Biologický korespondenční seminář

Biozvěst

Ročník 4

Série 3

Milí přátelé,

velice Vám děkujeme za přízeň, kterou jste nám věnovali i ve druhé sérii a doufáme, že Vás budou bavit i nové úlohy.
V této sérii si rozšíříte opět své znalosti o virech, tentokrát zábavnou formou osmisměrky. Pak se podíváte do tropických mangrovů a cestou se zastavíte na občerstvení v místní asijské restauraci a pomocí sekvenování zkusíte zjistit, z čeho byla Vám předložená pochoutka uvařena a navíc se dozvíte, že jste komárem.
Pokud si poté nebudete jisti svým zdravím, sáhněte po seriálu, najdete zde vše o vyšetření krevního obrazu. A až se dáte do kupy, čeká na Vás experimentální úloha – tentokrát si budete moci zkusit monitoring ptačího zpěvu!

Jak již víte z minula, v termínu **31.5. - 4.6.** uspořádáme **expedici** pro nejlepší řešitele do země plchů, do Českého Švýcarska. A právě na základě výsledků po třetí sérii budeme vybírat 10-12 účastníků. Přihlášky na expedici Vám zašleme koncem dubna.

Šíření moudrosti našich Biozvěstů podpořila mediálně Přírodovědecká fakulta UK v rámci projektu Přírodovědci.cz.

Jak řešit

Veškeré pokyny k řešení semináře získáte na internetové stránce Biozvěstu
www.studiumbiologie.cz/biozvest
(nebo zadejte „Biozvěst“ do Google). Na stránce také naleznete přihlášku, kterou vyplňte. Úlohy Vám budeme zasílat automaticky na e-mail uvedený v přihlášce. Pokud budete chtít ukončit odběr novinek o Biozvěstu, napište nám e-mail.
Dále se můžete k nám připojit prostřednictvím Facebooku, skupina „Biozvěst“, kde se mohou probírat aktuality a můžete zde diskutovat dle libosti.
https://www.facebook.com/groups/175384482597684/
Vaše řešení úloh nám posílejte na adresu:
biozvest@gmail.com
Nejpraktičtější formou řešení bude prostý text v e-mailu, ale přijímáme veškeré formáty příloh. Každou úlohu pište do samostatného e-mailu a v předmětu uveďte
Ročník-Série-Úloha-Jméno_Příjmení,
např. **4-1-2-Bioslav_Biomilný** v případě druhé úlohy první série aktuálního ročníku.

Uzávěrka 3. série: pondělí 3.4.2017 o půlnoci.

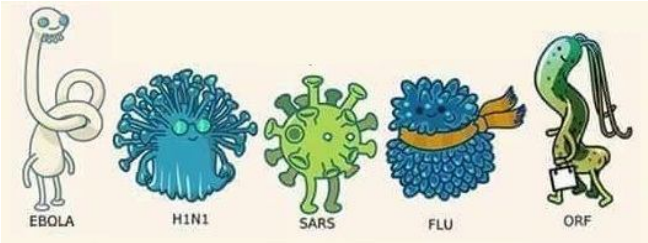
Vyhodnocení Vašich řešení dostanete e-mailem.

Nelekejte se, když Vám přijdou úlohy na první pohled příliš těžké, ponořte se do informačních zdrojů a uvidíte, že na vše lze někde nalézt odpověď. Dobré tipy k řešení naleznete také na stránce Biozvěstu v sekci „Návody“. Není nutné abyste kompletně vyřešili všechny úlohy a asi se to ani nikomu nepodaří, stačí odeslat libovolně velký fragment. Oceníme, pokud přiložíte jakékoliv připomínky (např. úloha byla příliš lehká/těžká, nesrozumitelná, nudná), úlohy se pokusíme tvořit k Vaší maximální spokojenosti.
Veškeré dotazy či připomínky směřujte na adresy
biozvest@gmail.com či **vosolsob@natur.cuni.cz** (na druhé adrese máte větší šanci na rychlé zodpovězení otázky).

Mnoho zdaru při řešení Vám za kolektiv autorů přeje
Stanislav Vosolsobě

Úloha 1: Virologie II

Autor: Eliška Pšeničková
Počet bodů: 37



Jak již bylo slíbeno, druhá část věnovaná virologii je právě před Vámi. Úloha má celkem tři části. V první se budete muset poprat s osmisměrkou a ve druhé budete rozřazovat pojmy z ní do tabulky. Třetí část je věnována chřipce.
V osmisměrce na Vás čeká celkem 30 pojmů. Jejich seznam ale nečekejte ☺. Dám Vám ale pár nápověd, s kterými jistě zvládnete na všech 30 pojmů přijít a zjistit tak tajenku. Prosím, pište zkratky a názvy k jednotlivým podbodům následujících otázek.
Vlastní osmisměrku i další tabulku naleznete i v editovatelné formě v příloze zadání, co jste obdrželi e-mailem.

1. Objevuje se zde 10 zkratek virových onemocnění.
   a. Tři tyto zkratky označují různé typy jednoho velmi známého virového onemocnění. Napovím, že se zařazují do skupin Picornavirů, Hepadnavirů a Flavivirů. K těmto třem zkratkám v křížovce najdete i slovní pojmenování jednoho typu, ten se počítá jako další pojem, i když je to de facto to samé.
   b. Další dva pojmy jsou zkratky pro velmi známé zoonózy.
   c. Pod dalšími zkratkami se v tajence ukrývá respirační syncytiální virus, karcinom Merkelových buněk a

plané neštovice.

d. Poslední dvě zkratky souvisejí se skupinou, pro kterou je specifická reverzní transkripce. První z nich je nejznámější onemocnění spadající k retrovirům a poslední zkratka označuje virus, který způsobuje leukemii dospělých (poznámka: zde za zkratkou není v osmisměrce pomlčka a číslo 1!)

P	P	A	R	A	I	N	F	L	U	E	N	Z	A	B
Ř	Ž	A	L	T	I	V	R	O	T	A	V	I	R	Y
Í	L	Ž	L	U	T	Á	Z	I	M	N	I	C	E	H
U	O	S	M	N	M	O	A	T	R	O	P	A	R	E
Š	U	P	O	E	H	M	R	Z	E	O	V	V	A	R
N	T	A	R	Š	C	C	D		I	K	K	A	P	P
I	E	L	P	T	V	V	Ě	L	A	K	L	R	S	E
C	N	N	R	O	D	E	N	G	U	E	A	I	I	S
E	K	I	A	V	H	S	K	I	R	S	V	O	N	R
H	A	Č	S	I	F	T	Y	H	I	U	E	L	K	A
B	C	K	A	C	K	A	L	C	A	E	B	A	A	S
V		Y	T	E	V	V	Z	V	I	V	O	R	D	R
D	Ě	T	S	K	Á	O	B	R	N	A	L	I	A	E
E	N	C	E	F	A	L	I	T	I	D	A	R	Ů	M

2. Vaše další nápovědy (nejedná se o zkratky):
   a. Tyto tři nemoci se u nás očkují látkou známou jako Priorix.
   b. Hledáme obecné označení pro pojem, který zařadíme k Reovirům. Způsobují potíže hlavně malým dětem.
   c. Toto virové onemocnění bylo v Československu v roce 1960 jakožto v první zemi na světě vymýceno na národní úrovni.
   d. V osmisměrce naleznete poněkud obecné označení – opar, berte ho jako samostatný pojem. Stejně tak berte i jeho synonymum.
   e. Dalším hledaným pojmem je nemoc smrtelná pro štěňata. Je velmi infekční, má nejrůznější projevy (plicní, trávicí, kožní,.) a dnes se proti ní očkuje.
   f. Tato onemocnění napadá centrální nervovou soustavu. Přenáší se slinami. U nás se provádí povinné očkování proti této nemoci u psů. V České republice se díky proočkovanosti již nevyskytuje.
   g. Nyní se ptáme na onemocnění napadající mozek a mozkové blány. Patří do skupiny Flavivirů a přenáší ho zejména klíšťata. Nakazit se lze ovšem také alimentární cestou. Onemocnění má dvouslovné pojmenování, v osmisměrce najdete však jen podstatné jméno označující tuto nemoc.
   h. Onemocnění, jehož rozsáhlá epidemie propukla před třemi roky v západní Africe, pojmenována podle toku v severovýchodní části Demokratické republiky Kongo.
   i. Způsobuje hemoragické horečky, šíří se tělesnými tekutinami a nemáme na toto onemocnění ani očkování, ani účinný lék. V přírodě se nachází u některých druhů netopýrů a kaloňů, kterým ale nečiní žádné zdravotní komplikace. Bylo objeveno v zařízení pro chov zvířat v německém městě v roce 1967, po kterém se též jmenuje. Kromě zvířat se nakazilo a umřelo i několik lidí.
   j. Je to hlavní příčina zánětu dýchacího traktu hlavně u dětí. Děti mají kašel , rýmu, teplotu ale není to typická „chřipka“.
   k. Vysoce nakažlivé virové onemocnění prasat (domácích i divokých) s vysokou morbiditou i mortalitou. Ptáme se na dvouslovné pojmenování této nemoci, má dvě formy – klasickou a africkou.
   l. Onemocnění známé jako „ horečka lámající kosti“ přenášená komáry rodu *Aedes*. V osmisměrce naleznete pouze druhé slovo z názvu.
   m. Nalézáme zde dva typy – městský a lesní. Opět přenášená komáry rodu *Aedes*. Svou roli toto virové onemocnění sehrálo například i při stavbě Panamského průplavu. Proti onemocnění existuje očkování.
   n. Především dětské virové onemocnění projevující se vyrážkou a strupy na kůži. Existuje několik typů – pravé, plané, kravské. Ptám se na obecné označení.
   o. Předposledním pojmem z osmisměrky je latinské označení pro prudce nakažlivé onemocnění ze skupiny Poxvirů, které bylo 8. 5. 1980 prohlášeno Světovou zdravotnickou organizací za zcela vymýcené.
   p. Posledním pojmem je virus, který způsobuje horečku a je nebezpečný hlavně pro těhotné ženy, resp. pro jejich nenarozené děti, které se pak mohou narodit s mikrocefalií.
3. Jaká Vám vyšla tajenka? Vysvětlete ji.
4. Nyní máte tajenku a seznam třiceti pojmů. Vaším dalším úkolem bude pojmy zařadit do následující tabulky. V posledním sloupci tabulky máte vždy uvedeno, kolik pojmů do dané kolonky patří.

dsRNA	REOVIRY		1
(+) ssRNA	PICORNAVIRY		2
	TOGAVIRY		1
	FLAVIVIRY	Encefalitické:	1
		Hemoragické:	4
		Ostatní:	2
	KORONAVIRY		2
(-)ssRNA	RHABDOVIRY		1
	FILOVIRY		2
	PARAMYXOVIRY		4
(+) ssRNA	RETROVIRY		2
dsDNA	HEPADNAVIRY		1
dsDNA	POXVIRY		2
	POLYOMAVIRY		1
	HERPESVIRY		3
ssDNA	PARVOVIRY		1

V poslední části této úlohy se zaměříme na virové onemocnění, které nás každého přibližně co dva roky překvapí a tím onemocněním nebude nic jiného než chřipka.

5. Chřipka známá neznámá.
   a. Chřipky mají jednoho předka. Chřipka A se oddělila nejpozději a to před 2000 lety, chřipka B před 4000

lety a chřipka C před 8000lety. Která z těchto forem je nejnebezpečnější a která je naopak nejméně nebezpečná?

b. Jak dlouho ji ale vlastně známe? Kdo a kdy se o ní prvně zmiňuje?
c. Všechny chřipky (A, B, C) mohou stát za vyvoláním epidemie, ale pouze jedna z nich může vyvolat pandemii. Která to je?
d. Když už jsme u pandemií a epidemií, nedá mi to se nezeptat na antigenní drift a antigenní shift. Jak souvisí s pandemií a epidemií? Vysvětlete oba pojmy.
e. Chřipka může být i opravdovým zabijákem. Ve srovnání s AIDS, který za 25 let zabil 25 milionů lidí, největší pandemie chřipky stihla 25 milionů lidských životů za přibližně 25 týdnů. Kdy byla zaznamenána největší pandemie? Jaká to byla chřipka?
f. Pojmenování virů jsou velmi dlouhá. Označují variantu viru, zvíře, z kterého byl vir vyizolován (pokud je z člověka, nepíše se) kde ho vyizolovali kolikátý to byl izolát, dále pak rok izolace a sérotyp viru. Nakonec to tedy vypadá nějak takhle: Influenza A/chicken/Hong Kong/220/97(H5N1) virus. Napište mi alespoň dvě epidemie chřipky (a pokud budete chtít, zkuste si napsat i celé jejich pojmenování), které ještě nebyly zmiňované a ke každé z nich napište informaci, která Vám o nich přišla nejzajímavější.

Úloha 2: Čárové kódy života

Autor: Magdalena Gajdošová
Počet bodů: 12

Stejně jako přečtením čárového kódu lze přesně určit typ zboží, přečtením určité sekvence DNA lze určit druh organismu i bez hledání v určovacích klíčích. Proto se tomuto modernímu přístupu k určování druhů dal název DNA barcoding (barcode = čárový kód).

Obr.1: Sekvenci DNA si lze představit jako čárový kód. Zdroj: http://www.nybg.org/science/ieb.php

Jako „čárový kód života“ byl pro živočichy zvolen úsek genu kódujícího cytochrom oxidázu I (COI). Představme si, že by existoval jakýsi katalog, v němž by ke každému existujícímu druhu živočicha na světě byla uvedena jeho unikátní sekvence genu pro COI (pro jednoduchost budeme dále psát jen „sekvence COI“). Pokud bychom pak chtěli jakékoliv pro nás neznámé zvíře určit do druhu, stačilo by osekvenovat jeho COI a nechat počítač, aby nám k získané sekvenci v katalogu našel druh se shodnou (či téměř shodnou) sekvencí. Takové „katalogy“ skutečně existují, ač zatím samozřejmě nejsou kompletní. Každým dnem se ale rozšiřují o další a další sekvence zveřejňované vědci po celém světě, a už dnes se jedná o velmi užitečný nástroj. V současnosti není výjimkou, že vědci popisující nové druhy rovnou kromě morfologického popisu přidávají i sekvence umožňující barcoding, jako samostatný určovací znak.

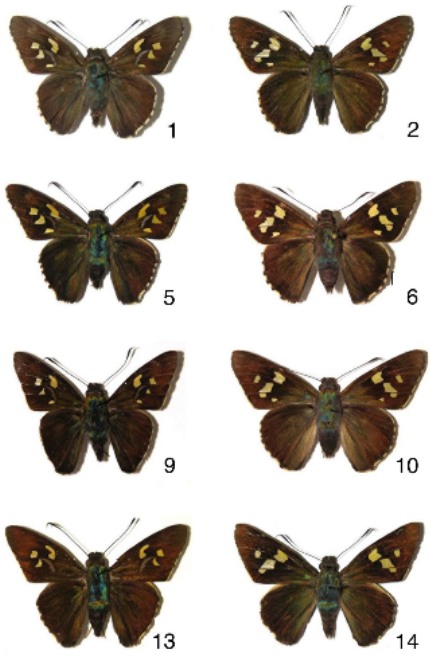
1. Na cestách po jihovýchodní Asii Ti zachutnaly některé pokrmy prodávané na tržnici, kvůli jazykové bariéře jsi ale celou dobu netušil, z čeho jsou vlastně vyrobené. Odebral jsi z nich tedy vzorky masa a po návratu domů jsi každý osekvenoval na COI. Získal jsi následující tři sekvence.

```
>Prvni_sekvence
TAGGACAGCCCGGAACTCTCTTAGGAGACGATCAAATTTACAAT
GTAATCGTCACAGCCCATGCTTTCGTCATAATCTTCTTTATAGT
TATACCCATCATGATCGGTGGCTTCGGAAACTGACTAGTCCCGC
TTATAATCGGTGCCCCAGACATAGCATTCCCCCGCATAAATAAC
ATAAGCTTCTGACTCCTCCCTCCCTCCTTCCTTCTCCTACTAGC
CTCATCTACCGTAGAAGCTGGGGCCGGCACAGGATGGACAGTTT
ACCCCCCTTTAGCCGGCAACCTAGCCCACGCTGGCGCATCAGTA
GACCTAGCCATCTTTTCATTACACTTAGCAGGTGTTTCCTCCAT
TCTAGGAGCCATCAACTTTATCACTACCATCATCAACATAAAAC
CCCCCGCACTGTCACAATACCAAACACCCCTATTCGTATGATCC
CCCCTCATTACTGCCATCCTACTACTCCTCTCCTTACCCGTCCT
CACAGCTGGGATTACCATACTACTTACCGACCGCAACCTTAAA

>Druha_sekvence
TCACAAGGATATCGGAACTTTGTACTTTTTATTCGGAATCTGGT
CGGGAATAGTTGGTACAGCTCTAAGATGATTAATCCGAATTGAA
CTGGGCCAACCAGGATCTTTTATTGGAGATGATCAAATTTATAA
CGTAATTGTAACAGCACATGCATTCATTATAATTTTCTTTATAG
TAATACCTATTATAATTGGGGGATTCGGAAACTGACTTCTACCC
CTAATAATTGGAGCACCAGATATGGCATTCCCACGAATAAATAA
TATAAGATTCTGATTGTTACCTCCATCACTAACACTTCTTCTAT
CAAGAAGAATTGTTGAAAAAGGAGCAGGTACTGGTTGAACAGTG
TACCCACCACTATCAACTAATATCTCACACAGAGGAGCATCAGT
AGATCTTGCAATCTTCTCATTACATTTAGCAGGAGTGTCATCAA
TTCTAGGAGCAGTAAACTTCATCTCTACAGTAATTAACATACGT
ACTACCGGAATGACACCTGATCGAATACCACTATTCGTATGATC
GGTATCAATTACAGCTTTACTACTACTACTATCATTACCAGTAT
TAGCAGGAGCAATCACCATACTATTAACAGACCGAAATTTCAAT
ACATCATTCTTCGATCCTGCAGGAGGAGGTGACCCAATTCTATA
CCAA

>Treti_sekvence
TTCATAAACCGTTGACTCTTTTCAACTAACCACAAAGATATCGG
AACCCTCTACCTATTATTTGGGGCCTGAGCAGGAATAGTAGGGA
CAGCTTTAAGTATTCTAATTCGAGCTGAACTAGGGCAGCCAGGT
GCACTCCTAGGAGATGACCAAATCTATAATGTCATCGTCACAGC
CCATGCATTCGTAATAATTTTCTTTATAGTAATACCTATAATAA
TTGGAGGCTTCGGAAACTGACTTGTCCCACTAATAATTGGAGCC
CCTGATATAGCATTCCCACGAATAAATAACATAAGCTTTTGACT
GCTTCCTCCATCGTTTCTACTCCTTTTAGCATCCTCCATAGTAG
AAGCTGGAGCTGGAACAGGATGAACAGTATATCCCCCCTTAGCC
GGAAACCTAGCCCATGCTGGAGCATCCGTAGATTTAACTATTTT
TTCCCTCCACCTAGCCGGGGTGTCTTCTATCTTAGGAGCTATCA
ACTTTATCACCACTATCATTAATATAAAACCCCCTGCTATAACC
CAATATCAAACACCTCTCTTTGTATGATCCGTACTAATTACAGC
CGTCCTACTACTTCTCTCACTGCCAGTATTAGCAGCAGGTATCA
CTATACTCCTTACAGACCGAAATCTAAATACTACTTTCTTCGAC
CCCGCTGGAGGTGGAGACCCAATTCTTTATCAACACCTATTC
```

Z čeho byly pokrmy připraveny?
K určení, o jaký druh se jedná, můžeš použít BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) přístupný na adrese http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi . Jelikož budeš pracovat se sekvencí nukleotidů v DNA, využij Nucleotide blast. Pracuje se s ním velmi jednoduše: do horního pole s nadpisem „Enter Query Sequence“ je třeba vložit získanou DNA sekvenci, v části „Database“ zvolíme „Others“ (protože se nyní nezabýváme přímo člověkem ani myší), a v části „Program Selection“ zvolíme „Highly similar sequences (megablast)“, protože nyní je naším cílem najít co nejpodobnější sekvenci té naší. Pak už stačí jen kliknout na tlačítko „BLAST“ a počkat na výsledky (obvykle to trvá jen několik sekund). Načte se nám stránka se seznamem sekvencí nejpodobnějších té naší. Každá položka má popis začínající latinským názvem druhu, z něhož byla tato sekvence zjištěna a pokračující dalšími informacemi o sekvenci. Zajímat nás budou především položky umístěné nejvíce nahoře – ty jsou naší sekvenci nejpodobnější. Sloupec „Ident“ nám říká, nakolik se naše sekvence se sekvencí dané položky shoduje.
Další možností je využít BOLD (Barcode of Life Database) **http://www.boldsystems.org** . BOLD je zaměřený přímo na barcoding, není však tak obsáhlý jako databáze využívaná BLASTem.

2. Předpokládejme, že jsi sekvenoval na COI sám sebe. Po vložení získané sekvence do BLASTu Ti jako první výsledek vyšel *Homo sapiens sapiens* a jako druhý *Culex pipiens*. Oba výsledky měly s Tvou sekvencí 100% shodu. Čím to může být? Jsi tedy člověk nebo komár? Jak se mohl do sekvenční databáze dostat takto rozporuplný údaj?

1. Gen pro COI byl zvolen jako pomůcka pro barcoding živočichů, díky čemuž se na něj z tohoto hlediska zaměřují vědci po celém světě a „katalog“ pro barcoding se o to rychleji rozšiřuje. Proč byl však vybrán právě tento gen? Byl by z hlediska barcodingu stejně užitečný kterýkoliv jiný gen, kdyby byl zvolen namísto genu pro COI?
2. Úsek genu pro COI, který se pro barcoding využívá, má standardně asi 650bp. Co znamená „650bp“?
3. V první otázce bylo naznačeno jedno z možných využití DNA barcodingu v praxi. Takových hypotetických situací, kdy se může hodit, je ale celá škála. Zkus vymyslet či vyhledat tři další možnosti využití.
4. Rostliny sice gen pro COI také mají, není u nich ale standardně využíván pro barcoding. Proč? Jaký gen se používá pro barcoding rostlin?
5. Význam DNA barcodingu ale není pouze v určování druhů, ale také v objevování druhů nových. Takzvané kryptické druhy jsou obvykle druhy, které od sebe nelze morfologicky rozeznat, proto mnohdy unikají pozornosti vědců a několik takových kryptických druhů je považováno za druh jeden, protože vypadají podobně. V rámci DNA barcodingu ale existují vypozorované limity, v kolika procentech se mohou například sekvence COI ještě lišit u různých jedinců v rámci jednoho druhu, a od jak velké odlišnosti sekvence se už jedná o druhy rozdílné. To může být vodítkem k odhalení kryptického druhu. Názory na popisování nových druhů výhradně na základě odlišností DNA se různí, stejně jako názory na definici druhu. Co si myslíš o objevování nových druhů pomocí DNA barcodingu ty a proč? (Tato otázka samozřejmě nemá jednoznačně správnou odpověď ☺)



Obr.2: Čtyři kryptické druhy motýlů (v levém sloupci samečci, v pravém samičky) odhalené pomocí DNA barcodingu. Zdroj: Burns, John M., et al. "DNA barcodes and cryptic species of skipper butterflies in the genus Perichares in Area de Conservacion Guanacaste, Costa Rica." Proceedings of the National Academy of Sciences 105.17 (2008): 6350-6355.

Úloha 3: Mangrovy

Autor: Jakub Hradečný
Počet bodů: 22

Mangrovové porosty jsou velmi důležitým ekosystémem v celém tropickém pásu. Jsou pro ně typické výrazné přeměny kořenů, které mohou mít podpůrnou funkci, popřípadě mohou napomáhat k výměně plynů. To je jen jeden z mnoha příkladů přizpůsobení se prostředí, které je pro drtivou většinu cévnatých rostlin neobyvatelné. Pojďme se tedy podívat na tento pozoruhodný ekosystém blíže. (Pozn. v textu se objevuje výraz „mangrovník“. Nejedná se o taxonomickou jednotku, ale jde o ekologické označení pro stromy a keře vytvářející tzv. mangrovové porosty)

1. V úvodu je vyzdvižena důležitost tohoto ekosystému. V čem však tato důležitost spočívá? Popište, jakým způsobem ovlivňují mangrovové porosty rybolov. Dále zkuste vysvětlit, proč je cena jihoasijských mangrovů odhadována na 10 000 amerických dolarů na hektar na rok – jaký je jejich ekonomický přínos pro tuto oblast, když mají na každý rok připsanou takto vysokou hodnotu? V hodnotě není započítán ekonomický přínos rybolovu. Pokuste se najít, kde nejblíže se můžete setkat ve volné přírodě s mangrovy (vzdušnou čarou z České republiky)
2. Uveďte dva způsoby přeměn kořenů, se kterými se můžeme setkat právě u mangrovníků, které napomáhají výměně plynů (české nebo anglické výrazy). Jaké

pletivo se nachází uvnitř takto metamorfovaných kořenů?

3. Mangrovové porosty jsou neustále vystaveny silnému osmotickému stresu, jenž je pro ostatní rostliny fatální. Zkuste stručně objasnit, jakým způsobem se mangrovníky tomuto stresu brání. Dále uveďte, jak se tato obrana projevuje při vnějším pohledu na rostliny.
4. Ačkoliv mangrovníky po většinu života stojí ve vodě, tak se neustále musí bránit proti jejímu nedostatku. Proč tomu tak je? Hledejte souvislost s předchozí otázkou. Jak se to projeví na tvaru a stavbě jejich listů? Zkuste popsat, jak by ideálně vypadal list z mangrovníku rostlého na začátku říční delty (výše po proudu) a list z mangrovníku rostlého v laguně korálového atolu. Oba ideální příklady porovnejte a rozdíly vysvětlete.
5. Dosud jsme se věnovali pouze dominantním organismům vytvářejícím kostru celého ekosystému, tedy mangrovníkům. V celém ekosystému je ale spousta dalších, neméně důležitých, organismů. Například kořeny mangrovníků jsou porostlé koloniemi řas, které násobně zvětšují povrch, na kterém se zachytávají kaly unášené vodou. Navíc mohou velmi efektivně zpomalit proudění. Vysvětlete, jaký je globální význam mangrovů v kontextu s koloběhem uhlíku. Jaké dvě zásadní role hrají v celém ekosystému krabi (*Brachyura*)?
6. V poslední otázce se budeme věnovat rozmnožování mangrovů. Jak se nazývají rozmnožovací útvary mangrovníků a jak se liší od normálních semen? Popište je a vysvětlete, v čem spočívá jejich adaptace na vodní prostředí.

Mangrovový les v Thajsku (z objevitelské cesty zakladatelů Biozvěstu)

Úloha 4 (experimentální): Ptáčci

Autor: Stanislav Vosolsobě
Počet bodů: 12

Na první pohled bychom to do nich neřekli, ale jsou to jedni z nejagresivnějších zvířat vůbec. Řeč je o drobných pěvcích, kteří i v dnešní době dělají čest svým dinosauřím předkům. Stačilo by, abychom je patřičně zvětšili, a třeba z takové modřinky by se stal postrach parků (samozřejmě za předpokladu, že by po zvětšení nezlenivěla a neztratila svoji dravost při hledání potravy a bránění teritoria). A agresi drobných pěvců se bude věnovat i naše předjarní experimentální úloha. Právě v této době si totiž pěvci začínají vymezovat svoje hnízdní teritoria a aby se nemuseli hned prát, používají k tomu zpěvu. Ve vašem experimentu se pomocí sledování zpěvu pokusíte odhalit, ve které době se v předjaří objevuje teritoriální aktivita pěvců.

1. Během února a března sledujte intenzitu ptačího zpěvu. Vyberte si jednu konkrétní lokalitu a opakovaně zde monitorujte ptačí zpěv, který zaznamenávejte vždy stejnou dobu (například půl hodiny). Je vhodné pozorovat ve dnech s podobným počasím a zohledněte i denní dobu (pozor na prodlužování dne – pro ptáky bude spíše důležitý relativní čas dle Slunce, než absolutní podle hodin). Dále si dejte pozor, aby vám pokus neovlivnili imigranti ze zimovišť. Pokud ptáci začínají střežit svá teritoria, mění se také charakter zpěvu (zejména jeho délka).
   Ideální, jak se v tom všem vyznat, je využít audiotechniku, nahrát si celé pozorování – k tomu stačí i jakýkoliv smartphone – a poté provést počítačovou analýzu nahrávek. Existuje řada programů, které vám umožní vizualizovat melodii zpěvu (sonogram), například Avisoft či Raven, jejichž zjednodušené (lite) verze jsou dostupné zdarma, bližší odkazy naleznete zde:
   http://www.strnadi.cz/navody
   http://www.strnadi.cz/files/SvobodaJiri.pdf
   první je stránka projektu zabývajícím se sledováním ptačích dialektů na příkladu strnada, druhý odkaz je na

práci zabývající se tvorbou úloh pro studium ptačích zpěvů pro školní výuku. Tam se dozvíte řadu dalších podrobností z Vašemu výzkumu.
Při nahrávání pomocí telefonu je osvědčená aplikace Epicolect:
http://www.yellowhammers.net/tutorial
ta ukládá i GPS data daného pozorování.
V rámci nahrávky si můžete dělat i slovní poznámky, které Vám pomohou se v nahrávce vyznat (například „vlevo zpívá...“, „přelétl a opět zpívá...“. U některých druhů můžete dle sonogramu poznat i o kterého konkrétního jedince se jedná a tak budete moci poznat, že se jedná o stále stejného ptáka v jeho teritoriu.
Protože zhodnocení všech parametrů zpěvu by mohlo být dosti komplikované, pokuste se alespoň z nahrávek získat informaci o celkovém počtu zpěvů a tento údaj dále zpracovávat.
V případě, že nebudete mít k disposici zmíněnou techniku, nezoufejte, i tak lze udělat kvalitní pozorování, jen to budete mít možná trochu náročnější v terénu.
Necháme na vás, zda budete sledovat všechny druhy, nebo jen jeden vybraný.

2. Popište v protokolu podrobně metodiku vašeho pokusu, tak aby bylo možné experiment podle vašeho popisu věrně zopakovat.
3. Zpracujte pečlivě výsledky, nejlépe formou grafů.
4. V diskusi zhodnoťte, zda-li vaše výsledky splnily očekávání či nikoliv a zkuste je porovnat s údaji z literatury.

Úloha 5: Zánětlivé parametry a krevní obraz

Autor: Kristýna Minářová
Počet bodů: 20

V tomto díle našeho seriálu se budeme věnovat přímo krvi – tedy krvinkám a dále procesům souvisejícím se srážením krve a imunitní odpovědí.

Základní zánětlivé parametry

Sedimentace erytrocytů

Jedna z prvních metod, které spatřily světlo světa, byla **sedimentace erytrocytů**. Principem je schopnost erytrocytů penízkovatět a shlukovat se do válečků, které **klesají** ve sloupci plasmy. Čím více **proteinů zánětu** je v plasmě, tím je **shlukování** erytrocytů **snazší**, válečky jsou těžší a **rychleji klesají** ke dnu. Hodnota, která se měří, je **výška sloupce krve** (v mm), který **klesne**, za určitou časovou jednotku, přesněji **za hodinu**.
Na jednotce intenzivní péče je sedimentace, coby vyšetření, k ničemu, protože všichni pacienti, kteří potřebují intenzivní péči, ji mají vysokou, ale v **ambulantní praxi** se jedná o neocenitelného pomocníka, který dokáže rozlišit sice jen dvě veličiny, ale za to ty nejdůležitější - odpoví totiž na otázku „ **Je pacient zdravý, nebo nemocný?“** Sedimentace erytrocytů je něco jako ekvivalent tělesné teploty. 38°C znamená, že se v těle „něco“ děje. Sice nevíte co, ale něco je špatně. Sedimentace funguje podobně.
Další velmi dobrá indikace je **kontrolní sedimentace** po prodělaném onemocnění, přesněji po doužívání **antibiotik**. Když je v normě, pacient se uzdravil a nemusí dál antibiotika užívat. Když přetrvává **zvýšená** sedimentace, **onemocnění** pravděpodobně ještě **trvá**, nebo pacient má ještě nějaké další onemocnění. Při uzdravování se sedimentace upravuje jako poslední parametr, což je důvod, proč kontrolovat právě ji.
Normální hodnota sedimentace se může rovnat **věku pacienta děleno dvěma**, nebo nižší. U **virových infekcí** bývá zvýšení sedimentace **nízké**. **Mimořádně vysoká** rychlost sedimentace, tedy **100** mm/h a více, je při **nádorech**, **autoimunitních** onemocněních, těžkých **sepsích** a **tuberkulose**. Hodnoty při **běžných bakteriálních** onemocněních se pohybují někde mezi těmito úrovněmi.

C-reaktivní protein

Dalším cenným pomocníkem je C-reaktivní protein, tedy **CRP**. V současné době je jeho měření mimořádně populární a začíná být poměrně dobře známý i u laické veřejnosti. To je dáno možností jeho stanovení z **kapky krve** odebrané z **prstu** přímo v **ordinaci.** Pro lékaře je tato možnost neocenitelným pomocníkem, protože nemusí čekat na výsledek z laboratoře.
Co to tedy CRP vlastně je a k čemu je dobré? Jedná se okrevní **protein** syntetizovaný **játry**, který se dokáže **navázat** na **bakteriální stěnu** a tím jednak zabránit bakterii v pohybu, jednak přilákat **makrofágy**, které takto označené agens lépe rozeznají a zlikvidují. Na bakterie se váže proto, že mají evolučně staré a tedy zcela odlišné antigenní struktury. Dalo by se proto říci, že čím vyšší hodnota CRP, tím je pravděpodobnější, že se jedná o **bakteriální zánět**. Toto je do určité míry pravda. Problém je, že trvá určitou dobu, než se nasyntetizuje dostatečné množství tohoto proteinu. Nemá tedy smysl měřit CRP dříve, než při alespoň jeden den trvajících potížích; do objektivních hodnot nastoupá až po **dvou** až **třech dnech**.

Obr. 1. CRP test lze provést jednoduchým přístrojem (v pozadí) a je to navíc i velice zábavné!

Dalším problémem je, že se jedná o **nespecifický** protein **akutní** fáze. Tedy stoupá nejen při bakteriálních onemocněních. Zvýšenou hodnotu naměříme při **nádorech** a **autoimunitních** onemocněních, mírně až středně zvýšený je ale také při **virosách**. A virosou nemyslím jen banální katar horních cest dýchacích, ale třeba onemocnění jakým je klíšťová meningoencefalitida, virové hepatitidy, akutní retrovirový syndrom při HIV infekci nebo infekční

mononukleosa.
Zároveň je třeba mít na paměti, že stoupá pouze při **systémových infekcích**, takže i když pacient má **lokální** bakteriální **zánět**, který je nutné léčit antibiotiky, CRP **nemusí** být příliš vysoké. Takovým lokálním zánětem jsou třeba záněty kůže, ale také to mohou být streptokokové tonsilitidy – česky známé angíny.
Pro představu **normální** hodnota je mezi **5 – 10** mg/l, v závislosti na tom, jaké metody se při měření použily. Zhruba tak do **100** mg/l se jedná o šedou zónu, kdy pacient může mít prakticky **cokoli** – tedy i virovou infekci, nádor nebo autoimunitu. Zhruba nad **150** mg/l se dá již tvrdit, že onemocnění bude spíše **bakteriální**, i když i zde je to sporné a je třeba hodnotit hlavně dynamiku. Nad 200 bych si již netroufla tvrdit, že nepůjde o bakteriální onemocnění. Při průměrné **sepsi** se hodnota pohybuje mezi **250-350** mg/l. (Takto CRP hodnotí infektolog, když se zeptáte lékařů jiných odborností, zjistíte, že mají laťku hodnot posazenou o dost níž ☺).
Co se týče **dynamiky**, její hodnocení je stejně **důležité**, jako u jakéhokoli jiného parametru. Pokud CRP **stále stoupá**, je jasné, že naše **léčba** z nějakého důvodu **nefunguje**. Může to být proto, že bakterie, která vyvolala onemocnění, je k námi použitému antibiotiku **rezistentní**. Nebo to může být proto, že jsme odebrali CRP na začátku příliš brzo a jeho **syntéza** takzvaně **„dobíhá“**. To je ta lepší varianta a většinou to lékaře potká, když nabírá krev příliš často. V reálu pacient vypadá klinicky dobře, již nemá horečku, klesly mu bílé krvinky, ale stoupl mu CRP. Vzhledem k tomu, že každý odběr něco stojí a v propouštěcí zprávě se to těžko zdůvodňuje, je dobré to nedělat. Kontrolní odběry má smysl dělat po 3 dnech antibiotické kúry, aby člověk věděl, jestli účinkují antibiotika.
Samozřejmě, můžeme zjistit, že nám CRP **stagnuje**. Může stagnovat i na poměrně vysokých hodnotách. To může svědčit pro několik různých jevů. Nejspíše **nepůjde** o **rezistenci** bakterií, protože v tom případě by rostlo. Ale může být přítomno **abscesové ložisko** (zánět zapouzdřený činností imunitního systému), do kterého se antibiotika nedostanou, ale zato brání růstu bakterií mimo absces. Nebo se vůbec **nemusí** jednat o **bakteriální** infekci. Poměrně často se stává, že na infektologii odhalíme nejrůznější **nádory**, velmi často se jedná o **lymfomy**, při kterých dochází k elevaci (vzrůstu) CRP klidně na hodnotu kolem 150-170, ale ať už s antibiotickou terapií nebo bez ní, hodnota se dlouhou dobu nijak nemění. Podobně se chovají i nejrůznější **autoimunitní** onemocnění.

Prokalcitonin
Při hodnocení bakteriálních zánětů je občas dobré zjišťovat také hodnotu prokalcitoninu. Jedná se o **prohormon štítné žlázy**, který se rovněž uplatňuje jako protein akutní fáze. Na rozdíl od CRP **stoupá rychleji**, a proto bývá přítomen **v časných** fázích infektu. Stejně tak **rychleji klesá**. Pravda je, že se jedná o poměrně **drahé** vyšetření, takže se nestanovuje tak často. Ale i prokalcitonin má své místo ve vyšetřovacím procesu, protože při nehojícím se zánětu může stoupat, i když ostatní parametry zánětu úspěšně klesají.

Krevní obraz

Další samostatnou kapitolou je hodnocení **krevního obrazu**. Pro hrubou orientaci stačí obyčejný krevní obraz, tedy vyšetření, ve kterém se stanoví **počet bílých** a **červených krvinek**, poté **velikost červených krvinek** a **množství hemoglobinu** v krvinkách, **hematokrit** a **počet krevních destiček**. Pro přesnější stanovení je již potřeba určit ještě **diferenciální rozpočet**, což je procentuální zastoupení **jednotlivých bílých krvinek**. Z hlediska hodnocení zánětu je nejdůležitější stanovení právě počtu bílých krvinek a jejich diferenciální rozpočet.

Červené krvinky a hemoglobin
Při hodnocení červeného krevního obrazu, tedy koncentrace erytrocytů, které jsou v daném vzorku krve, je nutné znát několik parametrů. Základem je **počet červených krvinek v mikrolitru**. Nicméně vzhledem k tomu, že počet může být poměrně variabilní a závislý na mnoha proměnných, většinou nás spíše zajímá **koncentrace hemoglobinu**.

Polyglobulie
Normy se liší u mužů a žen, ženy mají vzhledem k periodickým ztrátám krve při menstruaci koncentraci hemoglobinu nižší. Stavu, při kterém má pacient **vyšší** množství **hemoglobinu**, se říká **polyglobulie**. Většinou nastává při **dehydrataci**, kdy se z důvodu menšího množství vody krev „**zahustí**“ a vypadá to, že pacient má více červených krvinek. Jedná se o poměrně spolehlivý a především **časný parametr dehydratace** – v laboratoři se objeví dříve, než postižení ledvin nebo iontogramu, především u mladých lidí. Zároveň ruku v ruce **stoupá hematokrit** – to je poměr mezi **koncentrací hemoglobinu** a **plnou krví** (označení pro krev obsahující všechny složky plasmy a všechny krevní buňky). Je vyjádřený v **procentech** a v podstatě říká totéž, co koncentrace hemoglobinu, jenom trochu přehledněji. Dalším důvodem polyglobulie bývá **nádorové** onemocnění **kostní dřeně**, při kterém dochází k množení prekursorů červených krvinek – polycytemia vera. Velmi často je k vidění u lidí žijících ve **vysokých nadmořských výškách** coby kompenzace nízkého tlaku kyslíku, nebo u **sportovců** užívající stimulační hormon krvetvorby – **erytropoetin**. Jak již bylo zmíněno výše, červené krvinky mají tendenci penízkovatět, čímž může docházet při jejich zvýšeném počtu ke tvorbě sraženin a jejich následnému vmetení do orgánů.

Anemie
Na opačném konci stojí **nedostatek červených krvinek**, či přesněji řečeno nedostatek krevního barviva – **hemoglobinu**. Tomuto jevu se říká **anemie**. Anemie má řadu příčin, o nichž lze získat hrubou představu již na základě základního krevního obrazu. K tomu je však nutné znát i některé další parametry. Jednak je to **velikost erytrocytu**. Červená krvinka má přesně definovanou velikost, tomuto stavu se říká **normocytosa**. V případě, že je větší, než by bylo obvyklé, hovoříme o **makrocytose**. Pokud je menší, jedná se o **mikrocytosu**.
K **makrocytární anemii** dochází v případě, že je z nějakého důvodu **porušena tvorba hemoglobinu**. Krvinky sice zrají normálně, ale nedostává se jim náplně,

tak **zrají dlouho** a jsou **větší**. K typické makrocytární anemii dochází při **deficitu** vitaminu **B_{12}**. Nejčastěji se jedná o **alkoholiky**, ale také pacienty s tzv. **perniciosní**, neboli **megaloblastickou anemií**, při které v důsledku **autoimunitního** onemocnění dochází **k poruše vstřebávání** vitaminu B_{12}.

K tzv. **mikrocytární anemii** dochází v případě, že krvinky zrají přiměřeně dlouhou dobu, ale vzhledem k **nedostatku hemoglobinu** ukončují svůj růst s **malým množstvím** hemoglobinu uvnitř. Toto je typické pro **nedostatek železa**.

Dalším parametrem, který se stanovuje, je množství **hemoglobinu** v **jednotlivých** erytrocytech. V případě, že je množství **přiměřené**, mluvíme o **normochromních** erytrocytech. V případě, že je hemoglobinu **málo**, jedná se o **hypochromní anemii.** Nejčastěji je spojena s mikrocytovou a vyskytuje se při **nedostatku železa**.

Jako **hyperchromií anemii** označujeme jevy, při kterých je naopak v krvince hemoglobinu **více**, typicky při **makrocytose** při **nedostatku vitaminu B_{12}**.

K **normocytární anemii** dochází v případě, že ke ztrátě krevního barviva došlo tak **rychle**, že na ni nestihla kostní dřeň zareagovat. Typicky to bývá při akutním **krvácení**. **Ztráty krve** jsou obecně spjaty se **ztrátou železa**. V případě, že pacient **chronicky krvácí**, ale v malém množství, ztrácí železo a výsledkem bude **mikrocytární mikrochromní anemie**. Tyto ztráty bývají časté u pacientů **s nádorovým** onemocněním, chronicky **dialyzovaní**, ale také pacientky se silně probíhající **menstruací**.

Pokud ale pacient **náhle** začal **krvácet** ve větším množství, laboratorně se to projeví **poklesem hemoglobinu**, ale na **velikosti** či **barvě** krvinky se to nijak **neprojeví**.

Co se týče **dynamiky** poklesu hemoglobinu, je dobré vědět, že při **krvácení** odtéká **plná krev**. Takže pacient může mít ztrátu několik litrů krve, ale při vyšetření krve se to nejdříve nijak **neprojeví**. Signifikantní **pokles hemoglobinu** lze zaznamenat až za několik **hodin** až **dnů** po akutním krvácení, protože až teprve v rámci opravných mechanismů dochází k filtraci **vody** do **cév** ve snaze udržet cirkulující objem a tím k **naředění** zbylých erytrocytů.

Další příčinou anemie může být **rozpad erytrocytů**. Tomuto jevu se říká **hemolytická anemie**. Její příčiny mohou být různé. Základním rozdílem je, zda vzniká v důsledku **poruchy** červených **krvinek**, tedy **intrakorpuskulární anemie**, nebo zda příčina, kvůli které se krvinky rozpadají, „plave“ v **plasmě**. V tom případě mluvíme o **extrakorpuskulární anemii**.

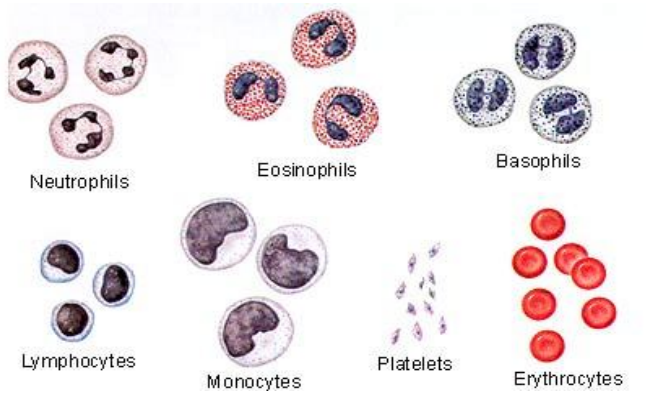
Typickou příčinou **intrakorpuskulární** anemie je nějaká **vrozená** porucha hemoglobinu. Mezi takové se řadí **srpkovitá** anemie a **talasemie**. Nicméně na světě nejčastější příčinou rozpadu krvinek je **malárie** – onemocnění, při kterém plasmodia **parazitují** červené krvinky a ty se synchronizovaně se rozpadají.

Pokud dochází k rozpadu erytrocytů **z extrakorpuskulárních** příčin, znamená to, že v plasmě se nachází nějaký element, který způsobí rozpad červených krvinek. Samotné erytrocyty jsou v tu chvíli zdravé. Typicky k tomu dochází v důsledku přítomnosti **protilátky** proti erytrocytům, což je **autoimunitní** onemocnění známé jako **akutní hemolytická anemie**. Dále k rozpadu erytrocytu může dojít zcela mechanicky v případě, že **narazí** na **sraženiny** – tzv. tromby. Toto je poměrně nespecifický mechanismus, ale je stejně nebezpečný jako ty ostatní. K tomuto jevu dochází sekundárně při srážení trombocytů, a proto se mu budeme věnovat ve stati o krevních destičkách Ze vzácnějších příčin, které mohou vyústit v extrakorporální hemolýzu, bych uvedla otravu hemolytickými **hadími jedy**.

Bílé krvinky

Dalšími elementy krevní plasmy jsou **bílé krvinky** čili **leukocyty**. Jedná se o několik různých typů buněk, které jsou zodpovědné za imunitní reakci. Nebudu se zde složitě rozepisovat o tom, jak funguje imunitní systém, ale ukážu stručně, jak poznat některé patologické stavy. Na první pohled zhodnotíme celkový počet bílých krvinek, tzv. leukocytů. To je velmi orientační hodnocení, ale řekne nám, jestli u pacienta probíhá či neprobíhá nějaká imunitní reakce. Pokud má koncentraci leukocytů v normě, většinou již nemusíme pátrat dál. Ovšem pokud jich je **více** nebo **méně**, je třeba doplnit tzv. **diferenciální rozpočet**. V diferenciálním rozpočtu stanovujeme v rámci **nespecifické imunity neutrofily** zastávají fagocytosu bakterií), **basofily** (produkují například histamin a hrají roli v obraně před parazity, ale i v alergiích), **eozinofily** (fungují při fagocytóze alergenů a také v obraně před parazity) a **monocyty** (z nich vznikají makrofágy, které se fagocytují patogeny ve tkáních). Při vyšetření **specifické imunity** určujeme pouze celkové množství **lymfocytů**, pro jejich další dělení je třeba použít průtokovou cytometrii a ta se rutinně se neprovádí.

Podle toho, jestli najdeme více či méně **leukocytů** a podle jejich vzájemného poměru, můžeme určit, zda se jedná spíše o **bakteriální** či **virový zánět**. Také to může ukazovat na možné **leukemie**, **útlum kostní dřeně** a pod. Ukážu vám, jak se tedy k tomuto ohromnému sloupečku hodnot ve vyšetření postavit.



Obr. 2: Krevní elementy

Počet leukocytů

Nejprve se podívejme, co se děje, když má pacient celkově **příliš mnoho bílých krvinek** – tzv. **leukocytosu**. V takové situaci nejspíš v pacientovi probíhá **zánět**. Samozřejmě, není to pravidlem, při **lymfomech** či **leukemiích** bude mít vysokou hodnotu bílých krvinek také. Nicméně s největší pravděpodobností půjde o nějaký **infekční zánět**. Při **autoimunitních** onemocněních (případ neinfekčních zánětů) totiž bývají leukocyty v **normě**. Při **bakteriálním** onemocnění bývá **vyšší leukocytosa** než při **virovém**, ale opět neplatí to stoprocentně, především viry napadající přímo **imunitní systém** mohou vyvolat výraznou

leukocytosu (EBV, CMV). Při **HIV** je situace trochu odlišná, i když také zde může být při **akutním** retrovirovém syndromu (úplně první fáze infekce HIV) také **leukocytosa**. Nicméně typicky bývá při virových zánětech spíše méně leukocytů – tzv. **leukopenie**. U některých **virů** může být především na začátku onemocnění **leukopenie** dost výrazná, což může **imitovat** i **útlum kostní dřeně**, nicméně v dalším průběhu onemocnění se počet leukocytů dostává k normě. Výrazná **leukopenie** bývá také při užívání některých léků – typicky se jedná o **cytostatika**, ale i další **imunosupresiva** a dokonce i některá **antibiotika**.

Zastoupení jednotlivých typů leukocytů

Nyní se podívejme na změny v **diferenciálním rozpočtu**. Pro **bakteriální** infekce bývá v diferenciálním rozpočtu **převaha neutrofilů**, tzv. **neutrofilie**. Neutrofily jsou nejhojněji zastoupenými buňkami tzv. nespecifické imunity a při zánětu jsou na místě určení první. V případě těžkého zánětu se do oběhu vyplavují i nezralé formy neutrofilů, tzv. tyče. Takovému nálezu se říká tzv. **posun doleva**, tedy směrem k nezralým formám. Znamená to, že již došlo k vyčerpání zralých neutrofilů a kostní dřeň musí vyplavovat nezralé formy. Podotýkám, že toto členění není stoprocentní a je nutné si uvědomit, že ne u každé bakteriální infekce najdeme neutrofilii a u některých **virových** infekcí se neutrofilie vyskytuje zcela typicky – např. u klíšťové meningoencefalitidy.

V případě **virových zánětů** je kromě **leukopenie** typická **lymfocytosa** a **monocytosa (**převaha lymfocytů a monocytů). To je dáno tím, že viry jsou primárně likvidovány **specifickou** imunitou (proto jsou nezbytné lymfocyty; monocyty slouží k produkci makrofágů, které pak pohltí imunitou označený virus). Dost často jsou v periferní krvi přítomné různé lymfoblasty, reaktivní lymfocyty a jiné **podivné formy lymfocytů**, což je způsobené viry, které parazitují přímo v lymfocytech.

Lymfocytosou se projevují také **autoimunitní** onemocnění, které jsou poruchou specifické imunity. Nicméně to nemusí být pravidlem a pouze podle krevního obrazu nelze autoimunitní proces diagnostikovat.

Poněkud stranou stojí **eozinofily** a **bazofily**. Zatímco **bazofilie** nebývá příliš častým jevem, **eozinofilie** se čas od času vyskytuje, **zvýšené** množství **eozinofilů** je charakteristické pro **parazitární** onemocnění. Ale pouze pro tzv. **tkáňové** parazity, nikoliv pro parazity vyskytující se ve **střevech**. Nicméně zatímco v našich podmínkách na tkáňové parazitózy člověk natrefí velmi zřídka, eozinofilie je mezi lidmi velmi rozšířeným jevem. Kromě tkáňových parazitóz se totiž také vyskytuje při **alergických reakcích**.

Krevní destičky

Dalšími „buňkami“ v krevním obraze jsou **trombocyty** neboli **krevní destičky**. Nejedná se přímo o buňky jako takové, ale o **odtržené** povrchové **fragmenty** z velké buňky v kostní dřeni zvané **megakaryocyt**. Po odtržení si krevní destička zachovává **plochý** tvar až do chvíle, kdy se tzv. **aktivuje**. K **aktivaci destičky** dochází pomocí proteinu **koagulační faktor VIII**, díky kterému změní svůj tvar, **zaoblí** se a začne se **lepit**. Takto aktivované destičky se začínají **shlukovat** a vychytávat ve **fibrinové** síti, až dojde k **zalepení defektu** v cévní stěně, díky čemuž dojde k **zastavení krvácení**.

Samozřejmě, existují i **patologie** tohoto procesu. Pokud je destiček v krevním oběhu příliš **mnoho**, tomuto jevu se říká **trombocytóza**, může dojít ke **spontánní aktivaci** destiček a následnému vzniku **trombosy,** tedy vzniku samovolné sraženiny v cévním řečišti. V případě **uvolnění trombu** a jeho následnému **vmetení** do dalších částí krevního řečiště hovoříme o tzv. **embolii**.

Nejčastěji dochází ke vzniku trombosy v **dolních končetinách** nebo pánvi a následné embolii do **plicního** oběhu. Nejčastěji se tak děje v důsledku **imobility** a současně probíhajícího **zánětu**, v důsledku kterého dochází k trombocytóze a poškození cévní stěny. Samozřejmě k trombose může dojít i na jiném místě, typicky při trombose vznikající na větvení **karotid** (krkavic) a následnému vmetení do **mozku**. Velmi často dochází také k rozvoji trombosy v **srdci** při fibrilaci síní nebo při infekční endokarditidě – zánětu nitroblány srdeční, typicky lokalizovaném na chlopních. Místo embolizace potom závisí na tom, kde přesně trombosa byla. Pokud v levém srdci, velmi často je místem embolizace mozek, játra, slezina a ledviny. Pokud v pravém srdci, dochází ke vmetení do plic.

DIC

K tvorbě trombů patologicky dochází při tzv. **DIC** – diseminované intravaskulární koagulopatii, při které dojde k **rychlému sražení** srážecích faktorů (to jsou krevní destičky a řada pomocných krevních bílkovin, důvod sražení probereme později) a **následnému rozpuštění** vzniklé sraženiny v důsledku negativní zpětné vazby srážecích mechanismů. K tomuto procesu dochází **najednou** v **celém krevním řečišti**. Ale nepředstavujte si to tak, že se srazí krev, jako když ji necháte ustát ve zkumavce. Dojde k tomu, že v celém krevním řečišti dojde ke vzniku **droboučkých mikrotrombů**, které jednak ucpou a poškodí drobné kapiláry, a mimo to způsobí i mechanické rozbití erytrocytů. Zároveň se **srážením** se vždy rozjíždí i **protisrážecí** kaskáda (výše zmíněná negativní zpětná vazba), která v tomto případě mikrotromby rozpustí, ale protože je protisrážlivých faktorů víc, než těch srážlivých, výsledkem je místo krve nesrážlivá červená voda, která se začne vylévat z kapilár poškozených mikrotromby. V této situaci nastane i tzv. **konzumpční koagulopatie**, tedy **spotřebování** všech srážecích faktorů v krvi, která zcela **ztrácí srážecí schopnosti**. Asi tušíte, proč se jevu DIC v hematologickém slangu říká „*death is coming“* - pacient zpravidla umírá na akutní vykrvácení…

Důvodů, proč k **DIC** může dojít je celá řada – často to bývají **septické šoky**, především bakterií majících afinitu k cévnímu **endotelu** (meningokok, *Yersinia pestis* – původce moru, *Rickettsia* – původce skvrnitého tyfu, horečky skalistých hor a dalších hemoragických horeček) dále **viry** zodpovědné za **krvácivé horečky** – ebola, lassa, marburg, žlutá zimnice, západonilská horečka atd. Dále to mohou ale být i naprosto **neinfekční** stavy jako akutní **pankreatitida**, tedy zánět slinivky břišní způsobený obstrukcí (ucpáním) vývodu a následnému natrávení slinivky vlastními enzymy. Zcela typicky se vyskytuje u gynekologických komplikací **porodu**, kdy dochází k tzv. embolizaci plodové vody přes porušenou dělohu. Dále se vyskytuje u masivního poškození endotelu velkých cév, tedy u tzv. **disekcí**, nejčastěji aorty. **Disekce** je proces, při

kterém se **rozpáře** vnitřní vrstva aorty a krev proudí místo řádným lumen v tzv. paradoxním lumen (aotra je tvořena větším počtem vrstev, proto se krev nedostane ihned mimo cévu). Pokud se krev provalí endotelem zpět do cévy, ještě je šance, že se pacienta podaří zachránit. Pokud dojde k provalení krevního proudu dalšími vrstvami ven z cévy, pacient velmi záhy umírá. K dalším příčinám DIC patří např. rozsáhlé **popáleniny**, krvácení ze **žaludečních vředů** apod.

Obr. 3: Pacient s DIC

Podstata zánětlivé reakce

To, co tyto stavy spojuje je průběh tzv. **SIRS**. Jedná se o zkratku: *severe inflamatory response syndrome* – **syndrom těžké zánětlivé reakce**. K zánětu totiž nemusí docházet pouze díky infekci. **Zánět** je **nespecifická reakce** organismu na **poškození tkání**. Reakce může být buď **lokalizovaná** pouze na místo poškození, nebo může probíhat v rámci **celého organismu**. Při zánětu se aktivují nejdříve **neutrofily** v okolí, které **migrují** na místo zánětu mimo cévy. Zde dojde k jejich **degranulaci**, tedy vylití nejrůznějších **zánětlivých mediátorů** mimo neutrofil, který tímto splnil funkci a **umírá**. Klinicky všichni víme, jak vypadají **mrtvé neutrofily** – je to dobře známý **hnis**. Zánětlivým mediátorem je nejčastěji **peroxid vodíku**, ale také **oxid dusný**, který **roztahuje cévy** a umožňuje další **migrace neutrofilů** a dalších buněk zánětu, kterými jsou **makrofágy**. Ty jsou **přitahovány** právě výše zmíněnými **zánětlivými mediátory**, což jsou v tomto případě signální peptidy **cytokiny**, ale i třeba naše známé **CPR**. **Makrofágy** migrující mimo cévy vyplavují další **mediátory**, provádí **fagocytosu** cizorodých látek, ale již **neumírají**. Pomocí jejich mediátorů jsou do zánětu přitahovány **lymfocyty**, které určují, zda bude reakce **specifické imunity buněčná** nebo **protilátková**. Zároveň, jak již bylo řečeno, dochází k **rozšíření cév** a změně vlastností **endotelu** (vnitřní výstelky cév). Díky tomu se aktivuje **koagulační kaskáda** (zprostředkovávají srážecí faktory) a **krevní destičky**, což má za cíl vytvořit **fibrinové pouzdro**, které zánětlivé ložisko **ohraničí** v místě, kde k **zánětu** dochází.

Problémem je, pokud je poškozující noxa (škodlivina) příliš **intenzivní** nebo příliš **rozsáhlá** a nedaří se ji ohraničit. Zánětlivá reakce se potom rozšíří na **celé tělo**. Když si představíte všechny tyto procesy bez jakéhokoli ohraničení, asi tušíte, že to nemůže dobře dopadnout. Dojde k tomu, že se **rozšíří všechny cévy** v těle, díky čemuž se **tekutina vylije** mimo cévy, což povede k hypovolemickému, přesněji **anafylaktickému**, **šoku**. Zároveň se aktivuje koagulační kaskáda, která při neohraničeném působení povede právě k **DIC**.

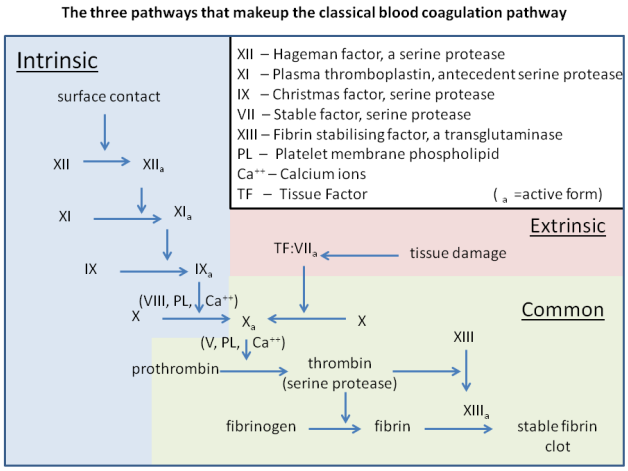
Produkty metabolismu povedou k **ucpání** a následnému **selhání ledvin** a vychytané mediátory zánětu rozvinou **selhání plic**. A tomuto stavu se říká **SIRS**. Možná ještě narazíte na termín **MODS** – *multiorgan dysfunction syndrom* – **syndrom multiorgánového selhání**, což je vlastně **důsledek** SIRS. Abyste věděli, kam si na tomto schématu zařadit **sepsi**, česky zvanou také **otravu krve**, tak se jedná v podstatě o **infikovaný** SIRS.

Ještě rozlišujeme **sepsi**, **těžkou sepsi** a **septický šok**. **Sepse** je dle nejnovější definice stav, při kterém je přítomna **hypotense** (nízký krevní tlak) a vysoká hodnota **laktátu** coby produktu **anaerobního** metabolismu. Dříve se ještě přidávala hodnota leukocytosy nebo leukopenie, teplota nad 38° C, nebo pod 36°C, srdeční frekvence nad 90 tepů za minutu a dechová frekvence nad 20 dechů za minutu. V případě **těžké sepse** je přítomno navíc **selhání** některého **orgánu** (infikovaný MODS). V případě **septického šoku** je přítomna **hypotense**, který nereaguje na podání **velkého** množství **infusních** roztoků v krátké době (2 litry za 2 hodiny).

Hemolytické stavy

Podobný, i když ne tak rychlý proces vzniká v důsledku **trombotické trombocytopenické purpury** (TTP) nebo **hemolyticko-uremického syndromu** (HUS). Při **TTP** vznikají **autoprotilátky** proti vlastním **trombocytům**, v důsledku kterých dochází k tvorbě **trombů** a následné **hemolýze**. Při **HUS** dochází k podobnému jevu, ale příčinou je **toxin**, tzv. schigatoxin, který pochází z **bakterií** *Escherichia coli* nebo *Schigella* sp. Toxin, který se z nich uvolňuje, vede ke **shlukování trombocytů** a následné extrakorpuskulární **hemolýze**. Důvod, proč se označuje hemolyticko – UREMICKÝ, je dán tím, že obecně při hemolýze dochází k produkci velkého množství odpadních látek, které **ucpávají ledvinné kanálky**. Kanálky jsou zároveň zanášeny drobnými tromby, což vede k **selhání ledvin**. Zároveň při hemolýze vzniká velké množství **bilirubinu**, který nestíhají játra zpracovat, což vede k vzestupu tzv. přímého bilirubinu a klinické manifestaci **žloutenky** (ikteru). Dalším příznakem při akutní hemolýze je **selhání plic,** tzv. ALI (*acute lung injury*) nebo ARDS (*acute respiratory distress syndrome*). Dochází k němu proto, že v plicích je **krevní tlak nižší**, než ve velkém oběhu a díky tomu se v plicích **hromadí** masivně uvolňované při hemolýze, které poškozují plicní

parenchym. Ani tvorba a stagnace mikrotrombů v plicní tkáni plicím na zdraví nepřidá. Jedná se o život ohrožující stav, který může pacienta odkázat na **umělou ventilaci**.



Obr. 4: Koagulační kaskáda

Vyšetření koagulačních faktorů

Co se týče koagulačních parametrů, nejčastěji se vyšetřují **INR**, **APTT** a **D-dimery**. **Koagulační kaskáda** je složitý systém interakcí jednotlivých **bílkovin**, které v krevní **plasmě** plavou jako **prekursory**. Systém prekursorů je v lidském těle velmi rozšířený, umožňuje totiž mít připravený arsenál jednotlivých proteinů v pohotovostním režimu a aktivovat je v okamžiku nutnosti prakticky okamžitě. Takže stejně jako s prekursory srážlivých faktorů se setkáváme s prekursory hormonů a enzymů. Podstata aktivace prekurzoru na aktivní protein zpravidla spočívá v jeho štěpení jiným proteinem, který funguje jako proteolytický enzym (proteasa).

Koagulační kaskáda

V případě **koagulační kaskády** dojde k **aktivaci prekursorů** jednotlivých proteinů v okamžiku, kdy je třeba **krev srazit**. **Iniciačním** momentem je **poškození** cévního **endotelu** a odhalení pod ním ležící smáčivé cévní stěny. V tuto chvíli se spouští **dva druhy koagulační kaskády** najednou. Jednak **pomalejší vnitřní (intrinsic) kaskáda**, která je iniciována **faktorem XII** (Hagenmanův faktor) a postupně aktivuje další a další faktory, až se dostane k **faktoru X**. Zde se setkává s produkty pomalejší **vnější (extrinsic) koagulační kaskády**, které jsou aktivovány **spontánně** přes **faktor VII**, pouze **smáčivostí** odhalení cévní stěny. Čísla jednotlivých faktorů nejsou to nejdůležitější v rámci pochopení jednotlivých dějů. Důležité je, že od **faktoru X** (Stuartův-Prowerův faktor) už jdou obě kaskády **společnou** cestou až k **aktivaci protrombinu** na **trombin** (**faktor II**), který přeměňuje **fibrinogen** na **fibrin** (**faktor I**). A **fibrin** funguje jako tkáňové **lepidlo**, které vytvoří **síť**, tzv. primární fibrinovou zátku, do které se **vychytají** aktivované **trombocyty** (destičky aktivované odštěpenou částí **faktoru VIII** – von Wilenbrandovým faktorem). Tím je zajištěna součinnost plasmatických proteinů a destiček, díky čemuž vznikne definitivní trombus.

Zároveň se rozjíždí i **antikoagulační kaskáda**, jejímž cílem je **udržet** srážení krve **lokalizované** na místo postižení cévy.

Poruchy koagulační kaskády

Jak vidíte, jedná se o poměrně složitý systém, který je náchylný na různé zásahy zvnější. Těmito zásahy je myšleno jednak **iontové složení** krevní **plasmy**, protože správná funkce koagulační kaskády závisí na **vápenatých** iontech.

Nicméně daleko častějším důvodem narušení kaskády je **nedostatek vitaminu K**. Vitamin K, neboli **kumarin**, je zásadní pro **syntézu faktorů II**, **VII**, **IX**, **X**. V případě jeho **nedostatku** nemůže správně fungovat **vnější koagulační kaskáda**, která je zodpovědná za **rychlé** sražení krve. Klinicky se to projeví snazší tvorbou **hematomů**, protože nakonec se krev přeci jen nějak srazí **vnitřní kaskádou**. Na poruchu vnější kaskády koagulace nás upozorňuje tzv. **„prodloužení“ INR.** INR (dříve nazývaný jako Quickův test) je mezinárodní normalizovaná hodnota která udává dobu nutnou k vytvoření prvních fimbrinových vláken jako poměr mezi dobou sražení vzorku pacienta a kontroly. K „prodloužení“ INR dochází jednak z **terapeutických** důvodů, kdy pacientům podáváme **léky** na tzv. „ředění krve“ , ale i **spontánně**, a to tehdy, když **játra** pacienta nefungují tak, jak by měla. Potom nejsou schopny syntetických funkcí a tedy ani produkce kvalitních srážlivých faktorů.

Dále může dojít k **postižení vnitřní srážlivé kaskády**. Ta se v laboratoři projeví **prodloužením APTT**. Jedná se o **aktivovaný protrombinový čas** a udává, za jak dlouho se po dodání kaolinu do zkumavky vytvoří fibrinové vlákno. K **prodloužení APTT** může dojít rovněž z **terapeutických** důvodů (tvorba fibrinového vlákna může být blokována například heparinem). APTT může být také prodlouženo při **hemofilii**. Rozlišujeme tři druhy hemofilie: **hemofilie A** je nejčastější, a je dána **genetickou poruchou** syntézy **faktoru VIII**, vzácnější je **hemofilie B**, což je porucha **faktoru IX**, a nejvzácnější je **hemofilie C**, která se vyskytuje u aškenázských židů a je způsobena poruchou **faktoru XI**. Všechno jsou to **recesivní** onemocnění vázaná na **chromosom X**, mnohem častěji se tudíž vyskytují u mužů, kteří mají vždy jen jeden chromosom X.

Posledním markerem, který se velmi (pro mě až nepochopitelně) často měří, jsou **D-dimery**. Jedná se o **degradační produkt fibrinu**, které čistě teoreticky poukazují na to, že byla **aktivována koagulační kaskáda**. Potíž je v tom, že se lékaři velmi často snaží použít D-dimery jako **indikátor trombosy**, tedy patologické krevní sraženiny v cévě, eventuálně vedoucí k embolii. Fibrin je ale marker akutní fáze a to, že je degradován ještě neznamená, že se někde něco srazilo tak, aby to ucpalo cévu. K **aktivaci** koagulační kaskády totiž dochází **vždy**, když dojde k **zánětlivé reakci**. Na druhou stranu, ani **negativní** nález D-dimerů zcela **nevylučuje** trombosu, protože drobné trombosy v dolních částech končetin se laboratorně neprojeví… Jediné, co nám hodnota **D-dimerů** říká, je, že v těle probíhá **nějaký proces,** který **urychluje** metabolismus a tedy i **koagulační kaskádu** a pacient by mohl být potenciálně ohrožený hlubokou žilní trombosou. Stejnou službu nám prokazuje i vysoká hodnota krevních destiček a dále nás informuje i o probíhajícím hojení. Takovému pacientovi, je na místě dát profylaktickou dávku heparinu, aby nedostal v rámci hojivých procesů hlubokou žilní trombosu…

1. Na infekční ambulanci přichází 16letá Vietnamka, která pobývá v ČR osm měsíců. Celkově se necítí špatně, ale má dráždivý kašel, je trochu více unavená, než bývala a v levém nadklíčku má zvětšenou uzlinu. Pacientka se v noci trochu více potí, než obvykle. Horečku, zimnici, třesavku neměla, ale asi měsíc má zvýšenou teplotu. Z laboratorních parametrů má normální počet leukocytů, ale v diferenciálním rozpočtu vysoký počet eozinofilů, lymfocytů a monocytů. CRP má středně zvýšené – 40 mg/l, ale má velmi vysokou sedimentaci 110 mm/hod.
   a) Navrhněte diferenciálně diagnostický postup – jaké diagnosy v případě naší pacientky připadají v úvahu?
   b) Jak byste si své domněnky ověřili?
2. Na infekčním oddělení leží 79letý pacient. Pacient má známý absces vycházející z ledviny, kultivačně prokázaný *Staphylococcus aureus*. Ve vstupní laboratoři měl velmi vysoké zánětlivé parametry – CRP kolem 300 mg/l a výraznou leukocytosu s posunem doleva. V době příchodu na oddělení již měl v abscesu zavedený drén, který odváděl hnisavou tekutinu a zánětlivé parametry s výrazným poklesem – CRP 60 mg/l a leukocyty v normě. Chirurgicky revidovaný dosud nebyl. (To znamená, že měl pouze zavedený drén, nikoliv operaci k odstranění nekrotických zbytků atd.) Nicméně během hospitalizace došlo k lehkému vzestupu CRP z 60 na 77 mg/l a leukocyty zůstaly nízké.
   a) Co si myslíte, že se stalo? Proč došlo k vzestupu CRP?
   b) Bude nutné takovou minimální změnu dále vyšetřovat? Pokud ano, co byste vyšetřili, abyste objasnili příčinu vzestupu zánětlivých parametrů? Nemusíte se v úvahách omezovat pouze na laboratorní metody.
3. V noci byl na infekční oddělení přijat 58letý pacient s totální amnesií (absolutní ztrátou paměti, nepamatoval si ani vlastní jméno), který byl na tramvajové zastávce objeven se zavedenou kanylou do předloktí. Protože byl zcela dezorientovaný, náhodný kolemjdoucí mu zavolal rychlou záchrannou službu, která ho přivezla na interní ambulanci. Zde vyšetřili základní laboratoř bez zobrazovacích metod a zjistili, že má středně závažnou mikrocytární anemii, lehkou leukocytosou středně zvýšené CRP (78 mg/l) a lehce postižená játra. Ostatní laboratoř byla zcela v normě. Pro zmatenost ho odeslali na neurologii, kde mu udělali CT mozku, vyloučili krvácení do mozku a pro „zmatenost při sepsi a vysokou elevaci zánětlivých parametrů“ pacienta odeslali na infekční oddělení. Klinicky měl pacient těžce prohmatné břicho, jinak na něm žádných pozoruhodností neshledali. O šest hodin později již infektolog poctivou detektivní prací zjistil, že pacient byl vyšetřen v jedné menší nemocnici pro pád z druhého patra a že z této nemocnice utekl. Patřičně vyděšen ze zjištěných skutečností rychle nechal dodělat rentgen plic a sonografii břicha, aby vyloučil, že anemie byla způsobena poraněním.
   a) Když odhlédneme od skutečnosti, že pacient spadl z druhého patra a nevěděl ani jak se jmenuje, bylo opravdu nutné se tak vyděsit kvůli zjištěné anemii? Proč ano? Proč ne?
   b) Co myslíte, že bylo pravou příčinou pacientových „vysokých zánětlivých parametrů“? Opravdu se muselo jednat o infekci? (Inspiraci zkuste hledat v jaterních testech a provedené sonografii, která opravdu vyloučila poranění.) Pokuste se o diferenciální diagnostiku – co všechno mohlo pacientovi být…
4. Na infekční oddělení byla přijata 90letá pacientka pro horečku nejasného původu. Ve vstupní laboratoři měla vysokou hodnotu CRP i leukocytosu s posunem doleva. Na rentgenu plic i sono břicha se nepodařilo lokalizaci zánětu zjistit. Byla zahájena antibiotická terapie. Pacientka poté již byla bez teploty, CRP postupně kleslo z hodnoty kolem 250 mg/l na 50 mg/l, ale v krevním obraze trvala vysoká leukocytosa kolem 22 tisíc leukocytů.
   a) Proč v laboratoři kleslo CRP, ale neklesly leukocyty?
   b) Vyšetřovali byste dál tento stav? Zkuste navrhnout další diagnostický postup.
   c) Jak byste naložili s antibiotickou terapií? Pokračovali byste v antibiotikách, nebo byste je v tuto chvíli vysadili? Zdůvodněte.
5. Na infekční oddělení byl přijat 67letý pacient pro akutní průjmové onemocnění. V předchorobí se léčil pouze s vysokým tlakem a cholesterolem. Ve vstupní laboratoři měl vysoké zánětlivé parametry – CRP kolem 400 mg/l, leukocytosu s posunem doleva, dále ledvinnové poškození, močovina v séru kolem 20 mmol/l, kreatinin kolem 300 μmol/l. Kultivačně byla prokázána *Salmonella enteritidis*. I přesto, že se za normálních okolností antibiotická terapie u průjmů nenasazuje, u takového pacienta byl nasazen Ciprofloxacin. Zároveň byla zahájena infusní terapie (během 24 hodin bylo podáno 5 litrů tekutin). I přes tuto terapii se v dalším průběhu zhoršoval stav vědomí, pacient byl zmatený, dezorientovaný a utíkal z postele. Zároveň došlo k poklesu tlaku, který i přes navýšení přívodu infusní terapie nereagoval. V laboratoři se zhoršovaly ledvinné funkce – močovina vystoupala na hodnotu 38 mmol/l a kreatinin na 750 μmol/l. V krevním obraze se objevila normocytární anemie a spontánně prodloužené koagulační parametry – INR a APTT. I přes podávání vitaminu K a hemostyptik došlo k masivnímu krvácení z trávicího a vylučovacího traktu. Nakonec bylo voláno ARO, pacient byl připojen na umělou plicní ventilaci, byla provedena dialýza, podána čerstvě mražená plasma a bylo pokračováno v antibiotické terapii. Nakonec se stav ještě zkomplikoval akutním infarktem myokardu, nicméně pacient nakonec přežil.
   a) Jaká je základní diagnosa našeho pacienta – proč se dostal na infekční oddělení?
   b) Proč začal masivně krvácet?
   c) Proč mu selhaly ledviny a plíce? Jak tento stav nazýváme?

✿