

desítek let. Z logiky věci však vyplývá, že ke vzniku zhoubného nádoru u očkovaných nedojde.

Obě vakcíny obsahují VLP dvou nejbezpečnějších typů PV (tj. 16 a 18), které odpovídají za více než 70 % případů KDC. Proti ostatním typům lidských papillomavirů, které mají na svědomí zbyvajících část nemocných KDC, vakcína chránit nebude, i když se nedávno objevily zprávy, že její podání vyvolává částečnou zkříženou imunitu i proti několika dalším typům PV, které vakcína neobsahuje. Tyto výsledky mají předběžný charakter a je nutné je potvrdit v dalších studiích.

Očekávaný pokles počtu případů u žen očkovaných existujícími vakcínami o téměř tři čtvrtiny je však impozantní. Uvážíme-li, že ČR patří mezi evropské země s vysokým výskytem karcinomu děložního čípku (cca 22 případů na 100 000 žen za rok), pak by u nás očkování mohlo zabránit přibližně 700–800 případům nemoci ročně. K tomu ovšem dojde pouze za předpokladu, že bude zvolena očkovací politika respektující současné znalosti o patogeneze, imunogeneze a epidemiologie nemoci a dosavadní zkušenosti s účinností očkovací látky. Za plně oprávněné lze prozatím považovat očkování dívek ve věku 12–13 let, tj. těch, které dosud nezačaly sexuální život, s pří-

padným přeočkováním ve věku 18–19 let. Vážnými kandidáty na očkování jsou též ženy, které již byly infikovány, ale nejeví zatím známky nemoci. Protože se ví, že infekce je tím nebezpečnější, čím déle trvá, zkrácení doby trvání infekce imunizací by snížilo riziko pozdějšího vzniku nemoci. U těchto žen však asi nelze očekávat 100% účinnost vakcinace. Je totiž možné, že i po relativně krátkém trvání infekce se virový genetický materiál začlenil do některých buněk. Takto pozměněné buňky se stávají potenciálními nádorovými buňkami. Pro ně jsou charakteristické jiné virové antigeny než ty, které obsahuje vakcína a očkovaním vytvořená imunita je nemůže postihnout.

Zkoumá se rovněž, zda by vakcína mohla příznivě ovlivnit odhojení mírných změn, které předcházejí vzniku onemocnění. Jsou relativně časným projevem probíhající infekce a velmi často vymizí spontánně. Lze totiž očekávat, že vysoká imunita vyvolaná protivirovou vakcínou omezí rozsah infekce a napomůže přirozeným imunitním reakcím organismu, které asi hrají při odhojení těchto lehkých změn nejdůležitější roli. Kdyby se vakcína osvědčila i v této situaci, mohli bychom ji považovat za vakcínu s terapeutickými účinky.

Ať již bude vývoj vakcinační politiky v příštích letech jakýkoli, je nepochybné, že

vakcíny proti karcinomu děložního čípku znamenají významný průlom v boji se zhoubným bujením. Jejich přípravu je možné považovat za jeden z největších úspěchů virologického a onkologického výzkumu všech dob. Pokud by se očkování provádělo ve velkém rozsahu a pokud by složení vakcíny pokrylo celé spektrum onkogenních papillomavirů, pak by časem, spíše však ve vzdálené budoucnosti, mohla být tato zákeřná zhoubná choroba vymýcena.

Naskytá se otázka, zda bude možné zavést někdy v budoucnosti preventivní vakcíny i proti nádorům neviróvého původu. Zatím takové nejsou na obzoru, přesto je však možné o nich uvažovat. Mohly by se jimi stát vakcíny založené na antigenech charakteristických pro některé nejčastěji aktivované (mutované) onkogeny. Prozatím však chybějí dostatečné podklady z experimentálních studií, které by tento přístup jednoznačně podpořily. Nicméně jeho logika je nesporná a dříve či později dojde k pokusům jej využít.

V druhé části přehledu v dalším čísle Živy se pokusím stručně popsat a rozebrat problematiku protinádorových terapeutických vakcín. Přes nesporné styčné body jde o imunopreparáty jiného typu s odlišnými mechanismy účinku než u vakcín preventivních.

Co je to geometrická morfometrika aneb morfologie znovu na scéně

Jiří Neustupa

Jednou z nejužasnějších vlastností živé přírody je bezesporu její tvarová rozmanitost. Od mořských medúz po nosorožce, od jednobuněčných krásivek po orchideje — bohatství tvarů živých organismů se zdá být nevyčerpatelné. Není proto překvapivé, že taková rozmanitost tvarů vždy přitahovala pozornost přírodovědců.

Morfologii — vědu o tvaru — uvedl do biologie na konci 18. stol. Johann Wolfgang Goethe a definoval ji jako obor zabývající se zákonitostmi vzniku a přeměny živých tvarů v přírodě. Goethe osobně se věnoval hlavně morfologii kvetoucích rostlin a vykládal jednotlivé struktury rostlinného těla jejich vzájemnými transformacemi. Morfologie byla vědou založenou na zkušenosti vědce, na jeho porozumění zkoumaným

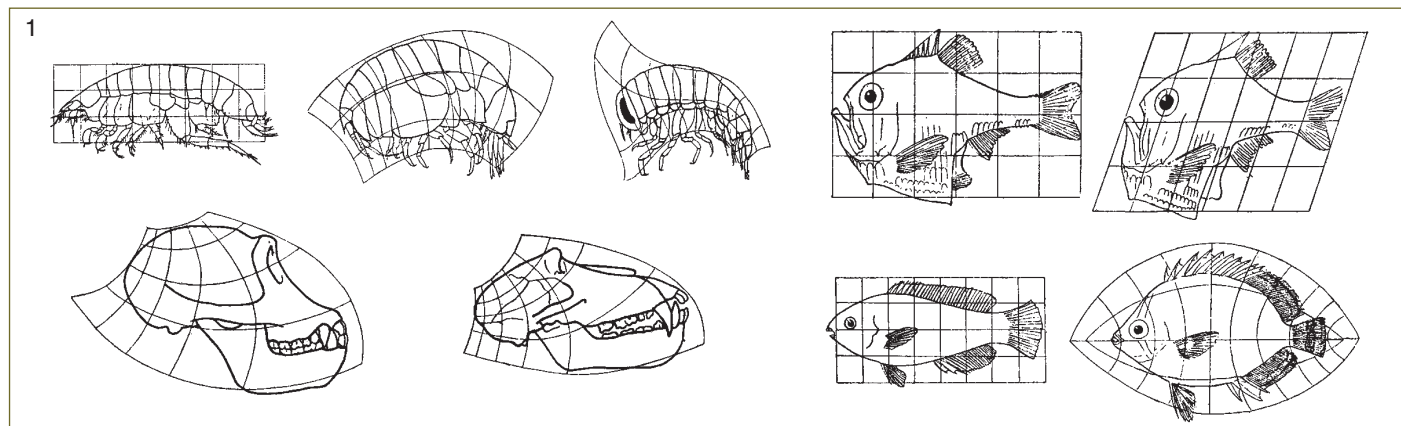
organismům a na výkladu pozorovaných jevů. V 19. stol. se stala základním biologickým oborem. Slavný český botanik prof. Josef Velenovský označil morfologii za královnu biologických věd. Mezi její hlavní poznatky patřily v té době teorie o původu květních struktur rostlin z vegetativních listů či teorie o evolučních transformacích žaberních oblouků u obratlovců. Morfologie stála v samotných základech biologie,

podle morfologických znaků se utvářel systém organismů, podle posloupnosti tvarových přeměn se vykládala jejich evoluce. Bez detailních morfologických znalostí se nemohl obejít biolog žádné specializace, takže morfologie patřila k základům univerzitního přírodovědného vzdělání.

V tomto kontextu můžeme vnímat 20. stol., a zejména jeho druhou polovinu, jako éru velkého úpadku morfologie. Biologie se totiž propracovala k fascinujícím chemickým základům života, zejména informačním nukleovým kyselinám. Rozeznání jejich struktury vedlo k rychlému rozvoji biochemie a molekulární biologie a paralelně tak k relativnímu úpadku morfologické biologie, která se nakonec stala pouze jakousi pomocnou disciplínou pro dynamičtější, biochemicky a fyziologicky zaměřené vědy o životě.

V současné době ovšem v biologii pozorujeme nespornou renesanci tvarových přístupů — důkazem mohou být např. rychle rostoucí počty odborných publikací v předních mezinárodních časopisech v posled-

Obr. 1 Příklady D'Arcy Thompsonových transformačních mřížek. Podle D'Arcyho Thompsona: On Growth and Form (1917), blíže v textu



ních zhruba 10 letech. Děje se tak zejména díky převratnému rozvoji jedné z morfologických specializací — morfometriky.

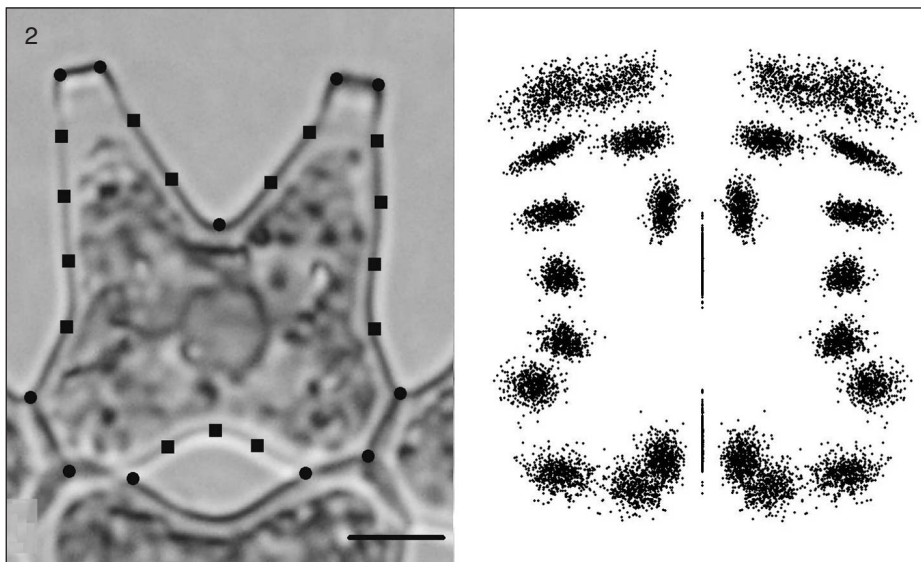
Tento obor se v biologii etabloval již před několika desítkami let a jeho základem původně bylo statistické hodnocení vzdáleností a úhlů na tělech a strukturách zkoumaných organismů. Zejména v systematice rostlin se tato klasická morfometrika stala jakýmsi standardem vědecké práce. Např. při rozlišování blízce příbuzných rostlinných druhů se běžně začaly používat kvantitativní morfometrické metody („změřte šířku, délku a počet zoubků na 500 listech a okvětních plátcích vašich druhů a pokud zjistíte statisticky významné rozdíly, jde o různé druhy/poddruhy, atd.“). Problémem nastíněné morfometriky ovšem bylo — vedle určité jednotvárnosti — že měření jednotlivých délek, počtů či úhlů špatně vypovídá o zákonitostech vývoje a přeměn tvarů jako takových — a právě to byl přece původní cíl morfologie jako vědy.

Jeden z prvních pokusů, jak se s tímto nedostatkem vyrovnat a přiblížit se pochopení zákonitostí a příčin tvarové rozmanitosti v přírodě, představuje dílo britského biologa D'Arcy Thompsona *On Growth and Form* (O růstu a tvaru), které poprvé vyšlo v r. 1917 a podruhé v rozšířeném vydání v r. 1942. Dnes tato rozsáhlá kniha patří k jedněm z nejcitovanějších biologických děl a současná morfologové ji stále považují za zdroj velké inspirace a poučení.

D'Arcy Thompson se pokusil nesmírně množství a rozmanitost tvarů v přírodě vysvětlit pomocí matematických zákonitostí, které by dovolily vytvořit i tak složité tvary, jako jsou třeba schránka mořského plže, struktura květu nebo tělo jednobuněčných bičíkovic. Jeho asi nejznámějším objevem se staly tzv. transformační mřížky (obr. 1).

D'Arcy Thompson ukázal, že proměny i hodně složitých tvarů, jako jsou třeba lebky obratlovců nebo těla ryb, lze v rámci jednotlivých skupin a vývojových větví matematicky vyjádřit pouhými transformacemi souřadnicových mřížek. Deformace těchto mřížek je pak možné matematicky popsat a „porozumět“ tak charakteru morfologické dynamiky ve zkoumané skupině (např. s pomocí takového matematického popisu modelovat ontogenezi, přechodné články evolučního vývoje nebo jeho možné budoucí trendy). Konkrétní matematický popis transformací složitých tvarů však není ve většině případů vůbec jednoduchý, a tak se Thompsonův nápad nemohl ujmout a rozvinout dříve než na samém konci 20. stol., kdy došlo k obrovskému rozvoji počítačové techniky.

V r. 1991 publikoval americký biolog a matematik Fred Bookstein knihu *Geometric Tools for Morphometric Data: Geometry and Biology* (Geometrické metody pro morfometrická data: geometrie a biologie). Tato kniha se společně s některými publikacemi amerického biostatistika Jamese Rohlfy stala základem nového oboru — geometrické morfometriky, neboli vědy o tvarech. Booksteinovi se podařilo vytvořit teoretický rámec pro analýzu biologických tvarů, který umožňuje znázornění a modelování morfologických přeměn pomocí D'Arcy Thompsonových transformačních mřížek. Jeho metoda je založena na analýze landmarků, tedy strukturně homologních (shodných) bodů na souboru zkoumaných objektů. Analyzujeme-li např. lidský obličej, může landmarkem být třeba



Obr. 2 Homologní body (landmarky) na buňce planktonní zelené řasy *Pediastrum duplex* a zbytkové vzdálenosti jednotlivých landmarků po prokrustovské analýze souboru 550 analyzovaných buněk (blíže viz text). Měřítka je 5 μ m

špička nosu; v případě dubového listu mohou jako příklad landmarků sloužit báze čepele nebo vrcholky listu. Landmarky jsou prosté body, které můžeme na všech srovnávaných objektech najít a počítačově digitalizovat jejich polohu — ve dvou nebo i třech rozměrech.

Dalším krokem je pak prokrustovská analýza. Její název pochází z antického příběhu o Théseovi, který zabil obávaného obra Prokrusta. Tento obr byl postrachem mnoha poutníků, které chytal a ukládal na svoji speciální postel — Prokrustovo lože. Shledal-li pak jejich rozměry ve vztahu k posteli jako špatně odpovídající, snažil se je posteli přizpůsobit: natahoval je, či případně osekával na obou koncích. Prokrustovská analýza v morfometrice zajisté není tak brutální. Analyzovaný soubor objektů je počítačově přeložen na sebe tak, aby mezi navzájem si odpovídajícími landmarky byly v souhrnu co nejmenší vzdálenosti. Každý jednotlivý objekt tak může být libovolně posunován, rotován nebo zvětšován či zmenšován. Jediné, co není možné, je měnit vzájemnou polohu landmarků — tedy právě jejich tvar. (V tom se tedy prokrustovská analýza v geometrické morfometrice od obrovských praktik jasně odlišuje — Prokrustes natahováním svých hostů jejich tvar rozhodně měnil.)

Po prokrustovské analýze — poté, co byly všechny objekty uspořádány tak, aby si co nejlépe odpovídaly, zbude u každého objektu a pro každý landmark tzv. zbytková vzdálenost — tedy vzdálenost od příslušného landmarku u průměrného objektu celé sady. Soubor objektů po prokrustovské analýze můžeme vidět na příkladu analýzy variability buněk zelené planktonní řasy *Pediastrum duplex* (obr. 2).

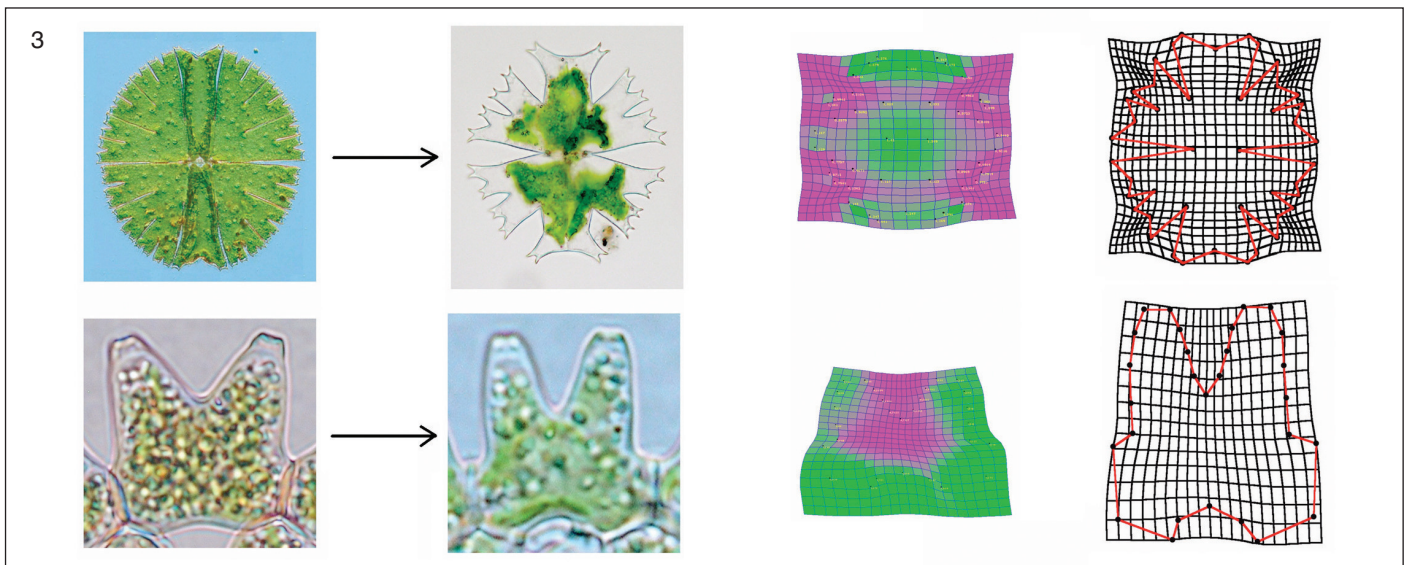
Zbytkové vzdálenosti všech landmarků po prokrustovské analýze obsahují informaci o charakteristice tvaru každého jednotlivého zkoumaného objektu. Pro modelování a znázornění morfologických trendů Bookstein vytvořil matematickou funkci thin-plate spline — tzv. analýzu ohebných plátů. Informace o změně polohy jednotlivých landmarků je využita při výpočtu geometrické funkce, která změnu tvaru celého

objektu modeluje jako „zmuclání“ hypotetického dokonale tenkého a ohebného plechu (ten si můžeme představit třeba jako nekonečně tenký alobal). Morfologická změna mezi dvojicí tvarů je pak počítačově znázorněna pomocí D'Arcy Thompsonovy transformační mřížky nebo podobných grafických nástrojů. Znázornění tvarové změny můžeme vidět na příkladu dvojice buněk již zmiňované řasy *Pediastrum duplex* či na dvojici druhů rašelinistních zelených řas rodu *Micrasterias* (obr. 3).

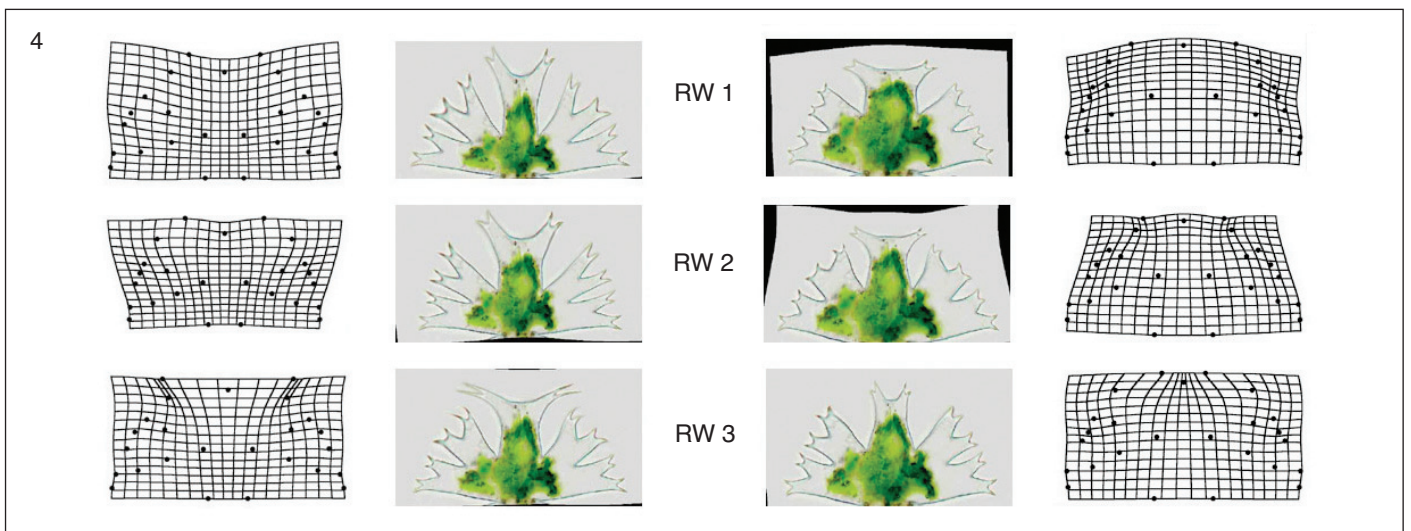
Geometricko-morfometrická analýza tedy umožňuje modelovat komplexní tvarovou změnu mezi každou dvojicí z celé sady zkoumaných objektů. Tím se dostáváme možná k nejdůležitějšímu místu geometrické morfometriky. Máme-li totiž informace o vzájemných tvarových změnách mezi všemi zkoumanými objekty, nic už nám nebrání definovat tvaroprostor našeho souboru. Tvaroprostor je hypotetický dvou-, tří- nebo i mnohorozměrný prostor, v němž probíhá veškerá tvarová přeměna. Takový tvaroprostor lze popsat podle jeho významných os, tedy hlavních trendů, podle nichž k tvarovým změnám v souboru dochází.

V geometrické morfometrice se k definici tvaroprostoru nejčastěji používá analýza relativních deformací (warpu) (obr. 4). Tato statistická technika postupně vymezuje jednotlivé osy podle toho, kolik procent z celkové tvarové variability daného souboru vysvětlují. Provedeme-li analýzu relativních deformací, získáme přehled o tom, co se v našem souboru objektů z morfologického hlediska děje (tj. jaké morfologické trendy jsou významné, jaké jsou méně důležité a k jakým tvarovým změnám prakticky vůbec nedochází). Každý organismus zaujímá v tvaroprostoru místo přesně vymezené polohou na jednotlivých osách. Trojici nejdůležitějších os variability jednoho reálného tvaroprostoru z populace zelené řasy *Micrasterias crux-melitensis* z jihočeské Přírodní rezervace Borkovická blata můžeme vidět na zmíněném obr. 4.

S tvaroprostory se dají dělat úžasné věci. V taxonomii pomocí nich můžeme srovnávat např. podobnosti a odlišnosti různých druhů; v biogeografii můžeme hledat tvaroprostorové trendy spojené s geografickým rozšířením různých populací studovaných druhů; v ekologii lze hledat faktory životního prostředí, které tvaroprostor ovlivňují.



Obr. 3 Příklady geometricko-morfometrických transformací u dvou skupin zelených řas. Nahoře: Tvarová změna mezi dvěma mokřadními druhy krásivky rodu *Micrasterias* (*M. rotata* a *M. crux-melitensis*). Dole: Tvarová změna mezi dvěma buňkami planktonní populace zelené řasy *Pediastrum duplex*. Charakter morfologické změny je barevně znázorněn pomocí tzv. expanzních faktorů (natahování a smršťování tvaru) a paralelně také transformační mřížkou. Obr. 4 První tři osy z analýzy relativních deformací — warpů — popisující morfologickou variabilitu v tvaroprostoru přírodní populace krásivky druhu *Micrasterias crux-melitensis* v Přírodní rezervaci Borkovická blata. Krajní polohy jednotlivých os jsou znázorněny transformačními mřížkami a teoretickými rekonstruovanými obrázky studovaných objektů. Orig. J. Neustupy



Jedním z nejzajímavějších použití tvaroprostorových informací jsou studie zkoumající změny v obsazení, charakteristikách nebo rozmanitosti tvaroprostorů v rámci evolučního vývoje. V evoluci organismů totiž zjišťujeme, že každá skupina má jakýsi omezený potenciál možných tvarů a jeho proměnlivosti, který vyplývá z různých vnitřních vývojových omezení a z interakcí s prostředím. Výzkum tvaroprostorů nám umožňuje tyto hranice detailně analyzovat. Všechny takové studie pracují s různorodými, často velmi sofistikovanými biostatistickými počítačovými technikami, do jejichž popisu se nebudeme podrobněji pouštět. Prudce stoupající počet publikací ve špičkových světových časopisech ovšem ukazuje, že tvaroprostory organismů představují pro biologы stále zajímavější a důležitější oblast výzkumu.

Geometrická morfometrika se nejrychleji zabydlela v zoologii, náskok má zejména věda o rybách (ichtyologie) a dnes už také věda o savcích (mammaliologie). Pomocí geometrické morfometrie jsou tak zkoumány třeba evoluční pochody v jednotlivých rybích populacích ve východoafrických jezerech, vývojové adaptace savců na různé druhy potravy, ale i zcela praktické

záležitosti typu stanovení kvality ryb přicházejících na trhy Evropské unie. Také v antropologii a lékařství se geometrická morfometrika rychle stala standardním nástrojem špičkového výzkumu. Velice sofistikovanou geometricko-morfometrickou analýzou v trojrozměrném prostoru se nedávno podařilo prokázat, že neandrtálci v žádném případě nepatřili ke stejné vývojové větvi jako naši přímí předkové. Geometrická morfometrika je v současnosti aplikována i při výzkumu nedávno objevených kosterních zbytků „trpasličího člověka“ na ostrově Flores v Indonésii.

Neuvěřitelné možnosti otevírá geometrická morfometrika i v lékařství. Bookstein např. zjistil, že analýzou některých struktur v mozku lidí zatížených schizofrenií nebo fetálním alkoholickým syndromem, který vzniká při vývoji plodu v těle matky závislé na alkoholu, lze tyto choroby zjistit dříve, než propuknou, což přináší možnost jejich daleko úspěšnější léčby.

S určitým zpožděním začíná geometrickou morfometrikou objevovat i biologie rostlin. Teprve v posledních letech se objevují významné publikace přinášející výsledky o evolučních souvislostech mezi tvaropros-

tory listů (třeba u palm či dubů) nebo květů orchidejí a jejich evoluční historii, ekologii a rozšířením. Analýzou tvaroprostorů se dnes také zkoumají a modelují možnosti tvarového vývoje u komerčně významných zahradnických druhů, což pak umožňuje lépe směřovat šlechtitelský výzkum.

V oborech zabývajících se mikroorganismy, kam patří i algologie (věda o sinicích a řasách), na níž jsme použili geometricko-morfometrické analýzy demonstrovali, přináší výzkum tvaroprostorů netušené možnosti. Publikované studie se zaměřují na evoluční a taxonomické otázky např. u mořských dírkonošců (*Foraminifera*), rozsivek (*Bacillariophyceae*) či zelených řas (*Chlorophyta*). Značný potenciál však leží i v biotaxonomii a ekologických výzkumech při zjišťování stavu a vývoje přírodních ekosystémů.

Shrnuto závěrem: v sofistikované, počítačově založené geometrické morfometrice se Goethova morfologie (věda o zákonitostech vzniku a přeměn živých tvarů v přírodě) vrací na scénu současné biologie v daleko silnější a sebevědomější pozici vědeckého oboru, který může v příštích letech velmi významně přispět k našemu porozumění povahy života na Zemi.