
Buněčné membrány: etiopatogenetický substrát vzniku depresivních poruch

Anders M., Fišar Z.

Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN, Praha,
přednosta prof. MUDr. J. Raboch, DrSc.

SOUHRN

Membránové hypotézy vzniku depresivních poruch tvoří jeden z pohledů na etiologii tohoto závažného onemocnění. Změny vlastností buněčných membrán a interakce lipid-protein ve specifických oblastech mozku mohou mít za následek zvýšenou náchylnost ke vzniku depresivních stavů. Pozorované změny v neurotransmitérových systémech mohou být poté následkem základních odchylek v membránovém metabolismu, intracelulárním pH a energetickém metabolismu. Změny ve složení membrány ovlivňují funkci membránově integrovaných proteinů (enzymů, receptorů, iontových kanálů, přenašečů), a tím i samotný přenos signálu. Identifikace narušených míst přenosu signálu se stává klíčovou oblastí pro případný vývoj nových antidepresivně působících látek.

Klíčová slova: buněčné membrány, depresivní poruchy, serotoninový přenašeč, antidepresiva.

SUMMARY

Anders M., Fišar Z.: Membranes: Etiopathogenic Substrate of Depressive Disorders

According to the membrane hypothesis of affective disorders, disturbances in lipid-protein interactions can be predisposing factor in depression. The hypothesis is based on well known fact that lipid-protein interactions affect functionality of most membrane integral proteins, including enzymes, receptors, transporters and ion channels ensuring transmembrane signal transduction. Moreover, changes in lipid-protein interactions induced by antidepressive drugs can be crucial step in molecular mechanism of their action.

Key words: membranes, depressive disorder, serotonin transporter, antidepressants.

Čes. a slov. Psychiat., 103, 2007, No. 8, pp. 408–412.

ÚVOD

Depresivní poruchy patří mezi nemoci, u nichž je v průběhu posledního století zjišťován narůstající výskyt. Na teoretické biologické rovině probíhá intenzivní výzkum etiologie deprese a obecně je uznáváno, že deprese je spojena s deficitem neurotransmiterů (zejména serotoninu, noradrenalinu a dopaminu) v mozku a následnou patologickou změnou citlivosti mozkových receptorů pro tyto působky. Tento velmi zjednodušený popis však nevystihuje plnou složitost patogeneze deprese, z níž dosud známe spíše jen střípky mozaiky. Mimo jiné proto, že zkoumání molekulárních mechanismů procesů vedoucích ke vzniku duševních poruch je většinou odkázáno na nepřímé metody, především na studium mechanismů účinků psychotropních látek v podmínkách *in vitro* nebo *in vivo*, na měření v lidských mozcích *post mortem* nebo na použití zvířecích a buněčných modelů (leukocytů, destiček, eryt-

rocytů, buněčných kultur, liposomů atd.). Přestože se dnes používají stovky psychotropních látek s více či méně specifickými účinky na symptomy jednotlivých duševních poruch, nejedná se dosud pravděpodobně o léčbu kauzální, ale nicméně právě poznávání mechanismů účinků těchto léčiv vedlo a vede k vytváření hypotéz o biochemické podstatě duševních poruch, což zpětně ovlivňuje vývoj nových léčiv.

Membránové hypotézy vzniku depresivních poruch

Formulace těchto hypotéz vychází z předpokladu, že změny vlastností buněčných membrán ve specifických oblastech mozku mohou mít za následek zvýšenou náchylnost ke vzniku deprese. Uvažuje se o tom, že pozorované změny v neurotransmitérových systémech mohou doprovázet primární odchylky v membránovém metabolismu, intracelulárním pH a energetickém metabolismu (schéma 1).

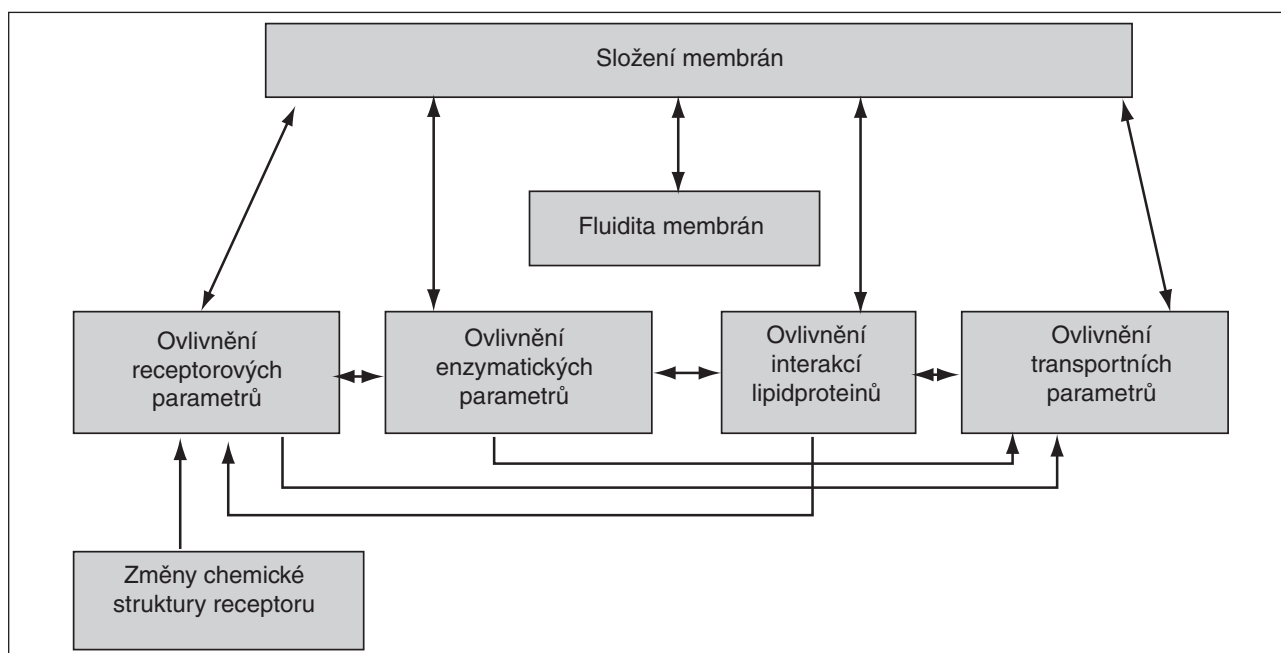


Schéma 1. Schematické znázornění možných substrátů membránových hypotéz vzniku afektivních poruch. (Vysvětlení v textu.)

Je velmi nesnadné přehledně rozdělit dosud známé membránové hypotézy zejména z důvodu vzájemné provázanosti jednotlivých substrátů, ale při zjednodušení lze konstatovat, že prakticky v každé z nich hraje významnou roli složení membrány a její fluidita, k níž může docházet pod vlivem různých okolností [9, 10]. Změna složení vede ke změnám v interakcích membránových molekul a k ovlivnění funkce membránově vázaných proteinů (přenašeče, kanály, enzymy, receptory). Pokračující kaskáda vzájemné interakce těchto ovlivněných složek vede k dalším změnám receptorové odezvy, enzymatické funkce či transportní aktivity membránových proteinů nebo k různým kombinacím těchto změn.

Změny funkcí integrálních součástí při změně složení membrány

Receptorová odezva

Pro schopnost maximální receptorové odezvy nejsou podstatné jen parametry hustoty vazebných míst, ale receptorové molekuly musí být pro ligandy, nacházející se ve vodné fázi, volně přístupné a současně je nezbytné, aby membránové prvky transdukční kaskády spolu reagovaly při zachování určité rychlosti (parametr pohyblivosti membránových proteinů), což závisí na optimální fluiditě membrány [28].

Za jeden z významných parametrů receptorové funkce je považována afinita. Afinita může být ovlivněna prostřednictvím změn v chemické struktuře receptorů, v membránovém mikrookolí nebo změnami v různých nitrobuněčných procesech. Podle hypotézy o měnitelné afinitě receptorů [2]

jsou tyto změny odpovědné za narušenou reaktivitu neurotransmiterových systémů a mohou způsobit vznik nemoci.

Specifičtější formulované hypotézy předpokládající ovlivnění funkce membránových receptorů lipidovým složením membrán (současně fluidity) byly postulovány na základě studia vazby agonistů a antagonistů. K nejlépe prozkoumaným patří serotoninergní, muskarinové acetylcholinové receptory [1], α_1 -adrenoceptory [29], β -adrenoceptory [28].

Podle obecné serotoninové receptorové hypotézy je deprese vztažena k abnormalitám serotoninových receptorů, jako je upregulace 5-HT₂, desenzibilizace 5-HT_{1A} a abnormální transdukce signálu po vazbě 5-HT k receptoru. Klíčový serotoninový receptor v antidepresivní odezvě je pravděpodobně postsynaptický 5-HT_{1A} podtyp, přinejmenším v určitých strukturách mozku (pozornost je věnována především hippokampu). Rozdílné změny v odezvě 5-HT_{1A} receptoru ukazují, že 5-HT_{1A} receptory v mozku mají různé farmakologické vlastnosti. Protože však byl klonován pouze jeden 5-HT_{1A} receptor, lze různé fyziologické vlastnosti receptoru připsat různým konfiguracím receptorového vazebného místa v membráně. Heterogenita receptorového podtypu je tedy klíčová pro pochopení terapeutických účinků antidepresiv.

Enzymatické funkce

Ovlivnění aktivity enzymů změnami složení membrány je opakovaně prokazováno. Při pokusech s modelovými buněčnými systémy *in vitro* (synaptosomy), kdy byla provedena inkorporace fosfatidylserinu do membrán, došlo ke zvýšení

aktivity membránového enzymu $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasy}$ a následně i zvýšenému vtoku Ca^{2+} [11] a zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} . Popsán je i opačný způsob, při kterém může docházet k ovlivnění složení a fluidity membrány působením enzymů lokalizovaných v membráně samotné. Hlavními regulátory lipidového složení membrán jsou fosfolipasy A_2 , C, D a zejména jejich nadměrnou aktivitou může docházet k narušení interakcí lipid-protein. Tyto enzymy mohou ale také ovlivňovat funkci jiných enzymatických systémů, např. inaktivovat $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasu}$ nebo $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPasu}$.

Specifické změny ve složení membrán, ale i ve spektru lipidů v séru, jsou nacházeny u depresivních nemocných, zmiňován je vyšší obsah volných mastných kyselin v plazmě [22] a snížená koncentrace membránového fosfatidylcholinu v krevních destičkách a erythrocytech [27], což je dáváno do souvislosti se zvýšenou aktivitou fosfolipázy A_2 [13]. Touto nadměrnou aktivitou PLA_2 jsou vysvětlovány poruchy v aktivitě $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasy}$, $\beta_2\text{-AR}$ a $\alpha_2\text{-AR}$, monoaminoxidasy, parametrů zpětného vychytávání (reuptake) serotoninu a noradrenalinu, ale i změny ve vazbě imipraminu, inhibici vazby ke glukokortikoidním receptorům a k receptorům pro uvolňovací faktor thyrotropinu. Podobný mechanismus považují někteří autoři za podstatu hypotézy biogenních aminů, zejména protože tyrosinhydroxyláza a tryptofanhydroxyláza jsou integrálními proteiny membrány a jsou funkčně ovlivněny jejím aktuálním stavem. Z analogických předpokladů vycházejí i některá vysvětlení účinků podávání antidepressiv. Další práce ukazuje, že při afektivních poruchách dochází ke změnám ve složení a fluiditě membrán erythrocytů a prokazuje zvýšenou fluiditu membrán a sníženou aktivitu ATPas [24] v erythrocytech.

Významným enzymem v katabolismu monoaminových neurotransmitérů je monoaminoxidáza (MAO). MAO lze přitom rovněž považovat za membránový enzym, neboť je uchycena ve vnější membráně mitochondrií. Podle zdokonalené monoaminové teorie (21) mohou být zvýšené hladiny monoaminoxidázy typu A (MAO-A) brány jako obecný proces snižující monoaminy (bez vztahu k určitým symptomům), zatímco regionální hustota monoaminových přenašečů má selektivní vliv na jednotlivé monoaminy (se silným vztahem k určitým symptomům).

Transportní aktivita proteinů

K formulaci tohoto typu biochemických hypotéz depresivních poruch vedly zejména nálezy změn elektrolytového složení neuronů - hromadění Na^+ (23) nebo Ca^{2+} . Funkční změny v membránových transportních systémech předpokládá tzv. transportní hypotéza [20]. Transport iontů přes membránu je dodnes zkoumán zejména na membránách erythrocytů.

Mezi transportními systémy hrají dominantní úlohu iontové pumpy, které udržují iontový gradient, ale jsou zodpovědné i za rychlost obnovy a velikost klidového membránového potenciálu. Tyto ATPasy ($\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasa}$, $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPasa}$, $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATPasa}$) hrají nezastupitelnou roli v buněčném metabolismu, snížení jejich aktivity může být doprovodným jevem při depresivním onemocnění [23, 24]. Patrně v souvislosti se změnou aktivity příslušné pumpy byly nalezeny změny koncentrací nitrobuněčného kalcia u manických (zvýšení hladin) a depresivních pacientů (snížení či zvýšení hladin) [5]. Asi největší pozornost je věnována membránově lokalizované $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ a již v 70. letech byla popsána nedostatečná činnost $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasy}$ v erythrocytech pacientů s bipolární afektivní poruchou (i v remisi) [15]. Tzv. $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasová}$ hypotéza afektivních poruch [6] považuje změny v aktivitě (snížení) $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasy}$ za příčinu, která může vést ke klinickým projevům mánie, ale také k bipolární afektivní poruše dle stupně inhibice $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-pumpy}$. Malé snížení aktivity pumpy zřejmě způsobuje celkové zvýšení excitovatelnosti neuronů, ale další snížení aktivity pumpy by mohlo vést ke snížení množství uvolněného neurotransmitéru a rychlosti neuronální obnovy. Snížená aktivita ATPas může vést také k narušení funkce transportních systémů zajišťujících zpětné vychytávání neurotransmitérů.

Změna fosfolipidového složení membrány ovlivňuje aktivitu transportního proteinu pro 5-HT (SERT) [3]. Dlouhodobé podávání antidepressiv ovlivňuje jak aktivitu SERT [7], tak lipidové složení membrán [8]. Vlastnosti SERT v krevních destičkách jsou v řadě studií považovány za periferní znak funkce serotoninergního systému v mozku a bylo popsáno snížení aktivity, denzity a dostupnosti SERT u depresivních nemocných. Teprve klonování přenašeče umožnilo studium jeho biofyzikálních a farmakologických vlastností spojených s aktivitou, ale i přes to, je dodnes málo známo o způsobu vazby 5-HT k SERT a jeho přenosu přes membránu. SERT je transmembránový protein, má 6 potenciálních míst fosforylace PKA a PKC a je regulován PKC (+/-) a cAMP. Funkce SERT je závislá na kotransportu Na^+ a Cl^- . Zcela podstatný pro funkci SERT se zdá být obsah cholesterolu v membráně. Snížení obsahu cholesterolu v membráně modelových buněk, provedené různými způsoby, vedlo ke snížení aktivity SERT. Příčinou byla jak snížená afinita k substrátu a snížená vazba ligandu, tak současně redukce maximální transportní aktivity přenašeče [26]. Snížení sérového cholesterolu u lidí mělo rovněž výrazný vliv na aktivitu SERT v krevních destičkách, ale ukázalo se, že dlouhodobá farmakoterapie může mít na serotoninergní transmisi odlišné účinky oproti terapii krátkodobé [30].

Dalším membránovým přenašečem, jehož funk-

ce může být změněna při depresivní poruše a její léčbě, je přenašeč pro L-trijodthyronin, který je studován vzhledem k hypotéze o úloze osy hypotalamus-hypofýza-štítná žláza ve vzniku onemocnění. Byly popsány změny jak membránové fluidity, tak aktivity tohoto přenašeče u depresivních osob před započetím farmakoterapie i po dlouhodobém podávání citalopramu [16].

Specifické změny složení membrán se vztahem k depresivním poruchám

Řada autorů věnuje pozornost hodnocení vlivu interakce lipid-protein při vzniku a následném vývoji depresivních poruch. Jak již bylo uvedeno, k narušení interakcí lipid-protein může docházet vlivem změn mikroviskozity a složení membrány, které může být v modelových situacích způsobeno změnami vnějších podmínek (v naturálních podmínkách výživa, podávání fosfolipidů), uměle (inkorporace molekul do lipidové dvojvrstvy - *in vitro*) nebo nadměrnou aktivitou některých membránových enzymů (zejména fosfolipas). Jedním z nálezů u depresivních nemocných jsou změny mikroviskozity membrán v důsledku snížené esterifikace sérového cholesterolu [18]. Cholesterol je jednou z nejčastěji zkoumaných membránových molekul. Dosud ne zcela jasným mechanismem dochází při nízkých plazmatických koncentracích cholesterolu (dieta, hypolipidemia) ke zvýšení rizika vzniku deprese spojeného se suicidálním chováním [17]. Podobný efekt má snížená konzumace ω -3 nenasycených mastných kyselin. Pravděpodobným vysvětlením je to, že esenciální nenasycené mastné kyseliny a cholesterol určují do značné míry biofyzikální vlastnosti synaptických membrán (strukturu, uspořádání, fluiditu). Uvažuje se především o úloze dokosahexaenové kyseliny (22:6 ω -3) a arachidonové kyseliny [5, 8, 11,14]-ikosatetraenová kyselina, 20:4 ω -6 ve funkci neuronálních membrán [25]. Podle tzv. biofyzikální hypotézy [14] právě zvýšený poměr mezi příjmem ω -6 a ω -3 esenciálních mastných kyselin, tedy relativní nedostatek typu ω -3, může vést ke zvýšené náchylnosti ke vzniku deprese. Řada enzymů, které se účastní přenosu nervového signálu monoaminovými neurotransmitéry (tvorba neurotransmiterů, degradace, uvolňování, zpětného vychytávání a vazby) je ovlivněna i poměrně malými změnami ve struktuře membrán způsobených cholesterolem a zastoupením ω -3, ω -6 a dalších nenasycených mastných kyselin. Obsah v membránách takto moduluje nejen metabolismus biogenních aminů (19), jejich vazbu (12) nebo zpětné vychytávání [4], ale i transdukcii signálu, např. vlivem na aktivitu AC.

ZÁVĚR

Membránové hypotézy vzniku depresivních poruch jsou jednou z oblastí výzkumu na tomto poli. Jak již bylo řečeno identifikace narušených míst přenosu signálu se stává klíčovou oblastí pro případný vývoj nových antidepresivně působících látek, ale také místem, kde nacházíme nová vysvětlení a souvislosti při používání širokého spektra antidepresivně působících látek.

Tato práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NR/8805-4 a výzkumným záměrem MSM 0021620849.

LITERATURA

1. **Berstein, G., Haga, T., Ichiyama, A.:** Effect of the lipid environment on the differential affinity of purified cerebral and atrial muscarinic acetylcholine receptors for pirenzepine. *Mol. Pharmacol.*, 36, 1989, pp. 601-607.
2. **Bevan, J. A., Bevan, R. D., Shreeve, S. M.:** Variable receptor affinity hypothesis. *Faseb J.*, 3, 1989, pp. 1696-1704.
3. **Bhat, G. B., Block, E. R.:** Serotonin transport in reconstituted endothelial cell plasma membrane proteoliposomes: Effect of hypoxia. *Amer. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 6, 1992, pp. 633-638.
4. **Block, E., Edwards, D.:** Effect of plasma membrane fluidity on serotonin transport by endothelial cells. *Amer. J. Physiol.*, 253, 1987, pp. C672-C678.
5. **Dubovsky, S. L., Franks, R. D.:** Intracellular calcium ions in affective disorders: A review and hypothesis. *Biol. Psychiat.*, 18, 1983, pp. 781-797.
6. **El-Mallakh, R. S., Wyatt, R. J.:** The Na, K - ATPase hypothesis for bipolar illness. *Biol. Psychiat.*, 37, 1995, pp. 235-244.
7. **Fišar, Z., Anders, M., Kališová, L.:** Effect of pharmacologically selective antidepressants on serotonin uptake in rat platelets. *Gen. Physiol. Biophys.*, 24(1), 2005a, pp. 113-128.
8. **Fišar, Z., Anders, M., Tvrzická, E., Staňková, B.:** Effect of long-term administration of antidepressants on the lipid composition of brain plasma membranes. *Gen. Physiol. Biophys.*, 24(2), 2005b, pp. 221-236.
9. **Fišar, Z., Jiráček, R.:** Vybrané kapitoly z biologické psychiatrie. Praha, Grada, 2001, c. 316.
10. **Fišar, Z.:** Biochemické hypotézy afektivních poruch. Praha, Galén, 1998, s. 103.
11. **Floreani, M., Debetto, P., Carpenedo, F.:** Phosphatidylserine vesicles increase Ca²⁺ uptake by rat brain synaptosomes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 285, 1991, pp. 116-119.
12. **Heron, D., Shinitzky, M., Hershkowitz, M., Samuel, D.:** Lipid fluidity markedly modulates the binding of serotonin to mouse brain membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 1980, pp. 7463-7467.
13. **Hibbeln, J. R., Palmer, J. W., Davis, J. M.:** Are disturbances in lipid-protein interactions by phospholipase A2 a predisposing factor in affective illness? *Biol. Psychiat.*, 25, 1989, pp. 945-961.
14. **Hibbeln, J. R., Salem, N. Jr.:** Dietary polyunsaturated fatty acids and depression: When cholesterol does not satisfy. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 62, 1995, pp. 1-9.

15. **Hokin-Neaverson, M., Spiegel, D.A., Lewis, W. C.:** Deficiency of erythrocyte sodium pump activity in bipolar manic - depressive psychosis. *Life Sci.*, 15, 1974, pp. 1739-1748.
16. **Kališová-Stárková, L., Fišar, Z., Paclt, I., Hanuš, Z., Vevera, J.:** Red blood cell triiodothyronine uptake as membrane parameter of depression. *Physiol. Res.*, 55(2), 2006, pp. 195-204.
17. **Kunugi, H., Takei, N., Aoki, H., Nanko, S.:** Low serum cholesterol in suicide attempters. *Biol. Psychiat.*, 41, 1997, pp. 196-200.
18. **Maes, M., Delanghe, J., Meltzer, H. Y., Scharpé, S., D'Hondt, P., Cosyns, P.:** Lower degree of esterification of serum cholesterol in depression: Relevance for depression and suicide research. *Acta Psychiat. Scand.*, 90, 1994, pp. 252-258.
19. **Mandell, A. J.:** Non-equilibrium behaviour of some brain enzyme and receptor systems. *A. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 24, 1984, pp. 237-274.
20. **Mendels, J., Frazer, A.:** Alterations in cell membrane activity in depression. *Amer. J. Psychiat.*, 131, 1974, pp. 1240-1246.
21. **Meyer, J. H., Ginovart, N., Boovariwala, A., Sagrati, S., Hussey, D., Garcia, A., Young, T., Praschak-Rieder, N., Wilson, A. A., Houle, S.:** Elevated monoamine oxidase levels in the brain: an explanation for the monoamine imbalance of major depression. *Arch. Gen. Psychiat.*, 63(11), 2006, pp.1209-1216.
22. **Mueller, P. S., Davis, J. M., Bunney, W. E. Jr., Weil-Malherbe, H., Cardon, P. V. Jr.:** Plasma free fatty acids concentration in depressive illness. *Arch. Gen. Psychiat.*, 22, 1970, pp. 216-221.
23. **Reddy, P. L., Khanna, S., Subhash, M. N., Channabasavanna, S. M., Sridhara Rama Rao, B. S.:** Erythrocyte membrane sodium-potassium adenosine triphosphatase activity in affective disorders. *J. Neural. Transm. (Gen. Sect.)*, 89, 1992, pp. 209-218.
24. **Rybakowski, J. K., Lehmann, W.:** Decreased activity of erythrocyte membrane ATPases in depression and schizophrenia. *Neuropsychobiol.*, 30, 1994, pp.11-14.
25. **Salem, N. Jr., Niebylski, C. D.:** The nervous system has an absolute molecular species requirement for proper function. *Mol. Membr. Biol.*, 12, 1995, pp. 113-134.
26. **Scanlon, S. M., Williams, D. C., Schloss, P.:** Membrane cholesterol modulates serotonin transporter activity. *Biochemistry*, 40 (35), 2001, pp. 10507-10513.
27. **Sengupta, N., Datta, S. C., Sengupta, D.:** Platelet and erythrocyte membrane lipid and phospholipid patterns in different types of mental patients. *Biochem. Med.*, 25, 1981, pp. 267-275.
28. **Shinitzky, M.:** Membrane fluidity and receptor function. In: Kates, M., Manson, L. A. (Eds.): *Membrane fluidity*. New York, Plenum Publ., 1984, pp. 585-601.
29. **Shreeve, S. M., Valliere, J. E.:** The 1-adrenoreceptor is inactivated by alterations in membrane phospholipids. *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol. Sec.*, 226, 1992, pp. 29-33.
30. **Vevera, J., Fišar, Z., Kvasnička, T., Hanuš, Z., Stárková, L., Češka, R., Papežová, H.:** Cholesterol-lowering therapy evokes time-limited changes in serotonergic transmission. *Psychiat. Res.*, 33(2-3), 2005, pp.197-203.

MUDr. Martin Anders, Ph.D.
Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 11
128 00 Praha 2
e-mail: anders.martin@vfn.cz



HYPERKINETICKÁ PORUCHA A PORUCHY CHOVÁNÍ

Ivo Paclt a kolektiv

Problematika hyperkinetické poruchy, poruch chování a agresivity u dětí je u nás tématem čím dál tím víc diskutovaným. Publikace doktora Ivo Paclta se dotýká všech těchto oblastí a přináší čtenářům jak teoretické vysvětlení, tak i praktické rady a doporučení. Kniha je určena nejenom odborníkům, psychologům, psychiatrům a vychovatelům, ale i rodičům dětí s diagnózou hyperkinetické poruchy a dalších, souvisejících poruch.

Vydalo nakladatelství Grada v roce 2007, formát B5, brožovaná vazba, 240 stran, cena 299 Kč, 476 Sk, ISBN 978-80-247-1426-4, kat. číslo 2085.

Objednávky můžete posílat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS

JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz. Na objednávce laskavě uveďte i jméno časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli.