

Plicní alveolární proteinóza

B. Hutýrová

Klinika plicních nemocí a tuberkulózy Lékařské fakulty UP a FN Olomouc, přednosta prof. MUDr. Vítězslav Kolek, DrSc.

Souhrn: Plicní alveolární proteinóza je vzácné onemocnění, u kterého dochází k nadměrné akumulaci složek surfaktantu v alveolech a distálních dýchacích cestách s minimální zánětlivou reakcí a fibrózou plicního intersticia. U plicní alveolární proteinózy jsou rozlišovány tři klinické formy – kongenitální, primární a sekundární. Výsledky ultrastrukturálních, biochemických a funkčních analýz spolu se studiemi na geneticky modifikovaných myších podporují předpoklad, že akumulace surfaktantu u plicní alveolární proteinózy je spíše následkem poruchy degradace a snížené clearance surfaktantu z alveolárních prostor než nadměrné syntézy složek surfaktantu. V posledních 15 letech došlo k významným objevům, které přispěly k objasnění etiologie a patogeneze onemocnění. Byla nalezena řada genových mutací, které vedou ke vzniku kongenitální plicní alveolární proteinózy. Kromě poruchy funkce surfaktantových proteinů je při rozvoji plicní alveolární proteinózy stěžejní signální dráha růstového faktoru stimulujícího kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF), který je nezbytný pro funkci alveolárních makrofágů a homeostázu surfaktantu. Role GM-CSF je prokázána zejména u primární plicní alveolární proteinózy, která je v současnosti považována za autoimunitní onemocnění s tvorbou neutralizujících autoprotilátek proti GM-CSF. Prognóza onemocnění u dospělých je ve většině případů příznivá, ale u 10–15 % pacientů dochází k respiračnímu selhání. Za standardní modalitu terapie je považována celková laváž plic. Novou perspektivou léčby primární plicní alveolární proteinózy se v posledních letech jeví terapie rekombinantním lidským GM-CSF.

Klíčová slova: plicní alveolární proteinóza – faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů – autoprotilátky – laváž plic

Pulmonary alveolar proteinosis

Summary: Pulmonary alveolar proteinosis is a rare disease characterised by excessive accumulation of surfactant components in the alveoli and the distal airways with minimum inflammatory reaction and fibrosis of pulmonary interstitium. Three clinical forms of pulmonary alveolar proteinosis are distinguished – congenital, primary and secondary. Results of ultrastructural, biochemical and functional analyses and studies performed on genetically modified mice support the presumption that accumulation of surfactant in pulmonary alveolar proteinosis is a result of a degradation disorder and of diminished clearance of the surfactant from the alveolar space rather than of excessive synthesis of surfactant components. Over the last 15 years, significant discoveries have been made which have helped to clarify the etiology and pathogenesis of the disease. A number of gene mutations have been discovered which lead to the development of congenital pulmonary proteinosis. Apart from impaired surfactant protein function, a key role in the development of pulmonary alveolar proteinosis is played by the signal pathway of granulocyte and macrophage colonies stimulating growth factor (GM-CSF) which is necessary for the functioning of alveolar macrophages and for surfactant homeostasis. The role of GM-CSF has been proven especially in primary pulmonary alveolar proteinosis which is currently considered an auto-immune disease involving the development of GM-CSF neutralising autoantibodies. In most cases, the prognosis for the disease in adult patients is good, even though there is a 10 to 15 % rate of patients who develop respiratory failure. Total pulmonary lavage is considered to be the standard method of treatment. In recent years, recombinant human GM-CSF has been studied as a prospective therapy for the treatment of pulmonary alveolar proteinosis.

Keywords: pulmonary alveolar proteinosis – granulocyte and macrophage colony stimulating factor – autoantibodies – pulmonary lavage

Úvod

Plicní alveolární proteinóza (PAP) je vzácné onemocnění, u kterého dochází k nadměrné akumulaci složek surfaktantu (fosfolipidů a proteinů) v alveolech a distálních dýchacích cestách s minimální zánětlivou reakcí a fibrózou plicního intersticia [1].

PAP jako klinickou jednotku poprvé popsál Rosen v roce 1958 [2]. PAP

byla charakterizována jako onemocnění s histologickým nálezem PAS (Periodic Acid Schiff) pozitivních depozit s obsahem proteinů, lipidů a sacharidů v intraalveolárních prostorech s normálními interalveolárními septy. V roce 1965 Larson a Gordinier formulovali novou teorii, že se jedná o hromadění plicního surfaktantu v důsledku jeho zvýšené produkce,

poruchy v odstraňování nebo strukturálních abnormalit surfaktantu [3].

Klasifikace a etiologie

PAP je v současnosti považována spíše za klinický syndrom než za nosologickou jednotku [1,4,5]. U PAP jsou rozlišovány 3 klinické formy – kongenitální, primární a sekundární.

1. Kongenitální plicní alveolární proteinóza se vyskytuje u novorozenců, u kterých může být příčinou neonatálního syndromu respirační tísně. U kongenitální formy PAP byl popsán výskyt sporadický i familiární, včetně postižení dvojčat [1]. Dědičnost je u kongenitálních forem autozomálně recesivní. Ve většině případů je onemocnění způsobeno hereditární deficiencí surfaktantového proteinu B (SP-B), který je způsoben mutacemi genu pro SP-B. Nejčastější je posunová („frameshift“) mutace v kodonu 121 (121ins2) genu pro SP-B, která vede ke ztrátě funkce proteinu SP-B a je přítomná přibližně ve dvou třetinách případů kongenitální PAP způsobené mutací genu pro SP-B [6,7]. Dosud bylo popsáno dalších 27 mutací genu pro SP-B, které vedou ke změně aminokyselinové sekvence, a tím struktury proteinu, v důsledku čehož dojde ke ztrátě funkce proteinu SP-B a projevům neonatálního syndromu respirační tísně, který je ve většině případů způsoben kongenitální PAP [6]. Incidence hereditární deficiencie SP-B není známa, ale předpokládána alelická frekvence mutace 121ins2 je 1 na 1 000–3 000 jedinců [8].

Dále může kongenitální PAP vznikat v důsledku mutací genu pro SP-C a řetězec β_c -receptoru pro růstový faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF), které vedou k podobným formám neonatálního syndromu respirační tísně jako deficiencie SP-B [1,9,10]. U novorozence heterozygotního pro mutaci genu pro SP-C E66K vedoucí k substituci kyseliny glutamové místo lyzinu v pozici 66 proteinu SP-C byl popsán výskyt PAP spolu s obrazem nespecifické intersticiální pneumonie [9]. Kromě mutací genů pro surfaktantové proteiny se PAP může vyskytovat u dětí s mutací genu pro membránový transportní protein ABCA3 (ATP-binding cassette transporter A3) [6,11].

2. Primární plicní alveolární proteinóza (synonymum idiopatická, získaná)

je nemocí s neznámou etiologií, u které familiární výskyt nebyl zatím popsán. V současnosti se považuje za autoimunitní onemocnění způsobené neutralizujícími autoprotilátkami proti GM-CSF, který je nezbytný pro funkci alveolárních makrofágů a homeostázu surfaktantu [5].

3. Sekundární plicní alveolární proteinóza je vzácná ve srovnání s primární formou a vyskytuje se u stavů, u kterých dochází ke snížení funkce nebo počtu alveolárních makrofágů [12]. Vyskytuje se u primárních nebo sekundárních imunodeficitů a především u hematologických malignit [1,13]. Předpokládá se, že incidence sekundární PAP u všech pacientů s hematologickou malignitou a respiračními symptomy je 5,3 %, u pacientů s malignitami postihujícími myeloidní řadu leukocytů až 10 % [13]. PAP může být dále asociována s oportunními infekcemi, jako jsou nokardióza, kryptokokóza, mukormykóza, histoplazmóza, aspergilóza, mykobakteriálními, cytomegalovirovými a herpetickými infekcemi [1,5]. U HIV-pozitivních, ale i HIV-negativních pacientů byly popsány případy PAP v asociaci s infekcí *Pneumocystis jiroveci* [14,15]. Uvažovalo se, že PAP by mohla být abnormální reakcí plicní tkáně na tyto méně časté infekce, nyní se infekce považují spíše za sekundární komplikaci než za vyvolávající faktor nemoci [1]. Z environmentálních faktorů se mohou na vzniku sekundární PAP podílet anorganické prachy a plyny (sloučeniny křemíku, titanu, hliníku, tantalu, kobaltu, nitroaromatická barviva, cementový prach atd) [1,16]. „Akutní siliko-proteinózou“ je označována vzácná akutní forma silikózy, která vzniká po krátkodobé expozici vysokým koncentracím křemičitého prachu a histologicky je podobná PAP [16,17]. Výskyt PAP po expozici vysokým dávkám inhalovaných minerálních prachů a chemikálií se vysvětluje denaturací surfaktantových proteinů, která způsobuje poruchu jejich funkce při regulaci homeostázy surfaktantu [4]. Jsou popi-

sovány případy sekundární formy PAP asociované s hereditární lysinurií, renální tubulární acidózou, Fanconiho anémií a glioblastoma multiforme [16,18,19]. Poléková PAP byla popsána při terapii sirolimem, leflunomidem, imanitibem nebo chemoterapií [20–24]. Polékové plicní lipidózy a intraalveolární depozice IgG- κ paraproteinu u mnohočetného myelomu jsou považovány za stavy odlišné od sekundární PAP. Plicní fosfolipidóza může být indukována řadou kationtových amfifilních léčiv, které vedou inhibicí fosfolipáz k akumulaci fosfolipidů v cytoplazmě alveolárních makrofágů [25,26].

Patogeneze

Podkladem vzniku PAP je hromadění složek surfaktantu v intraalveolárních prostorech v důsledku poruchy homeostázy surfaktantu. Výsledky ultrastrukturálních, biochemických a funkčních analýz spolu se studiemi na geneticky modifikovaných myších v současnosti podporují předpoklad, že akumulace surfaktantu u PAP je spíše následkem poruchy degradace a snížené clearance surfaktantu z alveolárních prostor než nadměrné syntézy složek surfaktantu [5].

Surfaktant v normálních plicích vytváří film pokrývající vnitřní povrch alveolů a redukuje povrchové napětí alveolů, čímž zabraňuje jejich kolapsu a transudaci tekutiny do alveolárního lumen. Surfaktant je složen v 90 % z lipidů (převážně fosfolipidy), 10 % představují proteiny a < 1 % sacharidy [12]. Hydrofobní surfaktantové proteiny (SP-B, SP-C) a hydrofilní surfaktantové proteiny (SP-A, SP-D) jsou složkou s povrchově aktivními vlastnostmi. Surfaktantové lipidy a proteiny jsou syntetizovány pneumocyty II. typu. Jsou skladovány v jejich cytoplazmě v zásobních granulech, tzv. lamelárních tělískách. Lamelární tělíska jsou z pneumocytů II. typu uvolňována do alveolárního prostoru a transformována na struktury tzv. tubulárního myelinu a na velké agregáty

skládající se z extracelulárních lamelárních tělísek. Oba typy struktur mají povrchově aktivní vlastnosti. Jednovrstevný film fosfolipidů bohatých na dipalmitoylfosfatidylcholin pokrývající alveolární epitel snižuje povrchové napětí alveolů [27]. Surfactant je inaktivován mechanickými a biologickými procesy za vzniku malých agregátů, které již nejsou povrchově aktivní. Na odstraňování surfaktantu z alveolárních prostor se podílejí pneumocyty II. typu i alveolární makrofágy. Přibližně 70–80 % malých agregátů je pohlceno pneumocyty II. typu a jsou využity pro další syntézu surfaktantu. Zbytek malých agregátů je fagocytován a degradován alveolárními makrofágy [5].

Surfactantové proteiny hrají důležitou roli v regulaci metabolismu surfaktantu, opsonizaci mikrobiálních patogenů a stimulaci obranných funkcí alveolárních makrofágů. SP-A se podílí na řízení sekrece surfaktantu a zpětného vychytávání fosfolipidů [27]. SP-A a SP-D vazbou na receptory alveolárních makrofágů stimulují fagocytózu a iniciují oxidativní vzplanutí v makrofázích. Surfactantové proteiny mají schopnost opsonizovat různé bakterie, viry a jiné patogeny, čímž facilitují jejich fagocytózu alveolárními makrofágy. U PAP byla prokázána porucha chemotaxe, fagocytózy a fúze fagolysosomů v alveolárních makrofázích. Tyto funkční defekty je možné navodit i u normálních alveolárních makrofágů inkubací s lavážní tekutinou od pacientů s PAP. Funkční defekty alveolárních makrofágů jsou způsobeny akumulací surfaktantu vychytávajícího volné kyslíkové radikály v cytoplazmě makrofágů a strukturálními abnormalitami surfaktantových proteinů, které zabraňují aktivaci receptorů na povrchu alveolárních makrofágů a pneumocytů II. typu [12,27].

Důležitým milníkem v objasňování patogeneze PAP byl v roce 1994 objev experimentálního modelu alveolární

proteinózy u myši s vyřazeným genem pro GM-CSF (GM^{-/-}) [28]. GM-CSF, 23-kDa hematopoetický růstový faktor, se váže na membránové receptory řady hematopoetických i jiných buněk, včetně monocytů, makrofágů a pneumocytů II. typu. Proces odstraňování surfaktantu z alveolárních prostor je závislý na GM-CSF, který je nezbytný pro aktivaci alveolárních makrofágů, a tím zvýšení fagocytózy surfaktantových partikulí. GM-CSF vazbou na specifický receptor stimuluje terminální diferenciaci makrofágů cestou transkripčního faktoru PU.1 [29].

U GM^{-/-} myši nebyly zjištěny poruchy hematopoézy, ale došlo k rozvoji plicního postižení připomínajícího lidskou PAP [28]. V plicních sklípčích GM^{-/-} myši byla prokázána abnormální akumulace surfaktantových fosfolipidů a proteinů v důsledku chybění GM-CSF, které ovlivněním funkce alveolárních makrofágů vedlo k defektu katabolizmu surfaktantu. Porucha odstraňování surfaktantu alveolárními makrofágy způsobila progresivní expanzi extracelulárního obsahu surfaktantu v alveolech. Syntéza a sekrece surfaktantových proteinů a fosfolipidů byla u těchto myši srovnatelná s kontrolami. Regresi změn typických pro alveolární proteinózu bylo možné dosáhnout inhalačním podáním aerosolového GM-CSF, expresí genu pro GM-CSF v plicní tkáni genovým vektorem nebo transplantací kostní dřeně [30–32]. Studie u myši s vyřazeným genem pro β_c -řetězec receptoru pro GM-CSF, který se nachází v buněčné membráně alveolárních makrofágů i pneumocytů II. typu, prokázaly, že substituce GM-CSF vedoucí k normalizaci defektu katabolizmu surfaktantu se uplatňuje cestou alveolárních makrofágů [12].

GM^{-/-} myši podobně jako pacienti s PAP mají závažně porušenou clearance bakteriálních, mykotických, virových patogenů a jsou vnímavější k infekcím streptokoky skupiny B a *Pneumocystis jiroveci* [33,34]. U alveolárních makrofágů GM^{-/-} myši kultu-

vovaných in vitro byly popsány poruchy chemotaxe, buněčné adheze, exprese receptorů rozpoznávajících struktury patogenů, fagocytózy, tvorby kyslíkových radikálů, destrukce patogenů a sekrece prozánětlivých cytokinů. Všechny tyto abnormality se upravily po obnovení lokální exprese GM-CSF [12].

U alveolárních makrofágů pacientů s PAP byla prokázána porucha exprese transkripčních faktorů PU.1 a PPAR γ , která je regulována GM-CSF [5,29]. V roce 1999 Kitamura et al objevili neutralizující IgG autoprotilátky proti GM-CSF v séru a bronchoalveolární lavážní tekutině (BAL) pacientů s primární PAP [35]. Tyto protilátky nebyly přítomny u pacientů s kongenitální ani sekundární formou PAP. Anti-GM-CSF protilátky inhibují aktivitu endogenního GM-CSF, a navozují tím stav funkčního deficitu GM-CSF. V BAL pacientů s primární PAP byly zjištěny zvýšené hladiny GM-CSF, což vylučuje možnost, že je nemoc způsobena chyběním samotného proteinu GM-CSF [36]. Přítomnost anti-GM-CSF protilátek u primární PAP byla potvrzena i jinými autory. Na rozdíl od kongenitální PAP nebyly u primární formy dosud zjištěny mutace genu pro GM-CSF nebo jeho receptoru.

Kromě snížení odstraňování surfaktantu alveolárními makrofágy z plicních sklípků v důsledku funkčního deficitu GM-CSF byla u PAP zjištěna i abnormální sekrece transportních vezikul obsahujících prekurzory SP-B (ale ne SP-C) a porucha navázání kyseliny palmitové na zralý protein SP-C, která může vést k tvorbě di- a oligomerních forem SP-C. V plicích pokusných zvířat bylo prokázáno pomalejší odstraňování dimerických forem SP-C, které se akumulovaly v alveolárních makrofázích a bránily degradaci SP-B a monomerních forem SP-C. Zvýšením tvorby reaktivních kyslíkových radikálů jsou dimerické SP-C toxické pro alveolární makrofágy [37].

Epidemiologie

Prevalence PAP je odhadována na 0,37/100 000 [5]. Primární PAP představuje více než 90 % všech případů. Průměrný věk při manifestaci onemocnění je 39 let u mužů a 35 let u žen [1]. Nemoc se častěji vyskytuje u mužů (3 : 1) a přibližně 70 % pacientů jsou kuřáci. Převaha mužů postižených PAP může být způsobena vyšším podílem kuřáků, protože ve skupině nekuřáků nebyla popsána predominance postižení u mužů.

Klinický obraz

U většiny pacientů se onemocnění manifestuje postupně progredující námažovou dušností a kašlem [5]. Kašel je převážně suchý, u některých pacientů může být přítomné sputum rosolovité konzistence. Méně častými příznaky jsou horečky, váhový úbytek, celková únavnost, bolesti na hrudníku a hemoptýza. Tyto symptomy se vyskytují častěji u komplikujících sekundárních infekcí, které jsou často příčinou akutního začátku onemocnění. U menší části pacientů má PAP asymptomatický průběh [38]. Fyzikální nálezy je nejčastěji chudý, mohou být přítomny inspirační chrůpky, paličkovité prsty a u pokročilejších forem nemoci cyanóza [5].

U 13 % pacientů s PAP byl popsán výskyt oportunních infekcí [1]. Typické pro PAP jsou infekce *Nocardia* spp, *Mycobacterium* spp, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Pneumocystis jiroveci* a virové infekce. Častěji se tyto infekce vyskytují v diseminované formě a postihují i centrální nervový systém (zejména *Aspergillus* spp, *Nocardia* spp), což by svědčilo pro to, že predispozice k infekčním onemocněním u PAP má systémový, a ne lokální charakter v plicní tkáni [1,5,12].

Histopatologie

Patologicko-anatomicky jsou na plicích postižených PAP přítomny šedobělavé okrsky, plicce mezi nimi je tmavě červená, kolabovaná [39]. Mikroskopicky jsou alveolární prostory a ter-

minální bronchioly vyplněny eozinofilním (při barvení hematoxylin-eozinem) nebuněčným, jemně granulárním materiálem, který je PAS-pozitivní a diastázo-rezistentní [5]. V alveolech se nacházejí i morfologicky abnormální pěnovité makrofágy s PAS-pozitivními intracelulárními inkluzemi a buněčný debris. Architektura alveolů je dobře zachována, ačkoliv se místy může vyskytovat v plicním intersticiu lehká zánětlivá reakce s převahou lymfocytů [1]. Může být přítomna hyperplazie pneumocytů II. typu. Zcela výjimečně dochází k rozvoji fibrotické přestavby intersticia.

Elektromikroskopicky jsou v materiálu vyplňujícím alveoly viditelné multilamelární anulární struktury (tzv. lamelární tělíska) a velké množství celulárního debris. Byly popsány lamelární tělíska odlišné struktury, některé obsahují denzní osmiofilní jádro. Lamelární tělíska jsou složena z fosfolipidů a jsou identické s inkluzemi, které se nacházejí v cytoplasmě normálních pneumocytů II. typu. Na rozdíl od normální plicní tkáně je alveolární obsah chudý na tubulární myelin, který je zdrojem normálního jednovrstevného surfaktantu [4,27]. V alveolech je přítomný snížený počet zvětšených alveolárních makrofágů obsahujících fagolysosomy s lamelárním osmiofilním materiálem [27,39].

Vyšetřovací metody

Na skiagramu hrudníku jsou přítomny bilaterální zastínění typu mléčného skla nebo difúzní symetrické alveolární infiltrativní zastínění s vyznačeným vzdušným bronchogramem [5,39]. Méně často jsou zjištěny unilaterální infiltrativní zastínění nebo retikulonodulární stíny. U 50 % pacientů jsou změny na skiagramu hrudníku nejvýraznější v perihilózní oblasti a připomínají motýlí nebo netopýří křídla. Distribuce změn je však variabilní, maximum změn může být i v periferní nebo bazální lokalizaci [27]. Zvětšení mediastinálních uzlin nebo pleurální postižení je vzácné. U některých pa-

cientů jsou na skiagramu hrudníku přítomné rozsáhlé změny při relativně mírných klinických projevech [5].

Na HRCT hrudníku jsou přítomny mapovité zastínění typu mléčného skla ostře ohraničené od oblastí nepostižených plic. Zastínění typu mléčného skla obklopují i oblasti konsolidace se vzdušným bronchogramem. Typickým nálezem jsou zastínění typu mléčného skla se síťovanou polygonální kresbou zesílených intra- a interlobulárních sept – obraz tzv. „crazy paving“, připomínající mozaikovou dlažbu. Tento nálezy však není specifický pro PAP, vyskytuje se u nemocí postihujících plicní intersticiu i alveolární prostory. Může být přítomný u akutní intersticiální pneumonie, ARDS, kardiálního plicního edému, polékového poškození plic, lipoidní pneumonie nebo bronchioloalveolárního karcinomu. Rozsah radiologického nálezu obvykle koreluje se stupněm funkčního postižení [5].

Funkční vyšetření plic může být u PAP normální, ale ve většině případů je přítomná restriktivní ventilační porucha se snížením difúzní kapacity plic [12]. Hypoxemická respirační insuficience je přítomná v klidu přibližně u třetiny pacientů a po námaze u více než 50 % nemocných [5]. Dochází ke změně poměru ventilace a perfuze se zvýšením zkratové frakce a zvýšením alveoloarteriálního kyslíkového gradientu $P(A-a)O_2$, který se zvyšuje po námaze [12]. Dalším mechanismem vzniku hypoxemie je edém alveolokapilární membrány a u některých pacientů intersticiální fibrózní změny. Vyšetření krevních plynů v arteriální krvi, $P(A-a)O_2$ a jeho změny po námaze jsou významným prediktivním faktorem k posuzování závažnosti nemoci a funkčního postižení. Pacienti s parciálním tlakem kyslíku v arteriální krvi (PaO_2) nad 9,3 kPa nebo $P(A-a)O_2$ nižším než 5,3 kPa mají vyšší pravděpodobnost, že dojde ke spontánní remisi onemocnění. Ostatní nemocní nesplňující tyto kritéria mají tendenci k progresi PAP [27].

V laboratorním nálezu je charakteristické zvýšení sérové laktátdehydrogenázy (LDH) s normálním poměrem jednotlivých izoenzymů LDH [5,40]. Po terapeutické plicní laváži nebo spontánní remisi PAP dochází k poklesu sérových koncentrací LDH. V séru pacientů bylo dále prokázáno zvýšení cytokeratinu 19, KL-6 a nádorových markerů CEA, CA 15-3 a TPA [12,39,41]. Sérové hladiny vysokomolekulárního glykoproteinu KL-6, které mohou být zvýšené i u jiných difuzních intersticiálních plicních procesů, korelují s aktivitou nemoci [42]. V séru jsou zvýšeny koncentrace surfaktantových proteinů SP-A a SP-D.

Sérologická diagnostika anti-GM-CSF protilátek není v současnosti ještě rutinně dostupná, ale vyšetření anti-GM-CSF protilátek u pacientů s primární PAP by vzhledem k jejich vysoké senzitivitě (100 %) a specifitě (98 %) mohl být v budoucnosti přínosným diagnostickým testem [5,12]. Anti-GM-CSF protilátky mohou přispět ke stanovení diagnózy, ale jejich význam při hodnocení klinického průběhu a aktivity onemocnění není jednoznačný [42]. Ve studii Venkateshiah et al byla popsána korelace sérových koncentrací anti-GM-CSF s aktivitou nemoci a s efektem léčby rekombinantním GM-CSF [43]. Lin et al našli souvislost parametrů závažnosti nemoci [sérová LDH, PaO₂, P(A-a)O₂, DLCO] s hladinami anti-GM-CSF protilátek v BALT, ale ne v séru [44].

Zásadní význam v diagnostice PAP má vyšetření BALT. Přibližně u 75 % pacientů s klinickým a radiologickým obrazem svědčícím pro PAP je možné potvrdit diagnózu na základě charakteristického nálezu při vyšetření BALT, a tím se vyhnout nutnosti transbronchiální nebo chirurgické biopsie plic [1]. Makroskopicky má BALT charakteristické mléčné zbarvení, je opaleskující, viskózní a po centrifugaci nebo sedimentaci vzniká hustý sediment [45]. Vyšetření diferenciálního rozpočtu buněk v BALT není charakteristické a přínosné pro diagnózu

PAP. Obvykle je přítomné snížení počtu alveolárních makrofágů a zvýšený počet lymfocytů [5,12]. Některé studie popisují i lehké zvýšení počtu neutrofilů [45]. U těchto pacientů však musí být vyloučena infekční etiologie neutrofilní alveolitidy. Poměr CD4⁺/CD8⁺ lymfocytů je značně variabilní [46]. Charakteristickými nálezy pro PAP při vyšetření BALT ve světelném mikroskopu jsou:

1. acelulární globulární struktury, bazofilní při barvení metodou Mayou-Grünwaldovou-Giemsovou, PAS-pozitivní a diastázo-rezistentní, nebarví se alciánovou modří
2. velké množství buněčného debris
3. zvětšené pěnovité makrofágy s PAS-pozitivním a diastázo-rezistentním cytoplazmatickým obsahem

Vyšetření elektronovou mikroskopií není při tomto nálezu pro stanovení diagnózy obvykle nutné [5]. Elektronomikroskopicky je charakteristický nálezh extracelulárních lamelárních tělísek a multilamelárních struktur s elektrondenzní centrální oblastí velikosti 200–600 nm [47]. Ultrastrukturálně je sediment bronchoalveolární tekutiny identický s intraalveolárním materiálem přítomným při histologickým vyšetření [46].

Biochemickým rozbohem BALT bylo zjištěno zvýšení celkového obsahu fosfolipidů s relativním snížením fosfatidylcholinu a fosfatidylglycerolu, a relativním zvýšením sfingomyelinu a fosfatidylinositolu [5]. Koncentrace surfaktantových proteinů A, B, C a D jsou v BALT také zvýšeny [37]. Ve srovnání se zdravými jedinci je v BALT pacientů s PAP přítomný relativní nadbytek izoforem SP-A, který se výrazně liší mezi jednotlivými pacienty. V BALT pacientů s PAP byly zjištěny zvýšené hladiny tumor-nekrotizujícího faktoru α (TNF α), interleukinu 6 (IL-6), IL-8, KL-6 a nádorových markerů CEA, CA 19-9, CA 125, CA 15-3, TPA [38,39,48].

Za „zlatý standard“ v diagnostice PAP byla dříve považována otevřená

plicní biopsie, ačkoliv může být falešně negativní z důvodu chybného odběru tkáně [1]. V současnosti je chirurgická plicní biopsie indikována pouze u malé části nemocných. U většiny pacientů je možné stanovit diagnózu PAP na základě typického klinického obrazu a nálezu při vyšetření BALT. U ostatních nemocných většinou postačuje ke stanovení diagnózy transbronchiální plicní biopsie [46].

Terapie

Terapie PAP závisí od klinické formy, etiologických faktorů a závažnosti stavu. V minulosti se v terapii PAP používaly glukokortikoidy, inhalačně streptokináza, trypsin nebo ambroxol [4,49,50]. Efekt této léčby byl různý, nebyl ověřen kontrolovanou studií a nelze vyloučit, že léčebná odpověď u některých pacientů byla způsobena spontánní remisí onemocnění [27].

U kongenitální PAP je léčba převážně podpůrná, v úvahu připadá i plicní laváž a transplantace plic, v budoucnosti genová terapie [12]. U sekundárních forem léčba vyvolávající příčiny vede ve většině případů k remisi PAP.

V terapii primární PAP se od 60. let minulého století úspěšně uplatňuje celková laváž (dialýza) plic [1,12]. V současnosti se používá tzv. objemově kontrolovaná technika laváže plic [4,51]. Ačkoliv efekt laváže plic nebyl ověřen v žádné prospektivní randomizované studii, je v současnosti považována za standardní a účinnou metodu, která u pacientů s PAP zlepšuje klinické, radiologické i funkční parametry. Dochází ke zlepšení migrace a fagocytózy alveolárních makrofágů [52]. Přesný mechanismus působení laváže plic není známý. Předpokládá se účinek mechanického odstranění lipoproteinového materiálu z alveolárních prostor. Dále se uvažuje o efektu snížení množství anti-GM-CSF protilátek v plicích a další možné imunologické mechanismy působící na alveolární makrofágy a pneumocyty II. typu [53].

Laváž plic je indikována při snížení plicních funkcí a symptomatickém onemocnění zhoršujícím kvalitu života [5]. V literatuře se uvádí jako indikace k provedení laváže plic snížení PaO_2 pod 8,0 kPa, zvýšení P(A-a)O_2 a symptomy závažně limitující denní aktivity pacienta [54,55]. Nejdříve se provádí laváž postiženější plíce. Laváž druhé plíce může být provedena za 3–7 dní. Závažnost postižení jednotlivých plicních křídel se stanovuje na základě nálezu na HRCT nebo ventilačně-perfuzní scintigrafii plic. Laváž plic se provádí v celkové anestezii za monitorace pacienta a množství lavážové tekutiny. Pacient se selektivně intubuje dvoucestným endotracheálním kateétre (např. Carlensův tubus). Po 15 min ventilace obou plic 100% kyslíkem se za ventilace kontralaterální plíce vyplachuje jedna plíce sterilním fyziologickým roztokem zahřátým na teplotu 37 °C. Jednorázově se používá k vymývání 500 až 1 000 ml roztoku. Tekutina se drénuje po gravitačním spádu. Při prvním cyklu dojde v plíci k zadržení objemu tekutiny odpovídající funkční reziduální kapacitě. Při ostatních cyklech by množství tekutiny, která je drénována z plíce, mělo odpovídat aplikovanému objemu. Jestli je retence tekutiny více než 1,5–2 l, může být příčinou únik roztoku do pleurální dutiny nebo na kontralaterální stranu a výkon se musí přerušit. Plíce se vyplachuje do té doby až odsávaná lavážní tekutina je čirá. Poklepová masáž hrudníku může zlepšit návrat tekutiny. Celkové množství roztoku dosahuje obvykle 10 až 40 l [15]. Při výkonu je potřebné pacienta hemodynamicky monitorovat, sledovat tělesnou teplotu a vnitřní prostředí. Možnými komplikacemi jsou hypoxemie, únik lavážové tekutiny do selektivně ventilované plíce při neadekvátní poloze dvoucestného endotracheálního tubusu, ipsilaterální hydrotorax, hypotermie a poruchy vnitřního prostředí (hypokalemie, metabolická acidóza) [4]. Při výkonu může dojít k prodloužení hypoxemie, které trvá delší

dobu. V případě závažné hypoxemie laváž plic může být prováděna s extrakorporální membránovou nebo hyperbarickou oxygenací [1,56]. U nemocných s kontraindikovanou laváží plic v celkové anestezii je možné zkusit inhalaci trypsinem při umělé ventilaci intermitentním pozitivním přetlakem [54]. Alternativou je i provedení laváže jednotlivých plicních laloků cestou flexibilní bronchoskopie v lokální anestezii [57].

Po laváži dochází ke zlepšení dušnosti pacienta po 12 hodinách, zlepšení na skiagramu hrudníku je obvykle přítomné až za 6 a více měsíců [39]. Časně po výkonu (do 1 týdne) se zlepšují spiometrické parametry, upravuje se poměr ventilace a perfuze se zvýšením PaO_2 . Zlepšení hodnot DLCO však nastává až za více než 6 měsíců a obvykle u pacientů nedochází k úplné normalizaci hodnot DLCO ani P[A-a]O_2 , což je vysvětlováno přeplněním lymfatických cév v interlobulárních septech [54].

Novou perspektivou léčby PAP se v posledních letech jeví terapie rekombinantním lidským GM-CSF. Tato léčba je zatím považována za experimentální, k dispozici je pouze několik studií zkoumajících efekt terapie. Při subkutánním podání GM-CSF je úspěšnost léčby přibližně 40–50 % [1,5,58,59]. V zatím největší studii zahrnující 25 pacientů s primární PAP, vedlo systémové podání GM-CSF ke zlepšení klinických parametrů a kvality života u 48 % nemocných [43]. V této studii titr anti-GM-CSF protilátek koreloval s aktivitou nemoci a byl prediktorem léčebné odpovědi na GM-CSF. Na rozdíl od subkutánně podávaného GM-CSF bylo ve studii Wylema et al dosaženo při inhalačním podání GM-CSF klinicky signifikantního zlepšení [spiometrie, DLCO, PaO_2 , P(A-a)O_2 , skiagram hrudníku] u 11 z 12 pacientů (91,7 %), u 4 pacientů došlo ke kompletní remisi [60].

Ojediněle jsou u pacientů s PAP popisovány případy se vznikem intersticiální plicní fibrózy. Terapeutickou

možností pro tyto pacienty je transplantace plic, ačkoliv byla popsána recidiva onemocnění v transplantované plíci [61].

Prognóza

U části pacientů s primární PAP může dojít ke spontánní remisi. Popisovaná frekvence spontánní remise dosahovala v jednotlivých studiích s nižším počtem pacientů až 30 %. Při retrospektivním zhodnocení 303 případů se však spontánní remise vyskytla pouze u 7,9 % nemocných [1].

Prognóza PAP je u dospělých příznivá a výrazně se zlepšila se zavedením terapeutické laváže plic. Přibližně 25–50 % pacientů dosáhne trvalé remise po 1–2 plicních lavážích [5]. U 15 % pacientů je nutné opakování laváže v intervalech 6–24 měsíců. Asi 10 % nemocných je refrakterních k léčbě [27].

V retrospektivní analýze 343 pacientů bylo 2-, 5- a 10leté přežívání $78,9 \pm 8,2$ %, $74,7 \pm 8,1$ % a $68,3 \pm 8,6$ %. Z celkového počtu 69 zemřelých bylo ve 72 % případech příčinou smrti respirační selhání v důsledku PAP a ve 20 % sekundární infekce. Pouze u 8 % nemocných došlo k úmrtí bez souvislosti s PAP. 5leté přežívání korigované pro úmrtí na PAP („disease-specific survival“) bylo $88,8 \pm 4$ %. Celkově dochází k respiračnímu selhání u 10–15 % pacientů s PAP [1].

Literatura

1. Seymour JF, Presneill JJ. Pulmonary alveolar proteinosis. Progress in the first 44 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 215–235.
2. Rosen SH, Castleman B, Liebow AA. Pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 1958; 258: 1123–1142.
3. Larson RK, Gordinier R. Pulmonary alveolar proteinosis: report of six cases, review of the literature, and formulation of a new theory. *Ann Intern Med* 1965; 62: 292–312.
4. Jansa P, Stržteský M, Homolka J. Plicní alveolární proteinóza a její léčba celkovou plicní laváží v ČR. *Vnitř Lék* 2002; 48: 34–37.

5. Costabel U, Guzman J. Pulmonary alveolar proteinosis: a new autoimmune disease. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2005; 22(Suppl 1): 67–73.
6. Hartl D, Griesse M. Interstitial lung disease in children – genetic background and associated phenotypes. *Respir Res* 2005; 6: 32.
7. Nogee LM, Garnier G, Dietz HC et al. A Mutation in the surfactant protein-B gene responsible for fatal neonatal respiratory-disease in multiple kindreds. *J Clin Invest* 1994; 93: 1860–1863.
8. Cole FS, Hamvas A, Rubinstein P et al. Population-based estimates of surfactant protein B deficiency. *Pediatrics* 2000; 105: 538–541.
9. Stevens PA, Pettenazzo A, Brasch F et al. Nonspecific interstitial pneumonia, alveolar proteinosis, and abnormal pro-protein trafficking resulting from a spontaneous mutation in the surfactant protein C gene. *Pediatr Res* 2006; 57: 89–98.
10. Dirksen U, Nishinakamura R, Gronckel P et al. Human pulmonary alveolar proteinosis associated with a defect in GM-CSF/IL-3/IL-5 receptor common beta chain expression. *J Clin Invest* 1997; 100: 2211–2217.
11. Shulenin S, Nogee LM, Annilo T et al. ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. *N Engl J Med* 2004; 350: 1296–1303.
12. Trapnell BC, Whitsett JA, Nakata K. Pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 2527–2539.
13. Cheng SL, Kuo PH, Yang PCh et al. Bilateral alveolar infiltrates in a 29-year-old man with chronic myelogenous leukemia. *Chest* 2002; 122: 2238–2241.
14. Akin MR, Nguyen GK. Pulmonary alveolar proteinosis. *Pathol Res Pract* 2004; 200: 693–698.
15. Olivieri D, du Bois RM. Interstitial lung diseases. *European Respiratory Monograph* 2000; 5: 194–205.
16. Seyfikli Z, Gonluugur U, Berk S et al. Primary alveolar proteinosis and review of the literature. *Turk Resp J* 2001; 2: 36–39.
17. Buechner HA, Ansari A. Acute silico-proteinosis: a new pathologic variant of acute silicosis in sandblasters, characterized by histologic features resembling alveolar proteinosis. *Dis Chest* 1969; 55: 274–284.
18. McManus DT, Moore R, Hill CM et al. Necropsy findings in lysinuric protein intolerance. *J Clin Pathol* 1996; 49: 345–347.
19. Steens RD, Summers QA, Tarala RA. Pulmonary alveolar proteinosis in association with Fanconi's anemia and psoriasis. A possible common pathogenetic mechanism. *Chest* 1992; 102: 637–638.
20. Pedroso SL, Martins LS, Sousa S et al. Pulmonary alveolar proteinosis: a rare pulmonary toxicity of sirolimus. *Transp Int* 2007; 20: 291–296.
21. Wardwell NR jr, Miller R, Ware LB. Pulmonary alveolar proteinosis associated with a disease-modifying antirheumatoid arthritis drug. *Respirology* 2006; 11: 663–665.
22. Wagner U, Staats P, Moll R et al. Imatinib-associated pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Med* 2003; 115: 674.
23. Du EZ, Yung GL, Le DT et al. Severe alveolar proteinosis following chemotherapy for acute myeloid leukemia in a lung allograft recipient. *J Thorac Imaging* 2001; 16: 307–309.
24. Sulkowski S, Sulkowska M. Alveolar cells in cyclophosphamide-induced lung injury. II. Pathogenesis of experimental endogenous lipid pneumonia. *Histol Histopathol* 1999; 14: 1145–1152.
25. Hruban Z. Pulmonary and generalized lysosomal storage induced by amphiphilic drugs. *Environ Health Perspect* 1984; 55: 53–76.
26. Hook GE. Alveolar proteinosis and phospholipidoses of the lungs. *Toxicol Pathol* 1991; 19: 483–513.
27. Shah PL, Hansell D, Lawson PR et al. Pulmonary alveolar proteinosis: clinical aspects and current concepts on pathogenesis. *Thorax* 2000; 55: 67–77.
28. Stanley E, Lieschke GJ, Grail D et al. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor-deficient mice show no major perturbation of hematopoiesis but develop a characteristic pulmonary pathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5592–5596.
29. Bonfield TL, Raychaudhuri B, Malur A et al. PU.1 regulation of human alveolar macrophage differentiation requires granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 285: L1132–L1136.
30. Huffman JA, Hull WM, Dranoff G et al. Pulmonary epithelial cell expression of GM-CSF corrects the alveolar proteinosis in GM-CSF-deficient mice. *J Clin Invest* 1996; 97: 649–655.
31. Nishinakamura R, Wiler R, Dirksen U et al. The pulmonary alveolar proteinosis in granulocyte macrophage colony-stimulating factor/interleukins 3/5 beta c receptor-deficient mice is reversed by bone marrow transplantation. *J Exp Med* 1996; 183: 2657–2662.
32. Reed JA, Ikegami M, Cianciolo ER et al. Aerosolized GM-CSF ameliorates pulmonary alveolar proteinosis in GM-CSF-deficient mice. *Am J Physiol* 1999; 276: L556–L563.
33. LeVine AM, Reed JA, Kurak KE et al. GM-CSF-deficient mice are susceptible to pulmonary group B streptococcal infection. *J Clin Invest* 1999; 103: 563–569.
34. Paine III R, Preston AM, Wilcoxon S et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the innate immune response to *Pneumocystis carinii* pneumonia in mice. *J Immunol* 2000; 164: 2602–2609.
35. Kitamura T, Tanaka N, Watanabe J et al. Idiopathic pulmonary alveolar proteinosis as an autoimmune disease with neutralizing antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 1999; 190: 875–880.
36. Carraway MS, Ghio AJ, Carter JD et al. Detection of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1294–1299.
37. Brasch F, Birzele J, Ochs M et al. Surfactant proteins in pulmonary alveolar proteinosis in adults. *Eur Respir J* 2004; 24: 426–435.
38. Russi EW, Boehler A. Pulmonary alveolar proteinosis. *Orphanet encyclopedia* 2004. <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-pap.pdf>
39. Homolka J, Votava V. Intersticiální plicní procesy. 1. ed. Praha: Maxdorf 1999: 119–123.
40. Martin RJ, Rogers RM, Myers MN. Pulmonary alveolar proteinosis: shunt fraction and lactic acid dehydrogenase concentration as aids to diagnosis. *Am Rev Respir Dis* 1978; 117: 1059–1062.
41. Nakajima M, Manabe T, Niki Y et al. Serum KL-6 level as a monitoring marker in a patient with pulmonary alveolar proteinosis. *Thorax* 1998; 53: 809–811.
42. Nara M, Sano K, Ogawa H et al. Serum antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and KL-6 in idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. *Tohoku J Exp Med* 2006; 208: 349–354.
43. Venkateshiah SB, Yan TD, Bonfield TL et al. An open-label trial of granulocyte macrophage colony stimulating factor therapy for moderate symptomatic

pulmonary alveolar proteinosis. Chest 2006; 130: 227–237.

44. Lin FC, Chang GD, Chern MS et al. Clinical significance of anti-GM-CSF antibodies in idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. Thorax 2006; 61: 528–534.
45. Klech H, Hutter C. Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. Eur Respir J 1990; 3: 937–974.
46. Wang BM, Stern EJ, Schmidt RA et al. Diagnosing pulmonary alveolar proteinosis: a review and an update. Chest 1997; 111: 460–466.
47. Mikami T, Yamamoto Y, Yokoyama M et al. Pulmonary alveolar proteinosis: diagnosis using routinely processed smears of bronchoalveolar lavage fluid. J Clin Pathol 1997; 50: 981–984.
48. Chang SC, Lin FC, Chen YC. Inflammatory markers in bronchoalveolar lavage fluid of patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. Chest 2005; 128(Suppl 4): 169.
49. Hashizume T. Pulmonary alveolar proteinosis successfully treated with ambroxol. Intern Med 2002; 41: 1175–1178.
50. Jay SJ. Pulmonary alveolar proteinosis: successful treatment with aerosolized trypsin. Am J Med 1979; 66: 348–354.
51. Ramirez J, Schultz RB, Dutton RE. Pulmonary alveolar proteinosis: A new technique and rationale for treatment. Arch Intern Med 1963; 112: 419–431.
52. Hoffmann RM, Dauber JM, Rogers RM. Improvement in alveolar macrophage migration after therapeutic whole lung lavage in pulmonary alveolar proteinosis. Am Rev Respir Dis 1989; 139: 1030–1032.
53. Kavuru MS. Therapeutic whole lung lavage. Chest 2002; 122: 1123–1124.
54. Homolka J, Jansa P, Střiteský M et al. První úspěšná léčebná plicní laváž u plicní alveolární proteinózy v České republice. Čas Lék Čes 2001; 140: 406–408.
55. Beccaria M, Luisetti M, Rodi G et al. Long-term durable benefit after whole lung lavage in pulmonary alveolar proteinosis. Eur Respir J 2004; 23: 526–531.
56. Jansen HM, Zuurmond WW, Roos CM et al. Whole-lung lavage under hyperbaric oxygen conditions for alveolar proteinosis with respiratory failure. Chest 1987; 91: 829–832.
57. Cheng SL, Chang HT, Lau HP et al. Pulmonary alveolar proteinosis: treatment by bronchofiberscopic lobar lavage. Chest 2002; 122: 1480–1485.
58. Seymour JF, Presneill JJ, Schoch OD et al. Therapeutic efficacy of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with idiopathic acquired alveolar proteinosis. Am J Respir Crit Care Med 2001; 163: 524–531.
59. Kavuru MS, Sullivan EJ, Piccin R. Exogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor administration for pulmonary alveolar proteinosis. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161: 1143–1148.
60. Wylam ME, Ten R, Prakash UBS et al. Aerosol granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for pulmonary alveolar proteinosis. Eur Respir J 2006; 27: 585–593.
61. Parker LA, Novotny DB. Recurrent alveolar proteinosis following double lung transplantation. Chest 1997; 111: 1457–1458.

MUDr. Beáta Huttyrová, Ph.D.

www.fnol.cz

e-mail: Beata.Huttyrova@seznam.cz

Doručeno do redakce: 19. 1. 2007

Přijato po recenzi: 13. 4. 2007

www.kardiologickarevue.cz