



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zdravotně sociální fakulta

Ústav laboratorní diagnostiky a veřejného zdraví

Histologie plic se zaměřením na bronchogenní karcinom

bakalářská práce

Vypracoval: Kapounová Pavla, DiS.

Vedoucí práce: Prim. MUDr. Petr Mukenšnabl, Ph.D.

České Budějovice 2016

Abstrakt

Cílem mé práce je seznámit čtenáře s anatomicou a mikroskopickou stavbou plic a uvedení do problematiky patologie plic se zaměřením na bronchogenní karcinom. Ve své práci popisuji druhy bronchogenních karcinomů, dosud známé příčiny jejich vzniku, symptomy, diagnostiku a možnosti léčby.

Teoretická část mé práce začíná popisem vývoje plic. Dále je zde popsána anatomická a mikroskopická stavba dolních cest dýchacích, funkce plic, jejich cévní zásobení a lymfatická drenáž. V této části také popisuji nejčastější nenádorová a nádorová onemocnění plic. Praktická část mé práce je zaměřena na zpracování tkáně. Přibližuji zde celý proces, kterým musí vzorek projít od chvíle odběru, až po odevzdání mikroskopického preparátu lékaři - patologovi. Každý krok tohoto procesu je velmi důležitý, mohlo by dojít k poškození odebrané tkáně a v důsledku toho k nemožnosti odečtení výsledku. Každá odebraná tkáň musí být uchována ve fixační tekutině a spolu se žádankou o histologické vyšetření musí být dopravena do laboratoře. Zde následuje příkrojení, zpracování tkáně v autotechnikonu, zalévání, krájení a barvení. Základním barvením je HE - Hematoxylin – eosin. Poté následuje pokrytí preparátu a odevzdání lékaři. Lékař preparát odečte a buď vystaví výsledek nebo si zažádá o dodatečné vyšetření. Toto vyšetření může být doplňující barvení nebo se jedná o vyšetření imunohistochemické nebo genetické. Na základě veškerých vyšetření je poté vydán bioptický výsledek.

V kapitole Přehled četnosti výskytu jsou uvedeny výsledky z plicních biopsií, které jsou zasílány na naše pracoviště (Šiklův ústav patologie, FN Plzeň). V této práci se zaměřuji na bioptické vzorky zaslané v období leden 2015 - prosinec 2015. V diskuzi vyhodnocuji zastoupení bronchogenního karcinomu s ohledem na pohlaví. Dalším hodnotícím kritériem jsou různé věkové skupiny. Pro přehlednost je zde i grafické zhodnocení. V kapitole výzkum se zabývám protilátkou CD 133 jako prognostickým markerem.

Klíčová slova: histologie, patologie, plíce, karcinom, zhotovení preparátu

Abstract

The aim of this bachelor thesis is to explain the anatomic and microscopic lung structure as well as basic features of selected pulmonary disorders, especially of bronchogenic carcinoma. The thesis deals with types, causes, pathogenesis, symptoms, diagnosis, and treatment of bronchogenic carcinoma.

The thesis is comprised of two parts. The theoretical part introduces lung development, anatomic and microscopic structure of the lower respiratory tract, lung structure and function, vascular supply, and lymphatic drainage. The most frequent nonneoplastic and neoplastic pulmonary diseases are described here. The practical part of the thesis is focused on tissue processing. This complex process starts with the removal of a tissue specimen from a patient's body (biopsy) and it is finished when microscopic slide is handed to a physician (pathologist). All steps are important; there is an imperative to prevent any specimen damage as it could hamper the diagnosis. All tissue specimens must be stored in a fixative and delivered to a histopathologic laboratory, together with a clinical request for a pathological examination.

Following steps are carried out in the histopathology laboratory: macroscopic examination and cut-up, processing in a tissue automate, embedding, cutting, and staining. The basic staining method is performed by hematoxylin-eosin. Finally, slides are covered and given to a pathologist who establishes a diagnosis on a particular slide, or asks for additional examinations. These may be additional histochemical stains or auxiliary studies such as immunohistochemistry or genetics. All these methods may contribute to a final diagnosis of the biopsy.

The chapter Frequency of diagnoses summarises lung biopsies examined at our department (Šikl Department of Pathology, University Hospital, Plzen, the Czech Republic) in 2015. In the discussion, the frequency of bronchogenic carcinoma types is evaluated with a regard to the sex and age. Several graphs are added. Research: CD133 as a prognostic marker for non-small cell lung cancers.

Keywords: histology, pathology, lung, carcinoma, slide preparation

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 03.05.2016

.....

(jméno a příjmení)

Poděkování

Ráda bych poděkovala Prim. MUDr. P. Mukenšablovi, Ph.D. za odborné vedení této práce. Děkuji za cenné rady a připomínky. Dále bych ráda poděkovala vedení FN Plzeň za umožnění sběru dat pro tuto práci. Děkuji také vrchní laborantce paní H. Kasalové za podporu po celou dobu studia.

Obsah

Obsah

1. ÚVOD.....	9
2. VÝVOJ PLIC.....	11
3. VŠEOBECNÁ STAVBA A FUNKCE PLIC.....	14
3.1 Všeobecná stavba plic.....	14
3.2 Funkce plic.....	16
4. CÉVNÍ ZÁSOBNÍ PLIC.....	20
5. LYMFATICKÁ DRENÁŽ PLIC.....	21
5.1 Lymfatické cévy.....	21
5.2 Lymfatické uzliny.....	21
6. HISTOLOGICKÁ STAVBA PLIC.....	23
6.1 Histologická stavba trachey.....	23
6.2 Histologická stavba bronchů.....	23
6.3 Histologická stavba bronchiolů.....	24
6.4 Histologická stavba alveolů.....	25
7. PATOLOGIE PLIC.....	26
7.1 Nenádorová onemocnění.....	26
7.1.1 Bronchiální astma.....	26
7.1.2 Záněty plic - pneumonie.....	26
7.1.3 Cystická fibróza.....	27
7.1.4 Tuberkulóza.....	28
7.2 Nádorová onemocnění.....	29

7.2.1	Bronchogenní karcinom plic.....	29
7.2.2	Druhy bronchogenního karcinomu.....	29
7.2.3	Příčiny vzniku.....	30
7.2.4	Symptomy.....	31
7.2.5	Diagnostika.....	32
7.2.6	Léčba.....	34
8.	ZPRACOVÁNÍ VZORKU.....	37
8.1	Odběr materiálu.....	37
8.2	Fixace.....	37
8.3	Příjem a přikrojení materiálu.....	39
8.4	Zpracování v autotechnikonu.....	39
8.5	Zalévání.....	40
8.6	Krájení, napínání.....	40
8.7	Barvení.....	41
8.7.1	Hematoxylin – eosin.....	41
8.8	Mikroskopování.....	43
8.9	Imunohistochemické vyšetření.....	44
8.10	Genetické vyšetření.....	45
9.	PŘEHLED ČETNOSTI VÝSKYTU.....	46
10.	VÝZKUM.....	50
11.	DISKUZE.....	52
12.	ZÁVĚR.....	53
13.	PŘÍLOHY.....	54
	POUŽITÉ ZDROJE.....	56

Seznam použitých zkratek

AE 1/3 - směs protilátek reagujících s cytokeratiny

ALK - anaplastická lymfomová kináza

CD 56 (NCAM) - neurální adhezivní molekula

CD133 - Prominin-1: Transmembránový glykoprotein popsáný jako typický znak nádorových kmenových buněk

CK 5 - protein cytokeratin 5

CK 7 - protein cytokeratin 7

CT - výpočetní tomografie

EGFR - transmembránový receptor

Gy - Gray: jednotka absorbované dávky záření

HE - hematoxylin – eosin

p63 - nádorový protein

TNM klasifikace - popis umožňující zařazení karcinomu do stadia onemocnění. Skládá se ze 3 složek - T tumor, N nody - uzliny, M metastázy.

TTF 1 (Thyroid Transcription Factor) - transkripční faktor štítné žlázy

1. ÚVOD

Histologie: název tohoto oboru pochází z řečtiny. Tato věda je nauka o tkáních: histos - tkáň, logos - nauka. Histologie zkoumá mikroskopickou stavbu tkání. Znalost přesné stavby tkání je důležitá pro pochopení, jak daná tkáň či orgán fungují a také pro to, aby se daly určit případné patologické změny. Přesné určení změn ve tkáni je často nezbytné pro stanovení diagnózy. Základním rozdělením histologie je histologie obecná a speciální. Obecná histologie se zabývá mikroskopickou stavbou základních tkání, speciální histologie se zabývá mikroskopickou stavbou jednotlivých orgánů. Mezi obory, které jsou příbuzné s histologií, můžeme řadit mimo jiné imunohistochemii. Ta se zabývá poznáváním tkání pomocí antigenů a protilátek. Využívá se také fluorescenčního značení.

Za zakladatele moderní české patologie je považován prof. Jaroslav Hlava (1855 – 1924). Mezi jeho žáky patřil prof. Heřman Šikl (1888 - 1955), který je považován za jednoho ze zakladatelů české histologie a biopsie. Byl jedním z prvních lékařů, kteří prokázali vliv radioaktivity na vznik plicních karcinomů.

Pro svoji bakalářskou práci jsem si vybrala téma Histologie plic se zaměřením na bronchogenní karcinom. Tento karcinom se celosvětově řadí mezi nejčastější zhoubná onemocnění. Jeho incidence stále stoupá a to hlavně v ženské populaci. Ve své práci popisuji příčiny vzniku, symptomy, diagnostiku a možnosti léčby u tohoto onemocnění. Představím zde pracovní činnosti v klasické histologické laboratoři i ve speciální laboratoři imunohistochemické.

Cílem praktické části mé práce je zmapovat celkové množství plicních biopsií, které byly zaslány na naše pracoviště v roce 2015. Zjistit, u kolika z nich byl potvrzen bronchogenní karcinom. Jaké je zastoupení tohoto karcinomu v určitých věkových skupinách a jaké má zastoupení s ohledem na pohlaví pacienta.

Cílem výzkumné části mé práce je vyzkoušet, zda by bylo možné využívat imunohistochemické vyšetření s protilátkou CD 133 (CD133/Prominin-1:

Transmembránový glykoprotein popsáný jako typický znak nádorových kmenových buněk) jako prognostický ukazatel při diagnostice nemalobuněčného karcinomu plic.

2. VÝVOJ PLIC

Během embryogeneze vznikají tři hlavní skupiny buněk, které označujeme jako zárodečné listy. Jsou to entoderm, ektoderm a mezoderm. Dýchací systém vzniká z entodermu [Klika, 1986].

Prvním krokem je zesílení ventrální stěny primitivního faryngu. K tomuto zesílení dochází těsně před 4. týdnem vývoje. Vzniká tak laryngotracheální rýha. Tato rýha je oddělena od budoucího esofagu tracheoesofageálním septem. V případě, kdy dojde ke špatnému rozdělení, vznikají píštěle mezi esofagem a tracheou. Laryngotracheální rýha se postupně mění v trubici, která roste kaudálním směrem. Její spodní konec je rozšířený a rozdělený na 2 části. Tato část trubice se označuje jako bronchopulmonální výchlipka. Z horní, nerozdělené části trubice vznikne larynx a trachea. Spodní, rozdělená část je základem pro vznik bronchů a plic [Klika, 1986].

Larynx vzniká z mezenchymu v oblasti 4. a 5. žaberního oblouku. Mezenchym je základ pro vznik mezodermu. Vchod do laryngu se podobá písmenu T. Po stranách je ohraničen arytenoidními valy, horní část je ohraničena epiglotickým valem. Z mezenchymu vzniká také epiglotis, která je z elastické chrupavky. Ta vzniká v oblasti 3. a 4. žaberního oblouku. V oblasti 4. a 5. žaberního oblouku vznikají chrupavky laryngu. V 10. týdnu vývoje se vnitřní část laryngu rozšiřuje a vznikají slizniční řasy plica ventricularis a plica vocalis. Z těchto řas jsou tvořeny hlasivky [Klika, 1986].

Pod laryngem vzniká trachea. Z entodermu vzniká epitel sliznice a žlázy, z mezenchymu vzniká vazivová tkáň, svalovina a chrupavky. Chrupavčité prstence se objevují od 8. týdne vývoje. Trachea se prodlužuje kaudálním směrem. Roste podstatně rychleji než larynx [Kappeler, 1991].

Z bronchopulmonální výchlipky vznikají bronchy a plíce. Levá část je menší než pravá. Z primární výchlipky se tvoří výchlipky sekundární. Na levé straně se tvoří 1 výchlipka, která má 2 zakončení. Na pravé straně se tvoří 2 výchlipky, které mají

celkem 3 zakončení. Prodloužením těchto výchlipek vznikají sekundární bronchy. Nejdříve vznikají přední bronchy, později vznikají zadní bronchy. Zakončení výchlipek před sebou během růstu tlačí stěnu pleuroperitoneálních kanálů, ze kterých se vytvoří pleurální dutiny a vznikají tak základy plicních laloků. Plicní laloky jsou postupně oddělovány zářezy z viscerální pleury. Ta je tvořena z mezodermu. Sekundární výchlipky se opakovaně rozdvíjejí a postupně se vytváří bronchiální strom. Ten je tvořen kmenovými bronchy, bronchy nižších řádů, bronchioly (terminální, respirační), alveolárními chodbičkami a polokulovitými váčky, které tvoří základ alveolů. Do narození se vytvoří přibližně 18 generací bronchů. Po narození tvorba pokračuje, celkový počet je přibližně 25 generací [Klika, 1986].

Alveoly jsou až do porodu nevděšné. Dýchací systém je naplněn tekutinou. Proces dýchání se uskutečňuje placentární výměnou. V tekutině se vyskytuje množství proteinů, hlen a surfaktant. Většinu této tekutiny produkují alveolární buňky, malá část je vdechována plodem z amnionu. Tvorba surfaktantu je řízena hormonem tyroxinem. Surfaktant je důležitý pro dýchání, snižuje totiž povrchové napětí v alveolech. K zavzdušnění plic dochází po porodu. Většina tekutiny z plic je vstřebána do plicních kapilár. Malé množství se vytlačí díky tlaku při porodu ústy a nosem. Tvorba nových alveolů pokračuje i po porodu. Postupně se vyvíjí definitivní alveoly. V době narození je vytvořena přibližně 1/7 celkového počtu alveolů, tvorba alveolů končí mezi 8. až 10. rokem života [Klika, 1986].

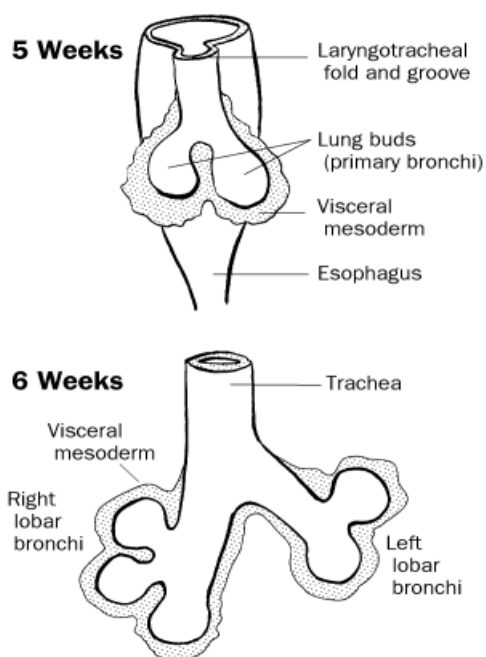
Dle mikroskopické stavby lze vývoj plic rozdělit na 4 období. Tvorba plicních segmentů je však různě rychlá, z tohoto důvodu se následující rozdělení překrývá [Vacek, 1987].

Pseudoglandulární stádium (5. - 16. týden): plíce svým vzhledem připomínají žlázy s vnější sekrecí. V mezenchymu se tvoří strom bronchů a bronchiolů. Výstelka bronchů má entodermový původ. Bronchioly mají epitelově tubulární zakončení s úzkým lumenem. Společně s větvením bronchů probíhá větvení krevních a lymfatických cév [Vacek, 1987].

Kanálkové stádium (13. - 24. týden): lumen bronchů a bronchiolů se rozšiřuje, dochází ke vzniku jednotlivých struktur stěny. Začínají vznikat chrupavky bronchů. Oplošťují se epitelové buňky. Krevní kapiláry se přibližují k respiračnímu epitelu. Samostatné dýchání stále není možné [Vacek, 1987].

Stadium primitivních alveolů (24. týden – do porodu): dochází k rozsáhlému vzniku alveolárních chodbiček a alveolárních váčků. Entodermové buňky v alveolech se mění na membranózní a granulární pneumocyty. Vzniká bariéra vzduch – krev. Tato bariéra je v místě, kde se dotýká stěna kapiláry a stěna alveolu. Plod může přežít od 26. týdne [Vacek, 1987].

Stadium definitivních alveolů (od porodu – 8 let): alveoly získávají svojí konečnou podobu. Při porodu je vytvořena přibližně 1/7 celkového počtu alveolů dospělého. Dochází k produkci surfaktantu [Vacek, 1987].



Obr. č. 1: vývoj plic v 5. a v 6. týdnu
(Zdroj: www.med.umich.edu)

3. VŠEOBECNÁ STAVBA A FUNKCE PLIC

V následujících subkapitolách je popsána anatomická stavba plic, jejich členění na laloky a bronchopulmonální segmenty. Dále se zde zabývám funkcemi plic a to jak respiračními, tak nerespiračními.

3.1 Všeobecná stavba plic

Plíce (pulmones) jsou součástí dolních cest dýchacích. Mezi dolní cesty dýchací patří mimo plic ještě larynx a trachea. Plíce jsou párový orgán, který je uložený v mediastinu. Mají přibližně kónický tvar. Pravá plíce je větší než levá. V levé je vychlípenina, která je nazývána srdeční imprese. Zde je uloženo srdce. Plicní základna naléhá na horní okraj bránice, což je hlavní dýchací sval. Plicní hrot je umístěn pod klíční kostí. Boční stěny naléhají k žebřům. Zadní stěna naléhá na hrudní páteř. V plicním hilu vstupují do plic průdušky, žíly, tepny, mízní cévy a nervy. Na povrchu plic je viscerální pleura (poplicnice). Ta přechází na parietální pleuru (pohrudnice). Mezi viscerální a parietální pleurou je pleurální dutina, která je vyplněna tekutinou. Ta zajišťuje hladký pohyb během dýchání, umožňuje viscerální a parietální pleure pohyb do stran a zabraňuje jejich oddělení od sebe. Vytváří podtlak, který udržuje plíce rozepjaté. Pohrudniční tekutina je tvořena parietální pleurou. Jak viscerální tak parietální pleura je z mezotelových buněk a obsahuje kolagenní a elastická vlákna.

Plíce mají houbovitou konzistenci. Průměrná velikost plic je přibližně 20 x 18 x 10 cm. Lidské plíce jsou vzhledem ke své velikosti celkem lehké. Pravá plíce váží přibližně 0,6 kg, levá přibližně 0,5 kg. Je to dáno tím, že jde o orgán, který je z velké části vyplněný vzduchem. Každá z plic pojme až 3 litry vzduchu. Plíce jsou po narození narůžovělé, během života mění barvu na šedočernou. Tato změna barvy je dána tím, že se v plicích usazují drobné vdechnuté nečistoty, hlavně prach [Dylevský, 1995].

Vnitřek plic je tvořen bronchy, bronchioly a alveoly. Vazivo mezi alveoly a bronchy se nazývá plicní intersticiium. Toto vazivo je elastické. V intersticiu jsou

umístěny mimo bronchů také artérie, žíly, nervy a lymfatické cévy. Hlavní bronchy přecházejí na lalokové bronchy, dále na segmentární bronchy, subsegmentární bronchy a terminální bronchy. Stěna bronchů je tvořena stejně jako stěna trachey z chrupavek a hladké svaloviny. Chrupavka postupně ubývá během větvení. Postupně ubývá i hladká svalovina, ta se postupně změní až tenkou sliznicí. Dalším dělením se z terminálních bronchů stávají bronchioly. I ty se několikrát dělí. Vznikají tak respirační bronchioly, které vedou do alveolů [Dylevský, 1995].

Plíce jsou rozděleny na laloky. Levá plíce na 2 – horní a dolní, pravá na 3 – horní, střední a dolní. Mezi jednotlivými laloky je tzv. mezilaloková rýha. V levé plíci je to fissura obliqua, v pravé plíci jsou to fissura obliqua a fissura horizontalis. Každý z plicních laloků se dále dělí na tzv. bronchopulmonální segmenty. Ty jsou od sebe navzájem odděleny vazivem, které vychází z viscerální pleury. Jednotlivé segmenty mají vlastní zásobení krví i vzduchem. Vzduch je přiváděn do každého segmentu segmentární průduškou. Díky tomu, že infekce špatně přechází přes vazivo, je plíce chráněna před šířením infekcí. Každý z plicních laloků má 10 segmentů. Plicní segmenty se dále dělí na plicní aciny. Plicní acinus je základní jednotkou plic. Je tvořen respiračním bronchiolem a alveolem. Acinus má tvar pyramidy, spodní stěna tvoří stěnu plíce, vrchol směřuje k plicnímu hilu [Malinovský, 1986].

Plicní segmenty: Pravá plíce: 1) segmentum apicale, 2) segmentum posterius, 3) segmentum anterius, 4) segmentum laterale, 5) segmentum mediale, 6) segmentum subapicale, 7) segmentum basale mediale, 8) segmentum basale anterius, 9) segmentum basale laterale, 10) segmentum basale posterius.

Levá plíce: 1) + 2) segmentum apicoposterius, 3) segmentum anterius, 4) segmentum lingulare superius, 5) segmentum lingulare inferius, 6) segmentum subapicale, 7) segmentum basale mediale, 8) segmentum basale anterius, 9) segmentum basale laterale, 10) segmentum basale posterius [Marieb, 2005]

3.2 Funkce plic

Dolní cesty dýchací mají několik funkcí. Tyto funkce můžeme dělit na 2 základní skupiny. Jsou to funkce nerespirační a funkce respirační [Slavíková, 2012].

Nerespirační funkce dolních cest dýchacích: Těchto funkcí je několik. V laryngu dochází ke tvorbě hlasu. Epiglottis zabraňuje nechtěnému proniknutí potravy do dýchacích cest. Trachea zvlhčuje, ohřívá a čistí vdechnutý vzduch. Také bronchy se podílejí na ohřívání a zvlhčování vzduchu. Alveolární surfaktant snižuje povrchové napětí. Plíce hrají důležitou roli také v imunitě. Do bronchiálního sekretu jsou vylučovány imunoglobuliny A, které pomáhají bojovat proti cizím mikroorganismům. Při proniknutí cizorodých částek do dýchacích cest je vyvolán kašlací reflex, menší částice jsou fagocytovány makrofágy v alveolech. Během polykání či zvracení dochází ke změně frekvence dýchání. V plicích dochází k produkci některých biologicky aktivních látek. Jde například o heparin. Díky přítomnosti heparinu může také dojít k samovolnému odstranění maličkých embolů z žilní krve. Mimo produkce zde dochází i k odstraňování některých látek, např. bradykininu. Plíce eliminují množství alkoholu. Další funkcí je funkce exkrece. Za den je eliminováno přibližně 800 ml vody. V plicích dochází k přeměně angiotenzinu I na angiotenzin II [Slavíková, 2012].

Respirační funkce dolních cest dýchacích: Je to nejvýznamnější funkce plic. Jde o výměnu dýchacích plynů. Do plic je přiváděn kyslík a z plic je odváděn oxid uhličitý. Výměnu dýchacích plynů označujeme jako plicní ventilaci. Tento proces je složen ze 2 částí. Jsou to inspirium (nádech) a expirium (výdech). Inspirium je stejně jako expirium pasivní proces. Jako aktivní lze označit silné, usilovné dýchání [Mourek, 2012].

Inspirium: Dochází ke kontrakci inspiračních svalů. Hlavním svalem je bránice, která se sníží a zploští. Dále jsou to mezižební svaly, které vytáhnou žebra do strany a nahoru. I když je tento posun pouze v řádech několika milimetrů, stačí to na zvětšení objemu hrudníku až o půl litru. Postupně se zvýší objem hrudníku, negativita nitrohrudního tlaku (mezi plicemi a hrudní stěnou), transpulmonální tlak a objem plic.

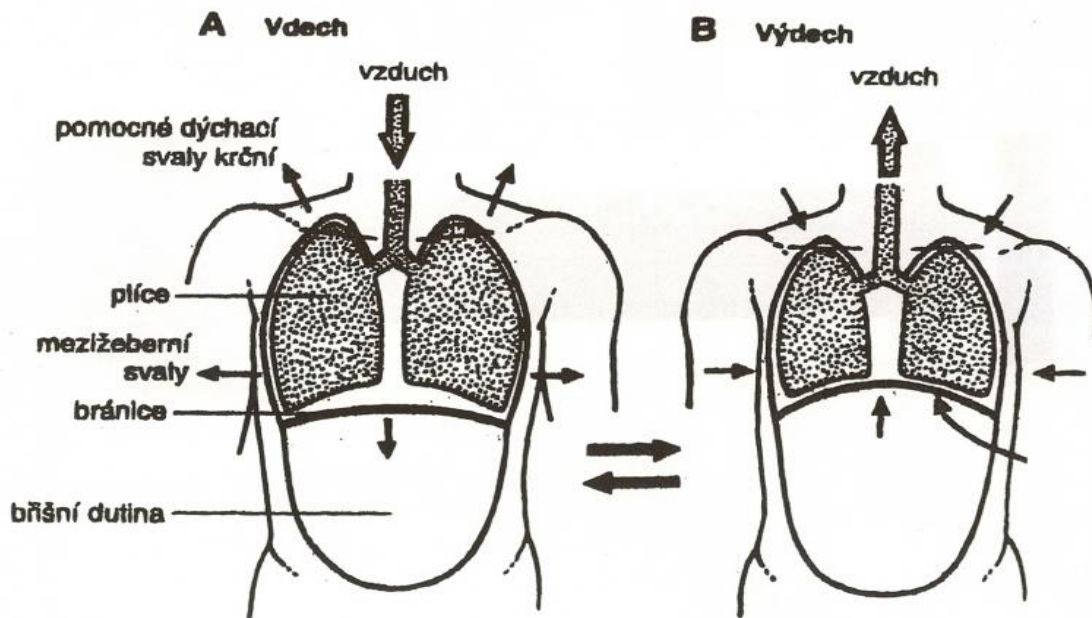
Intraalveolární tlak je nyní nižší než tlak atmosférický, tím dojde k proudění vzduchu do plic. V případě hlubokého nádechu, kdy je nutné zvětšit objem hrudníku ještě více, se zapojí svaly krku, malý hrudní sval a napřimovače páteře. Tím dojde ke zvednutí hrudního koše a rozšíření zad [Trojan, 1986].

Expirium: Dochází k relaxaci inspiračních svalů. Bránice se uvolní a posune se směrem vzhůru. Díky uvolnění svalů působí na hrudní koš gravitace. Ten klesne. Dochází k postupnému zmenšení objemu hrudníku, negativity nitrohrudního tlaku, transpulmonálního tlaku a objemu plic. Intraalveolární tlak je nyní vyšší než tlak atmosférický, tím dojde k proudění vzduchu z plic. V případě hlubokého výdechu se zapojí šikmé a příčné břišní svaly, mezižeberní svaly a široký sval zádový [Trojan, 1986].

Za 1 minutu se dospělý člověk v klidu nadechne a vydechne průměrně 16x. Při usilovném dýchání je to 30 – 50x. Děti 26x a novorozenec 44x. Respirační povrch kapilár je přibližně 140 m². Při jednom nádechu a výdechu se v alveolech vymění 500 ml vzduchu. Při usilovném dýchání je to až 2500 ml. Vitální kapacita plic je u mužů přibližně 4200 ml, u žen je to 3200 ml. Je to množství vydechnutého vzduchu po maximálním nádechu [Trefný, 1993].

Ve vdechnutém vzduchu je přibližně 20 % kyslíku, 79 % dusíku a 1 % vzácných plynů. Vydechovaný vzduch své složení mění. První třetina má prakticky stejné složení jako vzduch, který vdechujeme. Tento vzduch pochází z horních cest dýchacích. V dalších dvou třetinách je vzduch vydechnutý z plic. V něm je 16 % kyslíku a 6 % oxidu uhličitého. Díky první třetině vydechovaného vzduchu je možné provádět umělé dýchání [Mourek, 2012].

Negativita nitrohrudního tlaku je v klidu při nádechu -1,3 kPa, při výdechu je -0,3 kPa. Při usilovném dýchání je při nadechnutí až -11 kPa, při výdechu až +11 kPa. Transpulmonální tlak je rozdíl mezi tlakem intraalveolárním a tlakem intrapleurálním. Intrapleurální tlak je po nadechnutí -0,9 kPa. Intraalveolární tlak je po nadechnutí o 0,3 kPa nižší než tlak atmosférický [Slavíková, 2012].



Obr. č. 2: znázornění procesu dýchání
 (Zdroj: NOVOTNÝ, I. *Biologie člověka*. Praha: Fortuna.2003. ISBN: 80-7168-819-3)

Dýchání je řízeno nervově. Nejdůležitější roli zde hraje respirační centrum, které je uloženo v retikulární formaci prodloužené míchy. Toto centrum se nazývá pre-Bötzingerův komplex a je tvořen 2 částmi – vdechovým centrem a výdechovým centrem. Respirační centrum stanoví dechovou frekvenci. Pre-Bötzingerův komplex ovlivňuje limbický systém, hypothalamus a mozková kůra. Limbickým systémem a hypothalamem je ovlivněno dýchání při emocích, například při smíchu nebo pláči. Mozkovou kůrou je ovlivněno vědomé zrychlené dýchání. Ve vdechovém a výdechovém centru se tvoří rytmické vzruchy, které posílají podněty k míšním nervům. Míšní nervy působí na dýchací svaly, čímž jsou vyvolány rytmické pohyby. Tato činnost je samovolná a automatická, působí na ni však celá řada podnětů. Ty lze rozdělit

do 2 hlavních skupin a to podněty nervové a podněty látkové [Kandus, 2001].

Nervové podněty: z periferních oblastí středního mozku, dýchacích svalů, šlach a kloubních pouzder jsou vysílány reflexní impulsy. Tyto impulsy putují do nervových zakončení ve vazivu plic. Zde jsou senzitivní vagová vlákna. Tato vlákna jsou při nádechu drážděna rozepnutím plicního parenchymu. Toto rozepnutí způsobí útlum činnosti vdechového centra, ustane kontrakce dýchacích svalů a následuje výdech. Při výdechu je ukončeno dráždění senzitivních vagových vláken, dojde k opětovné kontrakci dýchacích svalů a následuje nádech. Další z vagových vláken jsou uložena v oblouku aorty. Při podráždění těchto vláken v důsledku zvýšeného tlaku nebo při podráždění kůže chladem dochází ke zpomalení dýchání. V případě, že je podráždění příliš velké, může dojít až k zástavě dýchání. Toto podráždění může být způsobeno cizím tělesem. Aby došlo k vypuzení cizího tělesa, je zástava dýchání následována prudkou expirací – kýchnutím nebo kašlem. Díky mozkové kůře můžeme samovolně regulovat dechovou frekvenci, například při řeči nebo zpěvu [Trojan, 1986].

Látkové podněty: tyto podněty působí díky změnám ve složení krve, která protéká respiračním centrem. Receptory, které přijímají signály z krve se nazývají chemoreceptory. Reagují na změny v arteriálním tlaku kyslíku, oxidu uhličitého a na vyšší pH. Existují 2 typy chemoreceptorů. Jsou to centrální a periferní. Centrální chemoreceptory jsou uloženy v prodloužené míše. Tyto receptory reagují na změny v arteriálním tlaku oxidu uhličitého a změny v pH. Periferní receptory se dělí na aortální a karotická tělíška. Aortální jsou uložena v oblouku aorty a vysílají signál bloudivým nervem do míchy. Karotická jsou uložena u bifurkace karotid a vysílají signál glossopharyngeálním nervem. Periferní receptory reagují na změny v arteriálním tlaku kyslíku. Periferní receptory jsou ze 2 typů buněk. První typ jsou buňky glomické, druhý typ jsou buňky podobné glii. Glomické buňky těsně naléhají k nervovým zakončením a obsahují granula s katecholaminy. Při hypoxii dojde k uvolnění dopaminu z granul. Ten dráždí nervová zakončení a dojde k přenosu impulzu do respiračního centra. Druhý typ buněk má podpůrnou funkci [Trojan, 1986].

4. CÉVNÍ ZÁSOBENÍ PLIC

Cévní zásobení plic je nezbytné z důvodu výměny dýchacích plynů. Z funkčního hlediska můžeme cévní zásobení dělit na dvě skupiny – funkční a nutritivní plicní oběh [Marieb, 2005].

Funkční: začátek tohoto oběhu se nachází v pravé srdeční komoře. Odtud je odváděna do plic odkysličená krev pomocí arteriae pulmonales. Ty dále pokračují do plicního kmene. Dle toho, do které plíce míří, rozeznáváme arteria pulmonalis dextra a arteria pulmonalis sinistra. A. pulmonalis dextra je oproti a. pulmonalis sinistra delší. Následuje dělení na větve, které vedou do jednotlivých plicních laloků. A. pulmonalis dextra i sinistra mají po dvou větvích – horní a dolní. Dolní vede do dolního laloku, horní vede do horního a v případě pravé plíce i do středního laloku. Následuje dělení obdobné jako u bronchů. Během dělení se arterie postupně zužují a mění se až na pleteně kapilár. Ty jsou okolo každého plicního sklípku. V tomto místě je stěna kapiláry nejtenčí. Díky nízkému onkotickému tlaku v plicním oběhu je zde umožněna výměna dýchacích plynů na základě pasivního transportu. Z cévy však neunikne do okolní tkáně H_2O . Nyní okysličená krev pokračuje z plicní tkáně do levé síně srdeční pomocí venae pulmonales. Dále pokračuje okysličená krev do celého těla. Za klidových podmínek projde plícemi 100 ml krve za minutu.

Nutritivní: okysličuje plicní tkáň. Aorta thoracica má větve parietální, které jsou pro hrudní stěnu a větve viscerální, které jsou pro orgány. Viscerální větve jsou rami bronchiales, rami oesophagei a rami pericardiaci. Rami bronchiales vedou výživu k bronchům. Rami oesophagei vedou výživu k ezofágu a rami pericardiaci vedou výživu do zadní stěny perikardu. Rami bronchiales se postupně zužují až na kapiláry. Poté se spojí ve venae bronchiales. Ty odvádějí krev z bronchů, pokračují do vena azygos a vena hemiazygos. Vena azygos prochází bránicí a dále pokračuje po pravé straně páteře, vena hemiazygos pokračuje po levé straně páteře. Přibližně v polovině se překříží, vena hemiazygos ústí do vena azygos, ta vyústí do vena cava superior [Marieb, 2005].

5. LYMFATICKÁ DRENÁŽ PLIC

Lymfatická drenáž plic je tvořena ze 2 základních částí. Jsou to nodi lymphatici (lymfatické uzliny) a lymfatické cévy. V lymfatických cévách proudí mléčně zbarvená tekutina, lymfa. Ta vzniká z tkáňového moku. Každý den se vytvoří až 2 litry lymfy. Při průtoku uzlinami se lymfa čistí a naopak do lymfy se dostávají lymfocyty. Ty mají zásadní význam na imunitu organismu. Lymfatická soustava je proto nejdůležitější částí imunitního systému [Marieb, 2005].

5.1 Lymfatické cévy

V plicích rozeznáváme 2 systémy lymfatických cév:

Povrchový systém lymfatických cév: Vasa lymphatica superficialis. Začínají pod viscerální pleurou. Směřují k plicnímu hilu. Zde ústí do nodi lymphatici bronchopulmonales.

Hluboký systém lymfatických cév: Vasa lymphatica profunda. Vedou podél bronchiálního stromu, od respiračních bronchiolů, přes nodi lymphatici pulmonales až k nodi lymphatici bronchopulmonales. Zde se oba systémy setkávají [Malinovský, 1986].

5.2 Lymfatické uzliny

Lymfatická uzlina: uzliny jsou kulaté až oválné. Velikost uzlin je různá, nejčastěji je to od 1 do 25 mm, ovšem při různých patologických onemocněních se mohou uzliny zvětšit. Uzliny jsou na pohmat tuhé. Na povrchu je vazivové pouzdro. Z něho směřují do nitra uzliny vazivové trámce. V jednom místě je vazivové pouzdro vklesnuto do hloubky, zde je tzv. hilus uzliny. Do uzliny se lymfa dostává afferentní cévou a z uzliny efferentní cévou. Ta vychází z uzliny právě v oblasti hilu. Na protější straně do uzliny vstupují afferentní cévy. Lymfa z nich putuje do sinusů, kterými proudí 99 % lymfy.

Uzlina se dělí na 2 části a to kortex a medullu. Kortex je pod pouzdrém uzliny. Je složen z lymfatických uzlíků. Těmi protéká 1 % lymfy. Medulla je z trámců lymfatické tkáně. V lidském těle se nachází okolo 500 lymfatických uzlin [Marieb, 2005].

V předešlé subkapitole jsem zmínila 2 skupiny uzlin. Mimo těchto uzlin jsou v plicích a okolí ještě další skupiny uzlin. Jsou to nodi lymphatici bronchiales, nodi lymphatici tracheobronchiales a nodi lymphatici tracheales. Nodi lymphatici pulmonales jsou uzliny v plicním parenchymu. Nody lymphatici bronchopulmonales jsou uzliny podél bronchu v plicním hilu. Nodi lymphatici bronchiales jsou uzliny podél extrapulmonálního bronchu. Nodi lymphatici tracheobronchiales jsou uzliny v oblasti, kde se trachea rozděluje na bronchy. Nodi lymphatici tracheales jsou uzliny podél trachey [Malinovský, 1986].

Proudění lymfy jednotlivými uzlinami: Z pravé plíce proudí lymfa přes pravou tracheobronchiální uzlinu do pravé tracheální uzliny. U levé plíce musíme rozlišit ze kterého laloku lymfa proudí. Z dolního laloku jde lymfa přes tracheobronchiální uzlinu do pravé tracheobronchiální uzliny. Odtud míří do pravé tracheální uzliny. Z horního laloku jde lymfa přes levou tracheobronchiální uzlinu do levé tracheální uzliny [Marieb, 2005].

6. HISTOLOGICKÁ STAVBA PLIC

V následujících subkapitolách je popsána histologická stavba trachey, bronchů a plic.

6.1 Histologická stavba trachey

Trachea má tvar trubice a její délka je přibližně 10 cm. Začátek trachey se nachází za hrtanem. Na dolním konci se rozděluje na 2 bronchy. Tracheu tvoří 16 – 20 hyalinních chrupavek, které svým tvarem připomínají písmeno „c“. Tyto chrupavky jsou dorzálně spojeny vazy a svaly. Zadní stěna trachey je tvořena tuhým fibroelastickým vazivem. To je zpevněno hladkou svalovinou. Tato svalovina je kruhovitě uspořádána okolo tuhého vaziva. Při kašlajícím reflexu se uplatňují svalové kontrakce. Vnitřní stěna trachey je pokryta sliznicí, na té je víceřadý cylindrický epitelem s řasinkami. Ve sliznici se nachází 8 druhů buněk. Ve velkém počtu se zde nachází buňky bazální, pohárkové a řasinkové. Méně často se nachází buňky Clarovy, endokrinní, intermediární, kartáčkové a serózní. Bazální buňky jsou zárodečné buňky pro ostatní druhy buněk. Pohárkové buňky tvoří hlen, který je postupně vyléván na sliznici. Řasinkové buňky mají na povrchu velké množství cilií. Cytoplazma obsahuje zrna glykogenu. Clarovy buňky obsahují drobná sekreční granula. Endokrinní buňky obsahují velký počet denzních granulí. Tyto buňky vykazují sekreční činnost. Intermediární buňky se mohou vyvíjet v buňky ciliární i sekreční. Kartáčkové buňky regulují viskozitu hlenu. Serózní buňky snižují viskozitu hlenu mezi ciliemi [Hach, 2003, Junqueira, 1997, Vacek, 1988].

6.2 Histologická stavba bronchů

Bronchy vznikající z trachey označujeme jako primární. Jsou 2, jeden vede k levé plicí, druhý k pravé. Svými konci vstupují do plicních hilů. Zde se následně dělí na sekundární bronchy. Ty jdou do plicních laloků, z tohoto důvodu se jejich počet liší dle toho, o jakou plicí se jedná. V pravé plicí jsou 3, v levé pak jen 2. Tyto sekundární bronchy se dále dělí na bronchy terciální. Ty vstupují do bronchopulmonálních

segmentů. Od primárních bronchů dochází k postupnému dělení a to celkem až 12x. Průměr bronchů se postupně zmenšuje.

Primární bronchy mají podobnou histologickou stavbu jako trachea. Na povrchu je víceřadý cylindrický epitel s řasinkami.

Sekundární bronchy již nemají chrupavku ve tvaru písmene „c“. Mají však stále hyalinní chrupavku nepravidelně uspořádanou do plotének. Ty jsou obklopeny kolagenním vazivem. Ve větší míře se zde nachází i elastické vazivo. Sekundární bronchy jsou spirálovitě obklopeny hladkou svalovinou. U sekundárních bronchů je lymfatická tkáň a jsou zde smíšené žlázy. Na povrchu je opět víceřadý cylindrický epitel s řasinkami.

Terciální bronchy jsou také vystlány víceřadým cylindrickým epitelem s řasinkami. Jsou zde pohárkové buňky. Ty vylučují hlen. Ubývá chrupavčitá tkáň a snižuje se epitel. Epitel se postupně mění ve dvouvrstevný a jednovrstevný cylindrický s řasinkami. Jsou zde smíšené žlázy. Terciální bronchy jsou obklopeny hladkou svalovinou. Přecházejí do terminálních bronchiolů [Hach, 2003, Junqueira, 1997, Vacek, 1988].

6.3 Histologická stavba bronchiolů

V bronchiolích se nenacházejí žádné chrupavky ani žlázy. Jejich stěna je tvořena kolagenním vazivem s elastickými vlákny. Kruhovitě jsou obklopeny hladkou svalovinou. Bronchioly jsou vystlány jednovrstevným cylindrickým epitelem s řasinkami. Tento druh epitelu se postupně mění na kubický řasinkový epitel. Na začátku bronchiolů se nalézá malé množství pohárkových buněk. V terminálních bronchiolích se nalézají Clarovy buňky. V jejich cytoplazmě se nachází sekreční granula chránící výstelku bronchiolů. Terminální bronchioly přecházejí v bronchioly respirační. Ty jsou vystlány kubickým epitelem. Ten se postupně mění na plochý epitel. Tyto bronchioly přecházejí v plicní váčky. Ty jsou tvořeny plicními sklípky – alveoly [Hach, 2003, Junqueira, 1997, Vacek, 1988].

6.4 Histologická stavba alveolů

Alveoly jsou polokulovité váčky. Stěny alveolů naléhají těsně jeden na druhý. Jejich stěna je tvořena tenkou vazivovou blankou. Ta je složena z retikulárních a elastických vláken. Je zde kolem 20 % kolagenu. Jedná se o kolagen typu I a III. Kolagen I. typu se nachází v pleuře, kolagen III. typu se nachází v retikulárních vlákních. Na stěny alveolů přiléhají krevní vlásečnice. Toto místo se nazývá alveolární septum. Zde dochází k výměně dýchacích plynů. Na začátku plicních váček se nachází buňky hladké svaloviny. Vnitřní stěna alveolu je pokryta respiračním epitelem. Ten je tvořen ze dvou typů buněk. Tyto buňky jsou membranózní pneumocyt a granulární pneumocyt. Membranózní pneumocyt se označuje jako buňka I. typu. Tvoří přibližně 97 % výstelky alveolu. Vzhledově je to plochá dlaždicová buňka epitelu. Na membranózní pneumocyty těsně přiléhají granulární pneumocyty. Tyto dva typy pneumocytů jsou vzájemně spojeny výběžky. Granulární pneumocyty se označují jako buňky II. typu. Tvoří jen 3 % výstelky alveolu. Tyto buňky jsou kubické. Tvoří tekutinu obsahující plicní surfaktant. Ten brání slepení jednotlivých alveolů a snižuje povrchové napětí. To je nezbytné k tomu, aby se alveoly naplnili vzduchem i při menší síle nádechu. Surfaktant je neustále obměňován. Starý je pohlcen makrofágy. Nový je tvořen granulárními pneumocyty. Další velmi důležité buňky v alveolech jsou alveolární makrofágy. Označujeme je jako prašné buňky. Jejich úkolem je vychytávat drobné částičky prachu a bakterie. Ve stěně alveolu se nachází alveolární póry. Ty spojují sousedící alveoly. Zajišťují zde cirkulaci vzduchu a vyrovnávají vnitřní tlak alveolů [Hach, 2003, Junqueira, 1997, Vacek, 1988].

7. PATOLOGIE PLIC

7.1 Nenádorová onemocnění

V následujících subkapitolách popisují nejčastější nenádorové patologie plic.

7.1.1 Bronchiální astma

Bronchiální astma je chronické onemocnění, vyskytující se u pacientů s patologickou imunitou. Tato patologie spočívá v tom, že pacient je přecitlivělý na různé antigeny, které mohou toto onemocnění vyvolávat. Jsou to například pyly, chlupy, roztoči nebo peří. Bronchiální astma však může vyvolat i silná emoční reakce. Jsou ovšem doložené i případy, kdy je příčina neznámá. Toto onemocnění postihuje děti i dospělé. Projevuje se pravidelnými, ale i nepravidelnými záchvaty dušnosti. Mezi další projevy patří zvýšená sekrece hlenů, otoky sliznic a křeče hladké svaloviny bronchiolů. Tím je ztížené vydechování. Všechny tyto projevy mohou vést k hypertrofii pravé srdeční komory nebo k selhání srdce. Léčba je dlouhodobá [Dobiáš, 1979, Stříteský, 1995].

7.1.2 Záněty plic - pneumonie

Jedná se o skupinu různých onemocnění, které se od sebe liší klinickým obrazem, průběhem a vyvolávající příčinou. Největší skupinou jsou bakteriální záněty. Mezi bakterie, které tento zánět vyvolávají patří streptokoky, pneumokoky, hemofily a stafylokoky. Bakteriální pneumonie se vyskytují u oslabených pacientů. Může se jednat o pacienty po rozsáhlejších operacích, kdy do rány přestoupí bakterie z okolí. Další možnou cestou přenosu je inhalační nebo krevní cesta.

Bronchopneumonie je označení pro záněty bronchů, bronchiolů a alveolů. Toto onemocnění je ložiskové nebo splývavé. U oslabených pacientů mohou být tyto záněty smrtelné. Alveoly jsou naplněny zánětlivým exsudátem. Ten může hnisavý nebo fibrinózní. Při léčbě hnisavé bronchopneumonie dochází ke vstřebání exsudátu. Končí úplným vyléčením. Při léčbě fibrinózní bronchopneumonie se prostor plicních alveolů

zcela zaplní vazivovou tkání. Z tohoto důvodu nastane chronicky snížená funkce plic. Může dojít i k selhání pravé srdeční komory. Tato forma bronchopneumonie je však v dnešní době vzácná. Vzniká u dospělých. Projevuje se kašlem, horečkou a bolestí na hrudníku. U dětí se tato forma pneumonie nevyskytuje.

Nehnisavá intersticiální bronchopneumonie je způsobena respiračními viry. Ty pronikají do plicní tkáně a zde infiltrují alveolární přepážky. Tím dochází ke ztluštění těchto přepážek, což vede ke zhoršené ventilaci. Také zde může nastat selhání pravé srdeční komory [Dobiáš, 1979, Stříteský, 1995].

7.1.3 Cystická fibróza

Jedná se o geneticky podmíněné, autozomálně recesivní vrozené onemocnění. Postihuje přibližně 1 dítě z 2500. Toto onemocnění je způsobeno mutací genu, který je uložen na dlouhém raménku 7. chromozomu. Diagnóza je vyslovena na základě testu, při kterém je stanovena koncentrace chloridů v potu. Tento test se provádí u dětí krátce po narození. Při tomto onemocnění je koncentrace chloridů zvýšená. V dýchacích cestách a v zažívacím ústrojí se tvoří velké množství hustého hlenu. Tento hlen způsobuje zhoršené dýchání, znesnadňuje odstranění částí prachu a bakterií a způsobuje neprůchodnost střev. Cystická fibróza je smrtelné a nevyléčitelné onemocnění. Je zde ovšem snaha o léčbu antibiotiky, fyzioterapií a vhodným stravováním. Průměrný věk dožití je okolo 30-ti let. U mužů je tímto onemocněním způsobena neplodnost. Cystická fibróza je často provázena infekcemi dýchacích cest a prudkými záchvaty kašle. Tyto infekce vedou k poškození plicní tkáně a mohou vést až k selhání plic a následné smrti. Z poškozených plic může unikat vzduch. Tento vzduch proudí do dutiny hrudní. Tomuto jevu se říká pneumotorax. Dalšími projevy tohoto onemocnění jsou zvětšená slezina a játra, zácpa, zvýšená hladina krevního cukru a paličkovité prsty. Paličkovité prsty je označení pro rozšíření posledního článku prstů. Lidé postižení tímto onemocněním pomalu přibývají na váze. Jsou menšího vzrůstu. U závažného postižení dolních cest dýchacích je možné transplantovat plíce [Dobiáš, 1979, Stříteský, 1995].

7.1.4 Tuberkulóza

Tuberkulóza je způsobena bakterií, která je známá jako Kochův bacil. Jde o bakterii *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberkulóza je infekční onemocnění. Na zdravého člověka je přenášena při dlouhodobějším styku s nemocným. Proto je při léčbě takto nemocných jedinců nutná karanténa. Těmto pacientům by mělo být zabráněno ve styku se zdravou populací. V dnešní době se u nás díky očkování s tímto onemocněním setkáváme jen minimálně. Z tohoto důvodu bylo očkování zrušeno. Velkým rizikem jsou ovšem lidé z asijských zemí a ze zemí východní Evropy, kteří se stěhují do Evropy za prací. V zemích, ze kterých tito lidé přichází je nízká preventivní péče. Toto onemocnění se vyznačuje výskytem tuberkulózních uzlíků ve tkáních, které jsou tímto onemocněním postiženy. Mezi projevy řadíme vykašlávání hlenu, únavu, horečku, hubnutí, otok lymfatických uzlin a bolest na hrudi. Tuberkulóza postihuje plíce, ledviny, mozek a výjimečně i kosti. Nejčastější je plicní forma, která má mezi tuberkulózami zastoupení 80 %. V plicích dochází k rozpadu tkáně a vznikají kaverny. Diagnostika tohoto onemocnění se zakládá na rentgenových snímcích a na analýze slin. Jako léčba jsou podávány antibiotika. Je ovšem nezbytné zahájit léčbu v rané fázi onemocnění. Léčba může trvat i několik měsíců. Při neléčené tuberkulóze je zde riziko smrti. Stejně riziko ovšem hrozí i u léčených pacientů, jestliže jim byla nemoc diagnostikována v pozdní fázi onemocnění. První kontakt těla s mycobakteriemi se označuje jako primární tuberkulóza. Začínají se vytvářet tuberkulózní uzlíky. Ve zvýšené míře jsou zde leukocyty a makrofágy. Ty fagocytují tuberkulózní mycobakterie. Pokud je léčba úspěšná, bakterie vymizí a v místě původního tuberkulózního uzlíku dojde k vytvoření vazivové jizvy. Pokud je léčba neúčinná, uzlíky se zvětšují a napadají okolní tkáň. Reinfekci označujeme jako postprimární tuberkulóza. Dochází k vytváření nových ložisek. Pokud se nekrotická tkáň šíří i do dalších částí plic a napadá okolní tkáň, označujeme tento stav jako otevřená tuberkulóza [Dobiáš, 1979, Stříteský, 1995].

7.2 Nádorová onemocnění

Dle místa vzniku lze nádorové onemocnění plic dělit na centrální a periferní. Centrální karcinomy se vyskytují v plicním hilu. Periferní vznikají z terciálních bronchů. Zcela výjimečně mohou vznikat hrotové karcinomy. Tvoří se v místě fibrózní jizvy. Ta může vzniknout po tuberkulóze.

Dle biologické povahy lze nádorové onemocnění plic dělit na benigní a maligní. Benigními nádory jsou bronchiální adenomy, fibromy, lipomy a hamartomy. Bronchiální adenomy jsou nejčastějším typem benigních nádorů. Vyrůstají z větších bronchů. Mohou malignizovat, z tohoto důvodu jsou operativně odstraňovány. Fibromy jsou vzácné. Nádor je tuhý, ostře ohraničený. Lipomy vznikají z tukové tkáně. Hamartomy jsou z chrupavky, hladkého svalstva a kolagenu. Pacientovi nezpůsobují zdravotní potíže. Největší skupinou maligních nádorů jsou bronchogenní karcinomy. Tomuto karcinomu bude v následujících subkapitolách věnována větší pozornost [Pešek, 2002].

7.2.1 Bronchogenní karcinom plic

Tento druh karcinomu je celosvětově nejpočetnějším maligním nádorem. Mezi maligními onemocněními také zaujímá první místo v úmrtnosti. Jeho incidence stále stoupá a to hlavně v ženské populaci. V ČR je ročně diagnostikováno přibližně 6000 nových případů karcinomu plic. Úmrtnost je přibližně 5500 pacientů za rok. Každý den zemře na toto onemocnění v České Republice 15 - 17 lidí. Věk pacientů je od 35 do 75 let, maximální počet pacientů je ve věkové hranici 55 až 65 let [Pešek, 2002].

7.2.2 Druhy bronchogenního karcinomu

Dle histologické klasifikace známe 9 hlavních maligních nádorů. Jde o dlaždicový (spinoceulární) karcinom, malobuněčný karcinom, adenokarcinom, velkobuněčný karcinom, adenoskvamózní karcinom, karcinoid, karcinom typu karcinomu slinných žláz, karcinom s pleomorfními nebo sarkomatoidními elementy a nediferencovaný karcinom. Tyto skupiny nádorů mají odlišné genetické abnormality. Tyto odlišnosti

způsobují rozdílnost v biologickém chování, v průběhu onemocnění a v prognóze. U každé skupiny je také rozdíl v léčebném postupu. V praxi se můžeme setkat i se smíšenými typy karcinomů [Pešek, 2002].

V klinické praxi dělíme bronchogenní karcinomy zjednodušeně na malobuněčné a nemalobuněčné. Malobuněčný je měkký, rychle se šířící nádor. K šíření dochází hlavně lymfatickými a krevními cévami. Jeho výskyt je poměrně častý. Má výrazný sklon k metastazování do kostí, jater, CNS a nadledvin. Zpočátku je velmi senzitivní na radioterapii a chemoterapii. Typická je zde přítomnost kulatých nebo oválných malých buněk s výrazným jádrem a malým množstvím cytoplazmy [Pešek, 2002].

Mezi nemalobuněčnými karcinomy mají největší zastoupení adenokarcinom a dlaždicový karcinom. Adenokarcinomy jsou většinou periferně lokalizované nádory. Jsou charakterizovány přítomností glandulárních elementů a hlenu. Jedná se o výrazně heterogenní nádory. Mají stoupající incidenci, stále častěji se vyskytují u žen a u nekuřáků. Šíří se lymfatickými a cévními kapilárami. Dlaždicový karcinom bývá většinou centrálně lokalizovaný. Vyskytují se zde atypické dlaždicové buňky. Centrum léze je často nekrotické. Jedná se o nejčastější typ plicního karcinomu [Pešek, 2002].

7.2.3 Příčiny vzniku

Za primární příčinu vzniku bronchogenního karcinomu lze považovat kouření. Mezi pacienty postiženými tímto onemocněním je 85 - 90 % současných nebo bývalých kuřáků. Riziko vzniku bronchogenního karcinomu stoupá s ohledem na nižší věk a vyšší počet vykouřených cigaret. Pokud se vykouří 30 cigaret denně, je u mladých lidí do 19-ti let věku riziko vyšší až 5x. S pokračujícím kouřením riziko stoupá. Skoncování s kouřením v jakémkoli věku, má vliv na snížení rizika. Čím dříve, tím lépe. Proces vzniku bronchogenního karcinomu je dlouhodobý. Nejdříve se musí metabolizovat kancerogeny. Po metabolizování se aktivují. Aktivované kancerogeny se váží na DNA. Poté začne jejich kancerogenní působení. S první zmínkou o souvislosti kouření a vzniku bronchogenního karcinomu se setkáváme v roce 1950.

Velkým rizikem je také pasivní kouření. Ohroženými skupinami jsou partneři a děti silných kuřáků a lidé, kteří pracují v zakouřeném prostředí, např. v restauracích.

Velký vliv na vznik bronchogenního karcinomu má ionizující záření. Může se jednat o záření uranu při práci v uranovém dole. Velmi nebezpečný je také radon, který se uvolňuje z nevhodného stavebního materiálu nebo vyzařuje z půdy. Nebezpečné je také vdechování azbestového prachu. Dalšími škodlivými látkami jsou arzen, nikl, chrom a beryllium.

Na vzniku bronchogenního karcinomu se podílí do jisté míry i genetické předpoklady. Vyšší riziko vzniku je u lidí s mutací genu p53 a u lidí s delecí krátkého raménka 3. chromozomu [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

7.2.4 Symptomy

Rozpoznat bronchogenní karcinom v počáteční fázi je z hlediska symptomů prakticky nemožné. Příznaky jsou totiž nespecifické a nenápadné. Velice snadno se mohou zaměnit s klasickými chřipkovými příznaky (horečky, únava). K rozpoznání bronchogenního karcinomu dochází u 80 % pacientů až v době, kdy je karcinom neoperovatelný. Symptomy dělíme na intrathorakální (lokální onemocnění), extrathorakální (pokročilé stadium, přítomnost metastáz) a paraneoplastické (doprovodné příznaky) [Král, 2000].

Intrahorakální symptomy jsou: bolest na hrudi, dušnost, hemoptýza a kašel. Bolest na hrudi je způsobena prorůstáním karcinomu do hrudní stěny. Dušnost je v pokročilejším stadiu, karcinom zabrání průchodnosti bronchu. Při hemoptýze je nutné udělat bronchoskopii, protože krev přítomná ve vykašlaném hlenu může pocházet z poškozených cév. Kašel je velice nespecifický a to z toho důvodu, že většina kuřáků trpí neustálým kašlem. Je důležité sledovat změny intenzity [Král, 2000].

Extrathorakální symptomy jsou: chrapot, pleurální výpotky, polykací potíže, bolest při polykání, Pancoastův syndrom, Horneův syndrom a syndrom horní duté žíly. I do této skupiny symptomů můžeme řadit bolest na hrudi a dušnost. U Pancoastova

syndromu dochází k prorůstání karcinomu z hrotu plice do okolních cév, což může způsobovat bolest ramene. Horneův syndrom se objeví při porušení krčního sympatiku. Syndrom horní duté žíly vzniká jako důsledkem narušení toku krve [Král, 2000].

Nejčastější paraneoplastické syndromy jsou: Cushingův syndrom, hyperkalcemie, hyponatrémie, hypoglykémie, hypokalémie, gynekomastie, kachexie, paličkovité prsty, anémie, leukocytóza a různé poruchy srážení krve. Výskyt těchto projevů je však pouze u 15 % případů [Král, 2000].

7.2.5 Diagnostika

Diagnostikovat bronchogenní karcinom v časně fázi je obtížné. Důvodem jsou nespecifické symptomy, jak již bylo popsáno v předešlé subkapitole. V současné době není v ČR žádný screeningový program. Diagnostika je založena na základě sestavení anamnézy a fyzického vyšetření. Díky těmto vyšetřením zjistíme patologické změny. Dalším vyšetřením je skiagram hrudníku, CT (výpočetní tomografie) scintigrafie, magnetická rezonance a pozitronová emisní tomografie. Tato vyšetření jsou důležitá pro přesnou lokalizaci karcinomu a pro zařazení karcinomu do TNM klasifikace (T tumor, N nody - uzliny, M metastázy). Na základě této klasifikace je naplánována léčba [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

Skiagram hrudníku: jde o rentgenové snímkování předozadní a boční stěny hrudníku. Toto vyšetření slouží k lokalizaci karcinomu. Na těchto snímcích jsou viditelné také další patologické změny. Může jít o destrukci skeletu v důsledku prorůstání karcinomu nebo o přítomnost pleurálního výpotku. Výhodou tohoto vyšetření je nízká cena a dostupnost, nevýhodou je, že získané údaje nestačí k zařazení karcinomu do TNM klasifikace [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

CT scintigrafie: toto vyšetření se provádí pokud je u skiagramu hrudníku patologický nebo podezřelý nález. Při tomto vyšetření se určí velikost karcinomu a jeho vztah k okolním tkáním. Posuzuje se také, zda je karcinom operovatelný. Před zahájením CT scintigrafie je nutné podat kontrastní jódovou látku. Tento krok je nezbytný, aby došlo k naplnění cév a bylo možné posoudit sycení nádorové tkáně. CT

scintigrafie nám dále umožňuje plánovat radioterapii a kontrolovat úspěšnost chemoterapie. Při CT vyšetření máme k dispozici dva druhy metod. Jedná se o nízkodávkové vyšetření a perfúzní zobrazení. Nízkodávkové vyšetření je využíváno při opakovaných vyšetřeních, tímto způsobem se kontroluje úspěšnost terapie. Perfúzní zobrazení má velkou roli při diagnostice [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

Magnetická rezonance: toto vyšetření se provádí pokud je podezření na prorůstání karcinomu do páteřního kanálu. Tímto způsobem se také hledají vzdálené metastázy.

Pozitronová emisní tomografie: při tomto vyšetření se stanoví aktivita tkání podezřelých z neoplazie. Slouží nejen k diagnostice karcinomu, ale i metastáz.

Endoskopické vyšetření: jistá možnost časně diagnostiky bronchogenního karcinomu. Využívá několik metod, kterými jsou: aspirační cytologie, bronchoalveolární laváž, kartáčková biopsie, klíšťová biopsie a transbronchiální biopsie. Aspirační cytologie: jedná se o výplach bronchů fyziologickým roztokem. Sleduje se výskyt netypických buněk. Bronchoalveolární laváž: fyziologický roztok ohřátý na 37°C je pomocí bronchoskopu zanesen do vybraného bronchopulmonálního segmentu. Rostok je zanesen v několika dávkách a po každé dávce je aspirován zpět. Jednotlivá dávka je 20 - 50 ml roztoku, celkové množství je 100 - 200 ml. Ve většině případů je roztok rozdělen do 4 dávek po 50 ml. Sleduje se výskyt netypických buněk a jejich diferenciální rozpočet. Kartáčková biopsie: je využívána k cytologické diagnostice. Tato metoda je nejvhodnější pro velké bronchy. Klíšťová biopsie: tato metoda je využívána při diagnostice viditelných patologií. Transbronchiální biopsie: tato metoda je využívána u patologií, které nejsou viditelné endoskopem [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

Moč a krev: vyšetření těchto tělních tekutin se dělá z důvodu posouzení celkového stavu pacienta. Hodnotí se jaterní testy, močový sediment, intogram, ledvinné funkce, krevní obraz a celková bílkovina a nádorové markery. Ty napomáhají k určení lokalizace a odhalují progresy onemocnění. U nemalobuněčného karcinomu je

nádorovým markerem antigen karcinomu skvamózních buněk. U malobuněčného karcinomu je nádorovým markerem karcinoembryonální antigen.

Spirometrie a scintigrafie: slouží k výpočtu kapacity plic. Na základě výsledků se hodnotí, zda je vhodné chirurgické odstranění karcinomu.

Výsledkem všech těchto vyšetření je zařazení karcinomu do TNM klasifikace. Toto zařazení je používáno hlavně u nemalobuněčných karcinomů. U malobuněčných je dělení na ohraničené a neohraničené.

TNM klasifikace: popis, na základě kterého je karcinom zařazen do stádia onemocnění. Stádia I, II, III a IV. TNM klasifikace se skládá ze 3 složek, kterými jsou: T tumor, N nody - uzliny, M metastázy. T popisuje velikost nádoru a jeho šíření do okolních tkání. N popisuje přítomnost metastáz v uzlinách. M popisuje vzdálené metastázy [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

7.2.6 Léčba

Chirurgické odstranění karcinomu: jak již bylo zmíněno, 80 % případů je potvrzeno ve chvíli, kdy je již karcinom neoperovatelný. Z tohoto důvodu je počet případů s chirurgickým odstraněním karcinomu velmi nízký. Jedná se však o první léčebný krok u pacientů v prvním a druhém klinickém stádiu. Pokud je onemocnění ve stadiu IIIA a karcinom zasahuje do uzlin, je nutné před chirurgickým zákrokem provést chemoterapii. Pokud je již karcinom neoperovatelný, využívá se jako paliativní léčba pouze chemoterapie a radioterapie. Bez provedení chirurgického odstranění karcinomu však tyto postupy nevedou k uzdravení pacienta. V ideálním případě nezůstanou v těle pacienta žádné makroskopické ani mikroskopické části karcinomu. Je důležité odstranit karcinom vcelku. Dále je nutné odstranit spádové lymfatické uzliny. Rozsah chirurgického výkonu se určí na základě předchozích vyšetření. Také záleží na umístění a velikosti karcinomu. Chirurgické odstranění karcinomu je vhodné u nemalobuněčných karcinomů. Pokud se odstraní celý bronchopulmonální segment, nedoporučuje se následná chemoterapie. U malobuněčných karcinomů je následná chemoterapie nutná.

80 % pacientů po odstranění bronchopulmonálního segmentu žije bez recidivy 5 let. Pokud je odstraněn celý plicní lalok, žijí pacienti bez recidivy 5 let pouze ve 40-ti %. Pokud karcinom zasáhne hrudní stěnu, je nutné odstranit její zasaženou část. Pokud nejsou u karcinomu přítomny metastázy, je šance na přežití bez recidivy 5 let necelých 30 % [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

Radioterapie: V dnešní době se využívají kobaltové ozařovače. Vyšší dávka záření znamená vyšší úspěšnost, ale také vyšší toxicitu. Proto je nezbytné zvážit dávky záření. **Nemalobuněčné karcinomy:** terapie s kurativním nebo paliativním záměrem. Při kurativní léčbě je minimální dávka 60 Gy v šesti týdnech. Při paliativní léčbě se využívá brachyterapii, kdy je zářič zaveden do bronchu. **Malobuněčné karcinomy:** používají se dávky 10 x 2,5 Gy nebo 15 x 2 Gy [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

Chemoterapie: Před zahájením této léčby je nutný dobrý stav pacienta. U nemalobuněčných karcinomů jsou neúčinnější platinové deriváty a cytostatika III. generace. Mezi platinové deriváty patří cisplatina a karboplatina, mezi cytostatika III generace patří vinorelbin, gemcitabin a docetaxel. Doporučená léčba je 4 až 6 cyklů. U malobuněčných karcinomů je chemoterapie velmi významná. Využívá se kombinace cisplatina s vepesidem. Další účinná cytostatika jsou cyklofosfamid, irinotecan, taxany a gemcitabin.

Paliativní péče: je velice důležitá nejen u neoperovatelných pacientů. Při této péči je snaha o zmírnění příznaků nemoci, odstranění bolesti a snaha o celkové zlepšení stavu pacienta jak po fyzické, tak po psychické stránce. Pacientovi i rodině je nabízena psychologická pomoc [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

Biologická léčba: je nutný dobrý stav pacienta. Výhodou je nízká toxicita. U nemalobuněčných karcinomů se jedná o nový léčebný přístup. Ovlivňuje proliferaci a apoptózu nádorových buněk. Využívají se inhibitory tyrozinkinázy. U malobuněčných karcinomů je ve fázi klinického zkoušení. Využívají se inhibitory růstových faktorů a genová manipulace [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

Celková prognóza: u nemalobuněčných karcinomů není příliš příznivá. Závisí na stadiu onemocnění. Pětileté přežití při stadiu I je přibližně 55 %, při stadiu II přibližně 40 %, při stadiu IIIA přibližně 12 % a při stadiu IIIB pouhých 5 %. Při generalizovaném onemocnění se doba přežití pohybuje v řádech měsíců. U malobuněčných karcinomů prognóza velmi špatná. Při ohraničeném onemocnění je doba přežití přibližně 16 měsíců. Při neohraničeném přibližně 10 týdnů [Hollman, 1952, Pešek, 2002, Zatloukal, 2001].

8. ZPRACOVÁNÍ VZORKU

V následujících subkapitolách popisují cestu biologického materiálu od chvíle odběru, přes zpracování v laboratoři, až po vydání výsledku lékařem.

8.1 Odběr materiálu

V laboratoři se můžeme setkat s materiálem, který je po odběru označen jako biopsie nebo nekropsie. Toto rozdělení je dáno tím, zda byl materiál odebrán ze živého organismu, nebo ze zemřelé osoby. Biopsie je odběr ze živého organismu. Nekropsie je odběr ze zemřelého při pitvě. Odběr se provádí několika způsoby. Může to být klasický odběr části tkáně, další možností je kyretáž, což je seškrábnutí části tkáně. Dále sem řadíme punkce, což je odběr materiálu pomocí široké duté jehly, stěr (epitel čípku děložního), aspirace (nasátí z dutých orgánů), endoskopie a laparoskopie (vyštípnutí malé části tkáně). Odebraný materiál musí být ihned zfixován a přesně označen.

V případě vzorků plicní tkáně, ze kterých jsem získala data pro tuto bakalářskou práci, se jedná o odběr punkcí. Na plicní klinice jsou pacientům odebírány vzorky tkáně punkční jehlou. Takto odebraná tkáň se vloží do řádně označené zkumavky naplněné fixační tekutinou a společně se žádankou o bioptické vyšetření je zaslána na naše pracoviště [Vacek, 1988].

8.2 Fixace

Cílem fixace je rychlé a zároveň šetrné vysrážení bílkovin. Díky tomu se zabrání nechtěné autolýze tkání a zachová se barvitelnost a struktura, která byla v živé tkáni. Do současné doby však nebyl objeven ideální fixační prostředek, který by zabránil změnám na tkáni, pokaždé se tkáň trochu pozmění, ať už jde o částečnou autolýzu buněk nebo o smrštění tkáně. Fixační prostředek musí být rychlý, do tkáně musí pronikat rovnoměrně. V případě pomalého působení fixačního prostředku hrozí autolýza buněk uvnitř odebraného kousku tkáně. Fixační směsi známe fyzikální, fyzikálně-chemické a chemické. Mezi fyzikální fixace se řadí fixace teplem a za studena. Fixace teplem se provádí nad plamenem, jedná se o fixaci nátěrů v bakteriologii, kdy se sklíčko protáhne

nad kahanem. Dále zahřátí v mikrovlnce. Toto se využívá při světelné mikroskopii. Zahřátí je v sekundách. Tato metoda slouží jako průkaz antigenů pro imunohistochemii. Fixace za studena se provádí při přepravě materiálu, který je uskladněn v suchém ledě nebo v tekutém dusíku. Mezi fyzikálně-chemické se počítají fixace, kdy se kombinuje fyzikální fixace a chemickou. Jedná se o zpracování tkáně při tzv. peroperačních vyšetřeních, kdy se tkáň zafixuje v kryostatu pomocí mrazu při teplotě -23°C a následně se zafixuje na podložním skle pomocí 70-ti % ethanolu. Chemické fixace jsou v dnešní době nejpoužívanější fixační metodou. Používají se anorganické a organické sloučeniny. Tkáň musí být zafixována co nejdříve od odběru. Fixační tekutiny by mělo být minimálně 20x víc než je odebraného materiálu. Známe 2 způsoby použití fixační tekutiny: Imerzní: Ponoření do fixační tekutiny. Perfúzní: Při odebrání celého orgánu, například plic, je nutné vstříknout fixační tekutinu do orgánu a do jeho cév.

Dnes používané fixační tekutiny se dělí do několika skupin:

A) aldehydy: formaldehyd, glutaraldehyd - pro elektronovou mikroskopii

B) alkoholy: po methanolu tkáň tvrdne, ethanol

C) kyseliny: k. octová, k. trichloroctová a k. pikrová

D) soli těžkých kovů: dvojchroman draselný, oxid osmičelý - pro el. mikroskopii.

Hlavní fixační tekutina je formol. Výchozí produkt pro jeho výrobu je aldehyd kyseliny mravenčí = formaldehyd. Do laboratoře se dodává 40-ti % vodný roztok, zvaný formol a ředí se vodou na 10 % formol (4 % formaldehyd). Je to bezbarvá tekutina, která silně dráždí sliznice. Při styku s pokožkou způsobuje tvrdnutí kůže a ekzémy. V laboratoři se skladuje v tmavé lahvi. Fixuje se 24 hodin. V této fixační tekutině jsou mimo jiné dodávány bioptické vzorky plicní tkáně [Vacek, 1988].

8.3 Příjem a přikrojení materiálu

Materiál musí být označen na průvodce a na nádobě s materiálem. Na průvodce je uvedeno jméno pacienta, rodné číslo a adresa pacienta, číslo pojišťovny, pracoviště a jméno lékaře, který materiál odeslal, pracoviště které provede histologické zpracování, diagnóza, datum a čas odběru, druh fixační tekutiny, druh materiálu a lokalizace místa odběru a druh požadovaného vyšetření (statim, peroperační, bioptické, cytologické). Na nádobě jsou základní údaje o pacientovi, což je jméno, rodné číslo, zdravotní pojišťovna, pořadové číslo materiálu a druh materiálu. Při přijetí materiálu do laboratoře je nutné důkladně zkontrolovat správnost všech uvedených údajů a také to, zda některý z údajů nechybí. Při zjištění jakýchkoliv nedostatků je možné materiál odmítnout a nepřijmout. Veškeré nalezené chyby musí být nahlášeny lékaři. Následně dostane materiál i žádanka pořadové číslo příjmu. Na žádanku je dále umístěno razítko se jménem kdo materiál přijímal a datum a čas příjmu. Poté je materiál přikrojen. Veškerý přijatý materiál musí být změřen, popřípadě zvážen a popsán. Na druhou stranu průvodky je nutné uvést popis materiálu, který se zpracovává: tvar, rozměry, počet částí. Dále se uvede kolik bloků se z daného materiálu bude zhotovovat. Velikost bloku je max. 1 cm³. Na průvodce jsou také uvedené kódy pro pojišťovnu a jméno lékaře a laboranta, kteří se na zpracování materiálu podílejí. Materiál se po přikrojení uzavře do plastových kazetek, které jsou ponořeny do formolu. Poté následuje zpracování materiálu v autotechnikonu. V případě plicních punkcí je změřena délka odebraného válečku. Tyto punkce se zpracují celé, nepřekrajují se [Vacek, 1988].

8.4 Zpracování v autotechnikonu

Zde probíhají procesy odvodnění tkáně, prosycení tkáně tekutinou rozpouštějící parafín a prosycení parafínem. Po fixaci následuje odvodnění, nejčastěji stoupající řadou ethanolů. Používáme ethanol o koncentraci 70 %, 80 %, 96 % a 3krát 100 %. V ethanolech o koncentracích 70 % a 80 % je tkáň 2 – 6 hodin, v ethanolu o koncentraci 96 % je tkáň 6 hodin, v ethanolu o koncentraci 100 % je tkáň 1 hodinu. Přesná doba se určí podle velikosti a druhu tkáně. Je nutné dodržet tento postup, při vložení tkáně rovnou do 96 % ethanolu by se nám tkáň neznehodnotila. V naší laboratoři jsou časy

zkrácené, všechny lázně jsou běžně nastaveny 1,5 hodiny. Toto zkrácení je možné díky tomu, že autotechnikon pracuje při zvýšené teplotě a pod tlakem.

Po odvodnění následuje prosycení tkáně tekutinou rozpouštějící parafin. Při prosycování je nutné z tkáně odstranit ethanol. Kdyby v ní ethanol zůstal, tkáň by ztvrdla a nešla by krájet. K prosycení tkáně látkou rozpouštějící parafin se používá aceton nebo xylen. V naší laboratoři používáme xylen. Tkáň projde ve třech xylenových lázních. 2krát po 1 hodině, ve třetí 1,5 hodiny. Autotechnikon opět pracuje pod tlakem a při zvýšené teplotě.

Po tomto kroku následuje prosycení parafinem. Tento proces se skládá ze 3 lázní a dělá se při teplotě parafinu mezi 54 – 58° C. Doba, po kterou se prosycuje je opět dána velikostí bločku. Nejběžnější doba pro první lázeň je 2 – 4 hodiny, u druhé 4 – 6 hodin a u třetí 8 – 12 hodin. V naší laboratoři jsou to 2 hodiny v každé lázni. Autotechnikon opět pracuje pod tlakem a při zvýšené teplotě, díky tomu je možné zkrátit čas [Vacek, 1988].

8.5 Zalévání

K zalévání se používá kvalitnější parafin, nikdy ne ten, který byl použit na prosycení. Zalévání se provádí v tzv. zalévací komůrce. Parafin se rozpustí na 60°C. Do zalévací komůrky se nalije malé množství parafinu, pinzetou se vnese tkáň, přitiskne se plastová kazetka a po okraj se dolije parafin. Musíme dát pozor na vzduchové bubliny. Takto zhotovený parafinový blok se nechá ztuhnout. Ochlazení by mělo být rychlé a stejnoměrné, z tohoto důvodu se používá chladicí deska. Po vychlazení se parafinový blok vyloupne z kovové zalévací komůrky. Při zalévání je důležité dávat pozor na prostorovou rekonstrukci (žíly a duté orgány zalít nastojato). V případě punkcí (plíce, prs, prostata) se snažíme o rovnoměrné zalití v celé délce tkáně [Vacek, 1988].

8.6 Krájení, napínání

Ke krájení se používají mikrotomy. Tyto přístroje mají pevný, těžký podstavec. To proto, aby během krájení mikrotom neujížděl. Bloky se upínají do Neapolské svorky. Tloušťka řezu se nastavuje mikrometrickým šroubem, většinou bývá 4 – 8 mikrometrů.

Ke krájení se používají žiletkové nože, které se po použití vymění za nové. Nůž je pevně uchycen ve svorce, na svorce je kryt žiletky. Dle konstrukce rozeznáváme mikrotomy sáňkové a rotační. Sáňkový: pohybuje se nůž, bloček je pevně uchycen ve stolku. Je možné nastavit sklon nože k směru řezu a sklon nože k rovině řezu. Rotační: pohybuje se svorka s bločkem, nůž je nehybný. Mikrotom zmrazovací: používá se u peroperačních biopsií. Jde o klasický mikrotom, který je uzavřen do mrazicího boxu. V naší laboratoři máme mikrotomy sáňkové.

Po ukrojení je třeba napnout řezy. To se děje na vodní hladině. Voda se musí zahřát na 42°C. Poté se řezy natáhnou na podložní sklo. Toto sklo může být namazáno tenkou vrstvou želatiny, aby řezy nesjížděly. V případě, že natahujeme řezy pro imunohistochemii, není vhodné skla mazat želatinou, tato skla se podbarvují. Je ale možné skla namazat poly-L-lysinem. Ukrojené a natažené řezy je nutné nechat přischnout. K tomu slouží termostaty. Je ale možné nechat skla přischnout v barvicím přístroji, pokud je tomu uzpůsoben [Vacek, 1988].

8.7 Barvení

Barvení se používá ke zvýraznění jednotlivých struktur a buněk ve tkáni. Máme 2 základní dělení barviv. Jedním z nich je dělení na barviva přirozená a umělá. Přirozená jsou rostlinného nebo živočišného původu. Jedná se například o hematoxylin nebo o šafrán. Aby bylo dosaženo standardní kvality, jsou dnes i tato přírodní barviva většinou připravována chemickou syntézou. Umělá jsou vyráběna chemicky. Barviva používaná v dnešní době jsou všechna vyráběna chemicky. Druhé dělení je na barviva kyselá a zásaditá. Kyselá barviva barví cytoplazmu, zásaditá barviva barví jádra buněk. Nejvíce používané kyselé barvivo je eosin, zásadité barvivo je hematoxylin [Vacek, 1988].

8.7.1 Hematoxylin – eosin

Hematoxylin – Eosin: U tohoto barvení je bazický Hematoxylin a kyselý Eosin. Hematoxylin - mezi nejčastěji používané heatoxyliny patří Harrisův, Weigertův a Gillův.

Harrisův hematoxylin: v 50 ml 96 % ethanolu rozpustíme 5 g hematoxylinu.

Rozpouštění probíhá za tepla, využíváme vodní lázeň. Dále si v 1000 ml vroucí destilované vody rozpustíme 100 g síranu hlinitoamonného. Poté si takto připravené roztoky smícháme a necháme přejít varem. Do horké tekutiny přidáme 2,5 g oxidu rtuťnatého. Následně si tekutinu ochladíme a přidáme 40 ml ledové kyseliny octové. Hotový roztok filtrujeme.

Weigertův hematoxylin: ve 100 ml 96 % ethanolu rozpustíme 1 g hematoxylinu. Dále si v 95 ml destilované vody rozpustíme 0,6 g chloridu železitého. Poté přidáme 0,75 ml kyseliny chlorovodíkové. Takto připravené roztoky smícháme v poměru 1:1.

Gillův hematoxylin: potřebujeme: 8 g hematoxylinu, 0,8 g jodičnanu sodného, 70,4 g síranu hlinitého, 1420 ml destilované vody, 500 ml ethylen-glykolu a 80 ml kyseliny octové (ledové). V destilované vodě si rozpustíme hematoxylin, jodičnan sodný a síran hlinitý. Každou z látek si rozpustíme zvlášť, poté je teprve smícháme. Dále přidáme ethylen-glykol. Jako poslední přidáme kyselinu octovou. Takto připravený hematoxylin je možné ihned použít. V naší laboratoři byl Gillův hematoxylin připravován dle výše uvedeného návodu, v průběhu roku 2015 se však přešlo na objednávání již hotového hematoxylinu.

Eosin – existuje několik druhů eosinů. Liší se od sebe složením i barvou. Známe eosin žlutý, červený a rozpustný v ethanolu. V naší laboratoři eosin stále připravujeme a to následovně: Smícháme 10 g eosinu žlutavého rozpustného ve vodě s 5 g dichromanu draselného. Rozpustíme v 800 ml destilované vody. Přidáme 100 ml nasyceného roztoku kyseliny pikrové a 100 ml absolutního ethanolu. Přidáváme po kapkách za stálého míchání.

Před barvením se řezy musí zbavit parafínu. Tento proces se dělá pomocí xylenů a klesající řady ethanolů. Odparafinování se musí provést před každým histologickým barvením. Proces odparafinování se skládá ze tří lázní xylenů. V každé z nich je preparát ponořený po dobu 5 minut. Poté následují tři lázně ethanolů (96 %, 80 %, 70 %). V každé z těchto lázní je preparát 3 minuty. Proces odparafinování je ukončen opláchnutím preparátu v destilované vodě.

Následuje samotné barvení. Preparát je ponořen do lázně hematoxylinu na dobu 7 minut. Následuje opláchnutí v diferenciačním roztoku. Poté se preparát propírá pod tekoucí vodou po dobu 5 minut. Následně putuje do lázně eosinu, kde je 1 minutu. Opět následuje propírání pod tekoucí vodou.

Po obarvení se musí preparát odvodnit, projasnit a pokrýt. Proces odvodnění se skládá ze tří lázní ethanolů (70 %, 80 %, 96 %). V každé lázni je preparát po dobu 1 minuty. Proces projasnění se skládá ze tří lázní (aceton, aceton-xylen, xylen-aceton). V každé z těchto lázní je preparát po dobu 1 minuty.

Výsledek barvení: jádra a chrupavka modrá, kolagen, sval a hyalín růžový, fibrin červený

Následuje pokrytí preparátu. Preparát se namočí do xylenu. Poté se na něho kápne malé množství solakrylu a přitiskne se krycí sklíčko. Mezi podložním a krycím sklíčkem nesmí být vzduchové bubliny. Takto zhotovený preparát se odevzdá lékaři.

8.8 Mikroskopování

V histologii je mikroskopování jednou z nejdůležitějších činností. Nejčastěji se využívá optický mikroskop. Mikroskop se skládá z mechanické a optické části.

Mechanické části jsou stojan, rameno, tubus, zaostřovací šrouby, stolek, kondenzor, irisová clona a zdroj světla. Stojan je velmi těžký, to z toho důvodu, aby se mikroskop nepohyboval při zaostřování preparátu. Na stojanu je uchyceno rameno a stolek. Na rameni je umístěn tubus. Na horní části tubusu se nachází okulár, na spodní části se nachází měnič objektivů. Na něm jsou připevněny objektivy s různými možnostmi zvětšování. Na stolek jsou pokládány preparáty. Ke stolku jsou přichyceny svorky, kterými se upevní preparát a zabrání se tak samovolnému pohybu preparátu. Dle druhu mikroskopu je stolek pohyblivý nebo je přidělaný pevně. Na mikroskopu se nachází 2 zaostřovací šrouby. Jeden slouží k hrubému zaostření, druhý slouží k jemnému doostření obrazu. Kondenzor je čočka, shlukující paprsky do místa, kde je přichycen

preparát. Na mikroskopu se dále nachází zdroj světla. Tyto části obstarají osvětlení. Pro regulaci intenzity promítaného světla máme na mikroskopu irisovou clonu. Optický mikroskop běžně zvládne zvětšení až 1000x [Vacek, 1988].

Optickými částmi mikroskopu jsou okuláry a objektivy. Jedná se o kovové válce, ve kterých jsou umístěny čočky. Okulár je na horní části tubusu. Může být jeden, v dnešní době jsou ovšem častější okuláry dva. Díky soustavě čoček dostáváme zrcadlově převrácený a zvětšený obraz [Vacek, 1988].

Samotné mikroskopování je činností lékaře. Preparát je umístěn na stolek mikroskopu tak, aby byl krycím sklíčkem vzhůru. Je přichycen svorkami. Jako první se provede hrubé zaostření. Tubusem se najede dolů, prakticky až k preparátu. Poté se tubusem pomalu vyjíždí nahoru, až do chvíle než se objeví obraz. Následuje jemné doostření obrazu. Při mikroskopování je nezbytné, aby nebyl na optických částech mikroskopu prach ani jiné druhy nečistot. Všechny tyto nečistoty mohou kazit kvalitu obrazu. Po skončení mikroskopování je vhodné mikroskop řádně přikrýt obalem [Vacek, 1988].

8.9 Imunohistochemické vyšetření

Nejdříve se mikroskopicky hodnotí preparát, který je obarven základním barvením HE. Pokud vznikne podezření na přítomnost karcinomu, zažádá lékař o dodatečné vyšetření imunohistochemické. Tímto vyšetřením lze určit o jaký typ karcinomu se jedná.

V naší laboratoři se imunohistochemické vyšetření provádí strojově. Preparáty se umístí do barvicího stroje. Zde jsou odparafinovány. Následuje trávení v proteinase III. Tato proteinasa se nakape na preparát a nechá se působit po dobu 15 minut. Poté se preparát opláchne destilovanou vodou. Dalším krokem je blokáda endogenní peroxidázy, kdy je na preparát nakapán Peroxid block. Tento krok trvá 5 minut a je opět ukončen opláchnutím preparátu v destilované vodě. Následuje inkubace v neimunním séru. Na preparát je nakapán Protein block, opět na 5 minut. Tento krok je také zakončen opláchnutím preparátu v destilované vodě. Dalším krokem je inkubace

primární protilátky. Na preparáty jsou kapány jednotlivé vyšetřované protilátky. Tento krok je různě dlouhý, záleží na druhu protilátky. Následuje opláchnutí ve fosfátovém pufru. Jedním z posledních kroků je inkubace spojovací protilátky. Na preparáty je kápnut detekční set, inkubuje se 45 minut. Opět následuje opláchnutí ve fosfátovém pufru. Následuje vyvolání reakce pomocí substrátu a kontrastování pomocí 5 % síranu měďnatého. Tento krok trvá 10 minut. Preparát je opět opláchnut v destilované vodě. Následuje dobarvení Gillovým hematoxylinem, odvodnění, projasnění a montování preparátů [Pracovní postup ŠÚP].

V případě adenokarcinomu jsou pozitivní vyšetření CK 7, TTF 1 a Napsin A. CK 7 je protein cytokeratin 7. TTF 1 (Thyroid Transcription Factor): transkripční faktor štítné žlázy. Později byla přítomnost tohoto polypeptidu prokázána i v plicní tkáni. Napsin A je proteáza využívána k diagnostice plicních adenokarcinomů.

U dlaždicového karcinomu jsou pozitivní vyšetření p 63 a CK 5. p 63 je nádorový protein. CK 5 je protein cytokeratin 5.

U malobuněčného karcinomu jsou pozitivní vyšetření CD 56, AE 1/3 a TTF 1. CD 56 (NCAM) je neurální adhezivní molekula. Jedná se o glykoprotein. AE 1/3 je směsí dvou protilátek. AE 1 reaguje na kyselé cytokeratiny, AE 3 reaguje na bazické cytokeratiny.

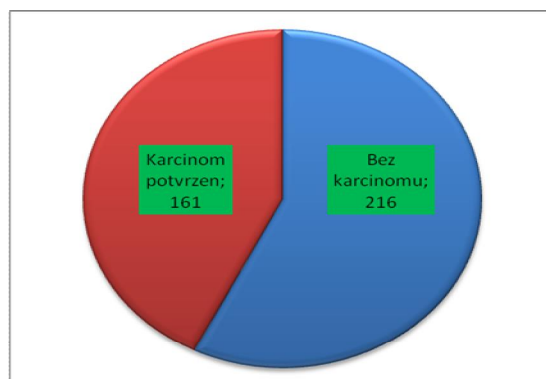
8.10 Genetické vyšetření

Genetické vyšetření se provádí za účelem nasazení správné léčby. K tomuto účelu se využívá vyšetření dvou základní markerů. Jde o ALK (gen anaplastické lymfomové kinázy) a EGFR (transmembránový receptor). ALK kóduje membránový receptor pro tyrozinkinázu. Je na 2. chromozomu. Při karcinomu plic dochází k jeho přestavbě. EGFR se nachází na 7. chromozomu. Jeho aktivace vede ke spuštění signální kaskády.

9. PŘEHLED ČETNOSTI VÝSKYTU

Vzorky	Počet
Bez karcinomu	216
Karcinom potvrzen	161
Celkem zaslaných vzorků	377

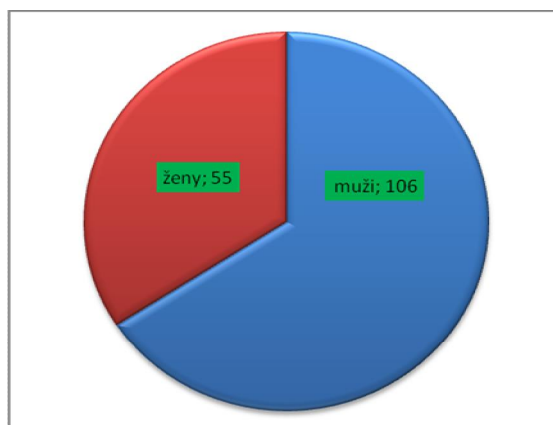
Tabulka č. 1: počet zaslaných vzorků
(Zdroj: vlastní)



Graf č. 1: počet zaslaných vzorků
(Zdroj: vlastní)

Karcinom potvrzen	Počet
Muži	106
Ženy	55

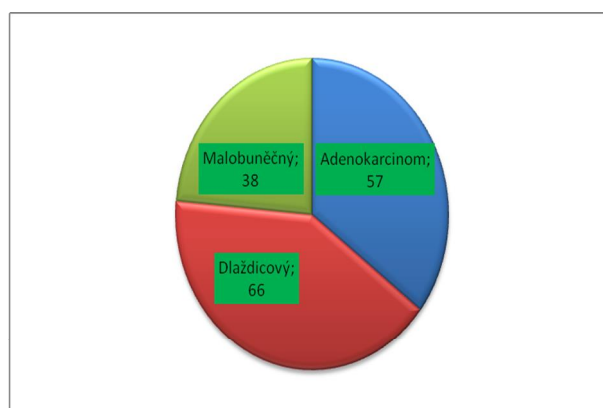
Tabulka č. 2: zastoupení karcinomu dle pohlaví
(Zdroj: vlastní)



Graf č. 2: zastoupení karcinomu dle pohlaví
(Zdroj: vlastní)

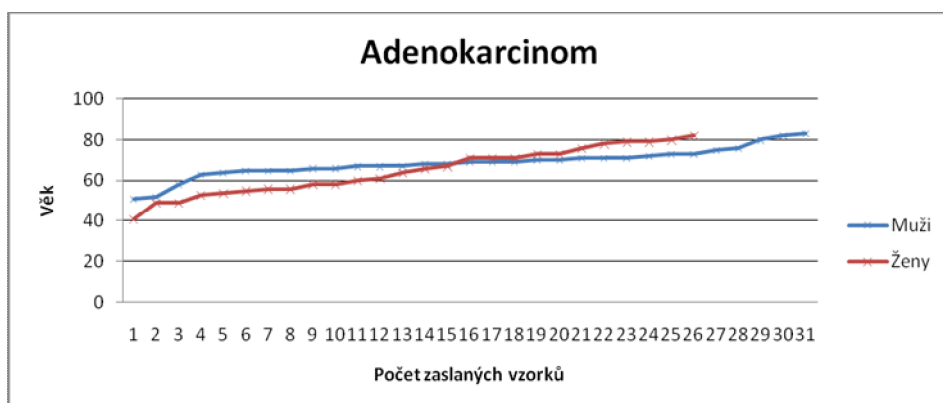
Karcinom potvrzen	Počet
Adenokarcinom	57
Dlaždicový	66
Malobuněčný	38

Tabulka č. 3: zastoupení jednotlivých druhů karcinomů
(Zdroj: vlastní)



Graf č. 3: zastoupení jednotlivých druhů karcinomů
(Zdroj: vlastní)

Adenokarcinom	
Muž věk	Žena věk
51	41
52	49
58	49
63	53
64	54
65	55
65	56
65	56
66	58
66	58
67	60
67	61
67	64
68	66
68	67
69	71
69	71
69	71
70	73
70	73
71	76
71	78
71	79
72	79
73	80
73	82
75	
76	
80	
82	
83	
Prům. 68,5	Prům. 64,5

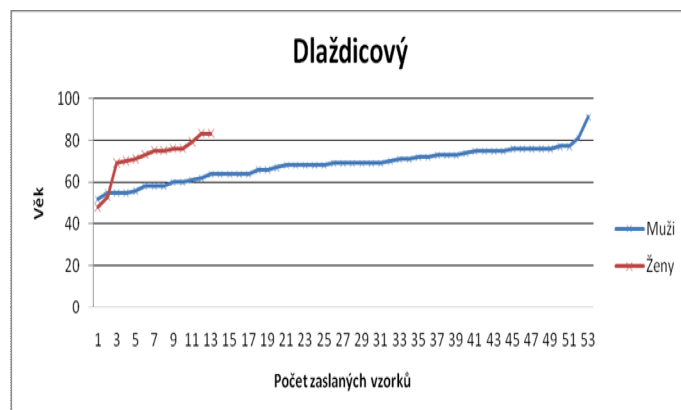


Graf č. 4: výskyt adenokarcinomu dle věku
(Zdroj: vlastní)

Tabulka č. 4: výskyt adenokarcinomu dle věku
(Zdroj: vlastní)

Dlaždicový		Dlaždicový	
Muž věk	Žena věk	Muž věk	Žena věk
52	48	75	
55	53	75	
55	69	75	
55	70	75	
56	71	76	
58	73	76	
58	75	76	
58	75	76	
60	76	76	
60	76	76	
61	79	77	
62	83	77	
64	83	81	
64		91	
64		Prům. 68,0	Prům. 71,5
64			
64			
66			
66			
67			
68			
68			
68			
68			
68			
69			
69			
69			
69			
69			
69			
70			
71			
71			
72			
72			
73			
73			
73			

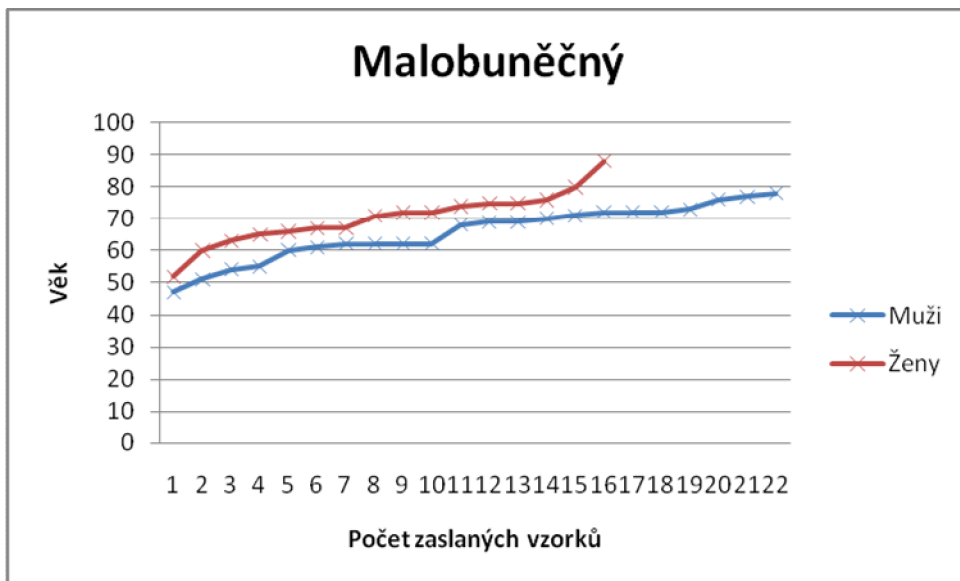
Tabulka č. 5: výskyt dlaždicového karcinomu dle věku
(Zdroj: vlastní)



Graf č. 5: výskyt dlaždicového karcinomu dle věku
(Zdroj: vlastní)

Malobuněčný	
Muž věk	Žena věk
47	52
51	60
54	63
55	65
60	66
61	67
62	67
62	71
62	72
62	72
68	74
69	75
69	75
70	76
71	80
72	88
72	
72	
73	
76	
77	
78	
Prům. 65,5	Prům. 71,5

Tabulka č. 6: výskyt malobuněčného karcinomu dle věku
(Zdroj: vlastní)



Graf č. 6: výskyt malobuněčného karcinomu dle věku
(Zdroj: vlastní)

10. VÝZKUM

V této kapitole se zabývám jedním z nejnovějších výzkumů, které se týkají bronchogenního karcinomu. Tento výzkum se snaží najít odpověď na otázku, zda je možné použít protilátku CD133 jako prognostický marker u nemalobuněčného karcinomu. Tento glykoprotein je využíván např. pro diagnostiku leukemií. U nemalobuněčného karcinomu se spekuluje, zda má míra jeho exprese vliv na nepříznivou prognózu. Prognóza se zhoršuje s intenzivnější pozitivitou protilátky CD133 v jádrech buněk. V cytoplazmě není pozitivita tak rozhodující. Na základě těchto poznatků jsem se pokusila tuto domněnku potvrdit.

Z registru nekropsií na našem pracovišti jsem náhodně vybrala 23 případů nemalobuněčných karcinomů. Tyto případy jsou z let 2012 - 2015. Jednalo se o 14 mužů a 9 žen. Adenokarcinomů bylo 15, z toho 8 mužů a 7 žen. Dlaždicového karcinomu bylo 8, z toho 6 mužů a 2 ženy. Při přípravě histologických a imunohistochemických preparátů jsem postupovala dle postupu pro vyšetření histologické tkáně, viz. kapitola 8. U imunohistochemického vyšetření vybraných vzorků je slabá pozitivita hodnocena jako poz. +, středně silná až silná jako poz. ++. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 7.

Pohlaví	Věk	Karcinom	Metastázy	CD133 - jádro	CD133 - cytoplazma
Muž	64	Dlaždicový	lymfatické uzliny - nitrohruční	poz. ++	poz. +
Žena	84	Adenokarcinom	bez metastáz	neg.	poz. ++
Žena	72	Dlaždicový	lymfatické uzliny - nitrohruční	poz. +	poz. +
Muž	72	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční a krční, kosti	poz. ++	poz. +
Muž	76	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční, játra, nadledvinky, močový měchýř	poz. +	neg.
Muž	68	Adenokarcinom	nadledvinky, kosti, mozek	neg.	neg.
Žena	78	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční, játra	poz. +	poz. ++
Žena	84	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční	neg.	poz. +
Muž	62	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční a nitrobřišní, nadledvinky	neg.	poz. +
Muž	79	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční, plíce	poz. +	poz. +
Muž	86	Dlaždicový	lymfatické uzliny - nitrohruční	poz. ++	poz. +
Muž	58	Dlaždicový	bez metastáz	poz.+	neg.
Muž	76	Adenokarcinom	bez metastáz	neg.	neg.
Muž	70	Dlaždicový	lymfatické uzliny - nitrohruční, kosti	poz. +	neg.
Muž	61	Adenokarcinom	bez metastáz	neg.	poz. +
Žena	77	Dlaždicový	lymfatické uzliny - nitrohruční a nitrobřišní, plíce	poz. ++	poz. ++
Muž	63	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční, kosti	poz. +	poz. +
Žena	68	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční a nitrobřišní, játra, slezina, mozek	poz. +	poz. +
Muž	68	Dlaždicový	lymfatické uzliny - nitrohruční, nadledvinky	neg.	poz. ++
Muž	71	Dlaždicový	lymfatické uzliny - nitrohruční, nadledvinky, kosti	neg.	poz. ++
Žena	88	Adenokarcinom	bez metastáz	neg.	poz. +
Žena	84	Adenokarcinom	Plíce	poz. +	poz. +
Žena	68	Adenokarcinom	lymfatické uzliny - nitrohruční a nitrobřišní, ledviny, nadledvinky, děložní čípek, mléčná žláza, játra, perikard, pleura, peritoneum	neg.	poz. +

Tabulka č. 7: reakce s protilátkou CD133
(Zdroj: vlastní)

11. DISKUZE

Tuto kapitolu dělím na dvě části. V první hodnotím výsledky, které jsem získala ze sběru dat. Hodnotím zde výsledky uvedené v kapitole č. 9 - Přehled četnosti výskytu bronchogenního karcinomu. V druhé části hodnotím výsledky, získané při ověřování výzkumu, viz. kapitola č. 10.

V průběhu roku 2015 obdrželo naše pracoviště celkem 377 plicních biopsií. Z tohoto celkového počtu byl karcinom potvrzen u 161 pacientů (viz. tab. 1). U těchto pacientů byl karcinom potvrzen u 106 mužů a 55 žen (viz. tab. 2). Dle statistik je zastoupení tohoto karcinomu v populaci 4:1 v neprospěch mužů. Ze 161 potvrzených karcinomů se jednalo o 57 adenokarcinomů, 66 dlaždicových a 38 malobuněčných karcinomů (viz. tab. 3). Dle statistik je nejčastějším typem dlaždicový karcinom. Zastoupení jednotlivých druhů karcinomů dle věku: Adenokarcinom se vyskytuje u mužů průměrně ve věku 68,5 a u žen ve věku 64,5 (viz. tab. 4). Dlaždicový karcinom se vyskytuje u mužů průměrně ve věku 68 a u žen ve věku 71,5 (viz. tab. 5). Malobuněčný karcinom se vyskytuje u mužů průměrně ve věku 65,5 a u žen ve věku 71,5 (viz. tab. 6). Dle statistik je průměrný věk pacientů kolem 60-ti let.

Výsledky imunohistochemického vyšetření s protilátkou CD133 ukazují, že několik pacientů s nemalobuněčným karcinomem, má skutečně vyšší pozitivitu reakce v jádře. Jednalo se o pacienty s metastázami v lymfatických uzlinách i ve vzdálenějších orgánech. Objevili se však i případy, kdy pacienti s metastázami měli slabou nebo dokonce negativní reakci.

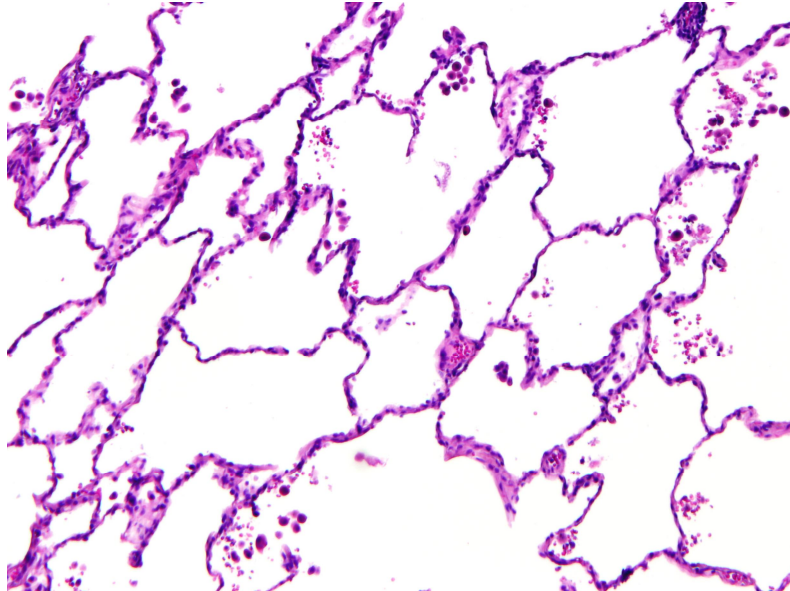
12. ZÁVĚR

V kapitole č. 11 - Diskuze je uvedeno, že dle statistik je zastoupení bronchogenního karcinomu v populaci 4:1 v neprospěch mužů. Dle mých výsledků je toto onemocnění skutečně častější u mužů, ovšem v poměru k ženám je to přibližně 2:1. Tato nesrovnalost může být dána tím, že v mé práci je zohledněno pouze jedno z mnohých pracovišť v ČR a sběr dat se konal pouhý 1 rok. V této kapitole je dále uvedeno, že průměrný věk pacientů je kolem 60-ti let, z dat pacientů získaných pro moji práci je průměrný věk kolem 68 let. Dále je uvedeno, že nejčastějším druhem karcinomu je dlaždicový karcinom. Tento poznatek se v mé práci potvrdil.

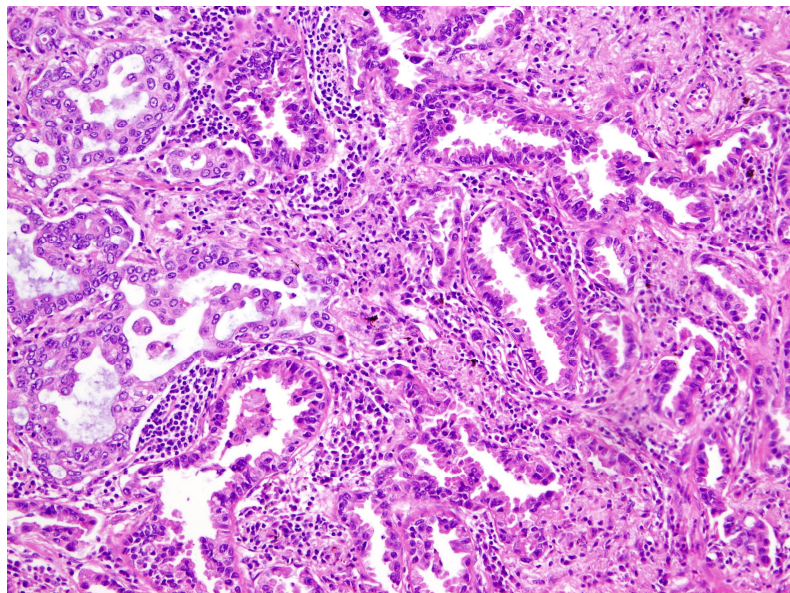
V diskuzi rovněž komentuji výsledky z kapitoly 10 - Výzkum. Mnou zjištěné výsledky nenaznačují, že by bylo možné použít CD133 jako prognostický diagnostický marker u nemalobuněčného karcinomu. Jsem si vědoma toho, že mnou získané výsledky jsou pouze z velmi malého, statisticky málo významného objemu dat. Výsledky také ovlivňuje řada faktorů, jako např. stádium nemoci, druh a délka léčby, věk a celkový stav pacienta a mnoho dalších. Ovšem i s větším objemem dat je tento výzkum prozatím neprůkazný [Bertolini, 2009, Huang, 2014, Wu H., 2014].

I když jsou zatím bohužel tyto teorie neprůkazné, je velmi důležité, dál se pokoušet pronikat do znalostí o bronchogenním karcinomu. Každý nový pokus o zjištění nových vědomostí o tomto onemocnění má svůj velký význam, neboť toto onemocnění v populaci stále narůstá a úmrtnost je nejvyšší v onkologických onemocněních na celém světě. A bohužel i v léčbě je dosaženo oproti jiným onkologickým onemocněním velmi nízké úspěšnosti.

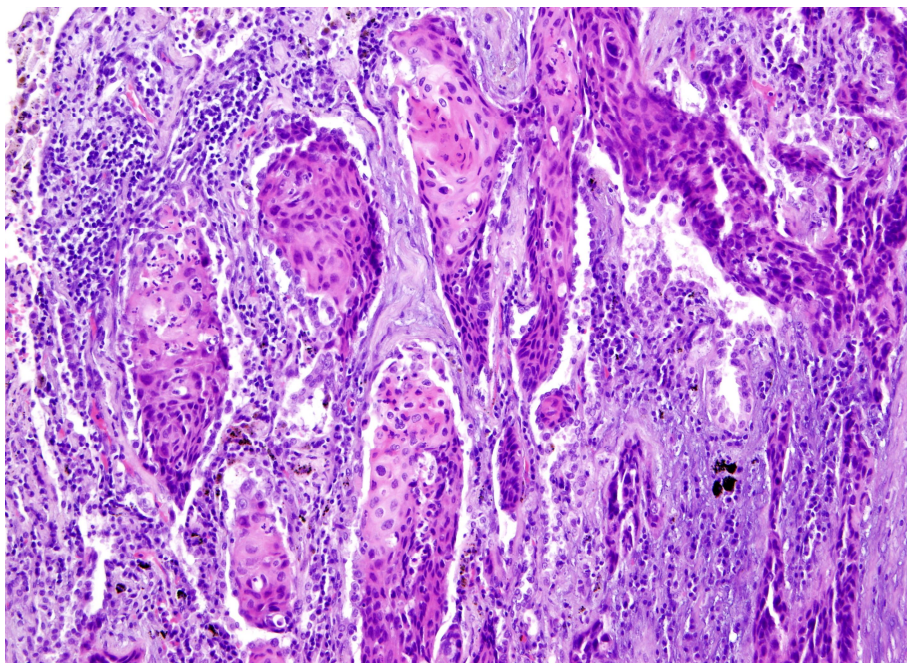
13. PŘÍLOHY



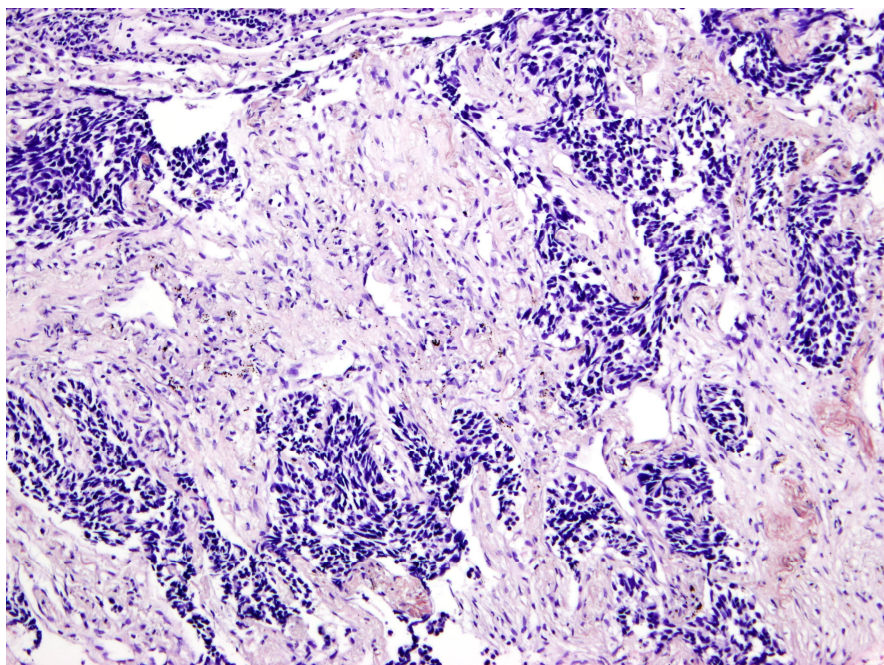
Obr. č. 3: zdravá plicní tkáň
(Zdroj: vlastní)



Obr. č. 4: adenokarcinom
(Zdroj: vlastní)



Obr. č. 5: dlaždicový karcinom
(Zdroj: vlastní)



Obr. č. 6: malobuněčný karcinom
(Zdroj: vlastní)

POUŽITÉ ZDROJE

- ADAM, Z., VORLÍČEK, J., VANÍČEK, J. a kol. Praha: Grada. 1. vydání. 2002. ISBN: 80-7169-792-3. s. 41 - 62
- BEDNÁŘ, B. *Patologie*. Praha: Avicenum. 2. vydání. 1984. ISBN: 08-001-84. s. 905 - 915
- BERTOLINI, G. a kol., *Highly tumorigenic lung cancer CD133 cells display stem-like features and are spared by cisplatin treatment*, PNAS, Columbus, Ohio, 2009-09-22, vol. 106, no. 3. Dostupné z: <http://www.pnas.org>
- ČECH, S., HORKÝ, D. *Histologie a mikroskopická anatomie pro bakaláře*. Brno: vydavatelství MU. 1. vydání. 2004. ISBN: 80-210-3513-7. s. 36
- DOBIÁŠ, J. *Patologická anatomie*. Praha: Avicenum. 1. vydání. 1979. ISBN: 08-016-79. s. 203 - 227
- DRINGS, P., VOGT-MOYKOPF, I. *Therapy of lung metastases*. Basel: Karger Publishers. 1. vydání. 1988. ISBN: 3-8055-4749-8. 22 s.
- DYLEVSKÝ, I. *Základy anatomie a fyziologie člověka*. Olomouc: Epava. 1995. ISBN: 80-901667-0-9. s. 195 - 218
- HACH, P. *Histologie II*. Praha: Karolinum. 1. vydání. 2003. ISBN: 80-246-0476-0. s. 27 - 35.
- HASLETON, P. S. *Spencer's pathology of the lung*. New York: McGraw Hill. 5. vydání. 1996. ISBN: 0-07-105448-0. 1283 s.
- HOLLMAN, W., SCHNEIDER, W. *Lungentumor und Lungentuberkulose*. Leipzig: Johann Ambrosius Barth Verlag. 1. vydání. 1952. 144 s.
- HUANG, M. a kol., *High CD133 expression in the nucleus and cytoplasm predicts poor prognosis in non-small cell lung cancer*, Hindawi publishing

corporation, Disease Markers, 2014-10-12, 8 pages. Dostupné z:
www.hindawi.com

JARKOVSKÁ, D., MARTÍNEK, J. *Histologie I*. Praha: Karolinum. 1. vydání.
1997. ISBN: 382-73-97. s. 15

JUNQUEIRA, C., CARNEIRO, J., KELLEY, R. *Základy histologie*. Prentice Hall
International: Nakladatelství a vydavatelství H a H. 7. vydání. 1997. ISBN: 80–
85787–37–7. s. 328 - 33

KANDUS J., SATINSKÁ, J. *Stručný průvodce lékaře po plicních funkcích*. Brno:
Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví. 2001. ISBN: 80–7013–
325–2. 138 s.

KAPELLER, K., POSPÍŠILOVÁ, V. *Embryologie člověka*. Martin: Osveta. 1991.
s. 254 - 259

KLIKA, E., VACEK, Z., DVOŘÁK, M., KAPELLER, K. *Embryologie*. Praha:
Avicenum. 1. vydání. 1986. s. 188 – 196

KLIKA, E., POHUNKOVÁ, H. *Embryologie člověka – organogeneze*. Praha:
Státní pedagogické nakladatelství. 1982. s. 36 - 39

KLIKA, E., VACEK, Z., DVOŘÁK, M., KAPELLER, K. *Histologie*. Praha:
Avicenum. 1. vydání. 1986. s. 269 – 285

KRÁL, B., PARÁKOVÁ, Z., *Symptomatologie nemocí plic*. Hradec Králové:
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně. 1. vydání. 2000. ISBN: 80-85109-22-
0. 51 s.

LÜLLMAN-RAUCH, R. *Taschenlehrbuch Histologie*. Stuttgart: GeorgThieme
Verlag KG. 3. vydání. 2009. ISBN: 978-3-13-129243-8 s. 335 - 346

MALINOVSKÝ, L. *Základy systematické anatomie člověka*. Praha: Státní
pedagogické nakladatelství. 2. vydání. 1986. s. 129 – 162

- MARIEB, E. N., MALLAT, J. *Anatomie lidského těla*. Brno: CP BOOKS. 1. vydání. 2005. ISBN: 80-251-0066-9. s. 603 – 623
- MOUREK, J. *Fyziologie*. Praha: Grada. 2. vydání. 2012. ISBN: 978-80-247-3918-2. s. 51 – 60
- PEŠEK, M. a kol. *Bronchogenní karcinom*. Praha: Galén. 1. vydání. 2002. ISBN: 80-722-115-7. 235 s.
- POVÝŠIL, C., ŠTEINER, I. *Speciální patologie*. Praha: Galén Karolinum. 2. vydání. 2007. ISBN: 978-80-7262-494-2. 430 s.
- Pracovní postup ŠÚP - 015. Zpracoval: Doc. MUDr. Daum. Verze 02. 2014
- SLAVÍKOVÁ, J., ŠVÁGLEROVÁ, J. *Fyziologie dýchání*. Praha: Karolinum. 2012. ISBN: 978-80-246-2065-7. 94 s.
- STŘÍTESKÝ, J., HALBERSTADT, P. *Patologie*. Praha: Scientia Medica. 1. vydání. 1995. ISBN: 80-85526-44-1. s. 40 - 43
- TREFNÝ, Z., TREFNÝ, M. *Fyziologie člověka I*. Praha: Karolinum. 1. vydání. 1993. ISBN: 382-194-92. s. 132 – 168
- TROJAN, S. a kolektiv. *Fyziologie pro lékařské fakulty*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství. 2. vydání. 1986. s. 123 - 151
- VACEK, Z. *Embryologie pro pediatrii*. Praha: Avicenum. 1987. s. 194 - 202
- VACEK, Z. *Histologie a histologická technika*. Praha: Avicenum. 1. vydání. 1988. ISBN: 08-091-88, s. 283 - 371
- WU, H. a kol., *Is CD133 expression a prognostic biomarker of non-small-cell lung cancer?*, PLoS ONE 9(6): e100168. doi:10.1371/journal.pone.0100168.
Dostupné z: <http://journals.plos.org>

ZATLOUKAL, P., PETRUŽELKA, L. *Karcinom plic*. Praha: Grada. 1. vydání.
2001. ISBN: 80-7169-819-9. 367 s.