

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Eliška Kutáková

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví (B5345)

Eliška Kutáková

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

**VÝZNAM A HODNOCENÍ HISTOLOPATOLOGICKÝCH
ZNAKŮ ZÁNĚTU SYNOVIÁLNÍ VÝSTELKY KLOUBNÍHO
APARÁTU**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Ondřej Ondič

PLZEŇ 2020

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta zdravotnických studií

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Eliška KUTÁKOVÁ
Osobní číslo:	Z17B0091P
Studijní program:	B5345 Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor:	Zdravotní laborant
Téma práce:	Význam hodnocení histopatologických znaků zánětu synoviální výstelky kloubního aparátu
Zadávající katedra:	Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Zásady pro vypracování

- Zpracovat seznam odborné literatury na vybrané téma
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah bakalářské práce:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

- BARTŮNĚK, Petr. Lymeská borelióza. Praha: Grada Publishing, 2013. ISBN 978-80-247-4355-4
- BUHNER, Stephen Harrod. Borelióza – přírodní prevence a bylinná léčba lymeské boreliózy a jejích koinfekcí. Praha: Stanislav Juhaňák – TRITON, 2014. ISBN 978-80-7387-780-4
- MILLS, Stacey E. Histology for Pathologists. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2012. ISBN 978-1451113037
- GOERING, Richard V. Mimsová lékařská mikrobiologie. Praha: Stanislav Juhaňák – TRITON, 2016. ISBN 978-80-7387-928-0
- KACHLÍK, David. Anatomie pro nelékařské zdravotnické obory. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2018. ISBN 978-80-246-4058-

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Ondřej Ondič**
Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: **18. června 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **31. března 2020**



PhDr. Lukáš Štich
děkan



Mgr. Stanislava Reichertová
vedoucí katedry

V Plzni dne 31. ledna 2020

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl/a v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 30. 4. 2020.

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Kutáková Eliška

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Význam hodnocení histopatologických znaků zánětu synoviální výstelky kloubního aparátu

Vedoucí práce: MUDr. Ondřej Ondič

Počet stran – číslované: 32

Počet stran – nečíslované: 20

Počet příloh: 2

Počet titulů použité literatury: 21

Klíčová slova: Synovie, kloub, Lymfská borelióza, Borelia burgdorferi, spirochety, artritida, zánět, histologie

Souhrn:

Bakalářská práce se zabývá problematikou významu hodnocení histopatologických znaků zánětu synoviální výstelky kloubního aparátu. V teoretické části je popsána základní anatomie kloubního aparátu a je definována histologie a patologie synoviální výstelky a nemoc lymfská borelióza. Praktická část udává spojitost mezi vyšetřovanými znaky a lymfskou boreliózou. A poukazuje na diagnostický potenciál histologické analýzy patientských vzorků.

Abstract

Surname and name: Kutáková Eliška

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Significance of evaluation of histopathological signs of inflammation of the synovial lining of the joint apparatus

Consultant: MUDr. Ondřej Ondič

Number of pages – numbered: 32

Number of pages – unnumbered: 20

Number of appendices: 2

Number of literature items used: 21

Keywords: Synovia, joint, Lyme disease, *Borrelia burgdorferi*, spirochetes, arthritis, inflammation, histology

Summary:

The bachelor thesis deals with the importance of evaluation of histopathological features of inflammation of the synovial lining of the joint apparatus. The theoretical part describes the basic anatomy of the joint apparatus and defines the histology and pathology of the synovial lining and Lyme disease. The practical part shows the connection between the examined features and Lyme disease and points out the diagnostic potential of histological analysis of patient samples.

Předmluva

Chronická oligoartritida je charakteristickým projevem lymské boreliózy ve III. stádiu. V této fázi je nemoc často poddiagnostikovaná. Kombinace histologického vyšetření periartikulární tkáně s následným molekulárně-genetickým testováním může vést ke správné diagnóze.

Poděkování

Děkuji panu doktorovi MUDr. Ondřejovi Ondičovi za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále děkuji pracovníkům Šiklova ústavu patologie a histologie ve Fakultní nemocnici Lochotín za poskytování odborných rad a možnosti pracovat na praktické části bakalářské práce v těchto prostorách.

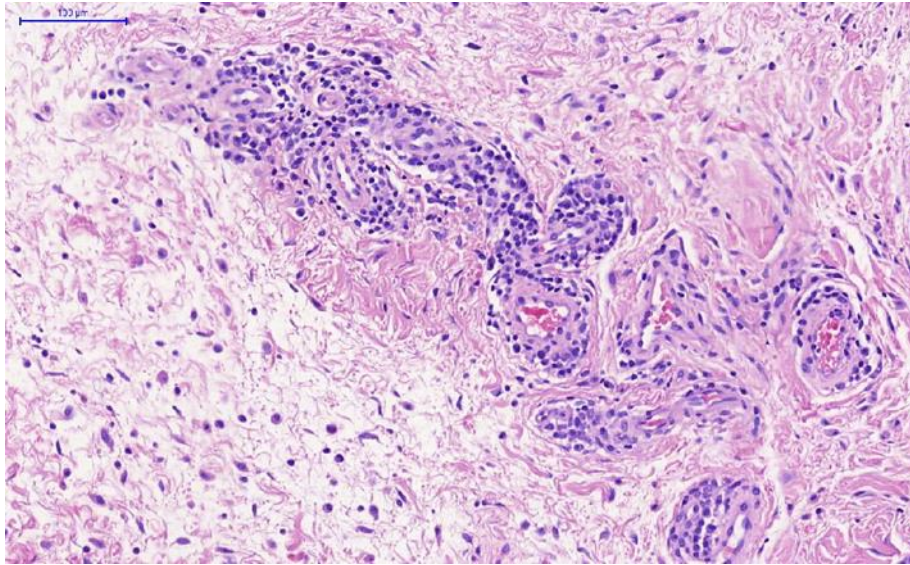
OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	11
SEZNAM TABULEK	12
SEZNAM ZKRATEK	13
ÚVOD.....	14
TEORETICKÁ ČÁST	15
1 ANATOMIE JUNCTURA SYNOVIALIS, ARTICULATIO - KLOUB	15
1.1 Vývoj kloubu	16
1.2 Funkce a stavba kloubních částí	16
1.2.1 Kloubní chrupavka	17
1.2.2 Kloubní pouzdro	17
1.2.3 Kloubní vazy	17
1.2.4 Synoviální membrána	17
1.2.5 Synoviální tekutina	18
1.2.6 Krevní a mízní cévy.....	18
1.2.7 Inervace	18
1.3 Změny způsobené věkem.....	19
1.4 Klasifikace typu kloubů	19
1.4.1 Podle počtu styčných ploch	19
1.4.2 Podle tvaru styčných ploch.....	20
1.5 Pohyby v kloubu	21
1.6 Kloub loketní, articulatio cubiti	22
1.6.1 Pohyby v loketním kloubu.....	22
1.7 Klouby ruky, articulationes manus	22
2 HISTOLOGIE A PATOLOGIE SYNOVIÁLNÍ VÝSTELKY A TEKUTINY KLOUBNÍHO APARÁTU	24
2.1 Histologické znaky synoviální výstelky při poranění a zánětu.....	24
2.2 Synoviální tekutina	25
3 LYMSKÁ BORELIÓZA.....	27
3.1 Mikrobiologie původce nemoci	27
3.2 Historie výzkumu nemoci lymeská borelióza u člověka	28
3.3 Epidemiologie.....	28
3.3.1 Situace výskytu v České republice	29
3.3.2 Prevence a léčba	30
3.4 Zasažení kloubního aparátu	30
PRAKTICKÁ ČÁST	32
2 CÍL A ÚKOLY PRÁCE	32

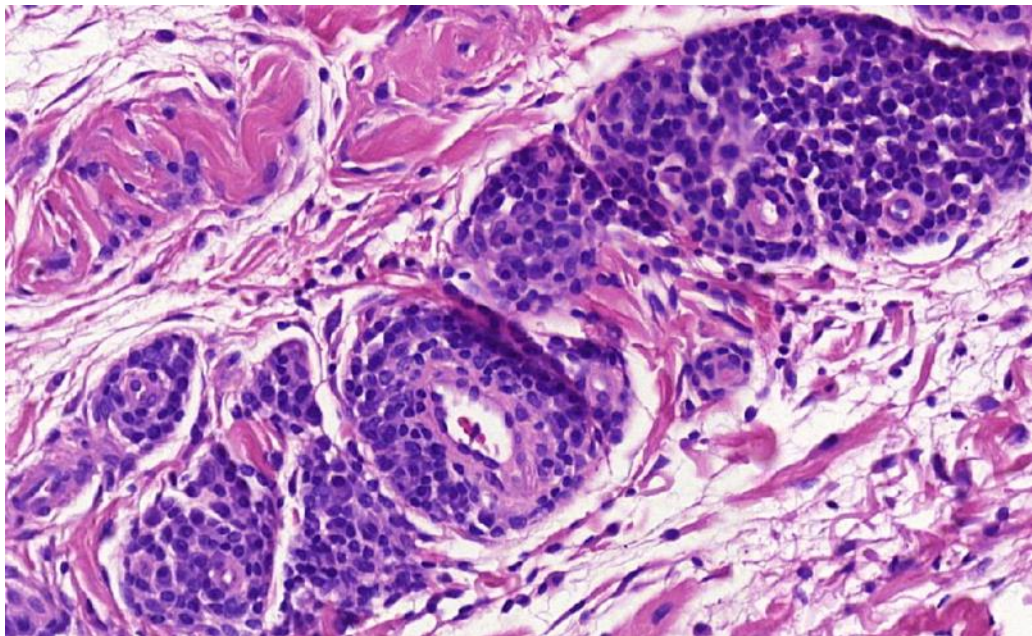
2.1	Hlavní cíl.....	32
3	VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY	33
4	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU	34
4.1	KŮŽE A MĚKKÉ TKÁNĚ	34
4.1.1	Fáze I: Styk člověka s parazitem, kousnutí klíštětem.....	34
4.1.2	Fáze I: Erythema Chronicum Migrans (ECM)	34
4.1.3	Fáze III: Acrodermatitis Chronica Atrophicans	35
4.1.4	Fáze III: Lymphadenosis Benigna Cutis	35
4.2	KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM	35
4.2.1	Malé cévy - Fáze onemocnění lymfskou boreliózou I. a III.	35
4.3	NERVOVÝ SYSTÉM	36
4.3.1	Centrální nervový systém - Fáze onemocnění lymfskou boreliózou II.	36
4.3.2	Periferní nervový systém - Fáze onemocnění lymfskou boreliózou II.	37
4.4	HEMATOPOETICKÝ, LYMFATICKÝ SYSTÉM.....	37
4.5	GASTROINTESTINÁLNÍ SYSTÉM	38
4.6	SYSTÉM KOSTERNÍHO SVALSTVA	38
4.7	HISTOGENEZE	39
5	METODIKA PRÁCE	41
5.1	Zpracování histologického materiálu.....	41
6	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	43
	DISKUZE	46
	ZÁVĚR.....	47
	SEZNAM LITERATURY	48
	SEZNAM PŘÍLOH	50
	PŘÍLOHY	51
	Příloha A – Anonymizovaná medicínská data	51

SEZNAM OBRÁZKŮ

1. Obrázek č. 1 Histologický preparát – přítomnost lymfocytů ve stěně cév



2. Obrázek č. 2 Histologický preparát – přítomnost lymfocytů ve stěně cév



SEZNAM TABULEK

1. Tabulka č.1 Analýza hodnoty zánětu v patientských vzorcích
2. Tabulka č. 2 Pozitivní vzorky na Bb

SEZNAM ZKRATEK

ECM *Erythema chronicum migrans*

ACA *Acrodermatitis chronica atrophicans*

LABC *Lymfadenosis benigna cutis*

CNS Centrální nervová soustava

IgG Imunoglobulin G

PCR Polymerázová řetězová reakce

DNA Deoxyribonukleová kyselina

Bb *Borrelia burgdorferi*

rRNA Ribosomální RNA

DSP DNA *Digital signal processor* DNA

NCBI *National Center for Biotechnology Information*

ČHMÚ Český hydrometeorologický ústav

SZÚ Státní zdravotní ústav

ÚVOD

Lymfská borelióza se řadí mezi infekční onemocnění, které postihuje řadu systémů v lidském organismu. Je způsobena spirochetou *Borrelia burgdorferi*. K přenosu na člověka dochází klíšťaty. Jejich přirozeným hostitelem jsou především drobní hlodavci, ale i ptáci a vysoká zvěř. Po přenesení na člověka je vývoj klíštěte ukončen. Rozšíření je především na celém území Evropy a Severní Ameriky. Zároveň je sledován vzrůstající výskyt nemoci, a to hlavně z několika důvodů, kterými jsou například změny klimatu.

Průběh onemocnění je rozdělen do tří stádií s charakteristickými příznaky. V I. fázi se objevuje kožní porucha nazývaná *erythema chronicum migrans* s typickými zánětlivými ložisky kolem kožních cév. Ve II. fázi dochází k poruchám myokardu, úplného i neúplného srdečního bloku. Kromě srdeční svaloviny dochází k poruchám nervového systému, kde pozorujeme stejně jako v předchozích případech ložiska zánětlivých buněk. Chronická artritida s chronickou hypertrofickou synovitiidou je charakteristickým znakem III. fáze. Zároveň je ve III. fázi, jakožto v nejvíce rozvinutém stádiu nemoci, postižen nervový systém a kůže.

V této bakalářské práci popisujeme nový přístup k diagnostice všech fází nemoci, ale hlavně III. fáze, která se projevuje nejrozsáhlejším postižením organismu. Lymfská borelióza by tak mohla být zjištěna histologickým vyšetřením tkání již na počátku artritidy, nebo jako náhodný nález při biopsii z jiného důvodu u pacienta, který není spojován se svými polymorfními příznaky s bodnutím klíštěte.

TEORETICKÁ ČÁST

1 ANATOMIE JUNCTURA SYNOVIALIS, ARTICULATIO - KLOUB

Kloub, lat. *Articulatio*, je pohyblivé spojení dvou nebo více kostí, které se dotýkají plochami povlečenými chrupavkou. Tento celek se nachází uvnitř vazivového pouzdra. Plochy, kterými se kosti dotýkají, se nazývají styčné kloubní plochy, *facies articulares*. Jedna z kostí tvoří jamku kloubní, *fossa articularis*, a druhá tvoří kloubní hlavici, *caput articulare*. Svaly, působící na vývoj kloubu, rozhodují o vývoji kloubní jamky nebo kloubní hlavice. (1)

Chrupavka nacházející se na styčných plochách je hyalinní chrupavka. Jedná se o neosifikovaný zbytek chrupavky kostního základu. V kloubech, které jsou vystaveny velkému tlaku, jsou na styčných plochách vazivové chrupavky místo hyalinní. Tento druh chrupavky je mechanicky odolnější. Jedná se o klouby např. křížokyčelní, kloubní spojení mezi kostí hrudní a křížovou. Tloušťka chrupavky je rozdílná podle zátěže na kloub. Kloubní chrupavka také ovlivňuje růst přilehlé kosti. Růst je zajištěn především na krátkých kostech, kde se nevyskytuje epifysovaná chrupavka. (1)

Vazivové kloubní pouzdro, *capsula articularis*, zajišťuje spojení kostí po obvodu styčných ploch, ale zároveň je natolik volné, aby byl umožněn pohyb v kloubu. Rozlišujeme dvě vrstvy kloubního pouzdra, a to zevní vazivovou vrstvu, membrána *fibrosa*, která přechází směrem do nitra kloubu ve vnitřní vazivovou vrstvu, *membrána synovialis*. Ta je tvořena řidším vazivem, které má na svém povrchu buňky mezenchymového původu a tvoří synoviální buňky. Membrána *synovialis* vystýlá kromě styčných ploch celou kloubní dutinu. Zároveň do nitra kloubu produkuje kloubní maz, synovii, která zajišťuje skluznost styčných ploch při pohybu a dodává výživu kloubním chrupavkám. (1)

Dutina kloubní, *cavitas articularis*, je prostor mezi styčnými plochami a kloubním pouzdem. Za normálních fyziologických staveb se jedná o kapilární štěrbinu. Rozšířit se může po naplnění tekutinou či vzduchem, při chorobných stavech či zánětu kloubu může dojít i k naplnění krví nebo ke zmnožení tekutiny. (1)

K výše popsaným složkám kloubu jsou ještě dále připojena zvláštní zařízení kloubů. Představují útvary u kloubů v různé sestavě. Jedná se o: *labrum articulare*, kloubní lem,

který se typicky vyskytuje u jamky ramenního kloubu a kyčelního kloubu. Rozšiřuje plochu kloubní jamky a je tvořen vazivovou chrupavkou. Dále se jedná o *disci et menisci articulare*, ploténky vazivové chrupavky, které jsou vloženy kloubní plochy a jejich funkce je rozdělení kloubu ve dvě dutiny. Zároveň plní funkci jako pružná vložka mezi plochami, vyrovnává nestejně zakřivení ploch jamky a hlavice a dále funguje jako pohyblivá kloubní plocha při komplikovanějších pohybech v kloubu. Typicky se vyskytují v kolenním kloubu, čelistním a ve spojení kosti hrudní s kostí klíční. Další *ligamenta* neboli kloubní vazy slouží k zesílení kloubního pouzdra a umožňují složité pohyby v kloubu nebo zamezují nežádoucímu pohybu. Jsou buď přímo zabudovány v pouzdru nebo jsou ke kloubu přikládány a odděleny vazivem, některé se vyskytují přímo v kloubu. (1)

1.1 Vývoj kloubu

Zmnožením a zahuštěním mesenchymu vzniká základ kostí. Mezi přilehlými konci nastávajících skeletních částí zůstává část původního mesenchymu, který dává základ budoucí kloubní štěrbině jako primární kloubní disk, interzóna. V další fázi vývoje se mesenchym pláštěovitě zahušťuje a tvoří základ kloubního pouzdra. (12)

Následným vývojem se diferencuje základ kosti v embryonální chrupavku a v primárním kloubním disku se zmnoží amorfní mezibuněčná hmota a tkáňová tekutina. Začínají se objevovat štěrbiny vyplněné tekutinou, které vzájemně splývají, místo mesenchymu primitivního disku vzniká kloubní štěrbiná. Zánikem mesenchymu a buněk primitivního disku dochází ke vzájemnému kontaktu konců kostních modelů. Podél boků kloubních konců chrupavčitých modelů kostí dochází k rozestupu materiálu, a tak vzniká kloubní dutina v plném rozsahu. Z mesenchymu primitivního disku se diferencují další kloubní útvary. Kloub a jeho plochy se speciálními kloubními útvary vznikají v geometrický tvar. Pokud kloub nezačne včas plnit svou funkci, ztrácí tvar a deformuje se. Diferenciace probíhá i v základech kloubního pouzdra. Mesenchym vnější strany se mění ve fibrózní vrstvu a pouzdra a vnitřní vrstva se mění v synoviální membránu. (8)

1.2 Funkce a stavba kloubních částí

V lidském organismu slouží klouby k pohybu dolních a horních končetin a celkové lokomoci těla. Vlivem špatného vyživení kloubu, přetížení, nefyziologického používání a kloubním onemocnění dochází k degeneraci. Zamezením těchto špatných vlivů na kloubní aparát je funkce kloubu celoživotní. (11)

1.2.1 Kloubní chrupavka

Většina kloubů má chrupavku hyalinní, bez krevních a mízních cév a bez nervů. Buňky jsou uspořádány do 3 vrstev. Vnější povrchová vrstva je složená ze zploštělých buněk, které jsou orientovány dlouhými osami rovnoběžně s povrchem, střední vrstva buněk má buňky větší a kulaté, hluboká vnitřní vrstva je složena z velkých buněk. Buňky v nejhlubší úrovni vnitřní vrstvy tvoří fosfatázu, protože mezibuněčná hmota je zvápenatělá. Během růstového období je chrupavčitá část chrupavky nahrazena kostí. (7)

Tloušťka hyalinní kloubní chrupavky se většinou pohybuje kolem 5-6 mm. Silnější je u kloubů, kde dochází k většímu fyzickému zatížení, například česka kolenního kloubu. U malých kloubů pak může chrupavka dosahovat tloušťky pouze 1 mm. (2)

Kloubní chrupavka a další chrupavčité útvary významně dotvářejí tvar kloubních jamek a kloubních hlavic. Hranice mezi hlubokou vrstvou chrupavky a kostí je nerovná. Chrupavka je do kosti zaklenutá a kostní kompakta má svá funkční uspořádání. Celkové prostorové uspořádání kloubní chrupavky je dáno mírou zatížení kloubu. (2)

1.2.2 Kloubní pouzdro

Kloubní pouzdro je složeno z vnější fibrózní vrstvy a z vnitřní synoviální vrstvy. Vnější vrstva složená z vaziva postupně přechází ve vazivo *periostu* kostí, které nasedají na kloub. Vazivo v této oblasti obsahuje převážně kolagenní vlákna, která stabilizují kloub. Vnitřní synoviální vrstva přichází do kontaktu s okolními strukturami díky malým otvorům, které se nacházejí ve vnější fibrózní vrstvě. (9)

Kloubní pouzdro plní funkci ve spojení artikulující kosti se styčnými plochami kloubu. Toto spojení někdy může být volné z důvodu, aby nedošlo k omezení pohybu v kloubu. Celkový tvar kloubního pouzdra a kloubních dutin je typické zvláště pro jednotlivé typy kloubů. (2)

1.2.3 Kloubní vazy

Kloubní vazy neboli *ligamenta* jsou pruhovitá ztluštění pouzdra, která se nacházejí přímo v pouzdru nebo na něj nasedají a jsou částečně oddělena. (12)

1.2.4 Synoviální membrána

Synoviální membrána je součástí vnitřní části kloubního pouzdra a vystýlá vnitřek kloubu kromě styčných ploch. Vnitřní část membrány je hladká a může vybíhat v řasy nebo v drobné klky. Na rozdíl od chrupavky je bohatě zásobena krví a prostoupena nervy. (1)

Buňky jsou označovány jako synoviální buňky, *synovialocyty*. Jsou málo diferenciovány a soustřeďují se do nitrokloubního povrchu membrány. Buňky ale leží jak na kolagenních vláknech hlubších vrstev, tak i mezi nimi, takže kolagenní vlákna jsou na povrchu synoviální membrány. (1)

Synoviální výstelka pouzdra, která je složena ze synoviálních buněk, se nachází přímo na zevní fibrózní části pouzdra nebo je separována vrstvou vaziva. Podle toho rozeznáváme tři typy synoviální membrány: 1. fibrózní, 2. areolární, 3. adiposní typ. (1)

V místě úponu membrány na obvod kloubní chrupavky se nachází přechodní zóna. Synoviální buňky v tomto místě mění svůj tvar a podobají se spíše chondrocytům. (1)

1.2.5 Synoviální tekutina

Synoviální dutina se vyvíjí jako štěrbina v mesenchymu, proto musí obsahovat mezibuněčnou hmotu a být promývána tkáňovým mokem. Synoviální tekutina je dialyzát z krevní plazmy obsahující mucin. Mucin byl identifikován jako kyselina hyaluronová, která dodává tekutině viskozitu. (1)

1.2.6 Krevní a mízní cévy

Klouby jsou bohatě zásobeny krví cévami, které tvoří v jejich okolí často síť, *rete articulare*. Arterie přivádějící krev ke kloubu se větví a zásobují trojí struktury. Jedna větev vede k epifýsám stýkajících se kostí, druhá větev jde do kloubního pouzdra a třetí větev jde do synoviální membrány. Ve všech oblastech zásobených arteriemi se nachází bohaté kapilární řečiště. Bohaté kapilární řečiště se nachází v synoviální membráně, kde se kapiláry dostávají těsně k povrchu membrány. Proto dochází k pronikání i malého množství krve do kloubního pouzdra při malých poraněních. (13)

V hlubší vrstvě synoviální membrány je uložena lymfatická cévní pleteň. Mízní cévy začínají jako síť slepých kapilár, které po průchodu synoviální membránou ve vazivové vrstvě přechází do větších mízních cév, které vycházejí na flexorovou stranu kloubu. Tam anastomosují společně s mízními cévami z okostice a odvádějí mizu do hlavních mízních kmenů okostice. (13)

1.2.7 Inervace

Klouby jsou bohatě zásobeny nervy, které přicházejí z nervových kmenů, které zásobují svaly ovládající kloubem. Vazivové vrstvy kloubu jsou také bohatě inervovány,

synoviální membrána má však málo nervových vláken a zakončeních, kloubní chrupavka nervová zakončení neobsahuje. (10)

Inervace kloubního aparátu je dvojího typu, senzitivní a autonomní. Senzitivní nervová vlákna vysílají signály o poloze kloubu, rychlosti pohybu a stupni napětí pouzdra. Jedná se o základní složku propriocepce, díky které jsme schopni vnímat polohu a pohyb našeho těla v prostoru. Autonomní typy vláken inervují hladkou svalovinu cév kloubního aparátu. (2)

1.3 Změny způsobené věkem

Se stoupajícím věkem se u člověka vyskytují změny v kloubu označované jako *arthmsis* nebo *osteoarthrosis*. Jedná se o spojení degenerativních a proliferativních změn, které jsou přirozenou součástí procesu stárnutí lidského organismu. (14)

Degenerativní změny jsou častěji součástí centrálních částí kloubní chrupavky. Zmenšuje se množství veškeré mezibuněčné hmoty a kyseliny chondroitinsírové a dochází k následnému obnažení fibril na povrchu chrupavky. Chrupavka získává vláknitý vzhled a vzniká fibrilace chrupavky. (14)

Proliferativní změny se nachází převážně na obvodu kloubní chrupavky, na přechodu synoviální membrány a u úponů šlach a ligament. Dobré cévní zásobení synoviální membrány zapříčiňuje proliferaci přiléhající chrupavky kloubní plochy a dochází k nahrazení kostí. Vznikají kostěné výrůstky, *asteofyty*, které zamezují přirozený pohyb v kloubu. (14)

1.4 Klasifikace typu kloubů

Klasifikace typu kloubů vychází z geometrického tvaru styčných ploch, na počtu os a kostí. (10)

1.4.1 Podle počtu styčných ploch

Klouby rozdělujeme na klouby jednoduché, *articulationes simplices*, kde se stýkají jen dvě kosti svými styčnými plochami a typické je to například pro kloub ramenní. Další rozdělení je na klouby složené, *articulationes compositae*, kde se stýká dvě a více kostí svými styčnými plochami nebo se stýkají jen dvě kosti, ale k nim je připojen *discus* nebo *meniskus articularis*. (13)

1.4.2 Podle tvaru styčných ploch

Se klouby rozlišují podle tvaru a podle počtu os pohybů, které jsou závislé na těchto styčných plochách. (13)

1. Kloub kulovitý, *articulatio sphaeroidea*. Hlavice a jamka jsou součástí plochy koule, pohyb je umožněn podle kombinace tří kolmých os ve smyslu flexe – extenze, abdukce, addukce a rotace. Pokud se kloub pohybuje součtem flexe, abdukce, extenze a addukce, vzniká krouživý pohyb cirkumdukce. (1)

Kulovitý kloub máme ve dvou typech. U kloubu kulovitého volného, *arthrodia*, je plocha jamky menší než plocha hlavice a díky tomu je umožněn velký rozsah pohybu, protože i při velkém vychýlení ze základní polohy je hlavice v kontaktu s jamkou. Kloub je uložen ve volném pouzdru. Příkladem je kloub ramenní. (1)

Kloub kulovitý omezený, *enarthrosis*, jinak také kloub ořechový, se vyznačuje hlubokou jamkou, o kterou se zastavuje pohyb kosti nesoucí hlavici. Rozsah pohybů je tímto omezen. Příkladem tohoto kloubu je kloub kyčelní. (1)

2. Kloub elipsovité, *articulatio ellipsoidea*. Styčné plochy kloubu mají obdobný tvar jako rotační elipsoida. Základní umožněné pohyby jsou flexe a extenze kolem dlouhé osy rotačního elipsoidu. Dále jsou možné skluzné úklony hlavice do stran. Tyto pohyby je možné kombinovat, avšak není umožněna úplná rotace v tomto kloubu. Jeden z typů elipsovitého kloubu je *articulatio bicondylaris*, spojení dolní čelisti s baží lebeční. U tohoto uspořádání kostí jsou možné složité pohyby jako jsou například pohyby žvýkací. (1)

3. Kloub sedlový, *articulatio sellaris*. Styčné plochy mají tvar koňského sedla, ve kterém sedí jezdec. Pohyby jsou umožněny dvojího typu, které jsou na sebe navzájem kolmé i v jejich kombinaci. Příkladem toho kloubu je karpometakarpový kloub palce. (1)

4. Kloub válcový, *articulatio cylindrica*. Styčné plochy jsou tvaru válců a v těle jsou ve dvou typech. *Ginglymus* neboli kloub šarnýrový, má osu pohybu kolmou na podélnou osu kosti. Kolem této osy vykonává pohyby flexi a extensi. Silné postranní vazy zabraňují sklouznutí styčné plochy do strany. Příkladem toho typu válcového kloubu jsou klouby mezi články prstů. Kloub kolový, *articulatio trochoidea*, je typem válcového kloubu, který má tvar nízkého válce. Osa pohybu otáčení je shodná nebo souběžná s podélnou osou kosti a otáčí se jen v zářezu druhé kosti. Příkladem tohoto typu válcového kloubu jsou kosti loketní a vřetení. (1)

5. Kloub kladkový, *articulatio trochlearis*. Základní tvar je jako kloub válcový, ale na jedné z kloubních ploch je vodící rýha, takže konečný tvar této plochy je kladka. Do této rýhy je vsazena vodící lišta vedoucí z druhé kloubní plochy. Tímto je zamezen pohyb do stran a možné pohyby jsou flexe a extenze. (1)

6. Kloub plochý, *articulatio plana*. Styčné plochy jsou téměř rovné, které při vykonávání pohybu po sobě klouzají. Silné kloubní vazy zamezují skoro téměř pohybu. Mnohé pohyby se vykonávají v omezeném rozsahu kolem tří os. (1)

7. Kloub tuhý, *amphiarthrosis*. Podoba je skoro stejná jako u kloubu plochého, styčné plochy jsou ale nepravidelné. Pohyby jsou tak ještě více omezeny. Příkladem je kloub křížokyčelní. (1)

1.5 Pohyby v kloubu

Pohyby v kloubu jsou ovlivněny geometrickým tvarem styčných ploch a svalovými úpony v okolí kloubu. Pohybů v prostoru je několik různých variant, které jsou dány geometrickým tvarem. Ten zajišťuje osy, kolem nichž je pohyb vykonáván. Rozlišujeme tak klouby jednoosé, dvojosé a víceosé. (13)

Základní postavení člověka, pro hodnocení stavby a polohy kloubu, je vzpřímené postavení s horními končetinami volně podél boků těla a s dlaněmi otočenými vpřed. Z toho postoje hodnotíme hlavní základní typy pohybů. (10)

1. Flexe, neboli ohnutí ve směru dopředu, a extenze, jinak natažení ve směru dozadu. Tyto dva pohyby pracují proti sobě a jsou vykonávány kolem osy horizontální frontální. (2)

2. Abdukce, neboli odtažení stranou, a addukce, neboli přitažení ke střední rovině. Pohyby jsou vykonávány kolem osy horizontální předozadní. (2)

3. Otáčení, neboli rotace, je vykonávání pohybu kolem osy jdoucí podélně tělem. Rozlišujeme vnitřní rotaci, která se označuje jako rotace navnitř, a vnější rotaci, kterou označujeme jako rotaci zevně. (2)

Cirkumdukce neboli kroužení je pohyb, který vzniká vynecháním pohybu rotace a kombinuje se flexe s addukcí, od flexe s abdukcí, od abdukce s extensí a od extenze s addukcí. Krouživý pohyb vykonávající kloubem opisuje plášť kužele. (2)

Poloha, při které je kloubní pouzdro nejvíce uvolněno, se nazývá střední poloha kloubu. Kloub tuto polohu zaujímá spontánně při onemocnění, kdy se v kloubu nahromadí větší množství tekutiny, krve či hnisu. Dále se tato poloha využívá a uplatňuje při léčbě znehybnění kloubu. (2)

Poměr mezi styčnými kloubními plochami a jamkami udává rozsah pohybu, které mohou být vykonány. Mělká a malá jamka umožní velký rozsah pohybu velké hlavici a hluboká uzavřená jamka zamezuje pohybu, protože dochází k narážení kosti o hranu jamky. (2)

1.6 Kloub loketní, articulatio cubiti

Kloub loketní patří mezi složené klouby, protože se v něm stýkají tři kosti. Jsou to *humerus*, *ulna* a *radius* a tato spojení se označují jako *articulatio humeroulnaris*, *articulatio humeroradialis* a *articulatio radioulnaris proximalis*. Vyskytuje se zde spojení kulovitým klackovitým kloubem, kulovitým kloubem a kolovým kloubem. Kloubní pouzdro je kolem všech těchto spojení a je uzpůsobeno pohybům kostí. Ochranu tvoří šlachy trojhlavého pažního svalu a zesilující vazy pouzdra. Jsou to dva postranní vazy: *ligamentum collaterale radiále* a *ligamentum collaterale ulnare*. (1)

1.6.1 Pohyby v loketním kloubu

V tomto kloubním spojení jsou umožněny jen dva základní pohyby a těmi je flexe a extense. Ovšem existuje ještě třetí pohyb a tím je otáčení radia kolem dlouhé osy. Obranou přiškrcení kloubního pouzdra při vykonávání pohybu jsou svalové snopce, které vbíhají do pouzdra od přiléhajících svalů vpředu a vzadu. (12)

1.7 Klouby ruky, articulationes manus

Jedná se o skupinu kloubních spojení, které umožňují pohyb v zápěstí, prstů a ruky jako celku. (8)

Zápěstí je složené z *articulatio radiocarpalis*, *mediocarpalis*, *articulationes intercarpales* a *carpometacarpales*. Kloubní pouzdra těchto spojů jsou krátká a pevná a všechny jsou zesíleny ligamenty. Hlavní zesilující ligamenty vedou od radia a od ulny. Další vedlejší vazy vedou paprscitě od středu karpu. (8)

Funkce těchto kloubů je komplexní a jimi umožněné pohyby jsou palmární a dorsální flexe, radiální a ulnární dukce. (8)

Spojení mezi hlavicí metakarpálních kostí zápěstí a proximálních *falangů* prstů je pomocí *articulationes metacarpophalangeae*. Je uloženo ve volném pouzdře. Základním pohybem je flexe a extense, vedlejší pohyby při nataženém prstu jsou abdukce a addukce. Základní funkcí tohoto kloubního spojení je přechod z kulovité plochy hlavice ve válcovou plochu. (1)

Mezi články prstů je soustava kladkových kloubů, *articulationes interphalangeae manus*. Jejich základní poloha je při natažení prstu, dalším možným pohybem je flexe. (1)

2 HISTOLOGIE A PATOLOGIE SYNOVIÁLNÍ VÝSTELKY A TEKUTINY KLOUBNÍHO APARÁTU

Synoviální výstelka lemuje vnitřní povrch kloubní hlavice a všechny další vnitřní kloubní struktury s výjimkou kloubní chrupavky a menisku. Kromě vystýlání kloubů tvoří synoviální výstelka v podkoží a v okolí šlach tekutinou naplněné váčky, které umožňují volnost pohybu v omezeném rozsahu pro struktury přiléhající k těmto váčkům. Dále tvoří pochvy, které se vyskytují kolem šlach procházejících pod vazivovými pásy nebo skrze kostěné tunely. (5)

Synoviální membrána sestává ze dvou částí. První z těchto částí je tvořena buněčnou linií ohraničující společný kloubní prostor. Povrch této vrstvy je hladký a lesklý a místy jsou na jeho povrchu drobné řasinky. Druhá vnitřní část má funkci podpůrnou. (5)

Podél okraje směřujícího k synoviální dutině mikroskopické vyšetření synoviální membrány odhalí jeden řádek nebo někdy více řad těsně zabalených buněk s velkými eliptickými jádry. Pod povrchovou vrstvou v subintimě je vaskularizovaná fibroadipózní tkáň, která obsahuje některé histiocyty a žírné buňky. (5)

Elektronová mikroskopická studie odhalila dva hlavní typy buněk synoviální výstelky, které Barland označil jako typy A a B. Méně obvyklé buňky (typ A) mají mnoho funkcí makrofágů a existuje dobrý důkaz, že jsou schopny vykonávat fagocytózu. Běžnější buňky typu B jsou bohatě vybaveny drsným endoplazmatickým retikulem, obsahují Golgiho systémy a často vykazují pinocytotický vezikul. Normální synoviální intima obsahuje 25 % buněk typu A a 75 % buněk typu B. (4)

Synoviální membrána má tři hlavní funkce. Sekrece synoviální tekutiny (buňky typu B), fagocytóza odpadního materiálu získaného z různých složek kloubu (buňky typu A) a regulace pohybu rozpuštěných látek, elektrolytů a proteinů z kapilár do synoviální tekutiny. Případně také poskytuje regulační mechanismus pro udržování matrice prostřednictvím role různých mediátorů. (5)

2.1 Histologické znaky synoviální výstelky při poranění a zánětu

Poranění a zhroucení chrupavky a kosti má za následek zvýšení množství produktů rozkladu a úlomků částic v dutině kloubu. To je odstraněno ze synoviální tekutiny fagocytárnými buňkami (buňky typu A) synoviální membrány. V důsledku toho se

membrána stává hypertrofní i hyperplastickou a produkty rozkladu chrupavky a kostní matrice často vyvolávají zánětlivou odpověď. (4)

Z tohoto důvodu lze v synoviální membráně artritických kloubů očekávat určitý stupeň chronického zánětu, i když poškození bylo čistě mechanické. Zánět je obzvláště výrazný tam, kde došlo k rychlému rozpadu kloubních složek. (4)

Rozšíření hyperplastického synovia na kloubním povrchu kloubu je běžným nálezem u osteoartrózy, zejména u kyčle. Rozsah a agresivita tohoto nálezu, s ohledem na základní destrukci chrupavky, je však u osteoartrózy mnohem méně výrazná než u revmatoidní artritidy. (4)

Protože za normálních podmínek je synoviální membrána zodpovědná za výživu kloubní chrupavky, lze očekávat, že chronicky zanícená a zjizvená synoviální membrána artritického kloubu bude fungovat méně efektivně než u normálního kloubu. K chroničnosti artritického procesu může velmi dobře přispět narušení funkce synoviálních živin a zvýšená enzymatická aktivita. (4)

Hypertrofická a hyperplastická synovie spojená s artritidou je také pravděpodobně traumatizovaná, protože se rozšiřuje do kloubní dutiny. Důkaz krvácení do kloubu, s následným hemosiderinovým barvením synoviální membrány, je běžným histologickým nálezem a může být tak označeno. V takovém případě by se oranžovohnědé zbarvení jemného synovia s klky nemělo zaměňovat s nabobtnaným papilárním synoviem pigmentované villonodulární synovitidy. (4)

2.2 Synoviální tekutina

Vyšetření synoviální tekutiny je mimořádně užitečné při diagnostice artritidy, a to jak při určování příčiny, tak při určení stádií nemoci. Bez ohledu na příčinu artritidy je synoviální tekutina změněna. (6)

Normální synoviální tekutina, dialyzát plazmy, do kterého je přidána kyselina hyaluronová produkovaná buňkami typu B synoviální výstelky, je viskózní, světle žlutá a čirá. I u velkých kloubů je objem malý. (6)

V případě zánětlivé artritidy se zvyšuje objem synoviální tekutiny s vysokým počtem zánětlivých buněk. Množství kyseliny hyaluronové je výrazně sníženo, což vede k typickému snížení viskozity. Na druhé straně, u degenerovaných forem artritidy se zvyšuje

množství kyseliny hyaluronové, což vede k extrémně viskózní tekutině. dochází také ke zvýšení objemu, i když ne ve stejné míře jako u zánětlivých artritid. (6)

3 LYMSKÁ BORELIÓZA

Nejvíce rozšířená infekce na území mírného pásma, přenášená na člověka přes mezi-hostitele, kterými jsou nejvíce členovci. (3)

3.1 Mikrobiologie původce nemoci

V lidském podvědomí je lymská borelióza známa jako nemoc, která je přenášena klíšťaty. Malá část populace ale ví, že původcem je bakterie, řadící se mezi spirochety, *Borrelia Burgdorferi*. (15,)

Zástupci skupiny spirochet mají protáhlý spirálovitý tvar těla. Ten jim umožňuje šroubovitý pohyb v těle svého hostitele. Na povrchu těla *B. burgdorferi* se vyskytuje 7 až 12 bičků, které také slouží k pohybu. Elektronocytochemickou metodou byly u borelií, jako jediných zástupců spirochet, prokázány tělíska uvnitř membrány obsahující proteinová vlákna, která mohou bakterii chránit při nepříznivých podmínkách prostředí výskytu. Specifický pohyb a i ochranné mechanismy pro přežití využívá borelie k přestupu přes epiteliální bariéru a hematoencefalitickou bariéru, ke vstupu do fibroblastů, dendritických buněk a makrofágů a přežívat v nich. (17, 20)

Metabolismus borelie je neúplný, a proto jsou závislé pro svůj vývoj na hostiteli. Mimo tělo hostitele k vývoji nedochází. Z hostitelského organismu získávají všechny enzymy pro syntézu aminokyselin, nukleotidů a mastných kyselin. Jsou odolné proti nízkým hladinám železa, což využívají při protibakteriální obraně organismu hostitele, který tak hladinu železa začne snižovat. Jednou z méně objasněných vlastností je schopnost tvořit „non-spirální“ formy. Tvorba cyst, odškrcování váčků) obsahující část cytoplazmy, je pozorován při vystavení spirální formy např. nízkému pH, nedostatku živin, nízkému osmotickému tlaku. V lidském organismu takové snížení metabolické aktivity uplatňují při prvotním působení imunitního systému člověka nebo při nasazení léčbou antibiotiky. Při mikrobiologickém vyšetření na průkaz borelie toto stádium zkresluje výsledky. (16, 17)

Mikrobiologické laboratorní vyšetření na průkaz přítomnosti borelie se provádí z více druhů odebraného materiálu od pacienta. Doba přežití v materiálu a možnost odizolovat kolonii se liší. Řadu dní dokáže přežít v citrátové krvi při stálé teplotě 4°C. V mozkomíšním moku je doba přežití přibližně 8 dní. Izolace mimo tělo člověka se může provést z vody infikované klíšťaty nebo znečištěné výkaly nakažených hlodavců a ptáků. Naočkování v laboratoři pro růst *in vitro* se používají obohacené komplexní

Barbourovo-Stoenerovo-Kellyho pŕdy. Prŕkaz In vivo, z odebranŕch vzorkŕ krve od pacientŕ, ukázal pod mikroskopem dělicí se buňky během 6 až 12 hodin. (19)

3.2 Historie výzkumu nemoci lymeská borelióza u člověka

Na počátku 20. století došlo k prvnímu pozorování změn na kŕži, které byli spojené s nemocí dnes známou pod názvem lymeská borelióza. Toto pozorování uskutečnil Herxheimer a Hartmann. Později v roce 1913 došlo po pozorování k potvrzení sezonní souvislosti s ojedinělou prstencovou kožní vyrážkou. Tento příznak byl nazván *erythema chronicum migrans* (ECM) a termín se používá dodnes. Pokračovalo spojení této vyrážky s poruchami nervové soustavy. V roce 1945 došlo k potvrzení, že by nemoc mohlo způsobit kousnutí klíštětem. Bližší zjištění mikroorganismu spirochety, která způsobuje tyto poruchy, bylo vzneseno v roce 1957 Meinickem. (3, 18)

Na západní polokouli v USA započala studie až v roce 1975, kdy se šířily obavy z neobvyklého vypuknutí artritidy u dětí. Prof. Steere tento syndrom začal objasňovat. Prvními příznaky bylo objevení kožní prstencové vyrážky *erythema chronicum migrans* po kousnutí klíštětem. U řady pacientŕ se příznaky zhoršily v chronickou artritidu a měli poruchy nervového a kardiovaskulárního systému. Další poznatek byl, že by se mohlo jednat o získanou infekční multisystémovou nemoc, která má na počátku příznaky chřipky. Vše vyvrcholilo v intenzivní studii a zájem amerických vědcŕ a doktorŕ o tuto nemoc. (3, 19)

I prŕkaz organismu, způsobujícího tuto nemoc, byl na západní polokouli děle, a to až v roce 1982 z klíšťat *Ixodes dammini* nalezených na Shelter Island v New Yorku. Spirochety prošly podrobnějším výzkumem a posléze geneticky a biochemicky identifikovány jako spirocheta *Borrelia* a v roce 1983 získala název *Borrelia burgdorferi*. (21)

Kultivace *B. burgdorferi* byla provedena z izolované lidské infikované kŕže, krve či mozkomíšního moku. Možnost kultivace prokázala spojení mezi patientskými vzorky nemocných z Evropy a z USA. Mezi výzkumem prof. Steera a historicky popsanou nemocí ECM v Evropě byly podobnosti. (21)

3.3 Epidemiologie

Mezi hlavní rezervoáry infekce, jak jsem zmínila již výše, patří klíšťata, která způsobují široký rozsah přenosu a nákazy na další obratlovce. Právě ptáci a drobní savci, jako jsou například hlodavci a hmyzožravci, jsou klíšťaty infikovány a slouží pro borelii jako

mezihostitel. Nákaza se tak udržuje ve stálém výskytu a cirkulaci. Tělo mezihostitele využívá bakterie pro svůj vývoj a získání živin, ale stejně jako u člověka, i na tento organismus působí jako zdroj infekce. (3, 21)

Rozmanitost druhů hostitelů pro spirochety borelií je ovlivněna odlišností životního cyklu klíšťat. Zástupci rodu *Ixodes* mají laický název „tříhostitelská“, což je přenesení významu jejich parazitického způsobu získávání živin. Jejich životní cyklus je složený ze tří stádií (larva, nymfa, imago) a ty sají krev na odlišném spektru savců. Larvy a nymfy parazitují na druzích menšího vzrůstu, dospělé klíště pak saje na velkých zvířatech i lidech. Klíště se přisaje na několik dní, a to způsobuje rozšíření a udržování lymfské boreliózy v přírodě. Všechna vývojová stadia klíštěte získávají status infekční po ingesci spirochet borelie při sání krve. (15, 3)

U nenasátého klíštěte, které je infekční, je borelie usídlena ve střevní stěně. Během sání krve se pak spirochety zmnoží a přes stěnu střev pronikají ke všem orgánům. Přenos na hostitele je slinami. Ale studie prokázali, že při prvních 24 až 36 hodinách sání k přenosu ještě nedochází a pravděpodobnost infekce tak stoupá s délkou doby nasání klíštěte na těle. K teoretickému přenosu infekce může dojít při špatném a nešetrném odstranění klíštěte z kůže zanesením infikovaného trusu do rány. (19, 21)

U druhého larválního stadia nymfy byla prokázána největší incidence infekce. Způsobuje to malý vzrůst členovce, které můžeme snadno přehlédnout, a i kratší doba sání krve. U hlodavců pravděpodobně dochází k přenosu spirochet, které ovšem nemusí způsobit rozvoj onemocnění a jen přetrvávají uvnitř jejich těla po dobu celého života. U větších zvířat je tomu stejně jako u člověka a nemoc má podobné spektrum příznaků a poruch. (18)

LB se můžou nakazit zástupci všech věkových kategorií. Po 30. roce života je ale pozorován vysoký nárůst nemocných a vrchol této křivky je mezi 45. až 49. rokem, potom křivka klesá. Rozdíl v pohlaví vyplývá ve větší nemocnosti žen oproti mužům. Tyto odlišnosti sledujeme u případů s klinickými projevy. (18)

3.3.1 Situace výskytu v České republice

Geografický charakter České republiky je pro výskyt nejčastějšího typu přenašeče, klíštěte rodu *Ixodes ricinus*, ideálním biotopem mírného pásu. Lymfská borelióza dominuje mezi klíšťaty přenášenými onemocněními. Rozložení hlášení počtu nemocných v krajích není rovnoměrný. Četnost výskytu infikovaných klíšťat záleží na ročním období

a klimatických podmínkách. Avšak lymská borelióza je hlášena během celého roku, kvůli rozdílné inkubační době jednotlivých klinických projevů. Největší výskyt a diagnóza je spojena s letním obdobím, kdy je aktivita klíšťat největší. Inkubační doba je u každého pacienta jiná a může mít rozpětí 1-300 dnů. Velká problematika je v nevědomosti pacientů, kdy došlo k nasání klíštěte. Někteří dokonce uvádí pouze štípnutí hmyzem po pobytu v přírodě. (21)

3.3.2 Prevence a léčba

Základní prevence vychází z ochrany při pohybu v rizikovém prostředí. Dále následná kontrola povrchu svého těla, šetrné a včasné odstranění klíšťat, dezinfekce místa kousnutí a popřípadě pro budoucí diagnózu zaznamenání místa přisátí klíštěte. Sledování aktivity a výskytu klíšťat. K dispozici je pro laickou veřejnost program, který spravuje SZÚ a ČHMÚ, který udává stupeň rizika napadení klíšťaty na našem území. Stupně rizika jsou vyjádřeny desetimístnou stupnicí, podle které se určí pravděpodobnost nákazy v dané oblasti při napadení infikovaným klíštětem. Doplnujícími jsou informace s doporučením, jak se v této oblasti chovat a následná opatření. Před klíšťaty se musíme chránit i na území cizích států. (3, 16)

Pro lidskou populaci není dosud vynalezena očkovací vakcína proti lymské borelióze. Při diagnóze je nasazena antibiotická léčba. U dospělého jedince v se první fázi nemoci podává doxycyklin, u dětských pacientů amoxicilin. V obou případech by neměla být léčba kratší než 3 týdny. U pokročilých fází se používá k léčbě penicilin G. Zároveň začíná být populární využití alternativním přírodních forem léčby. (16)

3.4 Zasažení kloubního aparátu

Původní domněnky vedly k tomu, že lymská borelióza byla brána jako epidemická forma artritidy a až postupný výzkum objasnil infekční původ nemoci. Dochází ke změnám v oblasti pohybového aparátu v časné i pozdní rozšířené formě infekce. (3)

V časné fázi lymské boreliózy se vyskytují pouze lokální bolesti pohybového aparátu jinak nazývané artralgie. Tento příznak může být jediným diagnostikovaným problémem provázejícím nemoc. Avšak později přechází do akutního nebo chronického zánětu kloubů zvaného artritida. Zánět se může rozšířit i do jiných struktur pohybového aparátu, jako je například poškození šlach a jejich pochev – *tendinitidy*, *tendovaginitidy* a *tendosynovitidy*. (19)

Základním principem poruch kloubů ve spojitosti s lymfskou boreliózou je přítomnost Bb v kloubním prostředí. Ta do tohoto prostředí pronikne krevním oběhem. Pro přilnutí Bb na endotelové buňky, bazální membrány a extracelulární matrix jsou důležité povrchové receptory a jejich rozpoznání bakterií. Specifické receptory způsobí adhezi přímo orientovanou na kloubní tkáň. Významnou roli zastupují cukerné složky proteoglykanů a keratansulfátů, kolagen. Na vazebné molekuly těchto tkání jsou Bb schopny se specificky navázat na určité místa. (3)

Spuštěním tvorby patologických změn v kloubu a synoviální výstelce je setkání Bb s endotelovou buňkou v síti kapilár, která vede pod synoviální membránou. Následně dojde k aktivaci zánětlivých buněk v této oblasti, jako jsou leukocyty. Bb je schopna zároveň vyvolat tvorbu cytokinů a chemotaktických nebo vazodilatačních faktorů. Všechny tyto procesy dohromady vedou k porušení celistvosti cévní stěny a tkáň v okolí, takže Bb může proniknout hlouběji do kloubu a způsobit další patologické změny. (3, 19)

Kromě cytokinů produkovaných přímo Bb, tak dojde k aktivaci buněk synoviální výstelky k tvorbě cytokinů a hydrolytických enzymů. Tyto molekuly způsobují patologie v kloubním aparátu, což vede k destrukci buněk kloubní chrupavky a okolní kosti. Po-kud není provedena včasná diagnóza a nasazena léčba antibiotiky, dochází pak k opakovaným vzplanutím kloubního zánětu a přechodu v chronickou formu nemoci. (18)

V I. fázi nemoci má důležitou roli vrozená imunitní odpověď a komplement v produkci prozánětlivých cytokinů. Později se aktivují buňky adaptivního imunitního systému, které začnou s tvorbou protilátek. V některých případech, při dlouhodobé zánětlivé aktivitě organismu, se imunitní tolerance vůči vlastním antigenům prolomí. Ty jsou podobné antigenům vyskytujícím se na buněčné membráně Bb. (18)

Léčba se provádí antibiotiky podávanými ambulantně, když pacient nemá vážnější zdravotní přidružené problémy. Efekt léčby nelze hodnotit hned, ale až v delším časovém období v řádu měsíců. Přidružená je symptomatická terapie. Tlumí se hlavně bolesti spojené se vzniklým zánětem v kloubech. Při přechodu v chronickou formu nemoci je antibiotická léčba neúčinná. Zvažují se i chirurgické zákroky jako je synovektomie. Při postboreliovém syndromu není známa efektivní léčba a provádí se jen terapeutické postupy. (16)

PRAKTICKÁ ČÁST

2 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

2.1 Hlavní cíl

Cílem praktické části bakalářské práce bylo zjistit, zda existují histologické znaky, které by mohly souviset s konkrétní etiologií u některých případů nespecifické synovitidy.

Předpokládaný výsledek do praxe je nalezení parametru, který by alespoň u části zkoumaných pacientů umožnil na základě histologického vyšetření předpovědět etiologii nespecifické synovitidy. Tento poznatek by pak mohl přímo ovlivnit volbu dalšího léčebného postupu.

3 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY

Chronická nespecifická synovitida v rámci chronické artritidy má monotónní histologický obraz bez ohledu na etiologii zánětu. Predikce se z tohoto důvodu na úrovni histologie neprovádí. Část artritid a zánětu může ale souviset a mít počátek v nemoci Lymská borelióza. Ta se nejčastěji vyšetřuje mikrobiologickým prokázáním bakterie ve tkáni při výskytu klinických problémů spojených s tímto onemocněním.

4 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

4.1 KŮŽE A MĚKKÉ TKÁNĚ

4.1.1 Fáze I: Styk člověka s parazitem, kousnutí klíštětem

Je velice běžné a často se setkáváme s tím, že pacienti v počátku ani nezjistí kousnutí klíštětem po pobytu v přírodě v místě jejich výskytu. Když si v počátku nezaznamenají místo kousnutí, tak na to zapomenou či to úplně přehlednou. Ke zjištění dochází až po nastoupení klinických příznaků. Nejznámější i pro lajky je výskyt erytematózní papuly neboli červeného kruhu kolem místa kousnutí. Histologické příznaky jsou mnohostranné odpovědi krevních buněk detekovaných při zánětu a jsou to neutrofilové, eozinofilové, makrofágy, lymfocyty a žírné buňky. Jejich výskyt je detekovaný s epidermálním nebo i bez epidermálního narušení z kontaminujícího povrchového mikroorganismu. Tyto příznaky a změny se mohou objevit už při prvotním výskytu kožního erytému nebo později předchází vzniku ECM. Hloubka zánětlivého ložiska se liší, ale obvykle je střední nebo hluboko dermální. Cévní bujení, které může přejít až v odumření kolagenu, patří mezi nápadné příznaky, ale spíše se nevyskytují a chybí. Reakce lidského organismu někdy nemusí být odlišná v kožních příznacích a poruch od jiných poruch nastupujících po kousnutí klíštětem.

V počátku I. Fáze nemoci se klinické příznaky přehlíží, pokud tedy nedojde k vážnému zhoršení zdravotního stavu. Z tohoto důvodu není vykonáno histologické vyšetření tkáně odebrané pomocí biopsie.

4.1.2 Fáze I: Erythema Chronicum Migrans (ECM)

Od počátečního kousnutí infikovaným klíštětem se rozvíjí ECM. Tento vývoj je charakterizován prstencovitým eretémem, který má do stran rozšiřující zarudlé kruhy v jejichž centru je světlá nezarudlá oblast. Tento charakteristický příznak je prvním charakteristickým znakem lymfské boreliózy a v místě kousnutí klíštětem se objeví po několika dnech až nejpozději do jednoho měsíce. Dále se objevují sekundární příznaky a poškození. Patologická změna ECM je mononukleární perivaskulární infiltrát kolem horních kožních cév, kde se kromě vysoké hladiny lymfocytů vyskytují také plazmatické a žírné buňky. Hustota zánětlivého infiltrátu je variabilní.

V I. Fázi při ECM je snazší provést mikrobiální vyšetření pomocí kultivace spirochet oproti jejich demonstraci ve světelném mikroskopu ve vzorcích kůže. Další ještě možné

vyšetření a prokázání je možné pečlivým vyšetřením sériových řezů kůže, kde můžeme spirochety pozorovat i v hlubší vrstvě dermálního kolagenu.

4.1.3 Fáze III: Acrodermatitis Chronica Atrophicans

Acrodermatitis chronica atrophicans, zkráceně ACA, je zvláštní příznak kožního systému organismu nastupující ve III. Fázi onemocnění lymskou boreliózou. Vnitřní část končetin je oboustranně symetricky fialová se zánětlivými ložisky a s hyperkeratózou nebo bez ní. Nejčastější výskyt je v oblastech loktů, rukou, dlaní a nehtů a kožní tkáň v těchto oblastech má atrofický vzhled.

U tohoto onemocnění jsou rozdílné histopatologické změny než u ECM. Zde existuje fixovaná bezkrevná teleangiektáza od střední až po horní kožní cévy s nezávisle proměněnými kožními lymfocyty, plazmatickými buňkami, makrofágy a žírnými buňkami. Zde je skoro u všech případů výskyt hyperkeratózy. Také ložisko zánětlivých buněk je hustší a rozsáhlejší než u ECM a může zasahovat hluboko do podkožního tuku. Mezi další příznaky ACA řadíme zahušťování dermálních buněk, které se rozšiřuje i do podkladových podkožních měkkých tkání a jeví se to jako eosinofilní fascitida. V některých případech ACA lze nalézt rozptýlené lumenární uzavření kožních arteriol a žil. Spirochety v této fázi onemocnění lze mikrobiálním vyšetřením kultivovat až 10 let po nástupu ACA.

4.1.4 Fáze III: Lymphadenosis Benigna Cutis

Lymphadenosis benigna cutis neboli zkráceně LABC je označení kožních lymfocytárních shluků složených z více lymfoidních folikulů s prvotními centry v mandlích a lymfatických uzlinách. Název byl přidělen kvůli podobnosti s lymfoidním folikulem adenoidální tkáně. Tyto léze mohou být způsobené více příčinami, ale u pacientů s LABC v Evropě byla prokázána nákaza lymskou boreliózou.

4.2 KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM

4.2.1 Malé cévy - Fáze onemocnění lymskou boreliózou I. a III.

Některé kožní cévy vykazují uzavření lumen zapříčiněnou zmnožením buněk vnitřní a střední vrstvy, nebo pojivové tkáně okolí cévy – periadventiciální proliferaci buněk (cibulovité vrstvení "*onionskinning*"), napodobující hypertenzní renální arteriolosklerózu a změny slezinných cév u systémového *lupus erythematosus*.

U vyšetřovaných histologických vzorků nebyla nalezena vaskulární nekróza a sní spojené fibrinoidní depozity nebo fibrinové mikrotromby. Avšak jejich výskyt může být pozorován v některých stádiích lymské boreliózy. Dalším, ale málo významným, nálezem může být výskyt jaderného karyorrhexe (tvz. jaderný prach) u leukocytoklastické vaskulitidy. Pouze v mikro cévách, nikoliv ve středně velkých a velkých cévách, byl nalezen výskyt obliterativní mikroangiopatie a zánětlivé perivaskulitidy. Jedná se hlavně o mikro cévy synoviální výstelky kloubů. Pravidelným nálezem v cévách u *Acrodermatitis chronica atrophicans* spojeného s lymskou boreliózou je fixovaná teleangiektazie dermálních mikrovláken neboli lokalizované nahromadění rozšířených drobných cév.

4.2.2 Srdce

U člověka nakaženého lymskou boreliózou v I. fázi *Erythema chronicum migrans* (ECM) po kousnutí klíštětem se vyskytla transmuralní epimyokarditida. V intersticiu myokardu, od zevní vrstvy stěny epikardu po vnitřní vrstvu stěny endokardu, se nacházely lymfocyty a plazmatické buňky. Četný výskyt čistě jen plazmatických buněk byl pozorován v myokardu, epikardiálním tuku a v malých shlucích kolem myocytů. Výskyt myokardiální obliterativní mikroangiopatie nebyl zaznamenán ve spojitosti s lymskou boreliózou. Pomocí barvení dle Dieterleho (stříbřící metoda) byly prokázány jednotlivé spirochety.

U pacientů s ECM doprovázenou horečkou a s pozitivním průkazem anti-Borreliových protilátek někdy vznikají i poruchy rytmu. V takových případech je přínos endomyokardiální biopsie sporný. To je způsobeno pouze drobnoložiskovým charakterem probíhající myonekrózou.

V části tkáně odebrané ze srdce kojence narozeného matce, která onemocněla lymskou boreliózou během těhotenství, byla mírná intersticiální lymfocytární infiltrace bez přítomnosti neutrofilů a myonekrózy. Dále byla zjištěna endokardiální fibroelastóza. Spirochety u tohoto vyšetřovaného materiálu nebyly prokázány Dieterleovým barvením ani jinými imunohistochemickými barvicími metodami.

4.3 NERVOVÝ SYSTÉM

4.3.1 Centrální nervový systém - Fáze onemocnění lymskou boreliózou II.

U pacienta s lymfskou boreliózou se ve spojitosti s touto chorobou vyskytuje poškození nervového systému, a to neuropatie hlavových nervů, radikuloneuropatie a meningitida. Tato se projevuje ztuhlostí krčních svalů, náhle nastupující horečkou a změnou duševního stavu. U jednotlivých pacientů je zastoupení těchto tří onemocnění různé, buď neúplný projev některého z nich, nebo jejich kombinace. Výsledný klinický obraz proto bývá různorodý. Diagnostika neuroboreliózy pomocí zkoumání vzorků biopsie je omezená. V rozsahu provedených a publikovaných studií mikroglialní buňky podílející se na nespecifické imunitní odpovědi CNS se zvýšeně vyskytovali ve vzorku biopsie mozkové kůry. U mozkové pleny (*dura mater*) a *falx cerebri* byla rovněž lymfocytární infiltrace, která souvisela s lymfocytární pleocytózou likvoru.

U dospělého pacienta s nekrotizujícím zánětem sítnice oka, který se rozvinul několik týdnů po nástupu ECM, byl zjištěn výskyt neutrofilů a makrofágů pronikajících do nekrotických buněčných vrstev sítnice. I přes rozvinutou nekrózu vyšetřované tkáně byly spirochety snadno rozpoznatelné Dieterleovým barvením ve sklivci oka a v buněčných vrstvách samotné sítnice.

4.3.2 Periferní nervový systém - Fáze onemocnění lymfskou boreliózou II.

Při onemocnění lymfskou boreliózou je periferní nervový systém zapojen zásahem autonomních nebo kořenových ganglií, ale i periferních nervů. Pod mikroskopem byly sledovány shluky lymfocytů přímo v samostatných gangliích nebo v intersticiu podélných nervů. Samotné lymfocyty můžeme spatřit v malých seskupeních s rozptýlenými makrofágy a velmi nízkým výskytem plazmatických buněk oproti výskytu plazmatických buněk v kůži či myokardu. Při histologickém vyšetření tkáně periferní neuropatie byly sledovány cévní manžety s lumenálním uzavřením některých kapilár.

4.4 HEMATOPOETICKÝ, LYMFATICKÝ SYSTÉM

Při lymfské borelióze ve stádiu I a II se běžně vyskytuje zvětšení sleziny a uzlin, což se zřídka objevuje i u infekční *omnonukleózy*, *toxoplasmózy* a *lymfopatie venerum*.

Tkáně z orgánu lymfatického systému při stádiu nemoci I. tím pádem nebyly použity na histologické preparáty a nebyly zkoumány pod mikroskopem. Avšak při pitevním vyšetření materiálu ze sleziny byly pozorovány zmnožené lymfoidní folikuly. Stejný

výsledek byl spatřen při experimentech na křečcích, kteří byli nakaženi intraperitoneálními injekcemi suspenze *B. burgorferi*. U člověka nemocného jinou fází lymfské boreliózy, tj. fáze II. nebo III., byly v plášťových zónách lymfoidních folikulů sleziny přítomny imunoblasty a plazmatické buňky. Změny spojené s boreliózou jsou i v kostní dřeni. Jedná se o zvýšené prekurzory červené krevní řady, megakaryocyty a plazmatické buňky. U pár případů byly přímo v kostní dřeni viděny spirochety.

4.5 GASTROINTESTINÁLNÍ SYSTÉM

Případy průkazu lymfské boreliózy z klinických příznaků či laboratorních nálezů z orgánů gastrointestinálního traktu nebo genitourinárních orgánů je méně. Jedná se nejčastěji o mikroskopickou hematurii a proteinurii, u mužských pacientů může dojít k otoku varlat, výskyt abnormálních výsledků jaterních testů. Vzorky nebyly získány klasickou biopsií, ale jehlovou biopsií jater. Spirochety ve výsledcích nebyly prokázány, došlo pouze k minimálním cytopatickým změnám poškození jaterní buňky a jaderné ansocytóze. Úplně chyběly nekrózy nebo acidofilní kondenzace plazmy.

4.6 SYSTÉM KOSTERNÍHO SVALSTVA

Ve III fázi onemocnění lymfskou boreliózou dochází k histopatologickému poškození kosterního svalstva. Zároveň tyto znaky představují poškození tkáně, které začalo být pozorováno u nemocných pacientů s touto chorobou. Jsou známy dvě klinicko-patologické formy tohoto poškození, a to výpotek kloubů s chronickou hyperplastickou synovitiidou, anebo osteoartrida v konečném stádiu s rozpadem kostí a chrupavek. K takovýmto výsledkům a dalším histopatologickým změnám v histologických preparátech může dojít i z důvodu odběru vzorků tkáně lékařem. U vzorků z perkutánní biopsie je množství materiálu z vyšetřované tkáně omezeno a při hodnocení pod mikroskopem tak vidíme pouze nespecifický chronický zánět synoviální výstelky kloubů s lymfoidními folikuly a plazmatickými buňkami, což nám ve výsledku ukáže pouze na revmatoidní artritidu. K tomuto hodnocení lymfské boreliózy řadíme další změny synoviální výstelky: hypertrofie synoviálních klků, hyperplazie synoviálních buněk, mikrovaskulární proliferace a depozity fibrinů synoviálních klků. Ve vyšetřovaných vzorcích tkáně nebyly pozorovány granulocyty a jejich shluky či prstence. Nekróza nebyla zaznamenána v žádném

zkoumaném vzorku, stejně tak nebyl zaznamenán výskyt eosinofily a velké multinukleové buňky. U vzorků, získaných chirurgickým vyříznutím tkáně, byly velké usazeniny fibrinu viděny jak na povrchu synoviální membrány, tak i pod buňkami synoviální výstelky. V podpůrné tkáni ve fibrinózní části byly zachovány mononukleární buňky. Tento jev byl zaznamenán v některých případech, ve kterých tvořil až polovinu části synoviální tkáně. Zřídka byl výskyt cévního obstrukčního poškození s úplným nebo takřka úplným zničením endoteliální a mediální dutiny buněčnou proliferací. V pár případech se buněčná proliferace rozšířila na zevní vrstvu cév a způsobilo to tzv. *onionskin* vzhled, který byl už definován u renálních arteriolových poškození u maligní hypertenze nebo arterionální proliferativní změny při systémovém *lupus erythematosus*. Fibrinové mikrotromby, intramulární fibrinové depozity, nekrotizující vaskulitida nebyly pozorovány, ale není vyloučena jejich přítomnost v určitém okamžiku nemoci. Avšak četné žírné buňky byly přítomny. V oblastech malých cév a stromálního ademu byly spirochety.

4.7 HISTOGENEZE

Mezi lymfskou boreliózou, vyvolanou spirochetou *B. Burgdorferi*, a syfilisem, který je vyvolaný *Treponemou pallidum*, existují klinické a patologické podobnosti. Pozdní stádia lymfské boreliózy zasahují CNS a klinické projevy s nimi spojeny připomínají a jsou přisuzovány k meningovaskulárnímu syfilisu. U obou těchto onemocnění jsou zánětlivými buňkami lymfocyty a plazmatické buňky různých orgánů a tkání jako jsou srdce, kožní systém, nervový systém, játra, lymfatické uzliny, pohlavní žlázy, krevní cévy a klouby. Spirochety jsou prokázány u obou chorob, u syfilisu se v lézích vyskytuje více organismů. Ve vzorcích k prokázání lymfské boreliózy nebyl výskyt nekrotické tkáně, ale u vzorku synoviální výstelky byl výskyt nespecifických fibrinálních stromálních změn. U obou nemocí je prokázána obliterativní mikroangiopatie, ovšem nekrotizující vaskulitida v tkáních nebyla. Jako sekundární cévní jev se může teoreticky objevit v zánětlivých tkáňových lůžcích. *B. burgdorferi* i *T. pallidum* se po opuštění kůže dále šíří do vzdálených orgánů a následně infiltrují lymfoplasmacyty s žírnými buňkami. Poškození orgánů nastává z přítomnosti spirochety. Ovšem patogeneze hlavně v synovii není plně pochopena. Toto poškození může být částečně způsobeno cirkulujícími imunitními komplexy a imunologickými faktory, kterými jsou: přímá depozice protilátek IgG v synovii byla dříve prokázána a titry IgG v séru tak mohou být vysoké během fáze, kdy je výskyt artritidy nebo neuritidy. Odolnost spirochet může ovlivnit další pokračující imunologickou reakci, a to hlavně v synoviální výstelce kloubů. Pokud nedojde k fatální arytmii srdečního svalstva nebo

jeho blokáde, jsou myokardiální, jaterní a lymforetické zánětlivé fáze přechodné a omezené. Kůže a nervový systém se jeví jako cíl pro některé choroby a představují demyelinizační poruchy například v Evropě.

Na první pohled zdánlivě spolu nesouvisející různá kožní onemocnění lze vysledovat až ke společné *B. burgdorferi*. Jedná se o dermální lymfoplasmacytické perivaskulární infiltrační erytémy až po pseudolymfom typu kožní hyperplazie a Bafverstedtova lymfocytoma (LABC). Zajímavým projevem nemoci při výskytu ACA, *acrodermatitis chronica atrophicans*, je zřetelné a klinicky diagnostikovatelné poškození tkáně s jedinečnou histopatologií, které je způsobeno přetrvávajícím výskytu spirochet. U padesáti procent pacientů s nemocí morphea byly pozitivní sérologické testy také na spirochety *B. burgdorferi* při výzkumu zabývajícím se touto problematikou. U jiného výzkumu a studie Lymské boreliózi byly nalezeny vláknité uzliny měkkých tkání horních končetin a poruchy kožní tkáně podobné *lichen-sklerosus-et-atrophicus*. V některých případech ale kožní poruchy a onemocnění je ale špatně spojováno s případy lymské boreliózi. Jelikož docházelo k nerozpoznání zdánlivě nesouvisejících příznaků a poruch, je proto možné, že byla lymská borelióza zaměněna za onemocnění imunitního systému. To ale vedlo k určení již už známých příznaků nervového systému a kožního systému.

Proto dnes již můžeme říct, že je lymská borelióza známá nemoc a v její diagnostice velmi přispívají nové poznatky chirurgických patologů, kteří rozšiřují znalosti.

5 METODIKA PRÁCE

Vyšetřovaný materiál od pacientů byl zpracován pro následné histologické vyšetření. Hotové histologické preparáty byly mikroskopicky hodnoceny pro stanovení parametrů přítomného zánětu společně s analýzou dokumentace jejich stanovené diagnózy ošetřujícím lékařem. Vzorky byly použity od nových pacientů i z archivního materiálu Šiklova ústavu patologie Fakultní nemocnice v Plzni na Lochotíně.

5.1 Zpracování histologického materiálu

Vzorky materiálu od pacientů s diagnostikovanou chronickou artritidou byly získány pro zpracování na histologické vyšetření pomocí biopsie. Biopsie neboli získání materiálu operativně z živého člověka, se dále rozděluje ještě na excizi, kyretáž a punkci dutou jehlou. Kyretáž čili odebrání vzorku seškrábnutím tkáně pomocí kyrety, je k odebrání námi vyšetřovaného materiálu nevhodné, a proto nebylo použito. Vhodnější způsoby byly excize nebo punkce. Excize slouží přímo k odebrání tkáně nebo orgánu.

Po odebrání tkáně musí dojít ihned k fixaci. Zároveň musí být veškerý materiál řádně popsán, aby bylo možno identifikovat od koho daný vzorek je a nedošlo k nějaké záměně. Naše vzorky měly přiřazeny svá originální čísla zakončena dvojčíslím roku, kdy k odebrání došlo. Pacientské vzorky byli odebrány v letech 2017 a 2018. Minimum vzorků pak ještě z roku 2019, kde se předpokládal průkaz lymfské boreliózy.

Hlavní důvod fixace po odejmutí tkáně z lidského těla je, aby nedošlo k autolýze neboli k rozkladu pomocí enzymů. Vzorek je ponořen nebo spíše zalit do stabilizačního činidla neboli fixativu, a tak je zamezeno působení již zmíněných vlastních enzymů. Tato fixace by se měla provést ale šetrně, aby vzorek nebyl nějak znehodnocen a aby nedošlo k zamezení histologického vyšetření pod mikroskopem. Používají se prověřené a doporučené denaturační metody a pro úspěšnou fixaci jsou dány tři požadavky – musí být šetrná, rychle proniknout do tkáně a musí být možné další zpracování materiálu. Méně často používané fixační prostředky jsou fyzikální, které využívají tekutý dusík nebo suchý led. Při využití chemických fixačních prostředků se vzorek na bločku vloží do fixační tekutiny. Touto tekutinou je formol, což je 4% roztok formaldehydu neutralizovaný uhličitánem vápenatým, a dnes více rozšířen pufrovaný formol. Rychleji pronikající do tkáně je Bouinův roztok, což je formol s nasyceným roztokem kyseliny pikrové kyselinou octovou, ale jeho nevýhoda je, že může vzorek obarvit.

Fixované vzorky se zalévají do bločků zalévacím médiem, kterým je parafín. Před zalitím jsme provedli odvodnění a projasnění alkoholovou řadou vzestupných koncentrací. Aby tkáň nebyla poškozena, má parafín teplotu v rozhraní 58-60 °C. Po ztvrdnutí parafínu jsme vzorky krájeli na sklíčka pomocí mikrotonu na ideální tloušťku 5 µm, tak aby po obarvení na sklíčku byly v mikroskopu pozorovatelné vyšetřované struktury

K vyšetření tělesných tekutin se využívá cytologické vyšetření nebo minibiopsie. K vyšetření synoviální výstelky kloubního aparátu byla použita metoda cytologického vyšetření. Jedná se o mikroskopické zjištění a pozorování morfologie buněk. Minibiopsie se liší tím, že se odebírá drobný vzorek tkáně, který je nemožné zpracovat klasickými histologickými metodami. Cíl těchto metod je zpracování z tělesných tekutin pevného preparátu pro následnou mikroskopii. Po odebrání musí dojít k rychlému zpracování a fixaci jako u běžného materiálu zmíněného v předešlém odstavci. Náš materiál byl fixován pomocí citrátu sodného v poměru 1:1. Označený vzorek identifikačním a originálním číslem buď vložíme do cytocentrifugy nebo se vysráží roztokem trombinu, následně centrifugujeme. Vzniklý cytoblok jsme zpracovali běžným histologickým způsobem.

V histologii používáme barvicí techniky, které nám umožňují prokázat buňky nebo struktury tkáně, kterou chceme vyšetřit. Základní barvení, které jsme použili bylo hematoxylineosin. Přehledné barvení nám prokázalo modrá jádra buněk, kolagen a hyalin růžově, fibrin červeně, svalovinu růžovočerveně a chrupavku modře. Identifikovali jsme tak zmnožené zánětlivé buňky a vaskulitidu. Barvení touto metodou jsme provedli v barvicím automatu.

6 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Praktickou část bakalářské práce jsme začali dohledáním histologických vzorků za rok 2017 a 2018. Jednalo se o tkáň synoviální výstelky kloubního aparátu po výskytu artritidy v této oblasti těla. Předběžné očekávání byl výskyt lymfocytárního zánětu v této tkáni. Všechny patientské vzorky byli evidovány pod přiděleným číslem.

Studované parametry mikroskopickou analýzou byly 1. histomorfologické vlastnosti léze, 2. přítomnost chronického zánětlivého infiltrátu, 3. typologie lymfocytů. Sílu zánětu jsme hodnotili od jednoho až na tři kříže. Celkem prošlo touto analýzou 124 vzorků. Jejich základní rozčlenění podle hodnoty zánětu je zobrazeno v tabulce č. 1.

1. Tabulka č.1 Analýza hodnoty zánětu v patientských vzorcích

Hodnota zánětu	1+	2+	3+
Počet vzorků	36	73	15
Celkem pac. Vzorků: 124			

Po této analýze jsme zjistili, že více jak třetina patientských vzorků periartikulární tkáň obsahuje chronický lymfocytární nález s hodnotou dva a tři kříže. Tyto vzorky jsme poslali na následující genetické vyšetření. Očekávaný výsledek této metody byl průkaz přítomnosti Bb, jako mikroorganismus způsobující boreliózu a sní spojenou artritidu.

DNA z vybraných vzorků byla izolována z 5 tkáňových řezů FFPE (10 µm) za užití metody Qiasymphony DSP DNA mini kit podle pokynů výrobce v příbalovém letáku. Detekce DNA Bb byla provedena metodou Nested PCR za použití cílených primerů na úsek 23S rRNA. Produkty analýzy na PCR byly vizualizovány elektroforeticky na 2 % agarózovém gelu, který byl obarvený pomocí roztoku ethidiumbromid. Specifičnost produktů PCR byla ověřena Sangerovým sekvenováním a konečným porovnáním s databází NCBI Blast.

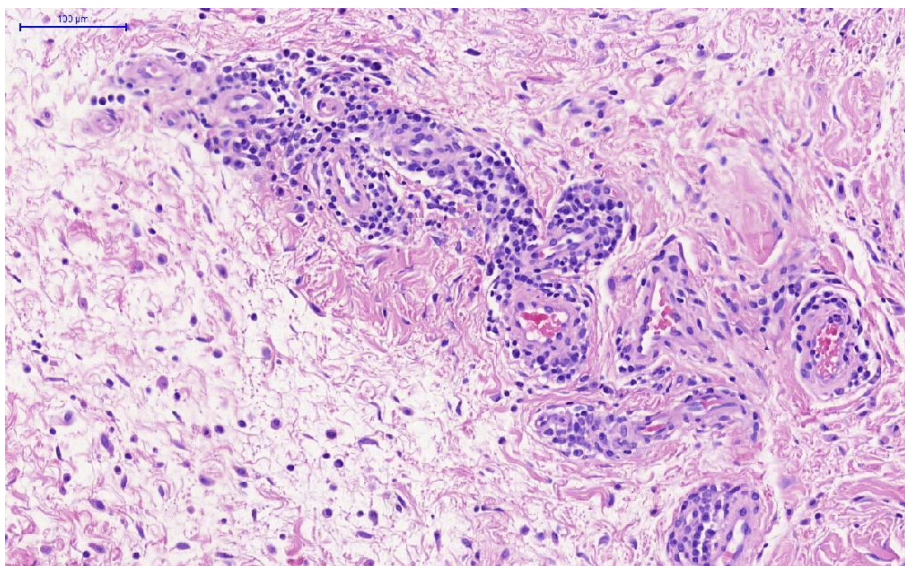
Průkaz přítomnosti Bb byl pozitivní ve dvou případech. Šlo o excize exofytického tuhého útvaru v oblasti lokte u mužů. Zpětné vyšetření osobní anamnézy potvrdilo u jednoho pacienta dlouhotrvající epilepsii a u druhého pacienta migrující molekulární kožní vyrážku. Na lymfskou boreliózu jako původce těchto příznaků se nepomýšlelo.

2. Tabulka č. 2 Pozitivní vzorky na Bb

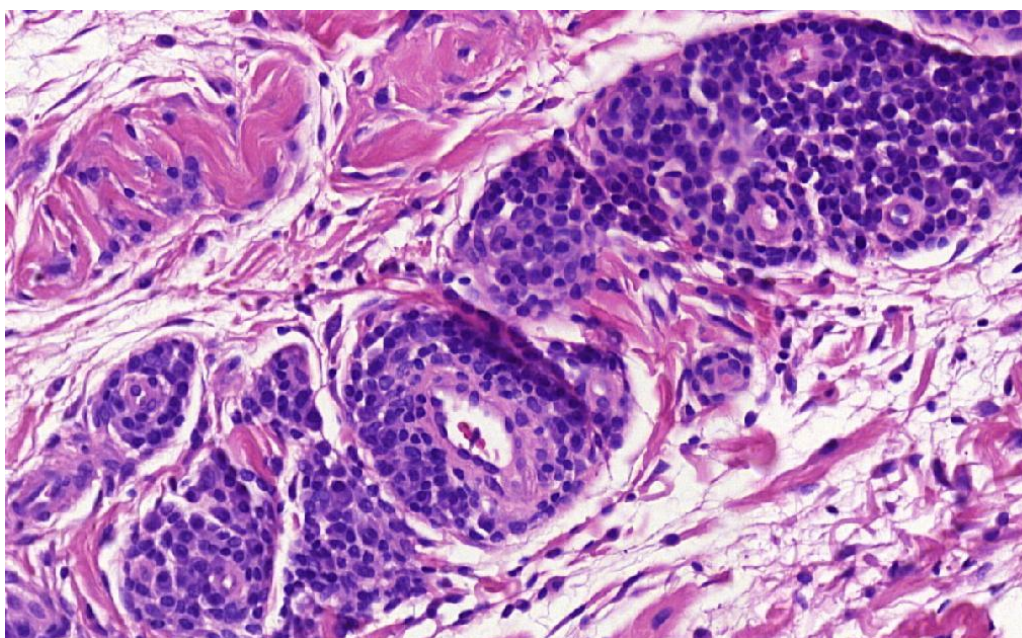
	Věk	Pohlaví	oblast léze	Typ léze	Hlavní problémy	Klinická historie	Doba léčby	Následná péče
Vzorek 1	43	Muž	Pravý loket	Osteofyt	Epilepsie	1994 - horská turistika, následoval silný průjem, 2001 - Epilepsie	17 let	Jednotná
Vzorek 2	77	Muž	Levý loket	Chronická burzitida	Katarakta	2013 - kožní vyrážka, hrudník a ruce	6 let	Jednotná

Specifickým histologickým znakem asociovaným s pozitivním průkazem *B. burgdorferi* se zdá být přítomnost lymfocytů ve stěně cév.

1. Obrázek č. 1 Histologický preparát – přítomnost lymfocytů ve stěně cév



2. Obrázek č. 2 Histologický preparát – přítomnost lymfocytů ve stěně cév



Toto dodatečné doplnění molekulárně-genetického vyšetření na přítomnost Bb v excizích periartikulární tkáně oblasti loktů může být velice přínosné. Zvážit by se to mělo v endemických oblastech, zda se nejedná o lymfskou boreliózu hlavně u periartikulární tkáně u mužů. Jednalo by se o cílené doplňování anamnézy ze strany příznaků lymfské boreliózy u pacientů s tumorózními periartikulárními změnami v oblasti lokte.

DISKUZE

Praktická část této bakalářské práce ukazuje, že mikroorganismus spirochety *B. burgdorferi* jsou schopny dlouhodobě přežít v periartikulární tkáni hlavně loketních kloubů a jejich okolí. Je otázka, zda by cílená antibiotická léčba následně vedla k ukončení lokální zánětlivé reakce, která vede ke vzniku výše popisovaných příznaků nemoci nebo přejít k postižení dalšího systému v těle.

Molekulárně-genetický průkaz Bb jednoznačně spojuje dané příznaky s přítomností mikroorganismu, a to překonává diagnostické rozpaky z nejednoznačné interpretace klinických příznaků, často nepřesné anamnézy a nejednoznačných výsledků serologického vyšetření hladiny protilátek. Přímá metoda vizualizace spirochet ve tkáni pomocí histologické metody impregnace stříbrem je sporná a tolik se nevyužívá, vzhledem k velikému množství výskytu optických artefaktů oproti malému množství počtu mikroorganismů ve tkáni.

Nedávno popsaná nová mikroskopická metoda nazývaná „*focus floating microscopy*“ je náročná v tom, že vyžaduje zvláštní technické zařízení a od vyšetřující osoby již nabyté určité zkušenosti. To je vzhledem k počtu vzorků biopsií s danou problematikou spíše neefektivní.

V mikrobiologické laboratoři se v běžném provozu kultivace mikroorganismu neprovádí, protože se řadí k obtížným. Hodnocení hladiny protilátek v séru je tedy sice možné, ale jednoznačný výsledek je obtížný a jediný přínos této metody je v prvním stádiu nemoci. Ale ve třetím stádiu je tento způsob vyšetření neinformativní.

Zjištění souvislosti mezi přítomností borelií s přítomností lymfocytů ve stěně cév kloubní tkáně je velice zajímavé a je nutné je dále ověřit popsáním vyšetřením DNA a DNA Bb. (Výsledky byly prezentovány na 109 sjezdu US a CAN patologů v LA, březen 2020, a publikovány v suplementu časopisu *Modern Pathology* (1)) Otázkou zůstává způsob včlenění a většího využívání biopsie a její molekulárně-genetického vyšetření do postupů péče o pacienty u jednotlivých specializací zejména dermatologie, revmatologie a ortopedie.

ZÁVĚR

Chronický zánět alespoň mírného stupně, v naší analýze aspoň na dva kříže, byl přítomen přibližně ve dvou třetinách námi vyšetřovaných vzorků excizí periartikulární tkáně odebrané s klinickou diagnózou výskytu chronické bursitidy, gangliomu a jiných vad. Jedná se ale o nespecifický nález.

Zjištěná souvislost mezi přítomností mikroorganismu Bb přímo ve tkáni, jako původce lymfské boreliózy, která nebyla ale diagnostikována, a přítomností lymfocytů ve stěně cév synoviální výstelky je originální počín. Zároveň je to velice zajímavé zjištění, které se musí dále ověřit pro získání zkušeností. Po tomto zaopatření by se mohlo jednat o významný diagnostický histomorfologický znak, který by se mohl stát indikačním kritériem pro následné molekulárně-genetické vyšetření, které jsme provedli my v rámci praktické části bakalářské práce.

Zdá se, že z hlediska doplnění klinických příznaků a cílené anamnézy lymfské boreliózy u pacientů s tumorózními periartikulárními změnami v oblasti loktů může být velice přínosná s provedením tohoto přesnějšího vyšetření.

SEZNAM LITERATURY

1. ČIHÁK, Radomír. Anatomie 1. 2. vyd. Praha: Grada Publishing a.s., 2001. ISBN 80-7169-970-5.
2. DYLEVSKÝ, Ivan. Funkční anatomie. Praha: Grada Publishing a.s., 2009. ISBN 978-80-247-3240-4.
3. BARTŮNĚK, Petr. Lymeská borelióza. 4., přeprac. a dopl. vydání. Praha: Grada Publishing a.s., 2013. ISBN 978-80-247-4355-4.
4. MILLS, Stacey E. Histology for pathologists. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams&Wilkins, 2012. ISBN 13-978-1451113037.
5. BALKO, Jan, TONAR, Zbyněk, VARGA, Ivan. Memorix Histologie. Praha: TRITON, 2016. ISBN 978-80-7553-009-7.
6. ROSS, Michael H. Histology: A Text and Atlas : With Correlated Cell and Molecular Biology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2015. ISBN 9781469889313.
7. KACHLÍK, David. Anatomie pro nelékařské zdravotnické obory. Praha: Karolinum, 2018. ISBN 978-80-246-4058-7.
8. GRIM, Miloš, DRUGA, Rastislav. Základy anatomie 1 – Obecná anatomie a pohybový systém. Praha: Galén s.r.o., 2019. ISBN 9788074924187.
9. NAŇKA, Ondřej. Přehled anatomie. Praha: Galén s.r.o., 2020. ISBN 978-80-7492-450-7.
10. SINĚLNIKOV, R.D. Atlas anatomie člověka I. Praha: Avicenum, 1970. ISBN 08-064.
11. JÁNÍČEK, Pavel. Ortopedie. 3. vyd. Brno: MU, 2012. ISBN 978-80-2105971-9.
12. MALLAT, Jon, MARIEB, Elaine N. Anatomie lidského těla. Computer Press, 2005. ISBN 8025100669.
13. PARKER, Steve. The Human Body Book. Universum, 2016. ISBN 978-80-242-5301-5.
14. RYCHLÍKOVÁ, Eva. Funkční poruchy kloubů končetin. 2. doplněné vyd. Praha: Grada Publishing a.s., 2019. ISBN 978-80-271-2096-3.
15. SEDLÁK, Kamil, TOMŠÍČKOVÁ, Markéta. Nebezpečné infekce zvířat a člověka. Praha: Scientia, 2006. ISBN 80-86960-07-2.

16. KŘUPKA, Michal, Milan RAŠKA a Evžen WEIGL. LYMSKÁ BORELIÓZA – BIOLOGIE, PATOGENEZE, DIAGNOSTIKA A LÉČBA [online]. 2008, (2) [cit. 2017-01-21]. Dostupné z:
<http://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2008/05/07.pdf>
17. VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.
18. BUHNER, Stephen Harrod. Borelióza: přírodní prevence a bylinná léčba lymfické boreliózy a jejích koinfekcí. Praha: Triton, 2014. ISBN 978-80-7387-780-4.
19. BARTŮNĚK, Petr. Lymeská borelióza. 3., dopl. A přeprac. vyd. Praha: Grada, 2006. ISBN: 80-247-1543-0.
20. BEDNÁŘ, Marek, SOUČEK, Andrej a VÁVRA, Jiří. Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie. Praha. Triton, 1994. ISBN 978-80-9015-214-4.
21. GÖPFERTOVA, Dana, PAZDIORA, Petr a DÁŇOVÁ, Jana. Epidemiologie: obecná a speciální epidemiologie infekčních nemocí. 2., přeprac. vyd. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-2462-223-1.

SEZNAM PŘÍLOH

1. Příloha 1 - Souhlas FN Plzeň s použitím patientských vzorků k analýze
2. Příloha 2 – Poster ke 109 sjezdu US a CAN patologů v LA, březen 2020

PŘÍLOHY

Příloha 1 – Souhlas FN Plzeň s použitím patientských vzorků k analýze



Vážená paní
Eliška Kutáková
Studentka oboru Zdravotní laborant
Fakulta zdravotnických studií - Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví
Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči FN Plzeň uděluji souhlas s analýzou / zpracováním anonymizovaných dat z výsledků laboratorních metod, používaných na pracovišti Škribova ústavu patologie (ŠÚP) FN Plzeň. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „Význam hodnocení histopatologických znaků synoviální výstelky kloubního aparátu“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborantka ŠÚP souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně provedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb., o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe a pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je pan MUDr. Ondřej Ondříč, lékař ŠÚP FN Plzeň.

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
macešerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro oš. péči

Útvar náměstkyně pro oš. péči FN Plzeň
tel.: 377 103 204, 377 402 207
e-mail: chabrova@fnplzen.cz



The Presence of Borrelia burgdorferi in Periarthicular Tissue of the Patients with Clinically Unsuspected Lyme Disease Stage III

^{1,2}Ondřej Ondič, ^{1,2}Kateřina Černá, ^{1,2}Jaroslav Voller, ³Reza Alaghebandan
¹Borreliosis Laboratory, ²1st Dept. Pathology, Pilsen, Charles University, Czech Republic,
³Royal Columbian Hospital, University of British Columbia, Canada



ABSTRACT

Background: Lyme disease is a multisystem infectious disorder caused by the spirochete, *Borrelia burgdorferi*. The infection occurs by ticks feeding on mammalian hosts, including humans. The distribution of the tick and spirochete is especially prevalent in mild climate areas with forest and large deer populations including central Europe. Chronic oligoarthritis is the hallmark of stage III disease (1) which frequently goes undiagnosed.

Design: This is a two-year retrospective study based on histology review and selected molecular-genetic testing of resected periarthicular tissue examined at the Department of Pathology serving the catchment area with high tick and *B. burgdorferi* prevalence.

Results: The studied population consisted of an index case and 117 tissue samples from patients operated on in 2017-2018. Upon the histology review, 53 cases with at least minimal lymphoplasmacytic infiltrate were selected for further genetic testing. The presence of *B. burgdorferi* DNA was confirmed in 2/53 cases (3.8%). The most significant histologic features associated with the presence of *B. burgdorferi* were: perivascular lymphoplasmacytic infiltrate and more specifically intramural lymphocytic infiltrate paired with concentric smooth muscle vascular wall hyperplasia. Of interest, *B. burgdorferi* positive cases occurred in the elbow region of adult men (43 and 75 yr) with a personal history of long-standing epilepsy or psoriasis (mean skin erythematous induration respectively).

Conclusion: The preliminary estimated incidence of *B. burgdorferi* associated tissue lesions in the endemic region (i.e. the Czech Republic) is 3.8%. In periarthicular tissue, the perivascular lymphoplasmacytic infiltrate is a non-specific finding in relation to the presence of *B. burgdorferi*. The presence of *B. burgdorferi* was specifically associated with the presence of vascular wall lymphocytes and smooth muscle vascular wall hyperplasia. In endemic areas, Lyme disease should be considered when examining elbow periarthicular tissue in men. Molecular-genetic testing is useful in identifying *B. burgdorferi* in an excisional specimen.

OBJECTIVES

- To Explore a new, robust and reliable approach in diagnosing Stage III Lyme disease.
- To study epidemiologic characteristics (i.e., incidence of Borreliosis) in endemic region among unsuspected patients with long lasting significant (per)arthropathy.
- To assess the usefulness of genetic method used to identify *B. burgdorferi* in periarthicular tissue biopsy.
- To study histomorphologic features associated with *B. burgdorferi* in Stage III Lyme disease.

METHODS

A retrospective study design.

Upon review of 118 periarthicular biopsies performed in 2017-2018 at Orthopaedic dept in tertiary care hospital 53 cases presenting at least mild chronic inflammatory infiltrate were selected for detailed histomorphological study and genetic testing for the presence of *B. burgdorferi*.

DNA was isolated from 5 FFPE tissue sections (10 µm) using Qiasymphony DSP DNA mini kit according to manufacturer's instructions.

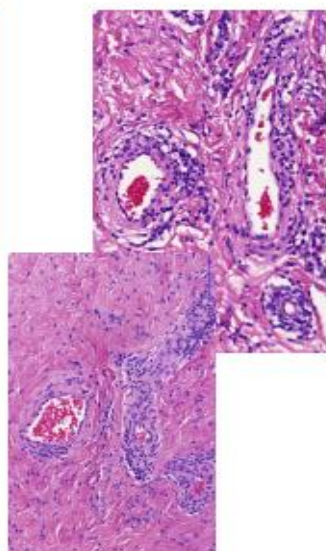
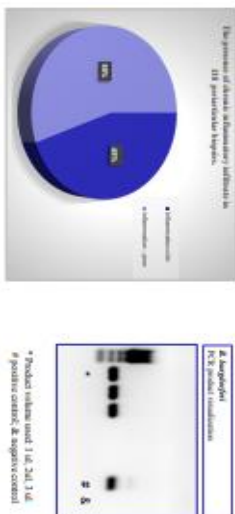
Detection of *Borrelia burgdorferi* was performed by a nested PCR method using a primer set targeting 23S rDNA as previously described by Etienne et al (2). PCR products were validated by an agarose electrophoresis on a 2% agarose gel stained with ethidium bromide. The specificity of the PCR products was verified by a Sanger sequencing and comparison with NCBI Blast database.

Studied parameters:
 1. Histomorphologic features of the lesion. 2. The presence of chronic inflammatory infiltrate. 3. The exact topology of lymphocytes. 4. The presence of *B. burgdorferi*.

RESULTS

Patients with Clinically Unsuspected Lyme Disease Stage III

Case	Age	Sex	Location	Tissue type	Stomion	Leading complaint	Follow-up
Case 1	46	M	Elbow	peritendinitis	25/08	Epilepsy	Unresolved
Case 2	77	M	Elbow	peritendinitis	18/07	Psoriasis	Unresolved



CONCLUSIONS

1. The preliminary estimated incidence of *B. burgdorferi* in inflammatory-rich periarthicular excisional biopsies in the endemic region (i.e. the Czech Republic) is 3.8%.
2. In periarthicular tissue, the perivascular lymphoplasmacytic infiltrate is a non-specific finding in relation to the presence of *B. burgdorferi*.
3. The presence of *B. burgdorferi* was specifically associated with the presence of vascular wall lymphocytes and smooth muscle vascular wall hyperplasia.
4. In endemic areas, Lyme disease should be considered when examining elbow periarthicular tissue in men.
5. Molecular-genetic testing is useful in identifying *B. burgdorferi* in an excisional specimen.

REFERENCES

1. Datta, Paul. Lyme Disease. The Sinauer Atlas of Infectious Diseases. 2017. p. 47-66. ISBN: 978-0-87896-970-2.
 2. Etienne, J., Gohler, T., Zepher, B. From bloody nose to "gold standard" for chronic borreliosis. Am J Clin Pathol. 2007; 120:1770-1772.
- Acknowledgments:**
 We would like to acknowledge valuable assistance of Assoc. prof. Jitka Manajlová, PhD. (Orthopaedic dept.) in reviewing the poster abstract.
 We also acknowledge determined data curation and initial histomorphologic inflammation assessment performed by MSc. Eliška Kvačková.