

PŮVODNÁ PRÁCA

**VLIV OLOMOUCINU A ROSKOVITINU NA PROLIFERAČNÍ
AKTIVITU LIDSKÝCH DIPLOIDNÍCH FIBROBLASTŮ
Z NEZÁNĚTLIVÉ A ZE ZÁNĚTLIVÉ TKÁNĚ
A CHONDROCYTŮ Z OSTEOARTROTICKÉ CHRUPAVKY**

J. ŠTOVÍČKOVÁ, M. HAVRANOVÁ¹

**THE EFFECT OF OLOMOUCINE AND ROSCOVITINE ON
PROLIFERATION ACTIVITY OF HUMAN DIPLOID
FIBROBLASTS FROM NON-INFLAMED AND INFLAMED
TISSUE AND CHONDROCYTES FROM OSTEOARTHRITIC
CARTILAGE**

Revmatologický ústav, Praha

Ředitel: doc. MUDr. K. Pavelka, CSc.

¹Imumed, s.r.o., Praha

Souhrn

Cíl: Popsat vliv olomoucínu a roskovitínu, nových silných inhibitorů p34 cdc2/cyklin B kinázy, na schopnost proliferace u normálních diploidních fibroblastů a u buněk ze zánětlivé synovie a z osteoartrotické chrupavky.

Metody: Proliferační aktivita byla stanovována nepřímo metodou štěpení 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2-5-difenyltetrazolium bromidu (MTT). Vliv inhibitorů na průběh buněčného cyklu byl sledován průtokovou cytometrií.

Výsledky: Olomoucín a roskovitín snižují proliferační aktivitu fibroblastů jak ze zdravé tkáně, v tomto případě z lidských embryonálních plic (LEP), tak ze zánětlivé synovie a chondrocytů z osteoartrotické chrupavky. Buňky ze zánětlivé synovie nebo z osteoartrotické chrupavky byly poněkud citlivější. IC₅₀ pro LEPy byla 70±14 μmol/L u olomoucínu a 14±2,8 μmol/L u roskovitínu. Pro buňky ze zánětlivé synovie nebo osteoartrotické chrupavky to bylo 56±14 μmol/L u olomoucínu a 11,2±2,8 μmol/L u roskovitínu.

Summary

Goal: To describe the effect of olomoucine and roscovitine, the potent inhibitors of p34 cdc2/cyclin B kinase, on proliferation capability of normal human diploid fibroblasts and on cells from inflamed synovium or osteoarthritic cartilage.

Methods: The proliferation capability was measured by means of splitting of 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2-5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). The influence of both inhibitors on cell cycle processing was followed by flow cytometry.

Results: Olomoucine and roscovitine down-regulate proliferation capability of fibroblasts from healthy tissue, in this case from human embryonic lung, as well as fibroblasts from inflamed synovium or chondrocytes from osteoarthritic cartilage. The cells from the inflamed or erosive tissue were slightly more sensitive than lung fibroblasts. IC₅₀ was 70±14 μmol/L for olomoucine and 14±2.8 μmol/L for roscovitine in the case of lung fibroblasts and 56±14 μmol/L for olomoucine and 11.2±2.8 μmol/L for roscovitine in the case of synovial cells or

Olomoucín i roskovitín zpomalují buněčný cyklus proliferujících buněk tím, že brzdí nástup do S fáze. Buněčný cyklus však úplně nezastavují. Při koncentraci odpovídající IC_{50} nenavozují apoptotické změny v buňkách. U buněk neproliferujících nemají na metabolickou aktivitu buněk prakticky žádný vliv.

Závěr: Olomoucín a roskovitín v buňkách normálně proliferujících i v buňkách proliferujících pod vlivem vnějších faktorů pravděpodobně navozují stav podobný stárnutí. Domníváme se tudíž, že to jsou látky vhodné pro rozšíření spektra cytostatik používaných v revmatologii, a to zejména pro jejich nízkou toxicitu vzhledem k neproliferujícím buňkám.

Klíčová slova: olomoucín, roskovitín, buněčný cyklus, inhibice proliferace.

chondrocytes. Olomoucine and roscovitine slowed down the cell cycle progression by delaying entry to the S phase. Nevertheless they do not stop the cell cycle entirely. At the IC_{50} concentrations they do not seem to elicit apoptotic changes in the cells. On the nonproliferating cells neither olomoucine nor roscovitine had measurable effect.

Conclusion: Olomoucine and roscovitine seem to evoke the state similar to cell senescence in the normally proliferating cells as well as in the cells proliferating under external stimuli. We assume consequently that both of these substances are convenient for widening of the spectrum of cytostatics used in rheumatology, namely for their low toxicity to the nonproliferating cells.

Key words: olomoucine, roscovitine, cell cycle, inhibition of proliferation.

ÚVOD

Olomoucín, 2-(2-hydroxyethylamino)-6-benzylamino-9-methylpurin (1), a roskovitín, 2(R)-[1-hydroxymethyl]propylamino-6-benzylamino-9-methylpurin (2), jsou silné a vysoce selektivní kompetitivní inhibitory cyklin-dependentních kináz p34 cdc2/cyklin B, p33 cdk2/cyklin A, p33 cdk2/cyklin E a mozkové p33 cdk5/p35 (3, 4). Tyto kinázy regulují průběh buněčného dělení. Olomoucín a roskovitín soutěží o vazebné místo pro ATP (5, 6). Funkce těchto kináz nebo funkce jejich regulátorů bývá změněna v tumorových buňkách takže buněčná proliferace se vymkne správné kontrole. Olomoucín a roskovitín zadržují buňky v G1 a v G2 fázi a mají tudíž silný antiproliferační účinek (3, 4). Průměrná hodnota IC_{50} pro různé nádorové buněčné linie je 60,3 $\mu\text{mol/L}$ pro olomoucín a 16 $\mu\text{mol/L}$ pro roskovitín (4). Antitumorový účinek olomoucínu byl prokázán také in vivo na spontánním melanomu orofaciální oblasti u psa (7). Olomoucín byl podáván intravenózně 7 dní po sobě v dávce 8 mg/kg/den. Opakované biopsie prokázaly, že již po třech dnech došlo k indukci apoptózy u nádorových buněk v metastatické krční uzlině. Laboratorní vyšetření neprokázalo žádné nežádoucí účinky této terapie. Indukce apoptózy vedla k eradikaci 68 % nádoru. Účinek olomoucínu a roskovitínu byl popsán u mnoha linií tumorových buněk a dělicích se oocytů, avšak dosud nebyla popsána studie na normálních somatických buňkách. Účelem této studie je popsat vliv obou inhibitorů na normálně proliferující buňky pojivové tkáně a na buňky ze zánětlivé nebo degenerující tkáně.

METODY

Buněčné kultury

Lidské embryonální plicní fibroblasty (LEP), produkt firmy Sevak, (19. pasáž) byly kultivovány do konfluence při 37 °C v mediu DMEM/F12 firmy Sigma s přidavkem 5 % hovězího fetálního séra a 80 mg gentamycinu K/L media ve vlhké atmosféře syčené CO_2 na 5 %. Potom bylo medium odsáto a buňky uvolněny 0,2 % trypsinem, promyty mediem s 10 % fetálním sérem a převedeny do media s 5 %

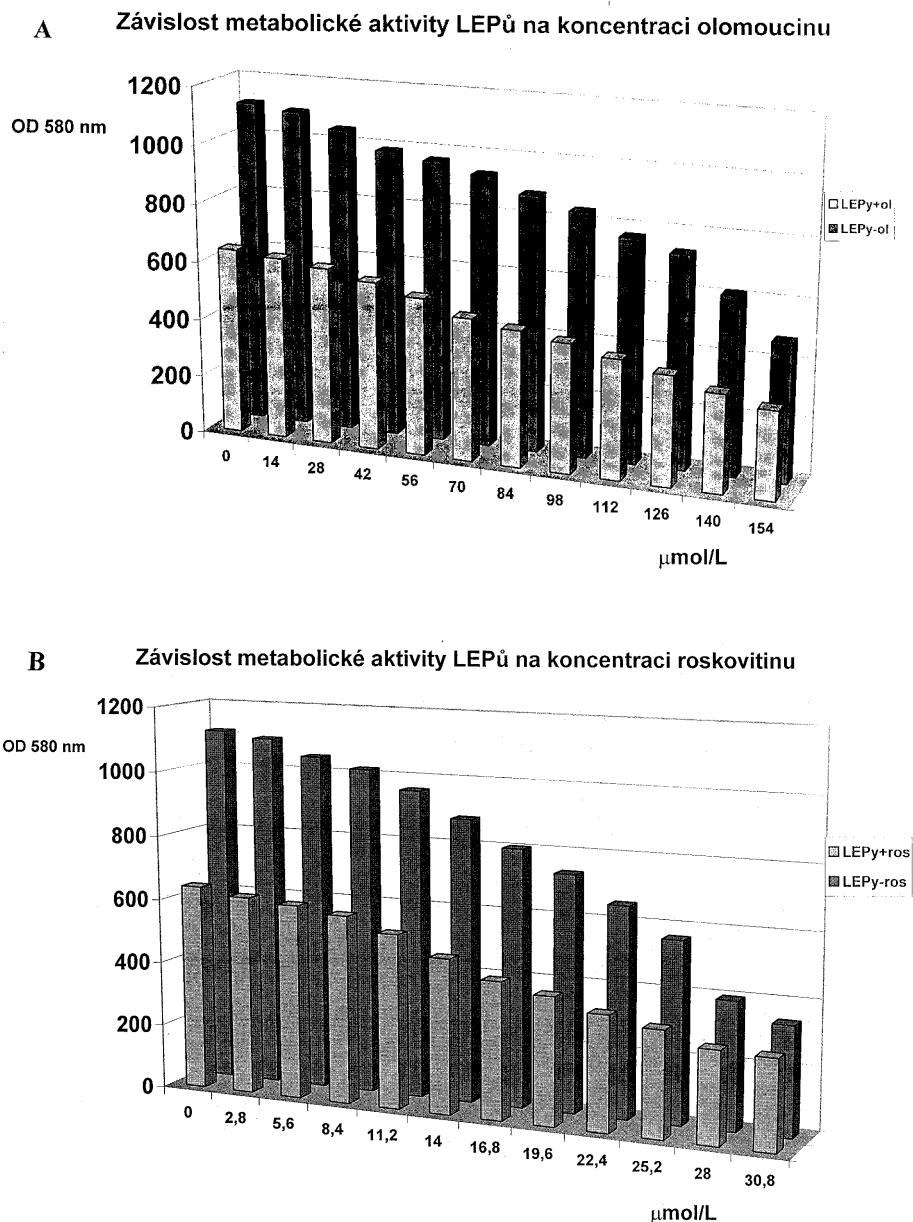
sérem. Hustota buněk byla nastavena na $2 \times 10^5/\text{mL}$ a buněčná suspenze byla rozpipetována do zkumavek s přidavkem olomoucínu nebo roskovitínu rozpuštěných v dimethylsulfoxidu (DMSO). Konečná koncentrace DMSO v kultivačních mediích byla 0,2 %. Buněčné suspenze byly pak rozpipetovány po 100 μL do 96 jamkových kultivačních destiček, každá koncentrace inhibitoru do 8 jamek ve dvou paralelních destičkách. Po 66 hodinách kultivace bylo do jedné destičky přidáno po 10 μL (5 mg/mL) 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-difenyltetrazolium bromidu (MTT) do každé jamky pro stanovení aktivity mitochondriální dehydrogenázy. Z paralelní destičky bylo odebráno medium po 72 hodinách a nahrazeno čerstvým bez inhibitoru. Po dalších 66 hodinách bylo opět přidáno MTT pro stanovení metabolické aktivity.

Lidské synoviální buňky byly získávány z revmatoidní nebo osteoartrótické synovie. Tkáň byla zbavena tuku a rozstříhána na cca 1 mm^3 kousky a promyta PBS s gentamycinem. Potom byla 15 min digerována hyaluronidázou Sevak (obsah 1 ampule o 168 turbidimetrických jednotkách (TRU) byl rozpuštěn ve 2 mL PBS a aplikován na promytou tkáň). Po digesci byla tkáň promyta PBS s gentamycinem a digerována 4 h v 0,2 % roztoku kolostriální kolagenázy Sevak v mediu s 5 % sérem. Uvolněné buňky byly promyty mediem a hustota byla nastavena na $5 \times 10^5/\text{mL}$. Další postup byl shodný jako u plicních fibroblastů.

Lidské chondrocyty byly získávány z osteoartrótické chrupavky. Chrupavka byla rozkrájena na lupínky cca 3 mm^2 , 3x promyta PBS s gentamycinem a digerována 1 h při 37 °C v 0,8 % roztoku klostridiální kolagenázy v mediu s 5 % séra. Po 1 h byl roztok koagenázy zředěn mediem na 0,4 % a chrupavka digerována přes noc. Uvolněné chondrocyty byly promyty mediem a dále zpracovány jako plicní fibroblasty.

Stanovení proliferační aktivity

Zkoumané buněčné kultury byly testovány v 96 jamkových mikrokultivačních destičkách. Šest hodin před koncem kultivace byl přidán roztok MTT (5 mg/mL) tak, aby výsledná koncentrace v kultuře byla 0,5 mg/mL. Živé buňky dehydrogenační reakcí štěpily tetrazoliový kruh, přičemž



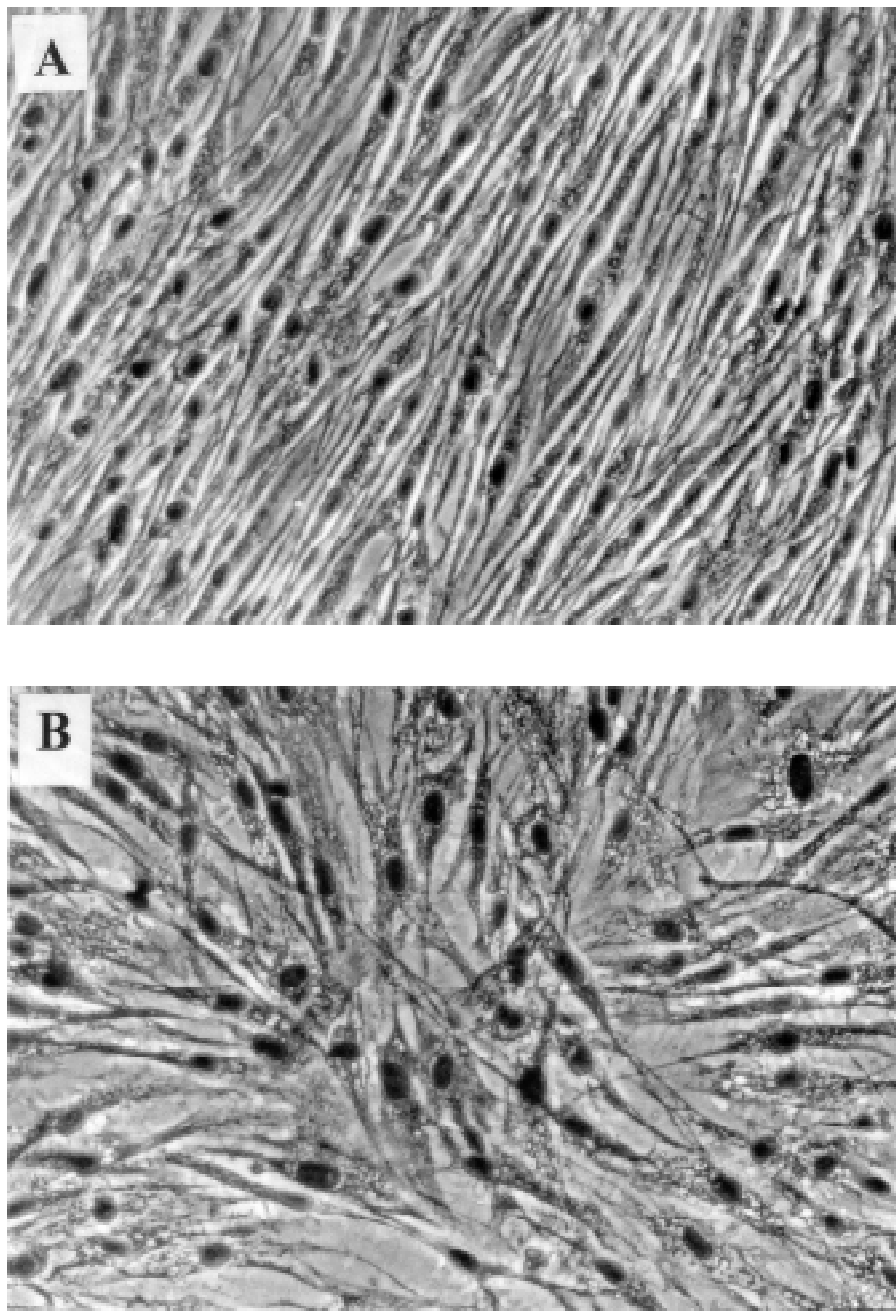
Obr. 1A a B. Závislost metabolické aktivity plicních fibroblastů na koncentraci olomoucínu a roskovitinu. Světlé sloupce ukazují metabolickou aktivitu buněk kultivovaných 72 hodin v přítomnosti indikovaných koncentrací inhibitorů; tmavé sloupce ukazují metabolickou aktivitu buněk kultivovaných 72 hodin v přítomnosti inhibitorů a následně dalších 72 hodin v mediu bez inhibitorů.

Fig. 1A and B. The dependence of metabolic activity of lung fibroblasts on concentration of olomoucine and roscovitine respectively. The light bars represent metabolic activity of cells cultivated 72 hours in the presence of indicated concentrations of respective inhibitor; the dark bars represent the metabolic activity of cells cultivated 72 hours in the presence of inhibitor and consequently further 72 hours in the presence of fresh medium without inhibitor.

se tvořily nerozpustné formazanové krystaly. Ty byly po odsátí media rozpuštěny přidáním 100 μ L 10 % dodecyl-sulfátu sodného (SDS). Absorbance byla měřena při 580 nm na čtečce mikrotitračních destiček. Tato metoda byla vyvinuta jako alternativa inkorporace ^3H thymidinu.

Průtoková cytometrie

Cytometrická měření byla prováděna na cytometru EPICS XL fy Coulter. Excitace probíhá při 488 nm, emise je měřena při 620 nm. Buňky byly fixovány 5 minut 0,4 % paraformaldehydem, permeabilizovány 0,2 % Twe-

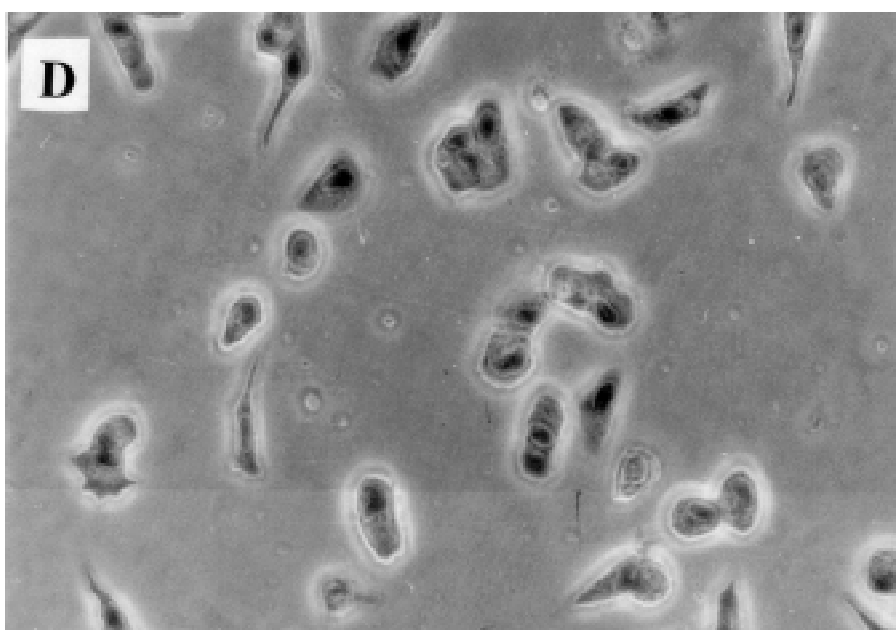
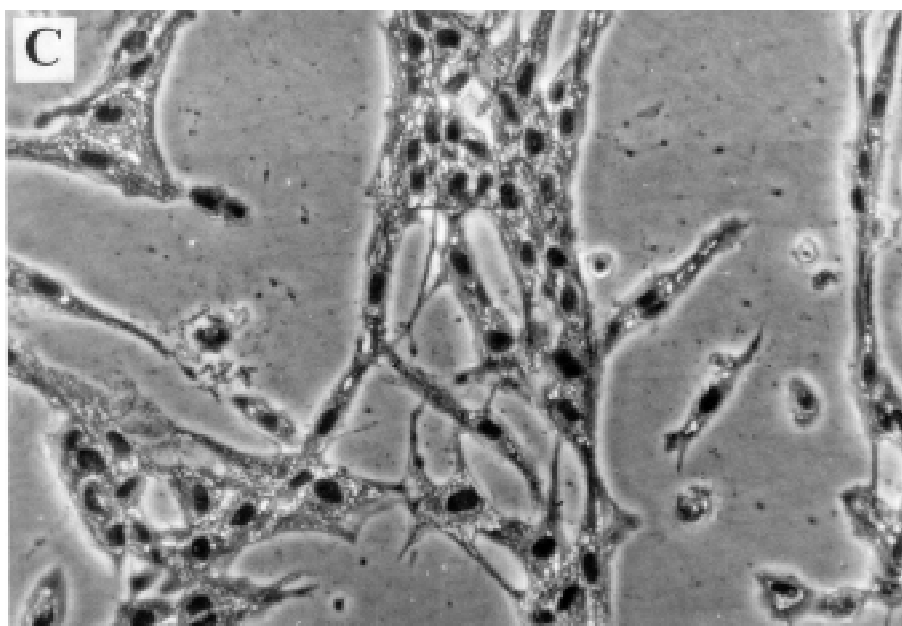


Obr. 2A až D. Vliv roskovitinu na fyziologický stav plicních fibroblastů. Buňky byly kultivovány 72 hodin v přítomnosti A: 0; B: 14; C: 22,4 a D: 30,8 $\mu\text{mol/L}$ roskovitinu a poté barveny dvoustupňovým barvením podle May-Romanowského a Giemse-Grünwalda. Zvětšení 250krát.

Fig. 2A to D. The influence of roscovitine on the state of lung fibroblasts. The cells were cultivated 72 hours in the presence of A: 0; B: 14; C: 22.4; and D: 30.8 $\mu\text{mol/L}$ of roscovitine. After that period the cells were stained by two-step staining according to May-Romanowski and then Giemsa-Grünwald. The magnification x250.

enem a barveny přes noc propidium jodidem v přítomnosti RNázy A při 4 °C. Výběr buněk pro měření byl prováděn podle přímého rozptylu světla a fluorescence propidium jodidu (vyberou se všechny označené neag-

regované buňky). Byl měřen obsah DNA v závislosti na počtu buněk. Rozdělení buněk do buněčných fází G_0/G_1 , S a G_2/M bylo provedeno počítačovým programem Multicycle fy Phoenix.



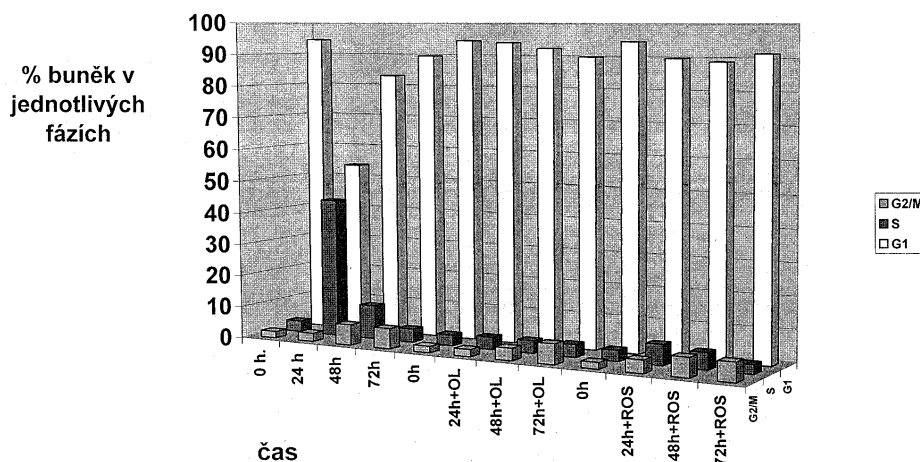
VÝSLEDKY

Bylo zpracováno 10 kultur LEPů 5 kultur lidských synoviálních buněk z RA synovie, 2 kultury lidských chondrocytů z OA chrupavky a 1 kultura synoviálních buněk z OA synovie. LEPy byly používány mezi 20. až 25. pasáží, buňky ze synovií a chrupavek okamžitě po uvolnění z tkání. Věk pacientů byl 70 ± 3 roky.

V kulturách proliferujících plicních fibroblastů, které byly vybrány jako přirozeně proliferující buňky pojivové tkáně, olomoucín v koncentračním rozmezí 0–154 $\mu\text{mol/L}$, s inkremen-

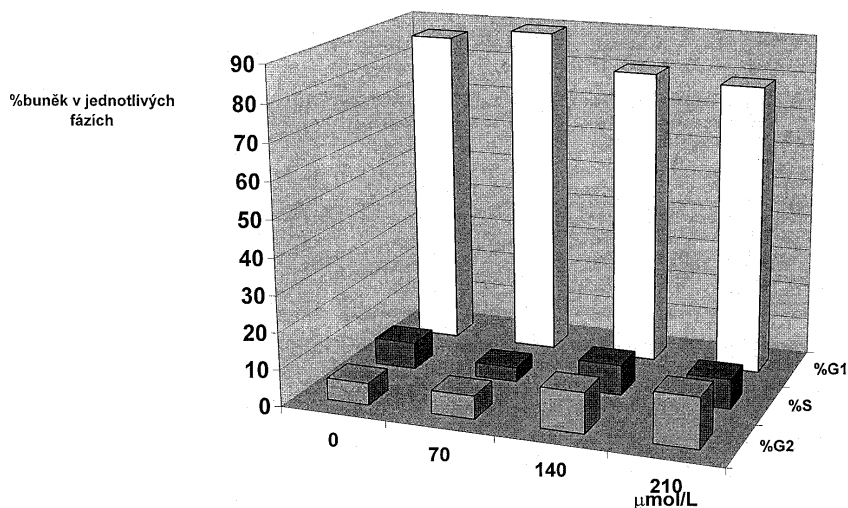
tem 14 $\mu\text{mol/L}$ a roskovitin v koncentračním rozmezí 0–30,8 $\mu\text{mol/L}$, s inkrementem 2,8 $\mu\text{mol/L}$ plynule snižovaly proliferční aktivitu. Uvedené koncentrace byly zvoleny jakožto násobky K_i pro p34 cdc2/cyklin B kinázu. Až do koncentrace 126 $\mu\text{mol/L}$ u olomoucínu a 25,2 $\mu\text{mol/L}$ u roskovitinu si buňky udržely schopnost proliferace, to jest po odstranění inhibitorů z media proliferovaly na stejné úrovni zdvojení jako kontrolní kultura. IC_{50} pro olomoucín byla 70 ± 14 $\mu\text{mol/L}$ (obr. 1A) a pro roskovitin $14 \pm 2,8$ $\mu\text{mol/L}$ (obr. 1B).

Vlivem obou inhibitorů buňky měnily tvar a počet jak ukazuje obrázek 2. Do koncentrace 84 $\mu\text{mol/L}$ u olomou-



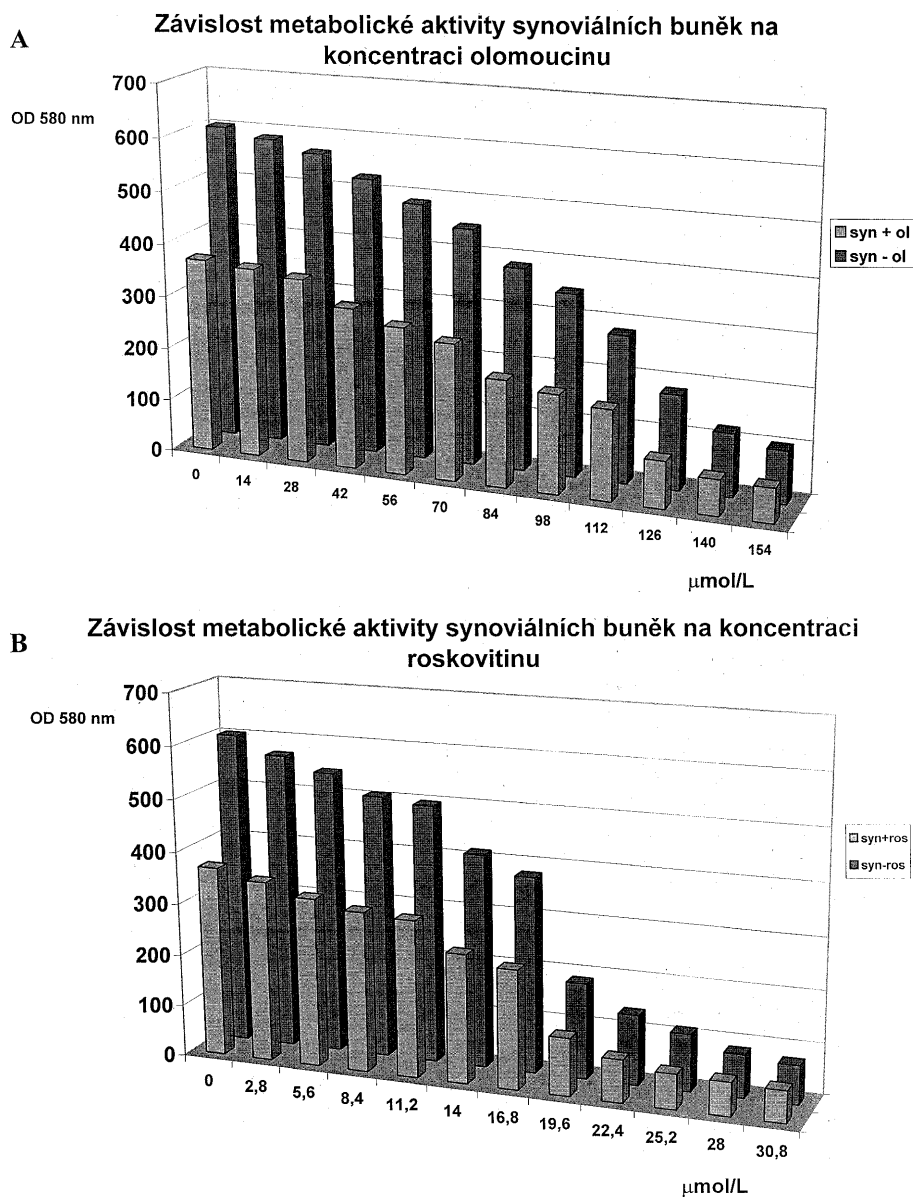
Obr. 3. Vliv olomouciny a roscovitiny na průběh buněčného cyklu plicních fibroblastů. Buňky byly kultivovány do konfluence v mediu s 5 % fetálním telecím sérem, dále 24 hodin v mediu s 0,1 % fetálním sérem a potom převedeny do media s 5 % sérem a 70 $\mu\text{mol/L}$ olomouciny nebo 14 $\mu\text{mol/L}$ roscovitiny a kultivovány 24, 48 a 72 hodin. Rozdělení buněk do jednotlivých fází buněčného cyklu bylo stanoveno cytometricky.

Fig. 3. The influence of olomoucine and roscovitine on the cell cycle progression of lung fibroblasts. The cells were grown to the confluence in the medium with 5 % of fetal calf serum and then starved 24 hours in the presence of the medium with 0.1 % of calf serum. The cells were then harvested and transferred to the medium with 5 % fetal calf serum alone or 5 % serum and 70 $\mu\text{mol/L}$ of olomoucine or 5 % serum and 14 $\mu\text{mol/L}$ of roscovitine. The cells were grown further 24, 48 or 72 hours respectively. Afterwards the cells were harvested and their distribution to the individual cell cycle phases was followed by flow cytometry.



Obr. 4. Vliv koncentrace olomouciny na rozdělení plicních fibroblastů do fází buněčného cyklu. Buňky byly uvedeny do G_1 fáze, jak je popsáno u obrázku 3, a převedeny do media s 5 % séra a s indikovanými koncentracemi olomouciny. Po 72hodinové kultivaci bylo cytometricky stanovováno rozdělení buněk do fází buněčného cyklu.

Fig. 4. The influence of the concentration of olomoucine on distribution of lung fibroblasts to the individual cell cycle phases. The cells were prepared as described in the Figure 3 and then cultivated 72 hours in the medium with 5 % of fetal calf serum and indicated concentrations of olomoucine. The distribution to the individual phases was followed by flow cytometry.



Obr. 5A a B. Vliv olomoucínu a roskovitínu na metabolickou aktivitu buněk ze zánětlivé synovie. Synoviální buňky byly kultivovány 72 hodin v přítomnosti indikovaných koncentrací inhibitorů a dalších 72 hodin v přítomnosti čerstvého media bez inhibitorů.

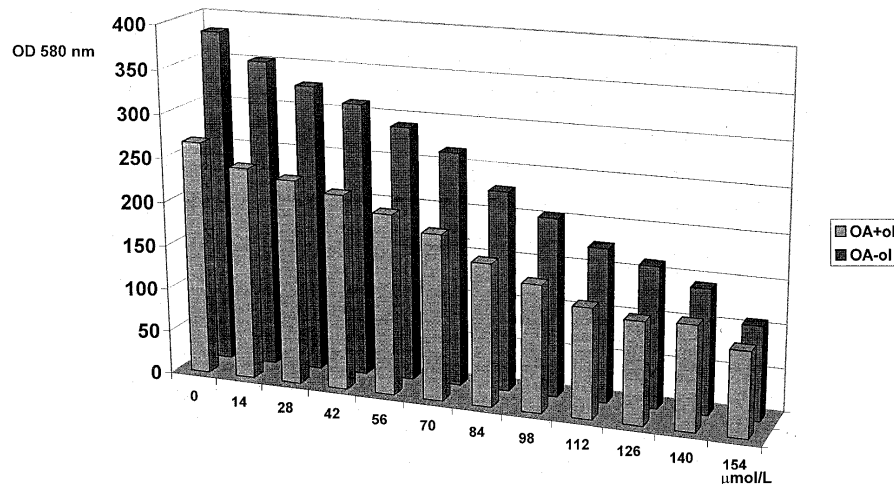
Fig. 5A and B. The influence of olomoucine and roscovitine on metabolic activity of cells from rheumatoid synovium. The cells were freed from synovium and cultivated 72 hours in the presence of indicated concentrations of respective inhibitor and consequently another 72 hours in the presence of medium without inhibitor.

cinu a 16,8 µmol/L u roskovitínu se tvar buněk prakticky nezměnil. Od koncentrace 98 µmol/L pro olomoucín a 19,6 µmol/L pro roskovitín se buňky začaly shlukovat, postupně mizely buněčné stěny a buňky se stávaly mnohojadernými útvary. Při koncentracích 154 µmol/L pro olomoucín a 28—30,8 µmol/L pro roskovitín se buňky opět oddělovaly a cytoplazma se koncentrovala kolem jádra, některá jádra byla desintegrovaná. Zároveň klesla schopnost proliferace (obr. 2A—D).

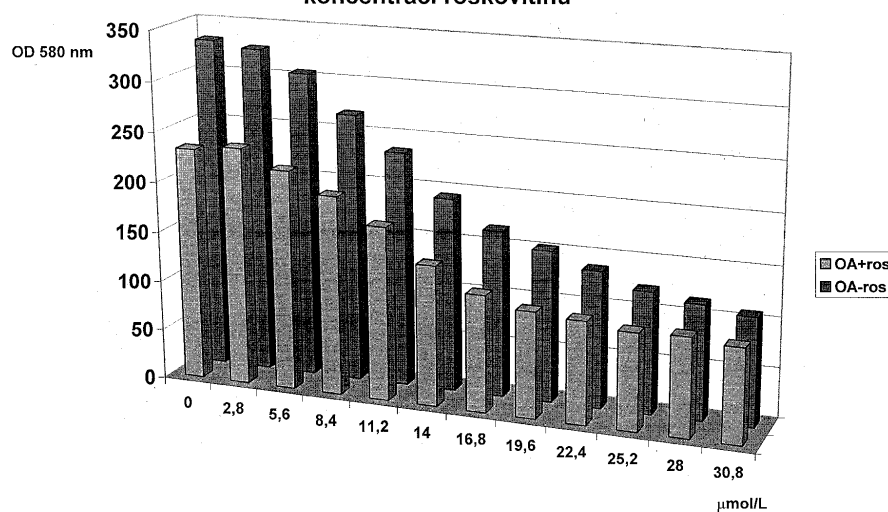
Dále byl sledován vliv olomoucínu a roskovitínu na buněčný cyklus. Olomoucín v koncentraci 70 µmol/L a roskovitín v koncentraci 14 µmol/L zpožďují nástup S fáze buněčného cyklu, avšak nezadržují buňky v G_2 fázi. V těchto koncentracích olomoucín ani roskovitín neindukovaly vznik apoptózy, tj. nebyla zaznamenána propidium jodidem označená DNA mimo oblast G_1 , S nebo G_2 (obr. 3).

Významnější kumulace buněk v G_2 fázi byla pozorována až při koncentraci 140 µmol/L olomoucínu (obr. 4).

A Závislost metabolické aktivity chondrocytů z OA chrupavky na koncentraci olomoucínu



B Závislost metabolické aktivity chondrocytů z OA chrupavky na koncentraci roskovitinu



Obr. 6A a B. Vliv olomoucínu a roskovitinu na metabolickou aktivitu chondrocytů z osteoartrické chrupavky. Chondrocyty byly kultivovány 72 hodin v přítomnosti indikovaných koncentrací inhibitorů a následně 72 hodin v čerstvém mediu bez inhibitorů.

Fig. 6A and B. The influence of olomoucine and roscovitine on metabolic activity of chondrocytes from osteoarthritic cartilage. The chondrocytes were freed from the cartilage and cultivated 72 hours in the presence of indicated concentrations of respective inhibitor and consequently 72 hours in the presence of fresh medium without inhibitor.

Byl sledován také vliv těchto inhibitorů na neproliferující buňky, jednak na plicní fibroblasty, které se přestaly dělit a jednak na buňky ze synoviálních výpotků. V těchto případech inhibitory neměly na metabolickou aktivitu buněk téměř žádný vliv, s výjimkou nejvyšších použitých koncentrací, které jsou pro buňky zřejmě již toxické.

Stejně jako plicní fibroblasty, tak také buňky za zánětlivé synovie a z osteoartrické chrupavky reagovaly na

působení olomoucínu a roskovitinu snížením proliferační aktivity. Jejich bazální proliferační aktivita byla sice o něco nižší než u plicních fibroblastů, avšak na působení olomoucínu a roskovitinu byly citlivější. IC_{50} pro olomoucín byla 56 ± 14 µmol/L a pro roskovitin $11,2 \pm 2,8$ µmol/L (obr. 5A a B).

Synoviální buňky z osteoartrického kloubu reagovaly na přítomnost roskovitinu poklesem metabolické aktivi-

ty až do koncentrace 8,4 $\mu\text{mol/L}$ ale při vyšších koncentracích se metabolická aktivita opět zvyšovala až téměř na úroveň kontroly. Protože další synovie z OA kloubu nebyla dosud k dispozici, nemohly jsme toto pozorování zopakovat (obr. 6A a B).

DISKUSE

Při některých revmatických chorobách, jako například v časně fázi revmatoidní artritidy, dochází k hyperplasii synoviální membrány, vzniku panu a následné nevratné destrukci kloubu. Rovněž při erozivní osteoartróze dochází k dočasnému zvýšení proliferační aktivity chondrocytů a následnému urychlení poškození chrupavky. V těchto případech je logickou volbou léčby použití látek s cytostatickým účinkem. Olomoucín a roskovitín jsou silné inhibitory buněčného dělení a mohly by tudíž rozšířit spektrum cytostatik používaných v revmatologii. V koncentracích, které ještě nejsou pro buňky pojivové tkáně toxické, zpomalují průběh buněčného cyklu tím, že výrazně snižují procento buněk vstupujících do S fáze. Buněčný cyklus však nezastavují ani při relativně vysokých koncentracích. Například účinná léčebná koncentrace olomoucínu v případě psa s rozvinutým melanomem činila cca 40 $\mu\text{mol/L}$ a koncentrace zastavující růst buněk v kultuře byla 98 $\mu\text{mol/L}$. Skutečnost, že olomoucín i roskovitín způsobují snížení metabolické aktivity pouze u proliferujících buněk, je možno chápat takže studované inhibitory působí pouze na buňky, které prošly restrikcí bodem buněčného cyklu (8). U buněk, které již tímto bodem prošly, navozuje stav podobný stárnutí buněk a při vysokých koncentracích buňky ničí. V tomto ohledu olomoucín i roskovitín napodobňují účinek přirozených inhibitorů cyklín-dependentních kináz p16^{INK2a} a p21^{CIP1} (9). Tyto inhibitory, jsou-li ektopicky exprimovány v primárních fibroblastech, inhibují G₁ specifické cyklín-dependentní kinázy, což navozuje fenotypické změny, které se normálně vyskytují u buněk na konci životního období. Shodný vliv jako na přirozeně proliferující embryonální fibroblasty má olomoucín i roskovitín také na synoviální buňky z revmatoidní synovie a z osteoartrótické chrupavky. Proliferační potenciál buněk se snižuje se zvyšující se koncentrací inhibitorů a buňky se zaoblují a vakuolizují. Tím, že se stávají metabolicky méně aktivní, se také snižuje jejich schopnost pronikat do mezibuněčného prostoru a narušovat kloubní struktury. Máme tudíž za to, že jak olomoucín, tak roskovitín jsou látky vhodné pro kontrolu buněčné proliferace u revmatických chorob, zejména pro svou nízkou toxicitu pro zdravé buňky.*

LITERATURA

1. Veselý, J., Havlíček, L., Strnad, M., Blow, J.J., Donella-Deana, A., Pinna L., Letham, D.S., Kato, J., Detivaud, L., Leclerc, S., Meijer, L.: Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues. *Europ J Biochem*, 224, 1994, s. 771—786.
2. Havlíček, L., Hanuš, J., Veselý, J., Leclerc, S., Meijer, L., Shaw, G., Strnad, M.: Cytokinin-derived cyclin-dependent kinase inhibitors: Synthesis and cdc2 inhibitory activity of olomoucine and related compounds. *J Med Chem*, 40, 1997, č. 4, s. 408—412.
3. Abraham, R.T., Acquarone, M., Andersen, A., Asensi, A., Belle, R., Berger, F., Bergounioux, C., Brunn, G., Buquet-Fagot, D.: Cellular effect of olomoucine, an inhibitor of cyclin-dependent kinases. *Cell Biol*, 83, 1995, č. 2—3, s. 105—120.
4. Meijer, L., Borgne, A., Mulner, O., Chong, J.P.J., Blow, J.J., Inagaki, M., Delcros, J.G., Moulinoux, J.P.: Biochemical and cellular effect of roscovitine, a potent and selective inhibitor of the cyclin-dependent kinases cdc2 cdk2 and cdk5. *Europ J Biochem*, 243, 1997, s. 527—536.
5. Schulye-Gahmen, V., Brandsen, J., Jones, H.D., Meijer, L., Veselý, J., Kim, S.H.: Multiple modes of ligand recognition: Crystal structures of cyclin-dependent kinase 2 in complex with ATP and two inhibitors, olomoucine and isopentenyladenine. *Proteins: Structure, function and genetics*, 22, 1995, s. 378—391.
6. DeAzevedo, W.F., Leclerc, S., Meijer, L., Havlíček, L., Strnad, M., Kim, S.H.: Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues—crystal structures of human cdk2 complexed with roscovitine. *Europ J Biochem*, 243, 1997, s. 518—526.
7. Hajdúch, M., Kolář, Z., Novotný, R., Hanuš, J., Mihál, V., Hlobílková, A., Nosková, V., Strnad, M.: Induction of apoptosis and regression of spontaneous dog melanoma following in vivo application of synthetic cyclin-dependent kinase inhibitor olomoucine. *Anticancer Drug*, 8, 1997, s. 1007—1018.
8. Kastan, B.M.: Check point controls and cancer. *Introduction. Cancer Serv*, 29, 1997, s. 1—6.
9. McConnel, B.B., Starborg, M., Brookes, S., Peters, G.: Inhibitors of cyclin-dependent kinases induce features of replicative senescence in early passage human diploid fibroblasts. *Curr Biol*, 8, 1998, s. 351—354.

Do redakce došlo 4.1.1999.

Adresa autorky: RNDr. J. Štovičková, CSc., Revmatologický ústav, Na slupi 4, 128 50 Praha 2, Česká republika.

* Poděkování. Práce byla podpořena grantem 3640-3 IGA MZ České republiky.

RECENZIA

LYMESKÁ ARTRITÍDA

M. VALEŠOVÁ
Praha, Grada Publishing 1999.

Písemnictví o lymeské borelióze je u nás poměrně bohaté. Chyběla monografie popisující problematiku postižení pohybového systému. Tuto mezeru vyplňuje monografie M. Valešové. Knihu uvádí kapitola o historii objevu lymeské boreliózy, která staví do protikladu evropský a americký přístup k objevu nového onemocnění. Evropané popisovali řadu let velmi přesně celou řadu syndromů spojených s infekcí boreliemi, ale byli to Američané, kteří syntetizovali za pomoci laboratorních technik klinické poznatky a dovedli je k etiopatogenetickému závěru. Další kapitoly exponují popis patogeneze a laboratorní diagnostiky lymeské boreliózy. Poukazuje se v nich kriticky na variabilitu sérologických vyšetření, zkříženou reaktivitu s jinými spirochetami a treponemami a na falešné pozitivní, či negativní výsledky. Sérologické nálezy by se měly vždy vztahovat k epidemiologické anamnéze a klinickému nálezu u nemocného.

V kapitolách popisujících klinický obraz onemocnění jsou zmíněny všechny možné orgánové projevy a uvedeno uznávané dělení lymeské boreliózy do tří stadií. Speciální kapitola je věnována podrobnějšímu popisu projevů postižení pohybového aparátu. Autorka uvádí i vlastní pozorování – distribuci klinických forem onemocnění u svých nemocných. Zde převládaly epizodické artralgie a intermitentní artritidy. Poměrně časté bylo postižení ramenního kloubu pod širokým označením periarthritis humeroscapularis. Popis této lokalizace je spojen s podrobnější kapito-

lou o ultrasonografickém vyšetření, která svým rozsahem poněkud vybočuje z rámce tematiky této monografie.

Za přínos považuji kapitolu o limitech sérologického testování, kterou by měli číst hlavně lékaři, kteří se ve své praxi dopouštějí t.zv. „overdiagnosing“ (nadměrné diagnostiky) lymeské boreliózy a léčebnou odezvu se snaží hodnotit podle titru protilátek.

V diferenciální diagnostice je věnována pozornost fibromyalgickému syndromu, který je častým doprovodem boreliové infekce a patří mezi významné dlouhodobé následky onemocnění. Jsou uvedeny všechny revmatologické syndromy, které přicházejí do úvahy – poněkud postrádám rentgenologickou diferenciaci mezi erozivní artritidou revmatoidní o lymeskou. Diagnostický problém mohou představovat onemocnění ze skupiny reaktivních artritid a spondylartropatií, které se v širším slova smyslu s lymeskou artritidou překrývají. Velmi závažné jsou kapitoly o nemocných s perzistujícími symptomy po lymeské artritidě. Jsou uvedeny všechny možné varianty trvalých potíží – od chybné diagnózy až po perzistující infekci, t.zv. postborelioný syndrom, který může být výrazem reaktivní artritidy po boreliové infekci.

Kniha bude přínosem pro všechny lékaře, kteří se diagnostikou lymeské boreliózy zabývají – zejména pro lékaře praktické a revmatology.

K. TRNAVSKÝ