

Markery myokardiálního přetížení

Jan Krupička, Tomáš Janota

3. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

Výskyt srdečního selhání se celosvětově během posledních několika dekád pravidelně zvyšuje. Je to důsledek lepšího přežívání pacientů s kardiovaskulárními chorobami a nejen s tím souvisejícího stárnutí populace. Proto stoupá význam biochemických markerů, které včas odhalí přetížení srdečního svalu, umožní sledování léčebné odpovědi, a tím zefektivní péči o nemocné se srdečním selháním. Tuto úlohu zatím nejlépe plní natriuretické peptidy, jejichž význam byl potvrzen mnoha studiemi a které se postupně stávají součástí běžné klinické praxe. U pacientů s akutním i chronickým srdečním selháním často zjišťujeme také zvýšené hladiny srdečních troponinů, které ukazují na horší prognózu. Objevují se i novější biomarkery jako midregionální pro-adrenomedullin, midregionální pro-atriální natriuretický peptid a receptory pro interleukin 33, které mohou v souhře s natriuretickými peptidy dále zlepšit diagnostiku a rizikovou stratifikaci nemocných se srdečním selháním.

Klíčová slova: biomarkery, srdeční selhání, natriuretické peptidy, adrenomedullin, dušnost.

Biomarkers of myocardial overload

The worldwide incidence of heart failure is steadily increasing over the past several decades, partly due to the population aging and improved survival of patients with cardiovascular diseases. Therefore raises the importance of biochemical substances which would uncover ongoing cardiac overload, enable the treatment monitoring and make care of the patients with heart failure more effective. According to results of many clinical trials, this task is fulfilled at most by natriuretic peptides which gradually become a part of standard clinical practise. In patients with acute as well as chronic heart failure we frequently detect higher plasma levels of cardiac troponin which present worse prognosis in this population. Nowadays newer biomarkers are emerging such as mid-regional pro-adrenomedullin, mid-regional pro-atrial natriuretic peptide and receptors for interleukin 33, which could further improve the management of heart failure patients.

Key words: biological markers, heart failure, natriuretic peptides, adrenomedullin, dyspnea.

Interv Akut Kardiolog 2012; 11(1): 18–21

Úvod

Prevalence chronického srdečního selhání v naší populaci je okolo 1,3 %, avšak výrazně stoupá ve věkové skupině nad 75 let, kde dosahuje přes 8 % a je jednou z hlavních příčin morbidit a mortality (1). V České republice je ročně nově diagnostikováno srdeční selhání asi u 40 000 pacientů. Přes 40 % z nich během následujících 4 let zemře (2). To představuje významný zdravotnický i ekonomický problém. Včasné stanovení diagnózy a zahájení léčby je proto zásadní. Klinická diagnostika srdečního selhání však není jednoduchá. Symptomy srdečního selhání jsou nespecifické a typický klinický náález je přítomen u méně než 50 % pacientů. U pomocných vyšetřovacích metod včetně echokardiografie může být problémem jejich okamžitá dostupnost. Proto stoupá zájem o nové biochemické markery, které by byly užitečné nejen pro časnou a spolehlivou diagnostiku srdečního selhání, ale také pro stanovení prognózy nemocných a mohly by sloužit ke sledování efektu léčby, případně k titraci medikace. V neposlední řadě by měly být ekonomicky výhodné. V současnosti se těmto požadavkům nejvíce přibližují natriuretický peptid typu B (BNP) a jeho N-terminální propeptid (NT-proBNP), které se již

staly pevnou součástí schémat pro diagnostiku srdečního selhání. Při srdečním selhání mají prognostický význam i citlivé a specifické markery myokardiální nekrózy, srdeční troponiny (cTn) (3). V posledních letech se objevují další biochemické látky přinášející informace o stavu nemocných se srdečním selháním. Patří mezi ně např. mid-regionální propeptidy, receptor ST2 pro interleukin-33 (ST2) a chromograniny. Aditivní efekt kombinace biomarkerů srdečního selhání je otázkou budoucnosti. Cílem tohoto článku je stručný přehled klinického využití nejvýznamnějších markerů myokardiálního přetížení.

Natriuretické peptidy

Mezi natriuretické peptidy (NP) patří atriální natriuretický peptid (ANP), natriuretický peptid typu B (BNP) a natriuretický peptid typu C (CNP). Někteří autoři řadí mezi natriuretické peptidy i urodilatin, peptid vznikající z prekursoru atriálního natriuretického peptidu v buňkách distálních tubulů ledvin. V současné běžné klinické praxi je využíván jen BNP. Natriuretický peptid typu B byl objeven v roce 1988. Původně byl izolován z mozku prasat (odtud anglosaský název „brain“), nicméně později se ukázalo, že je tvořen zejména v myocytech srdečních ko-

mor a v menším množství i srdečních síní (4). Tvorba BNP je stimulována zvýšeným napětím srdeční stěny způsobené tlakovým a/nebo objemovým přetížením. Natriuretický peptid typu B vede především ke zvýšení diurézy, natriurúzy, vazodilataci, a tím ke snížení krevního tlaku. Znám je také antiproliferativní vliv na růst kardiomyocytů a svalových buněk cévní stěny (5). Natriuretickým peptidům se přisuzuje významná protektivní úloha v patofyziologii srdečního selhání. Při přetížení organismu tekutinami zvyšují diurézu a udržují rovnováhu tělesného sodíku. Díky svým receptorům v hypotalamu, prodloužené míše a kůře nadledvin zároveň inhibují negativní účinky sympatického a renin-angiotenzin-aldosteronového systému. Mohou tak přispívat k dlouhodobé asymptomaticitě systolické dysfunkce levé komory srdeční. Zdá se, že u pacientů s pokročilým srdečním selháním dochází k relativnímu nedostatku aktivní formy BNP a současně k rezistenci na BNP, ať už snížením počtu receptorů nebo jejich inaktivací (6).

Natriuretický peptid typu B je v kardiomyocytech syntetizován jako prohormon, který se nazývá proBNP. Po stimulaci kardiomyocytů zvýšeným napětím myokardu je proBNP proteolyticky štěpen na biologicky neaktivní

Tabulka 1. Natriuretické peptidy BNP a NT-proBNP v diagnostice srdečního selhání

	BNP	NT-proBNP
Biologický poločas	20 minut	60–120 minut
Dominantní mechanismus odstranění z plazmy	Receptory pro natriuretické peptidy	Renální clearance
Diskriminační hodnoty pro diagnózu srdečního selhání	100 pg/ml	300 pg/ml
Diskriminační hodnoty u pacientů s GFR<60 ml/min./1,73 m ²	200 pg/ml	1 200 pg/ml
GFR – glomerulární filtrace; BNP – natriuretický peptid typu B; NT–pro BNP–N – terminální propeptid natriuretického peptidu typu B		

N-terminální část molekuly (NT-proBNP) a biologicky aktivní hormon BNP. Oba peptidy jsou uvolňovány do cirkulace (7). Plazmatické koncentrace BNP a NT-proBNP spolu velmi dobře korelují. Přestože mají tyto molekuly společný původ, vzhledem k delšímu biologickému poločasu jsou hladiny cirkulujícího NT-proBNP vyšší než BNP, a to zejména při dysfunkci levé komory a při klinicky manifestním srdečním selhání. Díky delšímu biologickému poločasu a větší stabilitě lze NT-proBNP stanovovat ve vzorcích krve transportovaných za běžných podmínek až 4 hodiny po odběru. Naproti tomu analýza BNP v krevním vzorku by měla proběhnout téměř okamžitě, v opačném případě je nutné vzorky zamrazovat na teplotu pod -20 °C. Nevýhodou NT-proBNP je jeho výraznější ovlivnění renální insuficiencí (tabulka 1) (8).

Klinické využití natriuretických peptidů

Důkazy nashromážděné za posledních 10 let ukazují, že plazmatické koncentrace BNP

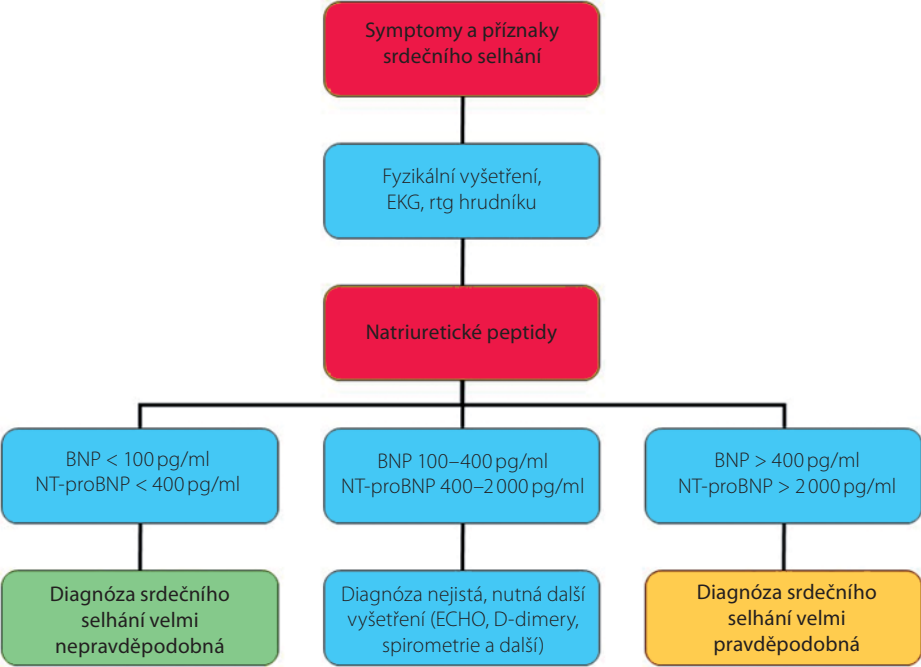
a NT-proBNP při srdečním selhání významně stoupají a korelují s funkčním stavem nemocných vyjádřeným klasifikací NYHA (9). Mnoho studií potvrdilo přínos stanovení BNP a NT-proBNP ke zpřesnění diagnózy srdečního selhání u pacientů vyšetřených pro dušnost v prostředí lékařských pohotovostí a emergentních příjmů. Nejznámější je prospektivní studie BNP (Breathing Not Properly), do které bylo zařazeno téměř 1 600 pacientů s náhle vzniklou dušností. Poskytla nám údaje, podle kterých má normální plazmatická koncentrace BNP (nižší než 100 ng/l) vysokou negativní prediktivní hodnotu pro přítomnost srdečního selhání a společně s klinickým vyšetřením výrazně usnadňuje stanovení příčiny stavů dušnosti (10). Podobná studie byla publikována i s NT-proBNP, kde byla jako hranice vylučující akutní srdeční selhání určena koncentrace 300 ng/l (11). Jednotné diskriminační hodnoty pro potvrzení diagnózy srdečního selhání dosud nebyly přijaty. Dle většiny klinických studií i našich zkušeností u neléčených pacientů hladina BNP > 400 ng/l a NT-proBNP > 2 000 ng/l zna-

mená již s velkou pravděpodobností přítomnost srdečního selhání (12) (obrázek 1). V šedé zóně je potřeba na srdeční selhání myslet, ale zároveň počítat s možností zvýšení NP jinými příčinami. K mírnému zvýšení koncentrace NP u pacientů starších 75 let a výraznějšímu zvýšení u pacientů s významnou renální insuficiencí dochází cestou zhoršené clearance. U nemocných s fibrilací síní jsou vyšší hladiny BNP a NT-proBNP odrazem negativního hemodynamického dopadu arytmie. Na druhé straně, vychytávání NP v tukové tkáni snižuje jejich koncentrace u obézních pacientů. U nemocných s tělesnou hmotností vyšší než 100 kg jsou hodnoty BNP prakticky poloviční.

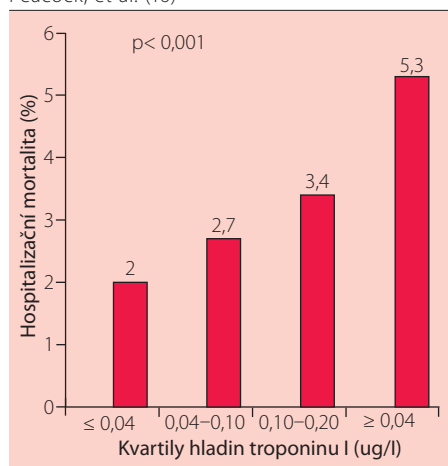
Natriuretické peptidy jsou užitečné nejenom k určení diagnózy srdečního selhání, ale mohou také předpovídat prognózu pacientů. Například ve studii Valsartan in Heart Failure Trial (Val-HeFT) pacienti se vstupní plazmatickou hladinou BNP >238 ng/l měli téměř 4x větší riziko úmrtí z jakékoliv příčiny než pacienti s hladinou BNP <41 ng/l. Navíc, pacienti s největším procentuálním poklesem BNP v průběhu studie oproti vstupním hodnotám měli nejnižší 4 a 12 měsíční úmrtnost, zatímco pacienti s největším nárůstem těchto hodnot měli úmrtnost nejvyšší (13). Bettencourt, et al. ve své práci zjistili, že prognóza u pacientů s více než 30 % poklesem plazmatických koncentrací NT-proBNP během hospitalizace pro srdeční selhání byla významně lepší oproti pacientům bez změny či dokonce se vzestupem koncentrací NT-proBNP. Autoři předpokládají, že právě u pacientů s významným poklesem NP během hospitalizace došlo ke skutečnému zlepšení zdravotního stavu a že je tedy možno podle hladiny natriuretických peptidů plánovat dimisi (14).

V posledních letech je na sympóziích týkajících se natriuretických peptidů nejvíce diskutována možnost řízení ambulantní léčby chronického srdečního selhání podle aktuálních hodnot BNP a NT-proBNP. Účelem pravidelného stanovování natriuretických peptidů je možnost včasné reakce na hrozící kardiální dekompenzaci, a tím snížení kardiovaskulární morbidity a mortality. Data z klinických studií nám zatím na tuto otázku nedala jednoznačnou odpověď. Zdá se, že zvláště u pacientů do 75 let se systolickým srdečním selháním zlepšuje léčba řízená k co nejnižším hodnotám natriuretických peptidů klinické výsledky. Naopak u starších pacientů, zejména se srdečním selháním a zachovalou systolickou funkcí levé komory, tato strategie zřejmě prospěch nepřináší. Je to dáno nejspíše horší tolerancí vysokých dávek léků využívaných k docílení lepší kompenzace srdečního selhání

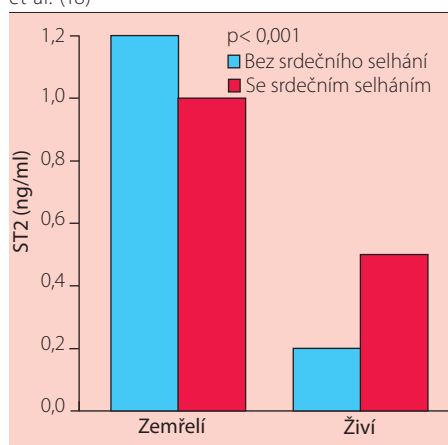
Obrázek 1. Algoritmus diagnostického využití plazmatických koncentrací natriuretických peptidů BNP a NT-proBNP u dosud neléčených nemocných, kteří mají symptomy a příznaky vzbuzující podezření na srdeční selhání



Obrázek 2. Hospitalizační mortalita u pacientů s akutním srdečním selháním ve studii ADHERE podle kvartilů koncentrací troponinu I. Volně podle Peacock, et al. (16)



Obrázek 3. Vztah koncentrace receptoru ST2 k jednorocní mortalitě u pacientů vyšetřovaných pro náhle vzniklou dušnost. Volně podle Januzzi, et al. (18)



respektive snížení NP. Z klinických studií vyplývá, že pacienti, u kterých je plazmatická koncentrace BNP nebo NT-proBNP pravidelně sledována a zohledňována v terapii, jsou léčeni vyššími dávkami léků, které mohou příznivě ovlivňovat prognózu (inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu, betablokátory). Nicméně, stanovení NP zatím hradí české pojišťovny u jednoho pacienta pouze 2x ročně, a to jen z indikace kardiologa.

Myokardiální troponiny u srdečního selhání

Jak ukazují velké klinické studie, lehce zvýšená koncentrace cTn je u pacientů se srdečním selháním poměrně častá, a to bez současných klinických a elektrokardiografických známek akutní ischemie myokardu. Při vyšetření standardními testy je cTnI zvýšen zhruba u 10% nemocných se srdečním selháním (15). Pozitivita cTn bývá často spojena s pokročilejším stadiem či dekompenzací onemocnění. Uvažuje se hned

několik mechanismů, které mohou vést k vzestupu hladiny cTn. Kromě nekrózy kardiomyocytů způsobené ischemií se může uplatňovat poškození oxidativním stresem a prozánětlivými cytokiny. Při zvýšeném preloadu popisují někteří autoři aktivaci proteolytických enzymů, štěpení malého množství volného cytoplazmatického cTn a uvolňování jeho fragmentů do cirkulace v důsledku poruchy buněčné kalciové homeostázy. Výrazná nerovnováha intracelulárního kalcia také může vést k apoptóze kardiomyocytů. Navíc i zcela viabilní buňky zřejmě mohou uvolňovat molekulu volného cytoplazmatického cTn při přechodném vzestupu permeability buněčné membrány v důsledku zvýšeného napětí svalového vlákna. Tento mechanismus je zprostředkován membránovými receptory, které jsou navázány na cytoskelet - integriny (3).

Mnoho studií prokázalo vztah elevace cTn a vyšší morbiditu a mortalitu u různých skupin pacientů se srdečním selháním. Ve studii ADHERE (Acute Decompensated Heart Failure National Registry) měli pacienti přijatí s akutním srdečním selháním a zvýšeným cTn výrazně vyšší hospitalizační mortalitu než ti, kteří měli cTn negativní (8% vs. 2,7%, p < 0,001) (obrázek 2), a to nezávisle na dalších základních klinických ukazatelích a hladinách NP (16). Zdá se také, že přetrvávající vzestup hladiny cTn i po týdnu intenzivní nemocniční léčby znamená horší prognózu (3). Latini, a kol. sledovali hodnoty vysoce senzitivního cTnT u ambulantních pacientů s chronickým srdečním selháním. Detekovatelnou hladinu ($\geq 0,001$ ug/l) zjistili u 92% pacientů, přičemž koncentrace nad čtvrtým decilem zjištěných hodnot (nad 0,00717 ug/l) byla provázána opět výrazně vyšším rizikem úmrtí (15). Přitom i tyto koncentrace vysoce senzitivního TnT jsou stále ještě pod cut-off hodnotou pro diagnózu akutního infarktu myokardu ($\geq 0,014$ ug/l) (17). Eggers, a kol. ve své práci zjistili zvýšené hladiny vysoce senzitivního TnT a TnI (nad 99. percentilem hodnot) u 35,9% respektive 47,6% pacientů se systolickou dysfunkcí levé komory srdeční. Přičemž tito pacienti měli zhruba 2,5x vyšší mortalitu než pacienti s hodnotami pod 99. percentilem (18).

Nové biomarkery

Zatímco NP se postupně dostávají do běžné klinické praxe, začínají se objevovat další nadějně molekuly, které by mohly dále zpřesnit informaci získanou pomocí vyšetření NP. Jednou z těchto nových molekul je např. adrenomedullin, peptid, který má silné vazodilatační účinky a jehož hladiny jsou u srdečního selhání výrazně zvýšené. Ve studii BACH (Biomarkers in the Assessment

of Congestive Heart Failure) u pacientů s náhle vzniklou dušností byly stanovovány midregionální pro-adrenomedullin (stabilnější propeptid adrenomedullinu) a midregionální pro-atriální natriuretický peptid. Ukázalo se, že jejich diagnostická přesnost k potvrzení srdečního selhání byla stejná nebo dokonce vyšší než u BNP a NT-proBNP. Klinický význam těchto nových propeptidů by mohl být zejména v oblasti tzv. šedé zóny již zavedených biomarkerů. Navíc midregionální pro-adrenomedullin se ukázal být silným nezávislým ukazatelem 90denní mortality u těchto pacientů (17).

Receptor ST2 (ST2) je vazebným místem pro interleukin 33, další peptid, který je syntetizován a uvolňován z myokardu při zvýšeném napětí kardiomyocytů. V experimentálním modelu vede vyřazení genu pro ST2 k hypertrofii myokardu a myokardiální fibróze (18). Januzzi, a kol. sledovali koncentrace ST2 cirkulujícího v plazmě a NT-proBNP také v souboru pacientů s náhle vzniklou dušností. Ačkoliv hladiny ST2 byly zvýšené u nemocných s akutním srdečním selháním oproti kontrolám, diagnostická přesnost biomarkeru nebyla taková jako u NT-proBNP. Zajímavé je, že hladina ST2 nad 0,2 ug/l byla silným prediktorem roční mortality u pacientů s dušností bez ohledu na přítomnost srdečního selhání (HR 5,6; p < 0,001) (obrázek 3) (18).

Chromograniny již dlouho slouží jako nádorové markery u pacientů s neuroendokrinními tumory. Navíc jejich zvýšené hladiny ukazují na zvýšenou aktivitu sympatického nervového systému, která je známým rizikovým faktorem u nemocných s akutním koronárním syndromem a srdečním selháním (19, 20). Zvažuje se tedy, zda zdrojem těchto proteinů není kromě neuroendokrinní tkáně také myokard a ledviny. Několik studií potvrdilo zvýšené koncentrace chromograninu A i B u pacientů s chronickým srdečním selháním. Jejich hodnoty navíc korelovaly s tíží srdečního selhání vyjádřenou klasifikací podle New York Heart Association (20, 21). Prognostický význam těchto proteinů se však zatím potvrdit nepodařilo.

Závěr

Biochemie získala v posledních letech zásadní úlohu v diagnostice a rizikové stratifikaci nejen u nemocných s akutním infarktem myokardu, ale i u nemocných se srdečním selháním. Diferenciálně diagnostické postupy se využitím velice citlivých markerů srdečního selhávání nezdjednodušují, spíše se posouvají o stupínek výše a správná práce s nimi vyžaduje další specializované znalosti a zkušenosti. Teprve potom se

stávají biomarkery účinným nástrojem nejen pro zpřesnění diagnostiky, ale také ke stanovení prognózy a sledování úspěšnosti léčby pacientů se srdečním selháním.

Literatura

1. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart* 2007; 93(9): 1137–1146.
2. Hradec J. Srdeční selhání - epidemie 21. století. *Vnitř Lék* 2004; 50(Suppl 1): S23–S31.
3. Kociol RD, Pang PS, Gheorghiade M, Fonarow GC, O'Connor CM, Felker GM. Troponin elevation in heart failure prevalence, mechanisms, and clinical implications. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56(14): 1071–1078.
4. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic Peptides. *N Engl J Med* 1998; 339(5): 321–328.
5. Vanderheyden M, Bartunek J, Goethals M. Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. *Eur J Heart Fail* 2004; 6(3): 261–268.
6. Chen HH. Heart failure: a state of brain natriuretic peptide deficiency or resistance or both! *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(10): 1089–1091.
7. McCullough PA, Sandberg KR. Sorting out the evidence on natriuretic peptides. *Rev Cardiovasc Med* 2003; 4(Suppl 4): S13–19.
8. Silver MA, Maisel A, Yancy CW, et al. BNP Consensus Panel 2004: A clinical approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases. *Congest Heart Fail* 2004; 10(5 Suppl 3): 1–30.
9. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, et al. Rapid Measurement of B-Type Natriuretic Peptide in the Emergency Diagnosis of Heart Failure. *N Engl J Med* 2002; 347(3): 161–167.
10. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, et al. B-Type Natriuretic Peptide and Clinical Judgment in Emergency Diagnosis of Heart Failure: Analysis From Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation* 2002; 106(4): 416–422.
11. Januzzi JL, van Kimmenade R, Lainchbury J, et al. NT-pro-BNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of 1256 patients: The International Collaborative of NT-proBNP Study. *Eur Heart J* 2006; 27(3): 330–337.
12. Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur J Heart Fail* 2008; 10(10): 933–989.
13. Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, et al. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation* 2003; 107(9): 1278–1283.
14. Bettencourt P, Azevedo A, Pimenta J, Frieoes F, Ferreira S, Ferreira A. N-terminal-pro-brain natriuretic peptide predicts outcome after hospital discharge in heart failure patients. *Circulation* 2004; 110(15): 2168–2174.
15. Latini R, Masson S, Anand IS, et al. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation* 2007; 116(11): 1242–1249.
16. Peacock WFT, De Marco T, Fonarow GC, et al. Cardiac troponin and outcome in acute heart failure. *N Engl J Med* 2008; 358(20): 2117–2126.
17. Freund Y, Chenevier-Gobeaux C, Bonnet P, et al. High-sensitive versus conventional troponin in the emergency department for the diagnosis of acute myocardial infarction. *Critic Care* 2011; 15: R147, v tisku.
18. Eggers KM, Nygren M, Venge P, Jernberg T, Wikström BG. High-sensitive troponin T and I are related to invasive hemodynamic data and mortality in patients with left-ventricular dysfunction and precapillary pulmonary hypertension. *Clin Chim Acta* 2011; 412(17–18): 1582–1588.
19. Maisel A, Mueller C, Nowak R, et al. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55(19): 2062–2076.
20. Januzzi JL, Jr Peacock WF, Maisel AS, et al. Measurement of the interleukin family member ST2 in patients with acute dyspnea: results from the PRIDE (Pro-Brain Natriuretic Peptide Investigation of Dyspnea in the Emergency Department) study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50(7): 607–613.
21. Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, et al. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 1984; 311(13): 819–823.
22. Rosjo H, Masson S, Latini R, et al. Prognostic value of chromogranin A in chronic heart failure: data from the GLSSI-Heart Failure trial. *Eur J Heart Fail* 2010; 12(6): 549–556.
23. Rosjo H, Husberg C, Dahl MB, et al. Chromogranin B in heart failure: a putative cardiac biomarker expressed in the failing myocardium. *Circ Heart Fail* 2010; 3(4): 503–511.

Článek přijat redakcí: 31. 5. 2011

Článek přijat k publikaci: 14. 7. 2011

MUDr. Jan Krupička

3. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2
j.krupicka@centrum.cz
