

Reminiscence k stoletému výročí objevu Whippleovy nemoci: souborný referát

†Z. Kojecký¹, L. Benýšek¹, I. Krč¹, J. Ehrmann¹, R. Kodoušek², J. Malínský³

¹ II. interní klinika Lékařské fakulty UP a FN Olomouc, přednosta doc. MUDr. Vlastimil Procházka, CSc.

² Ústav patologie Lékařské fakulty UP a FN Olomouc, přednosta doc. MUDr. Martin Tichý, CSc.

³ Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty UP Olomouc, přednosta prof. MUDr. Václav Lichnovský, DrSc.

Souhrn: Onemocnění nazvané eponymicky v odborné lékařské literatuře Whippleova nemoc (Whipple's disease – WD) popsal ze-
vrubně v roce 1907 americký lékař – patolog dr. George Hoyot Whipple (1878–1976) a označil je prozatímním názvem „intesti-
nální lipodystrofie“. Podle literatury je WD vzácná, ale přesná incidence nebyla zatím stanovena. Přípouští se familiární výskyt
předpokládající imunogenetický základ v její patogenезi. Výskyt WD je pozorován převážně u mužů středního věku (průměrný věk
55 let), výjimečně pak v dětském věku – u mužů a žen v poměru 3–6 : 1. Těžištěm klinického nálezu je symptomatologie v oblasti
GIT, vzácněji pak extraintestinální. Klinická symptomatologie zahrnuje: abdominální bolesti spojené s trvalými průjmy (steatorea),
projevy malabsorpčního rázu s úbytkem váhy, horečky, polyartritické obtíže, zvětšení lymfatických uzlin a u části pacientů hy-
perpigmentaci kůže. V laboratorních nálezech je zejména patrna anémie, hypoalbuminémie (snížení IgA). Vzácnější extraintesti-
nální projevy nemoci mají s různorodou symptomatologií: kardiální léze, cerebrální léze, oční příznaky, výrazné až tumoriformní
zvětšení lymfatických uzlin, léze v hemopoetickém systému. Klinický průběh WD má progredientní, případně remitující ráz a bez
léčby končí smrtí nemocného. Průběh a prognóza WD jsou výrazně pozitivně (až v 90 % případů) ovlivněny dlouhodobou léčbou
antibiotiky, a to především kombinací tetracyklinů (doxycyklin) a kortikoidů (dexametazon); v případě cerebrální léze chloramfe-
nikol. Z hlediska patologie WD se jedná o multisystémové infekční onemocnění (*Tropheryma whipplei*) týkající se především GIT, pří-
padně různých extraintestinálních lokalit. Vzhledem ke známé variabilitě klinických projevů WD nebyl zatím ustaven její klinicko-
diagnostický standard. Diferenciální diagnostika zahrnuje různá multisystémová onemocnění, v prvé řadě maligní lymfomy (ze-
jména Hodgkinovu chorobu). Z patogenetického hlediska lze předpokládat buď defekt určitého cytokinu (ev. TNFα) aktivujícího
makrofágy k fagocytóze, nebo při jeho normální tvorbě poruchu či defekt příslušného receptoru v buněčné membráně makrofágů.
Identifikace „Whippleovy bakterie“ – *Tropheryma whipplei* – jakožto gen. nov. et sp. nov. se zdařila na základě moderních moleku-
lárně biologických výzkumných metodických postupů. Její kultivace umožnila nejen získávání specifické protilátky, ale i detailní po-
znání jejího genomu (PCR, sekvencování 16S rRNA).

Klíčová slova: Whippleova nemoc – etiopatogeneze – *Tropheryma whipplei* – terapie antibiotiky

Reminiscences on the occasion of the Whipple's disease centenary: a summary paper

Summary: The disease referred to eponymically as Whipple's disease (WD) in medical literature was thoroughly described by the
American physician and pathologist George Hoyot Whipple (1878–1976) in 1907 and given a temporary denomination of „intes-
tinal lipodystrophy“. According to literature, WD is rare, but its precise incidence has not yet been established. Familial incidence
of the disease is acknowledged, and its immunogenetic pathogenesis is assumed. The incidence of WD is prevailingly observed in
middle-aged men (mean age 55), exceptionally at child age – the ratio being 3 to 6 for men and women, respectively. 1. Clinical
diagnosis is based on symptoms in the GIT region and, in rare cases, on extraintestinal symptoms. Clinical symptomatology
includes: abdominal pain with persistent diarrhoea (steatorrhoea), symptoms typical of malabsorption connected with weight
loss, fevers, polyarthritic symptoms, swollen lymph nodes and, in part of patients, skin hyperpigmentation. Anaemia and hypoal-
buminaemia (reduced IgA) are typically detected in laboratory tests. Rarer extraintestinal symptoms of the disease are of a diverse
nature: cardiac lesions, cerebral lesions, ocular symptoms, conspicuous or even tumour-like enlargement of lymph nodes, lesions
of the hemopoietic system. The clinical course of WD is of progressive or remittent nature and the disease is fatal without treat-
ment. Long-term therapy with antibiotics, especially a combination of tetracyclines (doxycycline) and corticoids (dexametazone),
or chloramphenicol in case of cerebral lesion, have a significantly positive effect on the course and prognosis of WD. From the
point of view of pathology, WD is a multisystem infectious disease (*Tropheryma whipplei*) primarily affecting the GIT (39, 47, 52,
103) or different extraintestinal locations. Due to the known diversity of clinical symptoms, no clinical-diagnostic standard has
been established for WD. Differential diagnosis includes different multisystem diseases, primarily malignant lymphomas (espe-
cially Hodgkin's disease). From the pathogenetic point of view, we can either assume the effect of a particular cytokine (or TNFα)
activating macrophage phagocytosis or, if its production is normal, a disorder or defect of the respective receptor in the
macrophage cellular membrane. The identification of „Whipple's bacteria“ – *Tropheryma whipplei* – gen. nov. et sp. nov. was made
possible by modern molecular biology research methodologies. Its cultivation allows both for the acquisition of the specific anti-
body and of detailed knowledge of its genome (PCR, 16S rRNA sequencing).

Key words: Whipple's disease – etiopathogenesis – *Tropheryma whipplei* – therapy with antibiotics

Úvod

V současné době jsme svědky dlouhé stoleté historie významného objevu v medicíně, totiž onemocnění nazvaného eponymicky v odborné lékařské literatuře a praxi po jeho objeviteli jako **Whippleova nemoc** [100]. Toto svérázné onemocnění popsal zevrubně v roce 1907 americký lékař – patolog Dr. George Hoyot Whipple (1878 až 1976) a označil s jistotou výhradou – do doby, než bude známa jeho etiologie – názvem „intestinální lipodystrofie“. Onemocnění se týkalo 36letého muže s projevy migratorní polyartritidy, diareou, malabsorpcí, úbytkem na váze, horečkou a lymfadenomegalií. Dr. Whipple se již před tím dlouhodobě úspěšně angažoval ve výzkumu, a v roce 1934 se stal nositelem Nobelovy ceny udělené v oblasti fyziologie a medicíny (společně s dr. G. Minotem a dr. W. Murphym) za práce vedoucí později k objevu jaterních extraktů a vitamínu B₁₂ s úspěšným využitím v léčbě perniciózní anémie. Kromě experimentálních prací v oblasti výzkumu krvetvorby je možno dále připomenout i jeho pojmenování Cooleyovy mediteránní anémie dosud používaným názvem „talasemie“ [73].

Vedle zmíněného a v dnešním lékařském světě všeobecně přijatého prioritně eponymického označení „Whippleova nemoc“ se uvádí [71] alternativně též zpráva o stejném onemocnění, zveřejněná v Anglii již v roce 1895, jejímiž autory byli Allchin a Hebb [3]. Zpráva se týkala pitvy 38letého pacienta, u něhož předcházely příznaky diarey, malabsorpce, kachexie s následným exitem po 3měsíčním průběhu onemocnění. Pitevnický nález hodnocen ve smyslu obstrukce lymfatických cév v oblasti tenkého střeva a mezenterálních lymfatických uzlin nejasné geneze. Makroanatomický preparát střeva, uložený v Patologickém muzeu lékařské školy ve Westminsteru, byl následně histologicky vyšetřen a shledána obdoba s nálezy u intestinální lipodystrofie, včetně PAS-pozitivních makrofágů v mezenterální lym-

fatické uzlině [71,102]. Věk, klinické projevy a patologický nález u zemřelého pacienta byly s popisem Whippleovy intestinální lipodystrofie natolik shodné, že v obou případech šlo spíše jen o odlišnost v rozsahu formulovaných popisů nemoci.

V následujícím připomeneme některé novější poznatky o Whippleově nemoci, jak byly získány v průběhu nedávných let, zejména pak novější názory vztahující se k etiologii, patogenezi a laboratorní diagnostice tohoto onemocnění.

Klinika a patologie Whippleovy nemoci

Těžištěm **klinického nálezu** je symptomatologie ze strany GIT, i když vzácněji se vyskytující extraintestinální projevy nemoci mohou být rovněž závažné a mohou stát v popředí klinického obrazu; tato okolnost pak ztěžuje a časově oddaluje rozpoznání a léčbu základního onemocnění.

Popis klinického obrazu nemoci uvedený v původní Whippleově publikaci z roku 1907 je překvapivě vyčerpávající a extenzivně detailní, takže i z dnešního 100letého odstupe se jeví pro současné lékaře zajímavý. Podle Whipplem publikovaných údajů [100] byl nemocným 38letý lékař, který pracoval jako „misionář na Východě“, převážně pak v tehdejší Konstantinopoli (1890), a přicházel často do styku s nemocnými tuberkulózou. Zhruba po 5 letech od příchodu do Turecka byl konstatován začátek onemocnění charakterizovaného atakami bolesti a zánětlivého zduření kloubů v různých částech těla, s úbytkem na váze a později kašlem s expektorací žlutavého hlenu. Po návratu do USA (1906) došlo k dalšímu zhoršení stavu, objevily se teploty, opakující se průjemy a zvětšení objemu břicha s palpačním nálezem „špatně definovaného tumoru v pravé paraumbilikální krajině“. Byla provedena explorativní laparotomie s nálezem značného zvětšení mezenterálních a retroperitoneálních uzlin. Z tohoto operačního

nálezu byl učiněn klinický diagnostický závěr ve smyslu TBC mezenterálních uzlin. Pacient zemřel náhle za 2 dny po operaci (asi po 8letém průběhu nemoci). Provedená pitva odhalila výrazné postižení tenkého střeva, jeho dilataci a zduření červeně zbarvené sliznice, v níž byly patrné velmi četné žlutavé skvrnitě granulární okrsky s depozity tukových látek. Lymfatické uzliny mezenterální a retroperitoneální byly zvětšeny až do velikosti 4 cm, zčásti cysticky změněny, rovněž s obdobnými skvrnitými ložisky tukových látek.

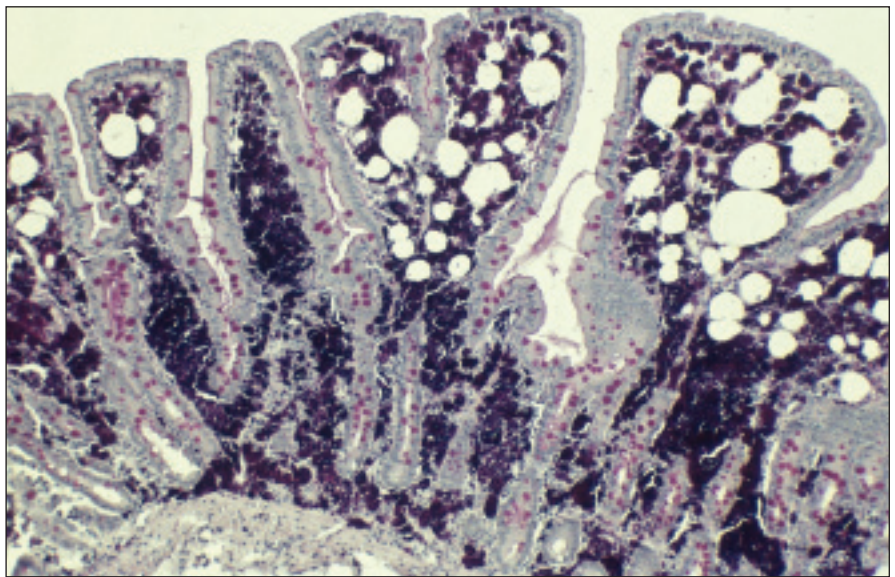
V mikroskopickém popisu střevních změn Whipple uvádí depozita tuku v lamina propria a v submukóze střeva, dále přítomnost mastných kyselin (ve zmrazeném řezu) ve formě jehlicovitě rozetovitých útvarů. Zmiňuje se také o ektázii lymfatických cév a zejména zevrubně o výskytu velkých (20–30 µm) mononukleárních buněk s pěnovitě vakuolizovanou, lipidy obsahující cytoplazmou, lokalizovaných ve sliznici s převahou na vrcholcích klků. Whipple považoval tyto elementy za abnormální nález ve střevní lokalizaci.

Velmi sugestivně působí Whippleův popis změn v **lymfatických uzlinách**, kde kromě depozit tukových látek a mikrokavitárních struktur (opticky prázdné dutinky po vyplavených lipidech a dilatace lymfatických cév) poukázal rovněž na přítomnost **velkých pěnovitých mononukleárních** a obrovských buněk. V preparátu z mezenterické lymfatické uzliny impregnovaném stříbrící **metodou podle Levaditiho** (užívané jako bloková impregnace k průkazu spirochet – pozn. autora) pak Whipple prokázal přítomnost černě zbarvených tyčinkovitých útvarů („rod-shaped organism“), upomínajících tvarově na tuberkulózní bacily. Tyto mikrofotograficky dokumentované útvary se vyskytovaly ve vysokém počtu zejména v cytoplazmě spumoidních mononukleárních, kde docházelo k jejich shlukování a v důsledku předpokládaného natrávení ke ztrátě jejich obrysů. Z tohoto v tehdejší době

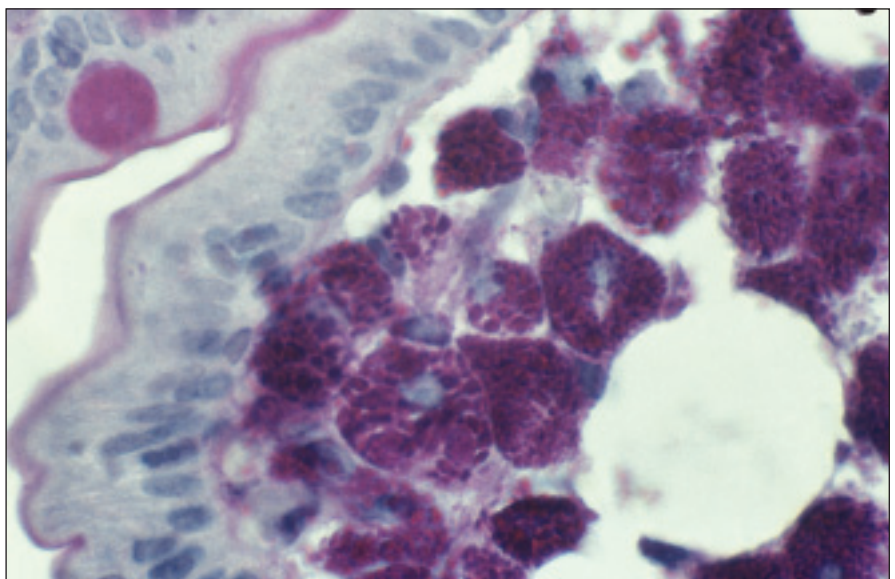
zcela ojedinělého nálezu Whipple nepovažoval v daném případě za oprávněné – i přes vysokou pravděpodobnost hodnocení – učinit bezvýhradně platný závěr ve smyslu bakteriální etiologie popsaného onemocnění.

Vývoj názorů na podstatu nemoci byl po dlouhá léta ovlivněn původní představou o **metabolické dystrofii**, i když sám autor objevené nemoci uvažoval – jak uvedeno výše – o jejím bakteriálním původu. Upřesnění názorů na podstatu nemoci přinesla teprve **elektronově mikroskopická vyšetření** a jejich výsledky týkající se **přímého průkazu bakterií** v makrofagických buňkách i volně v lamina propria střevní sliznice – Cheers a Ashworth 1961 [39], Yardley a Hendrix 1961 [103], Kođousek et al 1962 [47–49], Kojecký et al 1964 [52–53]. Dále pak získání jejich **kmenů v kulturách** – viz *Corynebacterium anaerobium Caroli* 1963 [10], Maršálek 1964 [67] – bakteriální kultura s vláknitě strukturovanými mikroby hodnocená jako *Nocardia pulmonalis* sp. – citace viz Kojecký et al 1964 [52], a zejména **kmenů v kulturách pasážovatelných** – Raoult et al 2000 [77–78] – s umožněním nového klasifikačního zařazení na základě **PCR a sekvenční analýzy genomu**, vedoucích k novému pojmenování *Tropheryma whipplei* – LaScola et al [60], Raoult et al [79], Bentley et al 2003 [7]. Mimořádně významné poznatky byly získány v současné době na základě **molekulárně biologických analýz** a testů zavedených do diagnostické praxe. Bližší údaje týkající se diagnostiky a etiopatogeneze jsou uvedeny níže.

V literatuře se uvádí **vzácnost výskytu Whippleovy nemoci**, ale přesná incidence nebyla zatím stanovena [15]. Je možný i familiární výskyt připouštějící imunogenetický základ v její patogenezi [113]. Výskyt Whippleovy nemoci je pozorován převážně u mužů středního věku, v průměru 55 let; výjimečně byl zaznamenán výskyt v samém dětském věku [5]. Poměr vý-



Obr. 1. Whippleova nemoc. Enterobiopsie sliznice duodena u 42letého muže, vykazující typický histologický obraz Whippleovy nemoci, charakterizovaný oploštěním vrcholů klků, masivní přítomností PAS-pozitivních makrofágů v lamina propria, četných lymfangiektázií a opticky prázdných dutinek po vyplavených tukových látkách. Mifo K-21872. Reakce PAS. Orig. Zvětš. 75×(lin.x 1,3).

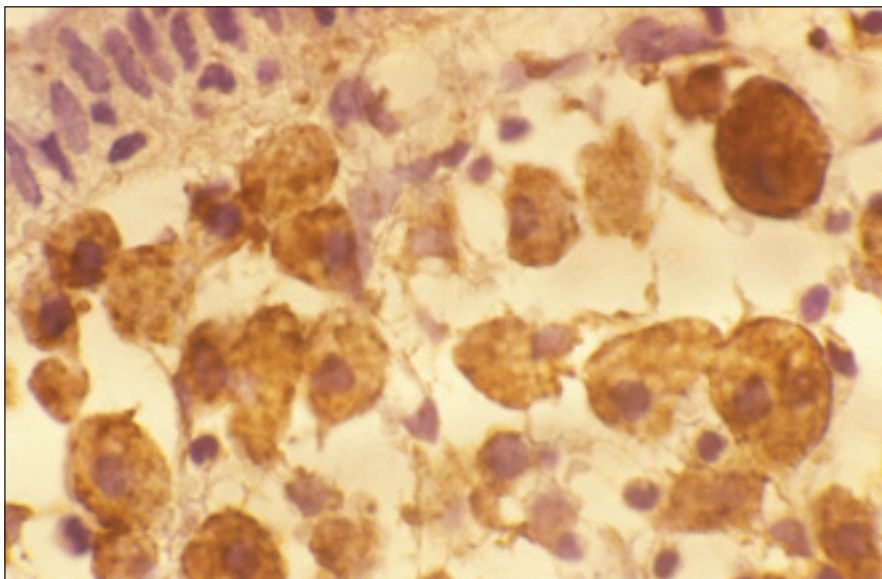


Obr. 2. Masivní přítomnost PAS+ makrofágů v lamina propria střevní sliznice u Whippleovy nemoci. Makrofágy mají v cytoplasmě výrazně PAS+ hrubá granula. Dále jsou též patrné mikrocystické slizniční změny jako v obr. 1. H-7805/65. Mifo LH-21874. Reakce PAS. Orig. Zvětš. 490×(lin.x 1,4).

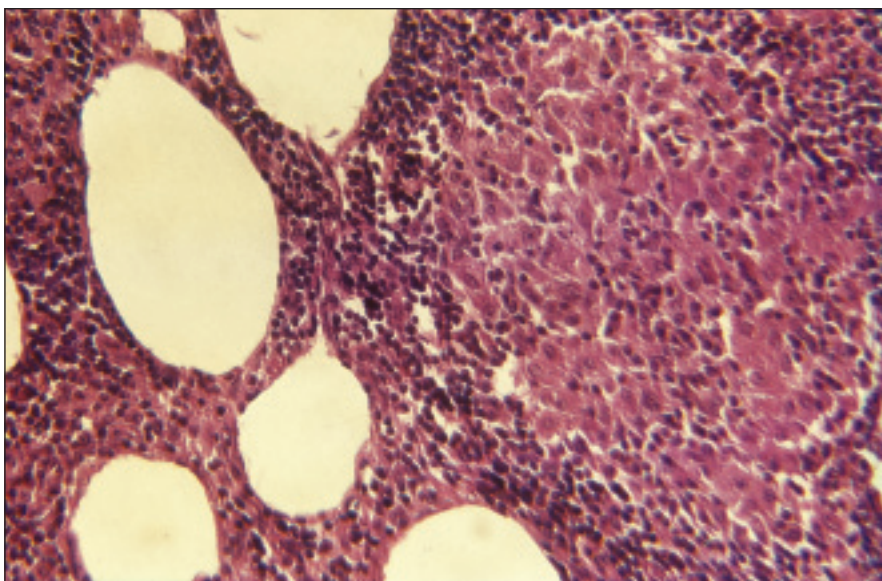
skytu u mužů a žen se uvádí v hodnotách 3–6 : 1 [6,17].

Klinická symptomatologie dle literárních údajů [14,30,65], velkých klinických sestav [19,65] a vlastních případů pozorování [52,53,55] je ve zkratce následující: abdominální bolesti spojené s trvalými průjmy (steatorea), projevy malabsorpčního rázu s úbyt-

kem váhy, dále horečky, polyartritické obtíže, zvětšení lymfatických uzlin a u části pacientů hyperpigmentace kůže. V laboratorních nálezech pak zejména patrna anémie, hypoalbuminemie (snížení IgA) aj. Vyskytují se vzácněji též **extraintestinální projevy nemoci** a její **multisystémové formy** [28, 93] s různorodou symptomatologií:



Obr. 3. Whippleovy makrofágy obsahují účinné lyzozomální proteázy podílející se na likvidaci intracelulárních bakterií. V daném případě šlo o průkaz aspartát proteinázy katepsinu D v enterobiopsickém vzorku. H-12719/88. Mifo LH-34571. Katepsin D. Zvětš. 300×(lin.x 1,1).



Obr. 4. Zvětšená regionální mezenterická lymfatická uzlina 36letého pacienta s Whippleovou nemocí. V histologickém preparátu jsou patrné jednak epitelioidně granulomatózní reakce (na snímku vpravo) a dále výrazné cystické změny (opticky prázdné mikrokavitární struktury). H-4893/62. Mifo LH-13902. HE. Zvětš. 90×(lin.x 1,1).

- a) **kardiální léze** – infekční endokarditis, myokarditis, perikarditis, pankarditis [18,21,66,80]
- b) **cerebrální léze** – tzv. Whippleova encefalopatie [43–46,59,92,94] – mikrogranulomatózní encefalitis s neurologicko-psychiatrickou symptomatologií

- c) **oční příznaky** [83] Srdeční a nervová varianta mohou dominovat v klinice samostatně i bez klinických příznaků v GIT [18,66].
- d) výrazné až tumoriformní **zvětšení lymfatických uzlin** mezenterálních a retroperitoneálních, dále i uzlin periferních [52,55,100]

e) vzácněji se jedná o **poškození různých vnitřních orgánů** – plíce [89], ev. i kůže [88]

f) **léze v hemopoetickém systému**, zejména kostní dřeň [5,28]

Klinický průběh Whippleovy nemoci má progredientní, případně remitující ráz a bez léčby končí smrtí nemocného [14]. V klinickém obraze jsou uváděna následující stadia:

V **iniciální fázi** lze zjistit nespecifické celkové příznaky – únava, úbytek na váze, polyartritida, horečky. Dále příznaky v oblasti GIT – bolesti břicha, diareja (steatorea, malabsorpce). Objevuje se také anémie a jiné nespecifické projevy.

Onemocnění ve stavu progresu se zvýrazněním uvedených příznaků, zejména v oblasti GIT – malabsorpce, diareja, kachektizace, dále možnost multisystémového poškození, lymfadenopatie.

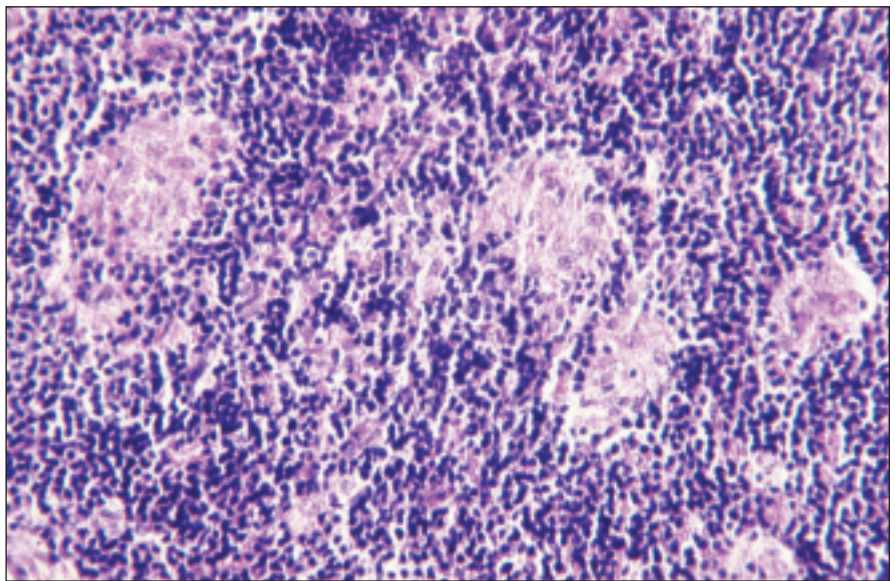
V **terminálním stadiu** se přidružují komplikující projevy v CNS (granulomatózní encefalitis), dále kardiální poruchy (bakteriální endomyokarditis, ev. pankarditis), případně i septický šok [72]. Tyto závažné komplikace vyplývají zčásti z pozdního stanovení diagnózy a následné časové prodlevy v zahájení účinné antibiotické terapie. **Chronický průběh** Whippleovy nemoci charakterizují střídající se **remise** a **exacerbace**, perzistující infekce v makrofázích v důsledku inhibice jejich baktericidního účinku.

Průběh a prognóza Whippleovy nemoci jsou výrazně pozitivně (až v 90 % případů) ovlivněny **léčbou antibiotiky** použitou již v roce 1964 [74,75] – a to především kombinací tetracyklinů (doxycylin) a kortikoidů (dexametazon); v případě cerebrální léze byl použit chloramfenikol, který dobře proniká do CNS. Z aplikovaných léků bylo mimo obvyklé dlouhodobé nasazení aureomycinu [41], streptomycinu v kombinaci s dexametazonem [32], kotrimoxazolem po dobu 1 roku [32]; viz též nověji indikovanou léčbu [68,70]. **Dlouhodobé mnohaměsíční až jednorocní provádění léčby** je nezby-

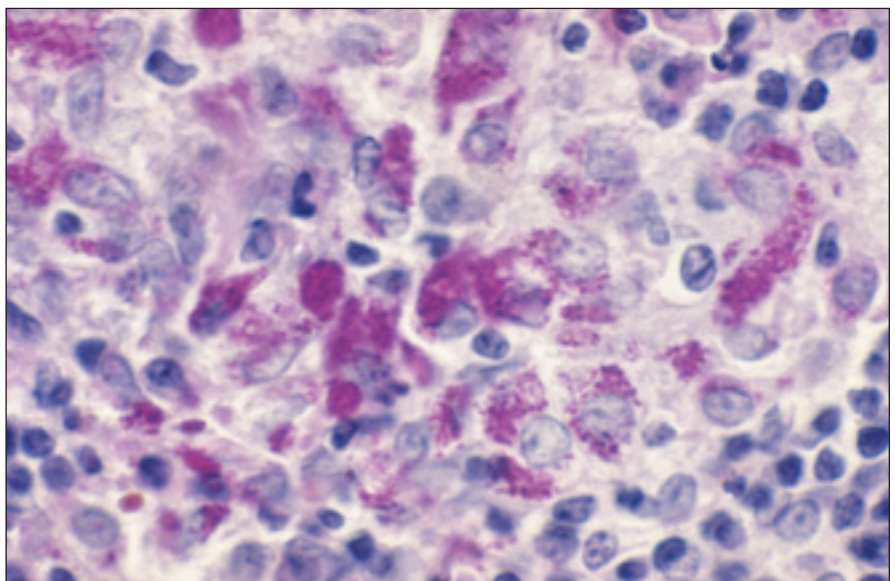
tým předpokladem terapeutického úspěchu vedoucího k navození remise. Jsou však případy na podanou terapii vysloveně **rezistentní**, ev. v delším průběhu přes prolongovanou terapii přecházející (asi v 5–30 %) do **relapsu** [72] a **exacerbací**, přičemž bakteriální agens zůstává v postižené tkáňové lokalizaci trvale přítomno [15]. Po terapii antibiotiky jistou dobu přetrvává, následně se postupně redukuje bioticky počet infiltrujících PAS-pozitivních makrofágů a elektronově mikroskopický nálezn; naproti tomu PCR je již krátce po antibiotické terapii negativní [6,76]. V refrakterních případech Whippleovy nemoci na konvenční léčbu byl zaznamenán též pozitivní výsledek s užitím interferonu γ (INF γ) [90,91].

Z hlediska **patologie Whippleovy nemoci** jde o multisystémové [28,37,93] infekční onemocnění (*Tropheryma whipplei*) týkající se především GIT [39,47,52,103], dále různých extraintestinálních lokalit, zejména kloubů, srdce, mozku, lymfatických uzlin, kůže aj [88]. Patologické projevy onemocnění jsou vcelku dobře známy, přičemž biopsie s následnou histologickou a histochemickou verifikací (zejména reakce PAS) patří i dnes do základního diagnostického postupu. V tomto ohledu jde především o **průkaz PAS-pozitivních makrofágů v lamina propria střevní sliznice** (distální část duodena, proximální partie jejunu), méně obvykle v žaludku a tlustém střevě. Dále v různých extraintestinálních lokalizacích (kloubní synovie, srdce, mozek aj). Kromě střevní léze je v popředí patologického nálezu lymfadenopatie ve formě výrazného zvětšení mezenterálních, retroperitoneálních a také periferních lymfatických uzlin.

Výskyt PAS-pozitivních makrofágů ve střevní sliznici byl u Whippleovy nemoci zevrubně sledován již po mnohá desetiletí. Jejich granulární PAS-pozitivní obsah je rezistentní vůči natrávení amylázou [37,87]. V imuno-



Obr. 5. Axilární lymfatická uzlina u 46letého pacienta s Whippleovou nemocí s výskytem roztroušených epitelioidních uzlíků připomínajících histologicky nekazeifikující granulomy u sarkoidózy. V-5456/88. Mifo LH-27199. HE. Zvětš. 90×(lin.x 1,2).



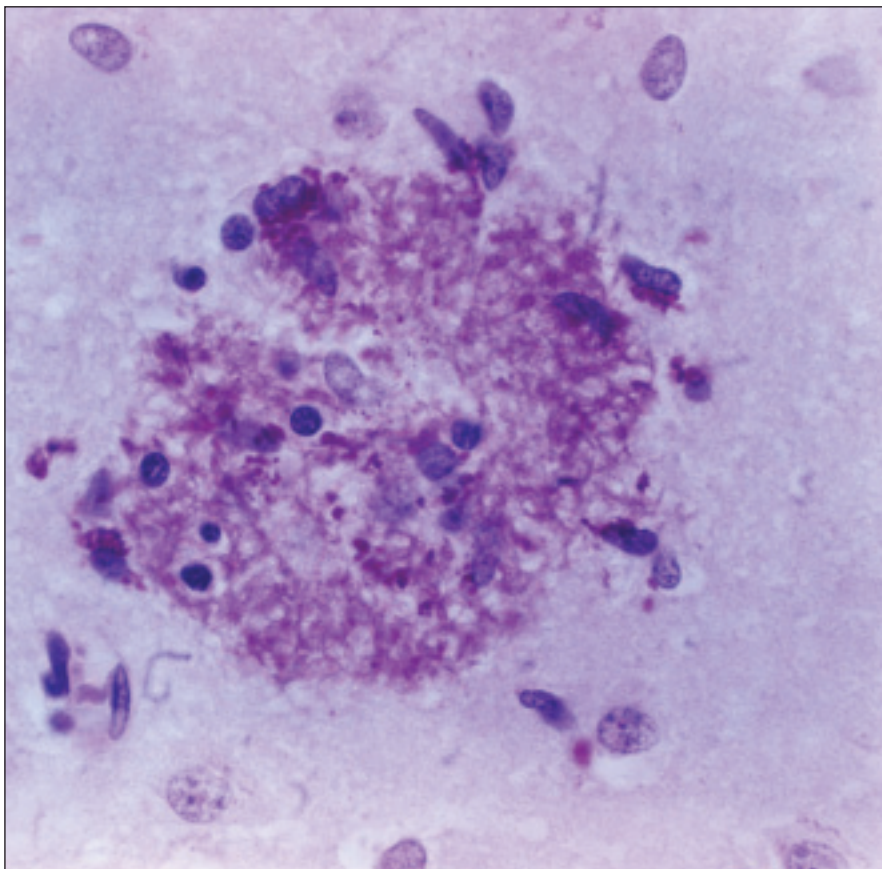
Obr. 6. Lymfatická uzlina jako v obr. 5 s výraznou granulární PAS-pozitivitou epitelioidních elementů v rozsahu uzlíkovitých struktur. Kromě uvedené PAS+ byly tyto epitelioidní histiocyty též Grocott+ a Warthin-Starry + i v následné enterobiopsii. H-5456/88. Mifo LH-27210. PAS. Zvětš. 300×(lin.x 1,1).

histologickém vyšetření reagují tyto makrofágy pozitivně kupř. s imunomarkery na CD68 (+++), katepsin D (++), katepsin B (+), lysozym (+) a α -1-ACT (+). Obsah bakterií v jejich cytoplazmě je nápadně vysoký, zejména u neléčených případů, u nichž je také hojnější výskyt zaznamenáván i v extracelulárním prostoru, a dokonce i v leukocytech. Volně se vyskytující

bakterie jsou v těchto případech přítomny bez zřetelnější reakce.

K histopatologické diagnóze „střevní formy“ Whippleovy nemoci patří kromě přítomnosti lipidů zejména následující trias změn přítomných v asi 80 % všech případů onemocnění [6]:

- změny na reliéfu střevní sliznice („club-shaped villi“ až ztráta mikrovilozit)



Obr. 7. Whippleova nemoc – cerebrální léze. Čerstvá „bakteriální plaka“ ve tkáni mozku charakterizovaná její výraznou PAS+. Toto „stadium plaky“ jeví jen zcela nepatrnou reaktivně celulární odezvu. N-1484/66XLVI. Mifo LH-309. PAS. Zvětš. 440×(lin.x 1,6).

- přítomnost lymfangiektázií, a zejména
- infiltrace lamina propria výrazně PAS-pozitivními histiocytárními makrofágy (zde stejný obraz jako při použití imunoperoxidázové metody k průkazu *Tropheryma whipplei*).

Bakterioskopicky (Gramova-Weigertova a Grocottova metoda) jsou v makrofázích prokazatelné bakterie již v optickém mikroskopu, ev. jejich natrávené zbytky ve formě PAS-pozitivních granulárních či srpkovitých útvarů (Sierackiho „sicle shaped particles“). Četnost výskytu Whippleových bakterií ve střevě je topicky různá [65]: bakterie jsou přítomny jak v enterocytech, tak ve vysokém počtu v lamina propria a v endotelu lymfatických cév jako v enterocytech.

Případy zahrnující „extraintestinální formy“ jsou rovněž charakteri-

zovány obdobným histopatologickým obrazem, modifikovaným základní strukturou postiženého orgánu či tkáně (jde o léze v lymfatických uzlinách, myokardu či endokardu, mozku, v kloubní synovii, kostní dřeni, vzácně v plicích, slezině, játrech, oku aj).

V lymfatických uzlinách lze prokázat nekazeifikující epiteloidní uzlíky, nezděná podobné lézím při sarkoidóze, granulomy s obsahem PAS-pozitivních histiocytárních makrofágů, a konečně i běžné lipogranulomy. Vlastní sarkoidní formy Whippleovy nemoci jsou však vzácné [40,84,86,96] a považovány spíše za projev časné fáze onemocnění. Jsou přítomny též výrazné lymfangiektázie. Nahromadění tukových látek zejména v uzlinách mezenterální oblasti vyvolává spolu se stagnací v lymfatické cirkulaci jejich výrazné až paketovitě tumoriformní zvětšení. V histologickém preparátu

z takovéto uzliny jsou pak po extrakci lipidů během jejího laboratorního zpracování patrný již jen pouhé opticky prázdné kavitární struktury.

Postižení mozku u Whippleovy nemoci. V rámci Whippleovy nemoci představuje léze mozku [43–45,59,94] velmi závažné postižení spojené s neurologicko-psychiatrickými následky. V dřívější době se tato forma označovala jako „Whippleova encefalopatie“ [94]. Patologický nález [43–45,59] je charakterizován přítomností mikrogliálních granulomů, takže lézi lze spíše interpretovat jako granulomatózní encefalitis [92]. Ke stejnému názvu jsme se přiklonili i v hodnocení cerebrální léze u vlastního případu s průkazem mikrogliálních granulomů a četných bakteriálních plaků (vesměs PAS-pozitivních, Gram-Weigert-pozitivních, Grocott-pozitivních, Ziehl-Neelsen-negativních) diagnosticky uzavřeného ve smyslu bakteriální metastatické, mikrogliálně-granulomatózní encefalidity v rámci Whippleovy nemoci.

Závažným, poměrně novým zjištěním, jsou opakovaně verifikované případy bakteriální (*Tropheryma whipplei*) endokarditidy, diagnostikované specifickou PCR, které probíhají někdy bez intestinálních projevů Whippleovy nemoci [66]; stejně tak i případy infekce bioprotéz srdečních chlopní diagnostikované PCR (16SrRNA) a ověřené elektronově mikroskopicky – a to rovněž bez intestinálních projevů Whippleovy choroby [18], jakož i celá řada případů dalších [27].

Přínosem v bioptické diagnostice bylo zavedení imunohistochemického postupu – DeBoulayovy metody [13]. Imunoperoxidázová metoda s použitím primární králičí protilátky proti etiologickému agens (*Tropheryma whipplei*) s následným použitím avidin-biotinového komplexu (ABC) značeným králičí peroxidázou a finální vizualizací pomocí diaminobenzidinu (DAB) [6, 13] umožňuje přímé znázornění bacilů v histologických řezech. Její specifita však není zatím definitivně ověřena, neboť tato metoda poukazuje i na vý-

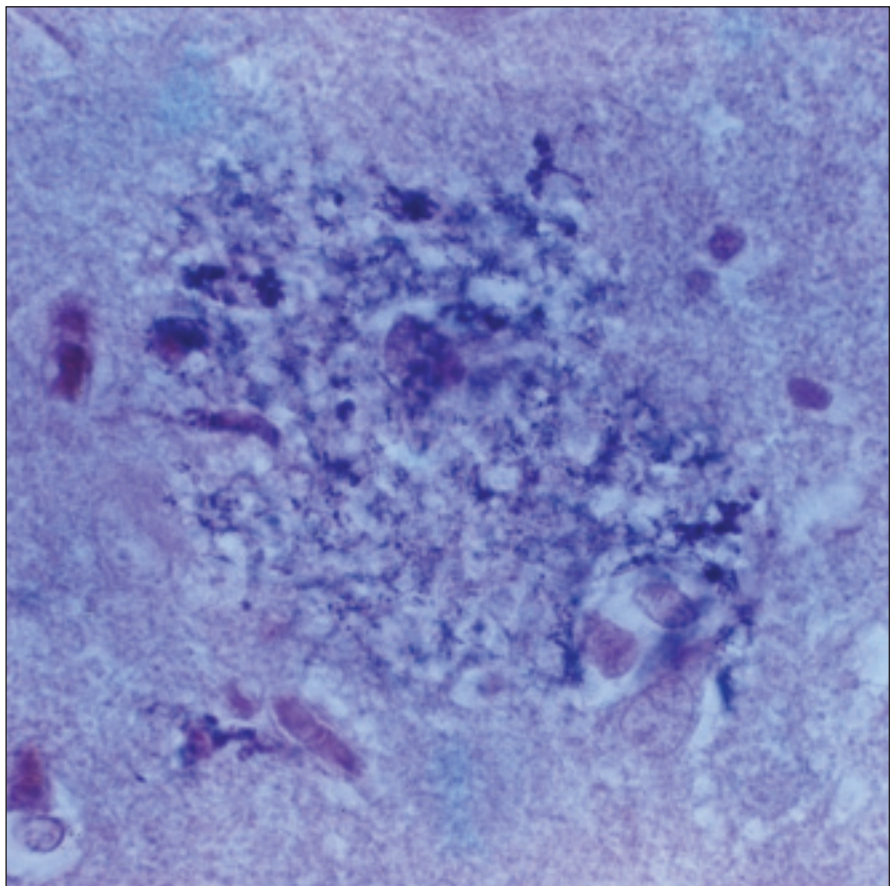
skyt pozitivních reakcí u klinicky zdravých osob bez projevů Whippleova onemocnění.

K relativně rychlému zjištění Whippleovy nemoci a případně kontrole léčby se v současnosti provádí vyšetření **PCR** s průkazem 16SrRNA genu *Tropheryma whipplei* [30], přičemž výsledek tohoto vyšetření se doporučuje doplnit biopsií střevní sliznice (průkaz PAS-pozitivních makrofágů a chylových lymfangiektázií).

K problematice patologie Whippleovy nemoci je ještě nutno dodat, že PAS-pozitivní makrofágy se hojně vyskytují i v některých dalších případech infekcí charakterizovaných „**bakteriální histiocytózou**“. Podle dřívějších nálezů se jednalo zejména o případy tzv. „mykobakteriální histiocytózy“ vyvolané atypickými mykobakteriemi – *Mycobacterium avium intracellulare* [20], *Mycobacterium chelonae* [54] a generalizovanou BCG vakcínou [24]. V uvedených případech šlo však spíše o infekce komplikující stavy vrozené (případ generalizace BCG) ev. získané imunodeficiency. PAS-pozitivní makrofágy lze ovšem také zastihnout i v některých lézích vyvolaných mykopatogeny. Naproti tomu infekce *Tropheryma whipplei* vykazují podle současných výsledků výzkumu zvláštní **transformační defekt makrofágů**, který je **specifický vůči *Tropheryma whipplei*** a podle našeho názoru vede k projevům „**troferymové histiocytózy**“.

Etiologie Whippleovy nemoci

Jak bylo v předchozím textu krátce zmíněno, byly názory na etiologii Whippleovy nemoci po dlouhá desetiletí ovlivněny předpokladem zvláštní formy **intestinální metabolické dystrofie lipidů** přítomných v GIT a mezenterálních uzlinách. Ale ani pozdější domněnky o infekčně bakteriální podstatě nemoci nebyly zcela nové. Jak bylo uvedeno výše, již sám Whipple v originální práci z roku 1907 [100] prokázal pomocí **Levaditího stříbricí impregnační metody** přítomnost **intracelulárních tyčinkovitých útvarů**

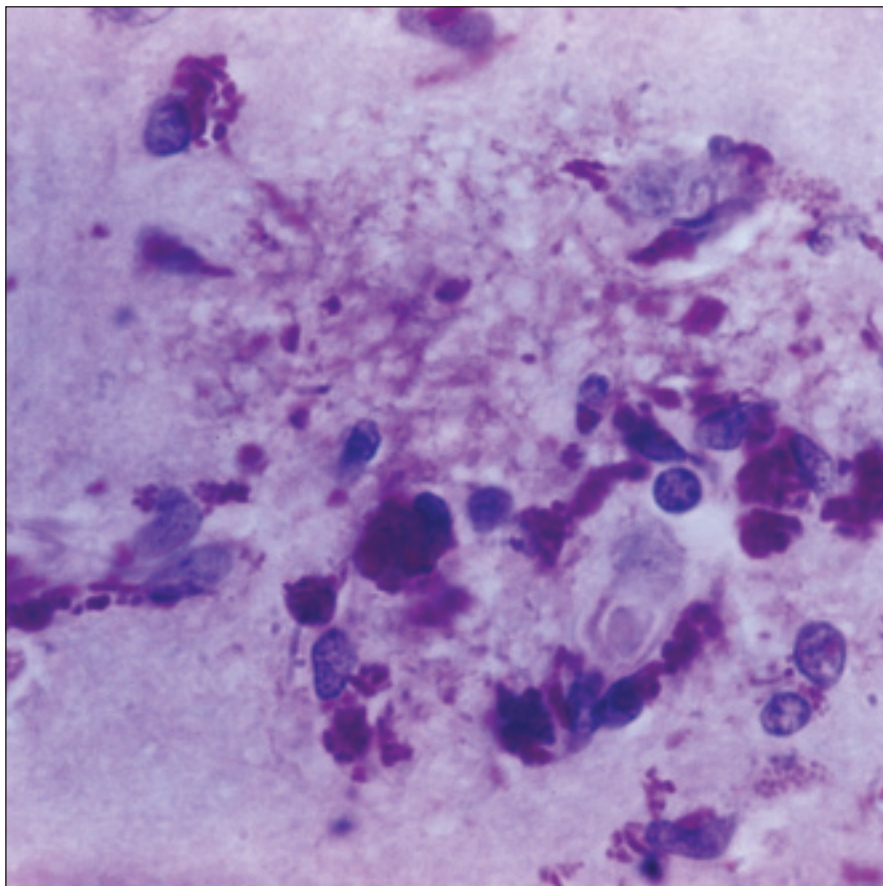


Obr. 8. Obdobný obraz jako sub 3) v Gram-Weigertově metodě. Bakterie tvořící hustou spleť plaky jsou zřetelně Gram+. N-1484/66. Mifo LH-354. Gramova metoda. Zvětš. 440×(lin.x 1,6).

vzhledu tuberkulózních bacilů, aniž byl tento fakt – vzhledem k tehdy ojedinělému případu – vzat do kauzálně patogenetického vztahu ke vzniku onemocnění. Bakteriální agens u Whippleovy nemoci, dominující v současnosti ve výkladu etiologie, je předmětem bezmála půl století trvajícího výzkumného zájmu, zatím co účast případného **virusového agens** je zmiňována jen zcela ojediněle – viz „virus-like particles“ [11] v elektronmikroskopickém nálezu.

Z chronologického aspektu šlo v průkazu bakteriálního agens Whippleovy nemoci ve střevě, uzlinách a CNS zejména následující klíčová sdělení: v roce 1961 podali Cheers a Ashworth [39] elektronově mikroskopický průkaz bacilů ve střevní sliznici. V témže roce publikovali Yardley a Hendrix [103] elektronoptické a opticko-mikroskopické nálezy prokazující „bacillary bodies“ ve střevě u Whipp-

leova onemocnění. V roce 1962 to byl Kurtz et al [56] s elektronově mikroskopickým potvrzením bakterií u Whippleovy nemoci. Nezávisle získané originální nálezy s elektronoptickým průkazem intracelulárních bakterií u nemocného s Whippleovou chorobou byly ze zdejšího pracoviště předneseny na Celostátním sjezdu československých patologů v Olomouci 28. 9. 1962 (Kodousek et al [47]); referovaný případ byl posléze publikován [48] a obdobné sdělení z klinického pohledu s uvedenou bakteriální etiologií zveřejnil Kojecký et al v roce 1964 [52,53]. V témže roce Maršálek [67] vykultivoval z vyšetřovaného enterobioptického vzorku sliznice v případě Whippleovy nemoci **kmen Nokardií** (později klasifikovaný jako *Nocardia pulmonalis* sp. – viz publikaci Kojecký et al 1964) [52]. Získaný kmen měl v koloniích filamentární



Obr. 9. Mikrobiální plaka obdobná jako sub 3) ve stadiu pokračující resorpce se zbytky vegetace bakterií a nadcházející celulární reakcí z mikrogliálních fagocytů (přechod do gliálního uzlíku). V cytoplasmě buněk je patrné nahromadění PAS+ materiálu původem z digerovaných bakterií. N-1484/66. Mifo LH-311. PAS. Zvětš. 680×(lin.x 1,6).

strukturu, avšak v experimentu u králíka, kde bakteriální agens vyvolalo hnisavá ložiska, se filamentární tvar ztrácel za vzniku difteroidních tyčinek (délky 4 μm a v průměru 0,6 μm). V roce 1963 Caroli et al [10] publikovali u Whippleovy nemoci průkaz *Corynebacterium anaerobium*; následně pak v roce 1964 byl zveřejněn nový případ vyvolaný stejným druhem bakterie, léčený antibiotiky (Prévot a Morel [75]). V roce 1971 prokázána kultivací u Whippleovy nemoci anaerobní korynebakteria ve střevě, uzlinách a cévním endotelu [36]. V dalších letech podán průkaz bakterie Whippleova onemocnění v porcinní protěze mitrální chlopně [80] a odvození inkluzí v makrofázích od bakteriálních reziduí [95].

Kromě *Corynebacterium anaerobium* byla jako etiologické agens u Whipple-

leovy nemoci publikována i nonanaerobní korynebakteria, brucely [25] a hemofilus [42].

Od počátku 90. let 20. století nastává éra nástupu **molekulárně biologických a molekulárně genetických vyšetřovacích metod** s orientací na etiologické agens Whippleovy nemoci, zejména **technikou PCR** [18,30,57,76].

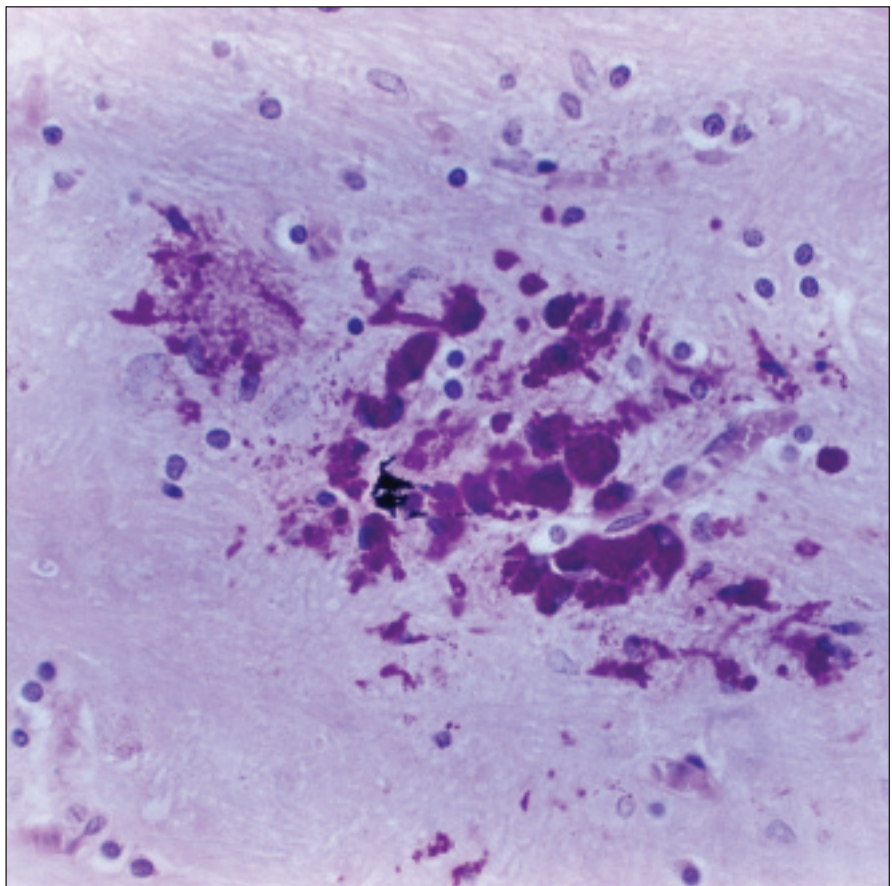
V letech 1991–1992 Relman et al [81] použili PCR ke stanovení **specifické sekvence rRNA bakterie Whippleovy nemoci** s identifikací *Tropheryma whippelii species nova*; podle pozdějšího terminologického označení „*Tropheryma whippelii*“ (LaScola et al 2001 [60]), a klasifikační zařazení „*Actinomycetaceae*“ (Wilson et al 1991 [101]). Klasifikační určení mikroba do skupiny „*Cellulomonadaceae*“ navrhli v roce 1996 Mainwald et al [115].

Tropheryma whippelii je podle LaScola et al 2001 [60] grampozitivní, PAS-pozitivní, Ziehl-Nielsen-negativní tyčinkovitá bakterie o průměru 0,25 až 0,3 μm , délky 0,8–1,7 μm s asymetrickou zevní membránou [113]. Interní membrána obsahuje polysacharidovou složku a je PAS-pozitivní [95]. V elektronovém mikroskopu lze prokázat její trilamelární stěnu (plazmatická membrána obalující bledý nukleoid), dále „plasmatic membrane-like structure“ a zevní buněčnou membránu [65]. Bakterie jsou lokalizovány intra- a extracelulárně (zde tvorba paralelních dlouhých provazcovitých formací vzájemně adherentních i agregovaných).

Generické označení *Tropheryma whippelii* – poněkud nekonvenčně znějící a vysloveně jednostranně účelově konstruovaný název *Tropheryma* odráží skutečnost, že se tento mikrob podílí na zhoršené funkci GIT, vedoucí k projevu malabsorpčního stavu (je vytvořen z řeckých slov *trofē*, resp. *trophē* ‘výživa, potrava’ a *eryma* ‘tvrz’, metaforicky pak ‘zábrana’). Původně navržený název *Tropheryma whippelii* [81] je v současné době změněn na *Tropheryma whippelii* [60]. Nově identifikovaná bakterie *Tropheryma whippelii* gen. nov. a sp. nov. jakožto etiologické agens Whippleovy nemoci pak připojí úvahu týkající se i samotného Whippleova názvu „intestinální lipodystrofie“. Tento název Whipple [100] v roce 1907 vědomě prozatímně navrhl do doby, než bude potvrzena předpokládaná bakteriální etiologie. Jde tedy o diagnostické čistě semiologické označení, nikoliv o komplexní kauzálně patogenetickou diagnózu, která by principiálně zahrnovala označení nozologické, topiku a etiologii. V analogii s pojmenováním jiných infekčních chorob – kupř. tuberculosis, spirochaetosis, mycosis, virosis etc – by se v daném případě dal použít podle našeho názoru termín **tropherymosis** (intestinální, cerebrální, kardiální, lymfodální atd).

Výskyt *Tropheryma whipplei* je považován v zevním prostředí za ubikvitární [14], včetně odpadní vody zemědělských technologií [63]. U člověka stíženého Whippleovou nemocí kolísá různě vysoký intra- a extracelulární výskyt *Tropheryma whipplei* vzhledem k postiženému orgánu či tkáni. Zřejmě nejvyšší koncentrace bakterií je v makrofázích střevní sliznice u neléčených případů Whippleovy nemoci. *Tropheryma whipplei* byla prokazována u některých pacientů postižených jinou než Whippleovou nemocí, např. v případě AIDS [62], u endokarditidy [66], ve slinách [23]. Výsledky výzkumu [114] týkající se rozšíření *Tropheryma whipplei* udávají následující hodnoty: 4% výskyt u různých gastrointestinálních chorob mimo Whippleovu nemoc a 7% výskyt u klinicky zdravých lidí bez známek Whippleovy choroby. Překvapující je vysoké – 40 % případů – procento výskytu *Tropheryma whipplei* v dutině ústní [104] v gingivální lokalizaci u zdravých lidí. Ve slinách rovněž zdravých jedinců byla též prokázána pozitivita PCR [85,97]; podle zmíněných autorů [85] však výsledek PCR může vykazovat falešnou pozitivitu této reakce. Jak bylo již uvedeno, lze konstatovat u Whippleovy nemoci intestinální, ev. extraintestinální formy přítomnosti bakterií jak intracelulárně v makrofázích fagocytovaných, tak i volně se nacházejících v extracelulárních prostorách různých orgánů a tkání. Neočekávaně vysokou frekvenci výskytu *Tropheryma whipplei* vykazují zprávy o průkazu této bakterie zejména po novodobém zavedení molekulárně biologických metod do diagnostiky Whippleovy nemoci, zejména průkazu antigenu DNA *Tropheryma whipplei* pomocí sekvenční analýzy jejího genomu a polymerázové reakce (PCR).

Kultivace *Tropheryma whipplei*. Kultivační pokusy byly dlouhodobě spojeny s opakovanými nezdary (při použití konvenčních bakteriologických půd, buněčných kultur i v experimentálním přenosu na laboratorní zvířata).

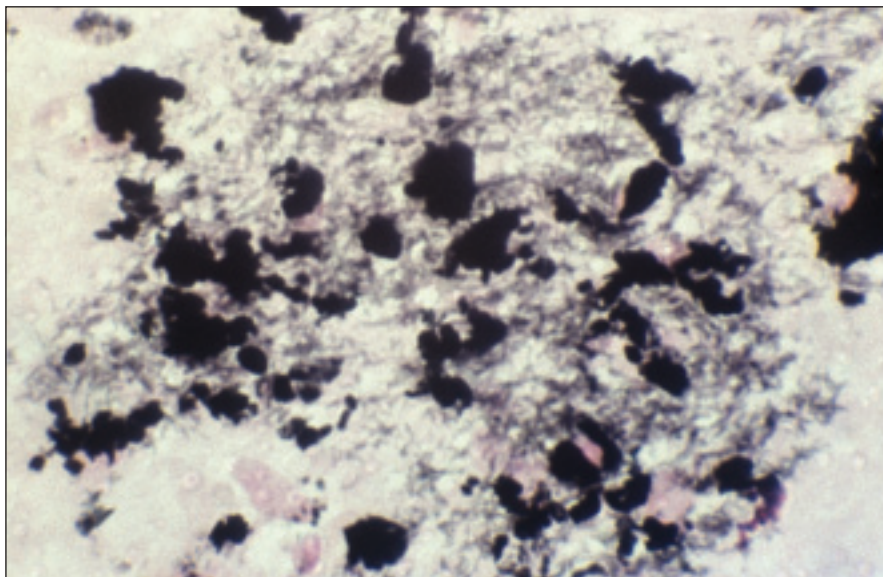


Obr. 10. Výsledná cerebrální mikrogranulomatózní léze – mikroglialní uzlík vzniklý na základě resorpce mikrobiální plaky při postižení mozku u Wh. nemoci. Uzlík sestává histologicky již téměř výhradně jen z PAS+ fagocytujících elementů. Při protrahovaném průběhu nemoci jsou tyto granulomatózní léze ve tkáni mozku velmi početné. N-1484/66. Mifo LH-323. PAS. Zvětš. 280× (lin.x 3,6).

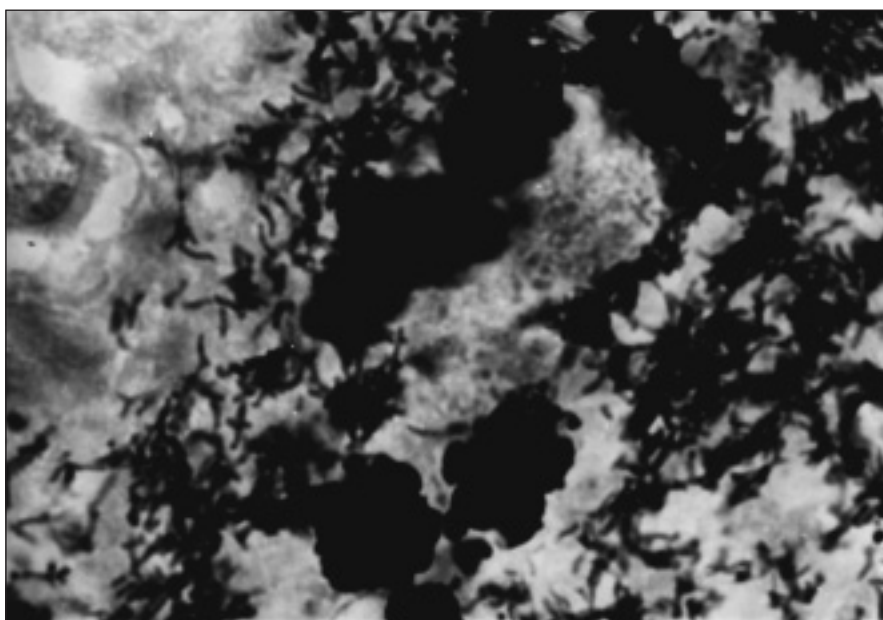
Jak již bylo uvedeno, získal Maršálek [67] z enterobioptického vzorku střevní sliznice nemocného Whippleovou chorobou v roce 1964 kmen *Nocardia pulm. sp.* Avšak teprve v roce 1997 se zdařila **stabilní primokultura *Tropheryma whipplei* na IL-4 dezaktivovaných makrofázích** (Schoedon et al [90]), přičemž tento interleukin má podle zmíněných autorů klíčový význam pro úspěšnost výsledného kultivačního vyšetření [91]. V letech 2001–2002 byly zaznamenány dále úspěšné kultivace i na **tkáňových kulturách IL-4 dezaktivovaných fibroblastů**. Izolace provedeny z materiálu srdeční chlopně od pacienta s Whippleovou nemocí [77,78] a na jednovrstvé kultuře HEL buněk [60] s použitím specifické protilátky proti *Tropheryma whipplei* a doplněním defektních

aminokyselin do kultivačního média (na základě analýzy genomu s defektem 16 aminokyselin v procesu jejich biosyntézy). Kmen pak uložen v Národní kolekci kultur mikroorganismů v Pasteurově ústavu v Paříži jako **kmen Twist-Marseille (*Tropheryma whipplei* gen. nov., sp. nov.)**. V roce 2003 zveřejnili Renest et al [82] acelulární **kultivační „genom based“ prostředí pro *Tropheryma whipplei***. V témže roce získán kmen *Tropheryma whipplei* z likvoru [64], a následně v roce 2006 se podařilo vytvoření axenické kultury *Tropheryma whipplei* opět po přidání defektních aminokyselin do kultivačního prostředí [15].

Molekulárně genetické studie *Tropheryma whipplei* a taxonomie. Stanovení sekvence 16S rDNA [60] umožnilo zařazení *Tropheryma whipplei* do třídy



Obr. 11. Obdobná léze mozku Wh. nemoci jako sub 5) v Grocottově impregnační metodě. Jsou patrné jednak perzistující zbytky extracelulárních bakterií, jakož i výrazná pozitivita fagocytujících buněk (černé zbarvení). N-1484/66. Mifo K-3856. Grocott. Zvětš. 280×(lin.x 3).



Obr. 12. Detailní záběr Grocott+ makrofágů a masy volných extracelulárních bakterií v cerebrální lézi u WD. N-1484/66. Mifo LH-505. Grocott. Zvětš. 580×(lin.x 5).

Actinomyces. Genom je vcelku malý [3], délky asi 0,9 Mb s chybějící ev. zhoršenou biosyntetickou cestou pro 16 aminokyselin a enzymy cyklu trikarbonových kyselin. Chybí též systém thioredoxin/glutaredoxin. Pro diagnostickou praxi je významné, že genetická analýza a sekvencování 16S rDNA umožňuje zjišťovat přítomnost *Tropheryma whipplei* i bez předchozí

kultivace. V roce 2003 se zdařila sekvence a analýza kompletního genomu *Tropheryma whipplei* – 925,938 bp [7].

Diagnostika Whippleovy nemoci – klinické a laboratorní aspekty [105]

Vzhledem ke známé **variabilitě klinických projevů Whippleovy nemoci** nebyl zatím ustaven její klinicko-dia-

gnostický standard [72]. Onemocnění samo je charakterizováno řadou diagnosticky nespecifických projevů, přičemž nejčastěji zmiňované symptomy jsou zejména abdominální bolesti, trvající průjemy (steatorea), projevy malabsorpce s úbytkem váhy, horečky, polyartritické obtíže, zvětšení uzlin, hyperpigmentace kůže, anémie, hypoalbuminemie, snížení hladin IgA aj [55]. Nespecifičnost těchto projevů je někdy příčinou diferenciatně diagnostických rozpaků, opožděného stanovení diagnózy a s tím souvisejícího oddálení v započetí antibiotické terapie.

Diferenciální diagnostika zahrnuje různá multisystémová onemocnění, v první řadě – vzhledem ke zvětšení lymfatických uzlin – maligní lymfomy (zejména Hodgkinovu chorobu), vyžadující bioptickou verifikaci. V některých případech je třeba vyloučit kolagenózu. Pozornost zasluhují ev. i léze u sarkoidózy. Konečně přichází diferenciatně diagnosticky v úvahu též systémové bakteriální histiocytózy, jak byly uvedeny v souvislosti s atypickými mykobakteriemi a BCG. Ze všech těchto důvodů se klinická diagnostika Whippleovy nemoci nutně opírá o výsledky dalších laboratorních vyšetření.

Bioptické vyšetření vzorku sliznice duodena, ev. jejunu získaného speciální enterobioptickou sondou – Kojecký et al 1961–1964 [51,50,53] – je na zdejším pracovišti dlouhodobě přínosným postupem. Umožňuje průkaz komplexu histopatologických změn, které jsou pro diagnózu Whippleovy nemoci významné:

- hustá infiltrace lamina propria převážně PAS-pozitivními Whippleovými makrofágy s intracelulárními bakteriemi a jejich natrávenými zbytky (hrubá granula glykoproteinů a glykolipidů, Sierackiho SPC částice), dále
- přítomnost mnohotných chylových lymfangiektázií, a
- přítomnost tukových látek ve sliznici střeva.

Enterobiopický vzorek umožňuje také **bakterioskopické a elektronově mikroskopické vyšetření**, s průkazem grampozitivních a Grocott-pozitivních bakterií pohlcených v makrofázích i volně ve stromatu rozptýlených; a ovšem i jednoznačné potvrzení přítomnosti etiologického agens – *Tropheryma whipplei* s příznačnou trojlamelární strukturou bakteriální stěny.

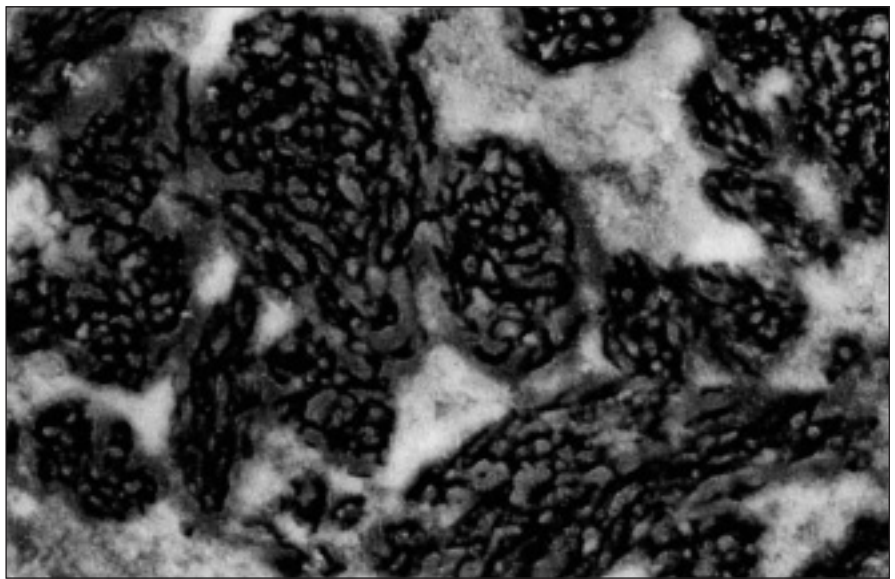
Stejný nález PAS-pozitivních histiocytů s pozitivním průkazem mikrobů lze zaznamenat případně i v dalších extraintestinálních lokalizacích, zejména v lymfatických uzlinách a v mikrogliálních granulomatózních strukturách při postižení mozku.

Bakteriologické kultivační vyšetření in vitro spojené se získáním a identifikací kmene *Tropheryma whipplei* bylo umožněno teprve v nedávné době, a to s použitím kultivačních prostředí sestavených na základě nově získaných molekulárně biologických poznatků, týkajících se vlastností etiologického agens – viz kupř. kultivace na IL-4 deaktivovaných makrofázích [91], kultura a imunologická detekce [77,78], kultivace na acelulárním prostředí „genom based culture medium“ [82] apod.

Sérologická vyšetření se týkají průkazu protilátek proti antigenu *Tropheryma whipplei* [25]. Nutno však vzít v úvahu a vyloučit možnost zkřížené pozitivní reakce antisér proti různým bakteriím i vůči *Tropheryma whipplei*. Podle publikovaných zkušeností nejsou sérologické testy – vzhledem k divergentním výsledkům u pacientů s prokázanou Whippleovou nemocí a bez tohoto postižení – v praxi významně přínosné.

Molekulárně biologické metody (PCR, sekvencování genomu *Tropheryma whipplei*) představují dnešní vrcholný stav laboratorní diagnostiky etiologického agens Whippleovy nemoci, a to na bázi výsledků dosažených v oblasti molekulární biologie a genetiky.

Polymerázová řetězová reakce (PCR). Tato metoda se stala v sou-



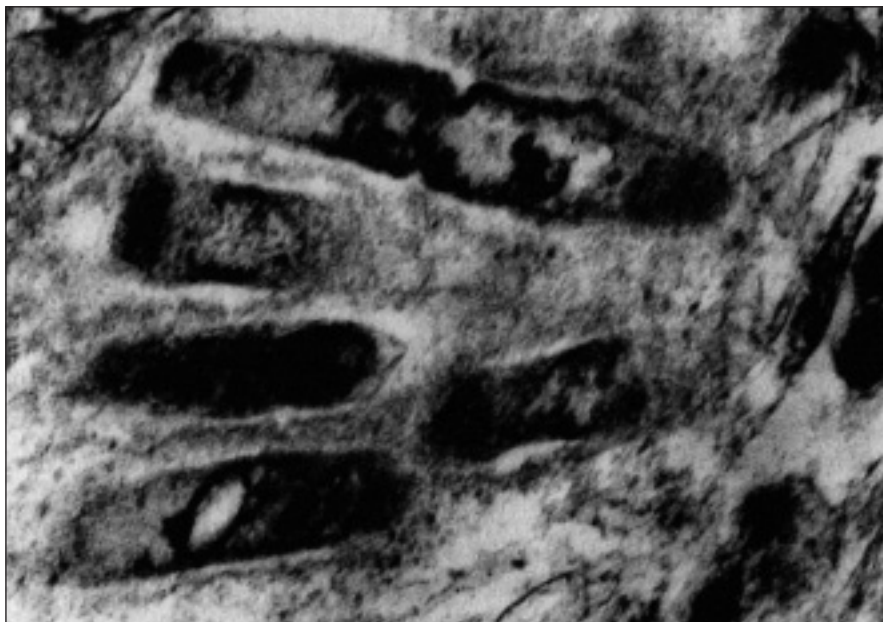
Obr. 13. Bakteriální plak s výrazným pomnožením etiologického agens v časně cerebrální lézi Whippleovy encefalopatie. N-1484/66. ELMI. Zvětš. 12 500×.



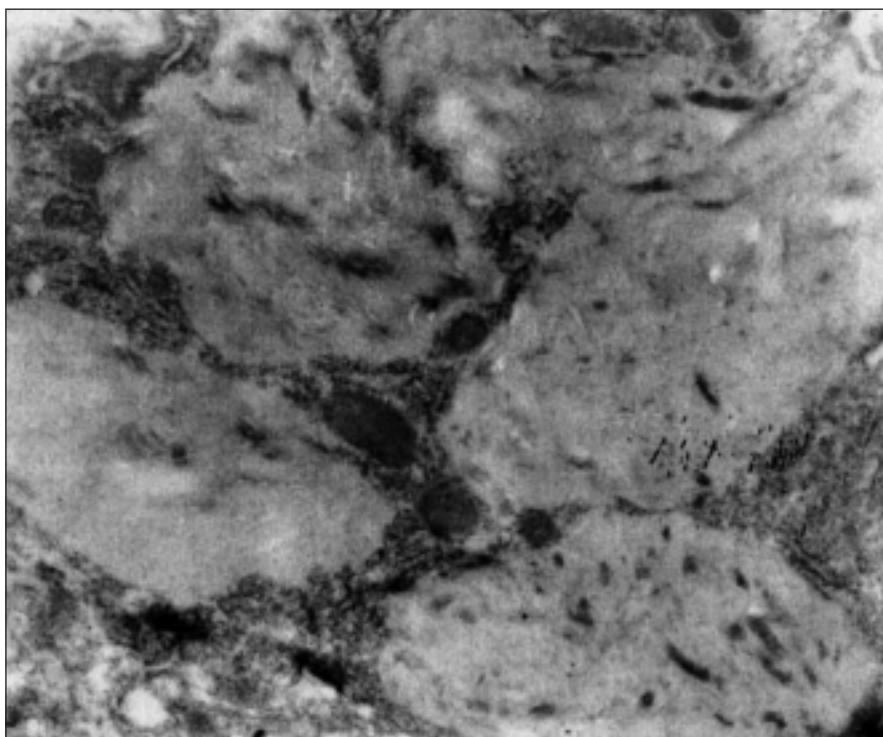
Obr. 14. Přítomnost velkého počtu bakterií Whippleovy nemoci v důsledku jejich intracelulární replikace v lézi mozku. N-1484/66. ELMI. Zvětš. 50 000×.

časnosti i v případě Whippleovy nemoci nedílnou součástí laboratorního diagnostického potenciálu [76], a to vzhledem k její průkazné citlivosti a časovým úsporám, zejména pak i v získání výsledku, aniž je třeba provádět velmi náročné a dlouhodobé kultivační vyšetření. PCR vede rovněž k potvrzení diagnózy Whippleovy ne-

moci průkazem DNA antigenu *Tropheryma whipplei*. Jak bylo zmíněno výše, metoda je velmi citlivá a byla uplatněna i u případů Whippleovy nemoci s atypickým průběhem. Další možnost jejího využití se týká i kontroly účinku terapie. Současné zkušenosti však nevylučují její poněkud omezenou specifitu vzhledem k možnostem falešně



Obr. 15. Bakterie přítomné v cytoplasmě makrofágu mají vzhled tyčinek s dvojité konturovanou stěnou. N-1484/66. ELMI. Zvětš. cca 65 000×. [55]



Obr. 16. Intracytoplasmatická rezidua po roztrávení intracelulárních bakterií makrofágy v mozku u téhož případu WD. N-1484/66. ELMI. Zvětš. 12 000×.

pozitivních výsledků [72] u pacientů bez Whippleovy nemoci [4,18,23,27,66]. Z těchto důvodů je žádoucí v případě PCR positivity provedení biotického vyšetření sliznice střeva, ev. z další systémové léze. V literatuře uváděný poměrně vysoký počet PCR po-

zitivních případů mimo Whippleovu nemoc je patrně důkazem širšího rozšíření bakterie v životním prostředí. Případné protikladné výsledky klasických metodických postupů (výsledek enterobiopsie) a citlivých molekulárně biologických metod mohou ztí-

žit diferenciální diagnostiku a oddálit včasné zavedení účinné léčby [72].

V porovnání diagnostických výsledků získaných biopsií (PAS-pozitivní makrofágy) a PCR dospěli Raoult et al 2001 [78] k následujícím výsledkům: PAS-pozitivní makrofágy v enterobiopsiích v 78 %, naproti tomu PCR v 84 %. U extraintestinálních orgánových lézí byla histologická pozitivita v 79 %, PCR ve 100 % případů.

Sekvenční analýza umožnila mj. **druhovou identifikaci bakterií** na podkladě jejich genové charakteristiky, včetně stanovení sekvence 16S rDNA genu *Tropheryma whipplei* [29,30,107]. Jak bylo uvedeno, sekvencování 16S rDNA umožnilo potvrdit přítomnost *Tropheryma whipplei* bez předchozí kultivace. Při ev. identitě výsledku sekvenční analýzy bakterií bylo doporučeno k určení species sekvencování jiného genu, např. 23S rDNA – viz též výsledky sekvenční analýzy u kmene Twist-Marseille aj [38,60].

Experimentální přenos *Tropheryma whipplei*. V přenosu *Tropheryma whipplei* na experimentální zvířata se nepodařilo vyvolat lézi v podobě analogické Whippleově nemoci, jaká se objevuje u člověka, ani není znám případ přenosu na člověka [65]. Již Whipple v původní práci z roku 1907 uvádí vlastní pokus se subkutánním přenosem mezenterální uzliny zemřelého pacienta do podkoží králíka s následným vznikem abscesu s centrální nekrózou, obklopenou granulační tkání, v níž našel makrofagické buňky podobné makrofágům ve sliznici střeva z pitvy zemřelého.

Histopatologii změn po **inokulaci *Corynebacterium anaerobium* u pokusného králíka** uvedli ve své práci Levaditi et al 1965 [61]. Podle publikovaných experimentálních nálezů dochází **u bílých myší po intraperitoneální aplikaci bakterií kmene *Tropheryma whipplei*** ke granulomatózním lézím v játrech, aniž by vznikla léze v GIT. U **myší kmene SCID** bez adaptivní imunity byl výsledek aplikace překvapivě stejný, či dokonce bez granulomů

[33], z čehož vyplynulo zjištění, že se *Tropheryma whipplei* nechová zřejmě jako běžný oportunní patogen. Pokusy na bílých myškách dále ukázaly na poměrně nízké patogenní účinky *Tropheryma whipplei*, jejíž replikace v makrofázích je u zdravého jedince pod dostatečnou kontrolou přirozené produkce IFN γ .

Patogeneza Whippleovy nemoci

Názory na patogenезi Whippleovy nemoci prodělaly v průběhu dlouhé doby rovněž řadu proměn, a to zřejmě v závislosti na dosažené úrovni poznatků směřovaných k samé podstatě nemoci. Z těchto je možno alespoň ve stručném přehledu jako příklad uvést následující:

a) předpokládaná **funkčně/anatomická porucha enterocytů**, týkající se vstřebávání hlenu produkovaného pohárkovými buňkami (s jeho případným odchylným složením) a spolu s poruchou absorpce tukových látek z potravy [32,98] jsou považovány za podstatu malabsorpčních projevů Whippleovy nemoci. Později pak zdůrazňována i korelace mezi stupněm malabsorpce a bakteriální invaze do absorptivních buněk sliznice střeva [65].

b) **blokáda lymfatických cév** a problém intestinálních lymfangiektázií u Whippleovy nemoci. Již první publikované případy byly charakterizovány intestinálními lymfangiektáziemi [3, 100], o jejichž příčině převládaly názory ve smyslu mechanické blokády, ev. jejich příčina zůstala v tehdejší době nevysvětlena. Někteří autoři uváděli jako příčinu „proliferativní sklerozující lymfangioitidu“ [12] s obstrukcí eferentních lymfatických cév v úponu mezenteria; v jiném případě se uváděly chronické fibrózní zánětlivé změny lymfatických uzlin. V novější interpretaci byla za příčinu lymfatické obstrukce a vzniku varikózních lymfangiektázií považována „celulární embolizace“ drobných lymfatických cest masou PAS-pozitivních makrofágů obturujících v důsledku lokálního nahro-

madění jejich lumina [1,2]. Toto vysvětlení je v souladu s dříve publikovanými výsledky [57], podle nichž je vznik obturace lymfatických cév ve střevě u Whippleovy nemoci dáván do souvislosti s nahromaděním makrofágů přeplněných PAS-pozitivním membránovým materiálem z degradovaných bakterií. Následně tento stav vede ke zpomalení mobility až ke stagnaci a nahromaděním makrofagických elementů ve sliznici s následnou blokádou a porušením cirkulace lymfy, což představuje i jednu z významných příčin pozdější malabsorpce (zhoršení vstřebávání tuků a ztráty bílkovin).

Uvedené změny na lymfatických cévách spojené s jejich ektáziemi a porucha absorpce tukových látek z lumen střeva s následnou stagnací i hromaděním ve sliznici ve formě tukových kapének jsou – kromě PAS-pozitivních makrofágů – rovněž nápadným nálezem v enterobiopsiích. S poruchou lipidů souvisí též případy spojené s projevy lipopigmentové dystrofie, kupř. případ intestinální ceroidózy týkající se pigmentace buněk hladkého svalstva stěny střevní. Kromě neutrálního tuku (triglyceridů) lze ve sliznici konstatovat též hromaděním glykolipidového a glykoproteinového materiálu, který je prokazatelný v reakci PAS s výraznou topickou pozitivitou v makrofázích, přítomných v neléčených případech v obrovském množství, zejména v lamina propria střevní sliznice. Rovněž tak je tomu i v systémové podobě nemoci, jak to dotvrzují ložiska PAS-pozitivních histiocytů v různých extraintestinálních lokalizacích. Právě tato výrazná systémová reaktivní histiocytóza podmiňuje v dřívější době vznik názorů o přiřazení Whippleovy nemoci do skupiny

c) **systémových retikulóz** [37] či **retikulohistiocytóz** [88], a dále strádajících histiocytóz blízkých teaurizmózá (blíže hodnocení těchto stavů uvedl Vorreith 1958 [99]).

d) **imunopatogenetické hledisko u Whippleovy nemoci** je v současné době zcela převládající, a týká se v kom-

plexním pojetí jak problému humorálního, tak zejména celulární složky imunitního systému v jeho patogenetické účasti na vzniku onemocnění:

– již dříve byly popisovány **změny lymfoidních buněk** ve střevní sliznici u Whippleova onemocnění, zejména úbytek lymfocytů a plazmocytů (při normálních hodnotách i morfolonii lymfocytů v krvi). Dále pak byla popsána **porucha transformační funkce lymfocytů po podání fytohemaglutininu (PHA)**, při níž se jejich blastická transformace pohybovala v rozmezí abnormálního rozptylu mezi 5–58 % [69]. Z uvedených zjištění bylo u Whippleovy nemoci patogeneticky usuzováno na primární deficit a poruchu celulárně zprostředkované imunitní reakce [69], přičemž zmíněným imunodeficiem se vysvětlovala i možnost účasti více bakteriálních činitelů. Na **cytopatický efekt troferymu**, translační iniciační faktor IF-1 a sníženou produkci IgA v plazmocitech střevní sliznice (**projevy sekundární imunodeficiency po infekci *Tropheryma whipplei***) ukázali zejména Cabbot 1997 [9] a Eck et al 1997 [26]. Nověji pak Desnues et al 2005 [16] upozornili na specifickou vnímavost makrofágů vůči *Tropheryma whipplei*, danou její schopností indukovat alternativně aktivační proces mononukleárních periferní krve se zvýšenou sekrecí IL-4 při snížení IL-12, IL-2 a IFN γ (Deriban a Marth 2006 [14]). Tím je snížena obrana vůči *Tropheryma whipplei*, nikoliv však oproti oportunní infekci [58].

– přítomnost velkého množství „**Whippleových makrofágů**“ v lamina propria a ev. jiných extraintestinálních lokalizacích je zřejmým projevem účasti celulární složky imunity v patogenезi Whippleovy nemoci. Tyto PAS-pozitivní makrofágy jsou přítomny zejména u neléčených pacientů v lamina propria v excesivním množství, kromě toho i v mezenterálních uzlinách a jiných lokalizacích. Jejich PAS-pozitivita je

podmíněna přítomností glycidového (glykoproteinového a glykolipidového) materiálu a je známa již téměř půl století (Black-Schäffer 1949 [8]). Z diagnostického hlediska je hojně využívána. V patogeneze Whippleovy nemoci je těmto makrofágům přikládán natolik mimořádný význam, že se někdy Whippleova lipodystrofie dokonce hodnotí jako „**nemoc makrofágů**“ [15]. V kauzální patogeneze je jim přičítána **modulační funkce** v procesu replikace, či naopak intracelulární likvidace etiologického agens – *Tropheryma whipplei*. Funkce těchto makrofágů je dalekosáhle ovlivňována cytokiny. Whippleova nemoc je v tomto směru charakterizována snížením ev. defektem monocytárního **IL-12** a následným snížením tvorby IFN γ v T-buňkách. To má ovšem za následek poruchu v aktivaci procesu fagocytózy a usmrcování intracelulárních bakterií s následným zvýšením jejich replikace. Změny se tedy týkají komplexně jak humorální, tak i celulární složky imunity. Přežívání, ev. likvidace *Tropheryma whipplei* je proto v přímé spojitosti s expresí lymfokinů.

Z patogenetického hlediska lze tudíž předpokládat buď defekt určitého cytokinu (ev. TNF α) aktivujícího makrofágy k fagocytóze, usmrcování pohlcených bakterií a konečně jejich lýze, anebo při jeho normální tvorbě poruchu nebo defekt příslušného receptoru v buněčné membráně makrofágů. V obou těchto uvažovaných případech makrofágy sice fagocytují, ale nezabíjejí pohlcené bakterie, které přežívají, silně se pomnožují a po apoptóze buňky se uvolňují do extracelulárního prostoru. Dále se lymfogenní a hematogenní cestou šíří do extraintestinálních tkání a různých orgánů.

V případě Whippleovy nemoci je profil zúčastněných interleukinů uváděn následovně [14]: **snížená produkce IL-12, IL-2 a IFN γ při současně zvýšené sekreci IL-4**; zmíněné snížení IL-12 vede patrně ke snížené produkci IFN γ v T-buňkách s následnou defektní

aktivací makrofágů. Také chronicita průběhu Whippleovy nemoci s dlouhodobým přetrváváním *Tropheryma whipplei* ve střevních makrofázích předpokládá omezení až inhibici baktericidní aktivity makrofágů v důsledku omezené produkce IL-12 a IFN γ [17].

V současnosti je v imunopatogeneze Whippleovy nemoci přičítán též „**klíčový význam interleukinu IL-16**“ [17], a to pro jeho roli týkající se intracelulárního přežívání a zvýšené replikace *Tropheryma whipplei*. Tento lymfokin **inhibuje či ruší bakteriostatické/baktericidní funkce thioredoxinu**, produkovaného monocytu po stimulaci *Tropheryma whipplei*; následný pokles baktericidní funkce makrofágů pak umožňuje intracelulární přežívání a zvýšenou replikaci těchto bakterií [17]. V experimentu je IL-16 zcela inaktivován protilátkou „**Anti IL-16 Ab**“ s následnou inhibicí replikace bakterií.

V nedávné době byly dále objasněny některé **zvláštní alternativně modulační mechanismy makrofágů u Whippleovy nemoci**. Po infekci *Tropheryma whipplei* nabývají infiltrující buňky střeva u Whippleovy nemoci **transkripční charakter alternativně aktivovaných M2 makrofágů** [16,33], přičemž se uplatňují imunoregulatorové cytokiny IL-4, IL-10 a IL-16 ve smyslu jejich funkční inhibice (umožňující intracelulární replikaci), či naopak ve smyslu jejich stimulace IFN γ (pokles intracelulární replikace *Tropheryma whipplei*) [17,35].

Jak bylo výše uvedeno v souvislosti s účastí lymfokinů v patogeneze Whippleovy nemoci zaujímá též **IL-4** v rámci specifického defektu celulární imunity pro *Tropheryma whipplei* významné postavení, neboť je v případě Whippleovy nemoci exprimován ve zvýšené míře. IL-4 je zejména účasten při **dezaktivaci makrofágů**, což umožňuje replikaci intracelulárních bakterií. V poslední době bylo využito této skutečnosti k úspěšnému získání dlouhodobých **kultur *Tropheryma whipplei*** na deaktivovaných makrofázích [77,91], což se předtím prakticky nikdy neda-

řilo. Z laboratorních pokusů také vyplynul poznatek o různém ovlivnění replikace *Tropheryma whipplei* v monocytech a makrofázích, v nichž se patrně uplatňuje specifický účinek koexprese s IL-16 a sníženým IL-12. Je dále známo, že IL-16 ovlivňuje či blokuje expresi bakteriostaticky působícího **thioredoxinu** s následným poklesem baktericidní funkce makrofágů, přežíváním bakterií a jejich zvýšenou replikací.

e) **etiopatogenetické korelace** u Whippleovy nemoci. Současný rozmach výzkumu v etiopatogenetické oblasti Whippleovy nemoci navodil do značné míry objev, izolace a kultivace etiologického agens – *Tropheryma whipplei* – a jejího taxonomického vymezení jakožto „species nova“ pomocí molekulárně biologických/chemických metod (průkaz pomocí PCR, sekvenování genetické bakteriální DNA). S využitím nových poznatků v této oblasti se konečně podařilo provádět kulturační vyšetření a tím získat stabilní kmeny této bakterie, získat dále specifickou protilátku a rekognoskovat přítomnost antigenu/DNA *Tropheryma whipplei* pomocí PCR. V popředí současného výzkumného zájmu stojí též problematika vztahů etiologického agens s kauzální patogenezí procesů vedoucích ke klinickým projevům Whippleovy nemoci. Zatím je i sporný mechanismus topického postižení sliznice střeva, zda se uskutečňuje formou bakteriální invaze z lumen střeva (v elektronoptickém obraze se nachází nejvíce bakterií v povrchových partiích sliznice), či formou hematogenní. Vzhledem k nepochybnému defektu celulárně mediované imunity lze připomenout názor uváděný v literatuře [16,33], v níž se při **absenci běžných oportunních infekcí u pacientů s Whippleovou nemocí** uvádí možnost **specifické alternativní aktivace makrofágů vlivem etiologického agens, tj. *Tropheryma whipplei***, výjimečně pak i jinými druhy bakterií [15]. Mechanismus tohoto jevu zatím vyžaduje bližší objasnění. V této souvislosti byly uvedeny další důkazy [16,35], že

makrofágy po fagocytóze *Tropheryma whipplei* vykazují posun k alternativně aktivovanému fenotypu M2 se zvýšenou produkcí IL-16; tyto makrofágy dále podléhají apoptóze s následným šířením infekčního agens. Stupeň apoptózy po infekci *Tropheryma whipplei* je stanovován v % anexin-pozitivních buněk (UV-mikroskopicky). Je pravděpodobné, že se zmíněný transkripční program uplatňuje i v navození změny fagozomálního prostředí – jeho acidita se stává pro intracelulární přežívání *Tropheryma whipplei* nezbytnou [17,34].

Selektivní porucha na úrovni interleukinové modulae elementů MPS u Whippleovy nemoci s následně vystupňovanou replikací *Tropheryma whipplei* vede podle našich zkušeností k histopatologickým obrazům blíže upomínajícím na **bakteriální histiocytózy**, kupř. vyvolané atypickými kmeny mykobakterií a generalizované vakcíny BCG [24,54], u nichž se však jedná a vrozený či získaný (AIDS) defekt imunity.

Závěr

U příležitosti **100letého výročí objevu Whippleovy nemoci** je i dnes patrný živý zájem o toto vzácné, avšak klinicky významné onemocnění. V průběhu dlouhé doby se pochopitelně podstatně měnily názory na její etiologii, patogenezi, kliniku a terapii. Na základě moderních molekulárně biologických výzkumných metodických postupů se zdařila identifikace „Whippleovy bakterie“ – *Tropheryma whipplei* – jakožto gen. nov. et sp. nov., její kultivace umožňující nejen získávání specifické protilátky, ale i detailní poznání jejího genomu (PCR, sekvenování 16S rRNA). V kauzální patogenезe Whippleovy nemoci ovládl roli molekulárně imunogenetický výzkum se zaměřením na významnou účast celulární imunity podílející se na normální či defektní tvorbě interleukinů, důležitých v modulaci (stimulace ev. blokáda) buněk MPS a vzniku onemocnění samého. Z uvedeného souborného referátu z li-

terárních a vlastních poznatků je zřejmé, že patogenезa, klinika a terapie budou i nadále tématem pro výzkum dosud nevyjasněných problémů týkajících se Whippleovy nemoci.

Pro nás pracovníky II. interní kliniky fakultní nemocnice, Ústavu patologie, Ústavu histologie a Mikrobiologického ústavu LF UP v Olomouci, byla meziústavní spolupráce v minulosti předpokladem k získání cenných nálezů publikovaných v řadě sdělení. Z těchto byly zejména významné publikace z let 1962–1963, týkající se zcela nezávisle prokázané existence intracelulárních bakterií v makrofagických buňkách u Whippleova onemocnění, jak v jeho intestinální formě, tak i v případě cerebrální léze (s přehodnocením ve smyslu metastatické/systémové mikrogliálně granulomatózní encefalitidy s přítomností PAS-pozitivních Whippleových makrofágů) a elektro nově mikroskopickým průkazem bakteriálního agens v uvedených lézích. Veškeré nálezy ze zdejšího pracoviště byly získány po zavedení enterobiopické sondy vlastní konstrukce na gastroenterologickém oddělení II. interní kliniky FN Olomouc. Zmíněné publikované práce přispěly též svým dílem k pozitivním výsledkům na půdě domácí gastroenterologie i v zahraničí.

Literatura

1. Adams CWM, Ayres J, Fagg NLK et al. Lymph-vesel embolism in case of Whipple's diseases. *Histopathology* 1985; 9: 109–115.
2. Adams WR, Wolfsohn AW, Spiro HM. Some morphologic characteristics of Whipple's disease. *Amer J Path* 1963; 42: 415–429.
3. Allchin WH, Hebb RG. Lymphangiectasis intestini. *Trans Path Soc Lond* 1895; 46: 221–223.
4. Altwegg MH, Fleish-Marx A, Goldenberger D et al. Spondylodiscitis caused by *Tropheryma whippelii*. *Schweiz Med Wschr* 1996; 126: 1495–1499.
5. Aust CH, Smith EB. Whipple's disease in a 3-Month-Old Infant with involvement of bone marrow. *Amer J Clin Path* 1962; 37: 66.
6. Baisden BL, Lepidi H, Raoult D et al. Diagnosis of Whipple disease by immu-

nohistochemical analysis. A sensitive and specific method for detection of *Tropheryma whipplei* (the Whipple bacillus) in paraffin-embedded tissue. *Amer J Clin Pathol* 2002; 118: 742–748.

7. Bentley SD, Mainwold M, Murphy LD et al. Sequencing and analysis of the genome of the Whipple's disease bacterium *Tropheryma whipplei*. *Lancet* 2003; 361: 637–644.
8. Black-Schäffer B. The tinctorial demonstration of a glykoprotein in Whipple's disease. *Soc Exp Biol Med* 1949; 72: 225–227.
9. Cabot RC. *New Engl J Med* 1997; 337: 1612–1619.
10. Caroli J, Prévot A-R, Julien C et al. L'étiologie bactérienne de la maladie de Whipple. III. A propos d'une nouvelle observation. Isolement de *Corynebacterium anaerobium*. *Arch Mal Appar Dig Mal Nutr* 1963; 52: 177.
11. Cohen AS, Schimmel EM, Holt PR et al. Ultrastructural abnormalities in Whipple's disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1960; 105: 411.
12. Crane J, Aguilar MJ. Obliterative lymphangitis of the mesentery in Whipple's disease. *Gastroenterology* 1957; 32: 513.
13. DeBoulay CE. An immunohistochemical study of Whipple's disease using the immunoperoxidase technique. *Hum Pathol* 1982; 13: 925–929.
14. Deriban G, Marth T. Current concepts of immunopathogenesis, diagnosis and therapy in Whipple's disease. *Curr Med Chem* 2006; 13/24: 2921–2926.
15. Desnues B, Ihring M, Raoult D et al. Whipple's disease: a macrophage disease. *Clin Vaccine Immunology* 2006; 13/2: 170–178.
16. Desnues B, Lepidi H, Raoult D et al. Whipple disease: intestinal infiltrating cells exhibit a transcriptional pattern of M2/alternatively activated macrophages. *J Infect Dis* 2005; 192: 1642–1646.
17. Desnues B, Raoult D, Mede JL. IL-16 is critical for *Tropheryma whipplei* replication in Whipple's disease. *J Immunol* 2005; 175: 4575–4582.
18. Dreier J, Szabados F, von Herbay A et al. *Tropheryma whipplei* of an acellular porcine heart valve bioprosthesis in a patient who did not have intestinal Whipple's disease. *J Clin Microbiol* 2004; 42/10: 4487–4493.
19. Durand DV, Lecomte C, Cathelras P et al. Whipple disease. Clinical review of 52 cases. *Medicine (Baltimore)* 1997; 76: 170–184.

20. Dušek J, Koďousek R, Myšák J et al. Diseminovaná infekce vyvolaná *Mycobacterium intracellulare-avium*. *Cesk Patol* 1981; 17/2: 101–108.
21. Dušek J, Tichý T, Koďousek R. Postižení srdce u Whippleovy choroby. Přednáška na XXVI. Vědeckém sjezdu Čs. patologů, Praha 16.–17.6.1999.
22. Dulty F, Altwegg M. Whipple's disease and „*Tropheryma whippelii*“. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 561–583.
23. Dutly F, Hinrikson HP, Seidel T et al. *Tropheryma whippelii* DNA in saliva of patients without Whipple's disease. *Infection* 2000; 28: 219–222.
24. Dvořáček Č, Mores A, Neoral L. Generalizovaná BCG vakcína. *Rozhl Tuberk* 1959; 19: 107.
25. Dybkaer R, Kok N. Bacteria in Whipple's disease 3. Studies in two patients of antibodies in serum and cutaneous hypersensitivity against some bacterial antigens. *Acta Path Microbiol Scand* 1965; 64: 373.
26. Eck M, Kreipe H, Harmsen D et al. Invasion and destruction of mucosal plasma cells by *Tropheryma whippelii*. *Hum Pathol* 1997; 28/12: 1424–1428.
27. Ehrbar HU, Bauerfeind P, Dutly F et al. PCR-positive tests for *Tropheryma whippelii* in patients without Whipple's disease. *Lancet* 1999; 353: 2214.
28. Elliott GB, Hill M, Howard DLG. Whipple's disease associated with benign Thymoma. *Canad Med Ass J* 1961; 85: 1340.
29. Fenollar F, Fournier PE, Robert C et al. Use of genome selected repeated sequences increases the sensitivity of PCR detection of *Tropheryma whippelii*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 401–403.
30. Fenollar F, Raoult D. Whipple's disease. *Cur Gastroenterol Rep* 2003; 5(5): 379–385.
31. Findo P, Valach V, Fukal J. Whippleova choroba. *Vnitř Lék* 1986; 32: 715–719.
32. Frič P, Šobra J, Bednář B et al. Whippleova choroba. *Vnitř Lék* 1963; 9(8): 782–790.
33. Genot S, Stein A, Lepidi H et al. Murine model of infection by *Tropheryma whippelii*. *Inf a Immun* 2006; 74(8): 4915–4917.
34. Ghigo E, Capo C, Aurouze M et al. Survival of the *Tropheryma whippelii*, the agent of Whipple's disease, requires phagosome acidification. *Infect Immun* 2002; 70: 1501–1506.
35. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 23–35.
36. Greenberger NJ, DeLor CJ, Fisher J et al. Whipple's disease. Characterization of anaerobic *Corynebacteria* and demonstration of bacilli in vascular endothelium. *Dig Dis* 1971; 16/12: 1127–1136.
37. Haubrich WS, Watson JHL, Sieracki JC. Unique morphologic features of Whipple's disease. *Gastroenterology* 1960; 39: 454.
38. Hinrikson HP, Dutly F, Nair S et al. Detection of three different types of *Tropheryma whippelii* directly from clinical specimens by sequencing, single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis and type-specific PCR of their 16S-23S ribosomal intergenic spacer region. *Int J Syst Bacteriol* 1999; 49: 1701–1706.
39. Chears WC, Ashworth CT. Electron microscopic study of the intestinal mucosa in Whipple's disease. Demonstration of encapsulated bacilliform bodies in the lesion. *Gastroenterology* 1961; 41: 129–138.
40. Cho CW, Linscheer MA, Hirschhorn A et al. Sarcoid-like granulomas as an early manifestation of Whipple disease. *Gastroenterology* 1984; 87: 941–947.
41. Julien C, Caroli J, Etévé J. Considerations thérapeutiques et pathogéniques sur la maladie de Whipple. I. La guérison de la maladie de Whipple par les antibiotiques? A propos d'un cas personnel traité par l'auréomycine. *Arch Mal Appar Dig Mal Nutr* 1963; 52: 31–53.
42. Kjaerheim A et al. Bacteria in Whipple's disease. Isolation of a haemophilus strain from the jejunal propria. *Acta Path Microbiol Scand* 1966; 66: 135–142.
43. Koďousek R. Encefalopatie při Whippleově nemoci. Přednáška Komise pro neuropatologii, Praha 6. 12. 1968.
44. Koďousek R, Kojecký Z. Die Encephalopathie bei der Whipple'schen Krankheit. *Acta Univ Palacki Olom (fac med)* 1968; 51: 153–161.
45. Koďousek R, Kojecký Z. Beitrag zur Pathologie und Pathogenese der Encephalopathie bei der Whipple'schen Krankheit. 1. Donau-Symposium für Neuropathologie, Wien 7. 5. 1969.
46. Koďousek R, Kojecký Z. On the basis of cerebral lesions in Whipple's disease. *Rev Czech Med* 1971; 17(3): 137–143.
47. Koďousek R, Malínský J, Kojecký Z et al. Nové biotické a elmi nálezy u Whippleovy choroby (včetně průkazu gram pozitivních bakterií ve střevní sliznici). Předn. na Celostát. sjezdu čl. patologů, Olomouc 28. 9. 1962. *Čes a Slov Gastroent a Hepatol* 1963; 7/5: 290–294.
48. Koďousek R, Kojecký Z, Malínský J et al. Příspěvek histochemie a elektronové mikroskopie k problematice Whippleovy choroby. *Cesk a Slov Gastroent a Hepatol* 1963; 17/5: 290–294.
49. Koďousek R, Kojecký Z, Malínský J et al. Histochemical and electronoptic analysis of the intestinal mucosa and its clinical importance. *Acta Univ Palacki Olom (fac med)* 1963; 33: 41–54.
50. Kojecký Z, Benýšek L, Koďousek R. Vlastní sonda pro biopsii tenkého střeva. (New designet tube for biopsy of the small intestine). *Cesk a Slov Gastroent a Hepatol* 1962; 16: 520–523.
51. Kojecký Z, Koďousek R. Études histoenzymatiques de la muqueuse intestinale dans les carcinoides malins. *Arch Mal Appar Dig Mal Nutr* 1961; 50: 1194–1196.
52. Kojecký Z, Malínský J, Koďousek R et al. Frequency of occurrence of microbes in the intestinal mucosa and in the lymph nodes during a long term observation of a patient suffering from Whipple's disease. *Gastroenterologia (Basel)* 1964; 101: 163–172.
53. Kojecký Z, Malínský J, Koďousek R et al. Observation de l'existence de microbes dans la muqueuse intestinale chez un malade atteint de maladie de Whipple survivant pendant deux ans. *Acta Gastroenterol Belg* 1964; 27/10: 502.
54. Kopřiva F, Michál V, Paroulek J et al. Cervical adenitis caused by *Mycobacterium chelonae*. *Čs pediatri*. 1998; 53 (Suppl 1): 56–57.
55. Krč I, Ehrmann J, Kojecký Z et al. Whippleova choroba. *Postgrad Med* 1999; 1(4): 39–43.
56. Kurtz M, Davis TD, Ruffin JM. Light and electron microscopic studies of Whipple's disease. *Lab Invest* 1962; 11: 653.
57. Lamberty J, Varela PY, Font RG et al. Whipple's disease, light and electron microscopic study. *Arch Pathol* 1974; 97: 325–330.
58. Lammas DA, DeHeer E, Edgar JD et al. Heterogeneity in the granulomatous response to mycobacterial infection in patients with defined genetic mutation in the Interleukin 12-dependent Interferon gamma production pathway. *Int J Exper Pathol* 2002; 83: 1–20.
59. Lampert P, Tom M, Cumings JN. Encephalopathy in Whipple's disease. *Neurology* 1962; 12: 65–71.
60. LaScola B, Fenollar F, Fournier PE et al. Description of *Tropheryma whippelii*

- gen. nov., sp. nov. The Whipple's disease bacillus. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 1471–1479.
61. Levaditi JC, Prévot AR, Caroli J et al. Histological peculiarities of the experimental disease induced in rabbits by inoculation of *Corynebacterium anaerobium* strains isolated from Whipple's disease. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 1965; 109/1: 144–147.
62. Maiwald M. Detection of *Tr. whippeli* DNA in a patient with AIDS. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1354–1356.
63. Mainwald M, Schuhmacher F, Ditton HJ et al. Environmental occurrence of the Whipple's disease bacterium (*Tropheryma whippelii*). *Appl Environ Microbiol* 1968; 64: 760–762.
64. Mainwald M, von Herbay A, Fredricks DN et al. Cultivation of *Tropheryma whippeli* from cerebrospinal fluid. *J Infect Dis* 2003; 188: 801–808.
65. Maizel H, Ruffin M, Dobbins WO. Whipple's disease. A review of 19 patients from one Hospital and Review of the Literature since 1950. *Medicine* 1970; 49: 175–205.
66. Marín M, Muñoz P, Sánchez M et al. *Tropheryma whippeli* infective endocarditis as the only manifestation of Whipple's disease. *J Clin Microbiol* 2007; 45/6: 2078–2081.
67. Maršálek E, Kojecký Z et al. *Nocardia pulm. sp. in Whipple's disease*. *Gastroenterologia (Basel)* 1964; 101: 163–172.
68. Marth T, Raoult D. Whipple's disease. *Lancet* 2003; 361: 239–246.
69. Maxwell JD et al. M. Whipple. *Lancet* 1968; 1: 887.
70. Misbach SA, Mapstone NP. Whipple's disease revisited. *J Clin Pathol* 2000; 53: 750–755.
71. Morgan AD. The first recorded case of Whipple's disease? *Gut* 1961; 2: 370–372.
72. Müller SA, Vogt P, Altwegg M et al. Deadly carousel or difficult interpretation of new diagnostic tools for Whipple's disease: case report and review of the literature. *Infection* 2005; 33/1: 39–42.
73. Ortiz-Hidalgo C, George H. Whipple. Nobel Prize in 1934, Whipple's disease, pernicious anemia and other contributions to medicine. *Gac Med Mex* 2002; 138/4: 371–376.
74. Paulley JW. Whipple's disease. *Acta Gastroenterol Belg* 1964; 27: 519.
75. Prévot AR, Morel C. Nouveau cas de maladie de Whipple a *Corynebacterium anaerobium* guérie par antibiothérapie. *Bull Acad Nat Med (Paris)* 1964; 148: 540.
76. Ramzan NN, Loftus E, Burgart LF et al. Diagnosis and monitoring of Whipple's disease by polymerase chain reaction. *Ann Intern Med* 1997; 126: 520–527.
77. Raoult D, Birg ML, LaScola B et al. Cultivation of the bacillus of Whipple's disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 620–625.
78. Raoult D, LaScola B, Lecocq P et al. Culture and immunological detection of *Tropheryma whippelii* from duodenum of a patient with Whipple's disease. *JAMA* 2001; 285: 1039–1049.
79. Raoult D, Ogata H, Audic S et al. *Tropheryma whippeli* twist: a human pathogenic actinobacteria with a reduced genome. *Genome Res* 2003; 13: 1800–1809.
80. Ratliff NB, McMahon IT, Naab TJ et al. Whipple's disease in the porcine leaflets of a Carpentier-Edwards prosthetic mitral valve. *N Engl J Med* 1984; 311: 902–903.
81. Relman DA, Schmidt TM, McDermott RP et al. Identification of the uncultured bacillus of Whipple's disease. *N Engl J Med* 1992; 327: 293–301.
82. Renesto P, Crapoulet N, Ogata H et al. Genome – based design of a cell-free culture medium for *Tropheryma whippeli*. *Lancet* 2003; 362: 447–449.
83. Rickman DS et al. Uveitis caused by *Tr. whippeli* (Whipple's bacillus). *N Engl J Med* 1995; 332: 363–366.
84. Rodarte JR, Garrison CO, Holley KE et al. Whipple's disease simulating sarcoidosis. A case with unique clinical and histological features. *Arch Int Med* 1972; 129: 479–482.
85. Rolain JM, Fenollar F, Raoult D. False positive PCR detection of *Tropheryma whippeli* in the saliva of healthy people. *BMC Microbiol* 2007; 7: 48.
86. Rouillon A, Menkes CJ, Gerstner JC et al. Sarcoid-like forms of Whipple's disease. Report of 2 cases. *J Rheumatol* 1993; 20: 1070–1072.
87. Rutishauser E, Borer F. Cellules histiocytaires PAS-positives dans la maladie de Whipple. *Schweiz Med Wschr* 1959; 89: 397.
88. Rutishauser E, deWeck A. Réticulo-endothéliose cutanée dans la maladie de Whipple. *Dermatologica* 1957; 115: 358.
89. Sharma OP. Unusual systemic disorders associated with interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2001; 7(5): 291–294.
90. Schneider T, Stallmach A, von Herbay A et al. Treatment of refractory Whipple's disease with interferon-gamma. *Ann Intern Med* 1998; 129: 875–877.
91. Schoedon G, Goldenberger D, Forrer R et al. Deactivation of macrophages with Interleukin-4 is the key to isolation of *Tropheryma whippelii*. *J Infect Dis* 1997; 176: 672–677.
92. Schochet SS, Lampert PW. Granulomatous encephalitis in Whipple's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 1969; 13: 1–11.
93. Sieracki JC. Whipple's disease; Observations on systemic involvement I. Cytologic observations. *Arch Pathol* 1958; 66: 464–467.
94. Sieracki JC, Fine G, Horn RC et al. Central nervous system involvement in Whipple's disease. *J Neuropathol Exper Neurol* 1960; 19: 70–75.
95. Silva MT, Macedo PM, Moura Nues JF. Ultrastructure of bacilli and bacillary origin of the macrophagic inclusions in Whipple's disease. *J Gen Microbiol* 1985; 131: 1001–1013.
96. Southern JF, Moscicki RA, Magro C et al. Lymphedema, lymphocytic myocarditis and sarcoid-like granulomatosis. Manifestations of Whipple's disease. *JAMA* 1989; 261: 1467–1470.
97. Street S, Donoghue HD, Neild GH. *Tropheryma whippelii* DNA in saliva of healthy people. *Lancet* 1999; 354: 1178–1179.
98. Upton AC. Histochemical investigations of the mesenchymal lesions in Whipple's disease. *Amer J Clin Pathol* 1952; 22: 775.
99. Vorreith M, Vitovská M, Pazderka V. Intestinální lipodystrofie (Whippleova choroba). *Čas Lék Čes* 1958; 97: 1250.
100. Whipple GH. A hitherto undescribed disease characterized anatomically by deposits of fat and fatty acids in the intestinal and mesenteric lymphatic tissues. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1907; 18: 382–391.
101. Wilson KH, Blitchinton R, Frothingham R et al. Phylogeny of the Whipple's disease associated bacterium. *Lancet* 1991; 338: 474–475.
102. Yardley JH, Fleming WH. Whipple's disease: A note regarding PAS-positive granules in the original case. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1961; 109: 86.
103. Yardley JH, Hendrix TR. Combined electron and light microscopy in Whipple's disease. Demonstration of

„bacillary bodies“ in the intestine. Bull Johns Hopkins Hosp 1961; 109: 80.

104. Zinkernagel AS, Gmur R, Fenner L et al. Marginal and subgingival plaque – a natural habitat of *Tropheryma whipplei*? Infection 2003; 31: 86–91.

105. Dobbins WO. The diagnosis of Whipple's disease. N Engl J Med 1995; 332: 390–392.

106. Amsler L, Bauerfeind P, Nigg C et al. Prevalence of *Tr. whipplei* DNA in patients with various gastrointestinal diseases and in healthy controls. Infection 2003; 31: 81–85.

107. Mainwald M, Ditton HJ, von Herbay A et al. Reassessment of the phylogenetic position of the bacterium associated with Whipple's disease and determination of

the 16S – 23S ribosomal intergenic spacer sequence. Int J Syst Bacteriol 1996; 46: 1078–1082.

prof. MUDr. Rostislav Kodoušek, DrSc.

www.fnol.cz

e-mail: kodousek@tunw.upol.cz

Doručeno do redakce: 4. 12. 2007

www.kardiologickeforum.cz