

OUABAÍN – OD ŠÍPOVÉHO JEDU K NOVÉMU STEROIDNÉMU HORMÓNU

MUČAJI P., NAGY M., GRANČAI D.

Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Katedra farmakognózie a botaniky, SR

SÚHRN

Ouabaín – od šíповého jedu k novému steroidnému hormónu

Viac ako dve storočia sa kardioglykozidy používajú v terapii opuchov a srdcovej nedostatočnosti. Ouabaín je dávno známy šíповý jed, ktorý sa získava z rôznych druhov rastlín rodu *Acokanthera* alebo *Strophanthus*. Množstvo získaných informácií v súčasnosti nasvedčuje tomu, že ouabaín a jemu podobné látky sú aj novými steroidnými hormónmi cicavcov, podieľajúcimi sa na patofyziológii srdcovo-cievnych ochorení. Zaujímavý je fakt, že 50 % pacientov s primárnou hypertenziou má zvýšenú hladinu endogénneho ouabaínu. Poznanie interakcií týchto látok s inými hormónmi podieľajúcimi sa na metabolizme vody a solí môže pomôcť pri diagnóze a terapii hypertenzie.

K l ú č o v é s l o v á: ouabaín – kardioglykozidy – steroidné hormóny

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 207–210

SUMMARY

Ouabain: from an Arrow Poison to a New Steroidal Hormone

For more than 200 years, cardiotonic glycosides have been used for the treatment of congestive heart failure. Ouabain is a well-known arrow poison obtained from different *Acokanthera* or *Strophanthus* species. Much information has now accumulated that this plant toxin and its congeners are mammalian steroid hormones involved in the pathophysiology of cardiovascular diseases. There is an interesting fact that 50% patients with essential hypertension have elevated levels of endogenous ouabain. A better knowledge of the interactions of these compounds with the hormones of salt and water metabolism might help to improve the diagnosis and therapy of hypertension.

K e y w o r d s: ouabain – cardiotonic glycosides – steroid hormones

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 207–210

Má

Už viac ako 200 rokov sa kardioglykozidy používajú na liečbu opuchov a srdcovej nedostatočnosti. Tieto látky zvyšujú tonus a silu kontrakcie dekompenzovaného myokardu. Liečivé rastliny s ich obsahom poznali už v starovekom Egypte a boli využívané s kolísavým úspechom až do 18. storočia, kedy anglický lekár a botanik Withering v roku 1785 popísal indikácie pre ich použitie ako aj poznámky o toxicite.

Ouabaín patrí medzi kardenolidy a získava sa najčastejšie z rôznych druhov rodu *Acokanthera* alebo *Strophanthus*. V minulosti bolo použitie týchto rastlín v Afrike veľmi rozšírené vo forme šíповých jedov. Väčšina šíповých jedov používaných v Afrike je rastlinného pôvodu a až 80 % tvoria kardioaktívne látky. Ouabaín ako ich účinná zložka bol na tieto účely ideálny – ľahko dostupný (*Acokanthera* rastie vo východnej časti krajiny a *Strophanthus* v jej západnej časti), spoľahlivo a rýchlo

účinný. Je vysoko toxický, vo vode ľahko rozpustný a extrahovateľný, čím sa môže získať koncentrovaný jed, obsahujúci 5–16 % kardioglykozidov (vyjadrených ako ouabaín), v niektorých prípadoch až 25 %. Ak sú uskladňované na suchom mieste, šíповé jedy získané z druhov rodu *Acokanthera* si zachovávajú účinok po desaťročia. Po použití tohto druhu jedov smrť nastupuje po niekoľkých minútach u všetkých teplokrvných živočíchov s rovnakými symptómami: záškľbmi hrudného svalstva, respiračnými potiažami, nepravidelnou činnosťou srdca, klonickými a tonickými kŕčami rôznych stupňov a zástavou srdca.

Vo všeobecnosti existujú u domorodého obyvateľstva tri základné spôsoby výroby šíповých jedov v závislosti od použitej časti rastliny. Najčastejšie sa pripravujú vodné odvary rastlín, pričom samotný proces je zdĺhavý a trvá obvyčajne niekoľko hodín až dní. Po zahutnení sa

získa viskózný extrakt, ktorý sa nanáša na hrot šípov. Druhým spôsobom je drvenie čerstvých rastlinných zložiek väčšinou bohatých na oleje (napr. semená, korene) s prídavkom lepivých výťažkov najmä z rastlín rodu *Euphorbia*. Tretím spôsobom je lisovanie čerstvého rastlinného materiálu.

V roku 1882 bolo po prvý raz demonštrované, že účinná zložka vodného extraktu stromov „Ouabaio“ je srdcový jed a bola pomenovaná ouabaín. V roku 1888 sa ouabaín získal v kryštalickej forme a o niekoľko týždňov neskôr bol získaný aj zo semien druhu *Strophanthus gratus* ako g-strofantín, tiež používaného na prípravu šípových jedov. V roku 1898 sa podarila jeho hydrolyza. Získala sa L-ramnóza a neznámy aglykón s piatimi OH skupinami. Jeho štruktúra bola vyriešená až v 50-tych a 60-tych rokoch minulého storočia rozvojom identifikačných analytických metód.

Acokanthera schimperii (syn. *Acokanthera ouabaio*), ale aj iné druhy tohto rodu sa v krajinách Afriky používajú aj v tradičnej medicíne pri žľčových kameňoch, ako afrodisiaká, na terapiu kvapavky, ako anthelmintiká a emetiká po uhryznutí hadom. Podobné použitie mali aj rôzne druhy rodu *Strophanthus*¹⁾. Nedávno sa zistilo, že ouabaín má aj cytostatický a cytotoxický účinok na bunkové línie PC-3 nádorov prostaty nezávislých od androgénov²⁾.

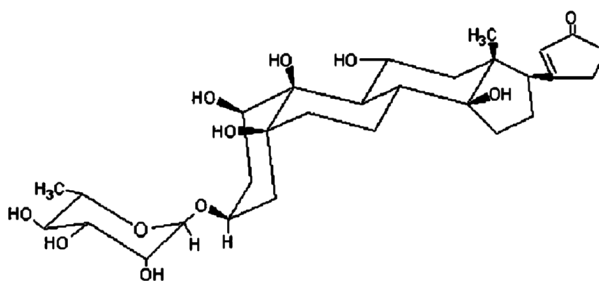
Farmakologické účinky

Farmakologický výskum strofantových šípových jedov viedol v roku 1885 k odporúčaniam, aby sa využívali ako nový liek a boli náhradou nespoľahlivej *digitalisovej* tinktúre, zvlášť kvôli rýchlejšiemu nástupu účinku. Zakrátko sa však objavili problémy súvisiace so zdrojom prírodného materiálu (*Strophanthus gratus*, *Strophanthus hispidus*, *Strophanthus kombe*), jeho zámenami a nejednotnosťou. Definitívne sa problém strofantovej tinktúry vyriešil v roku 1905 použitím izolovaného strofantínu intravenóznym podaním. Dávky používané v začiatkoch terapie boli časom redukované, keďže dochádzalo k mnohým toxickým príznakom, nezriedka aj s letálnym koncom. V súčasnosti sa ouabaín v terapii prakticky nepoužíva pre svoju nízku biologickú dostupnosť po perorálnom podaní (menej ako 5 %) a krátkotrvajúci pozitívny inotropický účinok (polčas v organizme 18 hodín). Svoje miesto však našiel v minulosti v liekoch mnohých krajín, nevynímajúc súčasný Slovenský³⁾ či Európsky liekopis⁴⁾.

Kardioglykozidy majú vo všeobecnosti pozitívny inotropný účinok (zvyšujú silu kontrakcie myokardu), negatívny chronotropný účinok (znižujú jeho frekvenciu), negatívny dromotropný účinok (spomaľujú prenos signálu v AV prevodovom systéme) a vyznačujú sa pozitívnym batmotropným účinkom (zvyšujú dráždivosť a automáciu myokardu), čím vznikajú extrasystoly a komorové fibrilácie. Nevýhodou terapie zostáva malá terapeutická šírka liečiva, t.j. hranica medzi terapeutickou a toxickou dávkou. Predávkovanie sa prejavuje arytmiami, nauzeou, bolesťami hlavy, poruchami videnia. V niektorých prípadoch nastáva úplná AV blokáda, bradykardia alebo ventrikulárna tachykardia. Smrť môže nastať v dôsledku ventrikulárnej fibrilácie.

Vzťah štruktúra-účinnosť

Veľká väčšina srdcových glykozidov (kardenolidov) má steroidnú štruktúru s *cis/trans/cis* usporiadaním kruhov A, B, C, D (obr. 1). Toto usporiadanie bolo dlho považované za nevyhnutné z hľadiska účinku. Novšie výskumy však ukazujú, že iba *cis* usporiadanie kruhov C/D je nevyhnutné a špecifické pre srdcové glykozidy. Konjugovaný systém dvojitých väzieb na uhlíku C-17 (karbonylová skupina v konjugácii s dvojitou C=C väzbou) je taktiež potrebná pre zachovanie aktivity – je to účinné zoskupenie kardenolidov. Samotný kruh nie je nevyhnutný. Otázna je potreba 3 β -hydroxylovej skupiny, keďže napr. u bufadienolidov zmena konfigurácie iba znižuje účinok, ale ho úplne neruší. β -hydroxylová skupina v polohe 14 tiež nie je úplne nevyhnutná z hľadiska účinku, keďže niektoré 14-deoxy deriváty sú tiež aktívne. Jej epimerizácia na 14 α -OH skupinu však aktivitu ruší.



Obr. 1. Ouabaín

Mechanizmus účinku

Vo všeobecnosti platí, že inotropný efekt srdcových glykozidov je vyvolaný inhibíciou membránovej Na⁺-K⁺-ATPázy (sodíkovej pumpy). Tento typ pumpy udržuje normálny pokojový potenciál vzruchových buniek, vysokú koncentráciu intracelulárneho K⁺ a nízku hladinu intracelulárneho Na⁺. Podjednotka α tejto pumpy sa vyskytuje v niekoľkých izoformách. Izoforma α_1 sodíkovej pumpy sa nachádza ubikvitárne v plazmatických membránach (PM) a pravdepodobne je zodpovedná za udržiavanie nízkej koncentrácie cytozolového Na⁺. Izoformy α_2/α_3 sú špecificky umiestnené v oblasti PM blízko endoplazmatického (ER) alebo sarkoplazmatického (SR) retikula („junctional“ ER/SR). Výskytom v tzv. plazmerozómoch (PM-junctional SR-ER units) môžu prostredníctvom regulácie hladiny Na⁺ nepriamo regulovať aj hladinu Ca²⁺ v ohraničenom cytozole priestore medzi PM a retikulom a ovplyvňovať vápnikové signalizáciu v rôznych typoch buniek. Katalytická α podjednotka obsahuje aj väzobné miesto selektívneho inhibítora – ouabaínu. Jednotlivé izoformy majú rôznu afinitu voči ouabaínu. Podjednotka α_1 sa vyznačuje nízkou afinitou, kým α_2/α_3 ju majú vysokú^{5,6)}. Srdcové glykozidy inhibujú túto ATPázu v koncentračnej závislosti a na svoju väzbu vyžadujú prítomnosť Na⁺, Mg²⁺ ióny a ATP. Extracelulárne K⁺ ióny túto väzbu inhibujú. Taktiež platí zhoda v názoroch, že srdcové glykozidy spôsobujú zvýšenie dostupnosti Ca²⁺ iónov kontraktilným proteínom v srdcovom svale. Existuje úzky vzťah medzi koncentráciou intracelulárneho vápnika a zvýšením kon-

trakčnej schopnosti srdca. Inhibícia sodíkovej pumpy a následná redukcia transmembránového gradientu sodíka potrebného k výmene extracelulárneho sodíka za intracelulárny vápnik $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ko-transportným systémom vedie k inhibícii tejto výmeny a k akumulácii iónov Ca^{2+} . Počas diastoly sú ióny vápnika uskladnené v sarkoplazmatickom retikule. V čase systoly dochádza k zvýšeniu intracelulárnej hladiny vápnika jeho zvýšeným uvoľňovaním z intracelulárnych zásobární a zvýšeného vtoku zvonku, čo vedie v konečnom dôsledku k pozitívnemu inotropnému účinku. Ovplyvnením koncentrácie intracelulárneho vápnika môžu tieto látky tiež ovplyvniť génovú expresiu proteínov (vznik srdcovej hypertrofiie), alebo modulovať rôzne Ca^{2+} dependentné mechanizmy v organizme ⁷⁾.

Pre toxické dávky srdcových glykozidov neexistuje skutočný protijed. Napr. šípové jedy s obsahom kardioglykozidov spôsobujú smrť v krátkom čase v dôsledku ireverzibilnej kontrakcie srdcového svalu. K^+ ióny a srdcové glykozidy navzájom inhibujú väzobné miesta na $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPáze}$. Mierne zvýšenie extracelulárnej hladiny K^+ iónov znižuje toxický efekt kardioglykozidov, kým ióny Ca^{2+} tento efekt uľahčujú. V terapeutickej praxi sa pri predávkovaní doporučuje výplach žalúdka, použitie čierneho uhlia, môže sa podať kolestýramín, v prípade tachyarytmií sú indikované antiarytmiká. V niektorých prípadoch sa podávajú protilátky proti digitalisu (antidigoxín), čo však môže byť spojené s nežiadúcimi účinkami kvôli použitiu cudzorodých bielkovín. V budúcnosti by riešenie tejto situácie mohli priniesť štúdie zamerané na projektovanie a vývoj liečiv s kompetitívnym antagonistickým účinkom voči kardioglykozidom ⁸⁾.

Identifikácia ouabaínu ako nového steroidného hormónu

V súčasnosti je ouabaín zaujímavý a študovaný aj z iného hľadiska. Výsledky terapie kardioglykozidmi boli také presvedčivé, že Albert Szent Györgyi v roku 1953 vyslovil teóriu existencie endogénnych „digitalisov“ u cicavcov (hypotézu analogickú tej, ktorá viedla k objaveniu a izolácii endorfínov a enkefalínov) a oživil tak podobnú myšlienku publikovanú už v roku 1885 Ringerom ⁹⁾. Trvalo ešte viac ako 30 rokov po Szent Györgyim, kým sa existencia týchto látok ako nových endogénnych steroidných hormónov potvrdila. Ouabaínu podobný faktor (ouabain like factor-OLF, ouabain like compound-OLC) bol izolovaný z ľudskej plazmy (31 μg z 300 litrov) a z hypotalamu hovädzieho dobytku (hypotalamic inhibitory factor-HIF, 3 μg z viac ako 20 kg hovädzích hypotalamov zozbieraných za obdobie 10 rokov). Neskôr sa ukázalo, že oba tieto faktory sú navzájom identické a analyticky či imunologicky nerozlišiteľné od rastlinného ouabaínu ¹⁰⁾.

Dnes je známe, že syntéza endogénnych kardioglykozidov prebieha v kôre nadobličiek ¹¹⁾ napriek skutočnosti, že napr. orálne a parenterálne podaný ouabaín je selektívne vychytávaný nadobličkami, aj keď jeho resorpcia v tenkom čreve sa odhaduje iba na 3–5 % ⁹⁾. Jeho uvoľňovanie je stimulované zvýšenou hladinou Na^+ , fyzickou záťažou alebo hypoxiou ^{12, 13)}. Tkanivové kultúry buniek kôry nadobličiek produkujú ouabaín po pôsobení adre-

nokortikotropného hormónu (ACTH) a angiotenzínu II (AII) prostredníctvom angiotenzínových receptorov typu II (AT_2), keďže ich agonista, látka CGP 42112 stimuluje jeho uvoľňovanie. Naopak antagonist PD 123319 ho inhibuje ¹⁴⁾. Predpokladá sa, že produkcia a vylučovanie endogénneho ouabaínu môžu byť regulované aj prostredníctvom acetylcholínu. Ten pôsobí v organizme prostredníctvom nikotínových a muskarínových receptorov. V súvislosti s tým je zaujímavé a možné vysvetlenie nežiadúcich účinkov exogénneho nikotínu (u fajčiarov), ako je napr. vazokonstrikcia a hypertenzia ¹⁵⁾.

Informácie o fyziológii a patofyziológii endogénneho ouabaínu sa ešte len získavajú. Pri krátkodobej fyzickej záťaži psov sa koncentrácia ouabaínu zvyšuje 50–500x a inotropným účinkom ouabaín pravdepodobne zvyšuje kontraktilitu srdcového svalu. V pokoji sa hladina ouabaínu znižuje s polčasom 5–8 min. Expozícia tkanív zvýšenej hladiny ouabaínu z dlhodobého hľadiska ovplyvňuje expresiu proteínov v srdcovom svale a môže viesť k hypertrofii srdca. Dlhodobé pôsobenie nízkych dávok ouabaínu vedie u potkanov k hypertenzii. Zvýšená hladina ouabaínu bola zistená pri poruchách sodíkovo-metabolizmu, chronických poruchách funkcie obličiek, hyperaldosteronizme alebo preeklampsii ¹⁶⁾. Veľmi zaujímavé je zistenie, že 50 % pacientov s primárnou hypertenziou s nízkou hladinou renínu má zvýšenú hladinu endogénneho ouabaínu. Infúzne podávanie antidigoxínu (skrížená reakcia s ouabaínom) znižuje tlak krvi u ľudí a potkanov. Taktiež antagonist ouabaínu, látka s perorálnym podaním a označením PST 2238 ¹⁷⁾ alebo K-kanrenoát znižuje tlak krvi ¹⁸⁾. Keďže všetky steroidné hormóny v krvi sú prenášané väzbou na špecifické globulíny, očakávalo sa, že takéto existujú aj pre srdcové glykozidy. Neskôr boli nájdené v plazme, obličkách, pečeni a kostrových svaloch.

Účasť endogénneho ouabaínu a príbuzných inhibítorov sodíkovej pumpy je možná nielen pri kardiovaskulárnych, ale aj pri rôznych iných ochoreniach. V ľudských šošovkách postihnutých kataraktou (tu ovplyvňujú osmotickú rovnováhu a indukujú tvorbu zákalu) je ich koncentrácia oveľa vyššia ako v zdravých a z nich boli aj izolované 19-norbufalín a jeho treonín-glycín-alanínový tripeptidový derivát ⁹⁾. V posledných rokoch pribúda prác dokazujúcich možnú účasť týchto látok aj pri niektorých typoch ochorení pľúc ¹⁹⁾, vredovej chorobe žalúdka ²⁰⁾ alebo pri diabetes mellitus ²¹⁾.

ZÁVER

Identifikované boli aj iné látky napr. marinobufagenín, proscilaridín A alebo endogénny digoxín. Marinobufagenín bol izolovaný z moču pacientov s infarktom myokardu, kedy jeho hladina stúpa. Táto látka inhibuje α_1 izoformu $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPázy}$ (hlavná izoforma sodíkovej pumpy obličiek) oveľa lepšie ako iné izoformy sodíkovej pumpy a môže vykazovať nátriuretické vlastnosti a znižovať objem plazmy. V súčasnosti ešte nie je zrejmé ako tieto nové látky kardioglykozidovej povahy môžu zasa-

hovať do ouabaínového systému. Z experimentov je zrejme, že napr. digoxín ruší hypertenzný účinok ouabaínu. Výsledok účinku spočíva pravdepodobne v spolupráci pri riadení homeostázy vody a solí v organizme. Pochoopenie týchto súvislostí môže pomôcť pri diagnóze a terapii hypertenzie.

Práca vznikla za podpory grantu 1/1185/04 VEGA MŠ SR.

LITERATÚRA

1. **Neuwinger, H. D.:** African Ethnobotany. Poisons and Drugs. Chemistry, Pharmacology, Toxicology. Chapman & Hall GmbH, Weinheim, Germany, 1996.
2. **Huang, Y. T., Chueh, S. Ch., Teng, Ch. M., Guh, J. H.:** Biochemical Pharmacology, 2004; 67, 727–733.
3. Slovenský liekopis, vydanie prvé, zväzok V. Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky, vydavateľstvo Herba, 2002, s.3253.
4. European Pharmacopoeia, Fifth Edition, Vol.2, Council of Europe, Strasbourg, 01/2005, s. 2158.
5. **Juhászova, M., Blaustein, P. M.:** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997; 94, 1800-1805.
6. **Blaustein, M. P., Robinson, S. W., Gottlieb, S. S. et al.:** Molecular Interventions, 2003; 3, 68-72.
7. **Aizman, O., Uhlén, P., Lal, M. et al.:** PNAS, 2001; 98, 13420-13424.
8. **Paula, S., Tabet, M.R., Ball, W.J.:** Biochemistry, 2005; 44, 498-510.
9. **Schoner, W.:** Eur. J. Biochem., 2002; 269, 2440-2448.
10. **Nakanishi, K., Berova, N., Lo, L.Ch. et al.:** Searching for an endogenous mammalian cardiotonic factor. In: Saponins used in Traditional and Modern Medicine (Eds.: Waller, G. R., Yamasaki, K.), New York, Plenum Press, 1996, s. 219-224.
11. **Qazzaz, H. M., Cao, Z., Bolanowski, D. D. et al.:** Clinical Chemistry, 2004; 50, 612-620.
12. **Wang, J. G., Staessen, J. A., Messaggio, E. et al.:** J. Hypertens., 2003; 21, 1475-1481.
13. **Wang, H., Leenen, F. H.:** J. Hypertens., 2003; 21, 1519-1524.
14. **Foster, R. H., Prat, H., Rothman, I.:** Gen. Pharmac., 1998; 31, 499-501.
15. **Gooz, M., Toth, M., Vakkuri, O. et al.:** Life Sciences, 2004; 74, s. 2111- 2128.
16. **Wang, H., Huang, B. S., Leenen, F. H. H.:** Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 2003; 285, 2516-2523.
17. **Schoner, W.:** Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 2000; 108, 449-454.
18. **Balzan, S., Nicolini, G., Bellitto, L. et al.:** J. Cardiovasc. Pharmacol., 2003; 42, 32-36.
19. **Kurup, R. K., Kurup, P. A.:** Intern. J. Neuroscience., 2003; 113, 1427-1443.
20. **Kurup, R. K., Kurup, P. A.:** Intern. J. Neuroscience., 2003; 113, 1395-1412.
21. **Martinka, E., Matúšek, J., Očenášová, A. et al.:** Bratisl. lek. Listy, 1997; 98, 544-554.

Došlo 18. 2. 2005.

Přijato ke zveřejnění 10. 4. 2005.

doc. PharmDr. Pavel Mučaji, PhD.
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR
e-mail: mucaji@pharm.uniba.sk

NOVÉ KNIHY

Drábek, P., Hanzlíček, Z.: **Farmacie ve dvacátém století.** Společnost pro dějiny věd a techniky – edice Práce z dějin techniky a přírodních věd, svazek 6, Praha, 2005, 148 s. ISSN 1801-0040.

Autoři publikace zaznamenali v chronologické následnosti stručný přehled událostí v oblasti farmacie v našem regionu spatřých s časovým rámcem minulého století. Zahrnuli sem oblasti Rakousko-Uherska, Československa, České republiky a částečně i země evropského regionu v souvislosti s naší farmacii.

Popsat události z oblasti farmacie za celé poslední století, kdy došlo k bouřlivému rozvoji techniky a přírodních věd, je úkol velmi obtížný. Autoři dokázali přehledně uspořádat text, zhruba podle politického vývoje v našich zemích, do šesti kapitol. Každá kapitola obsahuje všeobecný přehled událostí, za kterým následují chronologicky řazené události a informace z jednotlivých etap příslušných období. V kapitolách jsou tato období rozdělena na léta 1901–1918, 1919–1938, 1939–1949, 1950–1959, 1960–1989, 1990–2000.

Následují seznam zkratk, jmenný rejstřík, abecední seznam článků

(stručných ucelených informací zařazených do kontextu příslušných let), seznam použité literatury a anglický souhrn popisující publikaci. Text je doplněn 18 přílohami uvádějícími přehled některých významnějších zahraničních a domácích farmaceutických periodik a lékopisů platných ve 20. století. Jsou zde údaje o počtu lékáren, o farmaceutických společnostech v českých zemích a informace o některých mezinárodních kongresech. V dalších přílohách je uveden přehled vývoje a objevů v některých skupinách léčiv.

Autoři této publikace jsou renomovaní odborníci z oblasti historie farmacie. Na malém prostoru vymezeném typem této publikace dokázali zpracovat velké množství údajů a faktů z prakticky celé epochy 20. století. Protože se zaměřili na farmacii převážně našeho regionu, mnozí čtenáři budou jistě hodnotit i výběr údajů a jejich důležitost.

Doporučuji přečíst a pracovat s publikací všem, kteří se o oblast farmacie zajímají. Najdou v ní mnoho informací, které pro ně budou zajímavé, pro mladší čtenáře jistě i nové, ale předně nás bohatý obsah donutí k zamyšlení o profesní kultuře tohoto oboru ve vztahu k jeho budoucnosti.

P. Komárek