

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Vyvolání horečky mikroorganismy  
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2024/2025

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Tereza Ulrychová**  
Osobní číslo: **C22261**  
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**  
Téma práce: **Vyvolání horečky mikroorganismy**  
Téma práce anglicky: **Fever Induced by Microorganisms**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1) Zpracujte literární rešerši zaměřenou na popis fyziologických regulací vedoucích ke zvýšení teploty organismu, či horečce. V rámci zadaného tématu se nejprve zaměřte na obecný popis mechanismů termoregulace, roli induktorů horečky, ať již endogenních, či exogenních. Následně se zaměřte na detailní popis dějů vedoucích k vyvolání horečky mikroorganismy, jejich vzájemnou odlišností, či klinický význam těchto mechanismů.

2) Ke zpracování kompilace využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *ScienceDirect*, *Scopus*, *NCBI Pubmed*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.** v.r.  
děkan

L.S.

**prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.** v.r.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem *Vyvolání horečky mikroorganismy* jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 24. 06. 2025

Tereza Ulrychová v. r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych ráda poděkovala prof. RNDr. Tomáši Roušarovi Ph.D., za odborné vedení, cenné připomínky a vstřícný přístup při zpracování mé bakalářské práce. Mé díky patří také mé rodině a přátelům za trvalou podporu, trpělivost a oporu během celého studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se věnuje vzniku horečky, a to primárně po stimulaci bakteriálními pyrogeny. V úvodní části jsou stručně popsány obecné mechanismy termoregulace. Následně jsou vybrané exogenní a endogenní pyrogeny charakterizovány na základě jejich struktury, funkce a výskytu. Hlavní část práce se pak zaměřuje na samotný mechanismus vzniku horečky, od vazby exogenního pyrogenu na receptor až po aktivaci odpovědí vedoucích ke zvýšení tělesné teploty. Závěrem jsou zmíněny a porovnány negativní i pozitivní důsledky horečky na lidský organismus.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Termoregulace, pyrogeny, cytokiny, lipopolysacharid, mikroorganismy, horečka.

## **TITLE**

Fever induced by microorganisms

## **ANNOTATION**

This bachelor's thesis deals with the development of fever, primarily after stimulation by bacterial pyrogens. In the introductory part, the general mechanisms of thermoregulation are briefly explained. Subsequently, selected exogenous and endogenous pyrogens are described based on their structure, function and occurrence. The main part of the work then focuses on the mechanism of fever, i.e. from the binding of exogenous pyrogen to the receptor to the activation of responses leading to an increase in body temperature. Finally, the negative and positive effects of fever on the human organism are mentioned and compared.

## **KEYWORDS**

Thermoregulation, Pyrogens, Cytokines, Microorganisms, Lipopolysaccharide, Fever.

# OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ.....	9
SEZNAM TABULEK .....	9
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	10
ÚVOD .....	12
1 TERMOREGULACE .....	13
1.1 Dostředivé dráhy .....	13
1.1.1 Iontové kanály s transientním receptorovým potenciálem .....	14
1.2 Termoregulační centrum .....	15
1.3 Odpověď organismu na chlad .....	16
1.4 Odpověď organismu na teplo .....	17
2 PYROGENY .....	18
2.1 Exogenní pyrogeny .....	18
2.1.1 Endotoxin .....	18
2.1.2 Kyselina lipoteichoová .....	21
2.1.3 Peptidoglykan .....	23
2.2 Endogenní pyrogeny .....	25
2.2.1 Rodina interleukinu 1 .....	26
2.2.2 Interleukin 6 .....	28
2.2.3 Tumor nekrotizující faktor $\alpha$ .....	29
2.2.4 Interferon $\gamma$ .....	30
3 HOREČKA .....	32
3.1 Patofyziologie horečky .....	33
3.1.1 Vazba lipopolysacharidu na <i>Toll-like</i> receptor .....	33
3.1.2 Vazba kyseliny lipoteichoové a peptidoglykanu na receptor .....	35
3.1.3 Syntéza prostaglandinu E2 .....	35
3.1.4 Přenos pyrogenního signálu do centra termoregulace .....	37
3.1.5 Centrální fáze vzniku horečky .....	40
4 DŮSLEDKY HOREČKY .....	43
4.1 Horečka a imunitní systém .....	43
4.1.1 Přirozená imunita .....	43

4.1.2	Adaptivní imunita .....	44
4.1.3	Proteiny teplotního šoku .....	44
4.2	Vliv horečky na patogeny .....	45
4.2.1	Horečka a bakterie .....	45
4.2.2	Horečka a viry .....	46
4.3	Negativní důsledky horečky .....	46
ZÁVĚR .....		48
POUŽITÁ LITERATURA .....		49

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Teploty aktivace různých typů termosenzitivních kanálů.....	15
Obrázek 2: Lipopolysacharid přítomný u gramnegativních bakterií .....	19
Obrázek 3: Struktura kyseliny lipoteichoové.....	22
Obrázek 4: Struktura peptidoglykanu. ....	24
Obrázek 5: Rozdělení cytokinů rodiny interleukinu 1 do podrodin .....	27
Obrázek 6: Signalizace pomocí Toll-like receptoru 4. ....	34
Obrázek 7: Přeměna kyseliny arachidonové na PGE2 .....	36
Obrázek 8: Průchod mediátorů přes hematoencefalickou bariéru .....	39
Obrázek 9: Centrální termoregulační dráha .....	42

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Tabulka vybraných interleukinů .....	25
---	----

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ADAM17	enzym uvolňující prozánětlivý cytokin TNF-alfa
AMP	adenosinmonofosfát
ATP	adenosintrifosfát
CD14	diferenciační antigen 14
CD4+	diferenciační antigen 4 pozitivní
CD8+	diferenciační antigen 8 pozitivní
CNS	centrální nervová soustava
COX-2	cyklooxygenáza 2
EP (1-4)	prostaglandin E2 receptor 1-4
EP3 $\alpha$	prostaglandin E2 receptor 3 isoforma $\alpha$
EP3 $\beta$	prostaglandin E2 receptor 3 isoforma $\beta$
EP3 $\gamma$	prostaglandin E2 receptor 3 isoforma $\gamma$
GABA	kyselina $\gamma$ -aminomáselná
IFN- $\gamma$	interferon $\gamma$
IL-1	interleukin 1
IL-1 $\alpha$	interleukin 1 $\alpha$
IL-1 $\beta$	interleukin 1 $\beta$
IL-6	interleukin 6
IL6-R	interleukin 6 receptor
IL-10	interleukin 10
IL-18	interleukin 18
IL-33	interleukin 33
JAK	Janusova kináza
LPS	lipopolysacharid
LTA	kyselina lipoteichoová
mPGES	mikrosomální prostaglandin E2 syntáza
mRNA	informační ribonukleová kyselina
MyD88	primární odpověď myeloidní diferenciace 88
NF- $\kappa$ B	nukleární faktor $\kappa$ B
NKG2D	člen D skupiny 2 přirozených zabijců ( <i>NK group 2 member D</i> )
OVLT	<i>Organum vasculosum laminae terminalis</i>
PGE2	prostaglandin E2

PGN	peptidoglykan
RNA	ribonukleová kyselina
STAT	převodník signálu a aktivátor transkripce
T <sub>H</sub> 1	pomocné T-lymfocyty typu 1
T <sub>H</sub> 17	pomocné T-lymfocyty typu 17
TIR	<i>Toll</i> -interleukin-1 receptor
TLR4-MD2	komplex <i>Toll-like</i> receptor 4 - myeloidní diferenciacní faktor 2
TNF- $\alpha$	tumor nekrotizující faktor $\alpha$
Tri-DAP	tripeptid L-alaninu, D-alaninu a kyseliny meso-diaminopimelové
TRIF	interferon $\beta$ indukující adaptor obsahující doménu TIR
TRP	iontové kanály s transientním receptorovým potenciálem

## ÚVOD

Horečka je jedním ze základních příznaků probíhajícího infekčního onemocnění. Během života se s tímto symptomem setká téměř každý člověk. Ačkoliv je nemocným jedincem často vnímána negativně, patří horečka mezi evolučně velmi staré obranné mechanismy hostitele proti invazi patogenů a lze ji zařadit mezi součásti reakce akutní fáze. Látky, které jsou schopny vyvolat horečku, se nazývají pyrogeny. Mezi exogenní pyrogeny patří produkty, či součásti mikroorganismů, jako je například endotoxin, či peptidoglykan. Endogenní pyrogeny jsou naopak látky produkované uvnitř našeho těla v reakci na přítomnost mikroorganismů. Obecně je lze nazvat cytokiny.

Febrilní teploty vzniklé jako odpověď na infekci jsou asociovány s lepším průběhem nemoci a nižší mortalitou. Horečka pomáhá urychlovat a umocňovat odpověď složek imunitního systému a zároveň negativně působí na přítomné patogenní mikroorganismy. Nicméně existují i rizika spojená s přetrvávajícími vysokými teplotami. Vždy je proto nutné brát v potaz individuální stav pacienta.

Cílem této bakalářské práce je detailně popsat patofyziologii horečky vyvolané bakteriálními pyrogeny, se zaměřením především na jednotlivé mediátory a jejich možný vliv na vznik febrilní odpovědi. Součástí práce je také úvodní kapitola o termoregulaci teplokrevných živočichů a závěrečná kapitola, v níž jsou popsány a zhodnoceny důsledky horečky, a to pozitivní i negativní.

# 1 TERMOREGULACE

Teplota patří mezi základní fyzikální veličiny se značným vlivem na strukturu a funkci tkání a buněk. Na buněčné úrovni ovlivňuje fluiditu membrán, rychlost transmembránového transportu, enzymatickou katalýzu, nebo také sekundární a terciální strukturu proteinů. Lidé patří mezi teplokrevné živočichy. To znamená, že mají schopnost udržovat stálou tělesnou teplotu, což jim umožňuje lepší kontrolu nad procesy a reakcemi, k nimž v těle dochází (*Cramer et al., 2022; Piñol et al., 2021*). Udržování stálé tělesné teploty je výsledkem série komplexních fyziologických a metabolických procesů, které zahrnují mimo jiné i vazodilataci, vazokonstrikci, pocení, třes, nebo výměnu tepla mezi kůží a vnějším prostředím. Regulace těchto procesů je řízena centrálním nervovým systémem (*Piñol et al., 2021; Xu et al., 2023*).

Fyziologický mechanismus kontroly tělesné teploty funguje na principu přímé zpětné vazby a v té nejjednodušší podobě může být chápán jako reflex (*Morrison, 2016*). V preoptické oblasti předního hypothalamu, kde se nachází hlavní termoregulační systém lidského těla, dochází ke zpracování signálů přicházejících z termosenzitivních neuronů na kůži i v samotném hypothalamu. Tyto signály jsou zkombinovány a náležitě zpracovány do vhodných odpovědí organismu, které vedou k udržení tepelné homeostázy (*Schieber et Ayres, 2016; Xu et al., 2023*).

## 1.1 Dostředivé dráhy

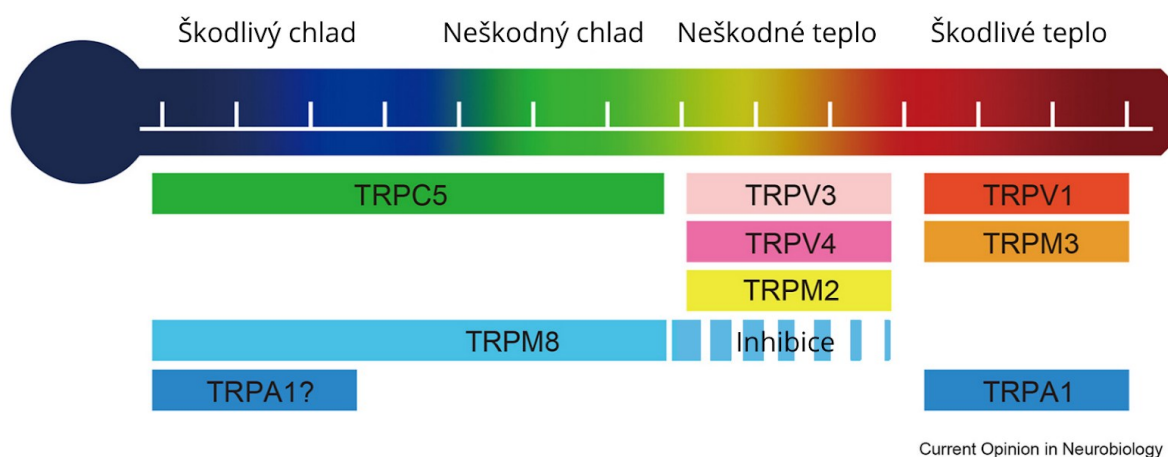
Mezi primární senzorycké neurony, které zprostředkovávají tepelné podněty, dotyk, ale i bolest, patří neurony spinálních ganglií a ganglionu trojklanného nervu. Jedná se o pseudounipolární neurony, jejichž periferní výběžek vede nervové vzruchy z kůže a sliznic a centrální výběžek přenáší tyto informace do centrální nervové soustavy. Klasické neurofyziologické experimenty charakterizovaly vlákna těchto neuronů na dvě obecné třídy tepelných dostředivých vláken, aktivovaná chladnými podněty a aktivovaná zahřátím. Chladem aktivovaná jsou u lidí a primátů typem A $\delta$  nervových vláken. Teplem aktivovaná vlákna jsou z velké části typu C, čili nemyelizovaná (*Madden et Morrison, 2019; Rohacs, 2016*). Termosenzitivní neurony se skládají z různých populací buněk se specializovanou genovou expresí. Mohou exprimovat i termosenzitivní iontové kanály, které jsou zřejmě zodpovědné za přenos tepelného signálu na periferních výběžcích (*Kashio et Tominaga, 2022*).

### 1.1.1 Iontové kanály s transientním receptorovým potenciálem

Iontové kanály s transientním receptorovým potenciálem (TRP) jsou neselektivní kationtové kanály se šesti transmembránovými doménami a fungují jako tetramerní polypeptidy. Podle rozdílů v sekvencích aminokyselin mohou být rozděleny do šesti, nebo sedmi podkategorií. Jsou aktivovány širokou škálou chemických a fyzikálních vlivů, včetně teploty. Uvádí se, že u savců je jedenáct těchto kanálů citlivých na různé teplotní podněty (*Suito et Tominaga, 2024*). Po stimulaci tepelnými změnami umožňují tyto kanály vstup kationtů do buňky, což vede k depolarizaci a následně i vypravení akčního potenciálu (*Cramer et al., 2022*).

TRP skupiny V1 jsou primárními kandidáty pro detekci teplých podnětů. Jsou nezbytné pro tepelnou citlivost v buňkách ganglia trojklanného nervu, avšak myši s deficitem těchto kanálů mají relativně normální citlivost na teplo (*Madden et Morrison, 2019*). Nicméně aplikace jejich agonisty, kapsaicinu, na kůži myši stimuluje neurony citlivé na teplo v preoptické oblasti předního hypothalamu, které řídí autonomní reakce tepelné obrany během tepelného stresu (*Cramer et al., 2022*). TRP skupiny M2 exprimované na neuronech v preoptické oblasti předního hypothalamu jsou aktivovány teplotami nad fyziologickou hranicí. Podílí se na regulaci febrilní odpovědi, což naznačuje, že jsou aktivovány teplotním stresem, aby udržovaly teplotu organismu v přijatelných mezích. K jejich expresi dochází také v imunitním systému, kde inhibují pyrogenní signalizaci fagocytů. Svou aktivitou tedy zřejmě zabraňují přehřátí a orgánovému poškození v důsledku vysokých teplot (*Song et al., 2016*).

TRP skupiny M8 jsou naopak aktivovány studenými podněty. Myši s absencí genu kódujícího tyto kanály mají deficit ve schopnosti detekce chladu a narušenou tepelnou toleranci (*Madden et Morrison, 2019; Paricio-Montesinos et al., 2020*). Zároveň ale bylo zjištěno, že tyto myši nereagují ani na zvýšení teploty prostředí na 42 °C, což naznačuje, že jsou důležité i pro detekci hřejivých podnětů (*Ujisawa et al., 2022*). Vybrané termosenzitivní TRP kanály spolu s teplotami, při nichž jsou aktivovány, jsou zobrazeny na obrázku 1.



Obrázek 1: Teploty aktivace různých typů termosenzitivních kanálů (TRP - Iontový kanál s transientním receptorovým potenciálem, A1 - podrodina ankyrin člen 1, C5 - krátký TRP (označovaný jako kanonický), M2 - podrodina melastatin člen 2, M3 - podrodina melastatin člen 3, M8 - podrodina melastatin člen 8, V1 - podrodina vaniloid člen 1, V3 - podrodina vaniloid člen 3, V4 - podrodina vaniloid člen 4) (upraveno dle: Kashio et Tominaga, 2022).

## 1.2 Termoregulační centrum

Aktivované termosenzitivní neurony přenáší signál do laterálního parabrachiálního jádra, což spouští reakci v preoptické oblasti předního hypothalamu (Mota-Rojas et al., 2021; Tan et Knight, 2018). Preoptická oblast předního hypothalamu, konkrétně *nucleus preopticus medialis*, slouží jako centrální místo, kde dochází ke zpracování teplotních podnětů a zprostředkování náležité autonomní a behaviorální odpovědi potřebné k udržení tepelné homeostázy. Neurony v této oblasti dostávají signály z periferie, ale také samy reagují na lokální změny teploty. Až 30 % neuronů v preoptické oblasti hypothalamu je citlivých na teplo. Dokonce teplotní změny v hypothalamu mohou mít dominantní vliv na regulaci tělesné teploty a mohou potlačit signály přicházející z periferních teplotních senzorů, jako jsou ty, co jsou umístěné na kůži (Song et al., 2016; Zhou et al., 2023). Neurony v preoptické oblasti předního hypothalamu, které jsou aktivovány centrálním nebo periferním tepelným stimulem, přenášejí informace o teplotě do efektorů, kterými jsou například *nucleus dorsomedialis hypothalami* a *nucleus raphe pallidus*. Ty se podílejí na přenosu informací do periferních částí nervového systému, kde dochází k odpovědím vedoucím k regulaci tělesné teploty (Rothhaas et Chung, 2021).

### 1.3 Odpověď organismu na chlad

Primární mechanismy využívané pro obranu proti chladu zahrnují chování vedoucí ke snížení tepelných ztrát, kožní vazokonstrikci, sloužící pro zachování tepla v těle a omezení tepelných ztrát do okolí, a výrobu tepla, ať už třesovou, nebo netřesovou. K hlavním zdrojům netřesové produkce tepla, kromě těch, které přispívají k bazálnímu metabolismu, patří hnědá tuková tkáň (*Morrison, 2016*). Hnědé adipocyty jsou specializované buňky charakteristické četnými lipidovými kapénkami a velkým množstvím mitochondrií, které obsahují speciální protein, termogenin, ve vnitřní mitochondriální membráně. Termogeneze v hnědých adipocytech je aktivována zvýšenou aktivitou sympatických nervů uvolňujících noradrenalin, který se váže na postsynaptické  $\beta_3$ -adrenoreceptory v adipocytech. Tyto receptory jsou spřaženy se stimulačním G-proteinem, který aktivuje adenylátcyklázu, což vede k přeměně ATP na cyklický AMP. Cyklický AMP aktivuje proteinkinázu A a to vede k aktivaci několika signálních drah, včetně transkripce termogeninu, které zvyšují tvorbu tepla v adipocytech (*Contreras et al., 2017*).

Kontrakce kosterního svalstva během třesu jsou nedobrovolnou somatickou motorickou reakcí za účelem termogeneze. Pohánějí je  $\alpha$ -motoneurony umístěné v předním rohu míšním, nebo v jádrech lícního a trojklanného nervu v zadním mozku. Patří k nejvíce účinným odpovědím na chlad. Zahrnují je rychlé, opakované stahy kosterního svalstva vedoucí k produkci tepla v důsledku neefektivního využití ATP. Třesová termogeneze má dvě fáze, samotné fázické kontrakce svalů a jim předcházející zvýšení tonického výboje motoneuronu (*Morrison et Nakamura, 2019*).

Také kožní vazomotorické změny jsou součástí tělních reakcí, které udržují tepelný komfort a zprostředkovávají přenos tepla prouděním mezi tělesným jádrem a povrchem kůže krevním řečištěm (*Mota-Rojas et al., 2021*). Kůže má komplexní sympatickou inervaci, která zahrnuje několik nervových struktur, jako jsou vazodilatátory, vazokonstriktory, pilomotorické svaly, sensorická vlákna a termoreceptory. Z toho důvodu patří kožní cévy mezi důležité termoregulační tkáně. Reflexní vazokonstrikce je sympatického původu. Primárním neurotransmiterem uvolňovaným ze sympatických vazokonstrikčních neuronů je noradrenalin, který se váže na postsynaptické  $\alpha$ -adrenoreceptory, čímž dochází k vazokonstrikci a uchování tepla (*Alba et al., 2019; Greaney et al., 2016*).

## 1.4 Odpověď organismu na teplo

Odpověď organismu na tepelný stres zahrnuje naopak kožní vazodilataci, která je u člověka doprovázena zvýšeným srdečním výdejem a viscerální vazokonstrikcí, pocením a odpařováním vody, popřípadě také chování vedoucí k tepelným ztrátám (*Morrison, 2016*). Regulace teploty člověka při zvýšené teplotě okolí závisí primárně na pocení. Při teplotách prostředí převyšujících 34 °C je tvorba potu a jeho odpařování jediným mechanismem, jakým dochází ke ztrátě tepla. K pocení dochází na celém povrchu kůže, ačkoliv míra jeho tvorby není jednotná (*Cramer et al., 2022*). Existují dva typy pocení. První typ pocení není zrakem ani dotykem detekovatelný a doprovází jej neustálé ztráty tepla. Druhý typ pocení vzniká při fyzické aktivitě a lze jej zrakem pozorovat. Pocení také slouží k vylučování látek, jako je močovina, kyselina močová, amoniak a kyselina mléčná (*Mota-Rojas et al., 2021*).

U mladých dospělých celotělový tepelný stres také vyvolává řadu vysoce koordinovaných kardiovaskulárních reakcí, které jsou nezbytné pro dostatečný přenos tepla mezi tělem a okolním prostředím a udržení tepelné homeostázy. Tyto kardiovaskulární odezvy zahrnují značné zvýšení srdečního výdeje a tepu, ale také redistribuci krve z renálního a splanchnického oběhu, což usnadňuje zvýšení průtoku krve kůží (*Crandal et Wilson, 2015*).

Kožní vazodilatace se podílí na přesměrování tepla z centrální cirkulace do periferie, kde dochází k jeho rozptýlení. Lze rozlišit dva mechanismy vazodilatace, aktivní a pasivní. Během aktivní vazodilatace dochází ke zvýšení průtoku krve skrz navýšení nervové aktivity. Pasivní vazodilatace taktéž zvyšuje průtok krve, ale pouze díky snížení aktivity vazokonstrikčních nervů (*Mota-Rojas et al., 2021; Wu et al., 2017*). Při nárůstu tepelného stresu dochází s nárůstem vnitřní teploty primárně ke zvýšení průtoku krve kůží v důsledku pasivní vazodilatace. S dalším nárůstem vnitřní teploty již dochází k aktivaci aktivního vazodilatačního systému. Ten je zprostředkován sympatickými cholinergními vlákny a acetylcholinem (*Greaney et al., 2016*).

## 2 PYROGENY

Pyrogeny jsou skupina chemicky heterogenních látek schopných vyvolat horečku (*He et al., 2018*). Dle místa vzniku můžeme pyrogeny rozdělit do dvou základních skupin, a to na exogenní a endogenní. Exogenní pyrogeny vstupují do těla zvenčí. Primárně se jedná o součásti a produkty mikroorganismů (příkladem mohou být toxiny, jako je endotoxin). Tyto cizorodé částice jsou následně detekovány receptory na makrofázích hostitele, což vede k produkci endogenních pyrogenů. Naopak endogenní pyrogeny jsou látky produkováné uvnitř našeho těla, které dokážou vyvolat změnu v nastavených termoregulačních mezích. Mimo jiné se jedná o cytokiny, jako je tumor nekrotizující faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 (IL-1) a interleukin 6 (IL-6) (*Smid et al., 2018*).

### 2.1 Exogenní pyrogeny

Exogenní pyrogeny lze rozdělit do dvou skupin. Do první skupiny známých a dobře prostudovaných exogenních pyrogenů patří endotoxiny, což jsou lipopolysacharidy přítomné v buněčné stěně gramnegativních bakterií. Druhou širokou skupinou jsou pyrogeny neendotoxinového původu. Mezi ně patří látky jako lipoteichoová kyselina pocházející z grampozitivních bakterií, peptidoglykan, superantigeny stafylokoků a streptokoků, lipoproteiny mykoplazmat a další různorodé látky pocházející z plísní, kvasinek, virů, bakterií, či parazitů (*Coleman et Borton, 2018; Wrotek et al., 2020a*).

#### 2.1.1 Endotoxin

Endotoxiny tvoří nejběžněji se vyskytující skupinu exogenních pyrogenů (*Timman et al., 2022*). Na rozdíl od exotoxinů, které ovlivňují metabolické procesy v hostitelských buňkách a případně je zabíjejí, interagují endotoxiny s buňkami imunitního systému hostitele a spouští tak imunitní odpověď (*Golovanov et Gorman, 2022*). Termín endotoxin označuje toxin asociovaný s gramnegativní bakteriální buňkou, a podle jejího uspořádání se obvykle jedná o lipopolysacharid (LPS) (*VishnuPriya, 2018*).

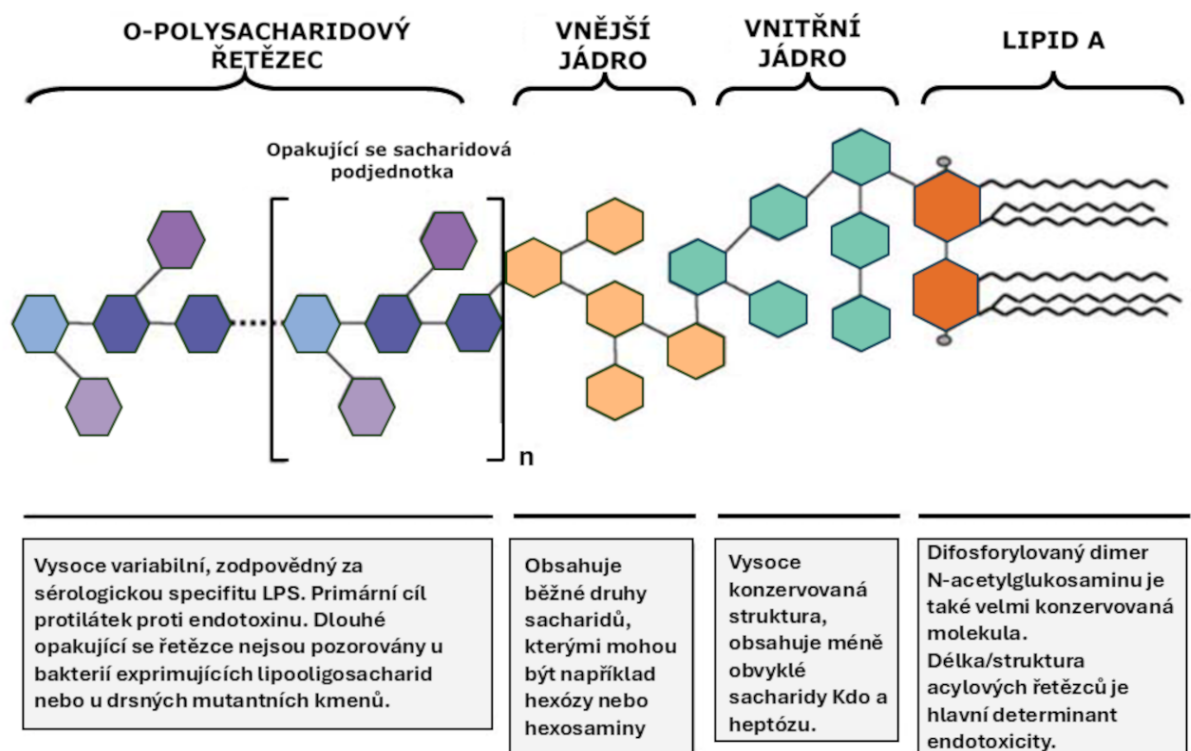
Tvoří strukturální součást bakteriální buňky a je složen z dlouhých sacharidových řetězců spojených kovalentními vazbami s lipidy. Tyto řetězce tvoří hustou síť, která chrání povrch bakterie a vytváří želatinovou vrstvu na jejím povrchu. Její hlavní funkcí je udržet povrch bakterie vlhký, mírně negativně nabitý a chránit jej před molekulami, které by mohly bakterii poškodit. Zároveň je však tato vrstva dostatečně propustná pro živiny (*Wassenaar et Zimmermann, 2018*). LPS se skládá ze dvou hlavních, biochemicky důležitých částí,

kterými jsou lipid A a hydrofilní O-specifický polysacharid (*VishnuPriya, 2018*). Tyto dvě složky jsou spojeny dohromady prostřednictvím oligosacharidového jádra, které lze rozdělit na vnitřní podskupinu, spojenou s lipidem A, a vnější podskupinu, která poskytuje místo pro připojení O-specifického polysacharidového řetězce. Jiná funkce jádrového oligosacharidu není známa (*Su et Ding, 2015*).

### 2.1.1.1 Lipid A

Lipid A je hlavní lipidickou složkou tvořící LPS. Molekula lipidu A se skládá z negativně nabitého difosforylovaného dimeru *N*-acetylglukosaminu, který tvoří hydrofilní část. K tomuto dimeru může být podle druhu mikroorganismu připojeno šest, nebo sedm nasycených mastných kyselin, které představují hydrofobní část (*Su et Ding, 2015*).

Čtyři mastné kyseliny tvoří tzv. primární acylové skupiny spojené esterovými, nebo peptidovými vazbami přímo s *N*-acetylglukosaminem. Tyto kyseliny jsou obvykle hydroxylovány a přítomnou hydroxy-skupinou se na ně esterovou vazbou mohou vázat až tři další mastné kyseliny (*Golovanov et Gorman, 2022; VishnuPriya, 2018*). LPS se všemi jeho charakteristickými částmi, včetně lipidu A, zobrazuje obrázek 2.



Obrázek 2: Lipopolysacharid přítomný u gramnegativních bakterií (upraveno dle: *Eckel et Ametaj, 2020*).

Napříč jednotlivými druhy mikroorganismů panuje variabilita ve struktuře lipidu A, nejčastěji v počtu, délce a struktuře přítomných nasycených mastných kyselin. Zároveň však lze lipid A považovat za evolučně konzervovanou molekulu (*Golovanov et Gorman, 2022*).

Lipid A slouží jako membránová kotva, která přichycuje LPS ke stěně bakteriální buňky. Zároveň je zodpovědný za toxicitu gramnegativních bakterií. LPS však není schopný vyvolat odpověď imunitního systému, dokud se neuvolní z bakteriální stěny, k čemuž může dojít dělením buňky, uvolněním vezikul, lýzou, nebo buněčnou smrtí. Teprve poté mohou receptory buněk přirozené imunity rozpoznat LPS a jeho složku, lipid A, jako s patogenem asociovaný molekulární vzorec a zahájit tak prozánětlivou imunitní odpověď (*Golovanov et Gorman, 2022; Xiao et al., 2017*).

### **2.1.1.2 Oligosacharidové jádro a O-antigen**

Jak již bylo zmíněno, oligosacharidové jádro lze rozdělit na vnější a vnitřní region. Vnitřní region je považován za méně variabilní a skládá se z méně obvyklých sacharidů, jakými mohou být kyselina ketodeoxyoktulózonoová; 3-deoxy-D-manno-okt-2-ulózonová kyselina, nebo heptózy (*Durai et al., 2015*). Kyselinu ketodeoxyoktulózonoovou lze považovat za unikátní a stále přítomnou složku lipopolysacharidu, proto je používána jako indikátor v testech na přítomnost endotoxinu (*VishnuPriya, 2018*). Vnější region je naopak více rozmanitý a skládá se z běžnějších sacharidů, jako jsou hexózy a hexosaminy (*Durai et al., 2015; Garcia-Vello et al., 2021*).

Poslední část tvořící LPS, která je připojena k vnějšímu regionu oligosacharidového jádra a je vystavena vnějšímu prostředí, se nazývá O-specifický polysacharidový řetězec neboli také O-antigen. Jde o druh imunogenní substance, která může mikroorganismům pomoci obejít imunitní systém. V porovnání s oligosacharidovým jádrem a lipidem A se jedná o vysoce variabilní molekulu. Jen u rodu *Salmonella* existuje více než 1000 různých imunochemických variant O-antigenu. Zároveň je však nutné zmínit, že se nejedná o obligatorní složku, a proto nemusí být u některých druhů přítomen (*Su et Ding, 2015*). Takové zástupce pak nazýváme drsné kmeny (*Durai et al., 2015*).

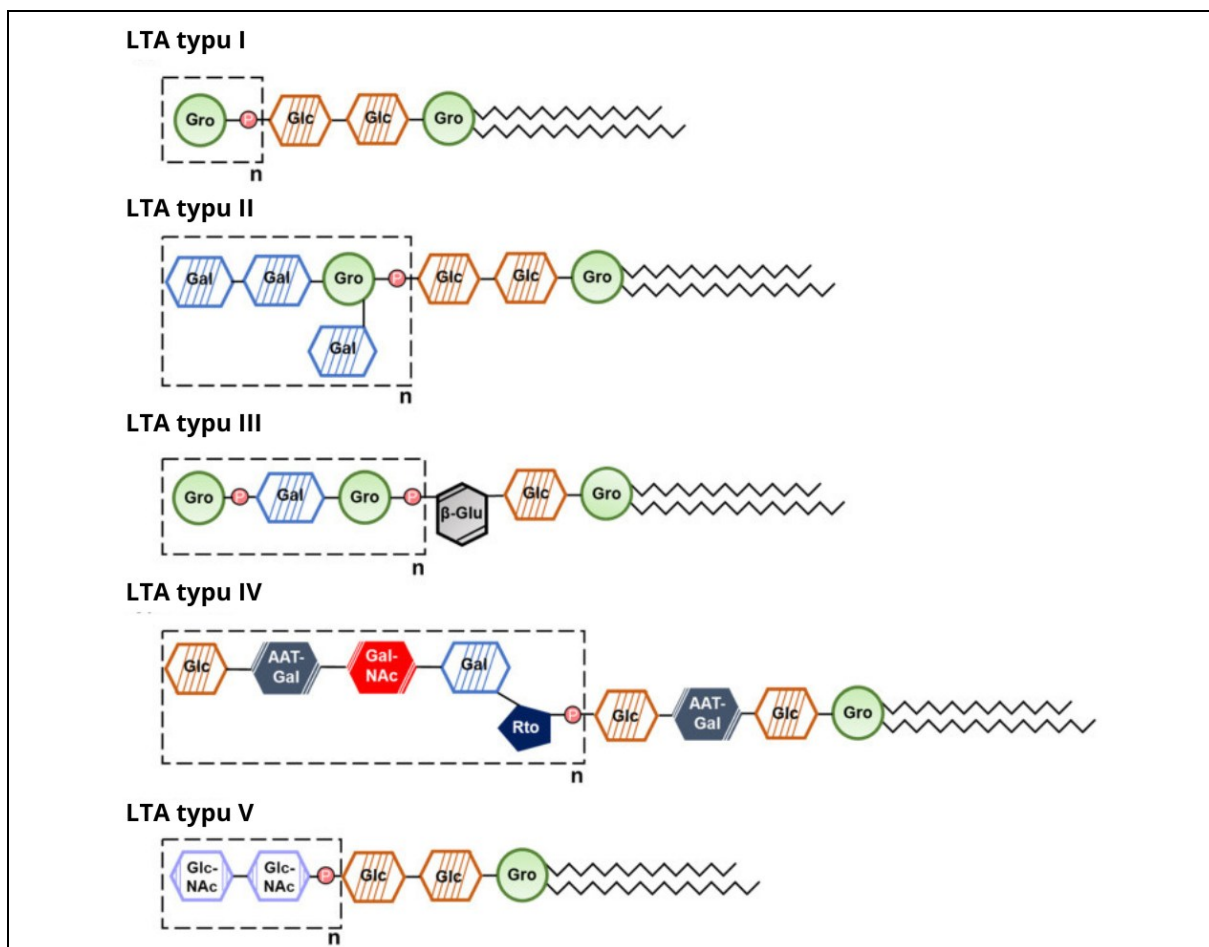
## 2.1.2 Kyselina lipoteichoová

Na rozdíl od svých gramnegativních protějšků neobsahuje stěna grampozitivních bakterií LPS. Místo toho se skládá ze silné vrstvy peptidoglykanu a velkého množství polymerů, jako jsou teichuronové kyseliny a teichoové kyseliny. Teichoové kyseliny jsou amfipatické molekuly polysacharidů. Podobně jako LPS tvoří až 50 % hmotnosti buněčné stěny bakterií (*Szentirmai et al., 2021*). V buněčné stěně jsou přítomny ve dvou formách. První z nich se nazývají stěnové teichoové kyseliny, a jsou kovalentně navázány k peptidoglykanu. Druhým typem teichoových kyselin je membránová teichoová kyselina, která je kovalentně spojena s cytoplazmatickou membránou a nazývá se kyselina lipoteichoová (LTA) (*Auer et Weibel, 2017*).

### 2.1.2.1 Struktura kyseliny lipoteichoové

Molekuly kyseliny lipoteichoové jsou složeny ze dvou komponent. První z nich je glykolipidová kotva, díky níž je LTA připojena k vnitřní membráně všech grampozitivních bakterií. Druhou komponentu tvoří hlavní polymerní řetězec složený z glycerolfosfátu. Podobně jako stěnová teichoová kyselina je i LTA negativně nabitá. Její hlavní polymerní řetězec je navíc rozšířen o estery D-alaninu, což vytváří zwitterionovou vrstvu. Začlenění D-alaninu do kyseliny lipoteichoové je regulováno skrze *dlt* operon složený ze čtyř genů; *dltA*, *dltB*, *dltC*, a *dltD*. Ten poskytuje bakteriální buňce několik adaptivních výhod, mezi které patří zlepšená adheze k povrchu hostitelských buněk, zvýšená invazivita a rezistence vůči kationtovým antimikrobiálním peptidům (*Auer et Weibel, 2017*).

Podle chemické struktury lze kyselinu lipoteichoovou rozdělit do pěti skupin, které jsou zobrazeny na obrázku 3. Nejprozkoumanější typ I, který lze najít například u druhů *Staphylococcus aureus* nebo *Listeria monocytogenes*, má jednoduchou nerozvětvenou polyglycerolfosfátovou kostru. Další druhy bakterií vytvářejí komplexnější polymery, které se rozdělují na typy II–V. Struktura a biosyntéza těchto typů kyseliny lipoteichoové není tak detailně prozkoumána. Po typu I je nejvíce zkoumán typ IV, který se vyskytuje u druhu *Streptococcus pneumoniae* (*Percy et Gründling, 2014*).



Obrázek 3: Struktura kyseliny lipoteichoové. (AAT-Gal – 2-acetamido-4-amino-2,4,6-trideoxy-D-galaktóza, β-Glu – β-Glukan, Gal – galaktóza, Gal-NAc - N-acetylgalaktosamin, Glc – glukóza, Glc-NAc - N-acetylglukosamin, Gro – glycerol, Rto – Ribitol) (upraveno dle: Kwon et al., 2021).

### 2.1.2.2 Funkce kyseliny lipoteichoové

Kyselina lipoteichoová je obecně považována za nezbytnou pro životaschopnost buněk, hraje důležitou roli v konstrukci a umístění peptidoglykanové vrstvy, a také v buněčné integritě (Auer et Weibel, 2017). Sdílí celou řadu svých patogenních vlastností s endotoxinem a také tedy spouští zánětlivé reakce. Z buňky je uvolněna během její přirozené smrti, nebo při bakteriolyze způsobené baktericidními molekulami. Následně pak stimuluje uvolnění reaktivních forem kyslíku a dusíku, kyselých hydroláz, proteáz, baktericidních kationtových antimikrobiálních peptidů, růstových faktorů a prozánětlivých cytokinů produkovaných neutrofily a makrofágy (Szentirmai et al., 2021). Například se jedná o interleukin 1β (IL-1β), IL-6 a TNF-α (de Oliveira et al., 2022).

Všechny tyto prozánětlivé cytokiny mají silné somnogení, pyrogení a anorektické účinky, což z nich činí pravděpodobné kandidáty zprostředkující vliv kyseliny lipoteichoové na spánek, tělesnou teplotu a stravování. Prozánětlivé cytokiny hrají také nejspíše roli

v somnogenních a horečnatých účincích jiných bakteriálních molekul, jako je LPS. Stimulační účinek, jaký má LTA na produkci těchto cytokinů, je ovšem alespoň o tři řády méně účinný, než je tomu u lipopolysacharidu, což je zřejmě vysvětlení pro její slabší pyrogenní účinky (Szentirmai et al., 2021).

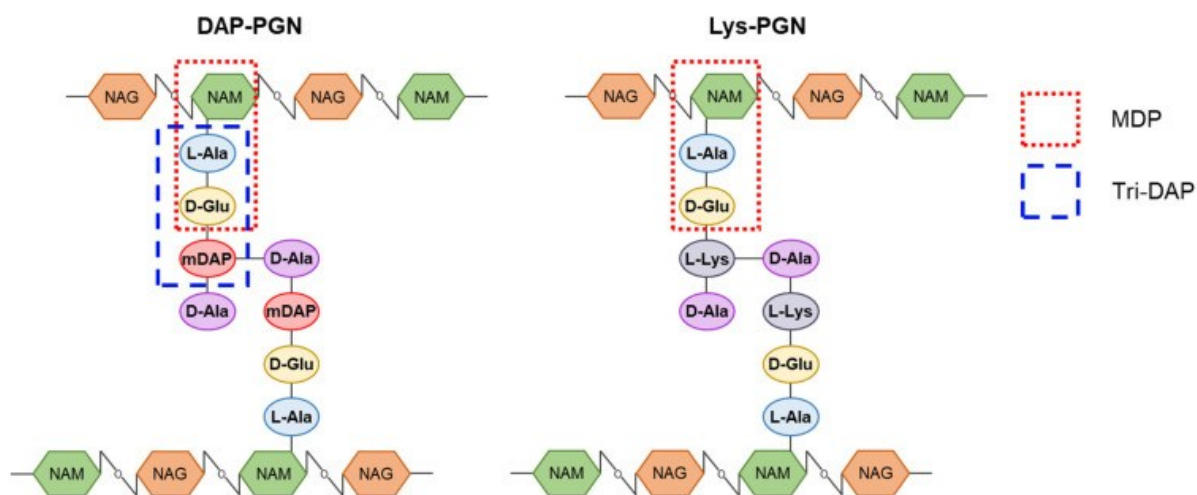
### 2.1.3 Peptidoglykan

Peptidoglykan (PGN) je jedna z hlavních strukturálních součástí buněčné stěny prokaryot. Jedná se o jednu velkou makromolekulu, která vytváří kolem cytoplazmatické membrány buňky strukturu podobnou lešení. Jeho hlavní funkcí je odolávat intracelulárnímu osmotickému tlaku, turgoru, vyvolanému cytosolem. PGN také udává bakteriální buňce její tvar a chrání ji před environmentálními hrozbami (Garde et al., 2021). Je také patrný rozdíl v množství, v němž je PGN přítomen v buněčné stěně grampozitivních a gramnegativních bakterií. Zatímco u grampozitivních bakterií tvoří PGN 50–80 % hmotnosti sušiny buněčné stěny, u gramnegativních bakterií je to pouze 5–20 % (Sun et al., 2022).

#### 2.1.3.1 Struktura peptidoglykanu

Z chemického hlediska je PGN polymer složený z několika lineárních glykanových řetězců, které jsou tvořeny alternujícími se zbytky kyseliny *N*-acetylmuramové a *N*-acetylglukosaminu, navzájem propojenými  $\beta(1\rightarrow4)$  glykosidickými vazbami (Garde et al., 2021; Yang et al., 2017). Vzniklé řetězce jsou pak spojeny pomocí krátkých peptidových sekvencí kovalentně navázaných na zbytek kyseliny *N*-acetylmuramové (Sutton et al., 2021). Tyto krátké peptidy jsou většinou tvořeny 2-5 aminokyselinami. U většiny gramnegativních bakterií, včetně *Escherichia coli*, je pentapeptidový řetězec tvořen L-alaninem,  $\gamma$ -D-glutamátem, meso-diaminopimelovou kyselinou a D-alaninem. Dva takovéto řetězce jsou pak navzájem spojeny přes zbytky D-alaninu a meso-diaminopimelové kyseliny.

Grampozitivní bakterie pak mají místo meso-diaminopimelové kyseliny na třetí pozici L-lysin a navzájem jsou spojeny buď přímo, nebo prostřednictvím dalšího můstkového peptidu o různé délce a složení aminokyselin. Například u druhu *Staphylococcus aureus* je tento můstek tvořen pentaglycinem. U obou typů bakterií tvoří takového síťování základ pletivové struktury charakteristické pro PGN (Garde et al., 2021; Sutton et al., 2021). Strukturně je PGN zobrazen na obrázku 4. Muramyl dipeptid tvoří nejmenší strukturu společnou u gramnegativních i grampozitivních bakterií. Specifický tripeptid L-alaninu, D-alaninu a kyseliny meso-diaminopimelové, označovaný jako Tri-DAP, tvoří strukturu rozpoznávanou *NOD-like 1* receptorem.



Obrázek 4: Struktura peptidoglykanu, (*D-Ala* – *D*-alanin, *D-glu* – *D*-glutamát, *DAP-PGN* – peptidoglykan typický pro *G*- bakterie, *L-Ala* – *L*-alanin, *L-Lys* – *L*-lysin, *Lys-PGN* – peptidoglykan typický pro *G*<sup>+</sup> bakterie, *mDAP* – kyselina meso-diaminopimelová, *MDP* – muramyl dipeptid, *NAM* – kyselina *N*-acetylmuramová, *NAG* – *N*-acetylglukosamin, *Tri-DAP* – tripeptid *L*-alaninu, *D*-alaninu a kyseliny meso-diaminopimelové) (upraveno dle: Kwon et al., 2021).

### 2.1.3.2 Virulence peptidoglykanu

Peptidoglykan je považován za jednu z hlavních složek bakteriální buněčné stěny, která dokáže zesílit imunitní odpověď a indukovat produkci cytokinů v imunitních buňkách hostitele. Eukaryotické buňky samy PGN nemají, ale obsahují specifické receptory, které jej dokážou rozpoznat a vyvolat tak imunitní odpověď. Tyto receptory se obecně nazývají *Pattern recognition receptors* a jsou pojmenované pro svou schopnost rozpoznat evolučně konzervované součásti mikroorganismů obecně nazývané s patogenem asociované molekulární vzorce. PGN je schopen vazby na celou řadu těchto receptorů. Například se může jednat o PGN rozpoznávající protein, *Toll-like* receptory, C-lektinové receptory a *NOD-like* receptory, konkrétně *NOD-like* receptor typu 1 a *NOD-like* receptor typu 2 (Sun et al., 2022).

*NOD-like* receptor typu 1 rozpoznává fragmenty peptidoglykanu s kyselinou meso-diaminopimelovou specifickou pro gramnegativní bakterie. *NOD-like* receptor typu 2 je obecnější senzor, protože dokáže rozpoznat muramyl dipeptid, který je společný i pro grampozitivní bakterie. Poté, co je PGN rozpoznán těmito receptory, spouští aktivaci přirozené imunitní odpovědi, což vede k sekreci prozánětlivých cytokinů, jako je IL-1, IL-6, interleukin 8 a TNF- $\alpha$  (Juan et al., 2018; Sutton et al., 2021).

## 2.2 Endogenní pyrogeny

Endogenní pyrogeny jsou látky produkované buňkami hostitele v reakci na přítomnost exogenních pyrogenů. Z chemického hlediska se jedná převážně o cytokiny. Cytokiny jsou malé proteiny secernované buňkami mající specifický vliv na mezibuněčné interakce a komunikaci. Cytokin je obecný název. Další, specifičtější pojmenování zahrnují například cytokiny s chemotaktickým účinkem (= chemokiny), produkty konkrétních imunitních buněk (= lymfokiny, monokiny), nebo cytokiny sloužící ke komunikaci mezi leukocyty (= interleukiny). Z hlediska vlivu na zánětlivý proces v organismu je lze rozdělit na protizánětlivé a prozánětlivé. Mezi hlavní producenty cytokinů patří pomocné T-lymfocyty a makrofágy, jimiž jsou převážně produkovány prozánětlivé cytokiny (Zhang et An, 2007). V současné době jsou za hlavní pyrogenní cytokiny považovány IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  a interferon  $\gamma$  (Prajitha et al., 2018). Tabulka č.1 zahrnuje výčet některých důležitých, zánět regulujících cytokinů, jejich účinek a buněčný zdroj.

Tabulka 1: Přehled cytokinů (Fajgenbaum et June, 2020).

Cytokin	Buněčný zdroj	Funkce
<b>IL-1</b>	Makrofágy, epiteliální buňky, pyroptózuující buňky	Prozánětlivý, pyrogenní funkce, aktivátor makrofágů a T <sub>h</sub> 17-lymfocytů
<b>IL-6</b>	Makrofágy, endoteliální buňky, T-lymfocyty	Prozánětlivý, pyrogenní funkce, zvyšuje produkci protilátek, podpora tvorby reaktantů akutní fáze
<b>TNF – <math>\alpha</math></b>	Makrofágy, mastocyty, T-lymfocyty, přirození zabíječi	Prozánětlivý, pyrogenní funkce, zvyšuje cévní propustnost
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	T <sub>h</sub> 1-lymfocyty, přirození zabíječi	Prozánětlivý. Aktivace makrofágů
<b>IL-10</b>	Regulační T-lymfocyty, T <sub>h</sub> 9-lymfocyty	Protizánětlivý, inhibice T <sub>h</sub> -lymfocytů a produkce cytokinů
<b>IL-18</b>	Monocyty, makrofágy, dendritické buňky	Prozánětlivý
<b>IL-33</b>	Makrofágy, dendritické buňky, mastocyty a epiteliální buňky	Prozánětlivý, aktivace přirozených zabíječů a mastocytů

Cytokiny hrají klíčovou roli v koordinaci imunitních buněk a poskytují regulační signály, které řídí a zesilují imunitní odpověď. Mají krátký biologický poločas, což jim zabraňuje v působení mimo lymfatické tkáň a oblasti zánětu. Ačkoliv je obvykle považována za patologickou, je nadměrná produkce cytokinů vedoucí k zvýšeným hladinám v oběhu nutná pro regulaci některých diseminovaných infekcí. Zároveň však mohou zvýšené hladiny

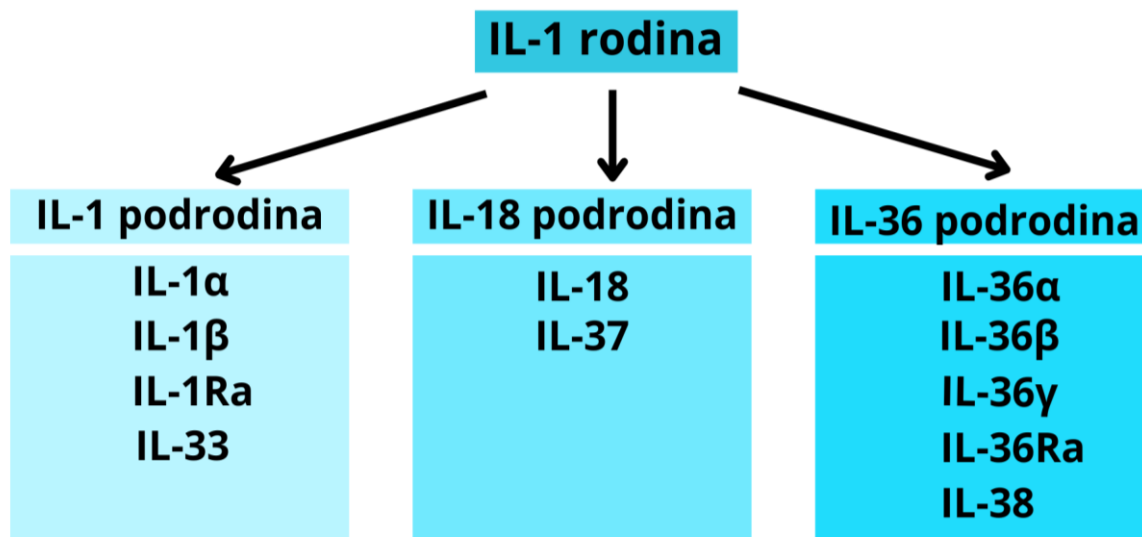
cytokinů vyvolat sekundární poškození některých životně důležitých orgánových systémů (Fajgenbaum et June, 2020).

Cytokiny působí autokrinně, parakrinně, a v některých případech i endokrinně, vedle toho synergně či antagonisticky. Je běžné, že různé typy buněk secernují tentýž cytokin. Naopak také jeden cytokin může působit na různé druhy buněk. Jsou často produkovány v kaskádách, kdy jeden cytokin stimuluje cílovou buňku k tvorbě dalších (Zhang et An, 2007). Přestože v současné době ještě neexistuje jednotná nomenklatura cytokinů, je stále častější jejich seskupování na základě strukturální podobnosti do takzvaných rodin (Stříž, 2019). Z řady interleukinů byla první objevena rodina interleukinu 1 (Boraschi, 2022).

### **2.2.1 Rodina interleukinu 1**

Rodina interleukinu 1 zahrnuje jedenáct interleukinů a deset transmembránových receptorů (Dinarello, 2018). Z chemického hlediska se jedná o malé proteiny o velikosti 17-18 kDa a o struktuře beta barelu (Boraschi, 2022). Více než kterákoliv jiná rodina cytokinů se rodina interleukinu 1 podílí na regulaci zánětlivé reakce organismu. Její členové jsou považováni za faktory nespecifické imunity, neboť umocňují rozpoznání antigenu a podporují aktivaci lymfocytů (Boraschi, 2022; Dinarello, 2018). Zároveň však stojí za zmínku, že jsou spojeni s mnoha patologickými stavy v různých částech těla, včetně centrálního nervového systému, kde může IL-1 ve zvýšených hladinách negativně ovlivnit vnímavost pacienta k léčbě a míru poškození mozku po centrální mozkové příhodě (Murray et al., 2015).

Podle konsenzuální sekvence a primárního ligand vázacího receptoru jsou nadále rozděleny do tří podrodin, jejichž členové jsou zobrazeni na obrázku 5. Zástupci těchto podrodin působí jako agonisté, nebo receptoroví antagonisté. Zároveň mohou působit jak prozánětlivě, tak protizánětlivě (Dinarello, 2018; Mantovani et al., 2019). Ukázkovým a vůbec prvním objeveným zástupcem rodiny interleukinů je IL-1.



Obrázek 5: Rozdělení cytokinů rodiny interleukinu 1 do podrodin, (IL-1 – interleukin 1, IL-1Ra – receptorový antagonist interleukinu 1; IL-36Ra – receptorový antagonist interleukinu 36) (vytvořeno dle: Mantovani et al., 2019).

### 2.2.1.1 Interleukin 1

Existují dvě možné formy, v nichž se IL-1 vyskytuje, a to ligandy interleukin 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) a IL-1 $\beta$ , které vykazují vysokou míru sekvenční homologie, přestože jde o produkty rozdílných genů (Murray et al., 2015). Zároveň se váží ke stejnému receptoru a mají podobné biologické vlastnosti. Ovšem určité rozdíly v jejich vlastnostech existují (Dinarello et al., 2013). Prekurzor IL-1 $\alpha$  je přítomen v epiteliálních a mezenchymálních buňkách zdravých jedinců (Dinarello et al., 2011). Během buněčné smrti vyvolané nekrozou je tento IL-1 $\alpha$  prekurzor uvolněn z buňky do extracelulárního prostoru, kde v plně aktivní formě působí jako alarmin a stimuluje produkci chemokinů, což vede k infiltraci tkáně nejprve neutrofily a následně i monocytů (Dinarello, 2018; Rider et al., 2011).

Oproti tomu IL-1 $\beta$  je produkován primárně monocytů a tkáňovými makrofágy, dále pak kožními dendritickými buňkami a mozgovými mikroglie v reakci na aktivované složky komplementu a jiné cytokiny, TNF- $\alpha$ , a samotný IL-1 (Dinarello, 2011). IL-1 $\beta$  prekurzor také není na rozdíl od prekurzoru pro IL-1 $\alpha$  aktivní, ale je štěpen kaspázou 1 buď ve specializovaných lysozomech, nebo v cytoplasmě. V některých případech může být štěpen i nezávisle na kaspáze 1, a to neutrofilní proteázou či proteinázou 3 (Dinarello, 2018).

Se schopností vyvolat horečku již v množství 10 ng/kg je IL-1 $\beta$  považován za nejvíce potentní endogenní pyrogen. K indukci febrilní odpovědi o stejné intenzitě je potřeba TNF- $\alpha$  v až padesátkrát vyšší koncentraci a IL-6 o až tisícinásobném množství (Dinarello, 2015). Vzniklá febrilní odpověď organismu přispívá k tvorbě nepříznivého prostředí, a tím tak

usnadňuje funkci lymfocytů. IL-1 $\beta$  také podporuje proliferaci B-lymfocytů a T-lymfocytů, stimuluje neutrofilii a produkci proteinů akutní fáze. Indukuje produkci proteolytických enzymů a prostaglandinů fibroblasty, chondrocyty a dalšími buňkami. Stimuluje produkci dalších prozánětlivých cytokinů, chemokinů a reaktivních forem kyslíku a dusíku. Patří také mezi potentní adjuvans zesilující imunitní reakci mezi antigenem a protilátkou (Boraschi, 2022). V současné době se také diskutuje o jeho možných tumorigenních vlastnostech a vlivu na malignity gastrointestinálního traktu (Khawkhaw et al., 2024).

### 2.2.2 Interleukin 6

Tento interleukin byl původně identifikován jako rozpustný protein produkováný T-lymfocyty, který se podílí na diferenciaci B-lymfocytů v plazmatické buňky produkující protilátky (Asaoku et al., 1988, Kang et al., 2020). Později se ukázalo, že se jedná o pleiotropní molekulu, která se také podílí na udržení homeostázy. Při jejím porušení, ať už vlivem infekce, či mechanickým poškozením tkání, se podílí na regulaci fyziologických, hematologických a imunologických odpovědí, k nimž dochází při reakci akutní fáze (Prohl et al., 2017; Tanaka et al., 2018). Působením na hepatocyty indukuje syntézu široké škály proteinů akutní fáze, jako je C3 složka komplementu, C-reaktivní protein, sérový amyloid A, fibrinogen, trombopoetin, haptoglobin nebo  $\alpha_1$ -antichymotrypsin. Během hematopoézy také podporuje diferenciaci hematopoetické kmenové buňky a maturaci megakaryocytů, což vede k produkci trombocytů (Tanaka et al., 2018). Role, kterou IL-6 zastává v regulaci zánětlivé reakce organismu a objev jeho receptorů vedly k výzkumu a vývoji látek vedoucích k jejich inhibici. Blokadou IL-6 receptoru pomocí lidské anti-IL-6R protilátky dochází k inhibici signalizační kaskády tohoto cytokinu, což se používá jako terapie chronických a akutních zánětlivých onemocnění (Kang et al., 2019; Kang et al., 2020).

Mezi důležité součásti reakce akutní fáze patří také horečka. Došlo tedy k rozsáhlým výzkumům zaměřujícím se na IL-6 a jeho roli endogenního pyrogenu. Existují jak argumenty podporující jeho klíčovou úlohu ve febrilní odpovědi organismu, tak i argumenty tuto nepostradatelnost vyvracející. Mnoho studií zaměřujících se na simulaci reálné infekce nenalezlo žádnou korelaci mezi manifestací febrilních epizod a IL-6 cirkulujícím v periferní krvi (Prohl et al., 2017). Studie z roku 2010 zabývající se febrilní odpovědí a aktivací hypothalamo-hypofýzo-nadledvinové osy po intravenózní injekci cytokinů ovčím ukázala, že rekombinantní lidský IL-6 není v množství 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  pro ovce pyrogenní a není tedy v takové dávce schopen vyvolat febrilní odpověď organismu. Zároveň se však ukázalo, že je důležitým

aferentním signálem hypothalamo-hypofýzo-nadledvinové osy u ovcí během systémového zánětu (*Karrow et al., 2010*).

Další studie ovšem odkazují na fakt, že myši s globální delecí genu pro IL-6 a myši s delecí receptoru pro IL-6 na mozkových endoteliálních buňkách vykazují oslabenou febrilní odpověď po systémových infekcích vyvolaných endotoxinem. To by spíše naznačovalo, že IL-6 hraje klíčovou roli v indukci a mediaci horečky (*Eskilsson et al., 2014; Kozak et al., 1998*). Ačkoliv má tedy IL-6 sám o sobě slabé pyrogenní účinky, zastává přesto důležitou roli v mediaci horečky.

### **2.2.3 Tumor nekrotizující faktor $\alpha$**

Další cytokin, který hraje důležitou roli v regulaci zánětlivé, imunitní a febrilní odpovědi organismu je TNF- $\alpha$ , taktéž známý jako kachektin (*Dinarello, 2015; Chu et al., 2022*). Byl objeven roku 1975 jako faktor schopný destrukce buněk myšního fibrosarkomu L-929, a tudíž byl pojmenován tumor nekrotizující faktor (*Carswell et al., 1975; You et al., 2021*). Kromě prozánětlivých funkcí se také podílí na zachování homeostázy, je nezbytný pro optimální obranu proti patogenům, správnou architekturu lymfatických orgánů a tvorbu zárodečných center, rozvoj granulomů a indukci reparace tkáně, jako je neuronální remyelinizace, srdeční remodelace a regenerace chrupavky (*Kalliolias et Ivashkiv, 2016*). Podílí se také na organogenezi několika orgánů a orgánových systémů (*Lan et al., 2012; You et al., 2021*). Mimo jiné je zapojen do regulace proliferace, apoptózy a diferenciaci progenitorových buněk. Podporuje diferenciaci neuroblastů na astrocyty v mozkové kůře plodu a podílí se na růstu střevních kmenových buněk (*Schreurs et al., 2019; You et al., 2021*). Myší embrya s modifikací genu pro TNF- $\alpha$  jsou po expozici cyklofosfamidu náchylnější k rozvoji deformací končetin, což ukazuje, že se TNF- $\alpha$  podílí na ochraně embryí proti teratogenům (*Torchinsky et al., 2003; You et al., 2021*).

V plazmě je TNF- $\alpha$  obvykle přítomen v minimálních koncentracích, ovšem buňky imunitního systému, převážně monocyty, jej secernují po stimulaci (*Acar et al., 2018*). Zatímco nízké koncentrace mají tendenci podporovat buněčnou proliferaci, vysoké koncentrace mají naopak tendenci inhibovat buněčnou proliferaci, či dokonce indukovat apoptózu (*Schreurs et al., 2019; You et al., 2021*). Nekontrolovaná produkce nebo funkce tohoto cytokinu byla dána do spojitosti se vznikem horečky, destrukcí tkáně a chronickými zánětlivými onemocněními, jako je například revmatoidní artritida, idiopatické střevní záněty, psoriáza nebo některé typy juvenilní idiopatické artritidy (*Dirisala et al., 2015; Kalliolias et*

*Ivashkiv, 2016*). Napomáhá i aktivaci reakce akutní fáze v játrech (*Wallach, 2018*). Také se ukázalo, že TNF- $\alpha$  hraje důležitou roli jak v zánětlivé, tak v neuropatické hyperalgezií (*Kallioliás et Ivashkiv, 2016*).

Syntetizován je ve formě prekurzoru o velikosti 26 kDa, který je exprimován jako transmembránový protein. Po zpracování tohoto prekurzoru pomocí TNF- $\alpha$  konvertujícího enzymu, jinak také nazývaného ADAM17, je uvolněna jeho rozpustná, aktivní forma, což je protein o velikosti 17 kDa (*Horiuchi et al., 2010*). Aktivní TNF- $\alpha$  se váže na své receptory TNF receptor 1 a TNF receptor 2 a skrze ně spouští kaskádu signálních molekul, které aktivací celé řady transkripčních faktorů vedou až ke genové expresi (*Chu et al., 2022, Prajitha et al., 2018*). Studie, při níž byl lidský rekombinantní TNF- $\alpha$  intravenózně aplikován králíkům navíc odhalila, že jeho pyrogenní potenciál koreluje se zvýšenou produkcí prostaglandinu E2. Zároveň také iniciuje zánětlivou odpověď prostřednictvím mediace exprese enzymu cyklooxygenáza 2 (COX-2) a prostaglandinu I2 ve vaskulárních endoteliálních buňkách (*Prajitha et al., 2018*).

#### **2.2.4 Interferon $\gamma$**

Interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) je pleiotropní cytokin z rodiny interferonů. Existuje více typů interferonů. Interferon  $\alpha$  a  $\beta$  tvoří typ I, IFN- $\gamma$  pak typ II (*Prajitha et al., 2018*). IFN- $\gamma$  je produkován buď po stimulaci cytokiny, nebo aktivací *Pattern recognition* receptorů, popřípadě antigenních receptorů během mikrobiální infekce, či poškození tkáně (*Ivashkiv, 2018*).

Receptor pro IFN- $\gamma$  je přítomen na téměř všech typech buněk s výjimkou zralých erytrocytů. Skládá se ze dvou podjednotek, kterými jsou IFNGR1 a IFNG2. Navázáním interferonu na jeho receptor dochází k aktivaci kaskády závislé na proteinech Janusovy kinázy a proteinu rodiny STAT transkripčních faktorů. Tato kaskáda se nazývá JAK/STAT signalizace a vede k aktivaci buněk imunitního systému (*Alspach et al., 2019*).

Primární producenti, kteří IFN- $\gamma$  syntetizují, jsou buňky imunitního systému včetně přirozených zabíječů, přirozených lymfoidních buněk a buněk adaptivní imunity, jako jsou pomocné T-lymfocyty a CD8<sup>+</sup> cytotoxické T-lymfocyty. Hlavní fyziologický cíl pro IFN- $\gamma$  jsou makrofágy (*Ivashkiv, 2018*). IFN- $\gamma$  hraje klíčovou roli v rozpoznání a eliminaci patogenů. Jakožto hlavní efektor buněčné imunity koordinuje řadu antimikrobiálních funkcí. Může amplifikovat prezentaci antigenu antigen prezentujícími buňkami, zvýšit produkci reaktivních forem kyslíku a dusíku. Také rakovinné buňky jsou jím ničeny skrz vyvolání

antiproliferačního stavu. Jeho přítomnost je nezbytná v boji s mykobakteriálními infekcemi kvůli jeho schopnosti regulovat řadu protektivních funkcí a udržet aktivitu jak CD4<sup>+</sup> tak CD8<sup>+</sup> buněk. Nadměrná aktivita zase způsobuje poškození tkáně, nekrózu a zánět a může přispívat k patologii onemocnění. Nenormální produkce byla také dána do souvislosti s autoimunitou a změnami ve střevní mikroflóře (*Kak et al., 2018*).

IFN- $\gamma$  patří také mezi pyrogenní cytokiny. Intravenózní a intracerebroventrikulární injekce rekombinantního lidského interferonu  $\gamma$  vyvolaly horečku u králíků s píkem mezi 80. a 110. minutou po podání. Zároveň se u subjektů studie prokázala jistá tolerance při jeho opakovaném podání během tří po sobě následujících dní (*Morimoto et al., 1987*). Intravenózní podávání lidským subjektům vyvolává horečku 3–4 hodiny po injekci. Ovšem pyrogenní účinek tohoto cytokinu se zdá být spíš způsoben jeho vlivem na IL-1 $\beta$  a TNF- $\alpha$  a podporu jejich produkce (*Romero et al., 2016*).

### 3 HOREČKA

U teplokrevných živočichů, včetně savců, je tělesná teplota regulována pomocí rovnováhy mezi tepelnými ztrátami a tepelnou produkcí, a snaží se udržet na žádané hodnotě, která je u savců obvykle nastavena na 37 °C. Horečka, nebo také pyrexie, je pak vysvětlena jako zvýšení nastavené žádané hodnoty, což následně vede k aktivaci mechanismů zvyšujících produkci tepla a snižujících tepelné ztráty (Cabanac, 2006). Evolučně jde o složitý mechanismus, který byl formován stovkami milionů let přirozeného výběru. Horečnaté stavy jsou tak blízce spojené se zánětlivými odpověďmi organismu, že již kolem roku 30 před naším letopočtem popsal antický lékař Celsus zahřátí, jako jeden ze čtyř hlavních znaků zánětu, spolu s bolestí, zarudnutím a zduřením (Evans et al., 2015). Z fyziologického hlediska můžeme pak horečku chápat jako: „Stav zvýšené teploty jádra, který může, ale nemusí být součástí obranné reakce makroorganismu na invazi mikroorganismy, popřípadě neživou hmotou, která je hostitelem rozpoznána jako patogenní nebo cizorodá.“ (IUPS Thermal Commission, 2001).

Kde přesně ovšem leží hranice mezi fyziologickou teplotou, subfebrilními a febrilními teplotami není zcela jednoznačně definováno (Grünebaum et al., 2020; Walter et al., 2016). Jak ukazuje studie Grünebauma a dalších z roku 2020, která se zabývala definicí horečky v publikacích zabývajících se onemocněním COVID-19, většina publikací přesnou teplotní definici horečky vůbec nezmiňuje. Pouze 19 % studií konkrétně definovalo hranici mezi fyziologickou teplotou a horečkou s hraničními hodnotami pohybujícími se v rozmezí 37 °C a 38,5 °C (Grünebaum et al., 2020).

Jednu z vůbec prvních teplotních definic horečky navrhl Carl Reinhold Wunderlich v první polovině 19. století. Dle výsledků měření definoval mírnou horečku jako teplotu v rozmezí 38 °C–38,4 °C, středně silnou horečku mezi 38,5 °C–39 °C a vysokou horečku s hodnotami 39,5 °C–40,5 °C, s nižšími hodnotami naměřenými ráno oproti večeru (Mackowiak et al., 2021). Dle současné literatury může být za horečku chápána buď teplota jádra > 38,0 °C, nebo dvě po sobě jdoucí zvýšení > 38,3 °C. U pacientů s neutropenií je pak horečka definována jako jednorázová orální teplota > 38,3 °C bez zjevné vnější příčiny, nebo zvýšení teploty > 38,0 °C po dobu delší než jedna hodina (O'Grady et al., 2008). Podobně *The Merck Manual* definuje horečku jako zvýšenou teplotu lidského těla, a to nad hranici 37,8 °C u orálního měření, nebo nad 38,2 °C u rektálního měření, popřípadě nad hodnotu,

kteřá je u daného jedince považována za normu. Hyperpyrexie je pak definována jako zvýšení tělesné teploty nad 41,5 °C (Mackowiak et al., 2021; Suwanwongse et Shabarek, 2020).

### 3.1 Patofyziologie horečky

Horečka vzniká spoluprací několika autonomních odpovědí, jako je periferní vazokonstrikce, snížené pocení, snížená ztráta tepla, zimnice a zřejmě také chemická termogeneze (Blomqvist et Engblom, 2018). Je součástí imunitní odpovědi zvané reakce akutní fáze a patří k jejím nejvíce prominentním, mozem regulovaným součástem (Prohl et al., 2017). Zároveň je považována za tělu prospěšnou, neboť podporuje aktivitu buněk imunitního systému, narušuje dělení patogenů a zvyšuje jejich náchylnost k lýze vyvolané sérem (Evans et al., 2015). Přesný molekulární mechanismus vzniku horečky u teplotkových živočichů není, navzdory četným pokusům o jeho popis, stále plně objasněn. V současné době se předpokládá, že horečka vzniká po kontaktu mezi cirkulujícími exogenními pyrogeny a Toll-like receptory umístěnými na hostitelských buňkách (Wrotek et al., 2020a).

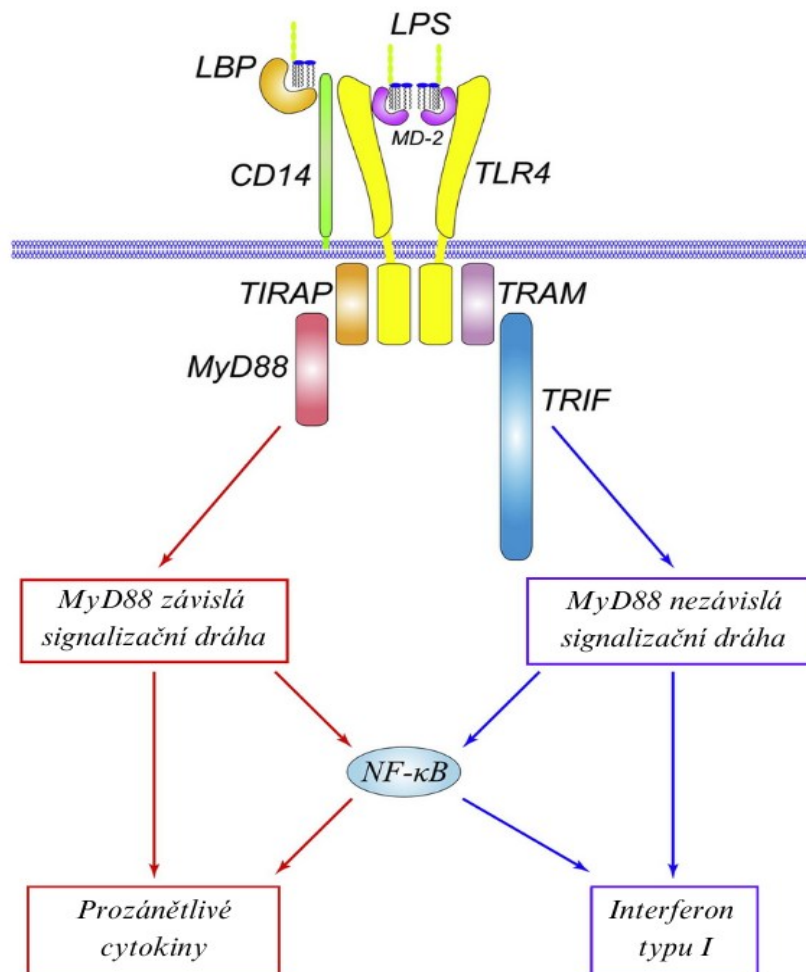
#### 3.1.1 Vazba lipopolysacharidu na Toll-like receptor

Rodina savčích Toll-like receptorů je složena ze třinácti členů, z nichž je Toll-like receptor 4 tím nejvíce prostudovaným. Toll-like receptory patří mezi zástupce Pattern recognition receptorů. Rozpoznání těchto vzorců Toll-like receptory vede k vyvolání rychlé zánětlivé reakce nezbytné pro mobilizaci nespecifické imunity (Ciesielska et al., 2021).

Ještě před samotnou vazbou na Toll-like receptor 4 je LPS přeměněn řadou reakcí na monomery, které se koncentrují na buněčném povrchu v blízkosti daného receptoru (Ciesielska et al., 2021). LPS vázající protein se váže k agregátům lipopolysacharidu a separuje z nich monomery, které následně transportuje k receptoru diferenační antigen 14 (CD14) (Xiao et al., 2017). CD14 je protein ukotvený k membráně buněk skrze glykofosfatidylinositolovou kotvu. Je exprimován převážně na buňkách myeloidní řady, ale v menší míře byl detekován i na buňkách nemyeloidního původu (Ciesielska et al., 2021; Kelley et al., 2013). Jeho hlavní úloha spočívá v transportu lipidu A na komplex Toll-like receptor 4 - myeloidní diferenační faktor 2 (TLR4-MD2), zároveň se však podílí také na internalizaci Toll-like receptoru do endozomu, kde následně dochází k aktivaci kaskády vedoucí až k expresi interferonů typu I, primárně interferonu  $\alpha$  a  $\beta$  (Vasudevan et al., 2022; Zanoni et al., 2011).

Transportovaná molekula lipidu A se následně váže na extracelulární část TLR4-MD2 komplexu. Podle typu lipidu A se pět, nebo šest acylových řetězců váže na hydrofóbní kapsu

MD2 komponenty, zatímco ten poslední interaguje s dalším TLR4-MD2 komplexem za tvorby dimeru (Ciesielska et al., 2021; Han et al., 2019; Xiao et al., 2017). Po aktivaci lipidem A rekrutuje dimer TLR4-MD2 adaptorové proteiny pro svou funkční signalizaci. Toll-like receptor 4 je unikátní v tom, že signalizuje skrze dvě odlišné cesty. První z nich je závislá na MyD88 a druhá na TRIF proteinu. K časně reakci během prvních šesti hodin dochází na buněčném povrchu. Aktivovaný komplex TLR4-MD2 zapojuje do funkce MyD88 a adaptorový protein obsahující doménu TIR, což aktivuje transkripční faktory, včetně nukleárního faktoru kappa B (NF- $\kappa$ B) a aktivátorového proteinu 1. To vede k rychlé produkci potentních zánětlivých cytokinů, mezi které patří IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  (Xiao et al., 2017). Schématicky je tato signalizační dráha naznačena na obrázku 6.



Obrázek 6: signalizace pomocí Toll-like receptoru 4. (CD14 – diferenciační antigen 14, LBP – lipoprotein vázající protein, LPS – lipopolysacharid, MD-2 – myeloidní diferenciační faktor 2, MyD88 – Primární odpověď myeloidní diferenciace 88, NF- $\kappa$ B – nukleární faktor kappa B, TIRAP – Adaptorový protein obsahující doménu TIR, TLR4 – Toll-like receptor 4, TRAM – Adaptorová molekula asociovaná s TRIF, TRIF – Interferon- $\beta$  indukující adaptor obsahující doménu TIR) (upraveno dle: Lu et al., 2008).

### 3.1.2 Vazba kyseliny lipoteichoové a peptidoglykanu na receptor

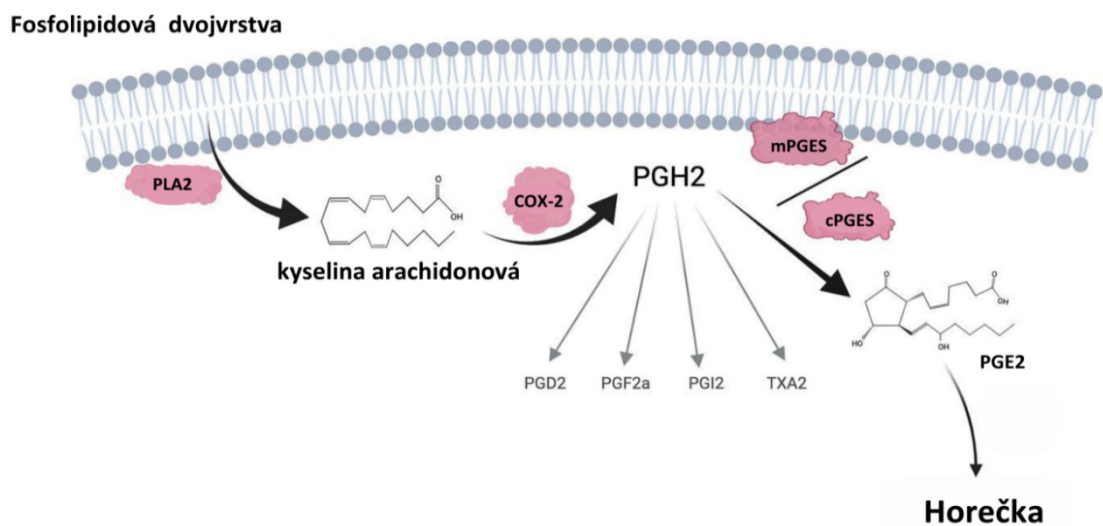
Podobně se také LTA a PGN váží na *Toll-like* receptory. V jejich případě se ovšem hlavně jedná o *Toll-like* receptor 2, který je primárně exprimován na povrchu neutrofilů, monocytů a makrofágů (Szentirmai et al., 2021). Po stimulaci ligandem zahajují *Toll-like* receptor 2 heterodimery signalizační kaskádu a skrze *MyD88* komplex aktivují transkripční faktor  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ , který vyvolává transkripci genů pro indukovatelnou syntázu oxidu dusného, a také pro sekreci prozánětlivých cytokinů (Mohan et al., 2021; Oliveira-Nascimento et al., 2012). Zároveň také dochází k aktivaci tyrosinkinázy a serin/threonin specifických proteinkináz, které skrze aktivační protein 1 ovlivňují jak transkripci zánětlivých genů, tak stabilitu vzniklé mRNA (Oliveira-Nascimento et al., 2012). LTA se také váže na komplementový receptor imunoglobulinové nadrodiny exprimovaný Kupfferovými buňkami. Tato vazba je klíčová pro zachycení cirkulujících grampozitivních bakterií játry, čímž dochází k prevenci systémové bakteriální diseminace (Szentirmai et al., 2021; Zeng et al., 2016).

### 3.1.3 Syntéza prostaglandinu E2

Produkované prozánětlivé cytokiny buď přitahují na místo zánětu buňky imunitního systému, nebo se podílejí na aktivaci dalších kaskád a reakcí nezbytných pro uvolnění mediátorů zánětu a vyvolání horečky (Saper et al., 2013). K nim patří například uvolnění kyseliny arachidonové z membránových fosfolipidů pomocí fosfolipázy A2, nebo syntéza enzymu COX-2 skrze převodník signálu a aktivátor transkripce 3, či transformujícím růstovým faktorem  $\beta$  aktivovanou kinázu 1 (Eskilsson et al., 2021; Wrotek et al., 2020a). Zároveň však k uvolnění kyseliny arachidonové dochází i samotnou aktivací *Toll-like* receptoru. Pomocí fosfolipázy C dochází totiž k hydrolyze fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu na diacylglycerol a inositoltrifosfát. Diacylglycerollipáza následně hydrolyzuje vzniklý diacylglycerol přítomný na membráně buňky, což vede k uvolnění kyseliny arachidonové. Inositoltrifosfát se podílí na uvolnění vápenatých iontů z endoplazmatického retikula buňky do cytoplazmy, což následně vede k aktivaci fosfolipázy A2 a k uvolnění kyseliny arachidonové z membránových fosfolipidů (Wrotek et al., 2020a). Nově syntetizovaná COX-2 následně metabolizuje uvolněnou kyselinu arachidonovou.

COX-2, nebo také prostaglandin H syntáza, je myeloperoxidáza lokalizovaná na apikální straně membrány endoplazmatického retikula a na jaderné membráně. Katalyzuje přeměnu uvolněné kyseliny arachidonové na prostaglandin H2 pomocí dvojice navazujících reakcí. V první reakci katalyzuje cyklooxygenázovou aktivitou přeměnu kyseliny

arachidonové na prostaglandin G2 a v navazující reakci je vzniklý prostaglandin G2 přeměněn peroxidázovou aktivitou na prostaglandin H2. Následně pak působením dalšího enzymu, a to syntázy prostaglandinu E2, která může být buď mikrosomální, nebo cytosolová, vzniká prostaglandin E2 (PGE2), tj. konečný a klíčový mediátor febrilní odpovědi organismu (Mota et Madden, 2022; Pakai et al., 2018; Sobolewski et al., 2010). Obrázek 7 zachycuje zjednodušené schéma přeměny kyseliny arachidonové na PGE2. Proces syntézy tohoto mediátoru může probíhat jak na periférii, a to především v raných stádiích horečky tkáňovými makrofágy v plicích a v játrech (Mota et Madden, 2022; Pakai et al., 2018), tak i samotnými endoteliálními buňkami mozku, jejichž aktivita převažuje v pozdějších stádiích horečky (Mota et Madden, 2022).



Obrázek 7: Přeměna kyseliny arachidonové na PGE2, (COX-2 – cyklooxygenáza 2, mPGES/cPGES – mikrosomální/cytosolová prostaglandin E2 syntáza, PGH2 – prostaglandin H2, PGE2 – prostaglandin E2, PLA2 – fosfolipáza A2) (upraveno dle: Santiso et al., 2024).

### 3.1.4 Přenos pyrogenního signálu do centra termoregulace

Přenos periferně vzniklého pyrogenního signálu, či samotných pyrogenních cytokinů skrz hematoencefalickou bariéru do centra termoregulace byl předmětem mnoha studií a existuje několik hypotéz, jak k němu dochází.

#### 3.1.4.1 Přenos skrze cirkumventrikulární orgány

Cirkumventrikulární orgány patří k vysoce vaskularizovaným a fenestrovaným strukturám mozku, které nemají hematoencefalickou bariéru. Jedná se o místa, kde mohou periferně cirkulující faktory proniknout do mozku a ovlivnit tak jeho neuronální aktivitu. Mezi sensorické cirkumventrikulární orgány patří například *organum subfornicale*, *area postrema*, a *organum vasculosum laminae terminalis* (OVLT) (Prager-Khoutorsky et Bourque, 2015), které je zkoumanou strukturou v souvislosti s průnikem pyrogenních signálů, zejména kvůli své poloze a blízkosti termoregulačním neuronům v přední oblasti hypothalamu (Osterhout et al., 2022). OVLT je heterogenní jádro, které obsahuje různé typy neuronů a endoteliálních buněk lišících se ve své struktuře. Jednotlivé podtypy těchto buněk mohou podle funkce exprimovat sodíkové kanály, leptinové receptory, prolaktin, nebo také receptory pro angiotenzin II (Prager-Khoutorsky et Bourque, 2015). Zároveň také sensorické cirkumventrikulární orgány exprimují *Toll-like* receptory, receptory pro pyrogenní cytokiny a mikrosomální PGE syntázu-1, což naznačuje, že je zde PGE2 lokálně syntetizován (Blomqvist et Engblom, 2018).

Cirkulující, s patogenem asociované molekulární vzorce se naváží na *Toll-like* receptory na makrofágům podobných buňkách v cirkumventrikulárních orgánech a pomocí výše zmíněného mechanismu produkují endogenní pyrogenní signály, které mohou díky absenci hematoencefalické bariéry vstupovat do mozku difuzí (Dantzer et al., 2008; Zhang et al., 2024). Zároveň však i makrofágy uvolněné cirkulující endogenní pyrogeny a PGE2 přenáší signál do OVLT, kde dochází po jejich vazbě na endoteliální buňky k amplifikaci signálu a dalšímu uvolňování pyrogenních cytokinů a mediátorů (Prajitha et al., 2018).

#### 3.1.4.2 Vazba na receptory v hematoencefalické bariéře

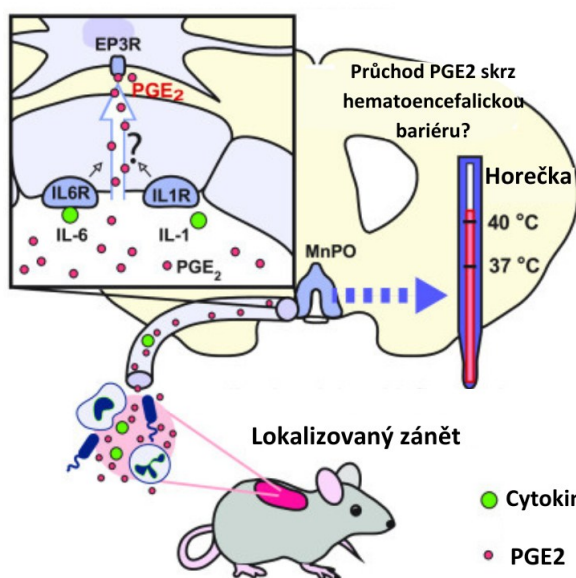
Předmětem výzkumu v souvislosti s mechanismem transportu pyrogenního signálu do mozku se staly i endoteliální buňky hematoencefalické bariéry. Studie myši s delecemi genů pro receptory pyrogenních cytokinů, jmenovitě IL-1 $\beta$  a IL-6 na endoteliálních buňkách ukázaly, že při jejich absenci dochází k utlumení febrilní odpovědi jak v modelu lokální, tak v modelu systémové zánětlivé odpovědi (Eskilsson et al., 2021). Ovšem role, kterou zastává

IL - 1 při signalizaci po stimulaci lipopolysacharidem, není tak jasná. Nedávná studie ukázala, že globální delece receptoru pro IL-1 a léčba receptorovým antagonistou tohoto interleukinu plně nepotlačila, ale pouze utlumila febrilní odpověď na intraperitoneální injekci lipopolysacharidu (*Matsuwaki et al., 2017*).

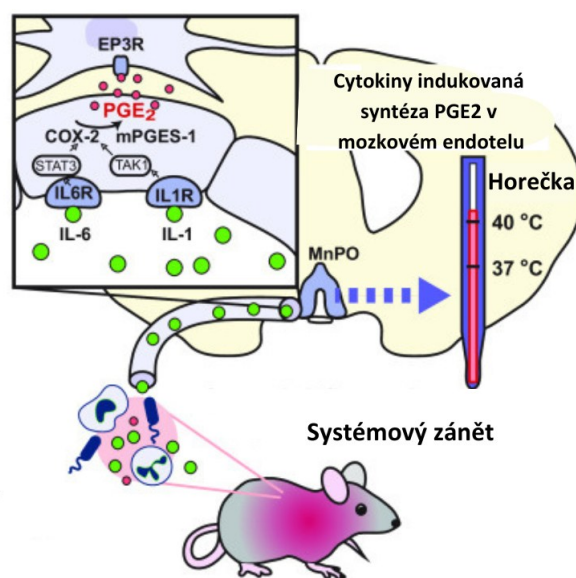
Oproti tomu se ukázalo, že IL-6, který je secernován v reakci na podněty typu IL-1, hraje kritickou roli ve febrilní odpovědi po stimulaci lipopolysacharidem. U zvířat s delecí genu pro IL-6 a zvířat, kterým byly podány neutralizační protilátky, nedošlo po stimulaci k vyvolání horečky, a to i přesto, že IL-6 samotný je pouze slabě pyrogenní (*Eskilsson et al., 2014; Rummel et al., 2008*). Zřejmě tedy uplatňuje svůj pyrogenní účinek primárně vazbou na IL-6 receptory mozkových endoteliálních buněk, což v rámci systémového zánětu se sekrecí dalších cytokinů, které také působí na mozkový endotel, vede k indukované syntéze prostaglandinů těmito buňkami (*Eskilsson et al., 2014*). Zároveň také delece receptoru pro IL - 6 na těchto buňkách silně redukovala endotoxinem indukovanou expresi enzymu COX-2 (*Eskilsson et al., 2014*). K doposud nezodpovězeným otázkám patří i způsob, jakým se IL-6, IL-1 a možná i *Toll-like* receptor 4 a jejich signální dráhy v mozkových epiteliálních buňkách vzájemně ovlivňují, vzhledem k tomu, že jsou oba cytokiny jsou, ačkoliv jiným mechanismem, důležité pro vyvolání febrilní odpovědi (*Blomqvist et Engblom, 2018*).

Ve studii zabývající se syntézou prostaglandinu E2 v endoteliálních buňkách mozku v modelu systémové inflamace byla febrilní odpověď organismu dána do souvislosti hlavně s lokální, parakrinní sekrecí tohoto mediátoru poblíž jeho receptorů v preoptické oblasti předního hypothalamu, nikoliv s jeho celkovými hladinami v mozkomíšním moku. Zároveň také nebyla zjištěna žádná korelace mezi plazmatickými a mozkomíšními hladinami tohoto mediátoru (*Eskilsson et al., 2017*). Navazující studie ukázala, že ačkoliv inhibice syntézy enzymů COX-2 a mPGES v endoteliálních buňkách hematoencefalické bariéry vedla k utlumení febrilní odpovědi v modelu systémové inflamace. V modelu lokální inflamace tomu tak není. Jak naznačuje obrázek 8, toto zjištění poukazuje na rozdílné mechanismy přenosu pyrogenního signálu skrze hematoencefalickou bariéru v těchto modelech. Také poukazuje na možnou roli, jakou má periferně cirkulující PGE2, na vznik febrilní odpovědi organismu v modelu lokálního zánětu. Avšak podobně, jako u horečky vyvolané systémovou inflamací, je horečka vzniklá v reakci na lokální zánět závislá na tom, jak se syntetizovaný PGE2 váže na specifické receptory v CNS (*Eskilsson et al., 2021*).

### Lokalizovaný periferní zánět



### Systémový zánět



Obrázek 8: Průchod mediátorů přes hematoencefalickou bariéru. (COX-2 – cyklooxygenáza 2, EP3R – receptor EP3, IL-1 – interleukin 1, IL-6 – interleukin 6, IL1R – receptor pro IL-1, IL6R – receptor pro IL-6, MnPO – nucleus preopticus medialis, mPGES-1 – mikrosomální prostaglandin E2 syntáza 1, PGE<sub>2</sub> – prostaglandin E2, STAT3 – převodník signálu a aktivátor transkripce 3, TAK1 – transformujícím růstovým faktorem  $\beta$  aktivovaná kináza 1, ? – mechanismus není doposud plně objasněn) (upraveno dle: Eskilsson et al., 2021).

#### 3.1.4.3 Přenos signálu periferními nervy

Předmětem výzkumů byla také role periferních nervů v signalizaci a přenosu pyrogenních signálů do mozku. Nejvíce prostudovaným je *nervus vagus*, který bývá během infekcí v dutině břišní aktivován lokálně produkovanými cytokiny (Blomqvist et Engblom, 2018; Dantzer et al., 2008). Dřívější studie odhalila, že vlákna i somata senzoričkových neuronů *nervus vagus* exprimují receptory pro IL-1 a PGE<sub>2</sub>. Zároveň bylo v této studii prokázáno, že jsou tyto neurony stimulovány vpraveným i cirkulujícím interelukinem 1 $\beta$  (Ek et al., 1998).

Současné studie zásadní roli periferních nervů v přenosu pyrogenního signálu spíše vyvracejí. Například poukazují na fakt, že i přes vagotomii je komunikace mezi imunitním systémem a CNS z velké části zachována prostřednictvím aktivace alternativních komunikačních mechanismů. Tyto mechanismy pravděpodobně zahrnují periferní syntézu prostaglandinu E<sub>2</sub>, kompenzující nedostatek senzoričkové signalizace bloudivým nervem (Kobrzycka et al., 2019). Podobně i v další studii nebyla zaznamenána žádná změna ve febrilní odpovědi po stimulaci lipopolysacharidem u myši s delecí receptoru pro IL-1 na tenkých aferentních nervových vláknech a na tkáních derivovaných z neurální lišty, což jen podporuje hypotézu, že endogenně produkovaný IL-1 $\beta$  a jeho vazba na tento receptor na periferních nervových vláknech není kritická pro vyvolání horečky. Zároveň však ale není

vyloučeno, že periferní nervy hrají roli v přenosu pyrogenních signálů pouze při nízkých koncentracích lipopolysacharidu nebo cirkulujících cytokinů (*Ek et al., 1998; Matsuwaki et al., 2017*).

### **3.1.5 Centrální fáze vzniku horečky**

PGE2 produkovaný v reakci na infekci je důležitý centrální mediátor podílející se na vzniku horečky. Svůj účinek uplatňuje v preoptické části předního hypothalamu, kde se nachází termoregulační centrum zodpovědné za autonomní termoregulační odpovědi, včetně vyvolání horečky (*Nakamura et al., 2022*). Termosenzitivní neurony se v této oblasti shlukují v *nucleus preopticus medialis* podél střední linie ventrální části preoptické oblasti. U ústí třetí mozkové komory zasahují také do *OVL*T (*Machado et Saper 2022*).

#### **3.1.5.1 Receptory pro prostaglandin E2**

Termosenzitivní neurony exprimují specifické receptory, na které se PGE2 váže (*Machado et Saper 2022*). PGE2 může ovlivňovat aktivitu čtyř typů receptorů spřažených s G-proteinem: EP1, EP2, EP3 a EP4, ovšem pouze EP1, EP3 a EP4 byly identifikovány v preoptické části předního hypothalamu. Z těchto receptorů jsou nejčastěji zastoupenými EP3 receptory, hustě exprimované na celé řadě neuronů a dendritů v oblasti *nucleus preopticus medialis* (*Zampronio et al., 2015*). Vyskytují se v několika isoformách, EP3 $\alpha$ , EP3 $\beta$ , and EP3 $\gamma$ , přičemž podtypy EP3 $\alpha$  a EP3 $\beta$  jsou spřaženy s inhibičními G-proteiny, a jsou tedy inhibiční, zatímco podtyp EP3 $\gamma$  je spřažen se stimulačními G-proteiny a je excitační (*Blomqvist, 2024*). U hlodavců jsou nejčastěji přítomny  $\alpha$  a  $\gamma$  isoformy. Typicky tyto dvě isoformy svou aktivitou inhibují neuronální funkci skrz zprostředkovanou inhibici adenylátcyklázy (*Saper et al., 2013*). A právě vazbou na EP3 receptor PGE2 inhibuje jeho aktivitu, čímž uplatňuje svůj pyrogenní efekt (*Blomqvist, 2024; Tansey et Johnson, 2015*).

#### **3.1.5.2 Identita termosenzitivních neuronů**

U krys obsahují preoptické neurony exprimující EP3 glutamátdekarboxylázu 67, což vedlo k hypotéze, že vazba mediátorů, jako je PGE2, na tyto GABAergní neurony a jejich následná inhibice vede k aktivaci dalších signálních drah, což ústí v termogenezi a konzervaci tepla a tím i k vyvolání horečky (*Machado et Saper 2022*). Ovšem nedávné studie ukázaly, že aktivace preoptických neuronů exprimujících vezikulární transportér kyseliny  $\gamma$ -aminomáselné měla buď malý, nebo žádný účinek na tělesnou teplotu. Také ablace těchto neuronů nezabránila febrilní reakci na LPS (*Machado et al., 2020; Nakamura et al., 2022*;

*Song et al., 2016; Yu et al., 2016*). Zároveň také selektivní stimulace neuronů exprimujících vezikulární glutamátový transportér 2 u myši vedla k silné redukci tělesné teploty (*Machado et al., 2020*). I jejich ablace, nebo delece EP3 receptoru u těchto neuronů zabránila febrilní odpovědi (*Machado et Saper 2022; Nakamura et al., 2022*).

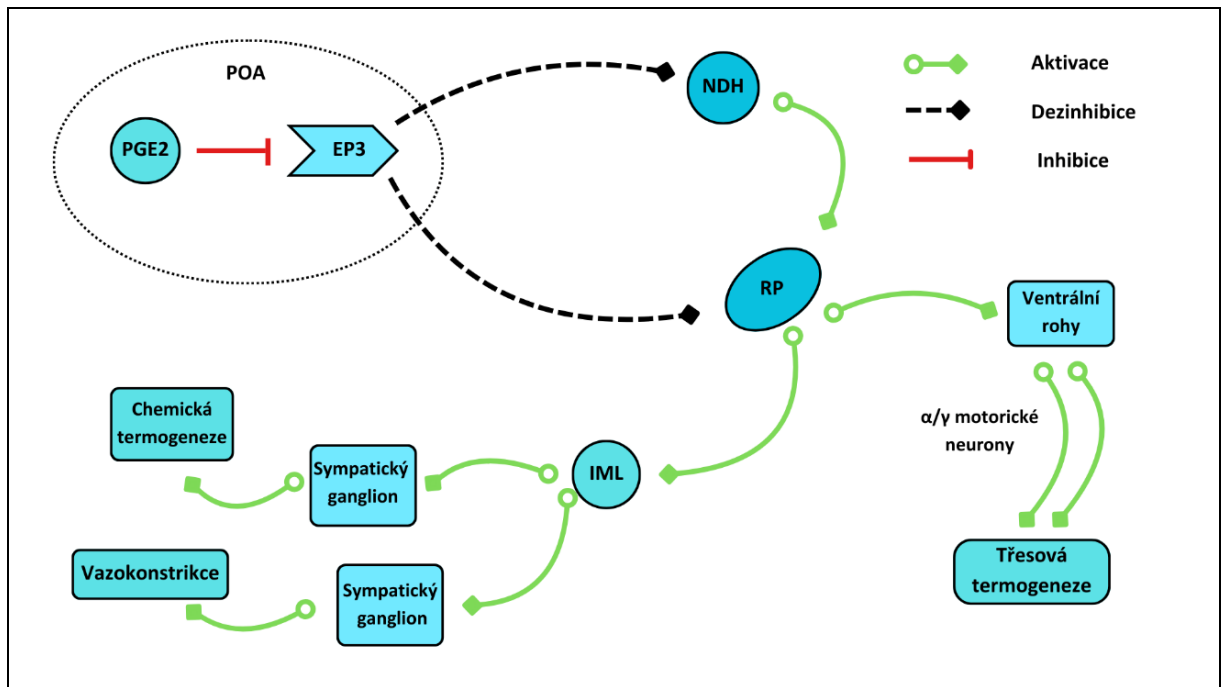
Tyto výsledky naznačují, že některé neurony v preoptické oblasti mohou jako neurotransmiter k regulaci tělesné teploty užívat glutamát, nikoliv kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou. Není však jisté, zda jsou neurony podílející se na signalizaci febrilní odpovědi glutamerní, jak bylo prokázáno u myši, nebo GABAerní, jak bylo prokázáno u krys (*Blomqvist, 2024; Machado et al., 2020*). V obou případech ovšem uplatňují svůj pyrogenní účinek aktivací několika termoeffektorových drah (*Blomqvist, 2024*). Primárně působí na neurony v oblasti *nucleus dorsomedialis hypothalami/area hypothalamica dorsalis* a také *nucleus raphe pallidus* (*Machado et al., 2020*).

Nedávná *c-Fos* mapující studie také identifikovala skupinu inhibičních neuronů v *nucleus ventromedialis hypothalami*. Tyto neurony jsou aktivovány imunitní signalizací vzniklou poté, co se LPS naváže na své receptory. Její součástí je i vazba PGE2 na EP2 receptory, tyto neurony ovšem neexprimují EP3 receptor. Nepodílejí se na bazální termoregulaci, ale zdá se, že inervují termoregulační neurony v *nucleus preopticus medialis*. Jejich chemogenetická stimulace navíc zvyšuje tělesnou teplotu a snižuje chuť k jídlu. Jejich ablace naopak eliminuje lipopolysacharidem vyvolanou horečku, což naznačuje, že se podílejí na regulaci symptomů nemoci včetně horečky. Ovšem vzhledem k nepostradatelné roli preoptických EP3 receptorů na vyvolání horečky, musí PGE2 zřejmě působit na oba typy neuronů, aby došlo k febrilní odpovědi (*Nakamura et al., 2022; Osterhout et al., 2022*).

### **3.1.5.3 Odstředivé termoregulační dráhy**

*Nucleus raphe pallidus* je primární místo, kde sestupné signály řídící chemickou termogenezi opouštějí mozek. Vystavení chladu nebo pyrogenům aktivuje premotorické neurony v *nucleus raphe pallidus*, jejichž axony zasahují do míchy. Mnohé z těchto neuronů exprimují buď glutamátový transportér, a tudíž jsou glutamerní, nebo místo glutamátu využívají serotonin, a jsou tím pádem serotogenní. Projekce z *nucleus raphe pallidus* aktivují pregangliové neurony v intermediolaterálním jádru míchy, které zase regulují sympatikus a tím i aktivitu hnědé tukové tkáně (*Kataoka et al., 2014; Tan et Knight, 2018*). *Nucleus raphe pallidus* a přilehlá rostrální ventrolaterální část míchy také obsahují sympatické premotorické neurony, které jsou určující pro regulaci kožních vazomotorických odpovědí. Jejich excitace

zvyšuje vazokonstrikci a snižuje teplotu kůže ocasu hlodavců. Podobně i třes je zvýšen stimulací *nucleus dorsomedialis hypothalami*, *nucleus raphe pallidus* a přilehlých struktur, zatímco inhibice nebo poškození těchto míst blokuje chvění vyvolané chladem i PGE2 (Tan et Knight, 2018). Aktivace třesové a chemické termogeneze a kožní vazokonstrikce vede k tepelnému zisku a celkovému zvýšení tělesné teploty nad fyziologickou hranici, a tím i ke vzniku horečky (Tansey et Johnson, 2015). Celá centrální termoregulační dráha je naznačena na obrázku 9.



Obrázek 9: Centrální termoregulační dráha. (IML – intermediolaterální jádro, NDH – nucleus dorsomedialis hypothalami, PGE2 – prostaglandin E2, POA – preoptická oblast předního hypothalamu, RP – nucleus raphe pallidus) (vytvořeno dle předlohy Tan et Knight, 2018).

## 4 DŮSLEDKY HOREČKY

Již antický lékař Hippokrates označil horečku za tělu užitečnou, a i v současné době převládá přesvědčení, že horečka není jen vedlejším produktem zánětlivého onemocnění, ale podílí se také na jeho vzniku a regulaci (Walter *et al.*, 2016). Zejména podporuje včasné nastartování antimikrobiálních funkcí, syntézu cytokinů a protilátek, aktivaci T-lymfocytů, neutrofilů a makrofágů a urychluje hojení ran, což z ní činí účinný podpůrný mechanismus, který pomáhá buňkám imunitního systému v boji proti patogenům (Haddad *et al.*, 2023; Lee *et al.*, 2012). Velká epidemiologická studie odhalila, že pacienti s horečkou vyvolanou v reakci na infekční onemocnění mají lepší prognózu a nižší mortalitu než pacienti, u nichž ke zvýšení teploty vůbec nedojde (Lee *et al.*, 2012).

### 4.1 Horečka a imunitní systém

Imunitní systém slouží jako ochrana lidského těla před patogeny, cizorodými částicemi i vlastními strukturami. Podle rychlosti a specifčnosti imunitní odpovědi jej lze rozdělit na přirozenou a adaptivní složku. Buňky přirozené imunity, mezi které řadíme například neutrofile a monocyty, se podílejí na primární a nespecifické obranné reakci organismu. Pomocí fagocytózy, degranulace a produkce cytokinů se snaží zabránit šíření infekce, dokud nedojde k aktivaci adaptivní imunity. Buňky adaptivního imunitního systému jsou již zaměřeny proti specifickému patogenu, který infekci vyvolal, a na jeho přítomnost reagují například tvorbou protilátek (Belon *et al.*, 2021; Evans *et al.*, 2015).

#### 4.1.1 Přirozená imunita

Febrilní teploty pozitivně ovlivňují a urychlují řadu složek přirozené imunity. Zvyšují motilitu a migraci neutrofilů a monocytů do místa zánětu, kde dochází k jejich aktivaci. Také stimulují tyto buňky k vyšší produkci reaktivních forem kyslíku a potencují jejich fagocytární a pinocytární vlastnosti (Harden *et al.*, 2015). Podobným způsobem dochází také ke stimulaci přirozených zabíječů, kteří tvoří lymfoidní složku přirozené imunity a podílí se na stimulaci specifické imunity. Působí cytotoxicky na viry nebo jinými patogeny napadené buňky, které následně lyzují. Zároveň také produkují některé cytokiny, mezi nimi například IFN- $\gamma$  nebo i IL-10 (Waggoner *et al.*, 2016). Febrilní teploty u těchto buněk také zvyšují míru exprese některých aktivačních receptorů, například NKG2D, a tím i jejich protinádorový potenciál (Vaupel *et al.*, 2023).

Dendritické buňky patří mezi antigen prezentující buňky. Zpracovávají antigen a prezentují jej na svém povrchu buňkám specifické imunity. Horečnaté teploty mají různé účinky na dendritické buňky, včetně zvýšení migrace do lymfatického systému, podpory jejich fagocytární aktivity a produkce interferonu  $\alpha$  (Belon *et al.*, 2021). Také dochází ke zvýšení exprese Toll-like receptoru 4 na těchto buňkách, k produkci prozánětlivých cytokinů a oxidu dusnatého (Hurwitz, 2019). U myeloidních dendritických buněk také vlivem termálního stresu dochází k inhibici oxidativní fosforylace, stimulaci tvorby reaktivních forem kyslíku a dusíku a ke zvýšené glykolýze (Liso *et al.*, 2018).

#### 4.1.2 Adaptivní imunita

Na rozdíl od obecné představy o úloze horečky ve vrozené imunitě je její funkce v souvislosti se stimulací specifické imunity mnohem méně prozkoumána. Několik studií naznačuje, že horečka pomáhá zvýšit polarizaci  $T_H1$ -lymfocytů a umocňuje cytotoxickou aktivitu  $CD8^+$  T-lymfocytů, a to prostřednictvím zesílení jejich adheze na antigen prezentující buňky. Také podporuje diferenciaci a  $T_H17$ -lymfocytů, které tvoří významnou složku slizniční a antifungální imunity a mají prozánětlivé vlastnosti (Wang *et al.*, 2020). Zároveň se předpokládá, že má horečka stimulační vliv na další důležitou vlastnost lymfocytů, a to na jejich migraci do sekundárních lymfatických orgánů a do míst, kde probíhá zánět. Tento proces je nezbytný pro správný imunitní dozor a obranu hostitele. Skládá se z vysoce uspořádané kaskády, která zahrnuje mimo jiné i rolování lymfocytů podél cévní stěny postkapilárních venul, chemokiny indukovanou aktivaci a následnou transendoteliální migraci. Febrilní teploty pak zvyšují expresi některých integrinů, selektinů a chemokinů nezbytných pro adhezi lymfocytů k endotelu a jejich následnou migraci do lymfatických uzlin a míst infekce (Lin *et al.*, 2019).

#### 4.1.3 Proteiny teplotního šoku

Febrilní teploty mohou také vyvolat syntézu proteinů teplotního šoku, a to v patogenech i hostitelských buňkách, což vede k následné aktivaci složek jak nespecifické, tak specifické imunity (Wrotek *et al.*, 2020b). Proteiny teplotního šoku jsou produkovány buňkami v reakci na teplotní a fyzikální stres, nebo na radiaci, což jsou vlivy, které mohou způsobit denaturaci důležitých proteinů. Během trvajících stresu se chovají jako chaperony a váží se na denaturované proteiny, aby je buď zachovaly, dokud stres nepomine, nebo je naopak označily jako určené k degradaci (Singh *et Hasday*, 2013). Zároveň také mohou aktivovat Toll-like receptorovou signalizační kaskádu, a i LPS může zvýšit expresi proteinů

teplotního šoku v hostitelských buňkách. Přesný mechanismus jejich účinku je ovšem stále neznámý a objevují se důkazy podporující jak jejich prozánětlivé, tak i protizánětlivé vlastnosti. Přesto ale zastávají důležitou roli v udržení buněčné homeostázy a při ochraně buněk před vnějším stresem (*Belon et al., 2021; Singh et Hasday, 2013*).

## 4.2 Vliv horečky na patogeny

Kromě stimulačního efektu na imunitní systém mají febrilní teploty vliv i na samotné infekční agens, konkrétně na mikroorganismy, viry i parazity. Tento vliv je, jak už naznačuje podstata horečky jakožto součásti reakce akutní fáze a obranného mechanismu hostitele, spíše negativní. Teplo v tomto kontextu funguje jako stresor dvěma způsoby, buď může přímo působit na patogeny, nebo jim odebírá zdroje energie, které jsou použity pro udržení horečky. četné studie *in vitro* prokázaly, že febrilní teploty mohou zpomalovat růst několika patogenních druhů, popřípadě je poškozovat, či přímo zabíjet (*Clint et Fessler, 2016*).

### 4.2.1 Horečka a bakterie

Ačkoli jsou prokaryota obecně životaschopná v širokém spektru podmínek prostředí, většina patogenů má specifický teplotní rozsah, ve kterém prosperují (*Markota et al., 2023*). Teploty nad horní mez ovlivňují celou řadu buněčných struktur. Mohou způsobovat léze na organelách, poškozují mitochondrie, narušují produkci proteinů, syntézu nových nukleových kyselin i funkčnost některých enzymů a v některých případech mohou vyvolávat i apoptózu (*Clint et Fessler, 2016; Walter et al., 2016*). Také fluidita a rozložení lipidů v buněčné membráně může být přímo ovlivněno pyrexii (*González Plaza et al., 2016*). V důsledku toho je narušen iontový transport, což vede ke zvýšení intracelulárního sodíku a vápníku a snížení intracelulární koncentrace draslíku (*Walter et al., 2016*).

*Streptococcus pneumoniae*, známý lidský patogen a původce celé řady onemocnění horních cest dýchacích, se dělí beze změny při teplotách 39 °C, ovšem při 41 °C rychle umírá (*Clint et Fessler, 2016*). Podobně i bakterie *Borrelia burgdorferi* roste optimálně při 37 °C, její rychlost růstu se zpomaluje při 39 °C a vystavení teplotám atakujícím 41 °C zabíjí všechny bakterie v médiu (*Markota et al., 2023*). Ani eukaryota nejsou vůči febrilním teplotám odolná. Kvasinka *Candida albicans* reaguje na zvýšení teploty snížením exprese genů zapojených do udržování integrity buněčné stěny. Ačkoliv při teplotách 42 °C stupňů stále dochází k tvorbě biofilmu, jeho objem, tloušťka a metabolická aktivita jsou nižší v porovnání biofilmy tvořenými při 37 °C (*Markota et al., 2023, Pumeesat et al., 2017*). Růst

houby *Aspergillus niger* je febrilními teplotami také omezen a při teplotách 40 °C dochází k rozpadu mitochondrií a nárůstu oxidativně poškozených proteinů (Markota et al., 2023). Febrilní teploty *in vitro* navíc inhibovaly růst prvokového parazita a původce malárie *Plasmodium falciparum* (González Plaza et al., 2016).

#### 4.2.2 Horečka a viry

Podobně i viry, včetně několika zástupců čeledi *Flaviviridae* a *Poxviridae*, mají optimální replikační teploty blízko fyziologickým teplotám těla. Febrilní teploty pak mohou způsobit například přerušení vodíkových a disulfidických můstků kapsidových proteinů (Clint et Fessler, 2016). Již zmíněné zvýšení fluidity membrán může mít také negativní dopad na vstup virionu do buňky. Febrilní teploty také zvyšují endozomální pH, což negativně ovlivňuje internalizaci některých virů do buňky prostřednictvím receptorem zprostředkované endocytózy, která ke spuštění membránové fúze vyžaduje kyselé pH (Belon et al., 2021). Vysoká teplota také destabilizuje virovou RNA polymerázu, nebo může mít inhibiční účinek na replikaci a transkripci virového genomu chřipkových virů typu *influenza A* (González Plaza et al., 2016).

### 4.3 Negativní důsledky horečky

Ačkoliv poskytuje horečka tělu celou řadu benefitů, díky kterým se může snadněji bránit proti infekčním agens, má i svá úskalí, s nimiž je třeba počítat. Podobně jako tomu je například u chemoterapie, obranné systémy těla poškozují jak sebe, tak patogen, a předpokládají, že dokážou negativním důsledkům hypertermie odolávat déle než infekční agens. Což je obvykle hazard, který se tělu vyplácí. Ovšem existují i případy, kdy negativní důsledky horečky převáží jejich benefity (Wrotek et al., 2020b).

Jak již bylo popsáno výše, febrilní teploty jsou cytotoxické a mohou způsobit až buněčnou smrt. Jejich cytotoxické účinky se nevyhýbají ani lidským buňkám, u nich dochází k poškození podobným mechanismem, jako je tomu u patogenů. Přímá buněčná smrt vlivem hypertermie nastává u lidských buněk při teplotách atakujících 41 °C a zřejmě nastává prostřednictvím jejich účinku na proteinovou strukturu. Vzhledem k tomu, že orgánová dysfunkce nastává při teplotách nižších, než jsou teploty potřebné pro buněčnou smrt *in vitro*, je pravděpodobné, že mírnější stupně hypertermie mohou také ovlivnit buněčnou strukturu a funkci s určitým stupněm reverzibility (Walter et al., 2016).

K poškození v důsledku horečky je nejnáchylnější centrální nervová soustava (Walter et Carraretto, 2016). Léčba hypertermie, nebo hyperpyrexie je silně doporučována u pacientů

s akutním a traumatickým poraněním mozku, neboť se ukázalo, že prognóza je v případě pacientů s febrilními teplotami horší. Existují také důkazy dávající do souvislosti horečku a vznik sekundárního poškození mozku (*Doyle et Schortgen, 2016*).

Mezi důležité struktury centrální nervové soustavy patří hematoencefalická bariéra. Za normálních podmínek zabraňuje průniku vysokomolekulárních hydrofilních látek a toxinů do mozku. Při teplotách přesahujících 38 °C dochází ke zvýšení její permeability, a tím pádem i k zvýšení průniků substancí do mozku, což je považováno za jeden z faktorů přispívajících ke vzniku mozkového edému. Podobně i permeabilita stěny gastrointestinálního ústrojí je vlivem febrilních teplot zvýšena, což může vést k zvýšené míře bakteriální translokace. Narušením integrity stěny trávicí trubice může dojít ke vzniku endotoxémie a systémové zánětlivé reakce, která může vyústit až v orgánové poškození (*Kiyatkin et Sharma, 2009; Walter et Carraretto, 2016*). Vlivem febrilních teplot může dojít také ke snížení glomerulární filtrace v ledvinách, nebo k fragmentaci myofibril v myokardu. U většiny orgánů lze také pozorovat dilataci velkých a malých cév a krvácení do intersticia (*Walter et al., 2016*).

Nelze tedy jednoznačně říct, jestli je horečka tělu ku prospěchu, či ku škodě. Poměr mezi možnými benefity a riziky se může značně lišit v závislosti na skupině pacientů, u nichž k jejímu rozvoji dojde (*Doyle et Schortgen, 2016*). Do skupiny osob, u kterých mohou rizika spojená s febrilními teplotami převážit možné benefity, lze zařadit pacienty s komorbiditami, jako je srdeční selhání, či zhoršená funkce plic, pacienty s několika současně probíhajícími infekčními onemocněními, popřípadě i seniory (*Wrotek et al., 2020b*). Další možnou rizikovou skupinu tvoří těhotné ženy, u nichž je vysoká horečka považována za možný teratogen narušující správný vývoj mozku plodu (*Harden et al., 2015*). K posouzení možných benefitů, nebo rizik spojených s horečkou je tedy nutné vzít v potaz individuální stav pacienta, ale také dobu trvání a výši horečnatých teplot (*Walter et Carraretto, 2016*). Při teplotách nad 40 °C dochází k nárůstu mortality, což naznačuje, že v této fázi škodlivé účinky horečky na orgánovou a buněčnou funkci převažují nad jakýmkoliv možným přínosem při akutní sepsi (*Walter et al., 2016*).

## ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo popsat patofyziologii horečky vyvolané pyrogeny se zaměřením na jednotlivé mediátory a jejich vliv na vznik febrilní odpovědi. Horečka patří mezi obranné mechanismy hostitele proti infekci a vzniká nejčastěji po vazbě exogenního pyrogenu na příslušný Toll-like receptor.

Mezi nejvíce zkoumané exogenní pyrogeny patří bezpochyby lipopolysacharid, který tvoří součást buněčné stěny gramnegativních bakterií. Jeho pyrogenní složkou je lipid A, sloužící primárně jako kotva spojující lipopolysacharid k buněčné stěně bakterie. Lipopolysacharid je také jeden z nejpotentnějších exogenních pyrogenů s účinkem alespoň o tři řády silnějším, než je tomu u dalších pyrogenů, kterými jsou kyselina lipoteichoová, přítomná pouze u grampozitivních bakterií, a peptidoglykan vyskytující se jak u gramnegativních, tak i grampozitivních bakterií. Tyto exogenní pyrogeny po vazbě na své receptory spouští kaskádu reakcí vedoucí až k tvorbě prozánětlivých cytokinů, primárně interleukinu 1 $\beta$ , interleukinu 6 a tumor nekrotizujícího faktoru  $\alpha$ . Vazba těchto cytokinů na jejich receptory, jak na periférii, tak i na endoteliálních buňkách mozku, vyvolává tvorbu prostaglandinu E2, důležitého mediátoru zodpovědného za vznik horečky. Mechanismus přenosu prostaglandinu E2 a popřípadě i prozánětlivých cytokinů skrze hematoencefalickou bariéru je stále předmětem výzkumů a existuje několik teorií, jak k němu dochází. V této bakalářské práci jsou ve zkratce popsány některé z nich. Prostaglandin E2 se v preoptické oblasti předního hypothalamu váže na své EP3 receptory na termosenzitivních neuronech, a tím dochází k jejich inhibici, což naopak vede k následné aktivaci několika termoefektorových drah. Následkem je pak aktivace sympatiku a projevy vedoucí ke zvýšení tělesné teploty. Jmenovitě se jedná o třesovou termogenezi, chemickou termogenezi a vazokonstrikci.

Důsledky horečky mohou být jak pozitivní, tak negativní. Mezi pozitivní důsledky horečky patří podpora funkce buněk imunitního systému, a to jak nespecifického, tak specifického. Dále mohou febrilní teploty poškozovat, či přímo zabíjet, v těle přítomné patogenní mikroorganismy a negativně ovlivňovat replikaci některých virů. Mezi škodlivé důsledky horečky pak patří zvýšení permeability hematoencefalické bariéry a stěny gastrointestinálního ústrojí, snížení glomerulární filtrace, nebo krvácení do intersticia. V krajním případě může dojít až k buněčné smrti. Je proto důležité ke každému pacientovi s horečkou přistupovat individuálně a brát v potaz jeho celkový zdravotní stav.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. ACAR L, ATALAN N, ERGEN EH: Tumour Necrosis Factor-alpha and Nuclear Factor-kappa B Gene Variants in Sepsis. *The Balkan Medical Journal*. **2018**, 35, s. 30-35. DOI: 10.4274/balkanmedj.2017.0246.
2. ALBA BK, CASTELLANI JW, CHARKOUDIAN N: Cold-induced cutaneous vasoconstriction in humans: Function, dysfunction and the distinctly counterproductive. *Experimental Physiology*. **2019**, 104, s. 1202-1214. DOI: 10.1113/EP087718.
3. ALSPACH E, LUSSIER DM, SCHREIBER RD: Interferon  $\gamma$  and Its Important Roles in Promoting and Inhibiting Spontaneous and Therapeutic Cancer Immunity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. **2019**, 11, s. 20. DOI: 10.1101/cshperspect.a028480.
4. ASAOKU H, KAWANO M, IWATO K, TANABE O, TANAKA H ET AL.: Decrease in BSF-2/IL-6 response in advanced cases of multiple myeloma. *Blood*. **1988**, 72, s. 429-432. DOI: 10.1182/blood.V72.2.429.429.
5. AUER GK, WEIBEL DB: Bacterial Cell Mechanics. *Biochemistry*. **2017**, 56, s. 3710-3724. DOI: 10.1021/acs.biochem.7b00346.
6. BELON L, SKIDMORE P, MEHRA R, WALTER E: Effect of a fever in viral infections - the 'Goldilocks' phenomenon? *World Journal of Clinical Cases*. **2021**, 9, s. 296-307. DOI: 10.12998/wjcc.v9.i2.296.
7. BLOMQVIST A, ENGBLOM D: Neural Mechanisms of Inflammation- Induced Fever. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*. **2018**, 24, s. 381–399. DOI: 10.1177/1073858418760481.
8. BLOMQVIST A: Prostaglandin E2 production in the brainstem parabrachial nucleus facilitates the febrile response. *Temperature*. **2024**, 11, s. 309-317. DOI: 10.1080/23328940.2024.2401674.
9. BORASCHI D: What Is IL-1 for? The Functions of Interleukin-1 Across Evolution. *Frontiers in Immunology*. **2022**, 13, s. 1-12. DOI: 10.3389/fimmu.2022.872155.
10. CABANAC M: Adjustable set point: to honor Harold T. Hammel. *Journal of Applied Physiology (1985)*. **2006**, 100, s. 1338–1346. DOI: 10.1152/jappphysiol.01021.2005.
11. CARSWELL EA, OLD LJ, KASSEL RL, GREEN S, FIORE N ET AL.: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the USA. **1975**, 72, s. 3666-3670. DOI: 10.1073/pnas.72.9.3666.
12. CHU T, HU S, QI J, LI X, ZHANG X ET AL.: Bifunctional effect of the inflammatory cytokine tumor necrosis factor  $\alpha$  on megakaryopoiesis and platelet production. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. **2022**, 20, s. 2998–3010. DOI: 10.1111/jth.15891.
  13. CIESIELSKA A, MATYJEK M, KWIATKOWSKA K: TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*. **2021**, 78, s. 1233-1261. DOI: 10.1007/s00018-020-03656-y.
  14. CLINT E, FESSLER DM: INSURMOUNTABLE HEAT: THE EVOLUTION AND PERSISTENCE OF DEFENSIVE HYPERTHERMIA. *The Quarterly Review of Biology*. **2016**, 91, s. 25-46. DOI: 10.1086/685302.
  15. COLEMAN KP, BORTON LK: Material-Mediated Pyrogens in Medical Devices: Applicability of the In Vitro Monocyte Activation Test. *Alternativen zu Tierexperimenten*. **2018**, 35, s. 453-463. DOI: 10.14573/altex.1709221.
  16. CONTRERAS C, NOGUEIRAS R, DIÉGUEZ C, RAHMOUNI K, LÓPEZ M: Traveling from the hypothalamus to the adipose tissue: The thermogenic pathway. *Redox Biology*. **2017**, 12, s. 854-863. DOI: 10.1016/j.redox.2017.04.019.
  17. CRAMER MN, GAGNON D, LAITANO O, CRANDALL CG: Human temperature regulation under heat stress in health, disease, and injury. *Physiological Reviews*. **2022**, 102, s. 1907-1989. DOI: 10.1152/physrev.00047.2021.
  18. CRANDALL CG, WILSON TE: Human cardiovascular responses to passive heat stress. *Comprehensive Physiology*. **2015**, 5, s. 17-43. DOI: 10.1002/cphy.c140015.
  19. DANTZER R, O'CONNOR JC, FREUND GG, JOHNSON RW, KELLEY KW: From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews. Neuroscience*. **2008**, 9, s. 46–56. DOI: 10.1038/nrn2297.
  20. DE OLIVEIRA LD, DE OLIVEIRA FE, HATJE BA, VALERA MC, CARVALHO CAT ET AL.: Detoxification of LTA by intracanal medication: analysis by macrophages proinflammatory cytokines production. *Brazilian dental journal*. **2022**, 33, s. 36-43. DOI: 10.1590/0103-6440202205195.
  21. DINARELLO CA, BERDA-HADDAD Y, ROBERT S, SALERS P, ZEKRAOUI L ET AL.: Sterile inflammation of endothelial cell-derived apoptotic bodies is mediated

- by interleukin-1 $\alpha$ . *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2011**, 108, s. 20684–20689. DOI: 10.1073/pnas.1116848108.
22. DINARELLO CA, GARLANDA C, MANTOVANI A: The Interleukin-1 Family: Back to the Future. *Immunity*. **2013**, 39, s. 1003-1018. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.11.010.
  23. DINARELLO CA: Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. **2011**, 117, s. 3720-3732. DOI: 10.1182/blood-2010-07-273417.
  24. DINARELLO CA: Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological Reviews*. **2018**, 281, s. 8-27. DOI: 10.1111/imr.12621.
  25. DINARELLO CA: The history of fever, leukocytic pyrogen and interleukin-1. *Temperature*. **2015**, 2, s. 8-16. DOI: 10.1080/23328940.2015.1017086.
  26. DIRISALA VR, JEEVAN A, LY LH, MCMURRAY DN: Molecular and Biochemical Characterization of Recombinant Guinea Pig Tumor Necrosis Factor-Alpha. *Mediators of Inflammation*. **2015**, 2015, s. 7. DOI: 10.1155/2015/619480.
  27. DOYLE JF, SCHORTGEN F: Should we treat pyrexia? And how do we do it? *Critical Care*. **2016**, 20, s. 303. DOI: 10.1186/s13054-016-1467-2.
  28. DURAI P, BATOOL M, CHOI S: Structure and Effects of Cyanobacterial Lipopolysaccharides. *Marine drugs*. **2015**, 13, s. 4217-4230. DOI: 10.3390/md13074217.
  29. ECKEL EF, AMETAJ BN: Bacterial Endotoxins and Their Role in Periparturient Diseases of Dairy Cows: Mucosal Vaccine Perspectives. *Dairy*. **2020**, 1, s. 61-90. DOI: 10.3390/dairy1010006.
  30. EK M, LUNDEBERG T, ERICSSON A: Activation of Vagal Afferents after Intravenous Injection of Interleukin-1 $\beta$ : Role of Endogenous Prostaglandins. *The Journal of Neuroscience*. **1998**, 18, s. 9471–9479. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.18-22-09471.1998.
  31. ESKILSSON A, MATSUWAKI T, SHIONOYA K, MIRRASEKHIAN E, ZAJDEL J ET AL.: Immune-Induced Fever Is Dependent on Local But Not Generalized Prostaglandin E2 Synthesis in the Brain. *The Journal of Neuroscience*. **2017**, 37, s. 5035–5044. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3846-16.2017.
  32. ESKILSSON A, MIRRASEKHIAN E, DUFOUR S, SCHWANINGER M, ENGBLOM D ET AL.: Immune-Induced Fever Is Mediated by IL-6 Receptors on Brain Endothelial Cells Coupled to STAT3-Dependent Induction of Brain Endothelial

- Prostaglandin Synthesis. *The Journal of Neuroscience*. **2014**, 34, s. 15957-15961. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3520-14.2014.
33. ESKILSSON A, SHIONOYA K, ENGBLOM D, BLOMQVIST A: Fever During Localized Inflammation in Mice Is Elicited by a Humoral Pathway and Depends on Brain Endothelial Interleukin-1 and Interleukin-6 Signaling and Central EP3 Receptors. *The Journal of Neuroscience*. **2021**, 41, s. 5206–5218. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0313-21.2021.
  34. EVANS SS, REPASKY EA, FISHER DT: Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nature reviews. Immunology*. **2015**, 15, s. 335-349. DOI: 10.1038/nri3843.
  35. FAJGENBAUM DC, JUNE CH: Cytokine Storm. *The New England Journal of Medicine*. **2020**, 383, s. 2255-2273. DOI: 10.1056/NEJMra2026131.
  36. GARCIA-VELLO P, DI LORENZO F, LAMPRIKAKI D, NOTARO A, SPECIALE I ET AL.: Structure of the O-Antigen and the Lipid A from the Lipopolysaccharide of *Fusobacterium nucleatum* ATCC 51191. *European journal of chemical biology*. **2021**, 22, s. 1252-1260. DOI: 10.1002/cbic.202000751.
  37. GARDE S, CHODISETTI PK, REDDY M: Peptidoglycan: Structure, Synthesis, and Regulation. *Ecosal Plus*. **2021**, 9, s.35. DOI: 10.1128/ecosalplus.ESP-0010-2020.
  38. GOLOVANOV AP, GORMAN A: Lipopolysaccharide Structure and the Phenomenon of Low Endotoxin Recovery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **2022**, 180, s. 289-307. DOI: 10.1016/j.ejpb.2022.10.006.
  39. GONZÁLEZ PLAZA JJ, HULAK N, ZHUMADILOV Z, AKILZHANOVA A: Fever as an important resource for infectious diseases research. *Intractable and Rare Diseases Research*. **2016**, 5, s. 97-102. DOI: 10.5582/irdr.2016.01009.
  40. GREANEY JL, KENNEY WL, ALEXANDER LM: Sympathetic regulation during thermal stress in human aging and disease. *Autonomic neuroscience: Basic & Clinical*. **2016**, 196, s. 81-90. DOI: 10.1016/j.autneu.2015.11.002.
  41. GRÜNEBAUM A, CHERVENAK FA, MCCULLOUGH LB, DUDENHAUSEN JW, BORNSTEIN E ET AL.: How fever is defined in COVID-19 publications: a disturbing lack of precision. *Journal of perinatal medicine*. **2020**, 49, s. 255-261. DOI: 10.1515/jpm-2020-0546.

42. HADDAD F, SOLIMAN AM, WONG ME, ALBERS EH, SEMPLE SL ET AL.: Fever integrates antimicrobial defences, inflammation control, and tissue repair in a cold-blooded vertebrate. *eLife*. **2023**, 12, s. 23. DOI: 10.7554/eLife.83644.
43. HAN Q, HU R, LI H, LEI Z, ZHANG X ET AL.: Application of a TLR overexpression cell model in pyrogen detection. *Biotechnology and bioengineering*. **2019**, 116, s. 1269-1279. DOI: 10.1002/bit.26936.
44. HARDEN LM, KENT S, PITTMAN QJ, ROTH J: Fever and sickness behavior: Friend or foe? *Brain Behavior Immunity*. **2015**, 50, s. 322-333. DOI: 10.1016/j.bbi.2015.07.012.
45. HE Q, GAO H, XU L, LU Y, WANG CH ET AL.: Analysis of IL-6 and IL-1b release in cryopreserved pooled human whole blood stimulated with endotoxin. *Innate Immunity*. **2018**, 24, s. 316-322. DOI: 10.1177/1753425918777596.
46. HORIUCHI T, MITOMA H, HARASHIMA S, TSUKAMOTO H, SHIMODA T: Transmembrane TNF-a: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology*. **2010**, 49, s. 1215–1228. DOI: 10.1093/rheumatology/keq031.
47. HURWITZ MD: Hyperthermia and immunotherapy: clinical opportunities. *International journal of hyperthermia*. **2019**, 36, s. 4-9. DOI: 10.1080/02656736.2019.1653499.
48. IUPS THERMAL COMMISSION: Glossary of terms for thermal physiology: third edition. *The Japanese Journal of Physiology*. **2001**, 51, s. 254.
49. IVASHKIV LB: IFN $\gamma$ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. **2018**, 18, s. 545-558. DOI: 10.1038/s41577-018-0029-z.
50. JUAN C, TORRENS G, BARCELÓ IM, OLIVER A: Interplay between Peptidoglycan Biology and Virulence in Gram-Negative Pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **2018**, 82, s. 43. DOI: 10.1128/MMBR.00033-18.
51. KAK G, RAZA M, TIWARI BK: Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ): Exploring its implications in infectious diseases. *BioMolecular Concepts*. **2018**, 9, s. 64-79. DOI: 10.1515/bmc-2018-0007.
52. KALLIOLIAS GD, IVASHKIV LB: TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nature Reviews Rheumatology*. **2016**, 12, s. 49-62. DOI: 10.1038/nrrheum.2015.169.

53. KANG S, NARAZAKI M, KISHIMOTO T: Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*. **2019**, 50, s. 1007-1023. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.026.
54. KANG S, NARAZAKI M, METWALLY H, KISHIMOTO T: Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. *Journal of Experimental Medicine*. **2020**, 217, s. 10. DOI: 10.1084/jem.20190347.
55. KARROW NA, YOU Q, MCNICOLL C, HAY J: Activation of the ovine hypothalamic-pituitary-adrenal axis and febrile response by interleukin-6: A comparative study with bacterial lipopolysaccharide endotoxin. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. **2010**, 74, s. 30-33. PMID: 20357955.
56. KASHIO M, TOMINAGA M: TRP channels in thermosensation. *Current Opinion in Neurobiology*. **2022**, 75, s. 102591. DOI: 10.1016/j.conb.2022.102591.
57. KATAOKA N, HIOKI H, KANEKO T, NAKAMURA K: Psychological stress activates a dorsomedial hypothalamus-medullary raphe circuit driving brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia. *Cell Metabolism*. **2014**, 20, s. 346-358. DOI: 10.1016/j.cmet.2014.05.018.
58. KELLEY SL, LUKK T, NAIR SK, TAPPING RI: The crystal structure of human soluble CD14 reveals a bent solenoid with a hydrophobic amino-terminal pocket. *Journal of Immunology*. **2013**, 190, s. 1304–1311. DOI: 10.4049/jimmunol.1202446.
59. KHAWKHIAW K, PANAAMPON J, IMEMKAMON T, SAENGBONMEE C: Interleukin-1 $\beta$ : Friend or foe for gastrointestinal cancers. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. **2024**, 16, s. 1676-1682. DOI: 10.4251/wjgo.v16.i5.1676.
60. KIYATKIN EA, SHARMA HS: Permeability of the blood-brain barrier depends on brain temperature. *Neuroscience*. **2009**, 161, s. 926-939. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.04.004.
61. KOBRZYCKA A, NAPORA P, PEARSON BL, PIERZCHAŁA-KOZIEC K, SZEWCZYK R ET AL.: Peripheral and central compensatory mechanisms for impaired vagus nerve function during peripheral immune activation. *Journal of Neuroinflammation*. **2019**, 16, s. 150. DOI: 10.1186/s12974-019-1544-y.
62. KOZAK W, KLUGER MJ, SOSZYNSKI D, CONN CA, RUDOLPH K ET AL.: IL 6 and IL-1 beta in fever. Studies using cytokine-deficient (knockout) mice. *New York Academy of Sciences*. **1998**, 856, s. 33-47. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb08310.x.

63. KWON Y, PARK C, LEE J, PARK DH, JEONG S ET AL.: Regulation of Bone Cell Differentiation and Activation by Microbe-Associated Molecular Patterns. *International Journal of Molecular Sciences*. **2021**, 22, s. 5805. DOI: 10.3390/ijms22115805.
64. LAN X, CHEN Q, WANG Y, JIA B, SUN L RT AL: TNF- $\alpha$  affects human cortical neural progenitor cell differentiation through the autocrine secretion of leukemia inhibitory factor. *Public Library of Science One*. **2012**, 7, s. 8. DOI: 10.1371/journal.pone.0050783.
65. LEE BH, INUI D, SUH GY, KIM JY, KWON JY, ET AL.: Association of body temperature and antipyretic treatments with mortality of critically ill patients with and without sepsis: multi-centered prospective observational study. *Critical Care*. **2012**, 16, s. 33. DOI: 10.1186/cc11211.
66. LIN C, ZHANG Y, ZHANG K, ZHENG Y, LU L ET AL.: Fever Promotes T Lymphocyte Trafficking via a Thermal Sensory Pathway Involving Heat Shock Protein 90 and  $\alpha 4$  Integrins. *Immunity*. **2019**, 50, s. 137-151. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.11.013.
67. LISO A, CAPITANIO N, GERLI R, CONESE M: From fever to immunity: A new role for IGFBP-6? *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. **2018**, 22, s. 4588-4596. DOI: 10.1111/jcmm.13738.
68. LU YC, YE H WC, OHASHI PS: LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*. **2008**, 42, s. 145-151. DOI: 10.1016/j.cyto.2008.01.006.
69. MACHADO NLS, BANDARU SS, ABBOTT SBG, SAPER CB: EP3R-Expressing Glutamatergic Preoptic Neurons Mediate Inflammatory Fever. *The Journal of Neuroscience*. **2020**, 40(12), s. 2573-2588. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2887-19.2020.
70. MACHADO NLS, SAPER CB: Genetic identification of preoptic neurons that regulate body temperature in mice. *Temperature*. **2022**, 9, s. 14-22. DOI: 10.1080/23328940.2021.1993734.
71. MACKOWIAK PA, CHERVENAK FA, GRÜNEBAUM A: Defining Fever. *Open Forum Infectious Diseases*. **2021**, 8, s. 1-2. DOI: 10.1093/ofid.
72. MADDEN CJ, MORRISON SF: Central nervous system circuits that control body temperature. *Neuroscience Letters*. **2019**, 696, s. 225-232. DOI: 10.1016/j.neulet.2018.11.027.

73. MANTOVANI A, DINARELLO CA, GARLANDA C: IL-1 and related cytokines in innate and adaptive immunity in health and disease. *Immunity*. **2019**, 50, s. 778-795. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.012.
74. MARKOTA A, KALAMAR Ž, FLUHER J, PIRKMAJER S: Therapeutic hyperthermia for the treatment of infection-a narrative review. *Frontiers in Physiology*. **2023**, 14, s. 1215686. DOI: 10.3389/fphys.2023.1215686.
75. MATSUWAKI T, SHIONOYA K, IHNATKO R, ESKILSSON A, KAKUTA S ET AL.: Involvement of interleukin-1 type 1 receptors in lipopolysaccharide-induced sickness responses. *Brain, Behavior, and Immunity*. **2017**, 66, s. 165-176. DOI: 10.1016/j.bbi.2017.06.013.
76. MOHANAN PV, PRAJITHA N: Cellular and Immunological Response of THP-1 Cells in Response to Lipopolysaccharides and Lipoteichoic Acid Exposure. *Biomedical Research and Therapy*. **2021**, 8, s. 4562-4582. DOI: 10.15419/bmrat.v8i9.693.
77. MORIMOTO A, MURAKAMI N, TAKADA M, TESHIROGI S, WATANABE T: Fever and acute phase response induced in rabbits by human recombinant interferon-gamma. *The Journal of Physiology*. **1987**, 391, s. 209-218. DOI: 10.1113/jphysiol.1987.sp016734.
78. MORRISON SF, NAKAMURA K: Central Mechanisms for Thermoregulation. *Annual Reviews of Physiology*. **2019**, 81, s. 285-308. DOI: 10.1146/annurev-physiol-020518-114546.
79. MORRISON SF: Central control of body temperature. *F1000 Research*. **2016**, 5, s. 880. DOI: 10.12688/f1000research.7958.1.
80. MOTA CMD, MADDEN CJ: Neural circuits mediating circulating interleukin-1 $\beta$ -evoked fever in the absence of prostaglandin E2 production. *Brain, behavior, and immunity*. **2022**, 103, s. 109-121. DOI: 10.1016/j.bbi.2022.04.008.
81. MOTA-ROJAS D, TITTO CG, ORIHUELA A, MARTÍNEZ-BURNES J, GÓMEZ-PRADO J ET AL.: Physiological and Behavioral Mechanisms of Thermoregulation in Mammals. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*. **2021**, 11, s. 1733. DOI: 10.3390/ani11061733.
82. MURRAY KN, PARRY-JONES AR, ALLAN SM: Interleukin-1 and acute brain injury. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. **2015**, 9, s. 18. DOI: 10.3389/fncel.2015.00018.

83. NAKAMURA Y, YAHIRO T, FUKUSHIMA A, HIOKI H, NAKAMURA K: Prostaglandin EP3 receptor-expressing preoptic neurons bidirectionally control body temperature via tonic GABAergic signaling. *Science advances*. **2022**, 8, s. 1-20. DOI: 10.1126/sciadv.add5463.
84. O'GRADY NP, BARIE PS, BARTLETT JG, BLECK T, CARROLL K ET AL.: Guidelines for evaluation of new fever in critically ill adult patients: 2008 update from the American College of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of America. *Critical Care Medicine*. 2008, 36, s. 1330-1349. DOI: 10.1097/CCM.0b013e318169eda9.
85. OLIVEIRA-NASCIMENTO L, MASSARI P, WETZLER LM: The role of TLR2 in infection and immunity. *Frontiers in Immunology*. **2012**, 3, s. 17. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00079.
86. OSTERHOUT JA, KAPOOR V, EICHHORN SW, VAUGHN E, MOORE JD ET AL.: A Preoptic Neuronal Population Controls Fever and Appetite During Sickness. *Nature*. **2022**, 606, s. 937-944. DOI: 10.1038/s41586-022-04793-z.
87. PAKAI E, TEKUS V, ZSIBORAS C, OLAH E, KERINGER P: The neurokinin-1 receptor contributes to the early Phase of lipopolysaccharide-induced Fever via stimulation of Peripheral cyclooxygenase-2 Protein expression in Mice. *Frontiers in Immunology*. **2018**, 8, s. 15. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00166.
88. PARICIO-MONTESINOS R, SCHWALLER F, UDHAYACHANDRAN A, RAU F, WALCHER J ET AL.: The Sensory Coding of Warm Perception. *Neuron*. **2020**, 106, s. 830-841. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.02.035.
89. PERCY MG, GRÜNDLING, A: Lipoteichoic Acid Synthesis and Function in Gram-Positive Bacteria. *Annual review of microbiology*. **2014**, 68, s. 81-100. DOI: 10.1146/annurev-micro-091213-112949.
90. PIÑOL RA, MOGUL AS, HADLEY CK, SAHA A, LI C ET AL.: Preoptic BRS3 neurons increase body temperature and heart rate via multiple pathways. *Cell Metabolism*. **2021**, 33, s. 1389-1403. DOI: 10.1016/j.cmet.2021.05.001.
91. PRAGER-KHOUTORSKY M, BOURQUE CW: Anatomical organization of the rat organum vasculosum laminae terminalis. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. **2015**, 309, s. 324-337. DOI: 10.1152/ajpregu.00134.2015.

92. PRAJITHA N, ATHIRA SS, MOHANAN PV: Pyrogens, a polypeptide produces fever by metabolic changes in hypothalamus: Mechanisms and detections. *Immunology Letters*. **2018**, 204, s. 38-46. DOI: 10.1016/j.imlet.2018.10.006.
93. PROHL A, OSTERMANN CH, RUMMEL CD, ROTH J, REINHOLD P: Circulating and broncho-alveolar interleukin-6 in relation to body temperature in an experimental model of bovine *Chlamydia psittaci* infection. *Public Library of Science One*. **2017**, 12, s. 1-14. DOI: 10.1371/journal.pone.0189321.
94. PUMESAT P, MUANGKAEW W, AMPAWONG S, LUPLERTLOP N: *Candida albicans* biofilm development under increased temperature. *The New Microbiologica*. **2017**, 40, s. 279-283. ISN: 1121-7138. PMID: 28825445.
95. RIDER P, CARMI Y, GUTTMAN O, BRAIMAN A, DINARELLO CA ET AL.: IL-1a and IL-1b Recruit Different Myeloid Cells and Promote Different Stages of Sterile Inflammation. *The Journal of Immunology*. **2011**, 187, s. 4835–4843. DOI: 10.4049/jimmunol.1102048.
96. ROHACS T: Phosphoinositide signaling in somatosensory neurons. *Advances in Biological Regulation*. **2016**, 61, s. 2-16. DOI: 10.1016/j.jbior.2015.11.012.
97. ROMERO R, CHAEMSAITHONG P, DOCHEVA N, KORZENIEWSKI SJ, TARCA AL ET AL.: Clinical Chorioamnionitis IV: the Maternal Plasma Cytokine Profile. *The Journal of Perinatal Medicine*. **2016**, 44, s. 77-98. DOI: 10.1515/jpm-2015-0103.
98. ROTHHAAS R, CHUNG S: Role of the Preoptic Area in Sleep and Thermoregulation. *Frontiers in Neuroscience*. **2021**, 15, s. 664781. DOI: 10.3389/fnins.2021.664781.
99. RUMMEL C, INOUE V, SACHOT C, POOLE S, HÜBSCHLE T ET AL.: Selective contribution of interleukin-6 and leptin to brain inflammatory signals induced by systemic LPS injection in mice. *The Journal of Comparative Neurology*. **2008**, 511, s. 373-395. DOI: 10.1002/cne.21850.
100. SANTISO A, HEINEMANN A, KARGL J: Prostaglandin E2 in the Tumor Microenvironment, a Convolved Affair Mediated by EP Receptors 2 and 4. *Pharmacological reviews*. **2024**, 76, s. 388-413. DOI: 10.1124/pharmrev.123.000901.
101. SAPER CB, ROMANOVSKY AA, SCAMMELL TE: Neural Circuitry Engaged by Prostaglandins during the Sickness Syndrome. *Nature Neuroscience*. **2012**, 15, s. 1088–1095. DOI: 10.1038/nn.3159.

102. SCHIEBER AM, AYRES JS: Thermoregulation as a disease tolerance defense strategy. *Pathogens and disease*. **2016**, 74, s. 106. DOI: 10.1093/femspd/ftw106.
103. SCHREURS RRCE, SAGEBIEL AF, KAUFMANN M, MOKRY M, KLARENBECK PL: Human Fetal TNF- $\alpha$ -Cytokine-Producing CD4<sup>+</sup> Effector Memory T Cells Promote Intestinal Development and Mediate Inflammation Early in Life. *Immunity*. **2019**, 50, s. 462-476. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.12.010.
104. SINGH IS, HASDAY JD: Fever, hyperthermia and the heat shock response. *International Journal of Hyperthermia*. **2013**, 29, s. 423-435. DOI: 10.3109/02656736.2013.808766.
105. SMID J, SCHERNER M, WOLFRAM O, GROSCHECK T, WIPPERMANN J ET AL.: Cardiogenic Causes of Fever. *Deutsches Ärzteblatt International*. **2018**, 115, s. 193-199. DOI: 10.3238/arztebl.2018.0193.
106. SOBOLEWSKI C, CERELLA C, DICATO M, GHIBELLI L, DIEDERICH M: The Role of Cyclooxygenase-2 in Cell Proliferation and Cell Death in Human Malignancies. *International Journal of Cell Biology*. **2010**, 2010, s. 1-21. DOI: 10.1155/2010/215158.
107. SONG K, WANG H, KAMM GB, POHLE J, DE CASTRO REIS F ET AL.: The TRPM2 channel is a hypothalamic heat sensor that limits fever and can drive hypothermia. *Science*. **2016**, 353, s. 1393–1398. DOI: 10.1126/science.aaf7537.
108. STRÍŽ I: Cytokiny rodiny IL1 u chronických zánětlivých procesů. *Vnitřní lékařství*. **2019**, 65, s. 81-85. DOI: 10.36290/vnl.2019.020.
109. SU W, DING X: Methods of Endotoxin Detection. *Journal of Laboratory Automation*. **2015**, 20, s. 354-364. DOI: 10.1177/2211068215572136.
110. SUITO T, TOMINAGA M: Functional relationship between peripheral thermosensation and behavioral thermoregulation. *Frontiers in Neural Circuits*. **2024**, 18, s. 1435757. DOI: 10.3389/fncir.2024.1435757.
111. SUN Q, LIU X, LI X: Peptidoglycan-based immunomodulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **2022**, 106, s. 981-993. DOI: 10.1007/s00253-022-11795-4.
112. SUTTON JAF, CARNELL OT, LAFAGE L, GRAY J, BIBOY J: Staphylococcus aureus cell wall structure and dynamics during host-pathogen interaction. *PLoS pathogens*. **2021**, 17, s. 1009468. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009468.

113. SUWANWONGSE K, SHABAREK N: Hyperpyrexia in patients with COVID-19. *Journal of medical virology*. **2020**, 92, s. 2857-2862. DOI: 10.1002/jmv.26154.
114. SZENTIRMAI É, MASSIE AR, KAPÁS L: Lipoteichoic acid, a cell wall component of Gram-positive bacteria, induces sleep and fever and suppresses feeding. *Brain, Behavior, and Immunity*. **2021**, 96, s. 184-192. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.12.008.
115. TAN CL, KNIGHT ZA: Regulation of Body Temperature by the Nervous System. *Neuron*. **2018**, 98, s. 31-48. DOI: 10.1016/j.neuron.2018.02.022.
116. TANAKA T, NARAZAKI M, KISHIMOTO T: Interleukin (IL-6) Immunotherapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. **2018**, 10, s. 15. DOI: 10.1101/cshperspect.a028456.
117. TANSEY EA, JOHNSON CD: Recent advances in thermoregulation. *Advances in Physiology Education*. **2015**, 39, s. 139-148. DOI: 10.1152/advan.00126.2014.
118. TIMMAN S, ZHANG T, SOLATI S: The monocyte activation test detects potentiated cytokine release resulting from the synergistic effect of endotoxin and non-endotoxin pyrogens. *Innate Immunity*. **2022**, 28, s. 130–137. DOI: 10.1177/17534259221097948.
119. TORCHINSKY A, SHEPSHELOVICH J, ORENSTEIN H, ZASLAVSKY Z, SAVION S ET AL.: TNF-alpha protects embryos exposed to developmental toxicants. *American Journal of Reproductive Immunology*. **2003**, 49, s. 159-168. DOI: 10.1034/j.1600-0897.2003.01174.x.
120. UJISAWA T, SASAJIMA S, KASHIO M, TOMINAGA M: Thermal gradient ring reveals different temperature-dependent behaviors in mice lacking thermosensitive TRP channels. *Journal of Physiological Sciences*. **2022**, 72, s. 11. DOI: 10.1186/s12576-022-00835-3.
121. VASUDEVAN SO, RUSSO AJ, VANAJA SK, RATHINAM VA: A TLR4-independent critical role for CD14 in intracellular LPS sensing. *Cell Reports*. **2022**, 39, s. 110755. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110755.
122. VAUPEL P, PIAZENA H, NOTTER M, THOMSEN AR, GROSU AL ET AL.: From Localized Mild Hyperthermia to Improved Tumor Oxygenation: Physiological Mechanisms Critically Involved in Oncologic Thermo-Radio-Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. **2023**, 15, s. 1394. DOI: 10.3390/cancers15051394.

123. VISHNUPRIYA S: Bacterial endotoxin-lipopolysaccharide; structure, function, and its role in immunity in vertebrates and invertebrates. *Agriculture and Natural Resources*. **2018**, 52, s. 115-120. DOI: 10.1016/j.anres.2018.08.002.
124. WAGGONER SN, REIGHARD SD, GYUROVA IE, CRANERT SA, MAHL SE ET AL.: Roles of natural killer cells in antiviral immunity. *Current Opinion in Virology*. **2016**, 16, s. 15-23. DOI: 10.1016/j.coviro.2015.10.008.
125. WALLACH D: The Tumor Necrosis Factor Family: Family Conventions and Private Idiosyncrasies. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. **2018**, 10, s. 22. DOI: 10.1101/cshperspect.a028431.
126. WALTER EJ, CARRARETTO M: The neurological and cognitive consequences of hyperthermia. *Critical Care*. **2016**, 20, s. 199. DOI: 10.1186/s13054-016-1376-4.
127. WALTER EJ, HANNA-JUMMA S, CARRARETTO M, FORNI L: The pathophysiological basis and consequences of fever. *Critical care: The Official Journal of the Critical Care Forum*. **2016**, 20, s. 200. DOI: 10.1186/s13054-016-1375-5.
128. WANG X, NI L, WAN X, ZHAO X, DING S ET AL.: Febrile Temperature Critically Controls the Differentiation and Pathogenicity of T Helper 17 Cells. *Immunity*. **2020**, 52, s. 328-341. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.01.006.
129. WASSENAAR TM, ZIMMERMANN K: Lipopolysaccharides in Food, Food Supplements, and Probiotics: Should We be Worried? *European Journal of Microbiology and Immunology*. **2018**, 8, s. 63-69. DOI: 10.1556/1886.2018.00017.
130. WROTEK S, LEGRAND EK, DZIALUK A, ALCOCK J: Let fever do its job: The meaning of fever in the pandemic era. *Evolution, Medicine and Public Health*. **2020b**, 9, s. 26-35. DOI: 10.1093/emph/eoaa044.
131. WROTEK S, SOBOCIŃSKA J, KOZŁOWSKI HM, PAWLIKOWSKA M, JEDRZEJEWSKI T ET AL.: New Insights into the Role of Glutathione in the Mechanism of Fever. *International Journal of Molecular Sciences*. **2020a**, 21, s. 1393. DOI: 10.3390/ijms21041393.
132. WU Y, NIEUWENHOFF MD, HUYGEN FJ, VAN DER HELM FC, NIEHOF S, SCHOUTEN AC: Characterizing human skin blood flow regulation in response to different local skin temperature perturbations. *Microvascular Research*. **2017**, 111, s. 96-102. DOI: 10.1016/j.mvr.2016.12.007.

133. XIAO X, SANKARANARAYANAN K, KHOSLA CH: Biosynthesis and structure-activity relationships of the lipid a family of glycolipids. *Current Opinion in Chemical Biology*. **2017**, 40, s. 127-137. DOI: 10.1016/j.cbpa.2017.07.008.
134. XU X, RIOUX TP, CASTELLANI MP: Three dimensional models of human thermoregulation: A review. *Journal of Thermal Biology*. **2023**, 112, s. 103491. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2023.103491.
135. YANG H, SINGH M, KIM SJ, SCHAEFER J: Characterization of the Tertiary Structure of the Peptidoglycan of *Enterococcus faecalis*. *Biochimica et biophysica acta. Biomembranes*. **2017**, 1859, s. 2171-2180. DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.08.003.
136. YOU K, GU H, YUAN Z, XU X: Tumor Necrosis Factor Alpha Signaling and Organogenesis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. **2021**, 9, s. 9. DOI: 10.3389/fcell.2021.727075.
137. YU S, QUALLS-CREEKMORE E, REZAI-ZADEH K, JIANG Y, BERTHOUD HR ET AL.: Glutamatergic Preoptic Area Neurons That Express Leptin Receptors Drive Temperature-Dependent Body Weight Homeostasis. *The Journal of Neuroscience*. **2016**, 36, s. 5034-5046. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0213-16.2016.
138. ZAMPRONIO AR, SOARES DM, SOUZA GEP: Central mediators involved in the febrile response: effects of antipyretic drugs. *Temperature*. **2015**, 2, s. 506-521. DOI: 10.1080/23328940.2015.1102802.
139. ZANONI I, OSTUNI R, MAREK LM, BARRESI S, BARBALAT R ET AL.: CD14 controls the LPS-induced endocytosis of Toll-like Receptor 4. *Cell*. **2011**, 147, s. 868-880. DOI: 10.1016/j.cell.2011.09.051.
140. ZENG Z, SUREWAARD BGJ, WONG CHY, GEOGHEGAN JA, JENNE CN ET AL.: CRIG Functions as a Macrophage Pattern Receptor to Directly Bind and Capture Blood-Borne Gram-Positive Bacteria. *Cell Host and Microbe*. **2016**, 20, s. 99-106. DOI: 10.1016/j.chom.2016.06.002.
141. ZHANG J, XIE C, XU P, TONG Q, XIAO L ET AL.: Projections from subfornical organ to bed nucleus of the stria terminalis modulate inflammation-induced anxiety-like behaviors in mice. *Science Advances*. **2024**, 10, s. 2-17. DOI: 10.1126/sciadv.adp9413.
142. ZHANG JM, AN J: Cytokines, Inflammation and Pain. *International Anesthesiology Clinics*. **2007**, 45(2), s. 27-37. DOI: 10.1097/AIA.0b013e318034194e.

143. ZHOU Q, FU X, XU J, DONG S, LIU C ET AL.: Hypothalamic warm-sensitive neurons require TRPC4 channel for detecting internal warmth and regulating body temperature in mice. *Neuron*. **2023**, 111, s. 387-404. DOI: 10.1016/j.neuron.2022.11.008.