kontroverzní.

U nemocných s granulační tkání v dýchacích cestách je většinou přítomna zánětlivá perichondritida, tedy je třeba léčbu spojit s léčbou antibiotiky.

Laryngomalacie

Hollinger (dle Crocketta /6/) popsal čtyři anatomické abnormality spojené s laryngomalacií:

1. kolaps aryepiglotických řas s cuniefornními chrupavkami,
2. dlouhá tubulární epiglotis,
3. kolaps arytenoidních chrupavek do lumina hrtanu,
4. přepadávání epiglotis při inspiriu proti zadní stěně hltanu.

U některých novorozenců lze tuto situaci řešit CO₂ laserovým nářezem aryepiglotických řas, které vede k jizvení a stažení epiglotis anteriorně, čímž dojde k uvolnění dýchacích cest.

Karcinomy hrtanu

V roce 1971 Stutsman a McGarvan (dle Crocketta /6/) u 11 nemocných po endoskopické biopsii s T1 verifikovaným karcinomem hrtanu nezjistili po zevní chordektomií přítomnost tumoru v histologickém vyšetření. Tyto nálezy vedly k myšlence možnosti definitivního endoskopického ošetření nemocných s T1 glotickým karcinomem, zvláště pokud je tumor lokalizován ve střední části hlasivky. Glotická část hrtanu má velice chudou lymfatickou drenáž, což výrazným způsobem snižuje pravděpodobnost metastatického postižení uzlin a zvyšuje úspěšnost endolaryngeálního ošetření. Naopak u málo rozsáhlých karcinomů volného okraje epiglotis je možné endolaryngeální ošetření se současným zvážením krční blokové disekce vzhledem k častější přítomnosti metastáz v uzlinách. U supraglotických karcinomů je vhodné předoperační CT či NMR vyšetření k vyloučení šíření nádoru do preepiglotického lože.

CO₂ laser umožňuje dokonalou hemostázu a snížení pooperačního otoku. Další výhodou při endoskopii je možnost rozlišit hlubokou invazi nádoru díky použití mikroskopu.

Endoskopické ošetření maligních tumorů hrtanu je indikováno jen za následujících předpokladů:

1. tumor musí být celý patrný při direktní mikrolaryngoskopii,
2. tumor nesmí postihovat přední komisuru nebo processus vocalis,
3. ošetřovat touto technikou lze pouze povrchové slizniční tumory v rozsahu T1 a T2,

4. výhodná je možnost rychlé histologie, která by měla potvrdit, že bezpečnostní lem resekované části hrtanu je prostý tumoru,
5. pooperační kontrolní direktní laryngoskopie.

U nemocných po totální laryngektomii lze využít laser při zavedení hlasové protézy k vytvoření tracheoesofageální píštěle (5).

Komplikace laserové laryngoskopie

Riziko těchto výkonů vyplývá z interference chirurgického a anesteziologického pole. V průběhu laserového výkonu může dojít ke vzplanutí intubační rourky. Fontenot (8) studoval dobu od aplikace laserového paprsku ke vzplanutí intubační rourky v závislosti na energii použitého laseru a množství kyslíku v saturační směsi. Při vyšší energii laseru a vyšší saturaci kyslíku roste riziko a rychlost vzplanutí intubační rourky. Z těchto důvodů je vhodné volit intubační rourky z nehořlavých materiálů či jiné způsoby ventilace během laserové chirurgie hrtanu (2). Supraglotická trysková ventilace spočívá v zavedení přímého laryngoskopu do nitra hrtanu, na jehož vnějším ústí je zavěšena speciální tryska sloužící k ventilaci nemocného. Z místních komplikací je třeba upozornit na možnost sekundární perichondritidy vlivem termického poškození perichondria s následnou stenózou dýchacích cest. Ke vzdáleným komplikacím patří pneumotorax, poranění struktur ležících v těsné blízkosti dýchacích cest a pooperační emfyzém.

Mezi prevence těchto komplikací patří vhodná intubační rourka, adekvátní preparace v podslizničním prostoru, tak aby nedošlo k poranění mimo lumen dýchacích cest. Podání kortikoidů s protiedematózním účinkem. Chránit oči a kůži nemocného i lékáře.

2. Nos a vedlejší dutiny nosní

Benigní nádory

Laseru lze využít k ošetření papilomů či hemangiomů nosního vchodu, a to s výhodou minimalizace krvácení a pooperačního otoku.

Epistaxe

Hemokoagulačního efektu lze využít ke stavění krvácení v celé nosní dutině. V zadních částech nosní dutiny je výhodnější aplikovat laser pomocí flexibilního vlákna za kontroly endoskopem. Jsou vyráběny i speciální endoskopy s kanálem pro zavedení vlákna, jehož konec je v zorném poli teleskopu.

Chronické rinopatie

Hypertrofické rýmy se velmi často projevují zduřením dolních skořep. Při laserové koagulaci dochází k redukci objemu hypertrofické sliznice vaporizací tkáně. Laserový paprsek lze aplikovat přímo na povrch sliznice (transmukózně) nebo submukózně při zavedení laserového vlákna pod sliznici.

Kawamura (14) zjišťuje dlouhodobé dobré výsledky při léčbě alergické rýmy pomocí CO₂ laseru. Největší výhodou spatřuje v bezbolestném ošetření, minimálním krvácení a není nutné používat nosní tamponádu po chirurgickém ošetření. Mladina

(19) využívá CO₂ laseru k vaporizaci horního mediálního kvadrantu hlavy dolní skořepy u nemocných s nealergickou vazomotorickou rýmou. Autoři měřili mukociliární transport sacharinovým testem a nosní průchodnost před a po operaci a bylo zjištěno zlepšení nosní průchodnosti u většiny nemocných, mukociliární transport nebyl ovlivněn.

Synechie nosní přepážky a laterální stěny nosní dutiny

Laserové ošetření je vhodnou, nekrvavou metodou chirurgické léčby. Po discizi synechie je výhodné zavést do dutiny nosní silastikový splint, který brání znovuoobnovení synechie. Je vhodné pravidelně stírat ronící se fibrin, který se tvoří v místě ošetření.

Nosní polypy

Pomocí laseru v místní anestezii lze s minimálními bolestmi vaporizovat nosní polypy. Jedná se však o časově náročný výkon a je nutné užít vysokou energii laserového paprsku. Selkin (25) nezjistil rozdíl mezi klasickou a laserovou polypektomií při srovnání množství peroperačního krvácení, výskytu pooperačního krvácení a především doby k následné recidivě nosních polypů.

Atrézie choan

V roce 1978 Healy (dle Simpsona /26/) popsal prvně ošetření choanální atrézie CO₂ laserem. Muntz (20) využívá též laser k transnazálnímu ošetření choanální atrézie, přičemž určitým omezením metody jsou deformity nosní přepážky, hypertrofie dolní skořepy, vysoké tvrdé patro a jiné kraniofaciální deformity. Autor konstatuje horší výsledky při dlouhodobém používání dilatačního stentu, který vede ke granulacím a následné stenóze. Proto doporučuje ošetření laserem s minimálním dobou použití stentu.

Vrozená hemoragická teleangiektazie (Morbus Rendu-Osler)

Využívá se především flexibilního vlákna Nd:YAG laseru, které má možnost dobré manipulace v nosní dutině a současně koaguluje větší cévy.

Onemocnění slzných cest

KTP laser byl použit k odstranění slzné kosti před otevřením slzného vaku při dakryocystorinostomií.

Mezi obecné výhody intranazální laserové chirurgie patří dobrá hemostáza, malé peroperační ztráty krve, minimální pooperační otok okolních tkání, dobré hojení a možnost užití ve všech věkových kategoriích.

Komplikace laserové chirurgie v nosní dutině a vedlejších nosních dutinách

Rizikem je možnost tepelného poškození okolních tkání a struktur v oblasti báze lebni a očníce. Při použití Nd:YAG laseru dochází k hluboké penetraci do tkání. Tento typ laseru má schopnost absorpce v tmavých tkáních (hemoglobin, melanin). U Nd:YAG laseru hrozí největší riziko poranění okolních struktur. U diodového laseru, vzhledem k menší penetraci paprsku, k podobným poškozením nedochází.

3. Dutina ústní, hltan a jícen

Ronchopatie

Chrápání postihuje přibližně 50 % mužské a 30 % ženské populace. Je však třeba odlišit pomocí polysomnografie prosté chrápaní, které se projevuje pouze zvukovým fenoménem, od ronchopatie spojené s apnoickými pauzami. Tento stav se nazývá obstrukční sleep apnoe syndrom (OSA). Jedna z možných příčin chrápaní je způsobena obstrukcí dýchacích cest a vibrací měkkých tkání v úrovni měkkého patra. Chirurgická léčba spočívá v odstranění uvuly a části měkkého patra metodou laserem asistované uvulopalatoplastiky (LAUP), kterou vyvinul Kamami (dle Ossoffa /21/) v Paříži v roce 1980. CO₂ laserem je vaporizována uvula a dále jsou provedeny oboustranné vertikální nářezy v oblasti měkkého patra. Výkon je doporučeno provádět v místní anestezii, kdy je možné v průběhu operace sledovat, zda zvukový fenomén chrápaní je snížen nebo vymizel zcela.

Mezi možné komplikace patří pooperační krvácení, trvalá změna hlasu, dočasná nebo trvalá regurgitace stravy do nosní dutiny, výjimečně dehydratace.

Hypertrofie patrových tonzil, chronický zánět patrových tonzil

Laseru lze využít u tonzilektomie, zvláště pak u tonzilotomie, kdy je odstraněna pouze část patrové tonzily. Laserová tonzilotomie se provádí zvláště u dětí s prostou hypertrofií patrových tonzil, bez opakovaných bakteriálních zánětů patrových mandlí. Při ošetření laserovým paprskem se ušetří část lymfatické tkáně a po operaci jsou menší bolesti a jizvení lymfatické tkáně tonzil je minimální, tedy menší pravděpodobnost uzavření tonzilárních krypt. Laserový paprsek lze využít k řezání a k vyjmutí části či celé patrové tonzily, a nebo k vaporizaci tonzilární tkáně, kterou využívá Krespi (17), jenž v tomto případě hovoří o kryptolýze patrové tonzily.

Horský (9) aplikoval biostimulační He-Ne laser u dětí s chronickou tonzilitidou, došlo k sanaci zánětlivého ložiska a přitom byla zachována fyziologická funkce patrových tonzil.

Tumory dutiny ústní a hltanu

Laser lze využít ke konzervativní chirurgii benigních (hemangiom, papilom, fibrom) i maligních (karcinom) tumorů dutiny ústní a hltanu. Výhodou je minimální krvácení, nízká morbidita, snížení pooperačních bolestí, zkrácení doby hospitalizace a příznivý kosmetický efekt vzhledem k transorálnímu přístupu, jak uvádí Panje (22). Betka (4) využívá CO₂ laser k řešení tumorů jazyka.

Ektopická štítná žláza na kořeni jazyka

CO₂ laserem odstranil ektopickou štítnou žlázu na kořeni jazyka u dvou případů Astl (1) s velmi dobrým pooperačním efektem při polykání.

Zenkerův jícnový divertikl

Pomocí laserového paprsku lze protnout při endoskopii práh jícnového divertiklu.

4. Ucho

Sekretorická otitida

Laserová myringotomie je výhodná u sekretorické otitidy, jelikož hojení bubínku trvá delší dobu než u klasického protěti bubínku paracentzní jehlou. Söderberg (27) preferuje CO₂ laserovou myringotomii místo zavedení ventilační trubičky u nemocných se sekretorickou otitidou vzhledem k menšímu riziku ireverzibilních změn na bubínku v podobě tympanosklerózy či atrofie bubínku. První zkušenosti s CO₂ laserovou myringotomii u sekretorické otitidy v naší literatuře uvádí Hubáček (12). Klačanský (15) uvádí výhody CO₂ laserové myringotomie: hojení termického poranění bubínku trvá delší dobu (kolem 20 dnů při perforaci 2 mm v průměru) než mechanické poranění paracentzní jehlou, výkon je v místní anestezii nebolestivý a při laserové myringotomii není nutné do zvukovodu vkládat ušní zrcátko či jiný nástroj.

Mezotympanální perforace bubínku

Hubáček (12) využil argonového a CO₂ laseru k fixaci Zenodermové fólie při myringoplastice. Úspěšnost při použití argonového laseru byla v 75 % a u CO₂ laseru v 60 %.

Otoskleróza

U třmínkové chirurgie se využívá laser k vaporizaci šlachy třmínkového svalu a ramének třmínku. Dále pak následuje vytvoření okénka v plotničce třmínku v podobě rožety a zavedení pistonové protězy.

Prvně využil laser v otologii Sataloff (dle Profanta /23/) v roce 1967 u stapedotomie, kdy byl použit neodymový laser. U třmínkové chirurgie jsou dnes využívány dva typy laseru (18). Nekontaktní CO₂ laser, který je aplikován mikromanipulátorem, má výhodu vysoké absorpce ve vodě, tedy při proniknutí laserového paprsku plotničkou třmínku dochází k jeho pohlčení v perilymfě a je minimální riziko poranění okolních struktur. CO₂ laser penetruje v perilymfě pouze do hloubky 0,01 mm dle Jovanovice (13) a dle Profanta (23) 0,1 mm. Vzestup teploty perilymfy by neměl přesáhnout o 0,2 - 0,3 °C. Nekontaktní CO₂ laser je výhodný, jelikož nejsou nutné mechanické manipulace v oblasti středního ucha, dále je precizně vytvořen okrouhlý otvor v plotničce třmínku, což minimalizuje migraci třmínkové protězy. CO₂ laser má však méně výhodné optické vlastnosti, jelikož je technicky obtížné udržet světelný helium neonový a laserový CO₂ paprsek koaxiálně.

Druhá možnost je argonový či KTP laser s výhodným použitím vlákna k vedení laserového paprsku. Vlákno je přiloženo do těsné blízkosti struktur, které chirurg požaduje ošetřit či přerušit. Tyto lasery procházejí do větší hloubky a jsou absorbovány v pigmentovaných buňkách, proto hrozí riziko poranění struktur vnitřního ucha. Argonový a KTP laser mají výhodné optické vlastnosti, ale méně výhodné tkáňové vlastnosti pro výše uvedenou velkou penetranci. Energie argonového a KTP laseru nesmí být aplikována na oblast otevřeného vestibula.

Výhody a nevýhody jednotlivých typů laseru u třmínkové chirurgie srovnal v literatuře například Lesinski (18) a Jovanovic (13).

5. Kůže

Především se využívá argonový laser k léčbě bohatě vaskularizovaných nádorů, a to vzhledem k minimálnímu krvácení. V posledních letech je používán CO₂ v kosmetické chirurgii.

Biostimulační He-Ne laser usnadňuje léčbu herpes labialis a aftózní stomatitidy. Hubáček (11) vysvětluje tuto skutečnost stimulací obranných pochodů organismu, dochází k tvorbě lyzozymu, zvýšení fagocytózy, stimulaci T a B lymfocytů a imunoglobulinů IgA.

Komplikace laserové chirurgie

O rizicích laserové chirurgie referuje Betka (2). Mezi obecné komplikace patří poškození nemocného či pracovníků operačního sálu zbloudilým či odraženým paprskem. Odražený paprsek vzniká při kontaktu paprsku s lesklým, hladkým povrchem, nejčastěji s kovovým předmětem. Mezi nejzávažnější komplikace laserové chirurgie hrtanu patří vzplanutí materiálu intubační rourky a poranění stěny dýchacích cest. U laserů používaných v kontaktním režimu je riziko poškození sníženo.

Obecné principy práce s laserem

Laserové pracoviště musí být dostatečně vybaveno a je třeba dodržovat bezpečnost práce při použití laseru. Všichni členové operačního týmu a sálový personál musí používat ochranné brýle, výjimkou jsou oči chirurga, který pracuje s operačním mikroskopem. Pro každý typ laseru jsou určena speciální skla brýlí podle vlnové délky laserového paprsku. Oči nemocného jsou přelepené a současně kryty mokřým mulem. Taktéž je nutné krýt kůži nemocného a ruce osob manipulujících s laserovým paprskem. Všechny dveře operačního sálu musí být v době použití laseru zavřeny. V případě práce s laserem v cestách dýchacích a polykacích je třeba chránit intubační kanylu nehořlavým materiálem, například vlhkým mulem nebo speciální lepicí páskou z hliníku. Manžetu intubační kanyly je vhodné plnit fyziologickým roztokem. Je možné využít supraglotické tryskové ventilace. Při laserových výkonech v oblasti hrtanu a průdušnice je nepostradatelná spolupráce s anesteziologem.

Závěr

Použití laseru v chirurgii hlavy a krku přináší řadu výhod, především se jedná o snížení krvácení, pooperačních edémů a bolestí. Ve většině indikací jde o alternativní metodu klasické chirurgie nebo elektrokoagulace. Úspěšnost laserové chirurgie je samozřejmě dána znalostí základních principů působení laseru na živou tkáň a dodržováním bezpečnostních opatření při práci s laserem. Jedině tak je možné využití laseru v medicíně.

Literatura

1. Astl J, Slaviček A et al. Instrumentální a laserová chirurgie ektoepické štítné žlázy na kořeni jazyka. *Cesk Otorinolaryngol Foniatr* 1992;41:262-6.

2. Betka J, Klozar J et al. Komplikace CO₂ laserové chirurgie v oblasti hlavy a krku. *Cesk Otolaryngol* 1989;38:321-7.
3. Betka J. Principy CO₂ laseru a jeho využití v chirurgii. *Novinky v medicíně* (51), Praha: Avicenum, 1990:7-44.
4. Betka J, Taudy M et al. Clinical application of the CO₂ laser in head and neck surgery. *Cesk Otolaryngol Foniatr* 1993;42:203-17.
5. Deeb ZE, Arenstein MH et al. A new simple technique for tracheoesophageal puncture. *Laryngoscope* 1992;102:837-8.
6. Crockett DM, Reynolds BN. Laryngeal laser surgery. *Otolaryngol Clin North Am* 1990;23:49-66.
7. Fišer F, Hájek M et al. Ošetření jizevnatých tracheobronchiálních stenóz fibrolaserem. *Cesk Otorinolaryngol Foniatr* 1992;41:129-34.
8. Fontenot R, Bailey BJ et al. Endotracheal tube safety during laser surgery. *Laryngoscope* 1987;97:919-21.
9. Horský P, Hušek K et al. Biostimulační He-Ne laser v léčbě chronické tonzilitidy dětského věku. *Cesk Otolaryngol* 1991;40:27-33.
10. Horský P. Využití helio-neonového laseru v pooperační péči o dětské pacienty. *Cesk Otorinolaryngol Foniatr* 1992;41:82-5.
11. Hubáček J, Uvzl M et al. Zkušenosti s léčbou aftózní stomatitidy a herpes labialis zářením He-Ne laseru. *Cesk Otorinolaryngol Foniatr* 1992;41:276-80.
12. Hubáček J, Hložek Z et al. Zkušenosti s laserovou myringoplastikou a myringotomií. *Otorinolaryngol (Prague)* 1995;44:3-5.
13. Jovanovic S, Schnfeld U. Application of the CO₂ laser in stapedotomy. *Adv Otorhinolaryngol Basel*, Karger 1995;49:95-100.
14. Kawamura S, Fukutake T et al. Subjective results of laser surgery for allergic rhinitis. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1993;(suppl 500):109-12.
15. Klačanský J, Profant M et al. CO₂ laser v chirurgii ucha. *Otorinolaryngol. (Prague)* 1995;44:119-21.
16. Klozar J, Betka J et al. Léčba papilomatózy hrtanu laserem. *Cesk Otorinolaryngol Foniatr* 1992;41:78-81.
17. Krespi YP, Ling EH. Laser assisted serial tonsillectomy. *Abstrakta Eastern section, Triological Society, Ottawa, Canada, January 1994.*
18. Lesinski SG. Lasers for otosclerosis - which one if any and why. *Laser Surg Med* 1990;10:448-57.
19. Mladina R, Risavi R et al. CO₂ laser anterior turbinectomy in the treatment of non-allergic vasomotor rhinopathy. A prospective study upon 78 patients. *Rhinology* 1991;29:267-72.
20. Muntz HR. Pitfalls to laser correction of choanal atresia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1987;96:43-6.
21. Ossoff RH, Coleman JA et al. Clinical application of lasers in otolaryngology - head and neck surgery. *Lasers Surg Med* 1994;15:217-48.
22. Panje WR, Scher N et al. Transoral carbon dioxide laser ablation for cancer, tumors, and other diseases. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;115:681-8.
23. Profant M, Kuniak B et al. Stapedotómia laserem. *Cesk Otolaryngol Foniatr* 1993;42:217-21.
24. Ryšánková J, Krpěnský A et al. Amyloidóza dýchacích cest. *Cesk Otorinolaryngol Foniatr* 1993;42:41-4.
25. Selkin SG. Pitfalls in intranasal laser surgery and how to avoid them. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1986;112:285-9.
26. Simpson GT, Shapshay SM et al. Rhinologic surgery with the carbon dioxide laser. *Laryngoscope* 1982;92:412-5.
27. Söderberg O, Hellström S et al. Myringotomy made by CO₂ laser - an alternative to the ventilation tube? *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1984;97:335-41.
28. Stasche N, Foth HJ et al. Schwingungsanalyse des menschlichen Trommelfells durch Laser-Doppler-Vibrometrie - Neue Methode der objektiven Mittelohr-Diagnostik. *Otorinolaryngol* 1994;43:3-7.
29. Werhaven J, Maddern BR et al. Posttracheotomy granulation tissue managed by carbon dioxide laser excision. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989;98:828-30.

**MUDr. Viktor Chrobok, CSc.,
Katedra otorinolaryngologie LF UK a FN,
500 05 Hradec Králové.**

KASUISTIKA

**TŘI PŘÍPADY PLICNÍ GRANULOMATÓZY
Z LANGERHANSOVÝCH BUNĚK**

Pavel Rožánek¹, Vladimír Molnár², Milan Rešp³

Klinika tuberkulózy a respiračních nemocí FN a LF UK v Hradci Králové;
(přednosta: MUDr. I. Špásová, CSc.)¹

Plicní oddělení nemocnice v Pardubicích;
(vedoucí: MUDr. V. Molnár, CSc.)²

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN v Hradci Králové;
(vedoucí: prof. MUDr. I. Šteiner, CSc.)³

Summary

Langerhans cells granuloma, three observations.

Histiocytic diseases form a diverse group of disorders, being characterized by an infiltration and accumulation of cells of the monocytic-macrophage series in the involved tissues. The lung involvement, formed by dissemination of nodules-granulomas, where the principal element are Langerhans cells, accompanied by eosinophilic leucocytes, was diagnosed in three young adult persons. In all of them the diagnose was based on the histologic picture and on the presence of protein S 100 in histologic specimens investigated at the Institute of Pathology. Clinical signs and the evolution under treatment were much less uniform end presented all the variability of symptomatology and curability which has been often described in the literature.

Key words: Histiocytic diseases; Langerhans cells granuloma; Pulmonary interstitial disease

Souhrn

Rozmanitá skupina histiocytárních chorob je vesměs charakterizována infiltrací monocytárních makrofágů nahromaděných v postižených tkáních. Postižení plicního intersticia tvoří rozsev uzlíků, což jsou granulomy, v nichž hlavní složkou jsou Langerhansovy

buňky doprovázené nahromaděnými eosinofily. Onemocnění bylo diagnostikováno u 3 mladých dospělých osob, u všech z histologického obrazu spolu s průkazem proteinu S-100 ve vzorku tkáně ve Fingerlandově ústavu patologie. Klinické projevy a vývoj při léčbě byly mnohem méně uniformní a předváděly rozdíly v příznacích a léčitelnosti, jak se vyskytují popsané v literatuře.

Plicní granulomatóza z Langerhansových buněk - anebo běžněji „plicní histiocytóza X“, či méně přesně „eosinofilní granulom“ - je nepříliš častou afekcí, která se v současnosti posouvá do popředí zájmu. Se zdokonalením mykomorfologické diagnostiky po usnadnění plicní biopsie přibýlo diagnostikovaných případů, které mezi plicními intersticiálními procesy představují několik procent. Je možné, že dříve tyto případy nebyly odlišovány od podobných plicních afekcí. Všechny tři případy, o nichž referujeme, se vyskytly přibližně ve stejné době ve dvou spolupracujících velkých východočeských nemocnicích, kde byla na pneumologii a chirurgii provedena potřebná vyšetření, zatímco definitivní patologická diagnóza je dílem Fingerlandova ústavu patologie v Hradci Králové.

Vlastní pozorování

1. 43letý muž, bosenské národnosti, byl poslán k hospitalizaci pro nález mnohočetných okrouhlých stínků v obou plicích zjištěný na skiagramu plic, zhotoveném po třítydenním trvání obtíží považovaných za chřipku. Měl rýmu, pocity zimy, pocení, slabost, později kašel, převážně bez expektorace, bolesti vlevo v axilární ploše hrudníku.

Kouřil od svých 13 let kolem 25 cigaret denně.

Pacient byl vysoký robustní muž, mírně obézní, bez známek dušnosti, poruch prokrvení či kašle. Fyzikální vyšetření bez pozoruhodností až na opakovaně zjištěnou hypertenzi - TK okolo 180/105, užíval Isoptin SR 120 mg denně. EKG: normální křivka.

V době přijetí měl jen pocitu únavy a slabosti.

Z laboratorních vyšetření: FW 22/48. V krevním obraze byla červená složka normální, $Le=10,6^3$ při normálním rozpočtu. Základní minerální ionty, dusíkaté látky, jaterní zkoušky včetně alkalické fosfatázy a elektroforézy krevních bílkovin byly v normě. Organové protilátky byly negativní, cirkulující imunokomplexy negativní, latex negativní, LE buňky nenalezeny.

Mykobakteria tbc neprokázána opakovanými kultivacemi, ani jejich DNA nezjištěna.

RTG plic: Diseminované okrouhlé stíny v obou plicích s převahou v horních a středních polích, bez postižení oblastí nad kostofrenickými úhly, stíny středně syté, lehce nepravidelného tvaru, velikosti 0,5-1 cm, okolní parenchym hrubší struktury s výraznější intersticiální kresbou, v níž zachyceny uzlíky velikosti 1-3 mm. **CT vyšetření plic:** „metastázy v plicním parenchymu“.

Posouzení rtg obrazu nás vedlo, stejně jako odesílajícího zkušeného pneumologa, k podezření na diseminaci nádoru z dosud neurčeného zdroje. S tím kontrastoval celkově dobrý tělesný stav. Pátrání po primárním nádoru neprokázalo v tomto smyslu nic v břišních orgánech a GIT při žádném z cílených vyšetření, též nic pro TU prostaty či štítné žlázy.

Scintigrafie skeletu: Dvě drobná ložiska zvýšené metabolické aktivity v levém hleznu - spíš benigní, po traumatu (?). Susp. mírné chronické zánětlivé změny i v oblasti levého kolena a pravého tarsu.

Perfuzní scintigrafie plic: Mírné poškození perfuze bilaterálně.

Regionálně R/L: horní pole 10 %:10 %, střední 26 %:23 %, dolní 21 %:10 %.

Fibrobronchoskopie: Malá šedorůžová vyklenutí stěny bronchů ve vstupu do některých subsegmentárních větví - v apikálním segmentu pravého horního laloku a v apikokaudálním segmentu. Histologie excize nebyla diagnostická: epitelální kryt z části benigně dlaždicobuněčně metaplastický.

Cytologie stěru ze sliznice bronchu: Erytrocyty, leukocyty, lymfocyty, ciliární buňky, ojedinělé atypické polymorfní buňky, „malignitu nelze vyloučit, II-III dle Papanicolaou“.

Spirometrie: FVC 5.59=94 %, FEV1 4.54=94.7 % náležitých hodnot, MEF a MEFR mezi 100 a 110 % normy, Tiffeneau 81.6 %.

Průběh: Afebrilní, bez potíží kromě anxiózy. Po 1 měsíci vyšetřovacího pobytu byla indikována videotorakoskopická explorace s biopsií, neboť nálezy, především rtg a fibrobronchoskopie, svědčily pro nádorový původ ze zdroje, který jsme neodhalili.

Dne 14.3.1996 byla provedena torakotomie s biopsií: pleurální dutina byla volná, bez výpotku. Protože vizuálně nebyly patrné změny, byla provedena palpáce a odebrán vzorek z oblasti horního laloku vlevo.

Vyšetření vzorku plicní tkáně patologem: Neporušený pleurální kryt s třemi ložisky 4-6 mm, šedobílé barvy. Pleura není infiltrována. Mikroskopicky jsou ložiska dobře ohraničena jen lehkou fibroprodukcí, nejsou cysticky transformována a vzhledem k jejich velikosti nelze určit eventuelní predilekci. Některá ložiska propadají nekróze a jeví intenzivní infiltraci eosinofilními leukocyty. Druhá hojná buněčná populace je tvořena středně velkými buňkami s ovoidním chromatinem, slabě vybarveným jádrem. Ta často mají charakteristický zářez, mnohdy jsou lehce protažena s naznačeným tzv. epiteloidním uspořádáním. Tyto buňky jeví intenzivní expresi S-100 proteinu. Lymfocytární účast téměř chybí. Bronchioly a intersticiem mimo zmíněná ložiska nejeví významné změny.

Závěr: Eosinofilní granulom (plicní forma histiocytózy X) - doc. Rešl.

Již při návratu z chirurgické kliniky jsme zjistili na skiagramu nově vytvořené operační pleurální plastické změny, naopak plicní rozsev byl podstatně méně výrazný. K resorpci došlo bez předchozí cílené léčby. Prednison byl nasazen až po obdržení histologického výsledku, za ambulantního doléčování, které začalo po 3 týdnech od operace. Došlo přitom k další pozvolné resorpci rozsetých stínů. Klinicky se však objevila dušnost, při obstruktivní dysfunkci zaviněné bronchitidou, která si vyžádala podávání beta-2-sympatomimetik, Prednison ponechán dlouho v udržovací dávce 5 mg denně.

2. Muž narozený roku 1970, v době onemocnění stár 25 let. V září 1995 vznikl spontánní pneumotorax vpravo, na chirurgii v Pardubicích zaveden hrudní drén. Po rozvinutí plicce byl přeložen na plicní oddělení, neboť se na rtg snímku zjistil nejasný nález typu intersticiálního plicního procesu. Už asi 3 měsíce před příhodou začaly symptomy plicního onemocnění - kašel, dušnost. Zhubnutí (asi 15 kg během 1 roku) připisoval nepravidelné životosprávě.

Fyzikální vyšetření: normální nález.

Laboratorně: FW 27/hod., leukocytoza 13-15.000, zvýšená hodnota frakce alfa 2 globulinů, ostatní výsledky normální.

RTG: Intersticiální proces s tvorbou drobných cystiček, obraz voštiny.

CT plic: ztlustění perivaskulárního i peribronchiálního intersticia, mlhovitě zvýšení density svědčící pro aktivitu procesu.

Fibrobronchoskopický nález byl normální.

Echokardiogram: Známky počínající hypertrofie pravé komory.

Po **biopsii z plice**, provedené videotorakoskopickým přístupem na Kardiochirurgické klinice FN v Hradci Králové, zjištěna diagnóza: **histiocytóza X-eosinofilní granulom**, popsána vazivová přestavba, ložiskové nekrózy s četnými Langerhansovými buňkami exprimující S-100 protein. Známky plicní hypertenze.

Zahájena terapie kortikoidy v počáteční dávce 80 mg Prednisonu denně, koncem října 1995. Léčba nevedla k podstatnému zlepšení subjektivnímu ani objektivnímu, rtg nález se neměnil. Při funkčním vyšetření stále trvala kombinovaná středně těžká ventilační dysfunkce a velmi výrazné omezení difuzní plicní kapacity. Pro neuspokojivý efekt dlouhodobého podávání kortikoidu byl nasazen od 20. května 1996 azathioprin (preparát Imuran 2x50 mg denně), tato medikace pokračuje, dávka Prednisonu se snížila na 10 mg denně. Během léta 1996 se na rtg projevila částečná, ale zřetelná regrese ve srovnání s lednem 1996. Později se už rtg ani klinický obraz příliš nemění. Nemocný se cítí uspokojivě, při námaze se zadýchá.

3. Nemocná narozená roku 1969, nemoc zjištěna v jejich 25 letech, na podzim 1994. Od jara téhož roku léčena několikrát pro susp. respirační infekci, přetrvával intermitentní kašel a na RTG plic zjištěna oboustranná retikulonodulace. Až na nevýrazný kašel byla pacientka bez obtíží, laboratorní nálezy byly v normě, ventilace bez poruchy až na lehké omezení difuzní plicní kapacity.

Fibrobronchoskopie s normálním nálezem, transbronchiální plicní biopsie zastihla jen normální plicní tkáň. Proto byla indikována plicní biopsie při videotorakoskopii: biotická dg. ukázala primární plicní histiocytózu X. Všechna doplňující vyšetření vyloučila postižení dalších orgánových systémů, zejména skeletu. Byl nasazen Prednison v úvodní dávce 60 mg denně, v udržovací dávce 10 mg pokračuje dosud. Po několika měsících léčby došlo na rtg k částečné regresi, další nálezy se už neměnily. Lehké omezení plicní difuzní kapacity přetrvává. Nemocná je v invalidním důchodu, nicméně bez obtíží, snáší i přiměřenou zátěž, chodí cvičit. Přibrala 15 kg na váze při dlouhodobé kortikoterapii.

Diskuse

Všechny 3 kasuistiky popisují případy onemocnění, které se správně nazývá **granulomatóza z Langerhansových buněk**, jiné vžitě a méně správné názvy jsou **histiocytóza X** či **eosinofilní plicní granulom**. Toto onemocnění v každém případě patří mezi histiocytární choroby, mezi něž dále patří i histiocytóza mononukleárních buněk jiných než Langerhansových a dále i maligní histiocytóza.

Langerhansovy buňky náleží do rodiny buněk nazývaných histiocyty. Jsou to tkáňové makrofágy a patří k nim jaterní Kupferovy buňky, alveolární makrofágy, obří buňky

v granulomech, osteoklasty a kožní Langerhansovy buňky. Všechny jsou odvozeny z prekursoru v kostní dřeni, který zraje v obíhající krevní monocyt a usídluje se a diferencuje v různé druhy tkáňových histiocyty. Chorobné stavy, relativně benigní, bývají spojeny s proliferací histiocyty a jejich spojováním do mnohojaderných buněk, které tvoří granulomy. Granulomatóza z Langerhansových buněk je nemoc charakterizovaná množním a infiltrací tkání histiocyty a eosinofily. V protikladu k dřívějšímu názvu „eosinofilní granulom“ je nyní známo, že primárně zodpovědné jsou Langerhansovy buňky. Eosinofily jsou přitahovány chemotaxí, faktory uvolňovanými z histiocyty. Tato afekce také nemá žádný vztah ke skupině eosinofilních syndromů.

Klasifikace je obtížná pro rozmanitost histologického obrazu jednotlivých chorob, i u téhož pacienta mohou mít léze rozmanitý vzhled. Průběh a prognóza nekoreluje s histopatologickými nálezy. Termín „*histiocytóza X*“, který zahrnoval *granulomatózu z Langerhansových buněk*, *Hand-Schüller-Christianovu nemoc* (=TRIAS exoftalmu, diabetes insipidus a destrukce kostí v oblasti tureckého sedla) a *nemoc Letterer-Siweho*, nevyjadřoval rozdíly v klinickém průběhu, postižení orgánů a odpovědi na léčbu. Nejlépe charakterizované idiopatické histiocytózy tedy zahrnují *unifokální* a *multifokální granulomatózy z Langerhansových buněk* a *Letterer-Siweho nemoc*.

„*Unifokální*“ jsou obvykle ojedinělou kostní lézí, málokdy v jiných orgánech, nejsou v plicích. Letterer-Siweho syndrom je skoro vždy u malých dětí, má špatnou prognózu, léčí se cytostatiky a Prednisonem. Postihuje četné orgány, ne plice.

Multifokální granulomatóza z Langerhansových buněk se často vyskytuje u dětí, hlavně chlapců, často jako kostní léze, často lebky. V části těchto případů pak symptomy tvoří typický obraz *Hand-Schüller-Christianovy* choroby, která je jednotkou uvnitř syndromu multifokální granulomatózy z Langerhansových buněk. Plice jsou důležitým mimokostním sídlem postižení, které bývá u mladých dospělých mužů (tomu odpovídají naše případy 1 a 2), často se projevuje kašlem, pneumotoraxem (případ 2) a celkovými příznaky (všechny 3 případy). RTG ukazuje difuzní mikronodulární a intersticiální postižení středních a dolních polí s relativním ušetřením kostofrenických úhlů. Může se vytvořit voštinová plice, fibróza je vzácná a může vyvolat cor pulmonale (případ 2). Spirometricky je vidět restriční dysfunkci. Diagnózu stavíme nejlépe na biopsii. Průběh bývá rozmanitý, nevzácně dojde ke *spontánní remisi* (případ 1), horší prognózu mají hodně mladí a hodně staří nebo jedinci s postižením více orgánů.

Diagnóza: laboratorní vyšetření pro ni nepřináší nic, nebývá leukocytóza ani eosinofilie. Bioticky se nejčastěji vyšetřuje kostní léze (u našich 3 pacientů diagnóza vesměs stojí na plicní biopsii). Je přínosná imunoperoxidázová reakce, která prokáže cytoplazmatický protein S-100. Jsou zde pěníte makrofágy, přimíšené eosinofily, v Langerhansových histiocytech bývají cytoplazmatické inkluze typického vzhledu, tzv. „X-těliska“.

Léčení: léčba se liší podle postiženého orgánu. Iradiace (při ohraničeném kostním postižení), kortikoidy, při neúspěchu různá cytostatika, z nich nový *cladribin* (2-chlorodeoxyadenosin) mohou přivodit úspěch i dramatický u generalizovaného postižení. Recidivy bývají málokdy. Rozmanitost průběhu, patrná i u našich 3 nemocných, a zcela běžná, nedovoluje stanovit obecně platná pravidla léčby.

Naš případ 1 měl charakteristické rysy průběhu nemoci, jak je popisován. Typické potíže, výrazná kuřácká anamnéza (kuřáci tvoří 60 % postižených). Nález na scintigra-

fii kostí mohl svědčit pro kostní postižení, které bývá časté. Nápadný byl spontánní ústup rtg nálezu před zahájením léčby, krátce po torakoskopii. To vše je uváděno v literatuře často, zatímco fibrobronchoskopický nálezn jsme v literatuře popsany nenašli. Kontrolní fibrobronchoskopii nám pacient neumožnil. Případ 2 patří mezi ty, které mají torpidní léze, léčbou málo ovlivněné, se znaky přechodu ve fibrózu a následně cor pulmonale. Měl typický začátek - s vytvořením pneumotoraxu.

Literatura

1. Adam Z, Kavan P, Vorliček J, Koutecký J. Histiocytární choroby. Klin Onkol 1997;10:167-73.
2. Hammar SP. Pulmonary Histiocytosis X (Pulmonary Langerhans Cell Granulomatosis). In: Dail DH, Hammar SP. Pulmonary pathology. 2nd ed., Springer, 1992.
3. Brewis RAL et al. eds. Respiratory Medicine. Balliere Tindall:London, 1990:1559.
4. Fishman AP. Pulmonary Diseases and Disorders, 2nd ed., New York:Companion Handbook, McGraw-Hill Inc., 1993:519.

*Doc. MUDr. Pavel Rožánek, CSc.,
Horova 124,
500 02 Hradec Králové.*

Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové, 43, 1998, 5-6, 133-135

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

PŮSOBNÍ INFRAČERVENÉHO LASEROVÉHO ZÁŘENÍ NA OSTEOMYELITICKÝ KMEN STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Egon Procházka, Karel Karpaš, Miroslav Hejzlar

Ortopedická klinika LF UK a FN v Hradci Králové;
(přednosta: doc. MUDr. K. Karpaš, CSc.)
Oddělení klinické mikrobiologie LF UK a FN v Hradci Králové;
(vedoucí: doc. MUDr. J. Horáček, CSc.)

Summary

Effects infrared laser radiation on the osteomyelitis stem Staphylococcus aureus.

The authors present results of the experiment with osteomyelitic stem Staphylococcus aureus. This stem cultivated in nutrient medium was exposed to the effect of a ray of helium-neon laser in 632,5 nm. Result of the experiment: helium-neon lasers is inapplicable for decontamination of the osteomyelitic cavity.

Key words: Laser; Osteomyelitis

Souhrn

V tomto sdělení autoři předkládají výsledky experimentu, ve kterém vystavili osteomyelitický kmen Staphylococcus aureus nakultivovaný na živné médium působení helium-neonového laseru produkujícího záření o vlnové délce 632,5 nm. Z výsledků pokusu vyplývá nevhodnost tohoto typu laseru k dekontaminaci osteomyelitických dutin.

Úvod

Laser (Light amplification by Stimulated Emission of Radiation) je zařízení schopné produkovat monochromatické, úzce směřované, koherentní a polarizované záření (1). Monochromaticnost záření umožňuje selektivně využít rozdílnou průchodnost a absorpci různých vlnových délek v různých cílových tkáních. Pro tyto své vlastnosti nacházejí lasery v medicínské praxi stále větší uplatnění (2).

V rámci výzkumu použití laserů v ortopedii jsme na našem pracovišti ve spolupráci s oddělením klinické mikrobiologie provedli experiment, ve kterém jsme hodnotili vliv záření infračerveného laseru na kultury *Staphylococcus aureus*, který patří mezi nejčastější agens způsobující osteomyelitidy. Výsledky tohoto experimentu měly ukázat možnosti použití infračervených laserů k dekontaminaci osteomyelitických dutin a defektů.

Metoda provedení experimentu

V našem pokusu jsme použili helium-neonový laser třídy 3 B, pracující na vlnové délce 632,5 nm, s maximálním výkonem 10 mW, se zabudovaným scannerem. Jako testovací agens byl vybrán čerstvě izolovaný kmen *Staphylococcus aureus* 15/597. Z kolonií čerstvě narostlých na diagnostické půdě byl odebrán vzorek naředěný fyziologickým roztokem NaCl na densitu 0,5 dle zákalové stupnice McFardou. Z každého ředění byla naočkována standardní Petriho plotna s Nutrien Agarem No.II Oxoid množstvím 0,1 ml příslušného ředění *Staphylococca* a inokulum bylo rozptýleno na povrchu půdy skleněnou tyčinkou. Byly zhotoveny paralelně celkem 3 řady: 1 řada kontrolní a 2 řady sloužící k expozici laserovému záření. Inokulované půdy byly po odkrytí vystaveny laserovému záření pomocí scanneru po určitou expoziční dobu, jak je patrné z tabulky 1 a 2. Ozářené plotny spolu s kontrolní řadou byly dány do inkubátoru, kde rostly při teplotě 37 °C. Po 18 hodinách od expozice byly plotny vyhodnoceny podle počtu a charakteru narostlých kolonií v jednotlivých ředěních.

Kontrolní řada půd byla připravena stejným způsobem, ale plotny nebyly ozářeny.

Vždy 2 pokusné řady byly postupně exponovány laserovému záření, a to v prvním pokusu jedna řada 3 minuty, druhá řada 5 minut a v druhém pokusu jedna řada 5 minut, druhá řada 10 minut.

Výsledky experimentu jsou shrnuty v tabulkách 1 a 2.

Tab. 1: Ovlivnění počtu kolonií *Staphylococcus aureus* po expozici laserovým zářením 3 a 5 minut.

Číslo plotny	Ředění inokula	Počty kolonií na jednotlivých plotnách		
		kontroly	kultura exponovaná laserovému záření expoziční 3 minuty	expoziční 5 minut
1.	10 ⁻²	splývavý růst	splývavý růst	splývavý růst
2.	10 ⁻³	více než 10 ⁴	více než 10 ⁴	více než 10 ⁴
3.	10 ⁻⁴	5 x 10 ³	3,5 x 10 ³	4,5 x 10 ³
4.	10 ⁻⁵	334	440	197
5.	10 ⁻⁶	112	92	102
6.	10 ⁻⁷	8	6	8

Tab. 1: Ovlivnění počtu kolonií *Staphylococcus aureus* po expozici laserovým zářením 5 a 10 minut.

Číslo plotny	Ředění inokula	Počty kolonií na jednotlivých plotnách		
		kontroly	kultura exponovaná laserovému záření expoziční 3 minuty	expoziční 5 minut
1.	10 ⁻²	splývavý růst	splývavý růst	splývavý růst
2.	10 ⁻³	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵
3.	10 ⁻⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
4.	10 ⁻⁵	1000	1000	1000
5.	10 ⁻⁶	112	125	114
6.	10 ⁻⁷	6,12	6,11	14,17

Závěr

Z výsledků pokusů vyplývá, že laserové záření helium-neonového laseru při daných expozičních prakticky neovlivňuje růst kmene *Staphylococcus aureus* způsobujícího osteomyelitidy, proto tento typ laseru není vhodný pro daný účel (3). Dle prací Whippleho by pro tento účel použití lépe vyhovoval carbon-dioxidový laser pracující s vlnovou délkou 10,65 micrometrů a vyšším výkonem. Helium-neonový laser je využitelný spíše k léčbě tendopatií a úžinových syndromů.

Literatura

1. Sherk HH. The Use Lasers of Orthopaedic Procedures. J Bone Joint Surg 75 A 1993;5:768-76.
2. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomechanical effects of laser applications. Lasers Surg Med. 1985;5:31-9.
3. Meyers AD, Joyce J, Cohen JJ. Effects low-watt helium-neon laser radiation on human lymphocyte cultures. Lasers Surg Med 1988;6:540-2.
4. Whipple TL. Laser wound debridement and decontamination. American Academy of Orthopaedic Surgeons Course Syllabus. Laser Applications in Orthopaedics, Richmond, Virginia Oct. 1992;9-10.

MUDr. Egon Procházka,
Markova 562,
500 02 Hradec Králové 4.

ZE ŽIVOTA FAKULTY

Zpráva z 394. plenárního zasedání Fyziologické sekce České lékařské společnosti J. E. Purkyně v Hradci Králové a pobočky Československé biologické společnosti v Hradci Králové dne 4. března 1998

**VYŠETŘENÍ ZDRAVOTNÍHO STAVU OSOB
VE SVÁŘEČSKÝCH PROVOZECH**

Jaroslav Tejral, Vladimír Srb, Jindra Šmejkalová, Zdeněk Fiala, Petr Bednarčík

Katedra hygieny a preventivního lékařství LF UK v Hradci Králové
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně v Hradci Králové

V longitudinální studii, která se zabývala změnami zdravotního stavu svářečů nerezových ocelí a kotlárů připravujících „stehování“ technologické nádoby k potravinářským účelům, bylo vyšetřeno celkem 96 svářečů a 20 kotlárů (celkem 116 osob) a 116 osob kontrolní skupiny, které pracují jako úředníci a technicko-hospodářští pracovníci. Vedle toho bylo vyšetřeno 19 jeřábnic ze svářečských hal a 26 hasičů profesionálního hasičského sboru, u kterých jsme předpokládali přibližně stejnou míru environmentální i psychické zátěže.

Kromě souboru vyšetření biologicko-medicinského monitoringu byly sledovány i parametry pracovního ovzduší. Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že nejcitlivěji na pracovní ovzduší reagovala cytogenetická analýza periferních lymfocytů, a to u všech skupin, které byly vystaveny svářečským dýmům (tj. svářeči i kotláři). Před realizací ozdravných opatření hygienickou službou se počty aberovaných buněk pohybovaly vesměs v pásmu zvýšené genetické/genotoxické zátěže. Po provedení ozdravných opatření došlo ke snížení počtu chromozomových aberací do úrovně, která nespovídá o zvýšeném genetickém/genotoxickém riziku.

Cytogenetická analýza lymfocytů periferní krve jeřábnic prokázala stejnou citlivost jako u svářečů a kotlárů. Pracovní prostředí jeřábnic však nebylo totožné se svářeči z hlediska koncentrací svářečských dýmů (aerosolu, chromu, niklu a manganu). Zjištěné hladiny zdaleka nedosahovaly nejvyšší přípustných koncentrací. Uvedené nálezy nevysvětlovaly zvýšené procento aberovaných buněk při cytogenetické analýze, neboť i koncentrace organických rozpustidel byly hluboko pod NPK-P. Po literární a příčinné analýze jsme začali hledat další možné vlivy. Ukázalo se, že v dýchacích zónách jeřábnic jsou koncentrace polycyklických aromatických uhlovodíků v řadě ukazatelů vyšší než na živé křižovatce stotisícového města. Proto přisuzujeme zvýšený počet aberací pe-

riferních lymfocytů u jeřábnic nejspíše vlivu polycyklických aromatických uhlovodíků.

Velmi podobné hladiny polycyklických aromatických uhlovodíků byly naměřeny i v dýchacích zónách svářečů. Vtírá se otázka, zda nálezy genetických/genotoxických změn jsou způsobeny pouze účinky svářečských dýmů, či zda se neuplatňují další vlivy, které zatím nebyly sledovány.

Zařazení skupiny profesionálních hasičů do sledovaných souborů se neukázalo jako vhodné. Přes některé podobné profesionální charakteristiky jde přece jenom o zátěž poněkud jiného druhu.

Z vyšetření shora uvedených profesí vyplývá, že je nutno věnovat dostatečnou péči po odchodu na odpočinek či do jiného zaměstnání nejen svářečům nerezových ocelí, a kotlárům, ale také jeřábnicím v provozech, kde jsou svařovány nerezové materiály.

Získané výsledky předpokládáme předložit příslušnému resortnímu ministerstvu k uvážení, zda by nebylo vhodné upravit obsah preventivních prohlídek shora uvedených profesí.

*Doc. MUDr. Jaroslav Tejral, CSc.,
Katedra hygieny a preventivního lékařství LF UK,
Šimkova 870, 500 01 Hradec Králové.*

Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové, 43, 1998, 5-6, 139-140

ZE ŽIVOTA FAKULTY

Zpráva z 394. plenárního zasedání Fyziologické sekce České lékařské společnosti J. E. Purkyně v Hradci Králové a pobočky Československé biologické společnosti v Hradci Králové dne 4. března 1998

BIOLOGICKÉ MONITOROVÁNÍ CHEMICKÉ EXPOZICE (POLYCYKICKÉ AROMATICKÉ UHLOVODÍKY)

Zdeněk Fiala

Katedra hygieny a preventivního lékařství LF UK v Hradci Králové

V důsledku celé řady lidských aktivit zaznamenáváme již delší dobu značnou kontaminaci všech složek životního prostředí velkým množstvím chemických látek. Po celou dobu svého života je člověk více či méně vystaven jejich komplexním účinkům. Ochrana zdraví exponovaných osob, ať již v pracovním či mimopracovním prostředí, spočívá v kontrole kontaminace prostředí (monitorování prostředí) a kontrole „vnitřní expozice“ osob (biologické monitorování). Kontrola „vnitřní expozice“ může zahrnovat stanovení vnitřní dávky, biologicky účinné dávky nebo časné biologické odpovědi organismu na expozici.

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) představují všudypřítomné kontaminanty životního prostředí. Vznikají při spalování, pyrolýze a pyrosyntéze organické hmoty a jsou spojeny s velkým počtem přírodních a technologických procesů (lesní požáry, koksárenské technologie, spalovny, rafinerie ropy, doprava, vytápění tuhými palivy a plynem, kouření, grilování a uzení potravin apod.). Ve skupině PAU najdeme celou řadu látek s karcinogenním potenciálem, které pro svůj účinek vyžadují bioaktivní reakce, mající za následek tvorbu reaktivních metabolických intermediátů. Biologicky aktivní elektrofilní metabolické intermediáty mohou vytvářet kovalentní vazby s nukleofilními centry (atomy dusíku, síry a kyslíku) biologicky důležitých molekul (DNA, RNA a proteinů) za vzniku tzv. „adduktů“. Monitorování expozice PAU se skládá z monitorování prostředí (ovzduší, půda, voda), pro které bylo vybráno 12 reprezentativních PAU, a monitorování biologického, ve kterém je pozornost věnována stanovení koncentrace 1-hydroxypyrenu v moči a stanovení koncentrace proteinových adduktů (albumin, hemoglobin) plazmy.

Výsledky naší studie, zaměřené na možnosti hodnocení profesionální (koksárenští dělníci) a neprofesionální (populace v okolí koksáren) expozice osob PAU, naznačují, že monitorování ovzduší má pro hodnocení zdravotního rizika expozice PAU jen omeze-

nou validitu. Cesta perorálního příjmu PAU potravou může zřejmě sehrát při hodnocení celkového zdravotního rizika expozice velmi významnou roli. Z tohoto důvodu považujeme albuminové addukty za vhodný nástroj biologického monitorování, užitečný především pro hodnocení integrované (smíšené) expozice osob polycyklickým aromatickým uhlovodíkům.

*Ing. Zdeněk Fiala, CSc.,
Katedra hygieny a preventivního lékařství LF UK,
Šimkova 870, 500 01 Hradec Králové.*

LÉKAŘSKÉ ZPRÁVY, 43, 1998, č. 5 - 6

**LÉKAŘSKÉ ZPRÁVY LÉKAŘSKÉ FAKULTY UNIVERZITY KARLOVY
V HRADCI KRÁLOVÉ**

Vydala Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové v nakladatelství
Karolinum, Praha

Editor: doc. MUDr. Vladimír Geršl, CSc.

Redakční rada: předseda: prof. MUDr. B. Král, CSc.

Členové: MUDr. V. Bartáková, CSc., doc. MUDr. J. Horáček, CSc.,
doc. MUDr. J. Jandík, CSc., MUDr. J. Mokřý, CSc., doc. MUDr. O. Pozler, CSc.,
MUDr. I. Tůma, CSc., prof. MUDr. Z. Vobořil, DrSc.

Výkonná a jazyková redaktorka: Mgr. Marcela Macháčková

Adresa redakce: Redakce LF UK, Dlouhá ul. 91-92, 500 01 Hradec Králové
Tel.: (049/ 5816 532)

Sazba a tisk: Bartošova tiskárna, s.r.o., Kalendova 688, Hradec Králové

Náklad 450 výtisků

Vydání I.

Vyšlo v říjnu 1998