

SOUČASNÝ POHLED NA LÉČBU A PATOGENEZU PES EQUINOVARUS CONGENITUS

MUDr. Martin Ošťádal, Ph.D.

Ortopedická klinika Nemocnice Na Bulovce a 1. LF UK

Habilitační práce

Praha 2017



OBSAH

1. Úvod
2. **Obecná charakteristika vrozených vad končetin**
 - 2.1 Definice, etiologie
 - 2.2 Klasifikace
 - 2.3 Diagnóza, prognóza a terapie
 - 2.4 Embryologické poznámky
 - 2.5 Úloha signálních molekul a transkripčních faktorů
3. **Vrozené deformity nohy**
4. **Pes equinovarus congenitus – tradiční pohled**
 - 4.1 Definice
 - 4.2 Klasifikace
 - 4.3 Klinický obraz
 - 4.4 Patologická anatomie
 - 4.5 Léčba konzervativní
 - 4.6 Léčba operační
 - 4.7 Rehabilitace
5. **Vlastní zkušenosti s léčbou pes equinovarus Ponsetiho metodou**
 - 5.1 Soubor pacientů
 - 5.2 Vlastní modifikace Ponsetiho metody
 - 5.3 Srovnání krátkodobých a dlouhodobých výsledků léčby
 - 5.4 Analýza dosažených výsledků
 - 5.5 Závěry
6. **Možné patogenetické mechanismy, uplatňující se při vzniku pes equinovarus**
 - 6.1 Současné představy
 - 6.2 Klasifikační metody a biomechanické parametry
 - 6.3 Buněčné složení fibrotické tkáně u pes equinovarus

6.4 Úloha proteinů extracelulární matrix

6.5 Proteomická analýza extracelulární matrix u pes equinovarus

6.5.1 Pacienti a vzorky tkáně

6.5.2 Gelová elektroforéza

6.5.3 Aminokyselinová analýza

6.5.4 Proteomická analýza

6.5.5 Srovnání bílkovinného složení mediální a laterální části kloubního pouzdra

6.6 Kontraktura vazivové tkáně

6.7 Možný terapeutický význam proteomické analýzy

6.8 Závěry

6.9 Perspektivy dalšího výzkumu patogenetických mechanismů vzniku PEC

7. Souhrn

8. Literatura

1. ÚVOD

Ortopedie jako operační obor se mohla plně rozvinout až po trojici základních objevů, které tvoří anestezie (1846) asepse (1867) a RTG paprsky (1895). Ve všech zemích nebyl vývoj ortopedie stejný. První samostatná ortopedická společnost vznikla ve Spojených státech amerických již v roce 1887, v Německu byla ortopedická společnost založena v r. 1900. V naší zemi, tehdy součástí rakousko-uherské monarchie, začaly první pokusy o založení samostatné ortopedie ve stejné době, ale přes veškerou snahu významných odborníků (např. Jedlička, Tobiášek) nenašla tato snaha u vídeňských orgánů pochopení. První ortopedická klinika tak vznikla až po vzniku samostatné Československé republiky, a to v r. 1921 v Bratislavě, zásluhou prof. Chlumského. Dětská ortopedie se vyvíjela od samého začátku jako součást ortopedie dospělé, brzy si však uvnitř tohoto oboru našla své nezastupitelné místo. Přesto, že obec dětských ortopedů byla poměrně málo početná a pracovala ve velmi obtížných podmínkách, měla ve svých řadách několik ortopedů, kteří svými pracemi dosáhli celosvětového uznání. Patří k nim především prof. Zahradníček pro své zásluhy o chirurgickou léčbu kyčelního kloubu a prof. Frejka za přínos ke konzervativnímu léčení kyčelní dysplazie; Frejkovu peřinku používají ortopedi na celém světě. Stejně tak Pavlíkovy třmeny patří v konzervativní léčbě kyčelní dysplazie do zlatého fondu léčebných postupů.

V současné době prožívá dětská ortopedie rychlý rozvoj. Je to dáno především novými diagnostickými metodami (stačí jmenovat např. prenatalní diagnostické postupy, CT, NMR), rozvoj farmakoterapie, významný vzestup možností fyzioterapie a v neposlední řadě zavádění nových, progresivních chirurgických postupů. Vývojové vady patří bezesporu k nejčastějším diagnózám, s kterými se v dětské ortopedické praxi setkáváme. K nejfrekvencovanějším je nutno počítat jednu z vad nejsložitějších - pes equinovarus. A právě diagnostika a léčba této vývojové poruchy je typickým příkladem rozvoje nových konservativních i chirurgických léčebných postupů. Přes bouřlivý rozvoj molekulární biologie a genetiky, které bezesporu významně přispěly k objasnění patogenetických mechanismů řady závažných poruch vývoje dětských končetin a skeletu, mnoho nezodpovězených otázek na své vysvětlení teprve čeká; patogeneza pes equinovarus je toho nejlepším důkazem.

Cílem naší práce bylo proto 1. shrnout tradiční poznatky o této vývojové poruše, 2. pokusit se zdůvodnit použití nových terapeutických postupů a 3. přispět k objasnění patogenetických mechanismů, které se na vzniku této závažné poruchy podílejí.

2. OBECNÁ CHARAKTERISTIKA VROZENÝCH VAD KONČETIN

2. 1 Definice, etiologie

Jedná se o lokalizované nebo systémové anomálie skeletu a pojivových tkání, které vznikají prenatálně a jsou patrné při narození (vrozené defekty končetin) nebo se projevují v průběhu postnatálního vývoje (vrozené poruchy vývoje kostí a chrupavky a vrozené poruchy vývoje vazivové tkáně). Incidenci vrozených vad končetin je velmi obtížné stanovit. Niethardova studie (Niethard 1997) uvádí četnost 5:1000 narozených dětí, v novější studii Schröderově (Schröder a spol. 2003) byla zjištěna četnost defektů končetin 0,12% u živě narozených dětí a 1,2% u mrtvě narozených dětí.

I když jde o vrozené vady, etiologie je velmi nesourodá. U většiny vad je příčina neznámá, protože jen některé z nich mají známý genetický podklad. Většina anomálií jedné končetiny není spojena s vyšším rizikem, že se se stejnou vadou narodí další dítě, a toto riziko je jen nepatrně vyšší (1-3%), než je výskyt vady v normální populaci. Pro prognózu je důležité, zda jde o vadu, která vznikala již v embryogenezi v době diferenciaci pohybového a nervového systému (do 9. týdne těhotenství) nebo v období fetálního vývoje. Etiologicky se podílejí na vzniku anomálií vnitřní faktory (genetické) a zevní faktory (teratogeny, onemocnění matky, anomálie dělohy, placenty a amniových obalů, příp. polohy plodu a působení zevních sil). K nejčastějším teratogenům patří ionizační záření, toxické látky (např. průmyslové toxické látky, alkohol, nikotin, některé léky), biologické mutageny (infekční nemoci, např. morbilli, varicela, herpes zoster), hypoxie matky a plodu a poruchy výživy. Prognóza je obecně tím závažnější, čím dříve ve vývoji se noxa uplatnila. Závažnější poruchy vedou k potratu většinou již v 1. trimestru těhotenství (Chomiak 2014).

2. 2 Klasifikace

Klasifikace vrozených vad je v důsledku různého úhlu pohledu (genetici, radiologové, pediatři, ortopedi) velmi nejednotná a problematická. Obecně rozdělujeme vady na vady dědičné, vznikající přenosem genetické informace na další generace (*vitium primae formationis*) a vady nedědičné, u nichž se uplatňuje náhodná genová mutace nebo vznikají působením zevních faktorů. Frejka (1970) rozlišuje dvě skupiny vad: vady dědičné označuje jako *vady*

typické, které vznikají primární poruchou zárodečné tkáně v embryonálním období a jednotlivé vady jsou si vzájemně podobné. Dělí je dále na vady atrofické (aplazie, hypoplazie), hypertrofické, numerické, skrčeniны a vykloubení. Do skrčeniны Frejka zařazuje torticollis muscularis, pes equinovarus congenitus, vrozenou plochou nohu, digitus V. supraductus, pes calcaneus congenitus a pes excavatus. *Atypické vady* nejsou dědičné a postihují nepravidelně větší množství geneticky od sebe vzdálených orgánů nebo části končetin. Jednotlivé vady si nejsou navzájem podobné. Vznikají v průběhu fetálního období a patří sem syndrom amniových konstrukčních pruhů, arthrogryposis multiplex congenita, dále progresivní fibróza m. vasti intermedii (vysoký stav česky) a deformace na horních a dolních končetinách, které jsou zcela atypické (atypické luxace a skrčeniны). Toto dělení lze však v současné době akceptovat jen částečně, a to z hlediska obecného zařazení jako vady typické a atypické. Další členění na podskupiny se podle nových poznatků liší (přehled viz Chomiak 2014).

Dnes užívaným dělením je členění na malformace a deformace. *Malformace* jsou vady, vznikající působením endogenních nebo exogenních vlivů na vývoj struktury končetin. Typ malformace je určen fází embryonálního vývoje, ve kterém se působící noxa uplatnila. Rozeznáváme tak blastopatie (období rýhování vajíčka), embryopatie, vznikající ve stadiu organogeneze (4.-8. týden těhotenství) a fetopatie (od 9. týdne těhotenství). Jako senzitivní období je označován 5. a 6. týden embryogeneze. Většina závažných defektů končetin tak vzniká v období embryonálním a bylo zjištěno, že velké defekty horních končetin vznikají ve 28. dnu těhotenství a velké defekty dolních končetin v 31. dnu těhotenství (Fuller 1974). Závažnost malformace záleží na stupni destrukce zárodečného mesenchymu a může kolísat od hypoplazií až po částečné nebo úplné aplazie. Podle toho je defekt končetiny zařazen do tzv. teratologické řady a lze jej odhadnout podle času a intenzity působení škodlivé noxy (Henkel a Willert 1969).

Deformace (malpozice) jsou změny již formované struktury končetin, vznikající působením zevních sil na plod v kterékoliv fázi fetálního období, čímž dochází k různým skrčeniným, vykloubením nebo jiným tvarovým změnám. Příkladem je syndrom amniotických konstričních pruhů.

2. 3 Diagnóza, prognóza a terapie

Diagnostika vrozených vad je v současnosti založena na prenatalních vyšetřovacích metodách. Sem patří sonografie (od 12. týdne), vyšetření α -fetoproteinu v séru matky (od 16. týdne), buněčné kultury z chorionu (od 10. týdne), amniocentéza (od 15. týdne) a fetoskopie (od 16. týdne). Některá vyšetření jsou prováděna rutinně u všech těhotných (ultrazvukové vyšetření), jiná jsou indikována při výskytu rizikových faktorů (např. amniocentéza s laboratorním a genetickým vyšetřením plodové vody při věku matky nad 35 let, při výskytu dědičné choroby nebo vrozené vady v rodině). Moderní diagnostika je založena především na molekulárně-genetických analýzách, řada onemocnění byla geneticky podrobně zmapována. Výsledek laboratorního a genetického vyšetření, který prokazuje možné poškození plodu, opravňuje rodiče k legálnímu přerušení těhotenství. Prognóza vady je obecně tím závažnější, čím dříve se ve vývoji uplatnila. Některé vady jsou neslučitelné se životem a vedou k abortu (často v 1. trimestru těhotenství) nebo narození mrtvého dítěte.

V prenatalní fázi jsou možnosti terapie velmi omezené. Postnatálně se u některých onemocnění uplatňuje substituční terapie podle známého defektu, jinak je léčení symptomatické. Vrozené defekty končetin jsou léčeny specificky podle typu vady a součástí je ortoticko-protetická péče (Chomiak 2014).

2. 4 Embryologické poznámky

Končetiny se začínají vytvářet na konci 4. týdne těhotenství z mezodermálních bočních pupenů embrya neboli končetinové lišty. Mezodermální pupen je pokryt vrstvičkou ektodermu. Končetiny se vytvářejí proximodistálním směrem od pletenců k prstům. Proliferace mezodermu je závislá na proliferaci cév, které přinášejí výživu a kyslík a na inervaci, pocházející z neuroektodermu. Kostí pletenců a proximálních segmentů (humerus a femur neboli stylopodium) se vytvářejí z mezodermu přímo, zatímco ostatní části (předloktí a bérec – zeukopodium a ruka a noha – autopodium) se vytvářejí z mezodermu při působení apikálního ektodermálního hřebene (AER). Ten vzniká jako ztluštění laterální ploténky mezodermu a reguluje růst končetiny do délky a diferenciaci pod ním ležícího ektodermu. AER tak reguluje zevní růst končetin, zatímco mezoderm určuje typ vyvíjející se končetiny. Na růstu se podílejí různé růstové faktory, především růstový faktor fibroblastů (fibroblast growth factor, FGF) a nervový růstový faktor. Na distálním konci končetinových pupenů byla

identifikována zóna polarizační aktivity (ZPA), určující předozadní orientaci končetin. ZPA je malý bloček mezodermu, který původně leží na dorzální straně při odstupu končetinového pupenu; srůstem končetiny se postupně posouvá distálně a určuje předozadní orientaci vývoje končetin a prstů.

Svaly se vyvíjejí odděleně z myotomů, pocházejících ze střední části mezodermu somitů (prvosegmentů embrya). Zádové svaly si zachovávají svoji segmentální úpravu, zatímco končetinové svaly se vytvářejí z ventrálně vybíhajících výběžků, takže postupně ztrácejí segmentální uspořádání. V 6. týdnu těhotenství se objevuje oploštění distálních částí končetin (ploténka ruky a nohy). V 7. týdnu nastává rotace končetin do správného postavení a v ploténkách ruky a nohy se objevují příslušné paprsky. V 8. týdnu je rotace končetin ukončena a v AER probíhá genově podmíněná vlastní destrukce programovanou buněčnou smrtí (apoptózou), kdy jsou separovány jednotlivé prsty. V této době začíná osifikace kostí. Koncem 8. týdne tak končí embryonální období a začíná období fetální. Ve 12 týdnech se objevují osifikační centra ve všech dlouhých kostech. Vývoj dolních končetin je přitom oproti horním končetinám opožděn asi o jeden týden. Z uvedeného vyplývá, že základní morfogeneze končetin je ukončena již v embryonálním období a většina faktorů se musí uplatnit již v této fázi vývoje (Chomiak 2014).

Velmi důležitým faktorem je vrůstání cév do růstové zóny nediferencovaných buněk mezodermu. Při poruše cévního zásobení je redukován počet mezodermálních buněk a tím i substrát pro stavbu končetiny; výsledkem jsou různé transversální defekty končetin neboli symbrachydaktylie. Podle Weaverovy hypotézy (Bavinck a Weaver, 1986, Weaver 1998) dochází při přerušení specifického úseku a. subclavia nebo a. vertebralis v embryonálním období k vzniku defektů končetin (např. Poldův syndrom, Möbiusův syndrom). Rozdílným nástupem vaskulárního inzultu v embryonálním období lze vysvětlit různou závažnost defektů končetin.

2.5 Úloha signálních molekul a transkripčních faktorů

V řízení vývoje organismu se uplatňují signální molekuly a transkripční faktory. *Signální molekuly* jsou proteiny (cytokiny) které se vážou na specifická místa plazmatické membrány buněk, jimiž se přenáší informace do jádra buňky a buňka reaguje změnou genové exprese a odpovídající diferenciací. Tento mechanismus se nazývá embryonální indukce, kdy jedna

oblast embrya ovlivňuje diferenciaci a chování buněk v jiné části embrya. K nevýznamnějším signálním molekulám patří gen „sonic hedgehog“ (Shh), což je skupina genů s různou signální funkcí. Shh indukuje vývoj různých tkání a spouští expresi dalších signálních genů. V končetinovém pupenu Shh indukuje vývoj zony polarizační aktivity, jak bylo uvedeno výše. Dalšími signálními molekulami jsou gen „indian hedgehog“ (Ihh), který stimuluje diferenciaci chrupavčité tkáně, FGF, který stimuluje celkový růst končetin a kostní morfogenetický protein (BMP), který stimuluje osteogenezi. Růstové faktory (dnes je známo asi 50 typů) jsou schopny vytvářet příslušné tkáně i na jiném než původním místě embrya. Příkladem je tvorba ektopické kosti při implantaci BMP pod kůži nebo do svalu myši (Chomiak 2014).

Transkripční faktory jsou proteiny, které způsobují transkripci podřízených genů a to vazbou na specifické sekvence DNA. Na vývoji končetin se podílejí homeoboxové geny (Hox geny A a D), které se ve vývoji aktivují v přesné sekvenci a určují okrsky vývoje specifických částí končetin. U člověka určují Hox geny radioulnární a tibiofibulární orientaci končetin (HoxD) a proximodistální orientaci (HoxA). U savců je známo více než 100 homeoboxových genů. Další skupinu tvoří geny Pax (v současné době je známo 6 těchto genů), které se podílejí na př., na migraci buněk neurální lišty a migraci pyogenních buněk ze somitů do základů končetin. Tyto geny nejsou omezeny na určité segmenty, jako je tomu homeotických genů, ale spouštějí expresi dalších genů, které potom ovlivňují vývoj, např. horní a dolní končetiny (Chomiak 2014).

Horní a dolní končetiny mají podobnou stavbu a funkci, ale přitom se výrazně liší. Tyto odlišnosti jsou způsobeny transkripčními faktory, které se postupně objevují v mezenchymových buňkách končetinového pole a základu končetiny. Na dolní končetině jsou tak postupně exprimovány geny Pitx 1, později Tbx 4 a naposled a pouze distálně geny HoxC10 a HoxC11. Na horní končetině je exprimován gen Tbx 5, ale žádný z genů, typických pro dolní končetinu. Mutace genu Tbx 5 způsobuje u člověka redukční deformity horních končetin různého rozsahu (amelie, fokomelie, dysplazie radia) spojené s defektem srdečního septa (Holtové-Oramův syndrom). Klíčovými geny pro odlišení horní a dolní končetiny jsou tedy geny Tbx 5 a Pitx 1, lokalizované v mezenchymových buňkách základů končetin (Čihák a Grim 2001).

3. VROZENÉ DEFORMITY NOHY

Lidská noha má složitou strukturu: musí být schopná přenášet hmotnost těla na podložku, přenášet jeho zrychlení při běhu, měnit postavení v závislosti na terénních nerovnostech nebo dokonce nahradit chápavou funkci u dětí s nevyvinutými horními končetinami. Noha slouží jako spojení těla s okolním prostředím a zpětnou propriocepcí pomáhá udržovat vzpřímený postoj. Noha bývá často používána ve verbálních spojeních v hovorové řeči. Tak např. ten, kdo není v zaměstnaneckém poměru, „je na volné noze“, kdo se oddává luxusu, „žije na vysoké noze“, jinému „hoří půda pod nohama“, při špatné náladě říkáme, že „vstával levou nohou“, je-li někdo samostatný, „stojí na vlastních nohou“. Kollár zvolal: „...stůj, noho, posvátná místa jsou!“ (Dungl a spol. 2014).

Lidská chůze je v celé živočišné říši zcela jedinečná a pro druh *Homo sapiens sapiens* přísně specifická. Vzpřímená bipední chůze se děje optimální rychlostí s minimálním energetickým výdajem u každého jedince individuálně, s jemnými variacemi podle věku a pohlaví. Chůze je individuálně typická a tak osobní, že podle zvuku a rytmu můžeme rozeznat jejího „majitele“. Každý krok začíná s flexibilní nohou, která se po kontaktu s podložkou přizpůsobí jejímu tvaru a rychle se mění v rigidní strukturu, přenášející hmotnost a udržující tělesnou rovnováhu. Patologické změny nohy vyšetřujeme jak při noze nezatížené, tak pozorováním funkčních změn v zátěži, a to ve stoji i při chůzi (Dungl 1989).

Ideální tvar nohy je obtížně definovatelný, často i nápadné deformity nepůsobí svým nositelům po celý život obtíže. Normální noha je pružná, s plantigrádním došlapem, vytvořenou podélnou a příčnou klenbou, současně i dostatečně rigidní, udržující svůj tvar v zatížení, s fyziologickým rozsahem pohybu v jednotlivých kloubech. Frejka (1970) rozlišoval nohu selskou, městskou a šlechtickou, tyto mnohdy umělé rozdíly však s migrací obyvatelstva a změnou životního stylu do značné míry vymizely. Existuje spojitá řada individuálních tvarů nohou od gracilní, drobné nohy s vysokou klenbou, po masivní, rozměrnou nohu s oploštělou klenbou. Dokonce jsme svědky různě intenzivního a různě nákladného léčení lehkých tvarových odchylek bez funkčního omezení.

U nohy platí, více než u jiných částí pohybového ústrojí, základní funkční princip – přenos hmotnosti těla na podložku a vzpřímená bipední chůze. Z tohoto pohledu jsou rozsah pohybu v jednotlivých kloubech, tvar a elasticita nohou druhotné. Klasické rozdělení vad a deformit nohou je stejné jako v jiných orgánech a orgánových systémech: rozlišujeme vady vrozené, které dále dělíme na polohové a strukturální, a vady získané, kde rozlišujeme statické deformity a deformity sekundární po chorobách a úrazech. Čeština nemá pro mnoho deformit souhrnné české názvy, jako je tomu v angličtině či němčině, a pomáháme si často latinským přepisem. Rozlišujeme tedy:

- pes equinovarus, noha kososvislá (talipes equinovarus, clubfoot, Klumpfuss),

- pes equinus, noha koňská (Spitzfuss),
- pes calcaneus, noha hákovitá (calcaneal foot, Hackenfuss),
- pes cavus, noha vyklenutá (cavus foot, Hohlfuss, Ballenhohlfuss),
- pes planus, plochá noha (flatfoot, Plattfuss),
- metatarsus adductus (Sichelfuss),
- metatarsus varus (skewfoot),
- pes (plano) valgus, plochovbočená noha (valgus foot, Knickfuss, Senkfuss),
- pes transversoplanus, příčně plochá noha (flatfoot, Spreizfuss),
- talus verticalis (rocker-bottom foot, Tintenloscherfuss).

Kostní vývoj nohy začíná již intrauterinně. Při narození jsou talus, calcaneus a os cuboideum osifikovány, kdežto os naviculare a kosti klínovité zůstávají chrupavčité. Metatarzy a falangy jsou osifikovány již při narození. Os cuneiforme laterale osifikuje mezi 4. a 20. měsícem věku, os cuneiforme medíale ve 2 letech, intermedium ve 3 letech. Os naviculare osifikuje s poměrně velkou variační šíří mezi 2. až 5. rokem života. Noha má vlastní růstový vzorec, odlišný od zbytku těla: roste rychle do 5. roku života, poté se růst zpomaluje na zhruba 9 mm ročně mezi 5.–12. rokem u děvčat a 5.–14. rokem u chlapců, kdy zpravidla růst nohy ustává. Délka chodidla u rok starého děvčátka a 18měsíčního chlapce dosahuje polovinu dospělé délky. Průměrná délka chodidla u děvčat je 24 cm, u chlapců 26 cm. Kombinací odchylek zejména při neurologických postiženích vznikají složené deformity, jako pes calcaneovalgus, pes equinocavovalgus, equinocavovarus či pes serpens (zig-zag fuss). V naší habilitační práci se zabýváme patogenezí a léčbou nejkomplicovanější a nejčastější vrozené deformity nohy

- pes equinovarus congenitus (Dungl a spol. 2014, Ošřádal 2014).

4. PES EQUINOVARUS CONGENITUS – TRADIČNÍ POHLED

4.1 Definice

Pes equinovarus congenitus (PEC) je složitá deformita nohy, složená z pěti hlavních komponent, které mohou v různé míře převažovat. Jsou to equinozita v hlezenním kloubu, inverze přednoží, varozita paty, exkavace (vyklenutí střední části nohy) a addukce přednoží. Zdá se, že hlavním činitelem při vzniku a udržování této deformity je tah m. tibialis posterior, k deformitě rovněž patří mediální subluxace v Chopartově kloubu a zkrácení Achillovy šlachy. Anglický název congenital talipes equinovarus přímo vyjadřuje místo primárního postižení, častěji se ale užívá clubfoot (něm. Klumpfuß).

Incidence PEC v evropské populaci je přibližně 1-2 na 1000 živě narozených dětí, v Japonsku 0,5 na 1000 a v jižním Pacifiku zhruba 7 na 1000 živě narozených.

4.2 Klasifikace

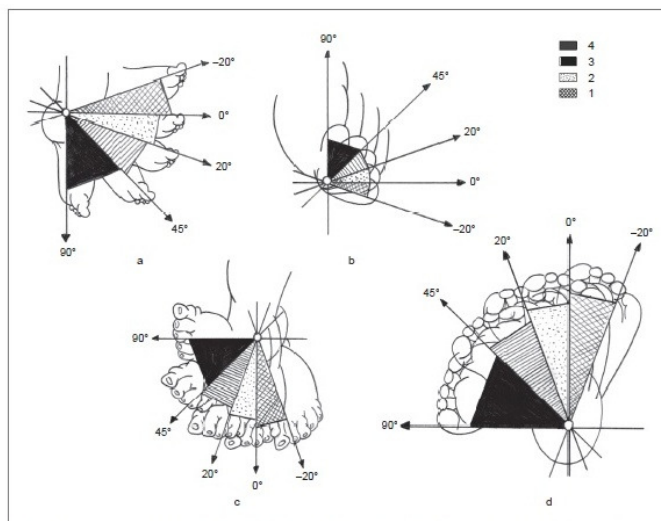
Hersh (1967) rozdělil equinovarózní deformity na vrozené a získané a obě skupiny dělí dále podle etiologie. U vrozených rozeznává equinovarus idiopatický, neurogenní, myogenní, osteogenní, kolagenní a chondrogenní, u získaných pak PEC, vznikající z neurogenní nebo cévní příčiny. Vrozený idiopatický pes equinovarus rozděluje na typ vnitřní, kdy je noha rigidní, se značnou fibrózou a abnormálním postavením kostí, a na typ zevní s flexibilní, poměrně snadno korigovatelnou vadou. V současné době se používá jednoduché dělení dle Lehmana a spol. (1984) a Tachdjiana (1990):

1. typ polohový, pasivně korigovatelný,
2. typ rigidní, pravý,
3. rezistentní rigidní typ, sdružený s dalšími vrozenými vadami či artrogrypózou.

Klasifikace klinického obrazu je obtížná pro příliš velký subjektivní faktor jednotlivých hodnotitelů. Pro informaci předložíme dva základní, aktuálně používané klasifikační systémy: evropský, který vytvořil v Motpellier Allan Dimeglio a francouzští spolupracovníci (1995) a systém americký (Pirani, 2002).

Dimeglioova klasifikace je 20 bodová; rozlišuje 4 základní parametry, hodnocené 0-4 body a další 4 nepříznivé příznaky, hodnocené vždy 1 bodem. Výsledkem jsou 4 stupně závažnosti equinovarózní deformity: základní parametry, hodnocené 0-4 body podle rigidity a reponovatelnosti: 1. equinozita v sagitální rovině, 2. varozita ve frontální rovině, 3. derotace bloku kalkaneus-přednoží a 4. addukce přednoží v horizontální rovině. Další nepříznivé

příznaky tvoří zadní rýhy, mediální rýha, kavozní deformita a hypotrofie lýtkového svalstva. Stupně: 1. benigní deformita (0-5 bodů), 2. středně závažná deformita (6-10 bodů), 3. závažný PEC (11-15 bodů) a 4. velmi těžká deformita (16-20 bodů). Používá se rovněž verbální vyjádření rigidity do 4 kategorií od nejlehčí po nejtěžší: 1. benigní deformita soft-soft, 2. mírná deformita soft- stiff, 3. závažná deformita stiff-soft a 4. velmi závažná deformita stiff-stiff (obr.1).



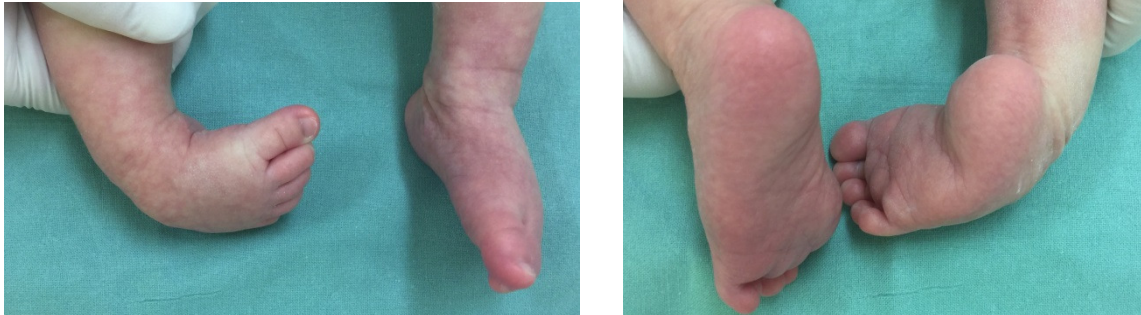
Obr. 1 Klasifikace dle Dimeglia (1995)

Piraniho klasifikace používá pro složku deformity podle závažnosti 0-1/2-1 bod, maximální hodnota může být 10 bodů. Součástmi jsou: 1. zakřivení laterálního okraje nohy, 2. závažnost mediální rýhy, 3. závažnost zadní rýhy, 4. interval mediální kotník-naviculare, 5. palpace laterálního okraje talu, 6. „prázdná“ pata, 7. interval fibula-Achillova šlacha, 8. rigidita equinu v extenzi kolena, 9. rigidita addukční složky a 10. kontraktura dlouhých flexorů prstů.

4.3 Klinický obraz

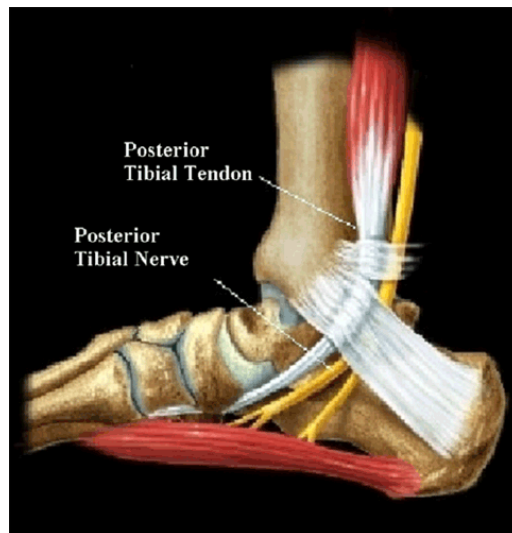
Vzhled nohy s pravým PEC je charakteristický (obr. 2). Noha je v plantiflexi, pata je malá, varózní, vysunutá vzhůru, na kůži zápatí jsou hluboké příčné rýhy. Střední část nohy a přednoží, stojí v addukci a supinaci. Noha je jakoby stočena do kornoutu (Frejka, 1970). Ultrazvukem lze deformitu diagnostikovat již od 15. týdne intrauterinního živoat. Není-li vada diagnostikována prenatálně, je zjevná ihned po narození. Zjištění PEC není indikací k přerušení těhotenství. Deformita je různě rigidní, ale není manuálním redresem plně odstranitelná. Kůže na konvexní straně nohy je ztenčelá, napjatá, přirozené rýhy chybí. Zevní kotník je více vzadu a prominuje, přední část talu tvoří nejnápadnější prominenci na laterální straně dorza nohy. Na mediální straně nohy, která je konkávní, jsou hlubší kožní rýhy, os naviculare přiléhá těsně k vnitřnímu kotníku, takže palpací není možné

vyhmatat mezeru mezi oběma kostmi. Při pokusu o pasivní dorziflexi můžeme hmatat zkrácenou a napjatou Achillovu šlachu. Již u novorozence je při jednostranném postižení nápadná hypotrofie lýtky a chodidlo je kratší (Ošťádal, 2014).



Obr. 2 *Jednostranný pes equinovarus po narození*

Od pravých PEC je třeba odlišit polohové deformity, vznikající nedostatkem místa v děloze, které jsou méně rigidní a téměř zcela reponovatelné, i když pohledem není zpravidla možné tyto dvě skupiny odlišit. Polohový PEC se upraví sám bez jakékoliv léčby do několika dnů po porodu. Z toho někdy vznikají překvapivě výborné výsledky konzervativního léčení při porovnání s původně hrozivým iniciálním nálezem. Převahou svalů na mediální straně chodidla, zvláště pak tahem šlachy m. tibialis posterior, se noha stáčí do typické kornoutovité deformity (obr. 3).

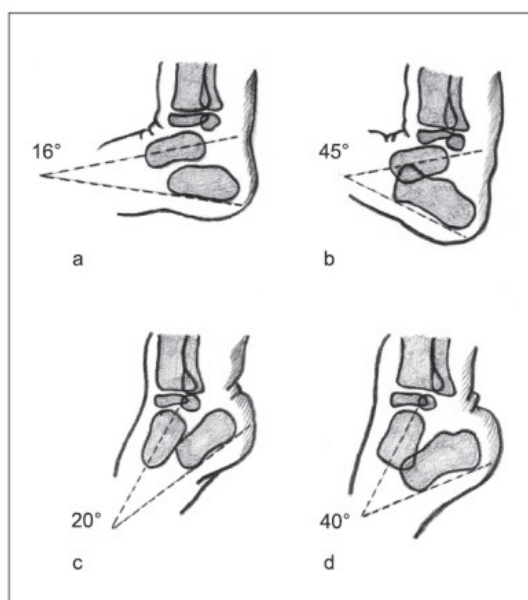


Obr. 3 *Šlacha s distálním úponem m. tibialis posterior*

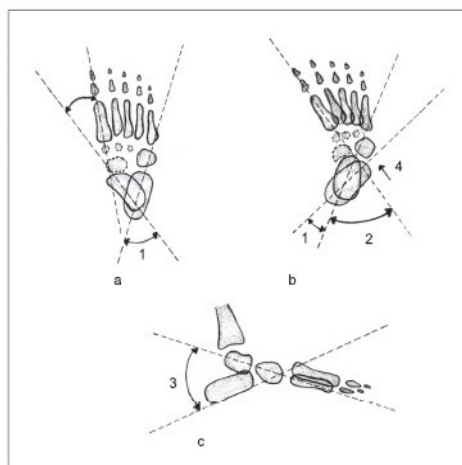
Je-li vada neléčena až do vertikalizace, chodidlo našlapuje na zevní okraj a v extrémních případech až na dorzum nohy. V místech nefyziologické zátěže se nad V. metatarzem a na dorzolaterální straně chodidla vytvářejí tuhé mozoly až tlakové ulcerace. Nefyziologickým zatížením se deformuje rostoucí skelet nohy a v kloubech se rozvíjí časná artróza.

RTG vyšetření není nutné pro stanovení diagnózy, ale k posouzení závažnosti a sledování průběhu

lčby. K verifikaci nálezu je důležité zhotovení RTG snímku v dorzoplantární a zejména ve standardizované boční projekci, při které jsou zevní strana paty a zadní části nohy paralelní s kazetou. V boční projekci se zhotoví snímek v maximální plantární a dorzální flexi (Henkel a Willert, 1969). U normální nohy se laterální talokalkaneární (TC) úhel v dorziflexi s everzí calcanea zvětšuje, v plantiflexi se s inverzí zmenšuje, u PEC je tomu naopak (obr.4). V plošném jednorovinném zobrazení se odečítá přímo malpozice jednotlivých základních kostěných elementů nohy; subluxece kosti loďkovité se odečítá nepřímou, neboť v době vyšetření ještě zpravidla není osifikovaná. V prvních měsících života jsou obrysy talu i kosti patní oválné, proto linie, určující osu kosti patní, je vedena plantárním okrajem. Pro zjednodušení se hodnotí tři základní úhly – laterální TC úhel, dorzoplantární TC (Kiteův) úhel a úhel mezi talem a dlouhou osou I. metatarzu. Zmenšuje-li se TC úhel (paralelita) a talometatarsální úhel je menší než 20° nebo je negativní, jsou tyto změny typické pro PEC. Součet TC úhlů v obou projekcích se označuje jako talokalkaneární index a jeho hodnota menší než 40° značí nedokonalé vyléčení (Obr.5). Na dorzoplantárním snímku se hodnotí vztah kosti krychlové ke kosti patní. Za normálních okolností osa patní kosti protíná střed kosti krychlové; u PEC je kost krychlová posunuta od této osy mediálně (Simmonsovo znamení). Metatarzy jsou stočené mediálně a vzájemně se překrývají.



Obr. 4 U normální nohy se laterální talokalkaneární (TC) úhel v dorziflexi s everzí kalkanea zvětšuje (b,d), v plantiflexi se s inverzí zmenšuje, u PEC je tomu naopak (a,c)

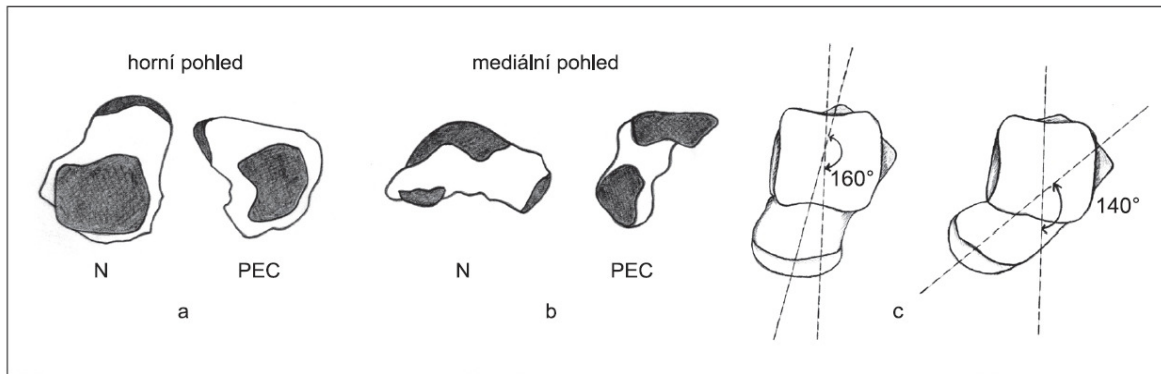


Obr. 5 Úhel mezi talem a osou I. metatarzu (a). Součet talokalkaneárních (TC) úhlů v dorzoplantární (b) a laterální (c) projekci se nazývá talokalkaneární index (TC index)

Vada je náchylná k recidivám, z nichž nejvyšší četnost vykazuje PEC u artrogrypózy; zde i optimálně vedená terapie má za následek značné omezení elasticity a pohyblivosti chodidla. Deformita neléčená či nevhodně léčená je v dospělosti velmi nápadná a je zdrojem utrpení pro svého nositele (Dungl a Karpíšek, 1990).

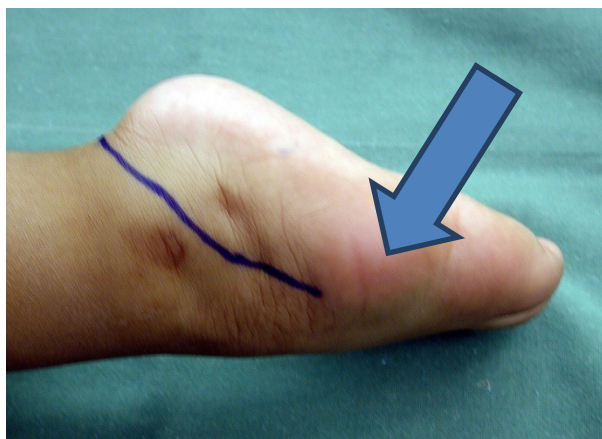
4.4 Patologická anatomie

PEC byla považována za vadu osteogenní, popisuje ale vadné postavení talu, nikoliv jeho vadný tvar. Do jisté míry můžeme rozlišit primární (vrozené) a sekundární (adaptační) patologicko-anatomické změny. Základní primární deformitou je podle většiny autorů postižení talu. Hlezenní kost je celkově menší, skloněna do ekvinozity v hlezenním kloubu, hlavice s krčkem jsou stočeny plantárně a mediálně. Deklinační úhel má za normálních okolností hodnotu 150–160°, u vrozeného equinvaru je zmenšen na 125–140° (obr. 6). Vidlice hlezna je fyziologicky vzadu užší než vpředu, trochlea talu má obdobný tvar. U neléčeného PEC vlivem subluxačního postavení v plantiflexi se přední část kloubní plochy talu relativně rozšiřuje a ztrácí tím možnost repozice do maleolární vidlice (Ippolito, 1995).



Obr. 6. Hlezenní kost je celkově menší, skloněna do ekvinozity v hlezenném kloubu, hlavice s krčkem jsou stočeny plantárně a mediálně (a, b). Deklinační úhel má za normálních okolností hodnotu 150–160°, u vrozeného equinvaru je zmenšen na 125–140°.

Os naviculare je dislokována mediálně, je těsně přiložena k vnitřnímu kotníku a je v této nové poloze držena tahem plantárního kalkaneonavikulárního vazy (lig. spring), vazy tibionavikulárního a silným tahem šlachy m. tibialis posterior. Další malpozice jednotlivých kostí tarzu vznikají vystupňovanou horizontální subtalární rotací, při které se kolem osy, tvořené lig. talocalcaneare interosseum, stáčí kost patní hrbolem k zevnímu kotníku a do varozity, přední okraj s kostí krychlovou je dislokován mediálně pod talus. Kostí středního tarzu a metatarzy jsou stočeny do addukce a kavovarózního postavení. Rigidita celé deformity je udržována tuhým vazivovým pruhem, tvořeným zesílenými vazivovými pochvami dlouhých ohybačů haluxu a prstů v místě jejich překřížení pod os naviculare (tzv. Henryho uzel). Nejsou-li tyto rotační změny včas upraveny, přizpůsobuje se tvar kostí patologickému postavení, laterální okraj nohy relativně přerůstá a celý řetěz patologických změn se fixuje a prohlubuje. U neléčené, zastaralé deformity jsou tuhé kalozity až ulcerace na zevní hraně nohy nebo na jejím hřbetu (obr.7) (Ippolito, 1995).

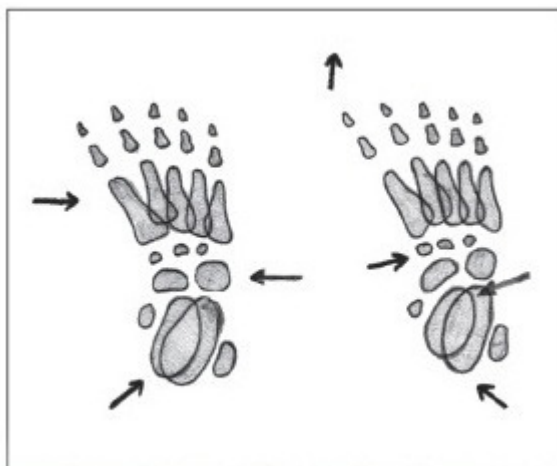


Obr. 7 Otlak na dorzu nohy u osmileté dívky s neléčeným PEC.

4.5 Léčba konzervativní

Terapie se dělí obvykle na konzervativní a operační (přehled viz Ošťádal a spol. 2014). Používání těchto postupů se v průběhu medicínských dějin významně měnilo. Konzervativní léčení spočívá v postupné korekci deformity sérií sádrových redresních obvazů, způsob jejich přikládání se podle jednotlivých autorů liší. Všeobecně se rozlišuje sádrování korekční (redresní), které má postupně odstranit deformitu, a sádrování retenční, které zajistí dosaženou korekci. Korekční působení sádrového obvazu má omezené trvání, již po 48 hodinách se obvaz mění z korekčního na pouhý retenční. Je-li sádrový obvaz vyměněn každý druhý den, trvá redresní fáze asi 3 týdny. Velkou pozornost je třeba při každé výměně sádry věnovat správnému umístění korekčních tlaků (Yamamoto a spol. 1998).

Od dob Hippokratových se používal redresní tlak v trojbodovém systému, tj. z mediální strany na přednoží a patu s protitlakem na oblast před zevním kotníkem. Pokrok znamenalo derotační sádrování dle tzv. vídeňské školy, při němž se pečlivě modelovala oblast paty, lehkým tlakem se stahovala dolů, oddalovala se od zevního kotníku a stáčela se do neutrálního postavení (tzv. Wiener Handgriff-Scheel – obr. 8). Snad nejznámějším protagonistou konzervativního léčení byl Kite (1972), který v letech 1924–1960 léčil více než 800 pacientů, terapie trvala průměrně 6 měsíců. Kite (1972) korigoval každou komponentu PEC separátně, začínal s addukcí přednoží a pokračoval varozitou paty, jako poslední odstraňoval equinozitu. Nikdy nedovolil začít s korekcí další deformity, nebyla-li hotova fáze předchozí. Metoda byla velmi pracná a výsledky ostatních autorů nebyly zdaleka tak dobré. Ponseti (1996) je rovněž zastáncem konzervativního léčení, v současné době velmi populárního, který koriguje všechny složky deformity současně a dosahuje korekce průměrně 5 výměnami redresních sádrových obvazů. Ctí sekvenci malpozic při PEC deformitě a domnívá se, že nemůže být izolovaně korigována addukce přednoží bez laterální subtalární derotace kosti patní a bez korekce inverze, k překonání equinozity přidává u většiny případů subkutánní tenotomii Achillovy šlasy; poté doporučuje abdukční ortézu až do 6 let věku (obr. 9). Ponseti (Ponseti a Smoley, 1963, Ponseti, 1996, Ponseti a spol. 2006) věří, že manipulací vzniká druh aseptického zánětu, který je třeba zklidnit v sádrovém obvazu a ne jítřit cvičením. Tato teorie si přímo protirečí s moderní koncepcí francouzských autorů (Dimeglio a spol., 1996), kteří s úspěchem používají kontinuální pasivní cvičení ve speciálně konstruované motorové dlazi. V současné době Ponsetiho terapeutický koncept zvítězil a jeho metoda je (až na výjimky) celosvětově nejvíce používána. Podrobně se k této metodě vrátíme v dalším textu.



Obr.8 Korekční tlaky při sádrování dle „vídeňské školy“



Obr. 9 Abdukční ortéza

Rozhodující roli u všech konzervativních postupů hraje časný začátek účinné terapie, protože měkké tkáně jsou ještě pod hormonálními vlivy, a proto poddajnější. Již v prvních dnech po porodu má být naložen první redresní sádrový obvaz, který se mění v pravidelných intervalech. Redresní sádrování má své zásady – nepoužívá se nikdy analgetická sedace (algická reakce upozorňuje na nepřiměřené násilí), prostředí má být pro dítě příjemné a matka má dítě uklidňovat. Při modelování sádrového obvazu je nutno nenásilně korigovat všechny složky deformity současně, nepostupuje se v dříve oblíbené Kiteově sekvenci addukce-varozita-equinozita (Kite, 1972). Směr aplikace korekčních sil směřuje z mediální strany laterálně, současně se provádí subtalární derotace, abdukce a korekce ekvinózního postavení i varozity. Redresní tlak nesmí být příliš energický, nelze se pokoušet o jednorázovou úplnou korekci. Tato korekce je totiž pouze zdánlivá, patička zůstane v inverzi a předonoží je prolomením ve středním tarzu převedeno do pronace („segmental break“), nožka

reaguje otokem a vynucená přestávka v léčení maří předešlé úsilí. Ponseti (1996) říká „never pronate the foot“, tím se repozice zamkne v Chopartově kloubu (obr. 10). Buď se šetrným redresním sádrováním podaří polohovou deformitu plně zkorigovat a pokračuje se v ortéze podle Ponsetiho návrhu nebo je indikováno operační léčení.



Obr. 10. Manipulace přednoží do abdukce v pronaci s protitlakem na hlavičku hlavu hlezenní kosti

4.6 Léčba operační

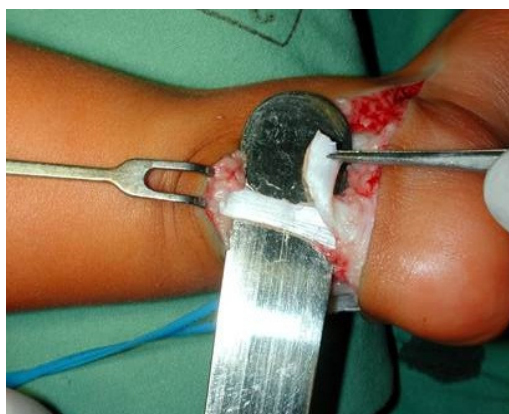
V názorech na volbu operace není v literatuře plná shoda (Ošťádal, 2014). Před Ponsetiho érou se mnohem více indikovala operační léčba. Byla používána buď tzv. cesta malých kroků, kdy jsou postupně korigovány jednotlivé složky deformity, s nevýhodou opakovaných operací a prodlouženého sádrování nebo jednorázová kompletní korekce za cenu většího operačního výkonu, náročného na operační techniku.

Po zavedení historicky neúspěšnější konzervativní Ponsetiho metody počet operačních výkonů výrazně poklesl. Po prvních optimistických výsledcích se ukázalo, že, bohužel, ani tato metoda není stoprocentní. Proto musí být praktická a teoretická znalost „velké“ operativy PEC udržována, a to alespoň na klinických pracovištích. Operativa není jen alternativou konzervativního postupu či léčbou recidiv, nýbrž u rigidních neurogenních equinovarovních deformit tvoří podstatnou složku léčby. Tachdjian (1990) dokonce zastává názor, že operace je vzhledem k menšímu použitému násilí oproti sádrování léčbou konzervativní. Způsobů operačního léčení je celá řada a každá nová metoda byla předkládána v dobré víře, že je účinnější a bezpečnější než ty předchozí. Nejrůznějšími typy operačních výkonů můžeme dosáhnout aktuální korekce do příznivého postavení, zejména však

musíme operací vytvořit podmínky k dalšímu příznivému vývoji. Jestliže se k deformitě, podmíněné vrozeným tvarem základního elementu nohy, přidá neúplná repozice a funkční ztráta flexorů po jejich prolongaci a operační trauma, znamená to pro rostoucí, vulnerabilní nohu trvalé poškození, dalšími výkony již nekorigovatelné. Je možno souhlasit s Dimegliem a spol. (1996), že pouze první operace má největší naději na úspěch, všechny další výkony již mohou zpravidla pouze částečně zlepšit tvar a funkci nohy, zejména jsou-li šlachy flexorů trvale poškozeny zbytečnou prolongací. Prolongovaná imobilizace pouze částečně korigované nohy vede k zafixování a prohloubení stávající deformity a k dalšímu zhoršení po odstranění sádrové a dlahové korekce.

Operační léčení je obecně indikováno tehdy, přetrvává-li PEC klinicky i radiologicky i přes dostatečně dlouhodobé a správně vedené konzervativní léčení. Existuje celá řada operačních postupů (Hersh, 1967, Bensahel a spol. 1987), všechny pojí základní princip – talokalkaneární repozice a uvolnění kontraktur s repozicí v talonavikulárním kloubu.

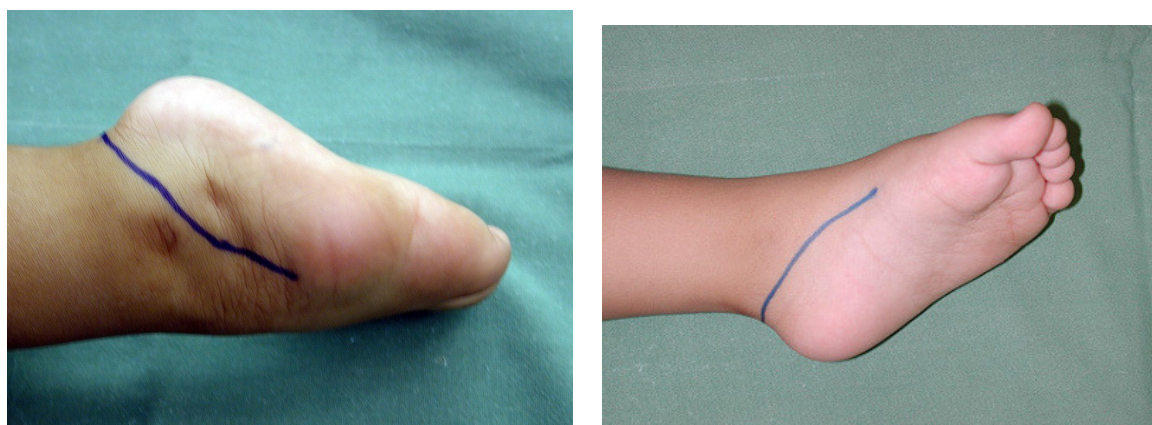
Dorzální uvolnění se používá u těch případů, kde se daří včasnou Ponsetiho konzervativní terapií nohu korigovat, u kterých ale přetrvává equinózní postavení i přes subkutánní tenotomii Achillovy šlachy. Na RTG přetrvává talokalkaneární paralelita, pata je vysunuta proximálně a dorziflexe není možná. V poloze na břiše se Achillova šlacha prodlužuje z příčné incize ve frontální rovině asi o 3 cm (obr. 11), protíná se pouzdro talokalkaneárního a tibiotalárního kloubu, lig. fibulocalcaneare, zadní část deltového vazy až k sustentaculum tali. Po operaci se zajistí repozice patní kosti K dráty, které je možné zavést příčně, ale lépe talokalkaneárně z planty. Sádruje se nad koleno na 6 týdnů, sádra je vždy podložena a vpředu prostřižena. Zpravidla 10. pooperační den se sádrový obraz vymění za podloženou cirkulární fixaci. Po sejmutí sádry se doléčuje individuálně zhotovenou plastovou dlažkou v everzi, dorziflexi a zevní rotaci chodidla a v 90° flexi v kolenním kloubu. Bandáž se mění zpočátku po třech, od jednoho roku věku po 6 měsících.



Obr. 11 Prolongace Achillovy šlachy ve frontální rovině

Dojde-li ke kompletní recidivě PEC, kterou není dále možno léčit konzervativně, indikujeme subtalární uvolnění. Od r. 1983 používáme na našem pracovišti kompletní subtalární uvolnění z příčné

incize (Cincinnati incision – Crawford, 1982) postupem v podstatě shodným s původním popisem (Mc Kay, 1983a,b,c) (obr. 12,13). Principem operace je korekce horizontální subtalární rotace po kompletní kapsulotomii talokalkaneárního kloubu s ponecháním mezikostního vazu (obr. 14,15). Pravidelnou součástí je kapsulotomie kloubu kalkaneokuboidního s repozicí kosti krychlové, uvolnění tzv. čtyřrohého spojení mezi talem, kostí patní, kostí krychlovou a loďkovitou, dorzálně prodlužujeme Achillovu šlachu o asi 3 cm. „Z“ řezem ve frontální rovině a zadní kapsulotomií otevíráme tibiotalární a talokalkaneární klouby. Protínáme lig. fibulocalcaneare, oproti původnímu popisu však neotevíráme pochvy peroneálních šlach pro riziko jejich pooperační luxace. Na mediální straně preparujeme svazek, protínáme vazivové pochvy m. flexor hallucis longus a m. flexor digitorum longus, chráníme hlubokou porci deltového vazy a prodlužujeme šlachu m. tibialis posterior. Na mediální straně otevíráme talonavikulární kloub, jehož štěrba v důsledku medioplantární dislokace kosti loďkovité má téměř sagitální orientaci. Plantárně je os naviculare držena v patologickém postavení silným a zkráceným plantárním kalkaneonavikulárním vazem (spring ligament). Kavózní složku PEC odstraníme protětním plantární aponeurózy a šlašitého začátku m. abductor hallucis ze separátní plantární kožní incize. Nenásilnou manipulací korigujeme nohu do správného postavení, nejvýraznější částí celé korekce je derotace kosti patní – v porovnání s výchozím postavením se pata otočí kolem vertikální osy o 60–90° hrbolem dovnitř a současně do valgosity. Délka chodidla se prodlouží o 1,5–3 cm. Korigované postavení zajistíme celkem čtyřmi K dráty – přes kloub talonavikulární a kalkaneokuboidní a dvěma dráty zajišťujeme polohu kosti patní proti talu, dráty však nesmějí procházet hlezenním kloubem (obr. 16). Známkou správné repozice je snadná sutura kůže. U reoperací může vlivem jizevnatých změn vzniknout posteromediálně napětí; v takovém případě ponecháme nohu v lehké inverzi a plné korekce dosáhneme během prvního pooperačního týdne opakovanou výměnou sádrového obvazu (Oštádal, 2011).



Obr. 12, 13 Příčná incize (*Cincinnati incision*) při subtalárním uvolnění



Obr. 14, 15 *Preparace nervově cévního svazu za vnitřním kotníkem a prolongace šlachy m. tibialis posterior*

Tato technika je sice náročná, dává ale ve většině případů výborné výsledky. Šlachy flexorů nikdy neprodlužujeme, i značné flexní postavení prstců korigujeme pooperačně pasivním vytahováním v dorziflexi a podkládáním molitanem. Po operaci přikládáme cirkulární, podložený a vpředu prostřížený sádrový obvaz nad koleno. Noha je polohována v závěsu a po sejití otoku, což bývá 7.–10. den, přiložíme definitivní sádrový obvaz v hyperkorekci nohy a flexi 90° v kolenním kloubu na dobu 6 týdnů. Po této době odstraníme perkutánně zavedené K dráty a odeberáme míru na polohovací ortézu, jíž nahrazujeme sádrovou fixaci. Osvědčila se i krátká AFO ortéza (ankle-foot-orthosis), ve které dítě první měsíce po operaci chodí. Původně doporučenou pohyblivou sádru již nepoužíváme, rovněž odmítáme fixaci sádrovými dlahami. Polohovací ortézy měníme po 6 měsících po dobu nejméně 3 let od operace (obr. 17) (Chomiak a spol. 2009, Ošťádal a spol. 2011)

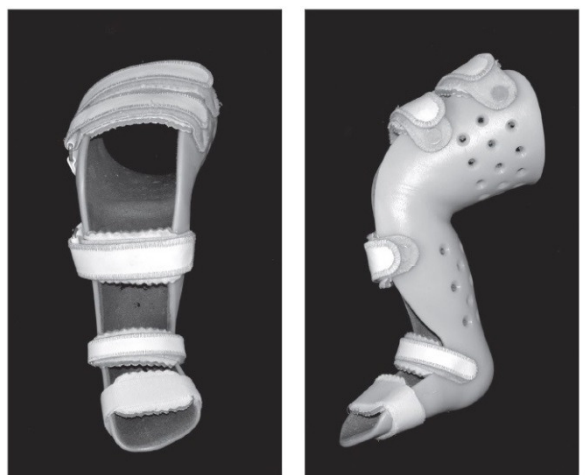


Obr. 16 *Pooperační fixace postavení Kirschnerovými dráty*

Problematická bývá plná obnova funkce u reoperací, neboť při původních operacích zpravidla bývají

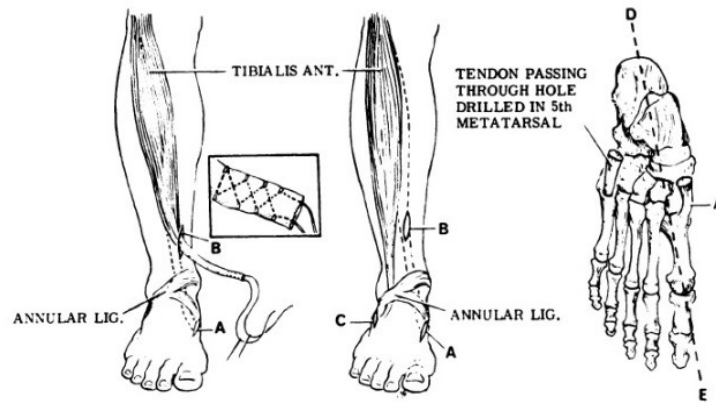
poraněny šlachy a sekundární srůsty flexorů již nelze odstranit. Tato vynikající operace je rovněž devalvována závažnými komplikacemi, které vznikají vždy jako iatrogenní poškození z nedokonalé operační techniky (Dungl a spol. 2014).

Následná péče je velmi důležitá, stejně jako léčení samotné. Za 12 týdnů od operace je sejmuta sádrová fixace a přiložena na míru zhotovená ortéza (obr. 17). Před adjustací pomůcky je vždy nutné, aby předepisující lékař zkontroloval vyrobenou ortézu a mohl případně upravit její tvar. Nikdy se tato kontrola nemá vynechat, a to ani při spolupráci se zkušeným ortopedickým technikem. Ortéza je přikládána na denní i noční spaní a má se nejméně každých 6 měsíců obměnit. U primárních výkonů požadujeme dlahování 3 roky od operace, u reoperací často prodlužujeme ortotickou péči do 6 let věku. Pravidelné kontroly nejméně 1krát ročně do ukončení růstu jsou samozřejmostí. Je nutno zdůraznit, že nošení na míru zhotovené ortopedické obuvi není zapotřebí.



Obr. 17 *Knee- ankle-foot orthosis (KAFO)*

K léčbě recidiv se používá, kromě shora zmíněných postupů, celá řada chirurgických metod; jejich výběr závisí na zkušenostech operátora a místních podmínkách. Při tendenci k recidivě supinačního postavení, zaviněné jistou slabostí peroneálních svalů, se velmi osvědčila temporární transpozice šlachy m. tibialis anterior na zevní stranu nohy (obr. 18,19). Důležitou podmínkou úspěšnosti této operace je elastická noha, kterou lze pasivně převést do pronáčního postavení. Silná šlacha je vytažena proximálně mezi horní a dolní extenzorová retinakula a podkožním tunelem je v přímém směru protažena na zevní stranu nohy, kde je všita do kosti krychlové nebo až do šlachy krátkého peronea při úponu na bázi V. metatarzu. Za 2–3 roky se šlacha vrací do místa původního úponu na mediální stranu I. metatarzu. Další možností je šlachu m. tibialis ant. dle Ponsetiho transponovat do laterální cuneiformní kůstky a ponechat ji tam navždy (Ošťádal, 2014).



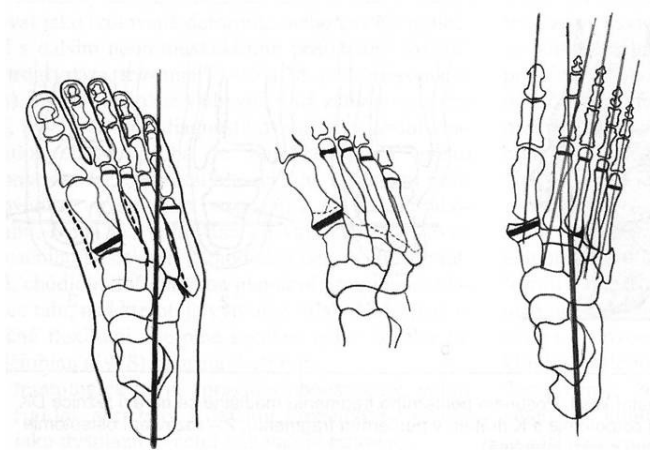
Obr.18 *Transpozice m. tibialis anterior – originální popis operace dle Garceau (1972)*



Obr. 19 *Transpozice šlachy m. tibialis anterior na zevní stranu nohy*

Při tendenci k varozitě přednoží, podmíněné přerůstem laterálního sloupce nohy, je velmi osvědčenou operací enukleace osifikačního jádra kosti krychlové a následná transfixace K drátem. Tento výkon je někdy vhodné spojit s transpozicí šlachy m. tibialis anterior. U perzistující varozity a zkrácení kosti patní je doporučována valgizující osteotomie patní kosti z mediálního přístupu s vložením štěpu. V jizevnatém terénu může být sutura obtížná, alternativou je lineární osteotomie ze zevní strany s posunutím periferního fragmentu plantárně a laterálně (Ošťádal, 2014).

Metatarzální osteotomie je indikována při reziduální varozitě přednoží u nohy po operaci PEC, když bylo dosaženo správného postavení kostí tarzu. Byla doporučena rovněž osteotomie všech metatarzů při jejich bázích, u I. metatarzu musí být osteotomie vzdálena od epifýzy alespoň 5 mm, aby nedošlo k růstové poruše (obr. 20). Z V. a někdy i IV. metatarsu je vhodné resekovat krátký segment diafýzy k snazšímu vyrovnání předonoží. Zpravidla vystačíme se dvěma podélnými incizemi, příčný kožní řez je méně výhodný. Každý metatarz transfixujeme vždy jedním tenkým K drátem. Kapsulotomie tarzometatarzálních kloubů byla pro neuspokojivé dlouhodobé výsledky opuštěna.

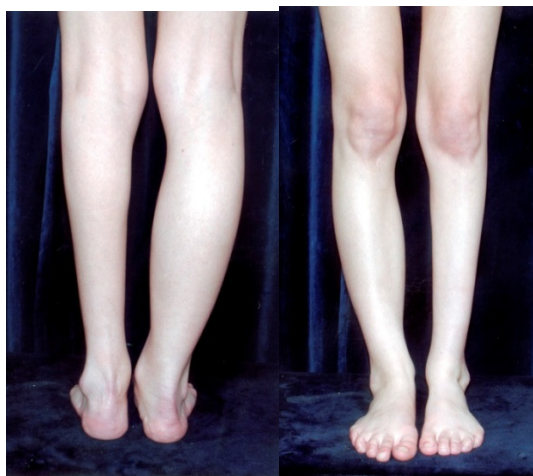


Obr. 20 Metatarzální osteotomie při rigidní recidivě addukce přednoží u PEC

K terapii zastaralých, značně rigidních deformit byla s úspěchem použita i technika postupné redrese zevní fixací podle Ilizarova (1989). Výsledky této techniky byly přijímány až s nekritickým optimismem, ale deformita ochotně recidivuje a noha je po takovém léčení rigidní, dystrofická, dlouhodobě značně bolestivá. V kombinaci s kapsulotomiemi rigidních kloubů jsou výsledky i u těžkých a zastaralých deformit přijatelné (Grill, 1984).

4.7 Rehabilitace

Rehabilitace má rovněž své místo v doléčení PEC, ale její význam bývá přeceňován. Rodiče jsou podrobně instruováni o způsobu cvičení; cílem je dosažení svalové rovnováhy mezi everzními a inverzními svaly nohy a udržení elastické nohy, volně pohyblivé v subtalárních kloubech i v kloubu hlezenním. Rodiče musí být poučeni o tom, že jistý zkrat chodidla u jednostranných vad i jistá hypotrofie lýtkového svalstva patří k základnímu obrazu PEC (obr. 21), a že tento nález nekoliduje s dobrým výsledkem. V posledním desetiletí jsme svědky aplikace Vojtovy reflexní terapie i na PEC, výsledky jsou však velmi rozporuplné (Shack a Eastwood, 2006).



Obr. 21 PEC je vždy spojen s hypotrofií lýtky

5. VLASTNÍ ZKUŠENOSTI S LÉČBOU PES EQUINOVARUS PONSETIHO METODOU

Pro léčbu PEC jsou užívány v podstatě dvě metody: fyzioterapie a postupné cvičení bez imobilizace a shora uvedená Ponsetiho metoda. V literatuře se uvádí, že tato metoda má krátkodobý úspěch v impozantních 100%, podobně vysoce úspěšné mají být i výsledky dlouhodobé. Sami se však domníváme, že údaje o úspěšnosti mohou být významně ovlivněny dobou, která uplyne od ukončení léčby. Naším cílem bylo proto srovnat krátkodobé (do 3 let) a dlouhodobé (3 - 10 let) výsledky léčby PEC Ponsetiho metodou a určit faktory, které se podílejí na vznik recidiv. Testovali jsme tak hypotézu, zda lze léčit všechny recidivy PEC u starších dětí výlučně Ponsetiho metodou.

5.1 Soubor pacientů

Do souboru bylo zařazeno celkem 279 dětí (201 chlapců a 78 dívek) s diagnózou PEC, léčených Ponsetiho metodou na Ortopedické klinice Nemocnice Na Bulovce v Praze v letech 2005 – 2014. U 142 dětí (51%) se PEC vyskytoval bilaterálně, tzn., že celkový počet nohou, zařazených do studie, byl 421. Vybráni byli pacienti, u nichž léčba začala mezi porodem a 6 měsíci života (i v případě, že byli původně léčeni na jiných pracovištích jinou metodou). Vyloučeni byli pacienti, u nichž byla deformita spojena s nějakou jinou vrozenou vadou (neurogenní PEC). Studie byla schválena etickou komisí, vyžadován byl písemný souhlas rodičů. 39 pacientů (14%) mělo pozitivní rodinnou anamnézu. Stupeň postižení byl při přijetí klasifikován metodou dle Dimeglia a spol (1995). Jak bylo uvedeno již v úvodní kapitole, tato metoda používá 4 parametry při každém stupni poškození dle výsledků jemné manipulace, měřené ručním goniometrem: (i) equinózní deviace v sagitální rovině, (ii) varózní deviace ve frontální rovině, (iii) derotace kalkaneopedálního bloku v horizontální rovině a (iv) relativní addukce přednoží v horizontální rovině.

5.2 Vlastní modifikace léčby PEC

Základní principy Ponseti metody (Ponseti, 1996, 2000) jsou uvedeny v úvodní části této práce; na naší klinice používáme následující postup. Léčba začíná bezprostředně po přijetí,

nejraději krátce po porodu a spočívá v postupné manipulaci nohy – zvětšování abdukce v supinaci - v korekčních sádrových obvazech. Protitlak působí na laterální plochu hlavice kosti hlezenní (obr. 22,23), aby se zabránilo rotaci talu v hlezenním kloubu. Sádrový obvaz obměňujeme v 5 – 8 denních intervalech; k dosažení abdukce 60 stupňů je třeba v průměru 5 korekčních sádrových obvazů (3 – 11).



Obr. 22 Manipulace nohy dle Ponsetiho před naložením redresního sádrového obvazu



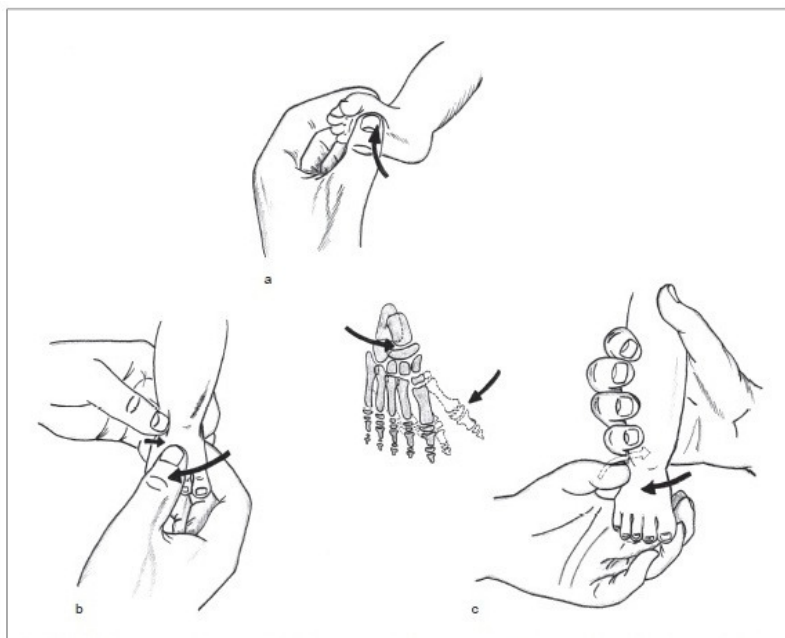
Obr. 23 Manipulace nohy dle Ponsetiho po naložení redresního sádrového obvazu

Nebylo-li dosaženo uvedeného stupně abdukce, pokračuje se nadále v sádrování ve stejných intervalech až do dosažení potřebného výsledku. Sádrový obvaz nakládáme vždy od prstů až na stehno po tříslu, obvaz pouze pod koleno totiž neudrží patní kost v abdukci; koleno je přitom flektováno do 90 stupňů (obr. 24). V jednotlivých sádrách korigujeme varozitu paty, addukci a inverzi přednoží a kavózní složku této deformity; equinozitu nekorigujeme, ta se upravuje sama při repozici patní kosti (obr. 25). Signálem k ukončení sádrování jsou: (i) hmatný interval mezi vnitřním kotníkem a os naviculare, (ii) dostatečně hmatný přední

výběžek patní kosti, (iii) abdukce nohy do 60 stupňů a (iv) patní kost v neutrálním nebo lehce valgózním postavení (obr. 26). Byla-li přítomna všechna 4 kritéria, avšak equinozita v hlezenním kloubu zůstávala nadále nedostatečně korigována, tzn., že není možná dorsiflexe alespoň 10 stupňů, indikujeme tenotomii Achillovy šlachy. Tenotomie se provádí za běžných aseptických kautel na operačním sále, obvykle v krátkodobé celkové anestezii. Tento způsob se liší od Ponsetiho (1996, Herzenberg a spol. 2002), který preferuje lokální anestezii, Sami užíváme lokální anestezii pouze v případě, je-li celková anestezie z různých lékařských důvodů kontraindikována. Tenotomie byla provedena u 379 ze 421 léčených nohou. Skalpel zasuneme z mediální strany paralelně s Achillovou šlachou cca 1 cm nad hrbolem patní kosti, poté jej otočíme o 90 stupňů a přerušíme celou Achillovu šlachou tak, aby její obaly zůstaly co nejméně porušené. Ihned po výkonu naložíme sádrový obvaz v 60 stupňové abdukci a 10 stupňové dorziflexi. Matku s dítětem propouštíme obvykle druhý den po operačním výkonu. Sádrovou fixaci po tenotomii Achillovy šlachy snímáme po 3 týdnech a nakládáme abdukční dlahu. Existuje více modelů těchto dlah: v principu se vždy jedná o 2 botičky spojené pelotou, které umožňují nastavení do zevní rotace 60 - 70 stupňů; rozstup botiček na pelotě je určen vzdáleností ramínek. Jedná-li se o vadu jednostrannou, botičku se zdravou nohou nastavujeme do zevní rotace 40 - 45 stupňů. Děti nosí dlahu první 3 měsíce bez přerušení – je snímána pouze na koupel. Do 3-6 let je pak dlahu přikládána na 14-16 hod. denně, tzn. na noční a denní spaní. Doba ukončení fixace je individuální a závisí na konkrétním klinickém obraze daného pacienta. Rodiče jsou poučeni o nutnosti každodenního cvičení, spočívajícím především v protahování Achillovy šlachy. Kontroly na ambulanci provádíme nejprve v 6 týdenních intervalech; nedojde-li k recidivě, intervaly mezi kontrolami se postupně prodlužují až na 4 až 6 měsíců. Ortéza se snímá ve věku 3 let. S cvičením se pokračuje až do ukončení vývoje skeletu (obr. 27-30). Vyskytne-li se recidiva do 3 let věku, musí se shora zmíněný postup opakovat; k zvládnutí recidivy je zpravidla zapotřebí menšího počtu sádrových obvazů. Byl-li konzervativní způsob léčby recidivy neúspěšný, přistoupíme k chirurgickému výkonu. U pacientů starších 3 let jsme k léčbě recidiv použili spíše operační terapii.



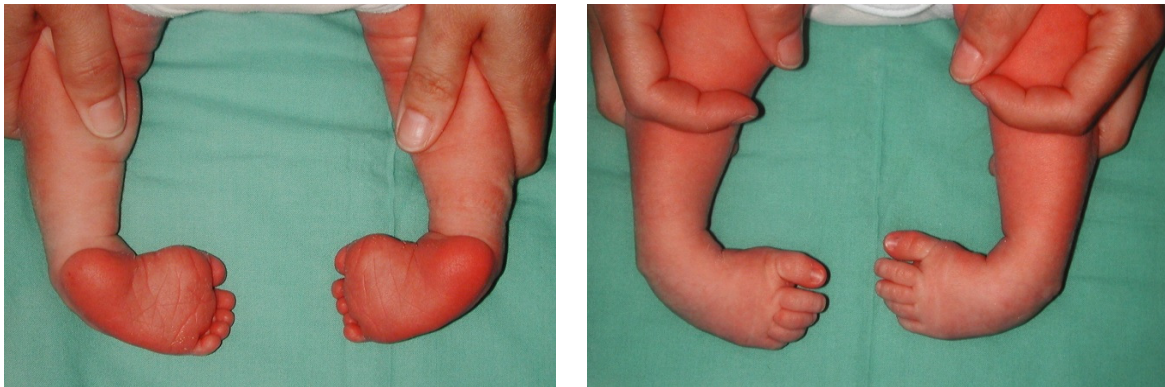
Obr. 24 Redresní sádrový odvaz sahá vždy nad koleno, které je ve flexi 90 st



Obr. 25 Ponsetiho způsob korekce PEC. a,b – dorziflexe I. prstu, palec druhé ruky vykonává protitlak na prominující krček talu z laterální strany, přednoží je tlačeno do zevní rotace, c – pata je odtlačena od zevního kotníku, druhá ruka fixuje bérec.



Obr. 26 *Poslední sádrový obvaz, kdy je dosaženo „překorigování“ do abdukce 60 stupňů*



Obr. 27,28 *Oboustranný rigidní PEC po narození*



Obr. 29,30 *Snímek téhož pacienta po léčbě Ponsetiho metodou v 6 letech.*

5.3 Srovnání krátkodobých a dlouhodobých výsledků léčby

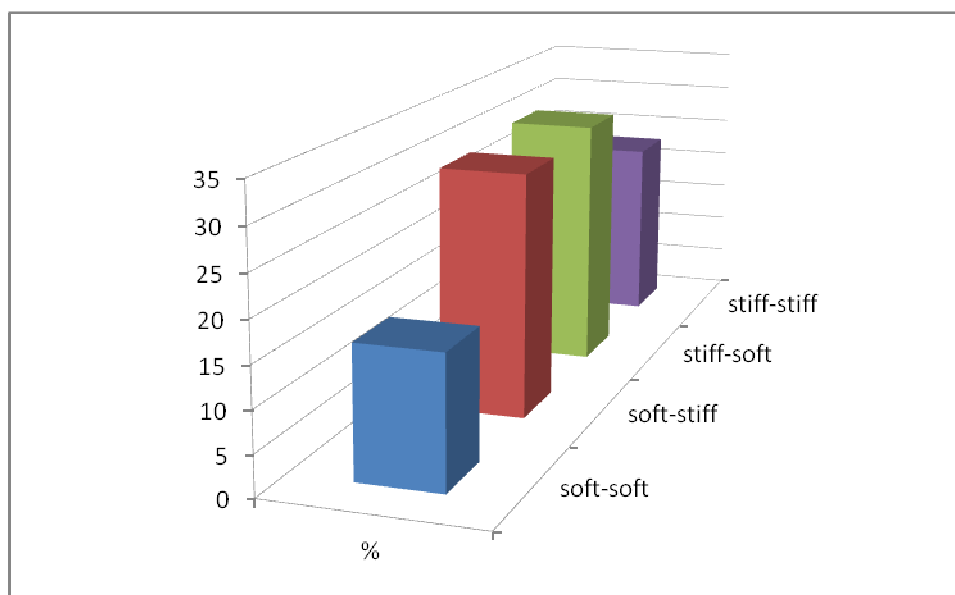
Při peritalárním uvolnění (operace dle McKaye), kdy je cirkulárně obnažen celý subtalární kloub a to jak z mediální tak z laterální strany, jsme pozorovali, že struktura vazivové tkáně kloubního pouzdra a příslušných ligament se již makroskopicky výrazně liší. Na mediální straně je kloubní pouzdro rigidnější než kloubní pouzdro na laterální straně tarsu.

Ponsetiho metodou bylo v letech 2005 - 2014 léčeno celkem 279 pacientů (74% chlapců) (Tab. 1). U 142 dětí (51%) byl výskyt PEC bilaterální, takže celkový počet nohou, léčených

Ponsetiho metodou, byl 421. Soubor se skládal z 16% pacientů, klasifikovaných dle Dimeglia a spol. (1995) jako stupeň I (nejlehčí postižení soft-soft deformita), 30% jako stupeň II (soft-stiff) deformita, 31% jako stupeň III (stiff-soft deformita) a konečně 23% jako stupeň (nejtěžší postižení stiff-stiff deformita)(graf 1.).

rok	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Nohy PEC	55	40	38	34	42	43	34	35	46	54

Tab. 1 Počty léčených nohou s PEC v letech 2005 až 2014 na Ortopedické klinice Na Bulovce

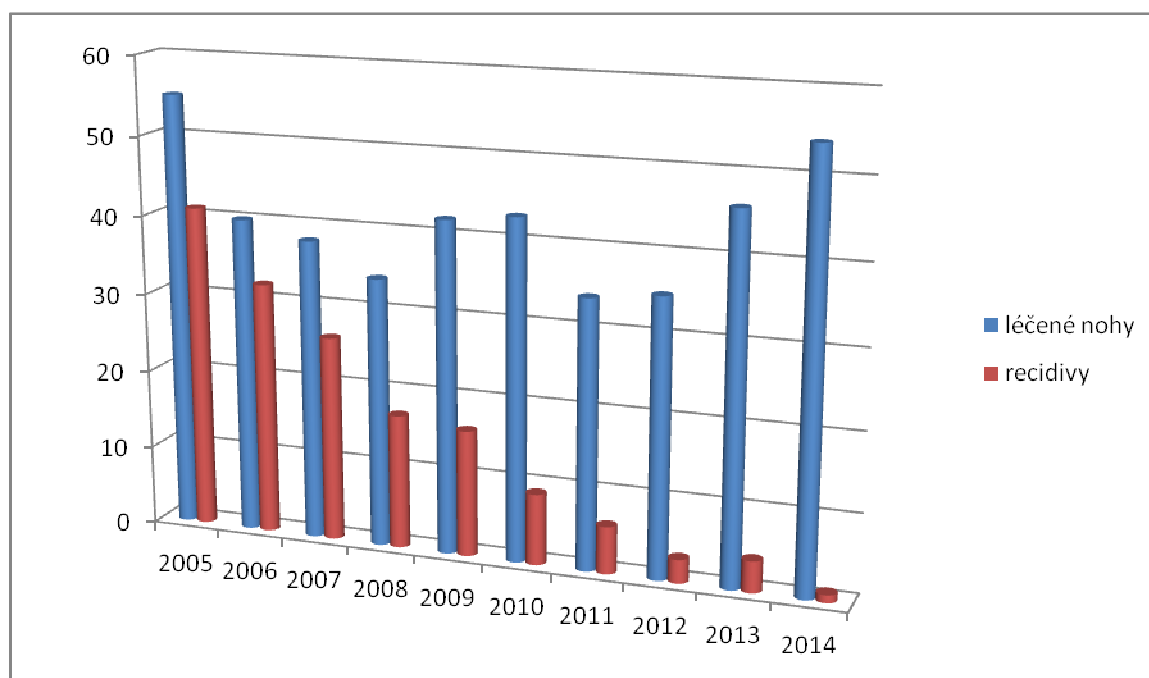


Graf 1 Rozdělení nohou s PEC dle Dimegliovy klasifikace (1995).

Primární korekce bylo dosaženo ve všech případech konzervativním přístupem, tj. samotnými sádrovými obvazy či v kombinaci s tenotomií Achillovy šlachy; všechny 4 základní požadavky na ukončení sádrových obvazů (viz výše) byl splněny.

První recidiva se objevila 6 týdnů po zavedení abdukčních dlah. Stupeň recidiv se však u jednotlivých pacientů lišil: od částečných změn (equinus, addukce přednoží či varózní postavení calcaneu) až ke kompletní recidivě počátečního stavu. Většina recidiv byla v počátku léčena (do 3 let věku) konzervativním postupem. Byl-li opakovaný konzervativní postup neúspěšný (4 podmínky ukončení fixace nebyly splněny), byla indikována operační terapie (Tab. 2). Operační léčba byla provedena u 30% nohou postupem náležitým

k Ponsetiho metodě (retenotomie AŠ, transpozice m. tibialis anterior) a v 70% pomoci alternativních technik (Tab. 3). Skupina pacientů s recidivou, indikovaná pro chirurgickou léčbu, se skládala z 10%, klasifikovaných jako stupeň II dle Dimeglia a spol. (1995), 27% jako stupeň III a 63% jako stupeň IV (obr. 3). Průměrná doba od zahájení léčby k chirurgickému zákroku bylo 2,7 roku. V některých případech se recidivy objevily i po chirurgickém výkonu: u 21 nohou 2x, u 11 nohou 3x a v jednom případě 5x. Počet recidiv, indikovaných k chirurgickému zákroku, statisticky významně stoupl se stoupající dobou sledování (obr. 2). Zatímco u pacientů, u kterých byla léčba zahájena v r. 2005 se recidivy objevily v 72%, pak u pacientů, zařazených do studie v r. 2014, dosáhl počet recidiv jen 1%.



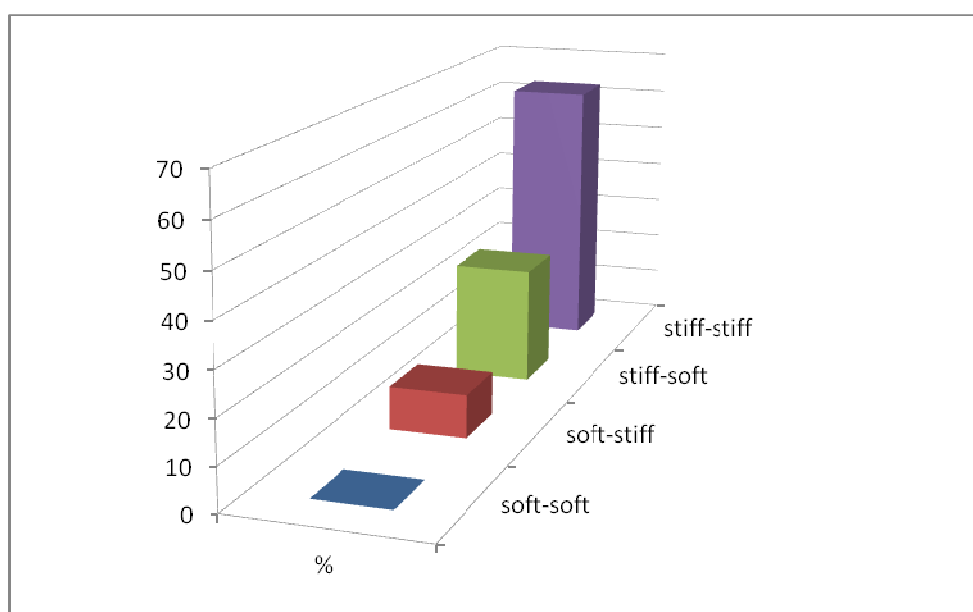
Graf 2 Počet recidiv PEC s časem významně narůstá ($p=0,000117$)

Zahájení léčby	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Recidivy pacienti	28	20	17	11	9	5	4	2	2	1
Recidivy nohy	41	32	26	17	16	9	6	3	4	1

Tab. 2 Počet nohou s recidivou indikovaných k operační léčbě (rok udává zahájení léčby pacienta), hodnoceno v r. 2015

Operace celkem	
tenotomie A Š	378
retenotomie A Š	20
transpozice MTA	59
osteotomie tarzu	49
dorzální uvolnění	27
posteromediální uvolnění	17
osteotomie přednoží	11
supramaleolární osteotomie	4

Tab. 3 Celkový počet jednotlivých operací v našem souboru.



Graf 3 Rozdělení recidiv PEC podle klasifikace dle Dimeglia

5.4 Analýza dosažených výsledků

Hlavním výsledkem této studie byl nález významného rozdílu mezi hodnocením krátkodobých a dlouhodobých výsledků Ponsetiho metody v léčbě PEC. Počet recidiv v průběhu prvních tří let léčby, indikovaných pro chirurgickou léčbu, byl významně nižší (6%) ve srovnání s pacienty, u nichž léčba začala před 7 – 10 lety (74%). K vysvětlení tohoto nálezu je zapotřebí – zvláště pro nejstarší skupinu (rok 2005) – vzít v úvahu „learning curve“ stejně jako skutečnost, že jsme prováděli pouze skluznou tenotomii Achillovy šlachy, namísto kompletní tenotomie Achillovy šlachy. Na druhé straně výsledky z r. 2007 a pozdější byly významně lepší: počet recidiv dosáhl pouze 44%. Můžeme proto uzavřít, že primární korekce PEC je možná u téměř 100% pacientů, avšak pro korekci recidiv je třeba v některých

případech použít chirurgický přístup.

Konservativní řešení vzdorujících recidiv sádrováním u pacientů starších 3 let je dle našich zkušeností velmi obtížné, především pro nižší poddajnost vyvíjející se fibrotické tkáně. Je však zapotřebí upozornit, že přísná věková hranice, limitující úspěšnost tenotomie Achillovy šlachy, neexistuje. Nezaznamenali jsme žádné poruchy hojení Achillovy šlachy: hmatný rigidní pruh se objeví již 3 týdny po tenotomii, což svědčí pro úspěšnou regeneraci. Údaje o možných komplikacích jsou vzácné; tenotomie Achillovy šlachy by měla být považována za konservativnější metodu než agresivní léčba sádrovými obvazy (Dogan a spol., 2008). Jsme proto přesvědčeni, že komplexní léčba PEC vyžaduje nejen exaktní znalosti konservativního přístupu, ale též různých postupů chirurgických, jako je dorsální a peritalární uvolnění, osteotomie zadní a přední části nohy, stejně jako supramaleolární osteotomie, zvláště při léčbě neurogenní PEC, kde je přítomnost recidiv mnohem častější (Iltara a spol. 2010).

Patogenetické mechanismy, které se podílejí na vzniku PEC, dosud známy nejsou a možné hypotézy budou diskutovány v dalších kapitolách habilitační práce. Údaje o pohlavních rozdílech v incidenci PEC nejsou koncise. Iltar a spol. (2010) pozorovali, že na začátku léčby byly dle Dimegliovy klasifikace deformity častější u chlapců než u děvčat, konečné skóre bylo však u obou pohlaví srovnatelné. Obecně lze říci, že dle literárních údajů činí poměr chlapců a děvčat 2:1, v našem souboru to bylo 3:1, Morcuende a spol. (2004) pozorovali dokonce poměr 4:1. Souhlasíme s názorem Radlera a spol. (2007), že radiografické měření dětské nohy není příliš spolehlivé. Uvádí, že dochází ke zkreslení při určování linií, představujících osy osifikujících jader, které se v časných stádiích vývoje často jeví jako kruhové.

Existuje velké množství studií, poukazujících na skutečnost, že recidivy po korekci jsou dány nedostatečně pečlivou fixací (Abdelgawad a spol. 2007, Yagmurlu a spol. 2011). Jestliže rodiče pacientů nedodržují pokyny lékaře, lze očekávat mnoho různých malých i velkých recidiv. Morcuende a spol. (2004) pozorovali, že recidivy se vyskytují jen u 6% spolupracujících rodin a ve více jak 80% rodin nespolupracujících. Sami jsme pozorovali recidivy u pacientů, kde rodina zkracovala dobu fixace. Dobbs (Dobbs a spol. 2004, Dobbs a Garnett 2009) upozornil, že úroveň rodičovské výchovy je dalším významným rizikovým faktorem; naše výsledky tyto názory potvrzují. Podle Gibbonse a Graye (2013) se nejvíce recidiv objevuje v průběhu nošení abdukční ortézy.

5.5 Závěry

Závěrem je možno říci, že cílem jakékoliv léčby PEC je dosáhnout kosmeticky přijatelného výsledku s pružnou, funkční, nebolestivou, plantigrádní nohou. Ani Ponsetiho metoda není schopna upravit celou deformitu, ale přináší značné zlepšení. Je jasné, že toto zlepšení vytváří lepší výchozí pozici pro chirurgickou úpravu přes to, že nedosáhne dokonalé úpravy nohy. Souhlasíme s názorem Yagmurlu a spol. (2001), že Ponsetiho metoda by měla být použita v kterémkoliv věku pacienta s PEC přinejmenším proto, aby bylo dosaženo alespoň částečné úpravy této deformity. Naše výsledky však naznačují, že vyléčení PEC pouze sádrováním, tenotomií Achillovy šlachy a eventuální transpozicí m. tibialis anterior není možné.

6. MOŽNÉ PATOGENETICKÉ MECHANISMY, UPLATŇUJÍCÍ SE PŘI VZNIKU PES EQUINOVARUS

6.1 Současné představy

Patogeneza PEC nebyla dosud objasněna. Vyslovena byla řada teorií: patří k nim porucha vaskularizace talu (Irani a Sherman, 1963), faktory zevního prostředí, nitroděložní poškození, abnormální svalové úpony a faktory genetické (Idelberger, 1939, Bonnell a Cruess, 1969, Dunn, 1972, Wynne-Davies, 1972, Lochmiller a spol., 1998, Gurnett a spol., 2008, Gibbons a Gray, 2013). Nejstarší mechanistická teorie pochází od Hippokrata, který předpokládal vliv zevních sil během nitroděložního vývoje. Tato teorie měla vždy řadu významných zastánců. Vzhledem k hypotrofii lýtkového svalstva, která tuto vadu vždy doprovází, byla zvažována teorie neuromuskulárního defektu, elektromyografická ani histologická vyšetření svalů však neprokázala lézi distálního motoneuronu či histologické změny svaloviny. Irani a Sherman (1972) našli při vyšetření 11 zárodků primární deformitu krčku talu, který je skloněn medioplantárně podobně, jako je tomu u typických vad po narození. Byl rovněž popsán menší počet cévních kanálků v chrupavčitém modelu talu a z toho plynoucí ischemie v sinus tarsi. Pravděpodobnou příčinou je primární defekt zárodečného mezenchymu, který vzniká na základě působení dosud neznámé noxy v období před 7. týdnem nitroděložního vývoje.

Studie etnických skupin, populací a rodin naznačují genetický vliv jako jeden z hlavních etiologických faktorů; multifaktoriální dědičnost je velmi pravděpodobná (Wynne-Davis, 1972). Způsob přenosu je polygenní; vada se stává manifestní při jisté prahové hodnotě genetických faktorů, při menší než prahové hodnotě se vyvine normální noha. Příbuzní v 1. stupni (rodiče – děti, sourozenci) mají 2,9% riziko vzniku této vady, ve 2. stupni (teta – strýc, prarodiče) 0,5% a ve 3. stupni (bratřenci – sestřenice) 0,2%. Riziko porodu dalšího dítěte s PEC je zvýšeno na 10–15 %, jsou-li oba rodiče nositeli vady. Započalo pátrání po možných „PEC citlivých“ genech; zájem vzbudily dva transkripční faktory, PITX1 a TBX4. Patogenetická dráha PITX1-TBX4 je odpovědná za časný vývoj končetiny; oba hrají roli ve vývoji zadní části nohy, avšak prakticky se nepodílejí na vývoji přednoží; to možná vysvětluje, proč se tato vývojová porucha nevyskytuje na horní končetině (Gurnett a spol., 2008, Alvarado a spol. 2010). Nové studie naznačují úlohu potencionálních regulačních variant rs3801776/HOXA9, rs2025126/TPM2, rs2145925/TPM2 a rs4075583/TPM1 v patogeneze PEC (Weymouth a spol., 2011).

6.2 Klasifikační metody a biomechanické parametry

Počáteční klasifikace deformity, charakterizující postavení kostí, se provádí pomocí radiografie; vyšetření se soustředí především na kost patní a talus. Dle Heywooda (1964) je talo-kalkaneární úhel u PEC ve srovnání s normální nohou menší. Biomechanická studie Hoskinga a Scotta (1982) na kadaverózním materiálu prokázala větší subtalární pohyblivost u PEC při dorsální flexi. Tato talokalkaneární oblast navíc obsahuje nejkontrahevanější část fibrotické tkáně, která je podobná meziobratlové ploténce a označovaná proto jako „disc-like tissue“ (Hersh 1967) (obr. 31). Fukuhara (1994) studoval tuto tkáň imunohistochemicky: v normální noze našel pravidelně uspořádaná kolagenní vlákna, zatímco u PEC byla kolagenní vlákna porušena. Elektronmikroskopická analýza prokázala zvýšené zvlnění a denzitu kolagenních vláken. V současné době jsou používány moderní metody jako mikro CT, CT, MRI a dopplerovská monografie (Cooke a spol. 2008); ty umožňují studovat tkáň *in vivo*. Výsledky jsou využívány pro konstrukci 3D modelů dle požadavků zákazníka (Vijayaragavan a spol. 2014), jako chirurgický model PEC (Windisch a spol. 2007) či pro srovnání stoje a chůze při biomechanickém hodnocení PEC (Herda spol 2004). Tato kombinace metod dovolila odhalit některé funkční abnormality dokonce u korigované a plně funkční vady (Hee a spol. 2001).



Obr. 31 „Disc like tissue“ oblast mezi vnitřním kotníkem, sustentaculum tali a os naviculare

6.3 Buněčné složení fibrotické tkáně u pes equinvarus

Buňky z oblasti “disc-like tissue” obsahují velké množství kolagenu III (Fukuhara 1994, Gilbert 2001, Li 2001), morfologické důsledky této změny však známy nejsou. Buňky z oblastí, kde dochází k fibroproliferativním změnám, jako je palmární fibromatóza a kontrahovaná tkáň u PEC, obsahují navíc několik růstových faktorů, jako je destičkový růstový faktor (PDGF) a transformující růstový faktor β (TGF β). Je dobře známo, že PDGF a TGF β se uplatňují při hojení tkání, ale hrají roli rovněž jako faktory, které se účastní procesu fibrotizace. Blokáda PDGF a TGF β snižuje expresi kolagenních bílkovin, snižuje proliferaci fibroblastů a chemotaxi, což ve svém důsledku vede ke změnám tkáňových vlastností (Li 2001). Předpokládá se, že exprese těchto faktorů nemusí být primární příčinou kontraktury, ale může sekundárně aktivovat jiné signální dráhy, jako signalizaci, zprostředkovanou beta-kateninem, která hraje významnou roli v regulaci kontraktury u PEC (Cheon a spol., 2004, Poon a spol., 2009).

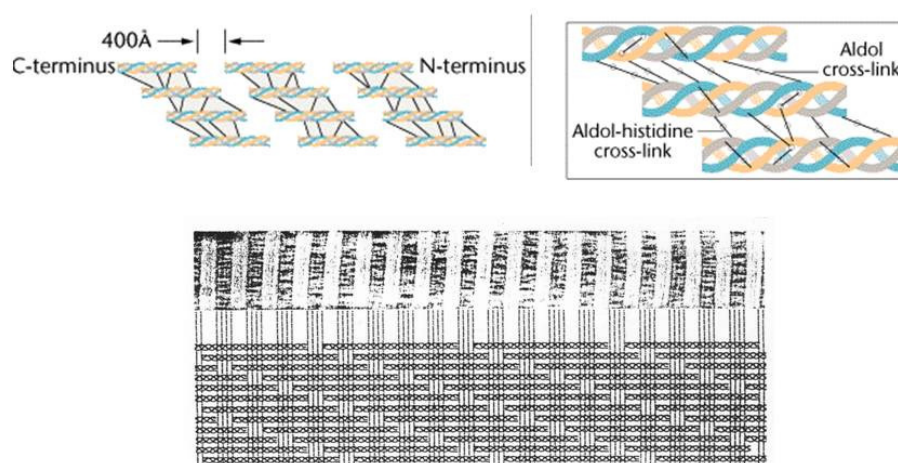
Všechny tyto studie podporují hypotézu, že fibroblasty a růstové faktory jsou součástí patogenetických mechanismů, odpovědných za strukturální a funkční změny u PEC. Neexistuje však shoda v názoru, jaká je klasifikace buněk, které tvoří „disc-like tissue“: mohou to být fibroblasty, hematogenní fibrocyty s velkou produkcí cytokinů nebo myofibroblasty, exprimující markery hladkých svalů (Sano, 1998, Poon, 2009).

6.4 Úloha proteinů extracelulární matrix

Extracelulární matrix představuje komplexní strukturu, složenou z četných proteinů, včetně kolagenů, glykoproteinů, malých, na leucin bohatých proteoglykanů a jiných bílkovin se stechiometrickou organizací, dávající extracelulární matrix a příbuzným tkáním jejich jedinečnou strukturální a funkční charakteristiku (Mikesh a spol. 2013).

Kolageny představují skupinu molekul, které buňky používají pro vytváření strukturální integrity a funkce. Tři α řetězce, které tvoří trojitý helix molekuly kolagenu, se skládají z opakujících se peptidových tripletů glycín-X-Y. X a Y mohou představovat různé aminokyseliny, ale X je nejčastěji prolin a Y hydroxyprolin. Funkce kolagenu závisí na supramolekulárním uspořádání molekuly do agregátů, které se stanou součástí matrix. Z celkem 28 dosud popsaných typů kolagenu převažuje u člověka 5 typů (Gordon a Hahn,

2010). Hlavní komponentou extracelulární matrix u PEC jsou kolageny typu I a III (obr. 32). Kolagen I je nejčastěji přítomen v kůži, šlachách, vazivu, kostech, v rohovce atd., kde představuje něco mezi 80 a 90% celkového kolagenu. Trojitý helix kolagenu je tvořen dvěma $\alpha 1$ a jedním $\alpha 2$ řetězcem. Podíl kolagenu I v jednotlivých tkáních se mění v průběhu vývoje a za různých patologických stavů. Kolagen typu III je normální součástí kůže (10-20%) a byl popsán v řadě dalších vazivových tkáních; je přítomen v různém množství v kombinaci s kolagenem I. Trojitý helix kolagenu III je tvořen třemi $\alpha 1$ řetězci. Poměr kolagen I: kolagen III se v průběhu ontogenetického vývoje charakteristickým způsobem mění: v časném fetálním období je kolagen III více zastoupen než kolagen I. Podobně se preponderance kolagenu III a pozdější změna k poměru 3:1 vyskytuje při kožním hojení ran (Nimni, 1983). V biotické studii jednoho vzorku z kapsuly kotníkového kloubního spojení bylo pozorováno množství zbytků hydrolýsinu; množství pyridinových příčných vazeb bylo přítom normální. To svědčí pro normální charakter molekul kolagenu a jejich normální seřazení uvnitř fibril u různých stupňů PEC a dokonce i v jizevnaté tkáni (Sluijs a Pruys, 1999).



Obr. 32 Kolageny I,II,III,V,IX,X – uspořádání do fibril

6.5 Proteomická analýza extracelulární matrix u pes equinvarus

Při operačních terapeutických zákrocích jsme pozorovali, že makroskopická struktura vazivové tkáně se na mediální a laterální části tarsu liší; mediální část je rigidnější (Ošťádal a spol. 2014). Toto naše pozorování podporuje hypotézu, že vazivová tkáň, zvláště fibroblasty a růstové faktory, se podílejí na patogenetických mechanismech, odpovědných za vznik PEC.

Pro pochopení bílkovinného složení extracelulární matrix jsme proto použili proteomickou analýzu kontrahované tkáně u pacientů s PEC. Zvláštní pozornost byla věnována možným rozdílům mezi mediální a laterální částí kloubního pouzdra. Předpokládali jsme, že identifikace jednotlivých proteinů může pomoci pochopit mechanismy, které se na vzniku této vážné anomálie podílejí a přispět tak k vývoji účinnějších terapeutických postupů (Ošťádal a spol., 2014).

6.5.1 Pacienti a vzorky tkáně

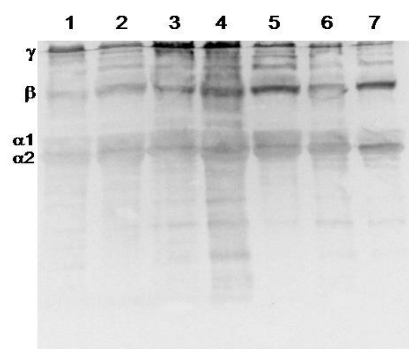
Do studie bylo zařazeno celkem 16 vzorků od 13 pacientů (9 chlapců a 4 dívky) s diagnózou PEC, léčených na Ortopedické klinice Na Bulovce v letech 2011 – 2015. Léčba začala mezi 1. a 8. týdnem života a spočívala v manipulaci nohy a aplikaci 5 – 15 (v průměru 8) sádrových obvazů nad koleno dle Ponsetiho (1996). Perkutánní tenotomie Achillovy šlachy byla provedena u všech pacientů. Primární korekce bylo dosaženo ve všech případech.

Vzorky tkáně byly získány od pacientů, operovaných pro recidivu PEC (stáří v době operace 2 – 9 let, průměr 4 roky); u všech pacientů byly vzorky odebrány při peritalárním uvolnění (operace dle McKaye). Kontrahovaná tkáň byla odebrána z mediální části nohy z „disc like tissue“, tedy z oblasti mezi os naviculare, vnitřním kotníkem a sustentaculum tali. U všech pacientů byly pro srovnání odebrány vzorky z laterální části nohy z kalkaneokuboidního skloubení. Tkáň byla bezprostředně po odebrání zmrazena a poté použita pro analýzu proteinového složení. Studie byla schválena etickou komisí Fakultní nemocnice Bulovka a rodiče pacientů poskytli písemný souhlas. Odebírané vzorky se i při standartním průběhu operace odstraňují.

6.5.2 Gelová elektroforéza

Jednodimenzionální ani dvojdimeznionální polyakrylamidovou elektroforézou (SDS-PAGE) se nepodařilo nalézt signifikantní rozdíly v obsahu proteinů mezi mediální (M) a laterální (L) stranou subtalárního kloubu (obr. 29 – 33). To znamená, že obsah kolagenu I a III se v obou vzorcích nelišil.

Vzhledem k tomu, že makroskopický vzhled vzorků, odebraných z mediální (tužší) oblasti, se od vzorků, izolovaných z laterální části, významně liší, předpokládali jsme, že za uvedené rozdíly mohou být zodpovědné jiné proteiny než kolageny I a III. Použili jsme proto jako první proteomickou analýzu bílkovinného složení pouzdra talonavikulárního kloubu u PEC.



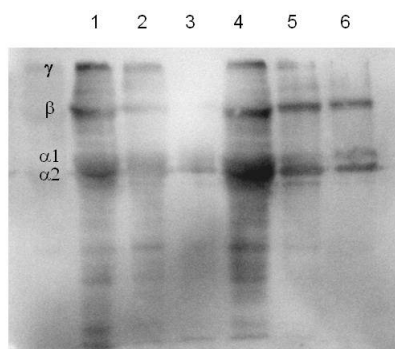
Obr. 33 Analýza kolagenu typu I

Jednodimenzionální polyakrylamidová elektroforéza; srovnání vzorků odebraných z mediální a laterální strany nohy s PEC (M – mediální strana, L – laterální strana).

1-M, 2-M, 3-L, 4-M, 5-M, 6-M, 7-L

Gama frakce – polymery jednotlivých řetězců alfa 1 a 2

Beta frakce – dimery řetězců alfa 1 a 2a jejich nízkomolekulární štěpy. (Data z práce Ošťádal a spol., 2014)



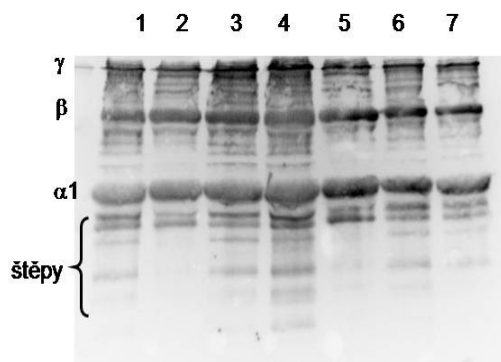
Obr. 34 Analýza kolagenu typu I

Jednodimenzionální polyakrylamidová elektroforéza ke srovnání vzorků odebraných z mediální a laterální strany nohy s PEC (M – mediální strana, L – laterální strana).

1-M, 2-M, 3-L, 4-M, 5-L, 6-L

Gama frakce – polymery jednotlivých řetězců alfa 1 a 2

Beta frakce – dimery řetězců alfa 1 a 2a jejich nízkomolekulární štěpy. (Data z práce Ošťádal a spol. 2014).



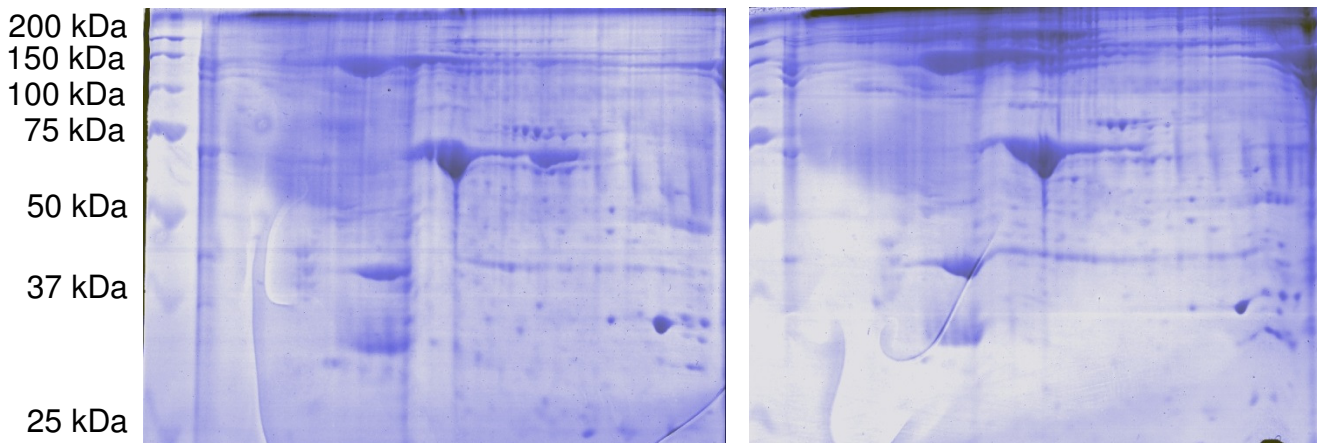
Obr. 35 Analýza kolagenu typu III

Jednodimenzionální polyakrylamidová elektroforéza ke srovnání vzorků odebraných z mediální a laterální strany nohy s PEC (M – mediální strana, L – laterální strana).

1-M, 2-M, 3-L, 4-M, 5-M, 6-M, 7-L

Gama frakce – polymery jednotlivých řetězců alfa 1

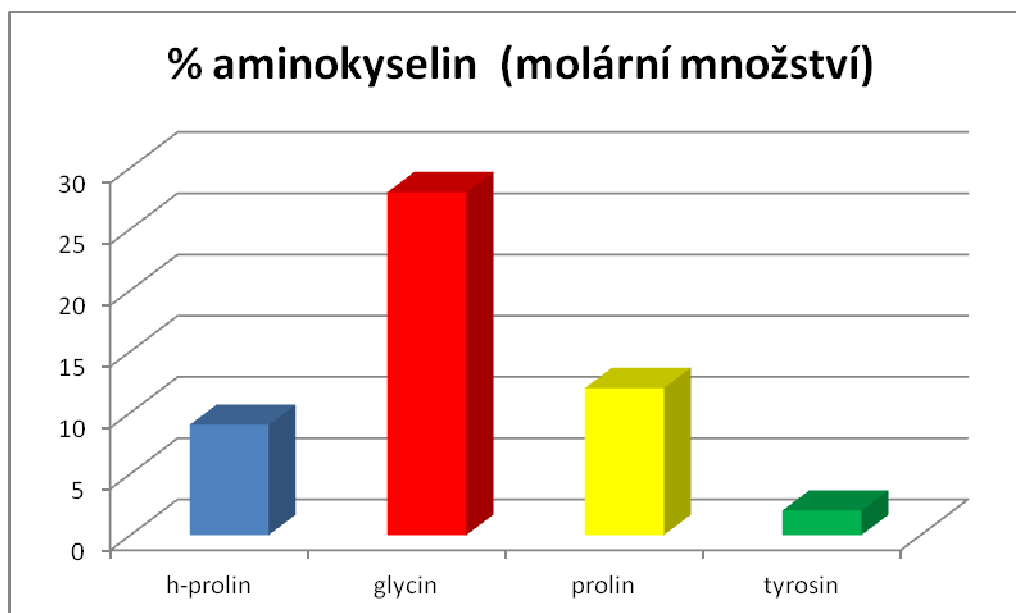
Beta frakce – dimery řetězců alfa 1 a 2 a jejich nízkomolekulární štěpy. (Data z práce Ošřádal a spol. 2014).



Obr. 36 Dvoudimenzionální polyakrylamidová elektroforéza vzorku odebraného z mediální (vpravo) a laterální (vlevo) strany nohy s PEC..(Data z práce Ošřádal a spol. 2014).

6.5.3 Aminokyselinová analýza

Aminokyselinová analýza tkáňových vzorků byla prováděna pomocí systému PICO-TAG Amino Acid Analysis System (Waters, Milford, USA). Ukázala převahu kolagenů, především kolagenu I, III a VI. Podíl glycinu byl vždy přibližně 28% a prolinů (tj. prolin + hydroxyprolin – h-prolin) 21% (graf. 4). Vysoký molární obsah glycinu a h-prolinu, přítomných ve srovnatelných hladinách, naznačují převahu kolagenů I a III.



Graf 4 Aminokyselinová analýza

Molární množství jednotlivých aminokyselin bylo porovnáno s molárním množstvím tyrosinu. (Data z práce Ošřádal a spol. 2014).

6.5.4 Proteomická analýza

K proteomické analýze byl použit nano-LC přístroj Proxeon Easy-nLC (Proxeon, Odense, Dánsko), připojený pomocí nanoelektrosprayeru k maXis Q-TOF k hmotovému spektrofotometru s ultra vysokým rozlišením (Bruker Daltonics, Brémy, Německo).

Ve vzorcích jsme zjistili celkem 20 bílkovin extracelulární matrix (Ošťádal a spol. 2014, 2017) (tab. 4). Hlavní součástí všech analyzovaných vzorků byly fibrilární kolageny typu I a III, které jsou hlavními proteiny extracelulární matrix.

V naší studii jsme však navíc jako první prokázali, že extracelulární matrix u PEC je tvořena rovněž kolageny typu V, VI a XII (Ošťádal a spol., 2014, 2017) (obr. 38). Typ V se ve velkém množství nachází ve stěně cév, kde je, zdá se, syntetizován hladkými svalovými buňkami; je složen ze tří řetězců $\alpha 1$, $\alpha 2$ a $\alpha 3$. V diferencované chrupavce jsou protilátky proti kolagenu V lokalizovány v pericelulární matrix v lakunách chrupavky (Gay a spol. 1981, Chen a spol., 2014). Tento typ může být specifickou formou kolagenu, která svou lokalizací na povrchu buňky přispívá k modifikaci jejího tvaru, k tvorbě exocytoskeletonu a k vazbě na ostatní součásti vazivové tkáně (Gay a spol., 1981).

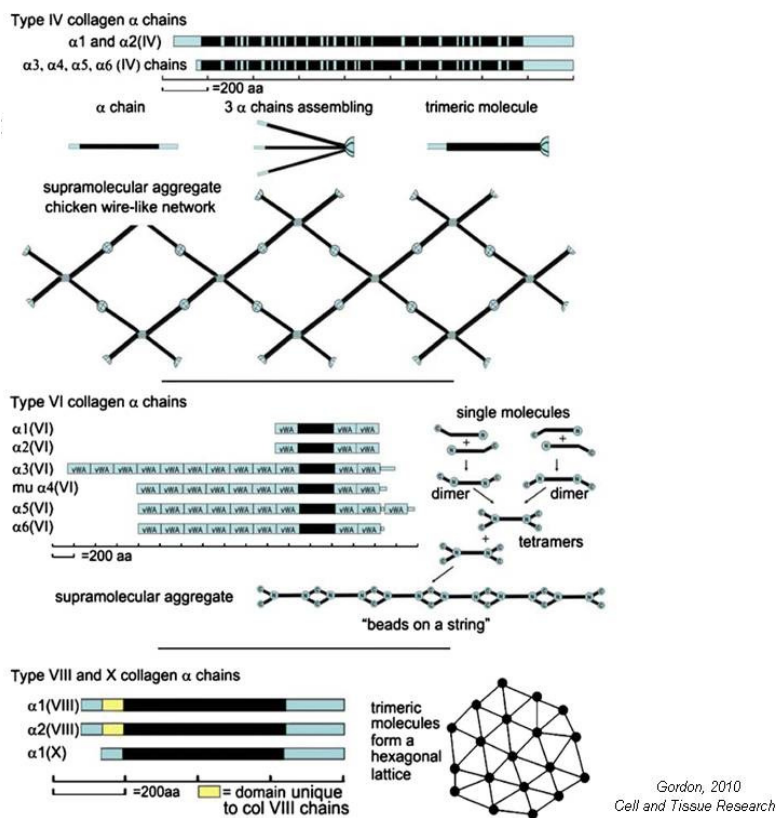
Mikrofibrilární kolagen typu VI je jedinečným členem rodiny kolagenů, které jsou přítomny v extracelulární matrix (Gordon a Hahn, 2010, Sabatelli a spol., 2012a). Sabatelli a spol. (2012b) pozoroval diferencovanou lokalizaci nových $\alpha 5$ a $\alpha 6$ řetězců v kosterním svalu ve srovnání s početnými $\alpha 3$ řetězci, což naznačuje, že tyto nové řetězce hrají zvláštní úlohu ve specializovaných strukturách extracelulární matrix. Kolagen VI je přítomen v lidských vazivových tkáních, jako jsou kloubní ligamenta, šlachy a kůže. Ve skutečnosti je hlavní funkcí kolagenu VI tvořit záchytnou síť, která spojuje kolagenní vlákna a okolní matrix (Groulx a spol. 2011). Kolagen typu VI hraje rozhodující roli při svalové funkci, jak je patrné z mutací, vyvolávajících Betlémskou myopatii a Ulrichovu vrozenou svalovou dystrofii (Lampe a Bushby 2005, Kim a spol. 2012). Svaly, které postrádají kolagen VI, mají dilatované sarkoplasmatické retikulum a nefunkční mitochondrie (Grumati a spol. 2011). Latentní mitochondriální dysfunkce se vyskytuje jak ve svalových buňkách, tak ve fibroblastech, odvozených ze svalových kultur pacientů se shora zmíněnými svalovými dystrofiemi, což svědčí o významné úloze mitochondrií v patogenezi těchto poruch.

Kolagen XII je člen tzv. FACIT kolagenů (fibril-associated collagens with interrupted triple helices); je zvýšen v permanentních lidských a myších rohokových jizvách (Massoudi a spol., 2012) a zřejmě hraje roli v architektuře stromatu a uspořádání fibril (Mikesh a spol. 2013)(tab. 5).

Accession n.	Protein Name	Score	Peptides	S.C. [%]	Hits	Molecular Function
IPI00297646	Collagen type I alpha-1 chain	4980.7	104	50.1	13	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00304962	Collagen type I alpha-2 chain	3985.3	78	60.2	13	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00021033	Collagen type III alpha-1 chain	2114.0	51	41.5	13	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00220701	Collagen type VI alpha-3 chain	1706.7	39	18.5	13	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00291136	Collagen type VI alpha-1 chain	948.5	19	30.6	13	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00304840	Collagen type VI alpha-2 chain	778.2	17	26.1	11	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00010790	Biglycan	471.6	10	49.8	10	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00020987	Prolargin	379.4	9	30.6	11	Cytoskeletal anchoring activity
IPI00025465	Osteoglycin (Mimecan)	313.0	7	25.0	9	Growth factor aktivita
IPI00000860	Fibromodulin	300.6	8	25.8	8	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00018219	Transforming growth factor- β -induced protein ig-h3	294.6	8	19.2	6	Receptor binding
IPI00020986	Lumican	229.4	6	19.5	4	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00221384	Collagen alpha-1(XII) chain	241.4	5	3.8	3	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00418431	Asporin	192.5	7	17.4	7	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00004457	Membrane primary amine oxidase	183.4	4	11.7	1	Cell adhesion molecule aktivita
IPI00215630	Versican	179.5	5	9.0	3	Extracellular matrix structural konstituent
IPI00844090	Collagen alpha-1(V) chain	172.0	2	2.5	1	Extracellular matrix structural konstituent
IPI01011141	Tenascin	161.7	5	3.7	1	Cell adhesion molecule aktivita
IPI00440822	ABI3BP Isoform 1 of Target of Nesh-SH3	143.5	2	3.0	1	Unknown
IPI00910262	Periostin	136.2	3	11.6	1	Cell adhesion molecule aktivita
IPI00479723	Fibronectin	121.8	3	2.0	1	Extracellular matrix structural konstituent

Tab. 4 Seznam detekovaných proteinů

Accession N – indikace proteinu v IPI (interanational protein index) databázi (<ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/IPI>); *Score* = Mascot skóre; *Peptides* = počet jednotlivých peptide detekovaných ve vzrocích; *S.C.* = Sequence coverage (%); *Hits* = počet vzorků, kde byl protein signifikantně detekován. Molekulární funkce proteinů v biologických procesech byly kategorizovány podle klasifikace, používané ve veřejné databázi dostupné na <http://www.hprd.org>. (Data z práce Ošťádal a spol. 2014).



Obr. 38 Kolageny IV, VI, VII a X tvořící prostorové sítě

Z našich výsledků vyplývá, že extracelulární matrix u PEC je kromě kolagenů složena ještě z nejméně dalších 13 proteinů, zahrnující protein ABI3PB (schopný vázat kolagen VI), malý, na leucin bohatý proteoglykan biglykan, na leucin bohaté proteoglykany asporin a prolargin, proteoglykan osteoglycin/mimekan, stres-sensitivní proteoglykan fibromodulin, keratan sulfate proteoglykan lumikan, membranová amino oxidáza, proteoglykán fibroblastů versikan, glykoprotein extracelulární matrix, glykoprotein tenascin-x exprimovaný výhradně ve fibroblastech, vysokomolekulární glykoprotein fibronektin, na TGF β závislý matricelulární protein periostin, a na TGF β protein IG-H3 (Ošřádal a spol., 2014).

Dostupné informace o funkci těchto dalších proteinů, které jsme poprvé popsali

v extracelulární matrix u PEC, jsou, bohužel, velmi nedostatečné. Proteoglykany byly poprvé izolovány v bazálních membránách embryonálních tkání. Malé, na leucin bohaté proteoglykany, jako biglykan, se podílejí na uspořádání kolagenních fibril; jejich fragmentace je zřejmě spojena se změnami metabolismu kolagenu v průběhu rozvoje onemocnění, doprovázených remodelací extracelulární matrix, jako je revmatoidní artritida a jaterní fibróza (Genovese a spol., 2013). Na leucin bohaté proteoglykany jako je asporin (který působí společně s TGF α) a prolargin (který váže heparin sulfát proteoglykan perlekan basální membrány a kolagen typ I) se účastní remodelace srdečního svalu v průběhu ischemicko/reperfusního poškození (Barollobre-Barreiro a spol., 2012). Proteoglykan osteoglycin/mimecan (který rovněž působí společně s TGF β) se podílí na arteriogenezi (Kampmann, 2009) a růstu srdečního svalu (Wang a spol., 2013). Fibromodulin (oxidativní stres-sensitivní proteoglykan) reguluje organizaci extracelulární matrix u myši s jaterní fibrózou (Mormone a spol., 2012). Lumikan (keratin sulfát proteoglykan) podporuje hojení kožních ran tím, že aktivuje fibroblasty a kontrakci (Liu a spol., 2013). Primární membránová amino oxidáza se účastní buněčné adheze a je spojena s různými formami zánětu a fibrózy (Foot a spol., 2013). Děložní fibroidy a koloidní jizvy obsahují relativně velké množství versicanu (velký proteoglykan, který váže hyaluronovou kyselinu); to ovlivňuje šíření fibrotického procesu působením na buněčnou proliferaci a tvorbu TGF β a kolagenu (Carrino a spol., 2012). Tenascin-x, glykoprotein extracelulární matrix, exprimovaný výlučně ve fibroblastech, pomáhá vzniku fibrózy za přítomnosti kolagenu; potencionálně působí spolu s kolageny I, III a V. Dle Jinga a spol (2011) je tenascin-x iniciátorem srdeční fibrózy díky zvýšení TGF β . Fibronektin, vysokomolekulární glykoprotein, který váže kolagen, je hlavním biosyntetickým produktem kultur fibroblastů a spolu s TGF β byl imunohistochemicky detekován ve fibrotických procesech jater a peritonea (Lee a spol., 2014). Relativně blízká distribuce kolagenu VI a fibronektinu, která byla pozorována v extracelulární matrix normálních epiteliálních buněk, je dána zřejmě skutečností, že globulární doména kolagenu VI se může vázat na imobilizovaný fibronektin. To naznačuje, že kolagen VI je důležitý regulátor fibrilogeneze fibronektinu (Groulx a spol., 2011). Periostin, TGF β indukovaný protein celulózní matrix, podporuje adhezi a migraci epiteliálních buněk a zvyšuje srdeční fibrózu (Zhao a spol. 2013).

Typ kolagenu	Molekulární složení	Dosud známá lokalizace
VI Mikrofibrilární (váže se na velká fibrilární vlákna)	alpha-1(VI)alpha-2(VI)alpha-3(VI)	Dermis, chrupavky, placenta, plíce, cévní stěny
XII Mikrofibrilární (ukotvuje fibrily)	Alpha-1(XII)	Perichondrium, ligamenta, šlachy

Tab. 5 Mikrofibrilární kolageny VI a XII se váží na fibrilární vlákna kolagenů I a III a tím prostorově zahušťují pojivovou tkáň

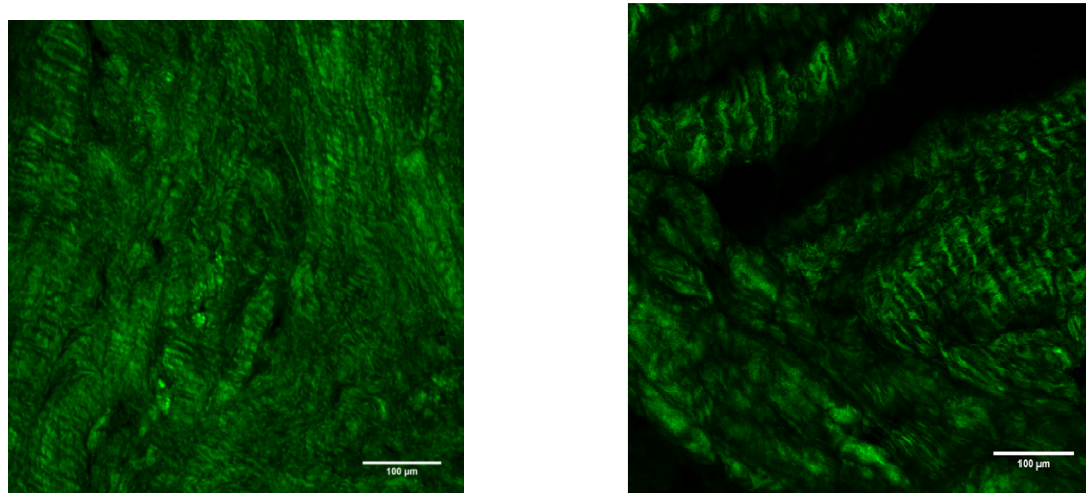
6.5.5 Srovnání bílkovinného složení mediální a laterální části kloubního pouzdra

Proteomická analýza vzorků z mediální a laterální části kloubního pouzdra ukázala, že bílkovinné složení se kvalitativně neliší. Byly však nalezeny významné rozdíly v kvantitativním zastoupení některých proteinů. Množství kolagenu VI, asporinu, mimecanu, lumicanu, prolarginu, kolagenu V, keratocanu a TGF β bylo větší v mediální, tužší části kloubního pouzdra, naopak zastoupení kolagenu XIV, vimentinu a fibromodulinu bylo významně vyšší v laterální části (tab. 6). Rozdíly kontrahované tkáně na mediální a laterální straně kloubního pouzdra dokumentují i elektronmikroskopické snímky. Je patrné, že vlákna kolagenu na mediální straně nohy jsou hustší a mnohem méně organizována, než na straně laterální (obr. 40).

Proteiny s významně vyšším zastoupením v mediální části kloubního pouzdra u PEC	Proteiny s významně vyšším zastoupením v laterální části kloubního pouzdra u PEC
Collagen type VI alpha-3 chain	Collagen type XIV alpha-1 chain
Collagen type VI alpha-1 chain	Vimentin
Collagen type VI alpha-2 chain	Fibromodulin
Transforming growth factor β	
Asporin	
Keratocan	
Collagen alpha-1(V) chain	
Prolargin	
Mimecan (Osteoglycin)	
Lumican	

Tab. 6 Seznam proteinů, jejichž zastoupení se významně liší v mediální a laterální části kloubního pouzdra nohy s PEC.

Data, která by srovnala složení extracelulární matrix u PEC a normální nohy, nejsou, bohužel, z logických důvodů k dispozici. Naše výsledky však naznačují, že na zvýšené rigiditě tkáně z mediální části kloubního pouzdra u PEC se může podílet odlišné proteinové složení.



Obr. 40 Elektronmikroskopické snímky (HSG Microscopy) řezů mediální (vpravo) a laterální (vlevo) části kloubního pouzdra nohy s PEC. Leica SP8 TSCM

<i>Excitation wavelenght:</i>	860 nm
<i>Emission filters:</i>	IR-blocking + 430/10
<i>Objective:</i>	20x/0.75 W
<i>Resolution:</i>	2048x2048
<i>Pixel size:</i>	0.2838x0.2838 μm^2
<i>Detector:</i>	Non-descanned – HyD

6.6 Kontraktura vazivové tkáně

Téměř všechny typy vazivové tkáně jsou pod určitou mechanickou tenzí a to i v klidu. I když je jasné, že myofibroblasty mohou vyvolávat a udržovat sílu kontrakce, je otázkou, jak se tato vlastnost přenáší do zkrácení tkání, které pozorujeme při patologických kontrakturách. Kontraktura vazivové tkáně je pomalý, permanentní a nízkoenergetický proces, který zahrnuje buňky matrix a dominuje při extracelulárních jevech, jako je remodelace matrix. Kontraktura vazivové tkáně zahrnuje stoupající, anatomické zkrácení extracelulární matrix. Všechny

remodelační procesy jsou charakterizovány vyjmutím molekul matrix a jsou často zprostředkovány matrix metaloproteinázami. Nedostatečné znalosti o vztahu mezi kontrakcí myofibroblastů a remodelací extracelulární matrix znemožňují tento proces srozumitelně vysvětlit (Tomasek a spol. 2002). Některé nové pohledy na kontrakturu vazivové tkáně podporují důležitost vlivu změn složení kolagenní matrix na funkci buněk a tkání (Wakatsuki a spol., 2000). Dokonalejší znalosti o bílkovinném složení extracelulární matrix tak mohou mít zcela zásadní význam.

6.7 Možný terapeutický význam proteomické analýzy

Jak již bylo uvedeno výše, patogeneza PEC dosud, bohužel, jasná není. Určení obecných proteomických parametrů pro různé oblasti PEC může sloužit jako základ pro další studie, které by charakterizovaly proteinové složení extracelulární matrix a tím umožnily molekulární pohled na různé oblasti postižené nohy. Možný klinický význam proteomické analýzy spočívá např. v potencionální aplikaci specifických enzymů „disc-like tissue“ mezi mediální maleolus, sustentaculum tali a os naviculare. Extracelulární matrix v těchto oblastech obsahuje zvýšené množství kolagenu VI, který se degraduje lépe než kolagen I. Injekce enzymů, degradujících kolagen VI, by mohla vést k uvolnění kontraktury a následně k usnadnění konservativního přístupu k léčbě pes equinovarus.

6.8 Závěry

Naše studie je první globální proteomickou analýzou extracelulární matrix kontrahované tkáně pacientů s PEC. Určení obecných proteomických parametrů různých oblastí PEC může sloužit jako základ pro příští studie extracelulární matrix, jejichž cílem bude molekulární pohled na různá stadia onemocnění a možné terapeutické intervence. Následná analýza mechanismů, které regulují remodelaci extracelulární matrix a vznik kontraktur, mohou mít značný význam pro pochopení biologie těchto patologických procesů a pro zavedení nových preventivních a terapeutických postupů.

6.9 Perspektivy dalšího výzkumu patogenetických mechanismů vzniku PEC

Fibroproliferativní onemocnění jsou závažné stavy, které významně ovlivňují kvalitu života; PEC patří k jejich typickým představitelům. V literatuře najdeme množství látek, u kterých je

popisován určitý benefiční vliv u fibrotických procesů; vliv na PEC však dosud znám není. Budoucí výzkum se proto soustředí na analýzu látek, které by mohly uvolnit napětí v kontrahované části kloubního pouzdra PEC. Účinek zkoumaných látek bude testován jednak na fibrotické tkáni PEC, jednak na fibroblastech, z nativní tkáně izolovaných. Cílem studie bude posoudit jejich vliv na viabilitu a růst fibroblastů a tím na kvalitu produkované extracelulární matrix. Testovány budou rovněž biomechanické vlastnosti změněné tkáně a složení extracelulární matrix. Dosažené výsledky by mohly odstartovat vývoj proteolytické enzymatické léčby fibrotické tkáně, blokádu rozvoje fibrózy či dokonce vyvolat regresi fibrózy a zlepšení kontraktury u PEC. Výzkum vzorků pacientů s PEC umožní rovněž analýzu fibrotických procesů v časných fázích ontogenetického vývoje u člověka. Interdisciplinární výzkum pediatrů a ortopédů, spolu s biochemiky a molekulárními biology, může významně zlepšit neinvasivní přístup k léčbě PEC, snížit tak nutnost chirurgických zásahů a zvýšit účinnost konservativní léčby. Dosažené výsledky by mohly v budoucnosti přispět i k objasnění dalších chorob vazivové tkáně.

7. SOUHRN

Pacienti s neléčeným PEC chodí po stranách nohou a ne po chodidlech; to vede k infekcím, tvorbě svalku, artritidě, k významnému omezení pohyblivosti a nakonec i životního uplatnění. Cílem léčby je zmenšit či odstranit deformitu do té míry, aby pacient mohl bezbolestně našlapovat na celé chodidlo, byl dobře pohyblivý, bez svalků a nepotřeboval speciální obuv. V současné době jsou používány dvě základní metody léčby: fyzioterapie s kontinuálním pohybem bez imobilizace (Diméglio a spol. 1996) a Ponsetiho metoda, popsaná před více než 50 lety (Ponseti a Smoley 1963). Principy originální Ponsetiho metody (seriová manipulace, speciální aplikace sádrových obvazů a případně perkutánní tenotomie Achilovy šlachy) shrnuli Dobbs a spol. (2014) a Ponseti a spol. (1992).

Na našem pracovišti používáme následující postup (Dunzl a spol., 2014, Ošťádal, 2014). Léčba začíná co nejdříve po přijetí, nejraději krátce po porodu a sestává z jemné manipulace nohy a seriové aplikace sádrových obvazů, sahajících až nad koleno. U všech pacientů je cavus upravován nejdříve supinací přední části nohy a dorsální flexí prvního metatarsu. Nepodaří-li se supinace přední části nohy, dojde zákonitě k nekompletní úpravě PEC. Přetrvává-li equinus po abdukci nohy při upravené varosní deformitě paty, provádíme jednoduchou perkutánní tenotomii na operačním sále v krátké celkové anestezii; to zajistí

dítěti optimální bezbolestný zákrok. Lokální znecitlivění používáme pouze v případech, kdy je celková narkóza z různých důvodů kontraindikována. Po tenotomii aplikujeme další sádrový obvaz a po třech týdnech přikládáme ortézu, abychom zabránili relapsu deformity (Ošťádal a spol., 2013). Ortézu je třeba nosit nepřetržitě (23 – 24 h/den) a to první tři měsíce nonstop, další tři roky 14-16 h během nočního a denního spánku. Abychom zabránili kontraktuře, zavedli jsme – navíc k původní Ponsetiho metodě – cvičení postižených dětí s rodiči (Ošťádal a spol., 2013). Ti jsou patřičně instruováni a dostanou pokyny jak efektivně provádět řadu cviků s kotníkem v době, kdy je uvolněn. Cvičení zlepšilo schopnost udržet kotník v pozici, ve které se ocitl po tenotomii. Ortéza se odstraní ve věku 3 – 6 let, cvičení však pokračuje až do dosažení kostní maturace. Je-li konzervativní léčba v této věkové skupině neúspěšná, přistupujeme k léčbě chirurgické. U dětí starších 3 let, u nichž se deformita neupravila, dáváme přednost chirurgické léčbě. V našem souboru jsme pozorovali významné rozdíly v krátkodobém a dlouhodobém hodnocení výsledků Ponsetiho metody při léčbě PEC (Ošťádal a spol. 2013). Počet relapsů v průběhu posledních 3 let při 8letém trvání léčby u pacientů, indikovaných k chirurgickému zákroku, bylo podstatně menší (5%) ve srovnání s pacienty, kde léčba začala před 8-10 lety (65%). Konzervativní léčba opakujících se relapsů sádrováním u pacientů starších 3 let je dle naší zkušenosti díky zranění a snížené poddajnosti fibrotické tkáně velmi obtížná (Ošťádal spol., 2013). Přes výskyt ojedinělých komplikací (Dogan a spol. 2008) je nutno tenotomii Achilovy šlachy považovat za konzervativnější metodu než agresivní léčbu sádrovými obvazy. Jsme proto přesvědčeni, že komplexní léčba této vrozené anomálie vyžaduje nejen důkladnou znalost konzervativního přístupu, ale také řadu různých chirurgických zákroků.

V druhé části naší práce jsme ověřovali hypotézu, že patogenetické mechanismy, odpovědné za vznik PEC, zahrnují vazivovou tkáň a růstové faktory (Ošťádal a spol. 2015, 2017). Pro pochopení bílkovinného složení extracelulární matrix jsme proto použili proteomickou analýzu kontrahované tkáně u pacientů s PEC. Hlavním výsledkem naší studie je originální pozorování, že extracelulární matrix u PEC je složena – kromě již popsaných kolagenů I a III a TGFβ – z dalších 16 proteinů, včetně kolagenů V, VI a XII. Určení obecných proteomických parametrů různých oblastí PEC může sloužit jako základ pro budoucí studie extracelulární matrix, jejichž cílem bude molekulární pohled na různá stadia onemocnění a možné terapeutické intervence. Následná analýza mechanismů, které regulují remodelaci extracelulární matrix a vznik kontraktur mohou mít značný význam pro pochopení biologie těchto patologických procesů a zavedení nových preventivních a terapeutických postupů.

8. LITERATURA

- Abdelgawad AA, Lehman WB, Van Bosse HJ**, et al. Treatment of idiopathic clubfoot using the Ponseti methods: minimum 2-year follow-up. *J Pediatr Orthop B*. 2007; 16(2): 98-105.
- Alvarado DM, Aferol H, McCall K**, et al. Familial isolated clubfoot is associated with recurrent chromosome 17q23.1q23.2 microduplications containing TBX4. *Am J Hum Genet*. 2010; 87: 154-60.
- Barallobre-Barreiro J, Didangelos A, Schoendube FA**, et al. Proteomics analysis of cardiac extracellular matrix remodeling in a porcine model of ischemia/reperfusion injury. *Circulation*. 2012; 125: 789-802.
- Bavinck. JN., Waver, DD**. Subcalvian artery supply disruption sequence: hypothesis of a vascular etiology for Poland, Klippel - Feil, and Möbius anomalies. *Am. J. Med. Genet.*, 1986, vol 23., 903.
- Bensahel H, Csukonyi Z, Desgrippes Y**, et al. Surgery in residual club-foot: one-stage medioposterior release „a la carte“. *J Pediatr Orthop*. 1987; 7: 145-8.
- Bonnell J, Cruess RL**. Anomalous insertion of the soleus muscle as a cause of fixed equinus deformity. A case report. *J Bone Joint Surg Am*. 1969; 51: 999-1000.
- Carrino DA, Mesiano S, Barker NM**, et al. Proteoglycans of uterine fibroids and keloid scars: similarity in their proteoglycan composition. *Biochem J*. 2012; 443: 361-8.
- Cooke VG, Kalluri R**. Chapter 1. Molecular mechanism of type IV collagen-derived endogenous inhibitors of angiogenesis. *Methods Enzymol*. 2008;444:1-19.
- Crawford AH, Marxen JL, Osterfeld DI**. The Cincinnati incision: a comprehensive approach for surgical procedures of the foot and ankle in childhood. *J Bone Joint Surg Am*. 1982; 64: 1355-58.

Čihák R, Grimm M. Anatomie 1. Praha: Grada Publishing, 2001

Diméglio A, Bensahel H, Souchet P, et al. Classification of clubfoot. *J Pediatr Orthop B.* 1995; 4: 129-36.

Diméglio A, Bonnet F, Mazeau P, et al. Orthopaedic treatment and passive motion machine: consequences for the surgical treatment of clubfoot. *J Pediatr orthop B.* 1996; 3: 173-80.

Dogan A, Kalender AM, Seramet E, et al. Mini-open technique for the Achilles tenotomy in correction of idiopathic clubfoot: a report of 25 cases. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2008; 98(5): 414-7.

Dobbs MB, Gurnett CA. Update on clubfoot: etiology and treatment. *Clin Orthop Relat Res.* 2009; 467: 146-53.

Dobbs MB, Rudzki JR, Purcell DB, et al. Factors predictive of outcome after use of the Ponseti method for the treatment of idiopathic clubfeet. *J Bone Joint Surg Am.* 2004; 86: 22-7.

Dungl P. Ortopedie a traumatologie nohy. 1. vyd. Praha: Avicenum 1989.

Dungl P et al. Ortopedie, Grada Publishing, 2. vyd. 2014, 1167.

Dungl P, Karpíšek M. Rozsáhlé subtalární uvolnění v léčení pes equinovarus congenitus. *Acta Chir Orthop Traum Cech.* 1990; 57: 111-126.

Dunn PM. Congenital postural deformities: perinatal associations. *Proc R SocMed.* 1972; 65: 735-8.

Foot JS, Yow TT, Schilter H, et al. PXS-4681A, a potent and selective mechanism-based inhibitor of SSAO/VAP-1 with anti-inflammatory effects in vivo. *J Pharmacol Exp Ther.* 2013; 347: 365-74.

Frejka B. Základy ortopedické chirurgie. 2. vyd. Praha: Avicenum 1970.

Fukuhara K, Schollmeier G, Uthoff HK. The pathogenesis of club foot. A histomorphometric and immunohistochemical study of fetuses. *J Bone Joint Surg Br.* 1994; 76: 450-7.

- Garceau GJ.** Anterior tibial tendon transfer for recurrent clubfoot. *Clin Orthop Relat Res.* 1972 May;84:61-5.
- Gay S, Rhodes RK, Gay RE, Miller EJ.** Collagen molecules comprised of alpha 1(V)-chains (B-chains): an apparent localization in the exocytoskeleton. *Coll Relat Res.* 1981; 1: 53-8.
- Genovese, F, Barascuk N, Larsen L, et al.** Biglycan fragmentation in pathologies associated with extracellular matrix remodeling by matrix metalloproteinases. *Fibrogenesis & Tissue Repair.* 2013; 6: 9.
- Gibbons PJ, Gray K.** Update of clubfoot. *J Paediatr Child Health,* 2013; doi: 10.1111/jpc.12167.
- Gilbert JA, Roach HI, Clarke NM.** Histological abnormalities of the calcaneum in congenital talipes equinovarus. *J Orthop Sci.* 2001; 6: 519-26.
- Gordon MK, Hahn RA.** Collagens. *Cell Tissue Res.* 2010; 339: 247-57.
- Gray K, Pacey V, Gibbons P, Little D, Frost C, Burns J.** Interventions for congenital talipes equinovarus (clubfoot). *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Apr 18;(4).
- Grill F.** Clubfoot therapy according to Bosch. Conservative and operative aspects. *Acta Orthop Traum Surg.* 1984; 103: S 320-27.
- Groulx JF, Gagné D, Benoit YD, et al.** Collagen VI is a basement membrane component that regulates epithelial cell-fibronectin interactions. *Matrix Biol.* 2011; 30: 195-206.
- Grumati P, Coletto L, Sandri M, et al.** Autophagy induction rescues muscular dystrophy. *Autophagy.* 2011; 7: 426-8.
- Gurnett CA, Boehm S, Connolly A, et al.** Impact of congenital talipes equinovarus etiology on treatment outcomes. *Dev Med Child Neurol.* 2008; 50: 498-502.
- Gurnett CA, Farhang A, Kruse LM et al.** Asymmetric lower-limb malformations in individuals with homeobox PITX1 gene mutation. *Am J Hum Genet.* 2008; 83: 616-22.
- Hee HT, Lee EH, Lee GS.** Gait and pedobarographic patterns of surgically treated clubfeet.

J Foot Ankle Surg. 2001 Sep-Oct;40(5):287-94.

Henkel L, Willert GH. Dysmelia a classification and a pattern of malformation in a group of congenital defects of the limbs. *J Bone Joint Surg.* 1969; 51-B: 399.

Herzenberg H, Radler C, Bor N. Ponseti versus traditional methods of casting for idiopathic clubfoot. *J Pediatr Orthop.* 2002; 22(4): 517-21.

Heywood AW. The mechanics of the hind foot in club foot as demonstrated radiographically. *J Bone Joint Surg Br.* 1964 Feb;46:102-7.

Chen W, Rock JB, Yearsley MM. Different collagen types show distinct rates of increase from early to late stages of hepatitis C-related liver fibrosis. *Hum Pathol.* 2014; 45: 160-5.

Cheon SS, Nadesan P, Poon R, et al. Growth factors regulate beta-catenin-mediated TCF-dependent transcriptional activation in fibroblasts during the proliferative phase of wound healing. *Exp Cell Res.* 2004; 293: 267-74.

Chomiak J, Frydrychová M, Ošťádal M et al. Ponsetiho metoda v léčení pes equinovarus congenitus – první zkušenosti. *Acta Chirurg Orthopaed et Traumatol Čechoslov.* 2009; 76: 194-201.

Chomiak J In: Dungal P. et al., Orthopedie, Grada Publishing, 2. vyd. 2014;8;187-190.

Idelberger K. Die Ergebnisse der Zwillingforschung beim angeborenen Klumpfuß. *Verh Dtsch Orthp Ges.* 1939; 33: 272-6.

Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft-tissues preservation. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1989;249.

Iltar S, Uysal M, Alemdaroglu KB, et al. Treatment of clubfoot with the Ponseti method: should we begin casting in the newborn period or later? *J Foot Ankle Surg.* 2010; 49: 426-31.

Ippolito E. Update of pathologic anatomy of clubfoot. *J Pediatr Orthop B.* 1995; 4: 17-24.

- Irani RN, Sherman MS.** The pathological anatomy of idiopathic Club-foot. *J Bone and Joint Surg.* 1963; 45-A: 45-52.
- Irani RN, Sherman MS.** The pathological anatomy of idiopathic clubfoot. *Clin Orthop Relat Res.* 1972; 84: 14-20.
- Jing L, Zhou LJ, Zhang FM, et al.** Tenascin-x facilitates myocardial fibrosis and cardiac remodeling through transforming growth factor- β 1 and peroxisome proliferator-activated receptor γ in alcoholic cardiomyopathy. *Chin Med J.* 2011; 124: 390-5.
- Kampmann A, Fernández B, Deindl E, et al.** The proteoglycan osteoglycin/mimecan is correlated with arteriogenesis. *Mol Cell Biochem.* 2009; 322: 15-23.
- Kim J, Jimenez-Mallebrera C, Foley AR, et al.** Flow cytometry analysis: a quantitative method for collagen VI deficiency screening. *Neuromuscul Disord.* 2012; 22: 139-48.
- Kite JH.** Nonoperative treatment of congenital clubfoot. *Clin Orthop Relat Res.* 1972; 84: 29-38.
- Lampe AK, Bushby KM.** Collagen VI related muscle disorders. *J Med Genet.* 2005; 42: 673-85.
- Lehman WB, Grant A, Rose D, et al.** A method of evaluating possible pin penetration in slipped capital femoral epiphysis using a cannulated internal fixation device. *Clin Orthop.* 1984; 186: 65-80.
- Li C1, Nguyen Q, Cole WG, Alman BA.** Potential treatment for clubfeet based on growth factor blockade. *J Pediatr Orthop.* 2001; 21: 372-7.
- Lee CJ, Subeq YM, Lee RP, et al.** Calcitriol decreases TGF- β 1 and angiotensin II production and protects against chlorhexide digluconate-induced liver peritoneal fibrosis in rats. *Cytokine.* 2014; 65: 105-18.
- Liu XJ, Kong FZ, Wang YH et al.** Lumican Accelerates Wound Healing by Enhancing α 2 β 1 Integrin-Mediated Fibroblast Contractility. *PLoS One.* 2013; 8: e67124.
- Lochmiller C, Johnston D, Scott A, et al.** Genetic epidemiology study of idiopathic talipes equinovarus. *Am J Med Genet.* 1998; 79: 90-6.

- Massoudi D, Malecaze F, Soler V**, et al. NC1 long and NC3 short splice variants of type XII collagen are overexpressed during corneal scarring. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53: 7246-56.
- McKay DW**, New concept of and approach to clubfoot treatment: section I principles and morbid anatomy. *J Pediatr Orthop*. 1982a; vol.2-A, 347-356.
- McKay DW**, New concept of and approach to clubfoot treatment: section II correction of the clubfoot. *J Pediatr Orthop*. 1982b; vol.3-A, 10-21.
- McKay DW**, New concept of and approach to clubfoot treatment: section III evaluation and results. *J Pediatr Orthop*. 1982c; vol.3-A, 141-148.
- Mikesh LM, Aramadhaka LR, Moskaluk C**, et al. Proteomic anatomy of human skin. *J Proteomics*. 2013; 84: 190-200.
- Morcuende JA, Dolan LA, Dietz FR**, et al. Radical reduction in the rate of extensive corrective surgery for clubfoot using the Ponseti method. *Pediatrics*. 2004; 113: 376-80.
- Mormone E, Yongke Lu, Xiaodong Ge**, et al. Fibromodulin, an Oxidative Stress-Sensitive Proteoglycan, Regulates the Fibrogenic Response to Liver Injury in Mice. *Gastroenterology*. 2012; 142: 612–621.
- Nietart, FU., Pfeil, J.**, Orthopädie. Stuttgart: Hippokrates Verlag, 1997.
- Nimni ME**. Collagen: Structure, function, and metabolism in normal and fibrotic tissues. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 1983; 13: 1-86.
- Ošťádal M**. Ponsetiho způsob léčení PEC. V **Dungl P.**: Orthopedie, Grada Publishing Praha 2014, s. 956-60.
- Ošťádal M, Chomiak J, Dungl P**, et al. Comparison of the short-term and long-term results of the Ponseti method in the treatment of idiopathic pes equinovarus. *Int Orthop*. 2013; 37: 1821-5.
- Ošťádal M, Chomiak J, Dungl P**, et al. Ponsetiho metoda při léčbě pes equinovarus congenitus (PEC). *Neonatologické listy*. 2011; 17: 3-6.

- Ošťádal M, Eckhardt A, Herget J** et al. Proteomic analysis of the extracellular matrix in idiopathic pes equinovarus. *Mol Cell Biochem.* 2015; Mar; 401(1-2):133-9
- Ošťádal M, Liskova J, Eckhardt A, Hadraba D.** Possible pathogenetic mechanisms and new therapeutic approaches in pes equinovarus. *Phys Res.* 2017. V tisku.
- Pirani S.** The Ponseti method and results in developing nations. Presented at the Symposium on Conservative Methods on the Treatment of Clubfeet. SICOT. August 30, 2002; San Diego, CA
- Ponseti IV.** Congenital clubfoot: fundamentals of treatment. Oxford, England: Oxford University Press; 1996.
- Ponseti IV.** Treatment of congenital club foot. *J Bone Joint Surg Am.* 1992; 74: 448-54.
- Ponseti IV, Smoley EN.** Congenital club foot: Results of treatment. *J Bone Joint Surg Am.* 1963; 45: 261-266.
- Ponseti IV, Zhivkov M, Davis N** et al. Treatment of the complex idiopathic clubfoot. *Clin Orthop Relat Res.* 2006; 451: 171-6.
- Ponseti IV.** Clubfoot management. *J Pediatr Orthop.* 2000; 20: 699-700.
- Poon R, Li C, Alman BA.** Beta-catenin mediates soft tissue contracture in clubfoot. *Clin Orthop Relat Res.* 2009; 467: 1180-5.
- Radler C, Manner HM, Suda R,** et al. Radiographic evaluation of idiopathic clubfeet undergoing Ponseti treatment. *J Bone Joint Surg Am.* 2007; 89: 1177-83.
- Sabatelli P, Palma E, Angelin A,** et al. Critical evaluation of the use of cell cultures for inclusion in clinical trials of patients affected by collagen VI myopathies. *J Cell Physiol.* 2012a; 227: 2927-35.
- Sabatelli P, Gualandi F, Gara SK,** et al. Expression of collagen VI $\alpha 5$ and $\alpha 6$ chains in human muscle and in Duchenne muscular dystrophy-related muscle fibrosis. *Matrix Biol.* 2012b; 31: 187-96.

- Sano H, Uthhoff HK, Jarvis JG**, et al. Pathogenesis of soft-tissue contracture in club foot. *J Bone Joint Surg Br.* 1998; 80: 641-4.
- Schröder, S., Berdel, PH., Niethard., FU., Weber, M.** Registration of congenital limb malformations in Germany. Conference book: 22nd Annual Meeting of EPOS, 2.-5. 4. 2003, London, England, p.60.
- Shack N, Eastwood DM.** *J Bone Joint Surg.* 2006; 88-B: 1085-9.
- Sluijs JA, Pruys JE.** Normal collagen structure in the posterior ankle capsule in different types of clubfeet. *J Pediatr Orthop B.* 1999 Oct;8(4):261-3.
- Tachdjian MO.** Pediatric Orthopedics. Vol. I.-IV. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990
- Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B**, et al. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002; 3: 349-63.
- Vijayaraghavan S, Huq R, Hausman MR.** Methods of peripheral nerve tissue preparation for second harmonic generation imaging of collagen fibers. *Methods.* 2014 Mar 15;66(2):246-55. doi: 10.1016/j.ymeth.2013.08.012. Epub 2013 Aug 17.
- Wang P, Zhou S, Xu L.** Hydrogen peroxide-mediated oxidative stress and collagen synthesis in cardiac fibroblasts: blockade by tanshinone IIA. *J Ethnopharmacol.* 2013; 145: 152-61.
- Wakatsuki T, Kolodney MS, Zahalak GI**, et al. Cell mechanics studied by a reconstituted model tissue. *Biophys J.* 2000; 79: 2353-68.
- Weaver DD.** Vascular etiology of limb defects: the subcalvian artery supply disruption sequence. In: Herring JA, Birch JG. (Eds.) *The child with limb deficiency Am. Acad., Orthop. Surg.*, 1998, P. 25.
- Weymouth KS, Blanton SH, Bamshad MJ, Beck AE, Alvarez C, Richards S, Gurnett CA, Dobbs MB, Barnes D, Mitchell LE, Hecht JT.** Variants in genes that encode muscle contractile proteins influence risk for isolated clubfoot. *Am J Med Genet A.* 2011 Sep;155A(9):2170-9. doi: 10.1002/ajmg.a.34167. Epub 2011 Aug 10.

Windisch G, Salaberger D, Rosmarin W, Kastner J, Exner GU, Haldi-Brändle V, Anderhuber F. A model for clubfoot based on micro-CT data. *J Anat.* 2007 Jun;210(6):761-6. Epub 2007 May 15.

Wynne-Davies R. Genetic and environmental factors in the etiology of talipes equinovarus. *Clin Orthop Relat Res.* 1972; 84: 9-13.

Yagmurlu MF, Ermis MN, Akdeniz HE, et al. Ponseti management of clubfoot after walking age. *Pediatr. Int.* 2011; 53: 85-9.

Yamamoto H, Muneta T, Morita S. Nonsurgical treatment of congenital clubfoot with manipulation, cast, and modified Denis Browne splint. *J Pediatr Orthop.* 1998; 18: 538-42.

Zhao S, Wu H, Xia W, et al. Periostin expression is upregulated and associated with myocardial fibrosis in human failing hearts. *J Cardiol.* 2013; [Epub ahead of print]

Příloha:

1.
OŠŤÁDAL, M., CHOMIAK, J., DUNGL, P., FRYDRYCHOVÁ, M., BURIAN, M.
Comparison of the short-term and long-term results of the Ponseti method in the treatment of idiopathic pes equinovarus. *Int. Orthop.* 2013; vol. 37 (9), p.1821-5. IF 2.319

2.
OŠŤÁDAL, M., ECKHARDT, A., HERGET, J., MIKŠÍK, I., DUNGL, P., CHOMIAK, J., FRYDRYCHOVÁ, M., BURIAN, M. Proteomic analysis of the extracellular matrix in idiopathic pes equinovarus. *Mol Cell Biochem.* 2015; Mar; 401(1-2):133-9 IF 2,388

3.
OŠŤÁDAL, M., CHOMIAK, J., FRYDRYCHOVÁ, M., KASSAIOVÁ, M., DUNGL, P.
Pes equinovarus - 10 let léčby Ponsetiho metodou (10 years experience with the treatment of Ponseti method) *Ortopedie*, 2015; roč. 9 (6), s. 275-281

4.
OŠŤÁDAL M., LIŠKOVÁ J., HADRABA D., ECKHARDT A. Possible pathogenetic mechanisms and new therapeutic approaches of pes equinovarus. *Phys Res.*2017. V tisku. IF 1,646