

PIRO koncept – „P“ (predispozice) a seps

Průcha M., Maťoška V.

Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie, Nemocnice Na Homolce, Praha

Souhrn

Písmeno „P“ v klasifikačním „PIRO“ konceptu pro sepsi znamená „predispozice“. Metody molekulární biologie umožňují zjišťovat genetické predispozice u monogenních i polygenních chorob. Seps představuje příklad polygenního onemocnění. Stanovení genetického polymorfismu u parametrů vrozené imunity, mediátorů zánětu a hemokoagulačních faktorů představuje jeden z možných přístupů. Využití metody DNA mikročipů se stanovením genové exprese tisíců genů současně je nesmírně slibnou diagnostickou možností pro budoucnost. Nutné jsou koordinované velké studie pro racionální použití těchto diagnostických metod.

Klíčová slova: DNA mikročipy – genetický polymorfismus – PIRO koncept – predispozice – seps

Abstract

PIRO concept – „P“ (predisposition) and seps

The letter „P“ means „predisposition“ in the PIRO concept for the staging of seps. Different methods of molecular biology enable us to determine the genetic predisposition in both monogenic and polygenic diseases. Seps represents an example of a polygenic disease. The determination of genetic polymorphism of inflammatory mediators, parameters of innate immunity and haemocoagulation factors represent just one approach. The DNA microarray technology holds a promise to monitor the interaction of thousands of genes simultaneously and represents the diagnostic tool of the future. It will be necessary to coordinate clinical trials in order to make good use of these diagnostic methods.

Key words: DNA microarray – genetic polymorphism – PIRO concept – predisposition – seps

Anest. intenziv. Med., 16, 2005, č. 4, s. 203–209.

Úvod

Seps je systémová odpověď na infekci. Je to však také klinický syndrom s velmi širokým spektrem pacientů, kteří se liší věkem, přidruženými onemocněními, vyvolávajícími patogeny, rozdílnou lokalizací infekce a postižením jednotlivých systémů. Mezinárodní konsenzuální konference amerických a evropských společností intenzivní medicíny v roce 2001 schválila tzv. PIRO koncept, s cílem lepšího poznání patogeneze seps a její definice. PIRO koncept (česky: predispozice, infekce, odpověď a orgánová dysfunkce) je koncepčně postaven na podobných principech jako TNM klasifikace nádorových onemocnění, která je úspěšně využívána v klinické onkologii. Písmeno P (predispozice) je již v současné době spojeno s predispozicemi genetické povahy. Metodický rozvoj molekulární biologie v posledním desetiletí přinesl obrovský nárůst poznatků o této problematice. V následujícím přehledu chceme podat informace o genetických predispozicích u pacientů se sepsi, které byly publikovány.

Metodologické přístupy ke zjišťování genetických predispozic

Dne 14. dubna 2003 bylo oznámeno dokončení projektu „Human Genom“ s popsáním kompletní sekvence lidského genomu. Stalo se tak 50 let po publikaci Watsona a Cricka, ve které popsali strukturu lidské DNA. V posledních letech geometrickou řadou přibývá prací zabývajících se vlivem genetických predispozic na vznik a průběh různých onemocnění. Je nepochybné, že kromě genetických predispozic se na průběhu choroby podílejí také vliv prostředí a druh poškození. Pokroky v biotechnologiích a bioinformatice poskytují nové možnosti ke stanovení predikce vnímavosti jedince k danému onemocnění a klinickému průběhu. Seps jako multifaktoriální onemocnění je výzvou pro hledání takových souvislostí.

Variabilita genomu v populaci není na první pohled nijak velká. Odhaduje se 0,1% rozdíl mezi jednotlivci. Tyto rozdíly se nazývají genetickou variací – polymorfismem. Podle definice je polymorfismus odlišnost v genetické sekvenci, která se nachází v populaci s četností větší než 1%. Polymorfismem může být záměna nukleotidu za nukleotid, inserce nukleotidu(ů) nebo jejich delece (chybění). Polymorfismy se

mohou vyskytovat jak v kódujících, tak v nekódujících oblastech genomu. Ale i polymorfismy a mutace v nekódujících oblastech mohou mít dramatický vliv na fenotypové projevy. Většinou se jedná o změny, které zasahují do struktury a procesu transkripce a genové exprese.

Nejčastějším polymorfismem je záměna jedné nukleotidové báze (single nucleotide polymorphism – SNP). Tento polymorfismus se vyskytuje přibližně na 500–1000 bázích DNA. Je snaha objasnit možný příčinný vztah těchto změn ke vzniku a průběhu chorob, k ovlivnění reakce pacienta na podání léků [1]. Problematiku vztahu genomu a onemocnění nemůžeme chápat izolovaně, bez vztahu k celé buněčné biologii. Kromě genomu se na funkci buňky a orgánů podílí řada dalších procesů – transkriptomika (messenger RNA), proteomika (proteiny), fyziomika (komunikační sítě a cesty přenosu signálu) a biotika (buněčný fenotyp) [2]. A tak odpověď jedince na poškození závisí na jeho genotypu pouze zčásti.

Při hledání polymorfismů a mutací lze uplatnit několik molekulárně genetických přístupů. Klasickou metodou, která má nejširší uplatnění u mendelovské dědičnosti (modelu jeden gen – jedna choroba, a tedy jedna mutace/polymorfismus – jeden genotyp), je vazebná analýza. Pokud se v rámci vazebné analýzy prokáže vazba genetického lokusu s onemocněním genetickými markery (dnes jsou to nejčastěji mikrosatelitní sekvence), začíná v dané oblasti hledání mutace nebo polymorfismu, který je pro daný fenotyp onemocnění v dané rodině kauzální. Tento přístup je však nevýhodný pro polygenní a komplexní onemocnění, jakým je např. seps.

Vhodnějším přístupem je tzv. associated study design (skupinová forma studie), kde jsou ke studiu vybrány polymorfismy genů, které hrají potenciální roli v patogenezi onemocnění. Tato forma studie musí být prováděna na velkých skupinách pacientů, protože kauzalita polymorfismu je výsledkem statistického zpracování četnosti daného polymorfismu ve skupině nemocných a zdravých. Jsou v mnohém ohledu efektivnější, zejména u nemocí, které jsou výsledkem modulace odpovědi organismu prostřednictvím mnoha genů a prostředí. Mají ale také svoje interpretační úskalí. Chybou, která vyplývá z charakteru studie, je prokazování spojitosti mezi polymorfismem a nemocí, kde ve skutečnosti není žádný reálný vztah – polymorfismus může způsobit falešnou interpretaci své kauzality (může být lokalizován na rozdílu od kauzálního chromozómu na úplně jiném chromozómu, nebo být součástí jiné genové skupiny nebo genu). Studie může být zatížena chybou zvýšeného výskytu polymorfismu a onemocnění specificky v určité populaci nebo rase, i když reálně mezi nimi vztah neexistuje. Zde je největší problém asociačních studií při odhalování kauzality. Pro vyloučení těchto chyb se asociační studie doplňují TDT (transmission disequilibrium test), ve kterém se zkoumá přítomnost zdánlivě kauzálních polymorfismů u předešlé generace. Tento test vychází z předpokladu, že fenotyp pacienta je

výsledkem přítomnosti určité alely (alel), a tedy rodiče, kteří jsou heterozygotní pro tuto alelu(alely), ji museli předat svým potomkům. V případě převahy přítomnosti určité alely (alel) u nemocných je pravděpodobná její(jejich) vazba k onemocnění.

Interpretační chyby se rovněž mohou omezit vhodnou velikostí souboru a kontrol. Pro dosažení 80% pravděpodobnosti odhalení asociace polymorfismu v daném lokusu je podle Longa a Langleyho nutné mít v tomto typu studie minimálně 500 subjektů.

Role genomu u sepse

Genotyp ovlivňuje incidenci a závažnost infekčních onemocnění. Spojení genomické variability jedince s incidencí a klinickým průběhem u zánětlivých a infekčních onemocnění byla prokázána v mnoha studiích. Jednou z prvních byla práce Sorensena et al. prokazující závislost úmrtní dětí v důsledku infekční choroby, kterým biologický rodič zemřel na infekci před 50. rokem života – relativní riziko 5,8 [3]. Další důkazy přinesly studie u dvojčat a výskytu tuberkulózy, lepry, poliomyelitidy a hepatitidy B [4].

Seps je multifaktoriální onemocnění s mnoha nescifickými symptomy [5]. Částečně je tato skutečnost zapříčiněna tím, že zánět – jeden z hlavních patofyziologických mechanismů – není charakteristický pouze pro sepsi. Zánět nacházíme u široké škály onemocnění, pro která infekční etiologie není podmínkou.

Genetické polymorfismy parametrů vrozené imunity u sepse

Seps představuje systémovou zánětlivou reakci organismu na infekci. Etiologicky se u septických stavů uplatňují bakteriální, virová, mykotická i parazitární agens. U gramnegativní infekce je základní strukturou její patogenity endotoxin, resp. lipid A. Podobné účinky jako endotoxin mají struktury grampozitivních bakterií – teichoová a lipoteichoová kyselina, kapsulární lipopolysacharid a skupinově specifické karbohydráty. Pro navození imunitní odpovědi u gramnegativní infekce je nezbytná vazba LPS k receptoru monocytárních fagocytů – k molekule CD14, což je 53 kDa glykoproteinový receptor exprimovaný na povrchu myelomonocytárních buněk [6]. Kromě této buněčné formy existují dvě solubilní formy CD14 (sCD14), které prostřednictvím vazby k LPS indukují rozvinutí zánětlivé kaskády. Proteinem, bezprostředně odpovědným za vazbu LPS k molekule CD14, je lipopolysacharid vázající protein (LBP) produkovaný játry, který je přítomen v plazmě [7]. Funkčně příbuzný je baktericidii/permeabilitu zvyšující protein (BPI) produkovaný polymorfonukleáry. BPI je cytotoxický pro gramnegativní bakterie, ale inhibuje vazbu LPS k CD14 pozitivním monocytům [8].

Byla zkoumána závislost mezi polymorfismem CD14, LBP a BPI a klinickým průběhem u pacientů v sepsi. Nezávislé studie popsaly zvýšenou koncentraci sCD14 v séru u pacientů s gramnegativním i grampozitivním septickým šokem a zvýšenou mor-

talitu těchto pacientů [9, 10]. Genetický polymorfismus promotoru pro CD14 na pozici -159 (C-159) byl spojen s vyšší koncentrací solubilního a membránového CD14, ale nebyl provázen vyšší mortalitou [11]. Naproti tomu francouzští autoři popsali vyšší výskyt septického šoku u pacientů homozygotních v T alele. TT genotyp byl spojen s vyšším rizikem letality (odds ratio 5,3), nezávisle na alele pro tumor nekrotizující faktor [12]. Polymorfismus BPI a LBP (pro BPI Lys216Glu, Pst1(T → C) v intronu 5 a G535C; pro LBP Cys98Gly a Pro436Leu) nebyl významně rozdílný u pacientů v sepsi a u kontrolní skupiny [13].

Jednu z důležitých skupin receptorů uplatňujících se při rozpoznávání cizorodých struktur bakteriálního, virového i parazitárního původu představují Toll-like receptory (TLRs) [14]. Mutace v TLR4 genu (Pro712His) stejně jako delece (chybění) TLR4 vedou ke snížené odpovědi na purifikovaný lipopolysacharid, ale zároveň ke zvýšené vnímavosti na gramnegativní infekci [15]. Mutace na 299 pozici (Asp299Gly) a Thr399Ile na extrabuněčné doméně TLR4 snižovala reaktivitu na podání lipopolysacharidu [16]. Francouzská studie neprokázala rozdílnou prevalenci těchto mutací u pacientů v sepsi a v kontrolní skupině. Naproti tomu u pacientů v septickém šoku byla přítomna v pěti případech mutace Asp299Gly, zatímco v kontrolní skupině nebyla žádná [17]. Studie Read et al. neprokázala závislost mezi Asp299Gly TLR4 polymorfismem a vnímavostí nebo závažností meningokokové infekce [18]. Smirnovová et al. zjistili, že 7,5 % meningokokové sepse u populace britských pacientů je způsobeno mutací TLR4 [19]. Defektní TLR2 gen predikuje zvýšenou vnímavost k infekci grampozitivními bakteriemi [20]. Možnou souvislost mezi mutací TLR2 Arg753Gln a septickým šokem popsal Lorenz et al. [21]. Tyto rozdíly jen znovu dokumentují velkou variabilitu ve fenotypu sepse.

Polymorfismus cytokinů a jejich receptorů

V patogenezi sepse hraje důležitou roli rovnováha nebo dysbalance pro- a protizánětlivých cytokinů. Ze skupiny prozánětlivých cytokinů je to tumor nekrotizující faktor α (TNF- α), interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), protizánětlivé se uplatňuje interleukin 4 (IL-4), interleukin10 (IL-10), interleukin13 (IL-13) a transformující růstový faktor β [22].

TNF- α

TNF- α je jedním z nejlépe prostudovaných cytokinů v patogenezi sepse. Vedle škodlivého účinku zvýšené syntézy TNF- α se však může negativně uplatňovat také jeho nedostatečná produkce [23]. Kompletní zabránění účinku TNF- α vedlo k vysoké letalitě u experimentálních zvířat. Při použití rekombinantního solubilního receptoru pro TNF(rsTNFR) byla mortalita pacientů, kteří dostávali vysoké koncentrace rsTNFR, vyšší než ve skupině léčené placebem [24]. Doposud byly popsány dva polymorfismy pro TNF lokus asociované s jeho produkcí. Bi-alelic-

ký polymorfismus na pozici 308 (G308–TNF1 alela) a (A 308–TNF2 alela) je spojen se zvýšenou produkcí TNF- α *in vivo* [25]. Studie těchto polymorfismů u pacientů se sepsí nemají jednoznačné výsledky. V německé studii nebyla zjištěna závislost mezi TNF2 polymorfismem a těžkou sepsí [26]. Tang et al. rovněž neprokázali predispozici TNF2 alely ve vztahu k výskytu septického šoku nebo zvýšené mortality. U pacientů-heterozygotů pro TNF2 polymorfismus, kteří se dostali do septického šoku, byla však koncentrace TNF- α v séru a mortalita vyšší ve srovnání s pacienty-homozygoty s TNF1 [27]. K podobným závěrům dospěl Mira et al. [28]. V americké studii naopak mělo nosičství TNF1 haplotypu protektivní vliv na rozvoj sepse [29]. Polymorfismus pro TNF- β (TNFB2 homozygoti) byl v německé studii spojen s vyšší mortalitou a vyšší koncentrací TNF- α u pacientů po chirurgických výkonech nebo u traumatických pacientů [30, 31]. Převládá názor, že TNFB2 polymorfismus je ve vazebné nerovnováze s TNF1 polymorfismem, která naznačuje možnou kauzální roli u sepse.

IL-1 β a IL-1RA

Pro IL-1 β gen byly zjištěny dva bi-alelické polymorfismy – Aval polymorfismus na pozici -511 a TaqI polymorfismus na pozici +3953 [32, 33]. Polymorfismus genu pro IL-1RA (A2 alela v intronu 2) je spojen s vyšší produkcí IL-1RA po stimulaci *in vitro* [34, 35]. Výskyt těchto polymorfismů u sepse byl předmětem několika studií. Fang et al. zjistili vyšší četnost IL-1Ra A2 alely u pacientů s těžkou sepsí ve srovnání s kontrolní skupinou – zdravými jedinci [36]. Nebyla zjištěna závislost ke klinickému výsledku a výskytu IL-1 β nebo IL-1Ra alely. Ke stejným závěrům dospěli Ma et al. [37]. Nelišila se četnost polymorfismů IL-1 α a IL-1 β mezi pacienty se sepsí a kontrolní skupinou zdravých. Výskyt polymorfismu IL-1 α 2, IL-1 β Aval a IL-1Ra A2 byl však spojen s vyšší mortalitou ve skupině septických pacientů. Arnalich et al. prokázali závislost mortality a výskytu homozygocie IL-1RaA2 ve skupině pacientů s těžkou sepsí, neprokázali však závislost rizika vzniku sepse a přítomnosti tohoto polymorfismu [38]. Naproti tomu čínská studie Penglina et al. [39] prokázala závislost rizika vzniku sepse a polymorfismu IL-1RN2 – genotyp RN2 a RN2/2 byl významně častější u skupiny septických pacientů proti kontrolní skupině ($p < 0,01$, resp. 0,05). Kromě toho genotyp A2/2, B2/2 a RN2/2 predikoval zvýšenou mortalitu u septických pacientů ve srovnání s genotypem A1/1, B1/1 nebo RN1/1 – mortalita 70–80 %, resp. 0–13 %. Z daných výsledků vyplývá potenciální přínos detekce polymorfismů rodiny genů IL-1 pro predikci sepse a mortality, budou však nutné větší studie ve vztahu k rozdílným etnickým skupinám.

IL-6

Další důležitým pleiotropním cytokinem v patogenezi sepse je IL-6. IL-6 působí jako aktivační signál

pro T lymfocyty, indukuje produkci protilátek B lymfocytů spolu s diferenciací cytotoxických T lymfocytů. IL-6 je mohutným induktorem syntézy proteinů akutní fáze – C reaktivního proteinu, fibrinogenu a sérového proteinu A. Úloha interleukinu 6 v patogenezi sepse dosud není spolehlivě objasněna [40]. Účinky IL-6 jsou jednak prozánětlivé – aktivace koagulačního systému, jednak byla prokázána protizánětlivá aktivita na systémové i kompartmentové úrovni [41]. Endogenní IL-6 podporuje obranyschopnost makroorganismu podobně jako TNF [42]. Reinhart et al. v multicentrické studii prokázali, že koncentrace IL-6 > 1000 pg/ml predikuje statisticky významně vyšší mortalitu pacientů [43]. Byl popsán polymorfismus na -174 pozici oblasti promotoru pro IL-6 (G-174C). Přítomnost C alely je spojena s nižší produkcí IL-6. Německá studie neprokázala významné rozdíly ve frekvenci polymorfismu nebo genotypu mezi pacienty se sepsí a bez sepse [44]. GG homozygotie byla spojena s nižší mortalitou ve skupině septických pacientů. Nebyla prokázána závislost mezi genotypem a systémovou koncentrací IL-6. Tyto závěry byly následně potvrzeny ve studii s traumatickými pacienty [45].

IFN- γ

Interferon gama (IFN- γ) produkovaný T lymfocyty a přirozenými zabíječi (NK buňky) má imunoregulační aktivity ve vztahu k expresi HLA-DR II. třídy, produkci IL-1 nebo tumor nekrotizujícího faktoru [46]. Bylo prokázáno, že u pacientů po těžkém chirurgickém výkonu je významným způsobem snížena produkce interferonu- γ [47]. Sepse tuto insuficienci ještě zvyšuje a stav může vyústit do funkční inaktivity monocytů se sníženou expresí MHC značek II. třídy. Interferon- γ působí inhibičně na produkci IL-10 monocytů, inhibuje uvolnění prostaglandinů E2 a stimuluje produkci TNF a IL-1 monocytů. Z tohoto hlediska se jeví jako vhodný kandidát imunomodulační terapie u těchto pacientů [48]. Polymorfismus receptoru pro IFN- γ (IFN- γ R1) a genu pro IFN- γ byl prokázán u traumatických pacientů s následným rozvojem infekčních komplikací [49, 50]. I v tomto případě jsou nutné další studie k potvrzení dosavadních výsledků.

Polymorfismus faktorů endoteliální dysfunkce

Charakteristickým rysem sepse je nepřiměřená aktivace systémové zánětlivé odpovědi s poruchou cévního napětí, nepřiměřenou aktivací leukocytů a poruchou koagulační homeostázy. Dochází k poruchám v produkci koagulačních faktorů [51]. Cytokiny produkované u septických pacientů aktivují jejich koagulační systém. Klíčovou roli má v koagulační kaskádě tkáňový faktor (TF), který je aktivován TNF- α , IL-2, IL-6 [52]. Působení cytokinů vede k redukci fibrinolýzy, poklesu proteinu C a antitrombinu III. Aktivovaný protein C inhibuje faktory Va, VIIa a inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1). Antitrombin III inhibuje extrinsické koagulační faktory Xa, XIa, IIa a plaz-

min. Progredující prokoagulační stav akcentuje zánětlivou odpověď při sepsi [53]. U meningokové sepse je snížený trombomodulin a exprese receptorů pro endoteliální protein C [54]. Vysoká koncentrace PAI-1 je spojována s klinickou prognózou sepse [55, 56]. Byl popsán polymorfismus oblasti promotoru PAI-1 genu (4G/5G) spojený s vyšší koncentrací PAI-1 v plazmě [57].

Skupina zabývající se studiem meningokokových onemocnění srovnávala soubor dětí s meningokokovou infekcí a zdravé děti v kontrolním souboru. Pacienti s genotypem 4G/4C měli významně vyšší koncentraci PAI-1 v plazmě a zvýšené riziko letality ve srovnání s pacienty s genotypem 4G/5G nebo 5G/5G [58]. Ke stejným závěrům dospěli autoři v dánské studii [59]. Nedávná studie potvrdila dříve uvedené výsledky [60]. V souboru 510 dětských pacientů zjistili vyšší letalitu pacientů s PAI-1 genotypem 4G/4G (28,4 %) ve srovnání s genotypem 4G/5G a 5G/5G (14,9 %, $p = 0,005$, RR 1,9, CI 1,2–3,0). U přežívajících pacientů s genotypem 4G/4G byla také statisticky významně vyšší frekvence cévních komplikací. Studie u traumatických pacientů prokázala korelaci 4G/4G genotypu a vyšší koncentrace IL-1, TNF- α a PAI-1 ve srovnání se zdravými dobrovolníky, společně s horší klinickou prognózou [61].

Genová exprese u pacientů v sepsi

Lidský genom obsahuje cca 30–35 000 genů, jejich exprese vede k produkci až desetinásobku proteinů. Jaká je pravděpodobnost kauzální souvislosti mezi mutací nebo genetickým polymorfismem jednoho genu se vznikem choroby a jejím průběhem? Klasický biologický přístup založený na principu „jeden gen v jednom experimentu“ je v posledních letech stále více nahrazován novou technologií – DNA mikročipů (– DNA microarray). Největší předností této technologie je možnost statického i dynamického sledování interakcí tisíců genů současně. Existují dvě hlavní aplikace pro DNA mikročipovou technologii:

1. Identifikace mutací genů.
2. Stanovení genové exprese (určení „kvantity“ expri-movaného genu).

My se budeme podrobněji zabývat aplikací DNA mikročipů na modelu infekce. V posledních 6 letech bylo uveřejněno více než 150 prací zabývajících se genovou expresí na experimentálním nebo humánním modelu infekce [62]. Aktuální jsou dvě představy o uplatnění DNA mikročipů u pacientů v sepsi. První je diagnostická, tzn. že nalezneme takovou skupinu (soubor) genů, která umožní rozlišit zánět infekčního původu od zánětu neinfekčního. Oprávněnost takové úvahy jsme dokumentovali v naší klinické studii [63]. Zjištěný soubor genů by mohl také plnit funkci specifického prognostického znaku pro pacienty v sepsi a predikovat klinický průběh. V neposlední řadě se na základě těchto parametrů může odvíjet indikace elektivních chirurgických výkonů (kardiochirurgické operace). Stanovení genové exprese s využitím pro-

gnostického potenciálu se uplatňuje již u některých hematologických chorob [64]. Logickým pokračováním těchto úvah je využití této metodologie při terapeutických přístupech. Jak ukazují naše nově získaná data (dosud neuveřejněná), exprese genů pro zánětlivých mediátorů, jako jsou např. CRP, PCT, IL-6 a další, je v časných fázích sepse stejná u pacientů v sepsi i v kontrolní skupině bez sepse. Znamená to, že schopnost produkce těchto mediátorů imunitním systémem je primárně stejná v obou skupinách. Liší se však exprese genů spojených s imunitní a zánětlivou odpovědí, apoptózou, obecně s regulačními mechanismy zánětlivé odpovědi. A zde je potenciál pro uplatnění nových diagnostických přístupů, jakými jsou zamezení transkripce v buněčném jádru nebo přenos genů [65].

Závěr

Zjišťování genetických predispozic u sepse se již stalo nedílnou součástí současného klinického výzkumu u kriticky nemocných. Nové technologické postupy a vyspělá výpočetní technika vytvořily vhodné podmínky pro tento rozvoj. Komplexnost změn u polygenního onemocnění, jakým je seps, složitost metodologických diagnostických i vyhodnocovacích postupů ukazují nutnost soustředit tento klinický výzkum na pracoviště s rutinní molekulárně biologickou diagnostikou.

Literatura

1. International SNP MAP Working Group: A map of human genome sequence variation containing 1,4 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 2001, 409, p. 928–933.
2. Chung, T. P., Laramie, J. M., Province, M. et al. Functional genomics of critical illness and injury. *Crit. Care Med.*, 2002, 30, Suppl, S51–S57.
3. Sorensen, T. I., Nielsen, G. G., Anderson, P. K., Teasdale, T. W. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N. Engl. J. Med.*, 1988, 318, p. 727–732.
4. Cooke, G. S., Hill, A. V. S. Genetics of susceptibility to human infectious disease. *Nat. Rev. Gen.*, 2001, 2, p. 967–977.
5. Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B. et al. ACCP/SCCM consensus conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*, 1992, 101, p. 1644–1655.
6. Enghild, J. J., Thogersen, I. B., Salvesen, M. et al. α -macroglobulin from *Limulus polyphemus* exhibits proteinase activity and participates in a hemolytic system. *Biochemistry*, 1990, 29, p. 10070–10080.
7. Triantafyllou, M., Triantafyllou, K. Lipopolysaccharide recognition: CD14, TLRs and the LPS-activation cluster. *Trends Immunol.*, 2002, 23, p. 301–304.
8. Tobias, P. S., Soldau, K., Ivimey, N. M. et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding proteins BPI and LBP from different types of complexes with LPS. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, p. 18682–18685.
9. Landmann, R., Zimmerli, W., Sansano, S. et al. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in Gram-negative septic shock. *J. Infect. Dis.*, 1995, 171, p. 639–644.
10. Burgmann, H., Winkler, S., Locker, G. J. et al. Increased serum concentration of soluble CD14 is a prognostic marker in Gram-positive sepsis. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1996, 80, p. 307–310.
11. Hubacek, J. A., Stuber, F., Frohlich, D. et al. C (-159)T polymorphism within the promoter region of the lipopolysaccharide receptor CD14 is not associated with sepsis development or mortality. *Genes. Immun.*, 2000, 1, p. 405–407.
12. Gibot, S., Cariou, A., Drouet, L. et al. Association between a genomic polymorphism within the CD14 locus and septic shock susceptibility and mortality rate. *Crit. Care Med.*, 2002, 30, p. 969–973.
13. Hubacek, J. A., Stuber, F., Frohlich, D. et al. Gene variants of the bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: Gender-specific predisposition to sepsis. *Crit. Care Med.*, 2001, 29, p. 557–561.
14. Beutler, B. Toll-like receptors: How they work and what they do. *Curr. Opin. Hematol.*, 2002, 9, p. 2–10.
15. Poltorak, A., He, X., Smirnova, I. et al. Defective LPS signaling in CH3/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in Tlr4 gene. *Science*, 1998, 282, p. 2085–2088.
16. Arbour, N. C., Lorenz, E., Schutte, B. C. et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat. Genet.*, 2000, 25, p. 187–191.
17. Lorenz, E., Mira, J. P., Frees, K. L. et al. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with Gram-negative septic shock. *Arch. Intern. Med.*, 2002, 162, p. 1028–1032.
18. Read, R. C., Pullin, J., Gregory, S. et al. A functional polymorphism of toll-like receptor 4 is not associated with likelihood or severity of meningococcal disease. *J. Infect. Dis.*, 2001, 184, p. 640–642.
19. Smirnova, I., Mann, N., Dois, A. et al. Assay of locus-specific genetic load implicates rare Toll-like receptor 4 mutations in meningococcal susceptibility. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, p. 6075–6080.
20. Brightbill, H. D., Libraty, D. H., Krutzik, S. R. et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science*, 1999, 285, p. 732–736.
21. Lorenz, E., Mira, J. P., Cornish, J. L. et al. A novel polymorphism in the toll-like receptor gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect. Immun.*, 2000, 68, p. 6398–6401.
22. Dinarello, C. A. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest*, 1997, 112, 6 Suppl, p. 321S–329S.
23. Nakane, A., Minagawa, T., Kato, K. et al. Endogenous tumor necrosis factor (cachectin) is essential to host resistance against *Listeria monocytogenes* infection. *Infect. Immun.*, 1988, 56, p. 2563–2569.
24. Abraham, E., Wunderink, R., Silverman, H. et al. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor- α in patients with sepsis syndrome. *JAMA*, 1995, 273, p. 934–941.
25. Wilson, A. G., Symons, J. A., McDowell, T. L. et al. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha-promoter on transcriptional activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, p. 3195–3199.
26. Stuber, F., Udalova, I. A., Book, M. et al. -308 tumor necrosis factor (TNF) polymorphism is not associated with survival in severe sepsis and is unrelated to lipopolysaccharide inducibility of the human TNF promoter. *J. Inflamm.*, 1996, 46, p. 42–50.

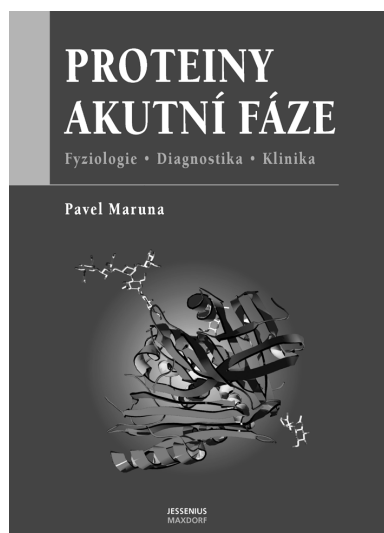
27. Tang, G. J., Huang, S. L., Yien, H. W. et al. Tumor necrosis factor gene polymorphism and septic shock in surgical infection. *Crit. Care Med.*, 2000, 28, p. 2733–2736.
28. Mira, J. P., Cariou, A., Grall, F. et al. Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: A multicenter study. *JAMA*, 1999, 282, p. 561–568.
29. Waterer, G. W., Quasney, M. W., Cantor, R. M. et al. Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia have different TNF polymorphism associations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001, 163, p. 1599–1564.
30. Stuber, F., Petersen, M., Bokelman, F. et al. A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor-alpha concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit. Care Med.*, 1996, 24, p. 381–384.
31. Majetschak, M., Flohe, S., Obertacke, U. et al. Relation of a TNF gene polymorphism to severe sepsis in trauma patients. *Ann. Surg.*, 1999, 230, p. 207–214.
32. Pociot, F., Molvig, J., Wogensen, L. et al. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1992, 22, p. 396–402.
33. di Giovine, F. S., Takhsh, E., Blakemore, A. L. et al. Single base polymorphism at -511 in the human interleukin-1 beta gene (IL1 beta). *Hum. Mol. Genet.*, 1992, 1, p. 450.
34. Tarlow, J. K., Blakemore, A. I., Lennard, A. et al. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum. Genet.*, 1993, 91, p. 403–404.
35. Hurme, M., Santtila, S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes. *Eur. J. Immunol.*, 1998, 28, p. 2598 till 2602.
36. Fan, X. M., Schorder, S., Hoeft, A. et al. Comparison of two polymorphisms of the interleukin-1 gene family: Interleukin-1 receptor antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis. *Crit. Care Med.*, 1999, 27, p. 1330–1334.
37. Ma, P., Chen, D., Pan, J. et al. Genomic polymorphism within interleukin-1 family cytokines influences the outcome of septic patients. *Crit. Care Med.*, 2002, 30, p. 1046–1050.
38. Arnalich, F., Lopez-Maderuelo, D., Codeceo, R. et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and mortality in patients with severe sepsis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2002, 127, p. 331–335.
39. Penglin, M., Dechang, Ch., Jiaqi, P. et al. Genomic polymorphism within interleukin-1 family cytokines influences the outcome of septic patients. *Crit. Care Med.*, 2002, 30, p. 1046–1050.
40. Van der Poll, T., Van Deventer, J. H. *Interleukin-6 in bacterial infection and sepsis: innocent bystander or essential mediator?* In Vincent, J.L. (eds) *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*, Springer 1999, p. 43–54.
41. Tilg, H., Trehu, E., Atkins, M. B. et al. Interleukin-6(IL-6) as an antiinflammatory cytokine“induciton of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. *Blood*, 1994, 83, p. 113–118.
42. Van der Poll, T., Keogh, C. V., Buurman, W. A., Lowry, S. F. Passive immunization against tumor necrosis factor impairs host defense during pneumococcal pneumonia in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1997, 155, p. 603–608.
43. Reinhart, K., Menges, T., Gradlund, B. et al. Randomized, placebo – controlled trial of the anti-tumor necrosis factor antibody fragment afelimomab in hyperinflammatory response during severe sepsis: The RAMSES Study. *Crit. Care Med.*, 2001, 29, p. 765–769.
44. Schluter, B., Raufhake, C., Erren, M. et al. Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (-174G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit. Care Med.*, 2002, 30, p. 32–37.
45. Heesen, M., Obertacke, U., Schade, F. U. et al. The interleukin-6 G (-174)C polymorphism and the ex vivo interleukin-6 response to endotoxin in severely injured blunt trauma patients. *Eur. Cytokine Netw.*, 2002, 13, p. 72–77.
46. Boehm, U., Klamp, T., Groot, M. et al. Cellular response to interferon-gamma. *Annu. Rev. Immunol.*, 1997, 15, p. 749–795.
47. Pollack, M. Blood exchange and plasmapheresis in sepsis and septic shock. *Clin. Infect. Dis.*, 1992, 15, p. 424–430.
48. Nierhaus, A., Montag, B., Timmler, N. et al. Reversal of immunoparalysis by recombinant human granulocyte – macrophage colony stimulating factor in patients with severe sepsis. *Inten. Care Med.*, 2003 (on-line, Springer-Verlag 2003, 10.1007/s00134-003-1666-6).
49. Stassen, N. A., Leslie-Norfleet, L. A., Robertson, A. M. et al. Interferon-gamma gene polymorphisms and the development of sepsis in patients with trauma. *Surgery*, 2002, 132, p. 289–292.
50. Davis, E. G., Eichenberger, M. R., Grant, B. S. et al. Microsatellite marker of interferon-gamma receptor 1 gene correlates with infection following major trauma. *Surgery*, 2000, 128, p. 301–305.
51. Levi, M., Keller, T. T., van Gorp, E., Cate, H. Infection an inflammation and the coagulation system. *Cardiovasc. Res.*, 2003, 60, p. 26–39.
52. Gando, S., Nanzaki, S., Morimoto, Y. et al. Systemic activation of tissue-factor dependent coagulation pathway in evolving acute respiratory distress syndrome in patients with trauma and sepsis. *J. Trauma*, 1999, 47, p. 719–723.
53. Aird, W. C. Vascular bed-specific hemostasis: Role of endothelium in sepsis pathogenesis. *Crit. Care Med.*, 2001, 29, 7, Suppl, p. S28–S35.
54. Faust, S. N., Levin, M., Harison, O. B. et al. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N. Engl. J. Med.*, 2001, 345, p. 408–416.
55. Paramo, J. A., Perez, J. L., Serrano, M. et al. Types 1 and 2 plasminogen activator inhibitor and tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis. *Thromb. Haemost.*, 1990, 64, p. 30–36.
56. Brandyaeg, P., Joo, G. B., Brusieto, B. et al. Plasminogen activator inhibitor 1 and 2, alpha-2-antiplasmin, plasminogen, and endotoxin levels in systemic meningococcal disease. *Thromb. Res.*, 1990, 57, p. 271–278.
57. Eriksson, P., Kallin, B., van Hooft, F. M., et al. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92, p. 1851–1855.
58. Hermans, P. W., Hibberd, M. L., Booy, R. et al. 4G/5G polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. *Lancet*, 1999, 354, p. 555–560.
59. Westendorp, R. G., Hottenga, J. J., Slagboom, P. E. Variation in plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and risk of meningococcal septic shock. *Lancet*, 1999, 354, p. 561–563.
60. Haralambous, E., Hibberd, M. L., Hermans, P. W. M. et al. Role of functional plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism in susceptibility, severity, and outcome of meningococcal disease in Caucasian children. *Crit. Care Med.*, 2003, 31, p. 2788–2793.
61. Menges, T., Hermans, P. W., Little, S. G. et al. Plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and prognosis of severely injured patients. *Lancet*, 2001, 357, p. 1096–1097.
62. Jenner, R. G., Young, R. A. Insights into host responses against pathogens from transcriptional profiling. *Nature Rev. Microbiology*, 2005, 3, p. 281–294.
63. Prucha, M., Ruryk, A., Hinnerk, B. et al. Expression Profi-

ling: Toward an application in sepsis diagnostics. *Shock*, 2004, 22, p. 29–34.

64. van Veer, L. J., Dai, H., van de Vijver, M. J. et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*, 2002, 415, p. 530–536.
65. Mutlu, G. M., Ahkmedov, A. T., Lu, H. et al. Potential genetic therapies for acute lung injury. *Current Gene. Therapy*, 2004, 4, p. 487–495.

Adresa pro korespondenci
MUDr. Miroslav Průcha, Ph.D.
Oddělení klinické biochemie, hematologie
a imunologie
Nemocnice Na Homolce
Roentgenova 2
150 30 Praha 5
miroslav.prucha@homolka.cz

Došlo 7. 5. 2005.
Přijato 10. 5. 2005.



PROTEINY AKUTNÍ FÁZE

Fyziologie, diagnostika, klinika

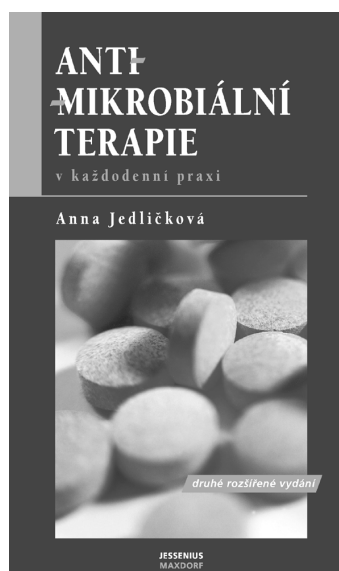
Pavel Maruna

Proteiny akutní fáze jsou integrální součástí zánětlivé odpovědi. Během posledních 30 let si našly pevné místo ve vyšetřovacích algoritmech řady zánětlivých stavů. Přesto nebyla dosud problematika těchto proteinů v české (a podle autorových poznatků ani v cizojazyčné) literatuře komplexně zpracována formou monografie. Předložená práce má tak vyplnit mezeru, která se po vydání několika monografií věnovaných cytokinům (Klener: Cytokiny ve vnitřním lékařství, Grada, 1997, Gürlich a Maruna: Cytokiny v chirurgii, Galén, 2001) otvírá v této vysoce aktuální oblasti vědeckého výzkumu. Autor se snaží nejnovější fyziologické a patofyziologické poznatky o APP zasadit do kontextu dalších zánětlivých ukazatelů. Jeho cílem je nabídnout nejen vědcům, ale především klinickým lékařům komplexní přehled o těchto mediátorech a jejich diagnostickém využití v nejrůznějších lékařských podoborech spolu s kritickým zhodnocením jejich výhod i omezení.

Kniha je v první řadě určena lékařům se zaměřením na intenzivní medicínu a těm odborníkům, kteří se často setkávají s diferenciální diagnostikou zánětlivých procesů (onkologové, hematologové). Věříme, že užitečné informace zde naleznou i další lékaři přicházející do kontaktu se zánětlivými stavy, jako jsou pediatri a chirurgové. S vědomím toho, že problematika proteinů akutní fáze v současné době hluboce zasahuje také do neurologie, kardiologie, pneumologie nebo gastroenterologie, jsme přesvědčeni, že naše kniha bude inspirativní a poučná i pro lékaře těchto a dalších oborů.

Vydal Maxdorf v roce 2004, edice Jessenius, formát A5, váz. ISBN 80-85912-05-8, 288 str., cena 390 Kč

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz



ANTIMIKROBIÁLNÍ TERAPIE (2. vydání)

Anna Jedličková

Od zavedení prvního a dodnes nejznámějšího antibiotika – penicilinu – uplynulo více než 50 let. Dnes dosáhl počet běžně užívaných antibiotik několika set a je možné bez nadsázky říci, že lze najít antibiotikum proti každé bakterii. Velký počet dostupných antibiotik však klade před lékaře zvýšené nároky na výběr, neboť užití nesprávného antibiotika přináší značná rizika. Publikace naší přední odbornice v oblasti antimikrobiální terapie klade důraz na praktičnost a rychlou orientaci.

Vydal Maxdorf v roce 2004, edice Jessenius, formát 110 x 190 mm, váz. ISBN 80-85912-63-5, 356 str., cena 395 Kč

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz