

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

ČAS. LÉK. ČES., 146
2008, č. 7, s. 353–412
CLC EAL 147 (5)
353–412 (2008)

INDEXED IN:
EMBASE/Excerpta Medica
MEDLINE/Index Medicus
INIS Atomindex
CHEMICAL ABSTRACTS
Excerptováno v Bibliographia
Medica Czechoslovaca, Scopus

ROČNÍK 147/2008, č. 7

VEDOUcí REDAKTOR

Prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.
I. interní klinika 3. LF UK a FNKV
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

REDAKČNÍ RADA

Prof. MUDr. Pavel Barták, CSc.
Dermatovenerologická klinika 3. LF UK a FNKV
Šrobárova 50, 100 00 Praha 10

Prof. MUDr. Jaroslav Blabůš, DrSc.
ČLS JEP
Sokolská 31, 120 26 Praha 2

Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
Ústav hematologie a krevní transfuze
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

MUDr. Petr Čáp, PhD.
Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie
Nemocnice Na Homolce
Rentgenova 2, 150 30 Praha 5

Prof. MUDr. Jan Dvořáček, DrSc.
Urologická klinika 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 6, 128 00 Praha 2

MUDr. Norbert Gaier, CSc.
Farmakologický ústav 1. LF UK a VFN
Albertov 4, 128 00 Praha 2

Doc. MUDr. Jozef Glasa, CSc.
Národné referenčné centrum pre manažment
a liečbu chronických hepatitíd
Limbová 12, 833 03 Bratislava, Slovenská republika

Prof. MUDr. Miloš Hájek, DrSc.
Chirurgická klinika UVN
U Vojenské nemocnice 1/200, 169 02 Praha 6

Pavel Hamet, M.D., PhD.
Centre hospitalier de l'université de Montreal
Hotel Dieu, 3840, rue Saint-Urban
Montreal (Québec) H2W 1T8, Canada

Prof. MUDr. Jan Holčík, DrSc.
Ústav sociálního lékařství LF MU
Komenského nám. 2, 662 43 Brno

Prof. MUDr. Zbyněk Hrnčíř, DrSc.
II. interní klinika LF UK a FN
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

Prof. MUDr. Ivan Hulín, DrSc.
Ústav patologickej fyziológie LF UK
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovenská republika

MUDr. Pavel Jerie
Leymenstrasse 49
4153 Reinach, BL 1
Schweiz

doc. MUDr. Lubomír Kukla, CSc.
Oddělení preventivní a sociální pediatrie LF MU
Bieblova 16, 613 00 Brno

Doc. MUDr. Jaroslav Lindner, CSc.
II. chirurgická klinika kardiiovaskulární chirurgie
1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Doc. MUDr. Pavel Mohr, Ph.D.
Psychiatrické centrum Praha
Ústavní 91/7, 181 02 Praha–Bohnice

Prof. MUDr. Jan Petrášek, DrSc. – čestný člen redakční rady
III. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.
Onkologická klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Prof. PhDr. Milada Řihová, CSc.
Ústav dějin lékařství a cizích jazyků 1. LF UK
Karlovo náměstí 40, 120 00 Praha 2

Prof. Alexander Schirger, M.D.
Mayo Clinic, Hypertension W-9
Rochester, Minnesota 55905, USA

Prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc.
III. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

Prof. MUDr. Eduard Zvěřina, DrSc.
Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FNM
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

KONZULTANTI

Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.
I. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc.
Neurologická klinika 1. LF UK a VFN
Kateřinská 30, 120 21 Praha 2

Prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc.
Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 2, 121 09 Praha 2

OBSAH

Přehledové články

- Vávrová H., Heroldová M., Kučera P.: Expoziční test ve stanovení diagnózy potravinové alergie – orální alergický syndrom 355
- Hošek J., Bartoš M.: Změny v genové expresi během inzulinové rezistence a „diabesity“ v inzulin-senzitivních tkáních a možnosti jejich regulace 360

Původní práce

- Ryska M., Lásziková E., Pantoflíček T., Ryska O., Pražák J., Koblihová E., Skibová J.: Biologická a nebiologická eliminační léčba akutního selhání jater
Experimentální práce na velkém laboratorním zvířeti 367
- Bajzová M., Kováčiková M., Vítková M., Polák J., Klimčáková E., Šrp A., Vedral T., Mikulášek L., Šrámková P., Štich V., Hejnová J.: Vztah inzulinové rezistence a množství viscerálního tuku 376
- Garajová I., Slabý O., Svoboda M., Fabian P., Silák J., Šmerdová T., Kocák I., Růžičková J., Hoch J., Vyzula R.: Využití profilové genové exprese k stanovení odpovědi k neoadjuvantnej konkomitantnej chemorádioterapii u pacientov s karcinómom rekta: pilotná štúdia 381

- Kukla L., Hrubá D., Tyrlík M., Matějová H.: Poruchy chování u sedmiletých dětí – výsledky studie ELSPAC
3. Vývoj v období po narození 387

Kazuistika

- Kotaška K., Jedličková B., Průša R.: Je stanovení sérového kreatininu vždy věrohodné? Úskalí preanalytické fáze 392

Speciální sdělení

- Callahan D.: Pokrok v lékařství: oč se máme snažit a co máme omezovat? 396

Osobní zprávy

- Zprávy 406

Knihy

- Knihy 407

Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých

- Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých 408

Laureáti Nobelovy ceny

- Čech P.: Carl Ferdinand Cori, Gerty Theresa Radnitzová-Coriová a Bernardo Alberto Houssay 410

CONTENTS

(No. 7, 1st July) Journal of Czech Physicians

Review Articles

- Vávrová H., Heroldová M., Kučera P.: Allergen Challenge Used to Diagnose Food Allergy – Oral Allergy Syndrome 355
- Hošek J., Bartoš M.: Gene Expression Changes During Insulin Resistance and „Diabesity“ in Insulin-sensitive Tissues and Possibilities of Their Regulation 360

Original Articles

- Ryska M., Lásziková E., Pantoflíček T., Ryska O., Pražák J., Koblihová E., Skibová J.: Biological and Non-biological Elimination Therapy of Acute Liver Failure. Experimental Study on Large Laboratory Animal 367
- Bajzová M., Kováčiková M., Vítková M., Polák J., Klimčáková E., Šrp A., Vedral T., Mikulášek L., Šrámková P., Štich V., Hejnová J.: Relation Between Insulin Resistance and Amount of Visceral Adipose Tissue 376
- Garajová I., Slabý O., Svoboda M., Fabian P., Silák J., Šmerdová T., Kocák I., Růžičková J., Hoch J., Vyzula R.: Gene Expression Profiling in Prediction of Tumor Response to Neoadjuvant Concomitant Chemoradiotherapy in Patients with Locally Advanced Rectal Carcinoma: Pilot Study 381

- Kukla L., Hrubá D., Tyrlík M., Matějová H.: Conduct Disorders in Seven-year-old Children – Results of ELSPAC Study
3. Postnatal Development 387

Case Report

- Kotaška K., Jedličková B., Průša R.: Is the Assessment of Serum Creatinine Reliable? 392

Special Article

- Callahan D.: Medical Progress: What Should We Seek and What Should We Limit? 396

Personal News

- Personal News 401

News

- News 406

Books

- Books 407

Instruction to the Authors

- Instruction to the Authors 408

Nobel Prize Laureates

- Čech P.: Carl Ferdinand Cori, Gerty Theresa Radnitzová-Coriová a Bernardo Alberto Houssay 410

<http://www.clsjep.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2008

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Vydává Česká lékařská společnost J: Ev. Purkyně, Sokolská 31, 120 26 Praha 2.
Vedoucí redaktor prof. MUDr. Jiří Horák, CSc. Odpovědná redaktorka Mgr. Helena Glezgová.Příspěvky do Časopisu lékařů českých procházejí zdvojeným recenzním řízením.
Articles published in the Journal of the Czech Physicians subject to double review.

Tiskne: Tiskárna Prager – LD s.r.o., Kováků 9, 150 00 Praha 5.

Rozšiřuje: V České republice Nakladatelství Olympia, a.s., Praha, do zahraničí (kromě SR) – Myris Trade s.r.o., V Štíhlách 1311/3, P.O. Box 2, 142 01 Praha 4,
ve Slovenské republice Mediaprint Kapa Pressegross, a.s. oddelenie inej formy predaja - P.O. BOX 183,
Vajnorská 137, 831 04 Bratislava, tel.: 02/444 588 21, fax: 02/444 588 19, e-mail: predplatne@abompkapa.sk.

Vychází 12x ročně. Předplatné na rok 1212 Kč (1668 Sk), jednotlivé číslo 101 Kč (139 Sk).

Informace o předplatném podává a objednávky českých předplatitelů přijímá: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP,
Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 296 181 805 – Jana Špalová, e-mail: spalova@cls.czInformace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Inzertní oddělení ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2,
tel.: 224 266 253, tel./fax: 224 266 265, e-mail: ntsinzerce@cls.cz

Registrační značka MK ČR E 77.

Rukopisy zasílejte na adresu prof. MUDr. Jiří Horák, CSc., I. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10, e-mail: horak@fnkv.cz
Rukopis předán do výroby dne 28. 6. 2008. Zasláné příspěvky se nevracejí, jsou archivovány ČSL JEP. Vydavatel získá otiskem příspěvku výlučné nakladatelské právo k jejich užití. Otiské příspěvky autorů nejsou honorovány, autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu, Vydavatel a redakční rada upozorňují, že za obsah a jazykové zpracování inzerátů a reklam odpovídá výhradně inzerent. Žádná část tohoto časopisu nesmí být kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování v jakémkoliv formě či jakýmkoliv způsobem, ať již mechanickým či elektronickým včetně pořizování fotokopii, nahrávek, informačních databází na mechanických nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění. Zpracování pro internet provádí: NT Servis s. r.o., U Kněžské louky 2124/53, 130 00 Praha 3, tel.: 284 818 342-3, fax: 284 820 966, e-mail: ntservis@ntservis.cz, internet: www.ntservis.cz

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Expoziční test ve stanovení diagnózy potravinové alergie – orální alergický syndrom

Vávrová H., Heroldová M., Kučera P.

Oddělení alergologie a klinické imunologie, Ústav imunologie 3. LF UK a FNKV, Praha

SOUHRN

Imunologicky zprostředkovaný vedlejší účinek po požití potravy nazýváme potravinovou alergií. Podílejí se na ní všechny typy přecitlivělosti, nejvíce je zastoupena reakce zprostředkovaná IgE. Diagnóza je založena na anamnéze, kožních testech alergenů a vyšetření specifických IgE protilátek. Tato vyšetření nemají příliš vysokou prediktivní hodnotu pro klinickou reaktivitu, tato může být potvrzena expozičním testem. Orální alergický syndrom je tvořen subjektivními příznaky v dutině ústní, jejichž spouštěčem jsou většinou alergenů ovoce a zeleniny, zkříženě reagující s pylovými alergenů. Zkřížená reaktivita je založena na homologii proteinů a imunologické podobnosti. Zlatým standardem při potvrzení potravinové alergie je dvojitě slepý placeboem kontrolovaný expoziční test potravinou. V textu jsou diskutovány základní rysy tohoto testu, zejména v diagnostice orálního alergického syndromu. Kontrolovaný test potravinou je užitečný při potvrzení diagnózy, hodnocení jiných diagnostických testů a hodnocení alergenicity potravin.

Klíčová slova: orální alergický syndrom, potravinový alergen, dvojitě slepý placeboem kontrolovaný potravinový test.

SUMMARY

Vávrová H., Heroldová M., Kučera P.: Allergen Challenge Used to Diagnose Food Allergy – Oral Allergy Syndrome

Food allergy is an immune mediated unwanted side effect to food. All types of hypersensitivity can be involved; the most prevalent is IgE mediated one. The diagnosis is based on the history, skin tests with allergens and detection of specific IgE. These procedures are not highly predictive for clinical reactivity to food allergens, true clinical reactivity can be confirmed by allergen challenge. Oral allergy syndrome is represented by mostly subjective symptoms in oral cavity, usually triggered by fruit or vegetable allergens, cross-reacting with pollen allergens. This cross-reactivity is based on protein homology and immunologic similarity. To confirm the diagnosis of food allergy, the „golden standard“ is the double blind placebo controlled food challenge. The basic features of this test are discussed, particularly in the diagnosis of the oral allergy syndrome. Controlled food challenge is a useful test for patient's diagnosis confirmation, evaluation of other diagnostic tests or evaluation of food allergenicity.

Key words: oral allergy syndrome, food allergen, double blind placebo controlled food challenge. *Va.*

Čas. Lék. čes., 2008, 147, pp. 355–359.

Potravinová alergie je systémové onemocnění, které vzniká na imunologickém podkladě. Nežádoucí projevy po požití potravy mohou mít celou řadu mechanismů, které byly před řadou let shrnuty v dokumentu European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI) – jsou klasifikovány jako reakce toxické a reakce netoxické, u jejichž části se uplatňuje imunologický mechanismus (1). Za normálních podmínek je udržován aktivní proces orální tolerance. Jeho porušení, v němž hrají roli faktory hostitele nebo antigenní faktory (2), vede k rozvoji nežádoucí imunologické reakce na běžné, neškodné složky potravin. Především časně období vývoje jedince je rizikovým pro ztrátu orální

tolerance (3). Mechanismy nepřiměřené či nadměrné imunitní reakce jsou obvykle řazeny do skupin reakcí přecitlivělosti definované již Coombsem a Gellmem: Nejčastěji se uplatňuje imunopatologická reakce I. typu (zprostředkované IgE protilátkami), ale na vzniku potravinové alergie se mohou podílet i reakce zprostředkované imunokomplexy (III. typu) nebo lymfocyty T (reakce IV. typu). Možnosti uplatnění různých imunologických i neimunologických mechanismů intolerance byly shrnuty nedávno na příkladu hypersenzitivity na kravské mléko (4).

Ze závěrů řady dotazníkových studií vyplývá, že téměř 25 % lidí věří, že trpí potravinovou alergií (5). Ve skutečnos-

MUDr. Helena Vávrová
Oddělení alergologie a klinické imunologie 3. LF UK a FNKV
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10
fax: + 420 267 162 914, e-mail: vavrova@fnkv.cz

ti jsou tyto údaje přeceněny. Ve věku do 3 let 6–8 % dětí prožije epizodu alergické reakce na potravinu (většinou kravské mléko nebo vaječné alergeny) (6), u starších dětí se uvádí prevalence alergie na potraviny 0,3–7,5 % a u dospělých 2 až 4 % (1, 7).

Potravinová alergie je provázena příznaky gastrointestinálními (nauzea, orální alergický syndrom, zvracení, nechutenství, pálení žáhy, kolikovitá bolest břicha, průjem), respiračními (obstrukce nosní, kýchání, svědění sliznic, chrapot, kašel, dušnost), kožními (kopřivka, angioedém, exantém, atopická dermatitida, purpura, vaskulitida) nebo kardiovaskulárními (tachykardie, arytmie, hypotenze, šok). Závažné multisystémové příznaky, zejména v kombinaci, jsou nazývány anafylaxe, tedy stav, který vyžaduje okamžitou léčbu. V literatuře je popsána řada reakcí s fatálním průběhem.

K senzibilizaci organismu může dojít působením stabilních proteinů potravin v zažívacím traktu nebo jako následek senzibilizace vzdušnými alergeny. Ukazuje se, že klíčovou populací buněk, rozeznávající potravinové alergeny, jsou T-lymfocyty. V závislosti na jejich fenotypu a funkci (např. při nedostatku regulační populace) odpovídá imunitní systém na alergen tvorbou IgE protilátek se specificitou pro daný alergen (8). K průkazu této senzibilizace organismu slouží vyšetření *in vivo* (kožní testy) nebo průkaz specifických IgE protilátek v periferní krvi. Jedním z problémů potravinové alergie je, že klinická reaktivita na složky potravin (alergie) není spolehlivě předpověditelná pomocí testů imunologické reaktivity. Klinická alergie je definována rozvojem příznaků po požití podezřelé potravin a může být potvrzena jen odpovědí organismu na danou potravinu orálním expozičním testem.

ORÁLNÍ ALERGICKÝ SYNDROM

Orální alergický syndrom (OAS) bývá většinou přítomen u pacientů s přecitlivělostí na pylové alergeny původem z břízy, olše, lísky, travin a pelyňku. Poprvé byl popsán Tufftem a Blumsteinem v roce 1942 jako reakce na jablko a lískový oříšek u pacientů s alergií na pyl břízy (9). Projevuje se bezprostředně po požití potravin rostlinného původu, většinou čerstvého ovoce, zeleniny nebo ořechů, pálením a svěděním patra, jazyka či rtů, mohou být přítomny poruchy polykání, kýchání, nosní obstrukce, kožní projevy či otoky periorálně. Je pokládán za nepříliš závažný projev potravinové alergie bez pozdní reakce, avšak nejsou vyloučeny i závažnější projevy. V jižních státech Evropy (Itálie, Španělsko) má alergie na jablko mnohem závažnější průběh s odhadem 30 % výskytu systémových alergických reakcí (10). Výskyt OAS je poměrně častý, některé zdroje udávají jeho přítomnost až u 50 % alergiků s přecitlivělostí na pylu jarních stromů (5). Častěji se vyskytuje v dospělosti. V dětském věku je popisován až během posledních 15 let a může předcházet dalším projevům pylové alergie (5). Některé práce udávají výraznou redukci projevů OAS po imunoterapii alergie vyvolané pylem břízy, jiné zdroje tento vliv nepotvrzují (11–14).

Zkřížená reaktivita mezi těmito dvěma druhy alergenů je dána homologií primární struktury proteinů (sekvence aminokyselin), ale i přítomností vedlejších karbohydrátových struktur (cross reactive carbohydrate determinants – CCD).

Zkříženě mohou reagovat nejen homologní alergeny fylogeneticky blízkých travin, ale i homologní nepřibuzné rostlinné a pylové alergeny (např. jablka a břízy). Zkříženou reaktivitu obvykle nacházíme tam, kde homologie aminokyselin překračuje 70 %. Zda se vyvinou příznaky OAS nebo anafylaxe, závisí na stabilitě alergenů vůči tepelnému zpracování a odolnosti k působení trávicích enzymů.

Rostlinné alergeny jsou v současnosti děleny podle biologické nebo enzymové aktivity a sekvence aminokyselin. OAS vyvolávají alergeny ze skupiny vysoce konzervovaných proteinů typu tzv. pathogenesis related protein 10 (PRP-10). OAS, ale i celkové příznaky, mohou vyvolávat profiliny, které jsou homologní s alergenem břízy Bet v 2. Lipid – transfer protein ze skupiny PRP-14 je vysoce stabilní panalergen, odolný vůči pepsinu, a proto může vyvolat i těžkou celkovou reakci. Homologie mezi hlavním alergenem břízy Bet v 1 a hlavním alergenem jablka Mal d 1 je dobře známa jako příčina zkřížené reaktivity. Specifické IgE protilátky vytvořené proti Bet v 1 mohou reagovat také s Mal d 1 či hlavním alergenem mrkve Dau c 1. Aminokyselinová sekvence Mal d 1 je z 55 % identická s alergenem Bet v 1. Předpokládá se, že senzibilizace na Bet v 1 iniciuje alergickou reakci s Mal d 1 (15). Některé zdroje uvádějí společný výskyt alergických příznaků na alergeny pylu břízy a alergeny jablka v 75 % ve střední a v severní Evropě (16, 17). U menší části osob je společná reaktivita vyvolávána homologií profilinu Bet v 2 z pylu břízy a vedlejšího alergenu jablka Mal d 4 či vedlejšího alergenu mrkve Dau c 4 (18). U 25 % všech potravinových alergiků ve střední Evropě se setkáváme s projevy OAS po požití čerstvé mrkve (19). Mezi významné alergeny mrkve patří Dau c 1 (reagujících je 98 % postižených osob), 38 % pacientů reaguje pozitivně na vedlejší profilinový alergen Dau c 4, u 20 % těchto alergiků byla nalezena reaktivita IgE s determinantami CCD (20).

MOŽNOSTI DIAGNOSTIKY POTRAVINOVÉ ALERGIE

Při diagnostice potravinových alergií se vychází z anamnézy, fyzikálního vyšetření, výsledků kožních testů a případně stanovení specifických IgE protilátek. Je možné použít i testy uvolnění mediátorů (histaminu, sulfidoleukotrienu) a testy detekující aktivaci buněk po stimulaci alergenem (např. aktivace bazofilů detekovaná pomocí exprese řady membránových znaků, např. CD63) (5). K definitivnímu potvrzení diagnózy je z výše uvedených důvodů často nutné provést expoziční testy.

Anamnézu je třeba zaměřit na popis příznaků, časových souvislostí mezi expozicí a rozvojem potíží, frekvencí reakcí a zjištění množství potravin, potřebného k vyvolání alergické reakce. Je vhodné zjistit okolnosti vzniku reakce, např. souvislost s fyzickou námahou po jídle nebo se současným požitím léků (rizikem je obsah acetylosalicylové kyseliny). Kožní prick testy (SPT) s kvalitními standardizovanými extrakty potravinových alergenů mají negativní prediktivní hodnotu více než 95 %. To znamená, že negativní SPT téměř vylučuje přecitlivělost zprostředkovanou IgE. Řada pacientů však má pozitivní SPT, aniž by měli jakékoliv příznaky potravinové alergie – pozitivní prediktivní hodnota SPT je menší než 50 % (21). Komerčně vyrobené alergenové extrak-

Tab. 1. Zásady provedení expozičního testu potravinou (upraveno dle (34))

1. eliminace podezřelé potravin z diety (14 dní)
2. vysazení léků s možnou interakcí s výsledkem expozičního testu (antihistaminika, beta-agonisté, teofyliny, cromolyn, NSAID, ACEI)
3. příprava testované potravin, stanovení prahové dávky a jejích násobků, výběr placeba
4. kontrola vitálních funkcí před testem a v jeho průběhu, hodnocení subjektivních a objektivních příznaků
5. dodržení dvojité slepého postupu
6. interval mezi dávkami 15–60 minut
7. odtajnění a zhodnocení výsledku testu; pozitivní test jen pokud je pozitivní potravin a negativní placebo
8. při negativním výsledku (negativní placebo a negativní potravin) provést otevřený expoziční test
8. při sporném výsledku opakovat test
10. po expozici sledovat probanda alespoň 1–2 hodiny
11. při očekávání pozdní reakce prodloužit dobu sledování po expozici (24–48 hodin)

ty řady druhů ovoce a zeleniny často postrádají labilní proteiny zodpovědné za reakci. V těchto případech se používá metoda „prick to prick“ testu s použitím čerstvé potravin. Tento postup lze použít i v případě, že komerční extrakt pro SPT není k dispozici, například u různých druhů koření (22).

Stanovení specifického IgE se používá u pacientů, u kterých nelze přerušit léčbu antihistaminiky, kteří užívají systémové steroidy, nebo mají výrazné projevy dermatografismu či ekzému. U nejčastějších potravinových alergenů jsou nalezeny hodnoty specifického IgE, při kterých s 95 % pravděpodobností nastane u alergiků na danou potravinu klinická reakce (21).

Při podezření na určitou potravinu se doporučuje její vyřazení z jídelníčku na dobu 2–4 týdnů (tzv. eliminační dieta). Toto opatření je jednoduché, pokud se jedná pouze o jeden alergen. V případě polyvalentní alergie je metoda nepoužitelná, neboť by pacient mohl být ohrožen malnutricí. K definitivnímu ověření potravinové alergie jsou využívány expoziční testy: labiální a orální otevřený nebo jednoduše či dvojité slepý placeboem kontrolovaný potravinový expoziční test (tzv. double blind placebo controlled food challenge – DBPCFC). Tento test je považován za „zlatý standard“ v diagnostice potravinové alergie. Výhodou testu je poměrně vysoká objektivita (pacient ani lékař nezná typ zkoumané potravin). Test má však i určitá úskalí, test může být falešně negativní, dojde-li v průběhu zvyšování dávek k navození specifické orální tolerance nebo pacient nevysadí včas léky, které mohou reakci na potravinu tlumit. Naopak výsledek DBPCFC může být falešně pozitivní v případě, že pacient striktně dodrží eliminační dietu před testem a v průběhu testu reaguje na nové alergeny, které jsou přítomny v placebo nebo maskovací potravině a které před eliminační dietou pravděpodobně bez obtíží konzumoval (přechodná ztráta orální tolerance po eliminační dietě) (23).

Labiální test se využívá u dětí jako alternativa orálního expozičního testu (24). Spočívá v kontaktu potravin se sliznicí rtu po dobu 10 sekund až 2 minut. Je jednoduchý, rychlý a s nízkým rizikem systémové reakce. K pozitivní reakci patří vyhlazení dolního rtu, zarudnutí pod rtem, rash přecházející na tváře a bradu, rinokonjunktivitida. Diagnosticky obtížné jsou velmi mírné, obtížně detekovatelné reakce. Zde může pomoci pořízení fotodokumentace, která umožní vrátit se kdykoliv k hodnocení testu. Negativní výsledek labiálního testu vyžaduje potvrzení pomocí orálního potravinového testu. Obecná pravidla provedení expozičního testu potravinou jsou shrnuta v tabulce 1. Zásadní je vybavení pracoviště pro léčbu anafylaxe.

Provedení DBPCFC u pacientů s OAS má význam při podezření na alergii na více potravin (25), především pokud je diskrepance mezi anamnézou a výsledky *in vitro* testů (26), dalším důvodem může být určení alergenicity potravin nebo vlivu technologických procesů na změnu alergenicity potravin. Test se provádí mimo expozici pylovými alergeny.

PROVOKAČNÍ TEST U ORÁLNÍHO ALERGICKÉHO SYNDROMU

Vzhledem k tomu, že projevy OAS vyvolané běžně požívanými druhy ovoce (jablka) a zeleniny (mrkev, celer) značně ovlivňují kvalitu života postižených, je vhodné u diagnosticky nejasných případů provést provokační test. Příznaky OAS se objevují velmi rychle po kontaktu se zkoumaným materiálem a především v dutině ústní, test tedy může mít kratší intervaly než test u pacientů se systémovými projevy potravinové alergie. Přesto je nezbytné být připraven na zvládnutí závažné alergické reakce.

Problematikou se opakovaně zabývala Ballmer-Weber. Provedla DBPCFC u 32 dospělých pacientů s anamnézou méně závažné alergické reakce na celer. Šestnáct pacientů popisovalo OAS a zbylí urtikou, angioedém, svědění dlaní a plosek nohou, nauzeu, pálení žáhy, flatulenci, křeče v břiše, kašel a lehkou dušnost, nebyly pozorovány oběhové nebo respirační příznaky. Expoziční test byl zahájen podržemím 5 ml potravin v dutině ústní a následným odstraněním. V negativním případě byly podávány opakované stoupající dávky na ústní sliznici po dobu jedné minuty a poté odstraněny, po hodině přestávky byla obdobně dávkována druhá testovaná látka. Při negativním výsledku poté pacienti suspenzi opět ve stoupajících dávkách polykali, v intervalech 15 minut až do dávky 15 g celeru. Za pozitivní byl hodnocen test, pokud se příznaky objevily alespoň 3× (bez reaktivity na placebo). U 22 pacientů byl test hodnocen jako pozitivní, z toho 11 při testu mělo příznaky OAS. Průměrná prahová dávka u orálního projevu byla 1,3 g celeru, kromě jednoho pacienta příznaky nastaly ve fázi zadržování potravin v ústech. Jedenáct pacientů mělo systémovou reakci, průměrná dávka vyvolávající systémovou reakci byla 19,3 g celeru. Jeden pacient měl rinokonjunktivitidu již při držení testovaného nápoje v ruce, aniž by ho pozřel. Osm pacientů nemělo žádné příznaky a u těchto byl proveden otevřený expoziční test, v němž čtyři pacienti měli příznaky OAS po rozžvýkání 5 g čerstvého celeru, další čtyři neměli příznaky ani po požití dávky 20 g celeru (27).

Stejná autorka zkoumala vliv tepelné úpravy (vaření) na alergenicitu celeru. Na souboru 12 pacientů se středně závažnými alergickými projevy po syrovém případně vařeném celeru provedla DBPCFC se syrovým celerem, vařeným celerem a celerovým kořením (obsahuje 4,5× více bílkovin než syrový celer). Všechny 10 pacientů testovaných syrovým celerem reagovalo OAS nebo mírnými objektivními projevy. Jedenáct pacientů bylo testováno vařeným celerem, z toho u 6 s pozitivním výsledkem, 5 osob bylo testováno celerovým kořením, všichni s pozitivním výsledkem (28).

V další studii autorka testovala 26 pacientů s anamnézou středně závažné alergické reakce po požití mrkve. Devadesát procent mělo pozitivní specifické IgE na mrkev, 26 % pozitivní kožní prick test na mrkev (komerční extrakt) a všichni pozitivní „prick to prick“ s použitím čerstvé mrkve. Při DBPCFC 16 pacientů mělo projevy OAS, 4 pacienti reagovali mírnými projevy mimo dutinu ústní a 4 pacienti nereagovali na testovaný materiál (20).

Všechny výše uvedené práce uvádějí větší citlivost „prick to prick“ testů nativní potravinou oproti použití komerčních extraktů. Vyplyvá z nich také, že projevy OAS vznikají už po malé dávce potravin a poměrně časně, zatímco celkové příznaky většinou vyvolala větší dávka a za delší dobu. Celkové alergické projevy vzniklé během expozičního testu nebyly závažnější než příznaky udávané v anamnéze. Vzhledem k značnému subjektivnímu vlivu při hodnocení projevů OAS je preferována zaslepenost testu a použití placeba. Přesto se vyskytují pacienti, kteří reagovali pozitivně až při otevřeném pokusu s čerstvým ovocem nebo zeleninou.

Výzkumné výsledky, které se zabývají diagnostickou výkonností zaslepeného expozičního testu na jablka, se potýkají především s metodikou zpracování materiálu ve vztahu k významné labilitě alergenů, ve srovnání s alergeny jiného původu (29), dále proměnlivým obsahem alergenů v plodu a vlivem podmínek uchovávání na stabilitu alergenů (30, 31). Potenciálním úskalím je též obtížnost objektivizace symptomů. Recentní práce dánských autorů srovnávala metody DBPCFC s použitím jablečkové šťávy, strouhaného jablka a lyofilizovaného materiálu, zároveň za podmínek odlišného chuťového zakrytí. Výsledky příliš optimistické nebyly, reaktivita na placebo byla výrazně ovlivněna zakrývacím materiálem, senzitivita na lyofilizovaný materiál byla 0,6 (s vyšším výskytem placebových reakcí), senzitivita testu s čerstvě strouhaným materiálem byla 0,74 a nebyla provázána nespecifickou reakcí. Čerstvý jablečný džus měl senzitivitu nepříjemně nízkou (32). Vyvolání příznaků orálního alergického syndromu však není provázáno nálezem zvýšených hodnot tryptázy nebo eozinofilního kationického proteinu ve slinách na sliznici dutiny ústní. (33).

ZÁVĚR

Použití expozičního testu, v uspořádání otevřeném nebo DBPCFC má své použití v řadě situací při diagnostice alergie na potraviny. I když je zatížen, tak jako testy jiné, některými metodickými problémy a nepřesnostmi, má nezaměnitelné místo při potvrzení diagnózy, při evaluaci jiného testu alergie nebo při hodnocení imunogenicity alergenu.

Zkratky

ACEI	– inhibitor angiotenzin konvertujícího enzymu
Bet v 1, Bet v 2	– hlavní, vedlejší alergen pylu břízy
CCD	– zkříženě reagující cukerné determinanty
CD63	– aktivační znak buněk
Dau c 1, Dau c 4	– hlavní, vedlejší alergen mrkve
DBPCFC	– dvojitě slepý placebem kontrolovaný potravinový test
EAACI	– European Academy of Allergology and Clinical Immunology
ECP	– eozinofilní kationický protein
Mal d 1, Mal d 4	– hlavní, vedlejší alergen jablka
NSAID	– nesteroidní antirevmatika
OAS	– orální alergický syndrom
PRP	– proteiny vztažené k patogenezi
SPT	– kožní bodové testy

LITERATURA

1. **Bruijnzeel-Koomen, C. et al.:** Adverse reactions to food. *Allergy*, 1995, 50, s. 623–635.
2. **Ko, J., Mayer, L.:** Oral tolerance: lessons on treatment of food allergy. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2005, 17, s. 1299–1303.
3. **Van Wijk, F., Knippels, L.:** Initiating mechanisms of food allergy: Oral tolerance versus allergic sensitization. *Biomed. Pharmacother.*, 2007, 61, s. 8–20.
4. **Fuchs, M.:** Přecitlivělost (hypersenzitivita) na kravské mléko. *Alergie a intolerance. Alergie*, 2007, 2, s. 149–159.
5. **Fuchs, M.:** Potravinová alergie. In: Špičák, V., Panzner, P. et al.: *Alergologie*. Praha, Galén, 2004, s. 270.
6. **Bock, S. A.:** Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first 3 years of life. *Pediatrics*, 1987, 79, s. 683–688.
7. **Kanny, G., Moneret-Vautrin, D. A., Flabbee, J. et al.:** Population study of food allergy in France. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 108, s. 133–140.
8. **Tay, S. S. et al.:** T cell proliferation and cytokine responses to ovalbumin and ovomucoid detected in children with and without egg allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 2007, 37, s. 1519–1527.
9. **Tuft, I., Blumstein, G. I.:** Studies in food allergy. II. Sensitization to fresh fruits: clinical and experimental observations. *J. Allergy*, 1942, 13, s. 574–581.
10. **Sancho, A. L., Rigby, N. M., Zuidmeer, L. et al.:** The effect of thermal processing on the IgE reactivity of the non-specific lipid transfer protein from apple, Mal d 3. *Allergy*, 2005, 60, s. 1262–1268.
11. **Asero, R.:** Effects of birch pollen-specific immunotherapy on apple allergy in birch pollen-hypersensitive patients. *Clin. Exp. Allergy*, 1998, 28, s. 1368–1373.
12. **Bucher, X., Eichler, W. J., Dahinden, C. A., Helbling, A.:** Effect of tree pollen specific subcutaneous immunotherapy on the oral allergy syndrome to apple and hazelnut. *Allergy*, 2004, 59, s. 1272–1276.
13. **Moller, C.:** Effect of pollen immunotherapy on food hypersensitivity in children with birch pollinosis. *Ann Allergy*, 1989, 62, s. 343–345.
14. **Hansen, K. S., Khinchi, M. S., Skov, P. S. et al.:** Food allergy to apple and specific immunotherapy with birch pollen. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2004, 48, s. 441–448.
15. **Ma, Y., Gadermaier, G., Bohle, B. et al.:** Mutational analysis of amino acid positions crucial for IgE-binding epitopes of the major apple (*Malus domestica*) allergen, Mal d 1. *Int Arch. Allergy Immunol.*, 2006, 139, s. 53–62.

16. **Fernández-Rivas, M., Bolhaar, S., González-Mancebo, E. et al.:** Apple allergy across Europe: How allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006, 118, s. 481–488.
17. **Ferrer, A., Carbes, J., Gallego, T. et al.:** Characterization and improvement of apple extracts for the diagnosis of apple IgE-mediated allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2005, 95, s. 462–467.
18. **Ma, Y., Zuidmeer, L., Bohle, B. et al.:** Characterization of recombinant Mal d 4 and its application for component-resolved diagnosis of apple allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 2006, 36, s. 1087–1096.
19. **Ballmer-Weber, B. K., Wangorsch, A., Bohle, B. et al.:** Component-resolved in vitro diagnosis in carrot allergy: Does the use of recombinant carrot allergens improve the reliability of the diagnostic procedure? *Clin. Exp. Allergy*, 2005, 35, s. 970–978.
20. **Ballmer-Weber, B. K., Wüthrich, B., Wangorsch, A. et al.:** Carrot allergy: double blinded, placebo controlled food challenge and identification of allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 108, s. 301–307.
21. **Sampson, H., Ho, D. G.:** Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1997, 100, s. 444–451.
22. **Corrigan, Ch., Rak, S.:** Food allergy. *Allergy*, Mosby, 2004, s. 59–72.
23. **Niggemann, B., Beyer, K.:** Pitfalls in double-blind, placebo-controlled oral food challenges. *Allergy*, 2007, 62, s. 729–732.
24. **Rance, F., Dutau, G.:** Labial food challenge in children with food allergy. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 1997, 8, s. 41–44.
25. **Ortolani, C., Spano, M., Pastorello, E. A. et al.:** Comparison of results of skin prick tests (with fresh foods and commercial food extracts) and RAST in 100 patients with oral allergy syndrom. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1989, 83, s. 683–690.
26. **Bindsley-Jensen, C., Ballmer-Weber, B. K., Bengtsson, U. et al.:** Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods-position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*, 2004, 59, s. 690–697.
27. **Ballmer-Weber, B. K., Vieths, S., Luttkopf, D. et al.:** Celery allergy confirmed by double-blind, placebo-controlled food challenge: a clinical study in 32 subjects with a history of adverse reactions to celery root. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, 106, s. 373–378.
28. **Ballmer-Weber, B. K., Hoffmann, A., Wüthrich, B. et al.:** Influence of food processing on the allergenicity of celery: DBPCFC with celery spice and cooked celery in patients with celery allergy. *Allergy*, 2002, 57, s. 228–235.
29. **Rudeschko, O., Fahlbusch, B., Henzgen, M. et al.:** Investigation of the stability of apple allergen extracts. *Allergy*, 1995, 50, s. 575–580.
30. **Hsieh, L. S., Moos, M. J., Lin, Y.:** Characterization of apple 18 and 31 kD allergens by microsequencing and evaluation of their content during storage and ripening. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1995, 96, s. 960–970.
31. **Vieths, S., Jankiewicz, A., Schoening, B., Aulepp, H.:** Apple allergy: the IgE binding potency of apple strains is related to the occurrence of the 18-kDa allergen. *Allergy*, 1994, 49, s. 262–271.
32. **Skamstrup Hansen, K., Vestergaard, H. Stahl Skov, P. et al.:** Double-blind, placebo controlled food challenge with apple. *Allergy*, 2001, 56, s. 109–117.
33. **Marcucci, F., Frati, F., Sensi, L. et al.:** Evaluation of food-pollen cross-reactivity by nose-mouth cross-challenge in pollinosis with oral allergy syndrome. *Allergy*, 2005, 60, s. 501–505.
34. **Ettlerová, K., Kohout, P.:** Diagnostické možnosti potravinové alergie a intolerance. *Alergie*, 2000, 3, s. 190–195.

Nová funkce C3d komplementové komponenty

Zlomek komplementové komponenty C3d zlepšuje imunitní odpověď na antigen, který postrádá T-buněčné epitopy, např. bakteriální polysacharidy. C3d se váže k B-buněčným komplementovým receptorům 2 (CR2 nebo CD21). Tato vazba slouží jako koaktivační signál pro B-buňky, když část polysacharidového antigenu se současně váže na B-buněčné receptory povrchové Ig. V podstatě to sni-

žuje práh aktivace. Jenže C3d také zlepšuje titry u modelu CD21 KO (knock-out) myši při vzestupu sekrece cytokinů Th1 a Th2, což ukazuje na existenci pomocné, na CR2-nezávislé cesty imunitní aktivace. C3d má také T-buněčné epitopy, které mohou stimulovat autoreaktivní C3D peptid specifické T-buňky, které jsou označovány jako „ko-signál 2“. Současně bylo v C3d identifikováno 11 náhodných T-buněčných epitopů s velkou epitopovou denzitou (302 AK sekvencí). Autoři jsou přesvědčeni, že nález těchto autologních

T-buněk autoreaktivních s C3d posiluje hypotézu existence „ko-signálu 2“ a ukazuje nové vysvětlení CD21 KO (knock-out) paradoxu.

Literatura:

Knopf P. M. et al.: Novel function of complement C3d as an autologous helper T-cell target. *Immunology and Cell Biology*, 2008, 86, s. 221–225.

P. Barták

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Změny v genové expresi během inzulinové rezistence a „diabesity“ v inzulin-senzitivních tkáních a možnosti jejich regulace

Hošek J., Bartoš M.

Ústav přírodních léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

SOUHRN

Diabetes mellitus typu 2 (T2DM) nabývá v dnešní době pandemických rozměrů a stává se výraznou zátěží sociální a ekonomické sféry. Přes veškerou snahu není ani dnes detailně znám přesný mechanismus vzniku T2DM. Jednou cest jak studovat patofyziologické pochody v inzulin-senzitivních tkáních je studium transkriptomu. Takto získané údaje mohou posloužit jako základ pro vytipování nových vhodných terapeutických cílů toho onemocnění. Přehledový článek souhrnně představuje nejvýznamnější geny, u kterých se mění hladina jejich produktů v průběhu diabetu. Současně upozorňuje na důležitý prvek prostředí, který ovlivňuje nástup nemoci, a to složení stravy. Nemluví se jen o úloze tuků, ale i o vlivu některých rostlinných látek, které by v budoucnu mohly posloužit jako alternativa k současné profylaxi nebo léčbě T2DM.

Klíčová slova: diabetes mellitus typu 2, transkriptom, chronický zánět, terapeutický cíl.

SUMMARY

Hošek J., Bartoš M.: Gene Expression Changes During Insulin Resistance and „Diabesity“ in Insulin-sensitive Tissues and Possibilities of Their Regulation

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) gains considerable and pandemic proportions and becomes noticeable problem in a social and economic sphere. In spite of all effort, exact mechanism of T2DM origin has not been elucidated yet. Studying of transcriptom is one possibility how to explain pathophysiological processes in insulin-sensitive tissues. Obtained data can serve as a base for predicting of new therapeutic targets of this disease. This overall review introduces crucial genes whose level of products changes during T2DM. The article gives notice to a diet composition, which is an important environmental factor, which is able to influence a disease outbreak. Not only the role of fats, but also influence of some plant compounds, which would be able to serve as an alternative to present prophylaxis or treatment of T2DM, have been discussed.

Key words: type 2 diabetes mellitus; transcriptom; chronic inflammation; therapeutic target. *Ho.*

Čas. Lék. čes., 2008, 147, pp. 360–366.

Přibližně 90 % diabetiků má diabetes typu 2 (na inzulinu nezávislý – T2DM). Jedná se o chronické progresivní onemocnění charakterizované inzulinovou rezistencí, která je definována jako snížená vnímavost (senzitivita) buněk k inzulinu. Následná hyperglykémie způsobuje závažné mikro- a makrovaskulární komplikace (nefropatie, neuropatie či retinopatie). Postupem času dochází i k degeneraci β -buněk, které se snaží zvýšenou hladinu glukózy v krvi kompenzovat zvýšenou produkcí inzulinu. Podle WHO patří mezi hlavní rizikové faktory věk nad 40 let, dlouhodobě snížená fyzická aktivita a v neposlední řadě nadváha s BMI ≥ 27 kg/m² (1).

A právě obezita je považována za hlavní příčinu vzniku T2DM. Proto se někdy užívá pro společné označení obou problémů termín „diabesity“ (obezitou indukovaný diabetes

mellitus) (2, 3), který tak současně reflektuje etiologii a klinickou manifestaci.

Diabetes mellitus nabývá v dnešní době pandemických rozměrů. Do roku 2030 se celosvětově očekává více než zdvojnásobení počtu nemocných jedinců (4). Znamená to více jak 366 milionů lidí s diabetem, což bude odpovídat 4,4 % světové populace. To bude představovat značnou sociální a ekonomickou zátěž.

Přes mnohaletý intenzivní výzkum T2DM zůstává otázkou jeho přesná příčina. Jsou známy některé patogenetické mechanismy (např. genové mutace) a enviromentální faktory (pohyb, dieta ...), ale jejich přesné působení a regulace už méně.

Jednou z možností jak studovat patologické změny v tká-

Mgr. Jan Hošek
Ústav přírodních léčiv FaF VFU
Palackého 1–3, 612 42 Brno
fax: +420 541 240 606, e-mail: hhosek@gmail.com

ních nemocných diabetem je sledování změn exprese některých klíčových proteinů. Znalost lidského transkriptomu (soubor všech RNA nacházejících se v buňce v daný čas) a proteomu (soubor všech proteinů nacházejících se v buňce v daný čas) představuje jedinečný nástroj pro hledání příčin a následků nemoci či diagnostických a terapeutických cílů (5).

Tento přehledový článek si klade za cíl sumarizovat dosa-
 vadní znalosti o změnách exprese nejvýznamnějších genů, jejichž hladina může ovlivnit vznik a průběh T2DM, a to v hlavních inzulín-responzivních tkáních, což je především tuková tkáň, následně játra a svaly. Současně jsou zmíněny i některé mechanismy jejich regulace z pohledu potencia-
 lních terapeutických cílů.

GENOVÉ EXPRESE V BÍLÉ TUKOVÉ TKÁNI

Bílá tuková tkáň je klíčový regulátor energetického meta-
 bolismu a hraje centrální roli v rovnováze mezi skladováním a mobilizací energie na úrovni celého organismu (6). Jedná se také o velmi aktivní endokrinní orgán, který svými působky (adipokiny) ovlivňuje řadu metabolických pochodů v těle (7). Mezi nejdůležitější adipokiny patří leptin, adiponektin, TNF- α , IL-6 či rezistin. Přitom adiponektin a TNF- α antago-
 nisticky ovlivňují inzulínovou senzitivitu (6).

Chronický zánět, cytokiny a jejich vztah k T2DM

T2DM je charakterizován mírným chronickým zánětem v tukové tkáni, který vzniká jako následek obezity a zvyšují-
 cí se hmoty tukové tkáně (8). Následná zvýšená aktivita zánětu (např. vyšší produkce TNF- α) je spojována s výsky-
 tem inzulínové rezistence. Nicméně není stále jasné, zda vzniká prvně zánět nebo inzulínová rezistence. Předpokládá se, že v závislosti na akumulaci tuků, buňky tukové tkáně (adipocyty) tento zánět iniciují a makrofágy, které jsou infil-
 trovány do této tkáně, tento zánětlivý signál amplifikují (8). Ovlivnění regulace exprese pro- a protizánětlivých adipoki-
 nů může být jedním z cílů terapie diabetu.

Inzulín, kromě jiného, indukuje v adipocytech expresi IL-6 a TNF- α . Je ale možné, že inzulín stimuluje tvorbu IL-6 přes stimulaci těchto buněk pomocí TNF- α (9). Oba tyto cytokiny jsou označovány jako prozánětlivé (10). Avšak u IL-6 byly prokázány i protizánětlivé účinky (11). Inzulín zároveň inhibuje tvorbu adiponektinu (12). Srovnatelně účinný, co se účinku na expresi adiponektinu týče, je i TNF- α (12).

Vliv volných mastných kyselin na vznik inzulínové rezistence

Tukové buňky na svém povrchu exprimují receptor TLR4, který v buňkách imunitního systému rozpoznává bakteriální lipopolysacharidy (LPS). Po jeho aktivaci se spustí signální dráha vedoucí k aktivaci NF- κ B a zánětlivé reakci. Bylo pro-
 kázáno, že pro aktivaci TLR4 postačuje pouze lipidická složka LPS, a to především nasycené mastné kyseliny (13).

Jako vedlejší produkt metabolismu lipidů uvolňují adipocyty do svého okolí volné mastné kyseliny (FFA) (14), jejichž množství narůstá u obezních jedinců (15). Část těchto FFA se váže na TLR4 a přes aktivaci NF- κ B zapíná zánět-

livou reakci vedoucí ke zvýšené expresi prozánětlivých cyto-
 kinů a chemokinů (16). Takto aktivovaný zánět může ve svém důsledku vést až ke vzniku inzulínové rezistence. Mezi hlavní cíle transkripčního faktoru NF- κ B s potencia-
 lním zapojením do patogeneze T2DM patří TNF- α , rezistin, IL-6, TLR4, COX2 (cyklooxygenáza 2) a mnoho dalších (8, 16, 17). Podle posledních studií se však ukazuje, že TNF- α pro-
 dukovaný tukovou tkání pravděpodobně nepochází z adipocy-
 tů (18). V adipocytech ovlivněných LPS je exprese mRNA TNF- α nízká, a jeho hladinu tak budou ovlivňovat pravdě-
 podobně jiné buňky, s největší pravděpodobností infiltrované makrofágy.

NF- κ B může být také aktivován oxidačním stresem nebo stresem endoplazmatického retikula (ER stress) (8). Volné kyslíkové radikály mohou snížit i produkci adiponektinu.

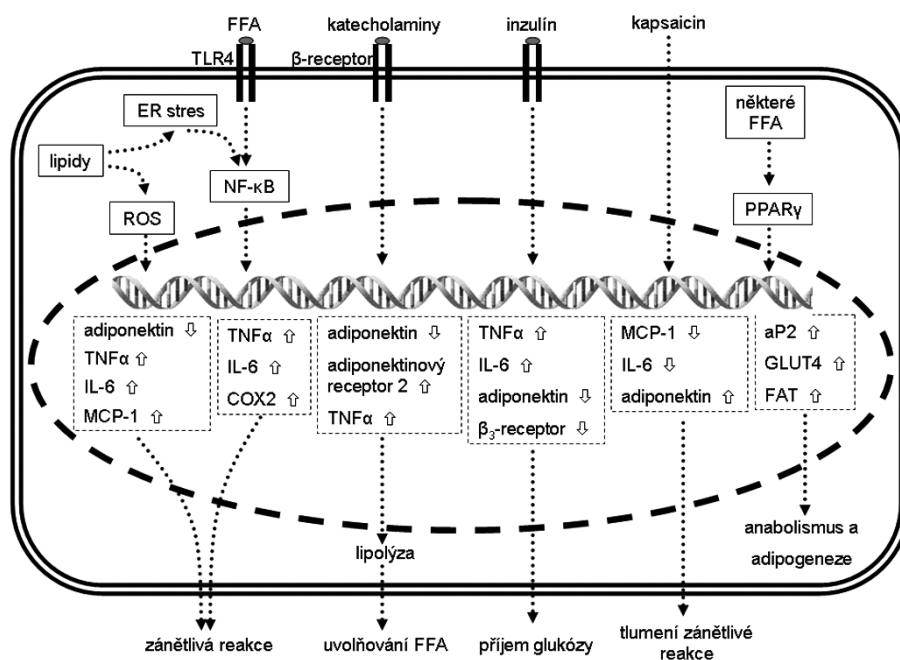
V buňce samotné mohou sloužit mastné kyseliny také jako ligand proliferačního faktoru PPAR γ (19). Nasycené mastné kyseliny se chovají jako inhibitory a nenasyčené jako aktivá-
 tory (19), svou úlohu zde hraje i konformace těchto kyselin (20). Tento protein je dominantně exprimován v adipocytech, kde hraje důležitou roli během adipogeneze (21) a podporu-
 je inzulínovou senzitivitu v buňkách v kontextu s obezitou (22). Ve své funkci transkripčního faktoru řídí transkripci proteinů, které se významnou měrou podílí na metabolismu tuků a malou částí i na metabolismu cukrů. Do utilizace sacharidů zasahuje převážně řízením transkripce transmem-
 bránového přenašeče glukózy, GLUT4 (20). Zpracování tuků ovlivňuje na více úrovních, od membránového transportního proteinu CD-36/FAT, přes intracelulární vazebný protein aP2/FABP až po metabolické enzymy acetyl-CoA-karboxy-
 lázu (ACC), acyl-CoA-oxidázu (AOX) či glycerol-3-fosfát dehydrogenázu (GPDH) (19, 20). Taktéž ovlivňuje svou vlastní expresi a expresi hormonu leptinu (20).

Regulace lipolýzy

Další z možností jak snížit množství tukové tkáně, a tím i zredukovat obezitu a k ní přidružené komplikace jako např. inzulínovou rezistenci, je aktivace lipolýzy v tukové tkáni. K indukci lipolýzy dochází aktivací β 2-adrenoceptorů nebo působením natriuretickým peptidem či růstovým hor-
 monem, k její inhibici naopak aktivací α 2-adrenoceptorů. Během lipolýzy však dochází k uvolňování FFA do cirkula-
 ce, což opět může vést k inzulínové rezistenci. Tyto aktiváto-
 ry se stávají farmakologicky zajímavými pouze v případě, že zároveň aktivují (nebo jako léčivo obsahují další účinnou lát-
 ku) oxidativní spalování mastných kyselin (23). Agonisté β -adrenoceptorů navozují snížení exprese adiponektinu a současného zvýšení exprese TNF- α a adiponektinového receptoru 2 (6). Na základě těchto pozorování byla navržena hypotéza, že vyšším množstvím receptoru se buňky snaží kompenzovat potlačenou expresi adiponektinu (6). Tato zpětnovazebná smyčka napomáhá udržovat lipidovou homeostázi v adipocytech.

Transkriptom tukové tkáně při T2DM

Změny v expresním profilu v tukové tkáni při diabetizaci sledoval Brown et al. (3). Leptin měl jako jediný zvýšenou expresi, ostatní proteiny měly hladiny snížené. Mezi protei-
 ny (respektive jejich mRNA) se sníženou produkcí patří například výše uvedený PPAR γ , glukózový transmembrá-
 nový přenašeč GLUT2 či glutathion S-transferáza A3 (GSTA3)



Obr. 1. Změna exprese vybraných genů v adipocytech tukové tkáně a jejich (pat)fyziologický efekt

Šipka ↑ značí zvýšenou expresi a šipka ↓ sníženou expresi.

aP2 – adipocytární protein 2, COX2 – cyklooxygenáza 2, ER – endoplazmatické retikulum, FAT – transportér mastných kyselin, FFA – volné mastné kyseliny, GLUT – glukózový transportér z rodiny SLC2A, IL-6 – interleukin 6, MCP-1 – monocytární chemoatraktant protein-1, NF-κB – jaderný faktor kappa B, PPAR – peroxizomální receptor aktivovaný proliferátory, ROS – reaktivní kyslíkové radikály, TNF-α – tumor necrosis factor α, TLR4 – toll-like receptor 4

a albumin. Diabetické buňky vykazují také sníženou expresi GLUT1 a 4 a hexokinázy II, která katalyzuje první krok vnitrobuněčného metabolismu glukózy (24).

Technologie DNA čipů pomohla odhalit několik desítek genů, které jsou pod přímou transkripční kontrolou účinku inzulínu. V práci Sartipy a Loskutoffa (24) je identifikována skupina genů, jejichž hladina exprese se nemění ani během inzulínové rezistence. Patří do ní např. transkripční faktor Erg-1 či epipegulin, jejichž tvorbu inzulín indukuje nebo β₃-adrenoceptor, jehož exprese je naopak inzulínem utlumena.

Přehled diskutovaných signálních drah a možnosti regulace genové exprese v adipocytech jsou znázorněny na obrázku 1.

GENOVÉ EXPRESE V JÁTRECH

Játra představují důležitý orgán pro kontrolu glukózové a lipidové homeostáze. Vstřebáváním nebo vylučováním glukózy do krevního oběhu regulují její hladinu v závislosti na její koncentraci a aktuální potřebě těla (25). Dysregulace uvolňování glukózy do krve v játrech vede k hyperglykémii a T2DM. Klíčovou roli v tvorbě glukózy (glykogenolýza nebo glukoneogeneze) hrají enzymy PEPCK (fosfoenolpyruvát karboxykináza) a G6Páza (glukózo-6-fosfatáza). Inzulín inhibuje expresi těchto genů (26), zatímco glukagon a glukokortikoidy působí antagonisticky vůči inzulínu (27). Zvýšená glukoneogeneze způsobená zvýšenou expresí genů PEPCK a G6Páza dokáže navodit metabolické defekty pozorované u T2DM (24). Alterace funkce jednoho takového jaterního genu může mít neblahé účinky na celkovou glukó-

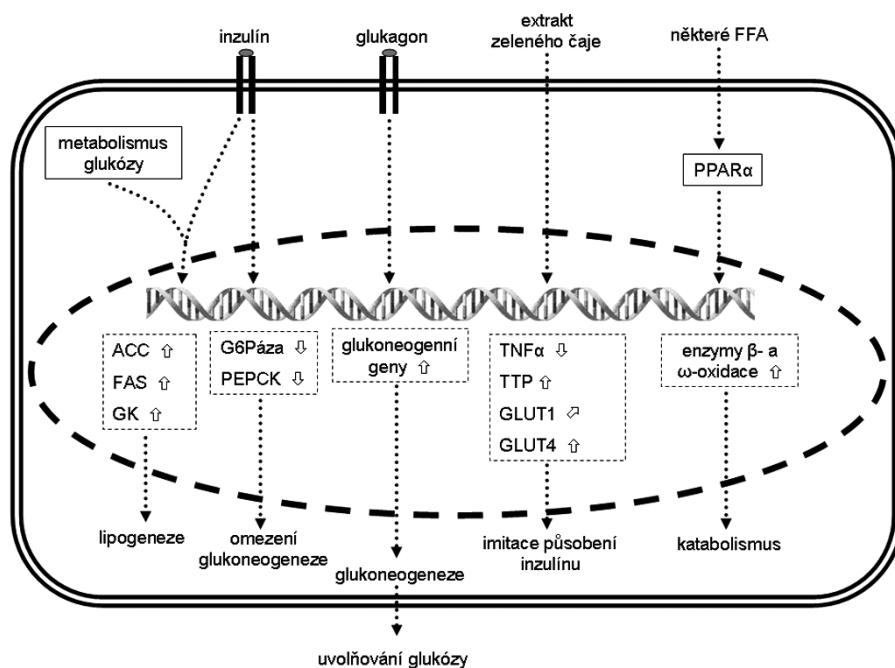
zovou a lipidovou homeostázu *in vivo* (25). Na druhé straně stojí jaterní glukokináza (GK), jejíž exprese je indukována inzulínem (28). Při nadměrné produkci GK v pokusných zvířatech (29) nebo při allosterické aktivaci (30) dojde ke zvýšenému zachytávání glukózy, čímž se sníží její obsah v krvi. To činí z GK nadějný terapeutický cíl pro léčbu diabetu.

Dieta bohatá na cukry indukuje v játrech tvorbu lipogenních enzymů. Pro aktivaci této dráhy je nutná ještě přítomnost inzulínu (28, 31). Mezi tyto enzymy patří již výše popsaná GK, FAS nebo ACC. Zároveň dochází k útlumu tvorby PEPCK.

Při obezitě, kdy vzrůstá množství tukové tkáně a adipocytů, reagují játra na tuto skutečnost velmi citlivě. Více tukové tkáně znamená více uvolněných adipokinů do krevního řečiště. Tato disbalance může narušit metabolickou rovnováhu v játrech a převrátit ji na stranu lipogeneze (32). Zvýšené ukládání tuku může vést až ke vzniku na alkoholu nezávislé steatózy jater (NAFLD).

Kromě adipokinů působí na jaterní tkáň i vyšší koncentrace FFA. Tyto mastné kyseliny slouží jako ligandy PPARα (19), který svou vazbou aktivují. PPARα v buňkách pracuje jako transkripční faktor a jeho cílové geny jsou zapojeny do β-oxidace mastných kyselin (33, 34). Jako aktivátory však působí hlavně nenasycené mastné kyseliny (19), pro terapeutické využití se uvažuje o n-3 polynenasycených mastných kyselinách (35). PPARγ působí tedy antagonisticky (má katabolické účinky) oproti PPARα, který se nachází v adipocytech.

V diabetických játrech byla prokázána změněná exprese mnoha dalších genů. Výrazný pokles byl zjištěn u proteinu Tff3, a to 593× oproti kontrole (3). Tento protein je domi-



Obr. 2. Změna exprese vybraných genů v hepatocytech a jejich (pato)fyziologický efekt
Šipka ↑ značí zvýšenou expresi, šipka ↓ sníženou expresi
a šipka ↗ mírně zvýšenou expresi.

ACC – acetyl-CoA-karboxyláza, FAS – syntéza mastných kyselin, FFA – volné mastné kyseliny, G6Páza – glukózo-6-fosfatáza, GK – glukokináza, GLUT – glukózový transportér z rodiny SLC2A, PEPCK – fosfoenolpyruvát karboxykináza, PPAR – peroxizomální receptor aktivovaný proliferátory, TNF- α – tumor necrosis factor α , TLR4 – toll-like receptor 4

nantně exprimován ve střevní mukóze, ale je aktivní i v játrech. V souvislosti s diabetem není zatím zkoumán, ale jeho zvýšená produkce v játrech je asociována se žlučovými kameny (hepatolithiasis) (36). V diabetických játrech byla taktéž snížena exprese PPAR γ , zvýšená exprese byla naopak prokázána například u receptoru pro lipoprotein s velmi nízkou hustotou (VLDLR) (3).

Možnosti regulace genové exprese v hepatocytech jsou souhrnně znázorněny na obrázku 2.

GENOVÉ EXPRESE VE SVALECH

Svaly představují jednoho z hlavních „odběratelů a spotřebitelů“ glukózy v těle. Tu následně skladují ve formě glykogenu pro základní energetickou potřebu. Hlavním transmembránovým přenašečem glukózy ve svalectech je GLUT4, jehož exprese je řízena jak samotným inzulínem, tak i metabolity a svalovou činností (37). Kromě tohoto proteinu inzulín kontroluje přepis přibližně 800 dalších genů (38). U 409 z nich je známa funkce. Proteiny jimi kódované je možné rozdělit do několika hlavních skupin: 29 % je zapojeno do regulace translace, 14 % do regulace energetického metabolismu a 12 % do intracelulární signalizace. Zbytek pak náleží do kategorie cytoskeletárního transportu, receptorů či odbourávání nepotřebných proteinů (38).

Při svalové činnosti vzniká velké množství reaktivních kyslíkových radikálů (ROS), které se podílí na aktivování drah vedoucích k příjmu glukózy během svalové kontrakce (39). Ale oxidativní stres se významnou měrou podílí i na patogenezi T2DM (40). U pacientů s T2DM bylo prokázáno poškození obranných mechanismů proti oxidativnímu stresu,

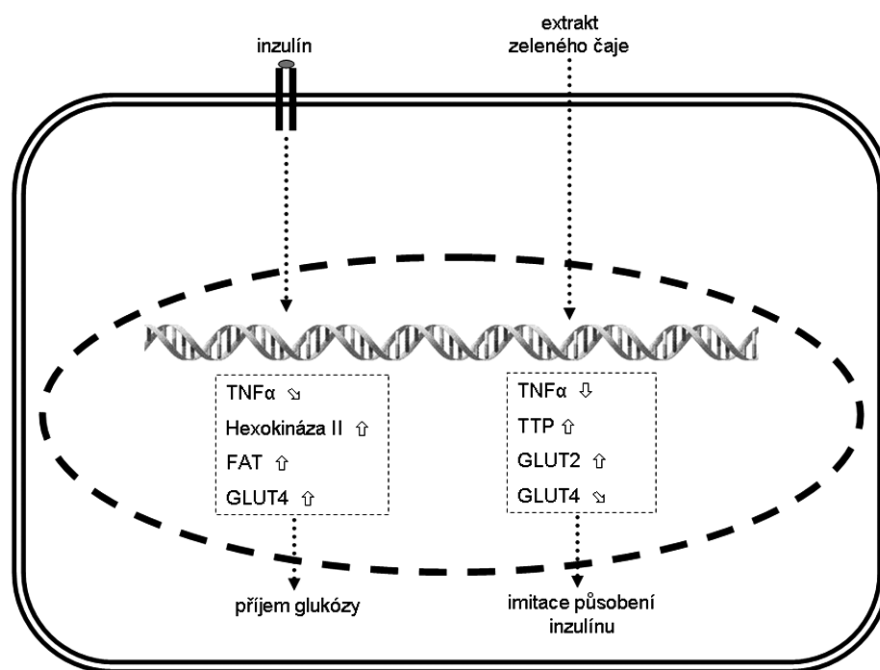
a to sníženou tvorbou enzymů HSP72 (Heat shock protein 72) a HO-1 (hem oxygenáza 1) (40). Na druhou stranu řada studií potvrzuje teorii, že pravidelný pohyb snižuje inzulínovou rezistenci a napomáhá předcházet vzniku T2DM (41). Dochází při něm ke snižování objemu tukové tkáně, a tím i k redukci produkce FFA a prozánětlivých cytokinů. Je možné, že IL-6 produkovaný ve svalech by mohl mít protizánětlivé účinky a cvičení by tak působilo proti nemocem charakterizovaných mírným zánětem, kam se řadí mimo jiné diabetes typu 2 či arterioskleróza (11). Současně se během svalové činnosti odbourává značná část uložené energie za současné aktivace příjmu glukózy do svalů. Svalovou kontrakci lze také simulovat podáním aktivátorů AMPK (AMP – activated protein kinase), který je klíčovým enzymem v signální dráze při svalové práci (41, 42). Tím opět dojde ke zvýšenému zachytu glukózy z krve a snížení glykémie.

Na rozdíl od tukové tkáně a jater není ve svalectech aktivována zánětlivá kaskáda narůstající masou tukové tkáně. Zánět je ale možné experimentálně vyvolat například intramuskulární injekcí lipidů. Jak se zdá, svaly představují spíše pouze cíl zánětem indukované inzulínové rezistence než místo vzniku zánětu (8).

Změna exprese vybraných genů ve svalových myocytech je zobrazena na obrázku 3.

VLIV DIETY NA INZULÍNOVOU REZISTENCI

Složení přijímané stravy má výrazný vliv na vznik a průběh inzulínové rezistence. Nejdůležitější složkou z tohoto pohledu představují tuky. Jak již bylo zmíněno výše, FFA, které vzniká



Obr. 3. Změna exprese vybraných genů ve svalových myocytech a jejich (pato)fyziologický efekt
Šipka \uparrow značí zvýšenou expresi, šipka \downarrow sníženou expresi
a šipka \approx mírně sníženou expresi.

FAT – transportér mastných kyselin, GLUT – glukózový transportér z rodiny SLC2A, TNF- α – tumor necrosis factor α , TTP – tristetraprolin

ji jako meziprodukt metabolismu tuků, mohou fungovat jako koaktivátory transkripčních faktorů rodiny PPAR. Vliv na metabolismus záleží na složení a vzájemných poměrech mastných kyselin ve stravě. Západní styl života je charakteristický nízkým příjmem omega-3 nenasycených mastných kyselin a vysokým příjmem nasycených a transnenasycených mastných kyselin (43). Tato kombinace, kromě jiných příčin, jako je nedostatek pohybu či pozitivní energetická bilance, velmi přispívá ke vzniku obezity a následným problémům (kardiovaskulární komplikace, T2DM ...). Dlouhodobě zvýšená hladina FFA je jednou z příčin inzulínové rezistence. Tak, jak je inzulínová rezistence stěžejní abnormalitou při T2DM, tak FFA představují jeden ze základních znaků, který slouží jako mechanické pojítko mezi narůstající tukovou tkání a T2DM (44).

Kromě množství a formy přijaté energie v potravinách ovlivňují inzulínovou rezistenci například i některé rostlinné látky. Řada z nich byla, či stále je, využívána v lidovém léčitelství. Například extrakt zeleného čaje může do jisté míry imitovat působení inzulínu. Při jeho podávání se zvyšuje exprese transmembránových glukózových přenašečů z GLUT rodiny ve svalu a játrech (45, 46). Zároveň se snižuje produkce prozánětlivého TNF- α . Tato skutečnost je vysvětlována zvýšenou expresí proteinu tristetraprolinu (TTP; Zft36) (46). Tento protein se váže a destabilizuje prozánětlivé molekuly mRNA (např. TNF- α). Agens indukující produkci TTP by mohl mít potenciální terapeutickou hodnotu při prevenci anebo léčbě zánětlivých onemocnění (46).

Další fytochemikálií použitelnou na modulaci inzulínové rezistence je kapsaicin (pálivá složka paprik). Po jeho aplikaci dochází k iniciaci produkce adiponektinu v tukové tkáni a zároveň ke snížené produkci IL-6 a prozánětlivého adipokinu MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) (47).

MCP-1 indukují migraci a aktivaci makrofágů do tukové tkáně (48). Tímto procesem se akceleruje chronický zánět, který je charakteristický pro T2DM. MCP-1 tak hraje důležitou roli při rozvoji diabetu a jako takový představuje vhodný terapeutický cíl pro modulaci patologických stavů způsobených obezitou (48).

ZÁVĚR

Pozitivní energetická bilance, dlouhodobě snížená pohybová aktivita a změněné stravovací návyky vedou k rozvoji metabolického syndromu, inzulínové rezistence a nakonec k diabetes mellitus 2. typu. V dnešní době je klíčové pochopit základní biologické pochody, které jsou charakteristické pro tuto nemoc pandemických rozměrů. Detailní znalost působení inzulínu a znalost dysregulací genové exprese při diabetu může vést k lepšímu pochopení mechanismů inzulínové rezistence. Poskytnete zároveň možnost pro vývoj nových léků a zkvalitnění léčby.

Zkratky

ACC	– acetyl-CoA-carboxylase (acetyl-CoA-karboxyláza)
AMPK	– AMP-activated protein kinase (protein kináza aktivovaná adenosinmonofosfátem)
AOX	– acyl-CoA-oxidase (acyl-CoA-oxidáza)
aP2	– adipocytární protein 2
BMI	– body mass index (index tělesné hmotnosti)
COX2	– cyklooxygenáza 2
DNA	– deoxyribonucleic acid (deoxyribonukleová kyselina)

- Erg-1 – early growth response 1 (transkripční faktor brzké odpovědi)
- FABP – fatty acid binding protein (protein vázající mastné kyseliny)
- FAS – fatty acid synthase (syntáza mastných kyselin)
- FAT – fatty acid transporter (transportér mastných kyselin)
- FFA – free fatty acids (volné mastné kyseliny)
- G6Páza – glukose-6-phosphatase (glukózo-6-fosfatáza)
- GK – glukokináza
- GLUT – glukózový transportér z rodiny SLC2A
- GPDH – glycerol-3-phosphate dehydrogenase (glycerol-3-fosfát dehydrogenáza)
- GSTA3 – glutathion S-transferase A3 (glutathion S-transferáza A3)
- HO-1 – hemoxigenáza 1
- HSP72 – heat shock protein 72 (protein tepelného šoku 72)
- IL-6 – interleukin 6
- LPS – lipopolysacharidy
- MCP-1 – monocyte chemoattractant protein-1 (monocytární chemoatraktant protein-1)
- mRNA – mediator ribonucleic acid (mediátorová ribonukleová kyselina)
- NAFLD – nonalcoholic fatty liver disease (na alkoholu nezávislá steatóza jater)
- NF- κ B – nuclear factor kappa B (jaderný faktor kappa B)
- PEPCK – phosphoenolpyruvát carboxykinase (fosfoenolpyruvát karboxykináza)
- PPAR – peroxisome proliferator-activated receptors (peroxisomální receptor aktivovaný proliferátory)
- RNA – ribonucleic acid (ribonukleová kyselina)
- ROS – reactive oxygen species (reaktivní kyslíkové radikály)
- T2DM – type 2 diabetes mellitus (diabetes mellitus typu 2)
- Tff3 – trefoil 3
- TNF- α – tumor necrosis factor α
- TLR4 – toll-like receptor 4
- TTP – tristetraprolin
- VLDLR – very-low density lipoprotein receptor (receptor pro lipoprotein s velmi nízkou hustotou)
- WHO – World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)
8. **Shoelson, S. E., Lee, J., Goldfine, A. B.:** Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 2006, 116, s. 1793–1801.
9. **Krogh-Madson, R., Plomgaard, P., Keller, C., Pedersen, B. K.:** Insulin stimulates interleukin-6 and tumor necrosis factor- α gene expression in human subcutaneous adipose tissue. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2004, 286, s. E234–E238.
10. **Zou, C., Shao, J.:** Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance. *J. Nutr. Biochem.*, 2008, 19, s. 277–286.
11. **Starkie, R. L., Ostrowski, S. R., Jauffred, S. et al.:** Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- α production in humans. *Faseb J.*, 2003, 17, s. 884–886.
12. **Fasshauser, M., Klein, J., Neumann, S. et al.:** Hormonal Regulation of Adiponectin Gene Expression in 3T3-L1 Adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 290, 1084–1089.
13. **Lee, J. Y., Sohn, K. H., Rhee, S. H., Hwang, D.:** Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, s. 16683–16689.
14. **Näslund, B., Bernström, K., Lundin, A., Arner, P.:** Release of small amounts of free fatty acids from human adipocytes as determined by chemiluminescence. *J. Lipid Res.*, 1993, 34, s. 633–641.
15. **Wilding, J. P. H.:** The importance of free fatty acids in the development of Type 2 diabetes. *Diabetic Med.*, 2007, 24, s. 934–945.
16. **Shi, H., Kokoeva, M. V., Inouye, K. et al.:** TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 2006, 116, 3015–3025.
17. **Hwang, D.:** Modulation of the expression of cyclooxygenase 2 by fatty acids mediated through Toll-like receptor 4-derived signaling pathways. *FASEB J.*, 2001, 15, s. 2556–2564.
18. **Hoch, M., Eberle, A. N., Peterli, R. et al.:** LPS induces interleukin-6 and interleukin-8 but not tumor necrosis factor- α in human adipocytes. *Cytokine*, 2008, 41, s. 29–37.
19. **Desvergne, B., Wahli, W.:** Peroxisome proliferator-activated receptors: Nuclear control of metabolism. *Endocr. Rev.*, 1999, 20, s. 649–688.
20. **Brown, J. M., Boyns, M. S., Jensen, S. S. et al.:** Isomer-specific regulation of metabolism and PPAR γ signaling by CLA in human preadipocytes. *J. Lipid Res.*, 2003, 44, s. 1287–1300.
21. **Tontonoz, P., Hu, E., Graves, R. A. et al.:** mPPAR gamma 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev.*, 1994, 8, s. 1224–1234.
22. **Moller, D. E., Berger, J. P.:** Role of PPARs in the regulation of obesity-related insulin sensitivity and inflammation. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2003, 27 (Suppl. 3), s. S17–S21.
23. **Langin, D.:** Adipose tissue lipolysis as a metabolic pathway to define pharmacological strategies against obesity and the metabolic syndrome. *Pharmacol. Res.*, 2006, 53, s. 482–491.
24. **Sartipy, P., Loskutoff, D. J.:** Expression profiling identifies genes that continue to respond to insulin in adipocytes made insulin-resistant by treatment with tumor necrosis factor- α . *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, s. 52298–52306.
25. **Postic, C., Dentin, R., Girard, J.:** Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes Metab.*, 2004, 30, s. 398–408.
26. **Lochhead, P. A., Coghlan, M. P., Rice, S. Q. J., Sutherland, C.:** Inhibition of GSK3 selectively reduces G6Pase and PEPCK gene expression. *Diabetes*, 2001, 50, s. 937–947.
27. **Haber, B. A., Chin, S., Chuang, E. et al.:** High levels of glucose-6-phosphatase gene and protein expression reflect an

LITERATURA

1. <http://www.leb.emro.who.int/2006%20Guideline%20diab2.pdf> (online 19. 5. 2008).
2. **Astrup, A., Finer, N.:** Redefining type 2 diabetes: „diabesity“ or „obesity dependent diabetes mellitus“? *Obes. Rev.*, 2000, 1, s. 57–59.
3. **Brown, A. C., Olver, W. I., Donnelly, C. J. et al.:** Searching QTL by gene expression: analysis of diabesity. *BMC Genet.*, 2005, 6, s. 12.
4. **Wild, S., Roglic, G., Green, A. et al.:** Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care*, 2004, 27, s. 1047–1053.
5. **Toye, A., Gauguier, D.:** Genetics and functional genomics of type 2 diabetes mellitus. *Genome Biol.*, 2003, 4, s. 241.
6. **Fu, L., Isobe, K., Zeng, Q. et al.:** β -adrenoreceptor agonists downregulate adiponectin, but upregulate adiponectin receptor and tumor necrosis factor- β expression in adipocytes. *Eur. J. Pharmacol.*, 2007, 569, s. 155–162.
7. **Trayhurn, P., Bing, C., Wood, S.:** Adipose tissue and adipokines – Energy regulation from the human perspective. *J. Nutr.*, 2006, 136 (Suppl.), s. 1935S–1939S.

- adaptive response in proliferating liver and diabetes. *J. Clin. Invest.*, 1995, 95, s. 832–841.
28. **Gregori, C., Guillet-Deniau, I., Girard, J. et al.:** Insulin regulation of glucokinase gene expression: evidence against a role for sterol regulatory element binding protein 1 in primary hepatocytes. *FEBS Lett.*, 2006, 580, s. 410–414.
 29. **O'Doherty, R. M., Lehman, D. L., Télémaque-Potts, S., Newgard, C. B.:** Metabolic impact of glucokinase overexpression in liver: lowering of blood glucose in fed rats is accompanied by hyperlipidemia. *Diabetes*, 1999, 48, s. 2022–2027.
 30. **Grimsby, J., Sarabu, R., Corbett, W. L. et al.:** Allosteric activators of glucokinase: potential role in diabetes therapy. *Science*, 2003, 301, s. 370–373.
 31. **Stoekman, A. K., Towle, H. C.:** The role of SREBP-1c in nutritional regulation of lipogenic enzyme gene expression. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, s. 27029–27035.
 32. **Queshi, K., Abrahams, G. A.:** Metabolic liver disease of obesity and role of adipose tissue in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.*, 2007, 13, s. 3540–3553.
 33. **Patsouris, D., Reddy, J. K., Müller, M., Kersten, S.:** Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the effects of high-fat diet on hepatic gene expression. *Endocrinology*, 2006, 147, s. 1508–1516.
 34. **Tamura, K., Ono, A., Miyagishima, T. et al.:** Profiling of gene expression in rat liver and rat primary cultured hepatocytes treated with peroxisome proliferators. *J. Toxicol. Sci.*, 2006, 31, s. 471–490.
 35. **Svegliati-Baroni, G., Candelaresi, C., Saccomanno, S. et al.:** A Model of Insulin Resistance and Nonalcoholic Steatohepatitis in Rats: Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Treatment on Liver Injury. *Am. J. Pathol.*, 2006, 169, s. 846–860.
 36. **Sasaki, M., Ikeda, H., Ohira, S. et al.:** Expression of trefoil factor family 1, 2, and 3 peptide is augmented in hepatolithiasis. *Peptides*, 2004, 25, s. 763–770.
 37. **Zorzano, A., Palacín, M., Gumà, A.:** Mechanisms regulating GLUT4 glucose transporter expression and glucose transport in skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.*, 2005, 183, s. 43–58.
 38. **Rome, S., Clément, K., Rabasa-Lhoret, R. et al.:** Microarray profiling of human skeletal muscle reveals that insulin regulates ~800 genes during a hyperinsulinemic clamp. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, s. 18063–18068.
 39. **Sandström, M. E., Zhang, S. J., Bruton, J. et al.:** Role of reactive oxygen species in contraction-mediated glucose transport in mouse skeletal muscle. *J. Physiol.*, 2006, 575, s. 251–262.
 40. **Bruce, C. R., Carey, A. L., Hawley, J. A., Febbraio, M. A.:** Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin resistance is associated with a disturbed antioxidant defense mechanism. *Diabetes*, 2003, 52, s. 2338–2345.
 41. **Hawley, J. A.:** Exercise as a therapeutic intervention for the prevention and treatment of insulin resistance. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2004, 20, s. 383–393.
 42. **Göransson, O., McBride, A., Hawley, S. A. et al.:** Mechanism of action of A-769662, a valuable tool for activation of AMP-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 2007, 282, s. 32549–32560.
 43. **Haag, M., Dippenaar, N. G.:** Dietary fats, fatty acids and insulin resistance: short review of a multifaceted connection. *Med. Sci. Monit.*, 2005, 11, s. RA359–RA367.
 44. **Wilding, J. P. H.:** The importance of free fatty acids in the development of Type 2 diabetes. *Diabet. Med.*, 2007, 24, s. 934–945.
 45. **Cao, H., Hininger-Favier, I., Kelly, M. A. et al.:** Green tea polyphenol extract regulates the expression of genes involved in glucose uptake and insulin signaling in rats fed a high fructose diet. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55, s. 6372–6378.
 46. **Cao, H., Kelly, M. A., Kari, F. et al.:** Green tea increases anti-inflammatory tristetraprolin and decreases pro-inflammatory tumor necrosis factor mRNA levels in rats. *J. Inflamm. (Lond.)*, 2007, 4, s. 1.
 47. **Kang, J. H., Kim, C. S., Han, I. S. et al.:** Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissue macrophages. *FEBS Lett.*, 2007, 581, s. 4389–4396.
 48. **Yu, R., Kim, C. S., Kwon, B. S., Kawada, T.:** Mesenteric adipose tissue-derived monocyte chemoattractant protein-1 plays a crucial role in adipose tissue macrophage migration and activation in obese mice. *Obesity (Silver Spring)*, 2006, 14, s. 1353–1362.

Migrace různých typů lymfocytů ve tkáni

Že lymfocyty migrují, je ustálená představa, ale zdá se, že různé lymfocyty používají rozdílné cesty: Naivní T-buňky cirkulují mezi krví a lymfou, zatím co paměťové buňky navíc migrují ne-lymfoidními orgány. Nová evidence však ukazuje,

že to nemusí být tak docela pravda, zejména mezi naivními a paměťovými buňkami; naivní buňky mohou vstoupit i do ne-lymfatického prostředí ve stejném počtu jako buňky paměťové. Autoři ukazují na cesty naivních T-buněk do ne-lymfatické tkáně a srovnávají i činnost s buňkami paměťovými, diskutují tento vztah a uvažují o funkční důležitosti vstupu naivních buněk do

parechymatózních orgánů v přibližně stejném počtu jako T-buňky paměťové.

Literatura:

Lewis M. et al.: Memory versus naive T-cell migration. *Immunology and Cell Biology*, 2008, 86, s. 226–231.

P. Barták

PŮVODNÍ PRÁCE

Biologická a nebiologická eliminační léčba akutního selhání jater Experimentální práce na velkém laboratorním zvířeti

^{1,2}Ryska M., ^{2,3}Lásziková E., ^{1,2}Pantoflíček T., ⁴Kieslichová E., ^{2,5}Ryska O.,
⁶Pražák J., ^{1,2}Koblihová E., ⁴Skibová J.

¹Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN, Praha

²Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad 2. LF UK, Praha

³Oddělení anesteziologie a resuscitace ÚVN, Praha

⁴IKEM, Praha

⁵Chirurgická klinika 1. LF UK a IPVZ ILF, FN Na Bulovce, Praha

⁶Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní péče 2. LF UK a FNM, Praha

ABSTRAKT

Východisko. V posledních 20 letech dochází k rozvoji biologických i nebiologických eliminačních metod, které by umožňovaly efektivně léčit nemocného s akutním jaterním selháním v době, kdy čeká na transplantaci jater či po dobu, kdy dojde ke spontánní regeneraci jaterního parenchymu. Cílem práce je zhodnotit účinky biologické (BAL – Bioartificial liver) a nebiologické (FPSA – Fractionated plasma separation and adsorption) eliminační metody u ASJ v experimentu na velkém laboratorním zvířeti.

Metody a výsledky. Provedení chirurgického devaskularizačního modelu ASJ u prasete váhy 25–40 kg a následné monitorace markerů ASJ (AST, ALT, bilirubin, amoniak, glykémie, Quickův test) včetně intrakraniálního tlaku (ICP). Vytvoření kontrolní skupiny bez léčby ASJ. Výsledky obou experimentálních skupin jsme porovnali se skupinou kontrolní a statisticky zpracovali pomocí t-testu a Mann-Whitneyovým neparametrickým testem použitím tabulátoru EXCEL a QUATRO. *Skupina BAL:* 10 prasat váhy 30 kg (30 ± 5 kg) s ASJ jsme napojili na bioreaktor s izolovanými hepatocyty. Při srovnání léčené a neléčené skupiny jsme pozorovali rozdíl pouze v sérových koncentracích bilirubinu, kdy v 6. a 9. hodině byl statisticky významný ($p < 0,05$) ve prospěch skupiny BAL (18,1 vs. 13,1, 22,9 vs. 13,2 mmol/l). Hodnoty ICP se v průběhu experimentu statisticky významně nelišily. *Skupina Prometheus:* u 14 prasat váhy 35 kg (35 ± 5 kg) jsme k léčbě ASJ použili přístroj Prometheus (FPSA). Hladina bilirubinu byla v experimentální skupině oproti kontrolní signifikantně nižší v 6. hodině 12,81 ± 6,54 vs. 29,84 ± 9,99, v 9. hodině 11,94 ± 4,14 vs. 29,95 ± 12,36 a ve 12. hodině 13,88 ± 6,31 vs. 26,10 ± 12,23 mmol/l. Signifikantní rozdíl u hodnot amoniaku jsme nenašli. Hodnoty ICP se statisticky významně lišily od 9. hodiny po 12 hodinu ve prospěch skupiny léčené FPSA ($p < 0,01$): 9. hodina 19,1 ± 4,09 vs. 24,1 ± 2,85, 10. hodina 21,9 ± 3,63 vs. 25,1 ± 2,19, 11. hodina 22,5 ± 3,98 vs. 26,3 ± 3,50, 12. hodina 24,0 ± 4,66 vs. 29,8 ± 5,88 mm Hg sloupce.

Závěry. Na chirurgickém devaskularizačním modelu akutního selhání jater jsme v experimentu na velkém laboratorním zvířeti prokázali signifikantní snížení bilirubinu a ICP při použití metody FPSA – frakcionované plazmatické separace a adsorpce – přístrojem Prometheus. Biologická eliminace pomocí přístroje Oliver Performer s bioreaktorem s izolovanými hepatocyty vyjma koncentrace bilirubinu neprokázala signifikantní změny hodnot laboratorních ukazatelů ani ICP.

Klíčová slova: akutní jaterní selhání, velké laboratorní zvíře, bioartificial liver, FPSA, monitorace.

ABSTRACT

Ryska M., Lásziková E., Pantoflíček T. et al.: Biological and Non-biological Elimination Therapy of Acute Liver Failure. Experimental Study on Large Laboratory Animal

Background. Development of biological and non-biological artificial liver devices in the previous 20 years enabled effective treatment of acute liver failure (ALF) of patients waiting for liver transplantation or for spontaneous liver parenchyma regeneration. Aim of the study was the evaluation of the effectiveness of biological (BAL – bioartificial liver) and non-biological (FPSA – Fractionated plasma separation and adsorption) methods in the treatment of experimental ALF on large laboratory animal.

Methods and Results. Surgical model of ALF with liver devascularization in pigs (weight 25–40 kg) was provided following monitoring of ALF markers (AST, ALT, bilirubin, ammoniac, glycaemia, INR) including intracranial pressure (ICP). Control group included animals without treatment of ALF. Results of both experimental groups were compared and statistically worked-out with that of controls by T-test and Mann-Whitney non-parametric test by EXCEL and QUATRO. *BAL group:* 10 pigs (weight 30

± 5 kg) with ALF were treated by BAL with isolated hepatocytes. When plasma bilirubin was compared, significant differences ($p < 0.05$) in 6 and 9 hours interval were found favouring BAL group (18.1 vs. 13.1, 22.9 vs. 13.2 mmol/l). The value of ICP in both groups was no significant. *Prometheus group*: 14 pigs weight 35 kg (35 ± 5 kg) with the identical ALF were treated by Prometheus (FPSA). Level of serum bilirubin in experimental group when compared to control group was significantly lower ($p < 0.01$) at 6 hour interval 12.81 ± 6.54 vs. 29.84 ± 9.99 at 9 hour 11.94 ± 4.14 vs. 29.95 ± 12.36 and at 12 hour 13.88 ± 6.31 vs. 26.10 ± 12.23 mmol/l. No significant difference in serum ammonia level was found. ICP was significantly different from 9 hour to 12 hour interval in favour of FPSA group ($p < 0.01$): 9 hour 19.1 ± 4.09 vs. 24.1 ± 2.85 , 10 hour 21.9 ± 3.63 vs. 25.1 ± 2.19 , 11 hour 22.5 ± 3.98 vs. 26.3 ± 3.50 and 12 hour 24.0 ± 4.66 vs. 29.8 ± 5.88 mm Hg.

Conclusions. Significant improvement of bilirubin and ICP levels resulting from the treatment with fractionated plasma separation and adsorption (Prometheus) were observed in the case of experimental ALF. Except the bilirubin levels, bioartificial liver provided by O. liver Performer with isolated hepatocytes did not bring any significant improvement of laboratory markers, including ICP.

Key words: acute liver failure, large laboratory animal, bioartificial liver, FPSA, monitoring. Ry.

Čas. Lék. čes., 2008, 147, pp. 367–375.

Přežívání nemocných s akutním selháním jater (ASJ) dosahuje v závislosti na progresi encefalopatie a výskytu infekčních komplikací při konzervativní terapii pouhých 10–40 % (1). Ortotopická transplantace jater (TJ) je neefektivnější metodou, která zlepšuje přežití nemocného s ASJ. U části nemocných však může dojít k regeneraci jaterní tkáně, a to i při destrukci více než 80 % hepatocytů (2). Regenerace vede k plnému uzdravení. V době, po kterou pacient čeká na TJ, či dochází ke spontánní regeneraci, je pacient akutně ohrožen na životě. Současně možnosti jak pacienta přes toto období převést (tzv. „bridging therapy“) jsou limitovány. Proto v posledních 20 letech dochází k rozvoji biologických i nebiologických eliminačních metod, které by umožňovaly efektivnější bridging, a tím zlepšily šanci nemocného s ASJ přežít.

Cílem našeho sdělení je srovnat léčebnou efektivitu biologické a nebiologické eliminační léčby ASJ. Práce vznikla na základě studií autorů s použitím obou metod na experimentálním chirurgickém modelu ASJ na velkém laboratorním zvířeti (3–9).

POUŽITÉ METODY

I. Experimentální chirurgický model ASJ

V experimentu jsme použili chirurgický model ASJ u prasete váhy 25–40 kg. Metodu, kterou jsme použili k vyvolání ASJ, tj. provedení chirurgické devaskularizace jater s portokavální anastomózou (PCA), monitoraci hemodynamiky i laboratorních parametrů, jsme detailně popsali v předchozích publikacích (3–6).

Vedení pooperačního období

Po chirurgické devaskularizaci jater jsme prase zahřívali a ventilovali směsí kyslíku se vzduchem s FiO_2 0,5. Intravenózně jsme podávali analgosedací farmaky s převážně mimojaterní cestou eliminace: kombinaci propofolu v úvodní dávce 6 mg/kg/hod. (Recofol, Leiras, Finsko), fentanyl v úvodní dávce 2 $\mu\text{g/kg/min}$ (fentanyl torrex, Torrex Pharma GmbH, Wien, Rakousko) a medetomidinu v úvodní dávce 3 $\mu\text{g/kg/hod.}$ (Domitor, Phizer, USA). Podle potřeby jsme podávali krystaloidní a koloidní roztoky. Noradrenalin (Noradrenalin, Léčiva, ČR) a bolusové dávky furosemidu (Furosemid, Hoechst-Biotika, SR) jsme výjimečně podávali k udržení hemodynamické stability a diurézy.

Ventilace, monitorace vnitřního prostředí a markerů ASJ

U analgosedovaných zvířat byla umělá plicní ventilace vedena buď objemově (VCV) nebo tlakově (PCV) s cílem udržet normoventilaci (paCO_2 4,6–5,3 kPa). V pravidelných intervalech jsme vyhodnocovali parametry acidobázické rovnováhy (pH, paO_2 , paCO_2 , laktát) s možností včasného zjištění a ovlivnění hypoxémie a hyperkapnie. Zároveň jsme kontinuálně monitorovali parametry hemodynamiky, SpO_2 , ETCO_2 a hodinovou diurézu. V pravidelných intervalech jsme odebírali krevní vzorky ke stanovení hodnot iontů, glykémie, krevního obrazu, parametrů hemokoagulace, jaterních testů a sérového kreatininu.

Monitorace ICP

Monitoraci intrakraniálního tlaku (ICP) jsme zahájili ihned po operaci zavedeným intraparenchymovým čidlem (fy Codman, Johnson and Johnson, USA). Za sterilních kautel jsme po návrtu protнули dura mater pomocí punkční jehly a zavedli čidlo do frontálního laloku. Monitoraci hodnot ICP jsme prováděli po celou dobu operace, rozvoje ASJ a eliminační léčby až do doby exitu zvířete. Kontinuálně jsme monitorovali tělesnou teplotu zvířat a udržovali ji na fyziologické hladině.

Nástup ASJ

Nástup ASJ jsme zaznamenali v čase poklesu glykémie pod hodnoty 3,5 mmol/l (normální hodnota 4,0–6,9 mmol/l). Tento moment byl počátkem otevření tzv. terapeutického okna a napojením na eliminační přístroj. Normoglykémii jsme v dalším průběhu terapie udržovali adekvátní infuzí roztoku 40% glukózy.

II. Experimentální skupiny

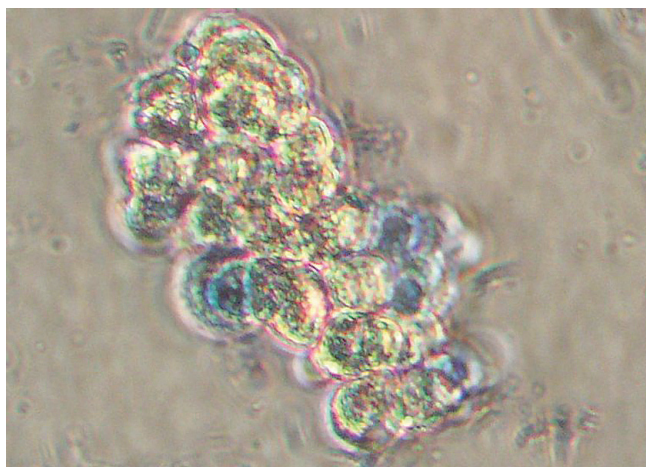
A. Biologická eliminační metoda léčby ASJ (skupina BAL)

Izolace hepatocytů

Pro izolaci porcinních hepatocytů jsme zvolili metodu jaterní perfuze s následnou centrifugací (7, 10). Suspenzi hepatocytů jsme filtrovali a postupně třikrát centrifugovali rychlostí 500 otáček za minutu při stálém chlazení na 4 °C (obr. 1). Získali jsme 80 g buněčné suspenze zředěné v celkovém objemu 200 ml. Po obarvení metylénovou modří jsme



Obr. 1. Suspenze izolovaných hepatocytů po opakované centrifugaci



Obr. 2. Izolované hepatocyty, mikrofotografie

pod mikroskopem při zvětšení 150–300× změřili a zhodnotili viabilitu hepatocytů (obr. 2).

Naplnění a zapojení bioreaktoru

Bioreaktor využívá metodu perfuze plazmy organismu s ASJ přes živé izolované hepatocyty s předpokladem jejich detoxikační a syntetické funkce, tj. vytvoření podpůrného systému biologických „umělých jater“. Naplnili jsme jej suspenzí hepatocytů, které jsme předtím promyli 2000 ml fyziologického roztoku a odvzdušnili. Poté jsme jej uložili do termoboxu při teplotě 4 °C až do doby jeho zapojení do terciálního okruhu přístroje O. liver Performer firmy Rand (Itálie) těsně po nástupu ASJ u experimentálního zvířete (obr. 3).

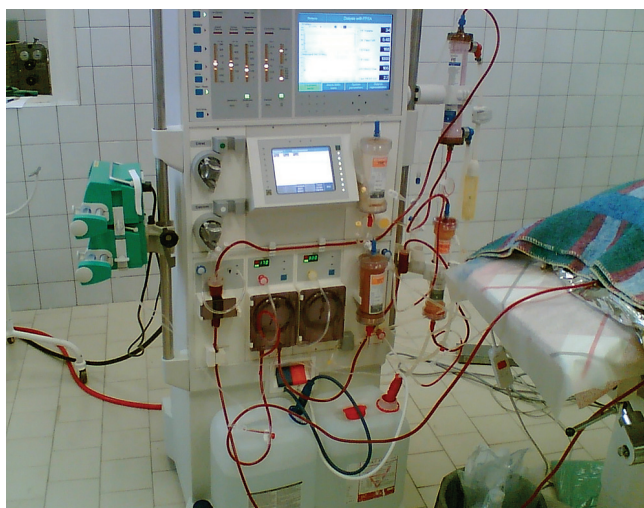
B. Nebiologická eliminační metoda léčby ASJ (skupina FPSA)

Frakcionovaná plazmatická separace a adsorpce, její zapojení

K provedení nebiologické eliminační metody jsme použili přístroj Prometheus firmy Fresenius, Německo (obr. 4). Přístroj provádí detoxikaci organismu frakcionovanou plazmatickou separací a adsorpcí – FPSA (Fractionated plasma



Obr. 3. Přístroj O. liver Performer (fy Rand, Itálie) se zapojením bioreaktoru



Obr. 4. Přístroj Prometheus napojený na krevní oběh laboratorního zvířete s ASJ

separation and adsorption) a umožňuje eliminovat jak toxické substance rozpuštěné ve vodě, tak i toxiny vázané na albumin. Albumin s vázanými toxiny je přímo transportován na místo, kde jsou toxiny odstraněny. Není potřeba dodávat do systému lidský albumin a proces není limitován disociací z albuminu a difúzí tak, jak je tomu u předchozího nebiologického podpůrného přístroje MARS (molecular adsorbent recirculating system) (11).

Přístroj Prometheus má tzv. „Albu flow filtr“ s polysulfonovou membránou neutrálního pryskyřičného adsorbéru Prometh 01, umožňující adsorpci žlučových kyselin, aromatických aminokyselin, fenolických substancí a toxinů. Druhý adsorbér, Prometh 02, vychtává negativně nabitě ligandy

(nekonjugovaný bilirubin). Ve vodě rozpustné substance jsou odstraňovány hemodialýzou (12).

Krev zvířete je krevní pumpou vedena z pravé femorální tepny do Albu Flow filtru, ve kterém je separován albumin a na něj vázané substance. Albumin je odtud veden sekundárním okruhem do adsorbéru Prometh 01 a Prometh 02 a po zbavení navázaných substancí je vrácen zpět do krve. Poté je krev vedena do dialyzátoru (HiFlux), který odstraní toxické látky rozpuštěné ve vodě. Očištěná krev je cestou levé femorální žíly vrácena do těla zvířete. Jako antikoagulans jsme použili heparin nebo citrát sodný.

Statistické zpracování výsledků

Získané hodnoty laboratorních vyšetření v průběhu léčby ASJ připojením na BAL či na FPSA jsme porovnali s parametry kontrolní skupiny zvířat, u které bylo vyvoláno ASJ a která nebyla na eliminaci napojena (3). Získané údaje jsme statisticky zpracovali pomocí t-testu a Mann-Whitneyovým neparametrickým testem použitím tabulátoru EXCEL a QUATRO.

Prohlášení

Předoperační přípravu, operaci a pooperační péči jsme prováděli v souladu se zákonem § 12 vyhlášky č.311/97 Sb., o chovu a využití pokusných zvířat s povolením etické komise IKEM pro experimenty na zvířatech.

VÝSLEDKY

1. Skupina BAL

U 10 zvířat váhy 30 kg (30 ± 5 kg) se ASJ rozvinulo v průměru za 2 hod. 7 min (48 min. – 3 hod. 16 min). Léčba napo-

jením na BAL byla zahájena v průměru po 2 hod. 21 min (1 hod. – 3 hod. 45 min) od operace a trvala v průměru 5 hod. 43 min (3 hod. 25 min – 8 hod. 10 min). V tabulce 1 je uvedeno srovnání hodnot laboratorních ukazatelů ASJ zvířat léčených pomocí BAL s kontrolní skupinou (3) s vyznačenými odchylkami a zhodnocením významnosti změn. Ze statistického zpracování hodnot laboratorních ukazatelů ASJ obou skupin vyplývá, že významného rozdílu bylo dosaženo pouze v koncentraci bilirubinu, kdy v 0. hodině jsou průměrné hodnoty v obou skupinách prakticky totožné (3,1 vs. 3,8 $\mu\text{mol/l}$), ve 3. hodině je rozdíl statisticky významný ($p < 0,05$) v neprospěch skupiny s BAL (9,8 vs. 17,7 $\mu\text{mol/l}$) a rozdíl hodnot v 6. a 9. hodině je statisticky významný ($p < 0,05$) ve prospěch skupiny BAL (18,1 vs. 13,1, 22,9 vs. 13,2). Rozdíl hodnot ve 12. hodině je opět statisticky nevýznamný (22,8 vs. 16,2 $\mu\text{mol/l}$).

Počáteční viabilita hepatocytů při plnění bioreaktoru dosahovala v průměru $85,0 \pm 4,5$ %. Viabilitu izolovaných hepatocytů v bioreaktoru v průběhu léčby jsme posuzovali ze změřené průměrné hodnoty parciálního tlaku kyslíku při průchodu bioreaktorem (tab. 2). Rozdíl je signifikantně významný v 1.–3. a 5. hodině perfuze ($p < 0,05$), ve 4. a 6. hodině je signifikantně nevýznamný. Srovnání ICP je v průběhu ASJ statisticky nevýznamné (tab. 3, graf 1).

2. Skupina Prometheus

U 14 prasat průměrné váhy 35 kg (35 ± 5) s ASJ jsme v průměru po 3 hodinách 17 minutách od operace (rozmezí: 2 hod. 15 min – 4 hod. 20 min) zahájili léčbu FPSA. Ta trvala průměrně 5 hod. 54 min (rozmezí: 5 hod. 45 min – 6 hod.). Při eliminační terapii byl pro snížení srážlivosti krve použit u poloviny prasat heparin, u druhé poloviny citrát sodný.

Tab. 1. Srovnání laboratorních ukazatelů průběhu ASJ léčeného pomocí BAL a bez léčby (3)

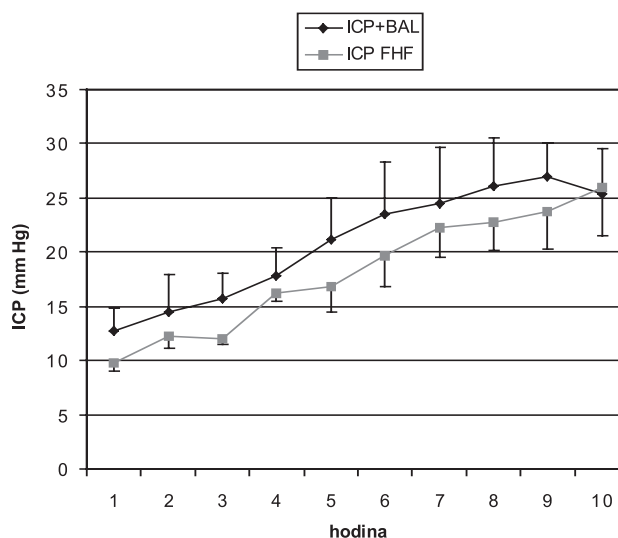
Čas	0	3	6	9	12
AST ($\mu\text{kat/l}$)	ns	ns	ns	ns	ns
ASJ	$0,83 \pm 0,29$	$14,37 \pm 35,55$	$33,44 \pm 39,96$	$40,88 \pm 41,34$	$54,94 \pm 43,22$
ASJ-BAL	$0,814 \pm 0,47$	$10,50 \pm 7,82$	$30,13 \pm 15,76$	$46,20 \pm 41,20$	$106,40 \pm 146,40$
bilirubin $\mu\text{mol/l}$	ns	ns	s	s	s
ASJ	$3,03 \pm 0,96$	$11,97 \pm 6,09$	$20,86 \pm 12,35$	$22,29 \pm 16,41$	$37,4 \pm 14,57$
ASJ-BAL	$4,01 \pm 1,38$	$16,44 \pm 6,78$	$10,60 \pm 3,18$	$11,75 \pm 4,42$	$12,88 \pm 4,59$
Quick (s)	ns	ns	ns	ns	ns
ASJ	$82,40 \pm 11,41$	$83,30 \pm 13,06$	$67,40 \pm 17,03$	$56,00 \pm 27,48$	$51,60 \pm 21,52$
ASJ-BAL	$86,00 \pm 42,55$	$99,11 \pm 30,48$	$71,93 \pm 72,78$	$52,30 \pm 71,29$	$117,47 \pm 154,28$
amoniak ($\mu\text{mol/l}$)	ns	ns	ns	ns	ns
ASJ	$44,80 \pm 19,25$	$173,80 \pm 61,22$	$264,30 \pm 93,05$	$350,70 \pm 159,49$	$463,40 \pm 178,47$
ASJ-BAL	$49,63 \pm 21,14$	$212,20 \pm 97,09$	$288,04 \pm 93,54$	$390,02 \pm 212,96$	$480,58 \pm 206,43$

ns – neliší se, $p > 0,05$; s – statisticky významný rozdíl, $p < 0,05$

Tab. 2. Průměrné parciální tlaky kyslíku před bioreaktorem a za ním v průběhu perfuze (v mm Hg sloupce)

Hodina	1	2	3	4	5	6
před bioreaktorem	59,84	52,39	55,44	49,73	59,39	53,59
za bioreaktorem	30,71	42,37	44,62	43,20	43,30	49,40
rozdíl	29,12	10,02	10,82	6,54	16,09	4,20

V tabulce 4 je uvedeno srovnání laboratorních hladin amoniaku a bilirubinu v séru zvířat s ASJ léčených pomocí FPSA a bez léčby se zhodnocením významnosti rozdílů včetně mediánu hodnot. Hladina bilirubinu se v experimentální skupině oproti kontrolní významně lišila od 6. do 12. hodiny ve prospěch skupiny s léčbou FPSA ($p < 0,05$): v 6. hodině $12,81 \pm 6,54$ vs. $29,84 \pm 9,99$, v 9. hodině $11,94 \pm 4,14$ vs. $29,95 \pm 12,36$ a ve 12. hodině $13,88 \pm 6,31$ vs. $26,10 \pm 12,23$ mmol/l. Statisticky významný rozdíl ve srovnání laboratorních hodnot hladin amoniaku mezi kontrolní a experimentální skupinou nebyl nalezen. Hodnoty ICP ve skupině léčené pomocí FPSA a ve skupině kontrolní se v průběhu experimentu statisticky významně lišily od 9. hodiny po 12 hodinu ve prospěch skupiny léčené FPSA ($p < 0,05$): 9. hodina $19,1 \pm 4,09$ vs. $24,1 \pm 2,85$, 10. hodina $21,9 \pm 3,63$ vs. $25,1 \pm 2,19$, 11. hodina $22,5 \pm 3,98$ vs. $26,3 \pm 3,50$, 12. hodina $24,0 \pm 4,66$ vs. $29,8 \pm 5,88$ mm Hg sloupce (tab. 5, graf 2). Hodnoty dalších laboratorních hodnot – AST, ALT, kreatininu, albuminu a Quick – se v obou skupinách zvířat významně nelišily a v tabulce výsledků je proto neuvádíme.



Graf 1 a tab. 3. Srovnání hodnot ICP ve skupině zvířat s ASJ léčených pomocí BAL a v kontrolní skupině (3) v mm Hg sloupce

Hodina	1	3	6	9	10
ICP-BAL	12,7 ± 6,6	15,7 ± 7,3	23,5 ± 15,3	27,0 ± 8,6	25,3 ± 11,2
ICP-kontrola	9,8 ± 1,8	12,0 ± 1,1	19,7 ± 7,0	23,7 ± 8,3	26,0 ± 11,0

Tab. 4. Srovnání hodnot hladin amoniaku a bilirubinu ve skupině zvířat s ASJ léčených FPSA a v kontrolní skupině (3) – průměr se směrodatnou odchylkou, hodnota mediánu a významnost rozdílů

Amoniak ($\mu\text{mol/l}$)

Hodina	1	3	6	9	10
hodiny od začátku pokusu	0	3	6	9	12
kontrolní skupina (n = 8)	39,2 ± 14,80	212,4 ± 93,18	305,9 ± 21,83	414,3 ± 246,36	592,1 ± 387,49
medián	46,20	176,65	284,27	341,65	508,65
Prometheus (n = 14)	59,3 ± 38,28	249,6 ± 73,83	258,2 ± 62,72	274,9 ± 91,78	391,4 ± 92,90
medián	47,45	228,69	255,68	270,83	389,90
významnost rozdílů	ns	ns	ns	ns	ns

Bilirubin (mmol/l)

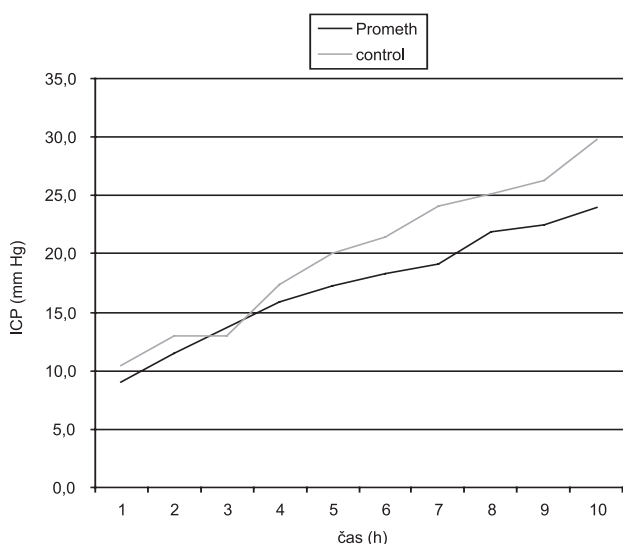
Hodiny od začátku pokusu	0	3	6	9	12
kontrolní skupina (n = 8)	5,70 ± 4,43	22,70 ± 11,06	29,84 ± 9,99	29,95 ± 12,36	26,10 ± 12,23
medián	4,15	24,85	33,60	29,45	21,40
Prometheus (n = 14)	5,42 ± 3,68	15,38 ± 7,39	12,81 ± 6,54	11,94 ± 4,14	13,88 ± 6,31
medián	4,90	13,30	11,25	12,00	12,20
významnost rozdílů	ns	ns	s	s	s

ns – neliší se, $p > 0,05$; s – statisticky významný rozdíl, $p < 0,05$

Tab. 5. Srovnání hodnot ICP ve skupině zvířat s ASJ léčeným FPSA a v kontrolní skupině – průměr se směrodatnou odchylkou, hodnota mediánu a významnost rozdílu

Hodiny od ukončení operace	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kontrolní skupina (n = 8)	10,4 ± 1,5	11,3 ± 2,5	13,0 ± 2,1	16,7 ± 4,2	20,0 ± 2,2	21,4 ± 3,5	24,1 ± 2,8	25,1 ± 2,1	26,3 ± 3,5	29,8 ± 5,8
medián	11	13	13	17	21	22	24	24	27	29
Prometheus (n = 14)	9,0 ± 3,8	11,5 ± 5,0	13,6 ± 5,8	15,9 ± 5,1	17,2 ± 4,7	18,3 ± 4,8	19,1 ± 4,0	21,9 ± 3,6	22,5 ± 3,9	24,0 ± 4,6
medián	8,5	10	13	17	16,5	18,5	19	22	23	23,5
významnost rozdílu	ns	ns	ns	ns	ns	ns	s	s	s	s

ns – neliší se, $p > 0,05$; s – statisticky významný rozdíl, $p < 0,05$



Graf 2. Křivky ICP u laboratorního zvířete s ASJ léčených FPSA a u kontrolní skupiny bez léčby (hodina 1 je 1 hod. po operačním výkonu, nikoliv po nástupu ASJ)

DISKUZE

Akutní selhání jater, často nazývané vzhledem k rychlému nepříznivému vývoji pro pacienta fulminantní, je poměrně řídké se vyskytující syndrom s vysokou mortalitou. Ta závisí na věku pacienta: U mladších je 65–70 %, u starších až 90 % (14). Zatímco u menší části nemocných dojde k regeneraci jaterního parenchymu, a tím ke spontánnímu přežití, u větší části nemocných rozvoj onemocnění nepříznivě pokračuje (2). Za příznaků multiorganového selhání pacient většinou zmirá na ireverzibilní poškození mozku při zhoršující se perfuzi mozkové tkáně a narůstajícím ICP nad normálních 10–15 torrů (15). Zajištění dostatečného mozkového perfuzního tlaku (CPP = cerebral perfusion pressure) představuje jeden ze základních cílů strategie léčby nemocných s edémem mozku a jeho hodnota má být 70 torrů. Při hodnotách pod 50 torr dochází k poruše perfuze s postupným rozvojem hypoxického cytotoxického edému. Při dalším poklesu CPP postupně dochází k zástavě mozkové cirkulace a k ireverzibilním změnám mozkové tkáně s následnou smr-

tí mozku. Při udržení MAP (Mean arterial pressure – střední arteriální tlak) v mezích normy je právě narůstající ICP fatálním faktorem porušení mozkové tkáně.

U těchto nemocných je jedinou účinnou léčbou urgentní TJ. Tě se však příjemce nemusí dočkat. Významné procento nemocných zemře na čekací listině. K překlenutí kritického období, kdy vlastní játra nejsou schopna zajistit bazální metabolické potřeby organismu nemocného („bridging therapy“) byla navržena od 50. let minulého století celá řada postupů a zkonstruována řada eliminačních přístrojů. Od prosté hemodialýzy a výměnné krevní transfuze, přes perfuzi krve přes živá prasečí či lidská kadaverózní játra, plazmaferézu, hemoperfuzi pomocí aktivního uhlí až k současným sofistikovaným biologickým či nebiologickým eliminačním přístrojům (16, 45).

VLASTNÍ EXPERIMENT

K experimentu jsme použili námi vyvinutý experimentální model u prasete, který prokázal standardní nástup ASJ po provedené jaterní devaskularizaci a portokavální anastomóze (3).

K prokázání účinnosti jak biologické, tak i zvolené nebiologické metody, jsme hodnotili hladiny markerů ASJ, především ICP. A to za situace, kdy jsme udržovali MAP při zajištění adekvátní oxygenace, mozkové a systémové perfuze v mezích normy tak, abychom minimalizovali arteficiální ovlivnění ICP. Také tělesnou teplotu (TT), jako faktor ovlivňující mozkovou perfuzi, jsme uměle udržovali v mezích normy.

Z biologických eliminačních možností jsme zvolili bioreaktor naplněný živými porcinními hepatocyty, z nebiologických pak nejnovější systém FPSA s délkou terapie 6 hodin v obou případech tak, jak je doporučována v klinice (17–23, 36–42).

Měření hodnot ICP při posuzování účinnosti eliminačních metod pak považujeme za zásadní vzhledem ke skutečnosti, že především ovlivnění této hodnoty by mělo mít finální vliv na hodnocení účinnosti metody v léčbě ASJ jak v experimentu (32), tak i v klinice (34).

Biologická eliminace

Jednou z možností eliminační léčby ASJ, která byla vyzkoušena jak experimentálně (17, 18), tak i klinicky (19–23), je použití tzv. bioartificiálních jater (BAL). Využí-

vá perfuzi plazmy přes izolované živé hepatocyty. Randomizovaná multicentrická studie provedená týmem profesora Demetriou (24) prokázala potencionální léčebný benefit u nemocných s ASJ. Neprokázala však prodloužení života takto léčených nemocných. Obdobně vyznívá hodnocení ostatních provedených studií (25).

Ve studii jsme použili izolované čerstvé porcinní hepatocyty, třídímenziální bioreaktor s extrakorporálním podpůrným systémem přístroje O. liver performance fy Rand s plazmafiltrací, hemofiltrací a integrovaným oxygenátorem (7). Bioreaktor byl v souladu s výrobcem naplněn 200 ml suspenze obsahující 80 gramů izolovaných hepatocytů. V průběhu pokusu jsme monitorovali laboratorní ukazatele ASJ, parametry hemodynamiky a ICP stejným způsobem, jaký jsme použili u kontrolní skupiny (3–6).

K volbě uvedených komponentů BAL nás nutily především následující důvody:

1. snadná dostupnost živých čerstvých porcinních hepatocytů,
2. relativní jednoduchost jejich izolace s dosažením vysoké viability,
3. provedení pilotního pokusu, jež by byl srovnatelný s již publikovanými výsledky experimentálních studií,
4. volba metody, která by mohla být srovnávána s již publikovanými klinickými studii a potencionálně aplikovatelná v klinickém experimentu.

Po provedení izolace dosahovala průměrná viabilita hepatocytů 85 %. Tuto hodnotu jsme považovali v souladu s literárními údaji za dostatečnou (10, 17–20, 32, 33). Získaná data konzumce kyslíku v krvi při průchodu bioreaktorem potvrdila, že v průběhu perfuze si hepatocyty životaschopnost uchovaly prvních 5 hodin. Šestou hodinu se jejich viabilita rychle snižovala. Množství použitých hepatocytů k náplni bioreaktoru není u různých autorů totožné a pohybuje se řádově od 10^9 po 10^{10} bez závislosti na váze experimentálního zvířete (17–20, 32, 33).

V některých experimentálních studiích autoři prokazují snížení hladin amoniaku, koncentrace bilirubinu a ICP u skupiny léčených BAL (17, 18, 32, 33). Nicméně tyto studie nejsou srovnatelné jak typem animálního modelu ASJ (např. resekce jater u Cuervas-Monse či hepatektomie u Sosefa), tak i typem eliminační metody (např. kombinace BAL s dialýzou u Sheila) (18, 19, 29). Z námi naměřených hodnot laboratorních ukazatelů ASJ ve skupině BAL a z jejich srovnání s kontrolní skupinou lze učinit následující závěry:

1. Aktivita AST, koncentrace amoniaku a hodnota Quickova testu se významně nelišily v obou skupinách.
2. Koncentrace bilirubinu byla významně nižší v 6. a v 9. hodině ve skupině BAL.
3. Naměřené hodnoty ICP se v obou skupinách významně nelišily, i když po 9. hodině nelze trend naměřených hodnot posuzovat pro blížící se ukončení experimentu.

Naše výsledky je možné srovnat s výsledky některých experimentálních studií na velkých laboratorních zvířatech (26–31). Skutečnost, proč jsme v naší sestavě nedosáhli literárně uváděného významného zlepšení většiny laboratorních ukazatelů ASJ a hodnot ICP, je možné vysvětlit řadou faktorů: Přežívání hepatocytů v bioreaktoru nedosahovalo požadovaných 6 hodin, použité množství hepatocytů v suspenzi mohlo být vzhledem k váze experimentálního zvířete

s ASJ nedostatečné, monitorace byla prováděna po omezenou dobu.

Na straně druhé jsme přesvědčeni, že námi použitý devaskularizační model ASJ (3) se na rozdíl od modelů hepatektomovaných zvířat (29) velmi blíží klinickému průběhu ASJ s vyplavením vazoaktivních substancí a ostatních toxických látek z nekrotických částí jater do oběhu nemocného. Naše výsledky jsou v souladu s výsledky provedené randomizované klinické studie léčby ASJ pomocí BAL (24).

Nebiologická eliminace

Z nebiologických metod klinické uplatnění našel v devadesátých letech minulého století systém MARS (11). Nověji se začal uplatňovat systém FPSA (Prometheus) (12). Klinické zkušenosti s přístrojem Prometheus potvrzují bezpečnost léčby ASJ a efektivitu při odstranění na albumin vázaných toxinů a ve vodě rozpustných substancí. Rifai se spoluautory (35) jako první na 11 nemocných s ASJ prokázal významné snížení sérové hladiny konjugovaného bilirubinu, žlučových kyselin, amoniaku, cholinesterázy, kreatininu a urey. Také v prospektivní studii na 10 nemocných nezaznamenal komplikace metody při dvou po sobě následujících minimálně 4 hodiny trvajících eliminacích (36). V randomizované studii s malým počtem nemocných s ASJ Aleman se spoluautory (37) porovnali vliv albuminové dialýzy (MARS) a FPSA (Prometheus) na hemodynamiku a vazoaktivní látky u nemocných s ASJ u chronického alkoholického poškození jater. Oba postupy prokázaly srovnatelný vliv na hemodynamiku a hladinu vazoaktivních látek, ve snížení hladiny bilirubinu byl úspěšnější Prometheus. Stadlbauer se spoluautory (38) u pacientů s totožnou diagnózou prokázali, že cytokiny jsou eliminovány oběma přístroji srovnatelně, nicméně jejich hladina v séru ovlivněna není. *In vivo* provedená kvantifikace srovnání obou eliminačních metod prokázala na 8 nemocných významně vyšší clearance jak albuminových ligandů, tak i ve vodě rozpustných substancí u MARS. Nekonjugovaný bilirubin byl eliminován pouze FPSA (39). Z 31 nemocného zařazeného v klasifikaci UNOS-1 (extrurgentní indikace k TJ) použili Prometheus s dobrými výsledky v rámci „bridging therapy“ u 8 nemocných Nyczkowski se spoluautory (40). I z dalších publikovaných studií (41, 42) vyplývá zlepšení biochemických markerů ASJ.

V naší experimentální skupině jsme léčbu FPSA zahájili v průměru 3 hod. 17 minut po provedení devaskularizace. Hodnoty transamináz, Quickova testu, kreatininu a albuminu nebyly v obou skupinách významně rozdílné. Za zásadní považujeme významné rozdíly v hladinách bilirubinu, které jsme dosáhli od 6. hodiny po zahájení léčby. Hodnoty amoniaku byly také u experimentální skupiny výrazně nižší, nicméně významnost rozdílu obou skupin jsme statisticky neprokázali. Příčinu vidíme v příliš velkých hodnotách SD u kontrolní skupiny. Za nejvýznamnější považujeme prokázání významného vlivu FPSA na snížení ICP, který na rozdíl od kontrolní skupiny nepřekročil hodnotu 25 mm Hg sloupce a nedostal se na úroveň, při které již hrozí poškození mozkové tkáně (15). V současné dostupné literatuře jsme tato měření provedená v experimentu nenašli.

Jedním z problematických součástí léčby Prométheem je zajištění správné antikoagulační terapie (13). Její absence může vyústit ve srážení krve v okruhu Prométhea, ke snížení efektivity léčby a zvyšování celkových nákladů. V přípa-

dě našeho pokusu jsme použili u 7 prasat jako antikoagulans heparin, u druhých 7 prasat citrát sodný. Samotný heparin má minimální antikoagulační účinky. Jeho antikoagulační účinek je zprostředkován antitrombinem (vzniká komplex s heparinem a následně trombinem). Léčbu heparinem jsme monitorovali pomocí aktivovaného koagulačního testu (ACT). Prodloužení ACT je úměrné hladině heparinu. Účinky heparinu jsme rušili před návratem do systémové cirkulace infuzí protaminu. Byli jsme si vědomi, že při poklesu AT III pod 60 % se snižuje efekt heparinu.

Citrát sodný svým chelačním účinkem způsobuje významné snížení ionizovaného kalcia v krvi, a tím hlubokou antikoagulaci. Dávku citrátu sodného jsme nastavili dle monitorace hodnot ionizovaného kalcia. Před návratem do systémové cirkulace bylo nutné ionizované kalcium, snížené ztrátou vápníku přes hemofiltr a vazbou na nemetabolizovaný citrát v oběhu, korigovat infuzí kalcia (CaCl₂).

Srovnání obou eliminačních metod

Biologická a nebiologická eliminační léčba ASJ se principiálně výrazně liší. Zatímco biologická eliminace využívá perfuzi plazmy organismu s ASJ přes bioreaktor vyplněný izolovanými živými hepatocyty (BAL) s předpokladem jejich detoxikační a syntetické funkce, u nebiologické metody jde o vyvázání toxických složek, tj. o pouhou detoxikaci. Experimentální i klinické studie prokázaly účinnost BAL ve snížení hodnot markerů ASJ (17, 18, 32, 33), nicméně klinická randomizovaná studie neprokázala prodloužení přežívání nemocných s ASJ (24) a předpokládaný klinický rozvoj metody se fakticky zastavil.

U FPSA doposud randomizované studie provedeny nebyly a účinnost metody se hodnotí na víceméně kazuistických zkušenostech (35–42). Z těchto důvodů jsme přistoupili k naší experimentální studii (43).

U obou metod jsme použili identický chirurgický model ASJ (3). Jak v experimentálních, tak i v kontrolní skupině bez léčby jsme monitorovali nástup ASJ po devaskularizaci jater a vytvoření PCA. V souladu s literaturou jsme nepovažovali změny v hodnotě transamináz za směrodatné (44). U experimentálního ASJ jsme udržovali veličiny (CPP, TT a paCO₂) mající vliv na ICP ve fyziologických mezích. Hodnoty markerů ASJ jsme u obou experimentálních skupin porovnávali s výsledky kontrolní skupiny. K signifikantnímu poklesu bilirubinu došlo v průběhu eliminační terapie u obou skupin, k signifikantnímu snížení ICP pouze u skupiny FPSA.

Pokud srovnáme technickou náročnost obou metod, považujeme BAL ve srovnání s FPSA za obtížnější vzhledem k delší přípravě zahájení léčby (izolování hepatocytů s udržováním jejich vysokého procenta viability). Obě metody vyžadují poměrně náročnou přípravu provádějícího týmu. Naše zkušenosti jsou v souladu se současným trendem upřednostňujícím nebiologické eliminační postupy.

Zkratky

ACT	– activated coagulation test (aktivovaný koagulační test)
ASJ	– akutní selhání jater
BAL	– bioartificial liver (biologická „umělá játra“)
CPP	– cerebral perfusion pressure (mozkový perfúzní tlak)
ETCO ₂	– end-tidal CO ₂ (koncentrace oxidu uhličitého ve vydechovaném vzduchu na konci výdechu)

FiO ₂	– fractional concentration of oxygen in inspired gas (frakční koncentrace kyslíku ve vdechované směsi)
FPSA	– fractionated plasma separation and adsorption (frakcionovaná plazmatická separace a adsorpce)
ICP	– intracranial pressure (intrakraniální tlak)
MAP	– mean arterial pressure (střední arteriální tlak)
MARS	– molecular adsorbent recirculating system (molekulární adsorbující recirkulační systém)
paCO ₂	– partial pressure CO ₂ (parciální tlak CO ₂ v arteriální krvi)
PCA	– portocaval anastomosis (portokavální anastomóza)
PCV	– pressure control ventilation (tlakově řízená ventilace)
TJ	– transplantace jater
SpO ₂	– pulzní oxymetrie = perkutánně měřená saturace hemoglobinu kyslíkem v %
VCV	– volume control ventilation (objemově řízená ventilace)

LITERATURA

1. **Trey, C., Davidson, C. S.:** The management of fulminant hepatic failure. *Prog. Liver Dis.*, 1970, 3, s. 282–298.
2. **Panek, L., Andreasen, B., Tygstrup, N.:** Galactosamine elimination capacity as a prognostic index in patients with fulminant hepatic failure. *Gut*, 1980, 17, s. 959–964.
3. **Ryska, M., Kieslichová, E., Pantoflíček, T. et al.:** Devascularization Surgical Model of Acute Liver Failure in Minipigs. *Eur. Surg. Res.*, 2004, 36, s. 179–184.
4. **Ryska, M., Kieslichová, E., Pantoflíček, T. et al.:** Chirurgický model akutního selhání jater u laboratorního miniprasete. *Čes. Slov. Gastroent. Hepatol.*, 2004, 58, s. 83–88.
5. **Ryska, M., Kieslichová, E., Pantoflíček, T. et al.:** Model akutního selhání jater u miniprasete z hlediska chirurga a anesteziologa. *Rozhl. Chir.*, 2004, 83, s. 436–442.
6. **Kieslichová, E., Ryska, M., Pantoflíček, T. et al.:** Hemodynamic Parameters in a Surgical Devascularization Model of Fulminant Hepatic Failure in the Minipig. *Phys. Res.*, 2005, 54, s. 485–490.
7. **Ryska, M., Kieslichová, E., Pantoflíček, T. et al.:** Bioeliminace v léčbě akutního selhání jater v experimentu na velkém laboratorním zvířeti. *Čes. Slov. Gastroent. Hepatol.*, 2006, 60, s. 157–162.
8. **Ryska, M., Lásziková, E., Pantoflíček, T. et al.:** Prometheus v léčbě akutního selhání jater v experimentu na velkém laboratorním zvířeti. *Čes. Slov. Gastroent. Hepatol.*, 2007, 61, s. 297–303.
9. **Ryska, M., Laszikova, E., Pantofliceck, T. et al.:** Prometheus Significantly Decreases Intracranial Pressure on Acute Liver Failure. *Experimental Study*. ESR (in press).
10. **Selen, P. O.:** Preparation of isolated rat liver cells. *Methods Cell Biol.* 1976, 13, s. 29–83.
11. **Stange, J., Ramlow, W., Mitzner, S. et al.:** Dialysis against a recycled albumin solution enables the removal of albumin-bound toxins. *Artur Organs*, 1993, 17, s. 809–813.
12. **Falkenhage, D., Strobl, W., Vogt, G. et al.:** Fractionated plasma separation and absorption systém: a novel systém for blood purification to remove albumin bound substance. *Artur Organs*, 1999, 23, s. 81–86.
13. **Monchi, M., Berghmans, D., Ledoux, D. et al.:** Citrate vs. heparin for anticoagulation in continuous venovenous hemofiltration: a prospective randomized study. *Intensive care med.*, 2004, 30, s. 260–265.
14. **Hoofnagle, J. H., Carithers, R. L., Shapiro, C. et al.:** Fulminant hepatic failure: summary of a workshop. *Hepatology*, 1995, 21, s. 240–252.

15. **Detry, O., De Roover, A., Honoré, P. et al.:** Brain edema and intracranial hypertension in fulminant liver failure: pathophysiology and management. *World J. Gastroenterol.*, 2006, 12, s. 7405–7412.
16. **Williams, R.:** The elusive goal of liver support-quest for the Holy Grail. *Clin. Med.*, 2006, 6, s. 482–487.
17. **Flendrig, L. M., Calise, F., Di Florio, E. et al.:** Significantly improved survival time in pigs with complete liver ischemia treated with a novel bioartificial liver. *Int. J. Artif. Organs*, 1999, 22, s. 701–708.
18. **Cuervas-Mons, V., Colás, A., Rivera, J. A. et al.:** In vivo efficacy of a bioartificial liver improving spontaneous recovery from fulminant hepatic failure: a controlled study in pigs. *Transplantation*, 2000, 69, s. 337–344.
19. **Sheil, A. G. R., Sun, J., Wang, L. et al.:** A biodialysis system for liver support tested in a porcine hepatic failure model. *Aust. N Z J Surg.*, 2000, 70, s. 127–131.
20. **Gerlach, J. C., Encke, J., Hole, O. et al.:** Bioreactor for a large scale hepatocyte in vitro perfusion. *Transplantation*, 1994, 58, s. 984–988.
21. **Horslen, S. P., Hammel, J. M., Fristoe, L. W. et al.:** Extracorporeal liver perfusion using human and pig livers for acute liver failure. *Extracorporeal liver perfusion using human and pig livers for acute liver failure. Transplantation*, 2000, 70, s. 1472–1478.
22. **Levy, M. F., Crippin, J., Sutton, S. et al.:** Liver allotransplantation after extracorporeal hepatic support with transgenic (hCD55/hCD59) porcine livers. Clinical results and lack of pig-to-human transmission of the porcine endogenous retrovirus. *Transplantation*, 2000, 69, s. 272–280.
23. **Rozga, J., Holzman, M. D., Ro, M. S. et al.:** Development of a hybrid bioartificial liver. *Artif. Organs*, 1993, 21, s. 502–511.
24. **Demetriou, A. A., Brown, R. S., Busuttill, R. W. et al.:** Prospective, randomized, multicenter, controlled trial of a bioartificial liver in treating acute liver failure. *Ann. Surg.*, 2004, 239, s. 660–670.
25. **Hayes, P. C., Lee, A.:** What progress with artificial livers? *Lancet*, 2001, 358, s. 1286–1287.
26. **Flendrig, L. M., Calise, F., Di Florio, E. et al.:** Significantly improved survival time in pigs with complete liver ischemia treated with a novel bioartificial liver. *Int. J. Artif. Organs*, 1999, 22, s. 701–708.
27. **Cuervas-Mons, V., Colás, A., Rivera, J. A. et al.:** In vivo efficacy of a bioartificial liver improving spontaneous recovery from fulminant hepatic failure: a controlled study in pigs. *Transplantation*, 2000, 69, s. 337–344.
28. **Borra, M., Galavotti, D., Bellini, C. et al.:** Advanced technology for extracorporeal liver support system devices. *Int. J. Artif. Organs*, 2002, 25, s. 939–949.
29. **Sosef, M. N., Abrahamse, L. S. L., Van de Kerckhove, M. P. et al.:** Assessment of the AMC-bioartificial liver in the anhepatic pig. *Transplantation* 2002, 73, s. 204–209.
30. **Naka, S., Takeshita, K., Yamamoto, T. et al.:** Bioartificial liver support system using porcine hepatocytes entrapped in a three-dimensional hollow fiber module with collagen gel: an evaluation in the swine acute liver failure model. *Artif. Organs*, 1999, 23, s. 822–828.
31. **Sheil, A. G., Sun, J., Mears, D. C. et al.:** Positive biochemical effects of a bioartificial liver support system (BALSS) in a porcine fulminant hepatic failure (FHF) model. *Int. J. Artif. Organs*, 1998, 21, s. 43–48.
32. **Khalili, T. M., Navarro, A., Ting, P. et al.:** Bioartificial liver treatment prolongs survival and lowers intracranial pressure in pigs with fulminant hepatic failure. *Artif. Organs*, 2001, 25, s. 566–570.
33. **Sheil, A. G., Sun, J., Mears, D. C. et al.:** Positive biochemical effects of a bioartificial liver support system (BALSS) in a porcine fulminant hepatic failure (FHF) model. *Int. J. Artif. Organs*, 1998, 21, s. 43–48.
34. **O'Grady, J. G., Alexander, G. J., Hayllar, K. M. et al.:** Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 1989, 97, s. 439–445.
35. **Rifai, K., Ernst, T., Kretschmer, U. et al.:** Prometheus – a new extracorporeal system for the treatment of liver failure. *J. Hepatol.*, 2003, 39, s. 984–990.
36. **Rifai, K., Ernst, T., Kretschmer, U. et al.:** The Prometheus device for extracorporeal support of combined liver and renal failure. *Blood Purif.*, 2005, 23, s. 298–302.
37. **Aleman, W., Wolker, A., Evenepoel, P. et al.:** Effect of the molecular adsorbent recirculating system and Prometheus device on systemic haemodynamics and vasoactive agents in patients with acute-on-chronic alcoholic liver failure. *Crit care*, 2006, 10, R108(do:10.1186/cc4985).
38. **Stadlbauer, V., Krisper, P., Signet B et al.:** Effect of extracorporeal liver support by MARS and Prometheus on serum cytokines in acute-on-chronic liver failure. *Crit care*, 2006, 10, R169(do:10.1186/cc5119).
39. **Krisper, P., Haditsch, B., Stauber, R. et al.:** In vivo quantification of liver dialysis: comparison of albumin dialysis and fractionated plasma separation. *J. Hepatology*, 2005, 43, s. 451–457.
40. **Nyckowski, P., Skwarek, A., Zieniewicz, K. et al.:** Orthotopic liver transplantation for fulminant hepatic failure. *Transplant. Proc.*, 2006, 38, s. 219–220.
41. **Evenepoel, P., Aleman, W., Wolker, A. et al.:** Detoxifying capacity and kinetics of Prometheus – a new extracorporeal system for the treatment of liver failure. *Blood Purif.*, 2005, 23, s. 349–358.
42. **Santoro, A., Faenza, S., Mancini, E. et al.:** Prometheus system: a technological support in liver failure. *Transplant. Proc.*, 2006, 38, s. 1078–1082.
43. **Sheil, A. G. R., Sun, J., Wang, L. et al.:** A biodialysis system for liver support tested in a porcine hepatic failure model. *Aust. N Z J Surg.*, 2000, 70, s. 127–131.
44. **Carraro, P., Burighel, D., De Silvestro, G. et al.:** Early prognostic biochemical indicators of fulminant hepatic failure. *Int. J. Clin. Lab. Res.*, 1998, 28, s. 196–199.
45. **Horak, J., Horky, J., Rabl, M.:** Haemoperfusion through activated charcoal in dogs with fulminant liver failure. *Digestion*, 1980, 20, s. 22–30.

V náviku izolace hepatocytů jsme velmi ocenili pomoc paní prof. MUDr. Z. Červenkové CSc. z LF UK v Hradci Králové. Dále patří poděkování panu J. Čápovi z IKEM za předání poznatků při práci s Prometheem a panu prim. MUDr. B. Jurenkovi (ARO ÚVN Praha) za cenné rady týkající se ventilace a monitorace laboratorních zvířat.

Práce byla uskutečněna s podporou výzkumného centra LN00A065 – Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad, a s podporou rozvoje a výzkumu 9140.

PŮVODNÍ PRÁCE

Vztah inzulínové rezistence a množství viscerálního tuku

¹Bajzová M., ¹Kováčiková M., ¹Vítková M., ¹Polák J., ¹Klimčáková E.,
²Srp A., ³Vedral T., ⁴Mikulášek L., ⁵Šrámková P., ¹Štich V., ¹Hejnová J.

¹Oddělení tělovýchovného lékařství 3. LF UK, Praha

²Radiodiagnostická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

³Chirurgická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

⁴Gynekologicko-porodnická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

⁵ISCARE, Centrum pro léčbu obezity, Praha

ABSTRAKT

Východisko. Asociace obezity s metabolickými i kardiovaskulárními chorobami je závislá na rozložení tukové tkáně. Role intraabdominálně uložené, tj. viscerální, tukové tkáně v patogenezi inzulínové rezistence není stále zřejmá. Cílem této práce bylo sledovat vztah mezi inzulínovou rezistencí a podílem viscerální a podkožní tukové tkáně na souboru žen s širokým rozmezím tělesné hmotnosti.

Metody a výsledky. Vyšetřeno bylo 62 žen (věku 21–66 let), z nichž 32 bylo neobézních a 30 obézních (BMI > 30 kg/m²). U účastníků studie bylo hodnoceno množství viscerálního a podkožního tuku pomocí počítačové tomografie, množství celkového tělesného tuku bioimpedancí a stupeň inzulínové senzitivity byl hodnocen spotřebou glukosy (M) během euglykemického hyperinzulinního klempu. Obézní ženy měly nižší inzulínovou senzitivitu ve srovnání s neobézními (5,88 ± 2,17 vs. 3,32 ± 1,44 mg/min/kg, p < 0,001) a vyšší absolutní množství viscerálního tuku. Relativní podíl viscerálního tuku (vztaženého k tuku celkovému nebo podkožnímu) nebyl však u obou skupin rozdílný. V celém souboru stupeň inzulínové senzitivity koreloval s absolutním množstvím celkového a viscerálního tuku, nebyla však nalezena korelace s relativním podílem viscerálního tuku.

Závěry. Výsledky na tomto souboru nasvědčují tomu, že pro predikci stupně inzulínové rezistence daného jedince je důležitější absolutní množství přítomné tukové tkáně jak celkové, tak viscerální než relativní zastoupení viscerálního tuku.

Klíčová slova: inzulínová rezistence, obezita, viscerální tuk.

ABSTRACT

Bajzová M., Kováčiková M., Vítková M. et al.: Relation Between Insulin Resistance and Amount of Visceral Adipose Tissue

Background. Association of obesity with metabolic and cardiovascular complications depends on the adipose tissue distribution. The role of intraabdominal, i.e. visceral, adipose tissue in pathogenesis of insulin resistance is still not elucidated. The aim of this study was to investigate the relation between insulin resistance and contribution of visceral and subcutaneous fat in a group of women with a wide range of body weight.

Methods and Results. 62 women (age 21–66 years) among which 32 were non-obese and 30 obese (BMI > 30 kg/m²) were examined. The amount of visceral and subcutaneous fat was evaluated using computerized tomography, total body fat evaluated using bioimpedance, and the degree of insulin resistance was evaluated using glucose disposal (M) during euglycemic hyperinsulinemic clamp. Obese women had lower insulin sensitivity than non-obese (5.88 ± 2.17 vs 3.32 ± 1.44 mg/min/kg, p < 0.001) and higher absolute amount of visceral fat. However, the relative amount of visceral fat (related to total body fat or subcutaneous fat) was not different between the two groups. In the entire study group, the magnitude of insulin sensitivity did correlate with absolute amount of total and visceral fat, but no correlation with relative amount of visceral fat was found.

Conclusions. The results suggest that the absolute amount of fat, either total or visceral, is a stronger predictor of the degree of insulin resistance than the relative contribution of visceral fat.

Key words: insulin resistance, obesity, visceral fat.

Ba.

Čas. Lék. čes., 2008, 147, pp. 376–380.

Výsledky řady epidemiologických studií prokazují zřejmou souvislost mezi obezitou těžkého stupně a mortalitou způsobenou kardiovaskulárními a cerebrovaskulárními příhodami. Regionální distribuce tukové tkáně je důležitým indikátorem metabolických a kardiovaskulárních odchylek u obezity mírného stupně, kde tyto odchylky nekorelují s BMI (1–5).

Již v 50. letech minulého století bylo známo, že metabolické komplikace obezity jsou spojeny predominantně s akumulací tukové tkáně v oblasti břicha (6). S rozvojem zobrazovacích metod v 90. letech bylo možno lokalizovat abdominální tuk do oblasti intraabdominální (omentální a mezenterický souhrnně nazývaný viscerální tuk) a subkutánní, dále měřit množství tuku v játrech a svalech (7, 8). Následovalo mnoho studií, zkoumajících souvislost metabolických komplikací obezity (inzulínové rezistence aj.) a rozložení tuku v jednotlivých lokalizacích. Navzdory výrazně menšímu množství viscerálního tukové tkáně v porovnání s tukem podkožním bylo v řadě prací ukázáno, že je to právě množství viscerálního tuku, které významně koreluje s inzulinovou rezistencí, DM 2. typu a kardiovaskulárním rizikem (9–15).

Hypotéza o významu viscerálního tuku u nemocí asociovaných s obezitou byla obecně rychle přijata, i když zřejmá příčinná souvislost přes intenzivní výzkum v této oblasti nebyla dosud prokázána (16). Existuje řada prací, které determinantu inzulinové rezistence nacházejí v celkovém množství podkožního a nikoli viscerálního tuku (8, 17).

Cílem naší práce bylo proto sledovat vztah mezi relativním podílem viscerálního a podkožního tukové tkáně na straně

jedné a inzulinovou rezistencí a dalšími ukazateli metabolického syndromu na straně druhé u souboru žen se širokým rozmezím tělesné hmotnosti.

Množství jednotlivých tukových dep bylo hodnoceno počítačovou tomografií a inzulinová rezistence pomocí hyperinzulininního euglykemického clampu.

SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Soubor pacientů

Do studie bylo zařazeno 62 žen ve věku od 21 do 66 let se širokým rozmezím BMI (19,8–47,0). Soubor jsme rozdělili na 2 skupiny: 1. NEOB – neobézní s BMI < 30 (n = 32) a 2) OB – obézní s BMI ≥ 30 (n = 30). Charakteristiky subjektů studie jsou uvedeny v tabulce 1 a 2.

Ze studie byly vyloučeny pacientky se změnou hmotnosti větší než 3 % za poslední 3 měsíce a pacientky s medikací beta-blokátorů a jiných léků ovlivňujících inzulinovou rezistenci.

Studie byla schválena etickou komisí 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy. Všechny pacientky před vstupem do studie podepsaly informovaný souhlas s účastí ve studii.

Vyšetřovací protokol

Několik dní před operačním výkonem se pacientka dostavila ráno nalačno ke klinickému vyšetření. Předem byla poučena, aby ve dnech předcházejících vyšetření dodržovala obvyklý stravovací režim a pohybovou aktivitu.

Tab. 1. Antropometrické charakteristiky skupiny neobézních (NEOB) a obézních (OB) žen

	NEOB (n = 32)	OB (n = 30)	t-test
věk (roky)	41,66 ± 12,12	45,00 ± 10,35	NS
BMI (kg/m ²)	24,71 ± 3,51	36,41 ± 4,92	p < 0,001
TH%	30,98 ± 6,56	44,59 ± 4,37	p < 0,001
TH (kg)	22,08 ± 6,88	44,56 ± 9,92	p < 0,001
TP H %	69,03 ± 6,56	55,41 ± 4,37	p < 0,001
TP H (kg)	47,83 ± 5,70	53,92 ± 5,40	p < 0,001
obvod p asu (cm)	84,41 ± 10,57	109,38 ± 9,82	p < 0,001
WHR	0,82 ± 0,07	0,88 ± 0,05	p < 0,001
CT-subkutánní tuk (cm ²)	251,7 ± 118,3	482,7 ± 112,1	p < 0,001
CT-viscerální tuk (cm ²)	78,3 ± 50,4	138,7 ± 49,6	p < 0,001
CT-VT/ST	0,31 ± 0,16	0,30 ± 0,11	NS
VT/TH (cm ² /kg)	3,27 ± 1,65	3,20 ± 1,16	NS

Hodnoty uvedeny jako průměr ± směrodatná odchylka.

TH – tuková hmota, TPH – tukuprostá hmota, CT – počítačová tomografie, VT – viscerální tuk, ST – podkožní tuk, M – spotřeba glukózy během clampu korigovaná na distribuční prostor

Tab. 2. Metabolické a kardiovaskulární charakteristiky skupiny neobézních (NEOB) a obézních (OB) žen

TK syst. (mm Hg)	115,15 ± 12,32	125,29 ± 10,80	p < 0,01
TK diast. (mm Hg)	70,42 ± 8,35	77,50 ± 7,38	p < 0,001
celkový cholesterol (mmol/l)	4,78 ± 1,13	4,72 ± 1,12	NS
triglyceridy (mmol/l)	1,12 ± 0,81	1,72 ± 1,10	p < 0,05
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,47 ± 0,28	1,33 ± 0,27	NS
TG/HDL (v mg/dcl)	1,9 ± 1,68	3,24 ± 2,49	p < 0,05
glykémie (mmol/l)	4,95 ± 0,55	5,77 ± 1,37	p < 0,05
inzulín (IU/l)	6,29 ± 3,88	11,93 ± 6,19	p < 0,001
M (mg/min/kg)	5,88 ± 2,17	3,32 ± 1,44	p < 0,001

Tab. 3. Korelace mezi spotřebou glukózy během clampu (M), indexem kardiovaskulárního rizika (TG/HDL) a vybranými antropometrickými a metabolickými parametry

	M	TG/HDL
věk	-0,149	0,057
hmotnost	-0,581**	0,231
BMI (kg/m ²)	-0,600**	0,271*
TH (kg)	-0,587**	0,212
TPH (kg)	-0,404**	0,235
obvod pasu (cm)	-0,669**	0,327*
TK syst. (mm Hg)	-0,376**	0,171
TK diast. (mm Hg)	-0,415**	0,164
CT-subkutánní tuk (cm ²)	-0,499**	0,155
CT-viscerální tuk (cm ²)	-0,537**	0,387**
CT-VT/ST	-0,226	0,303*
VT/TH (cm ² /kg)	-0,246	0,299*
triglyceridy (mmol/l)	-0,441**	
HDL-cholesterol (mmol/l)	-0,422**	
TG/HDL (v mg/dcl)	-0,471**	

Uvedená data jsou Pearsonův korelační koeficient – r.
*p < 0,05, **p < 0,01

Antropometrie

Byla změřena výška, hmotnost a obvod pasu. BMI byl spočítán jako tělesná hmotnost (kg)/výška² (m).

Složení těla (tuková hmota (TH) a tukuprostá hmota (TPH)) bylo měřeno metodou multifrekvenční bioimpedance (QuadScan 4000, Bodystat, Douglas, British Isles).

Počítačová tomografie (CT)

Plocha viscerální a podkožní tukové tkáně byla určena počítačovou tomografií na úrovni L 4–5 dle metody (12). Vyšetření byla provedena na přístroji CT-Pace Plus (General Electric). Podle předozadního topogramu břicha byly u všech pacientek provedeny 3 příčné scany v úrovni ploténky L4/L5, dále pak 10 mm nad a 10 mm pod touto úrovní. Tloušťka vyšetřované vrstvy byla 10 mm, scany byly provedeny při napětí 120 kV a 130 mAs. Při CT vyšetření odpovídají tukové tkáni denzitní hodnoty -150 H.j. až -50 H.j. Na provedených scanech byly tedy pomocí softwarové výbavy přístroje změřeny plochy, které v tomto denzitním intervalu zaujímá tuk, a to jednak v kompartmentu vnitřního (viscerálního) a zevního (podkožního) tuku. Prostým součtem těchto údajů lze stanovit plochu celkového tuku v dané vyšetřované vrstvě. Pro další analýzy jsme použili průměrnou hodnotu ze všech 3 měření (12).

Euglykemický-hyperinzulínový clamp

Inzulínová rezistence byla hodnocena metodou dvouhodinového hyperinzulínového euglykemického clampu podle DeFronza (18) s dávkou inzulínu 40 mU/min na 1m² plochy těla. Hodnoceno bylo 30 minut stabilní periody ve 2. hodině clampu, spotřeba glukózy byla přepočítána na tělesnou hmotnost (M – mg/min/kg).

Analýza krve

Byly odebrány vzorky krve pro analýzu biochemických parametrů. Glykémie, inzulín, TG, celkový cholesterol, HDL byly stanoveny v biochemické laboratoři FNKV. Byl spočítán index kardiovaskulárního rizika TG (mg/dL) / HDL cholesterol (mg/dL) (19).

Statistické zpracování

K analýze dat jsme použili statistický software SPSS 12.0. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SD. Před statistickou analýzou jsme ověřili, že se jedná o normální rozložení dat. Srovnání jednotlivých antropometrických a metabolických ukazatelů mezi skupinami jsme provedli nepárovým t-testem. Pro určení vztahů mezi TG/HDL cholesterol a M a ostatními parametry byl použit Pearsonův korelační koeficient.

VÝSLEDKY

Antropometrické ukazatele

Soubor 62 žen byl rozdělen dle definice Světové zdravotnické organizace na obézní (BMI ≥ 30; n = 30) a neobézní (BMI < 30; n = 32) jedince. Antropometrická charakteristika daných skupin je uvedena v tabulce 1.

Tělesná hmotnost, BMI, % tukové hmoty (TH), množství tukové hmoty a tukuprosté hmoty (TPH) v kg, obvod pasu a poměr pas–boky (WHR) byly vyšší u skupiny obézních žen, % TPH bylo vyšší u neobézních žen.

U skupiny OB byly vyšší absolutní hodnoty plochy podkožní (ST) i viscerální (VT) tukové tkáně měřené pomocí CT. Pokud byla velikost plochy viscerální tukové tkáně vztažena k ploše podkožní tukové tkáně nebo k množství celkového tělesného tuku, pak nebyl v takto definovaných relativních množstvích viscerálního tuku (VT/ST, VT/TH) nalezen významný rozdíl mezi oběma skupinami.

Metabolické a kardiovaskulární ukazatele

Všechny ženy měly normální systolický i diastolický krevní tlak, přesto byly obě hodnoty u skupiny obézních žen významně vyšší než u neobézních.

Hladina triglyceridů (TG) byla vyšší u skupiny obézních, hladiny celkového a HDL cholesterolu se mezi skupinami nelišily. Index kardiovaskulárního rizika TG (mg/dL)/HDL cholesterol (mg/dL) byl vyšší u skupiny obézních žen, ani u jedné skupiny však tento index nepřekročil hranici zvýšeného kardiovaskulárního rizika (≥ 3,5).

Všechny ukazatele inzulínové rezistence, tj. M, bazální inzulínémie a bazální glykémie, byly vyšší u OB ve srovnání s NEOB skupinou.

Vztah mezi množstvím viscerálního tuku a stupněm inzulínové senzitivity

Korelační analýza byla provedena na celém souboru (tab. 2) Plocha viscerálního (r = -0,537; p < 0,01) i podkožního (r = -0,499; p < 0,01) tuku negativně korelovala s inzulínovou senzitivitou vyjádřenou M. Korelace mezi relativními podíly viscerálního tuku VT/ST nebo VT/TH a inzulínovou senzitivitou však nalezena nebyla (r = -0,226 resp. r = -0,246). Index kardiovaskulárního rizika TG/HDL cholesterolu pozitivně koreloval s plochou viscerálního tuku (r = 0,387; p < 0,01), s poměrem VT/ST (r = 0,303; p < 0,05) i s poměrem VT/TH (r = 0,299; p < 0,05).

DISKUZE

Již více než 50 let je známo, že akumulace tuku v oblasti horní poloviny těla je spojena významně častěji s metabo-

lickými komplikacemi obezity (6). Epidemiologické studie prokázaly, že centrální obezita významně častěji koreluje se zvýšenou mortalitou a rizikem vzniku diabetu, kardiovaskulárních a cerebrovaskulárních příhod než obezita gluteofemorální (20). Využití zobrazovacích metod přineslo možnost diferenciaci podkožní a intraabdominální složky abdominálního tuku s otevřením otázky, jaký podíl mají obě komponenty na metabolických komplikacích obezity (7–8). Úloha viscerálního tuku není stále zcela zřejmá. Řada prací prokazuje pozitivní asociaci mezi množstvím viscerální tukové tkáně a ukazateli inzulínové rezistence nebo metabolického syndromu (9–15). Nicméně ve velké části studií se zmíněná asociace týká absolutního množství viscerálního tuku, které úzce souvisí s absolutním množstvím tuku celkového. Dále ve většině studií je stupeň uvedené korelace pro viscerální tuk stejný jako pro abdominální tuk podkožní (přehled viz 21). Pouze několik prací prokazuje, že roli v predikci metabolických komplikací má i relativní zvětšení podílu viscerálního tuku na celkovém tuku v abdominální oblasti (12), nebo ve vztahu k podkožnímu tuku v oblasti femorální (9). Některé studie přímo roli intraabdominálního tuku v predikci rizika metabolických komplikací obezity popírají a za determinantu považují abdominální tuk podkožní (8, 17).

V práci jsme sledovali ukazatele, na rozdíl od většiny uvedených prací, inzulínovou citlivost metodou „zlatého standardu“ tj. hyperinzulinním euglykemickým clampem a množstvím viscerální tukové tkáně obvyklou metodou počítačové tomografie. Soubor byl omezen na ženy. Rozmezí hmotnostního indexu bylo obdobné jako ve většině studií: Polovina subjektů byla v pásmu obezity. Obézní subjekty vykazovaly výrazně nižší stupeň inzulínové senzitivity. Obézní pacientky měly vyšší absolutní množství viscerálního tuku, relativní zastoupení viscerálního tuku ve vztahu k podkožnímu abdominálnímu tuku či k tuku celkovému nebylo u obou skupin odlišné.

V tomto souboru jsme prokázali negativní korelaci mezi stupněm inzulínové senzitivity a absolutním množstvím celkového tuku, tuku viscerálního i abdominálního tuku podkožního (tab. 3). Podkožní tuk femorální nebyl hodnocen. Avšak tato korelace nebyla nalezena, pokud jsme sledovali vliv relativního podílu viscerálního tuku, tj., množství viscerálního tuku bylo vztaženo k množství podkožního abdominálního tuku nebo tuku celkového. Tyto výsledky se tedy řadí ke studiím, které neprokazují vliv relativního podílu viscerální tukové tkáně na stupeň inzulínové rezistence. Pro tento závěr svědčí i srovnání obou podskupin našeho souboru (tab. 1 a 2): Přestože u skupiny obézních byla inzulínová senzitivita výrazně nižší než u neobézních subjektů, nebyl relativní podíl viscerální tukové tkáně v obou skupinách odlišný.

Za pozornost nicméně stojí, že relativní podíl viscerálního tuku koreloval pozitivně s indexem kardiovaskulárního rizika TG/HDL.

Korelace tohoto indexu se stupněm inzulínové rezistence je variabilní (21, 22). Výsledek nasvědčuje tomu, že relativní podíl viscerálního tuku, přestože neovlivňuje stupeň inzulínové rezistence, se může odrazit ve zvýšeném metabolickém riziku vyjádřeném indexem TG/HDL. Diskrepance mezi metabolickým rizikem vyjádřeným ukazateli metabolického syndromu a stupněm inzulínové rezistence byla již v minulosti demonstrována (23).

ZÁVĚR

Sledování na souboru 62 obézních a neobézních žen ukazují, že stupeň inzulínové rezistence se zvyšuje s absolutním množstvím, ale ne relativním podílem viscerálního tuku. Osvětlení úlohy viscerálního tuku v patogenezi inzulínové rezistence a metabolického syndromu vyžaduje další studie nejen na úrovni epidemiologické, ale i na úrovni patofyziologických mechanismů působení tukové tkáně.

Zkratky

BMI	– body mass index
CT	– počítačová tomografie
HDL	– lipoprotein o vysoké hustotě
M	– spotřeba glukózy během clampu korigovaná na distribuční prostor
NEOB	– skupina neobézních
OB	– skupina obézních
ST	– podkožní tuk
TG	– triglycerid
TH	– tuková hmota
TPH	– tukuprostá hmota
VT	– viscerální tuk
WHR	– obvod pasu a poměr pas–boky

LITERATURA

1. **Feinleib, M.:** Epidemiology of obesity in relation to health hazards. *Ann. Intern. Med.*, 1985, 103, s. 1019–1024.
2. **Kandel, W. B.:** Lipids, diabetes and coronary heart disease: insights from the Framingham Study. *Am Heart J*, 1985, 110, s. 1100–1107.
3. **Keys, A.:** Overweight, obesity, coronary heart disease and mortality. *Nutr. Rev.*, 1980, 38, s. 297–307.
4. **Mann, G. V.:** The influence of obesity and health: part 2. *N. Engl. J. Med.*, 1974, 291, s. 226–232.
5. **Larsson, B.:** Obesity, fat distribution and cardiovascular disease. *Int. J. Obesity*, 1991, 15, s. 53–57.
6. **Vague, J.:** The degree of masculine differentiation of obesity: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout and uric calculous disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1956, 4, s. 20–34.
7. **Kvist, H., Sjostrom, L., Tylén, U.:** Adipose tissue volume determinations in women by computed tomography: technical considerations. *Int. J. Obesity*, 1986, 10, s. 53–67.
8. **Abate, N., Garg, A., Peshock, R. M. et al.:** Relationship of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. *J. Clin. Invest.*, 1995, 96, s. 88–98.
9. **Pouliot, M. C., Espres, J.-P., Naderu, A. et al.:** Visceral obesity in men: associations with glucose tolerance, plasma insulin, and lipoprotein levels. *Diabetes*, 1992, 41, s. 826–834.
10. **Lemieux, S., Tremblay, A., Prud-Homme, D. et al.:** Seven-year changes in body fat and visceral adipose tissue in women: associations with index of plasma glucose-insulin homeostasis. *Diabetes Care*, 1996, 19, s. 983–991.
11. **Banerji, M. A., Lebowitz, J., Chaiken, R. L. et al.:** Relationship of visceral adipose tissue and glucose disposal is independent of sex in black NIDDM subjects. *Am. J. Physiol.*, 1997, 273, s. E425–E432.
12. **Fujioka, S., Matsuzawa, Y., Tokunaga, K., Tarui, S.:** Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impair-

- ment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism*, 1987, 36, s. 54–59.
13. **Despres, J-P., Nadeau, A., Tremblay, A. et al.:** Role of deep abdominal fat in the association between regional adipose tissue distribution and glucose tolerance in obese women. *Diabetes*, 1989, 38, s. 304–309.
 14. **Kuk, J. L., Church, T. S., Blair, S. N., Ross, R.:** Does Measurement Site of Visceral and Abdominal Subcutaneous Adipose Tissue Alter Associations With the Metabolic Syndrome? *Diabetes Care*, 2006, 29, s. 679–684.
 15. **Goodpaster, B. H., Krishnaswami, S., Harris, T. B. et al.:** Obesity, Regional Body Fat Distribution, and the Metabolic Syndrome in Older Men and Women. *Arch. Intern. Med.*, 2005, 165, s. 777–783.
 16. **Frayn, K. N.:** Visceral fat and insulin resistance-causative or correlative? *Brit. J. Nutr.*, 2000, 83 (Suppl. 1), s. S71–S77.
 17. **Abate, N., Garg, A., Peshock, R. M. et al.:** Relationship of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men with NIDDM. *Diabetes*, 1996, 45, s. 1684–1693.
 18. **DeFronzo, R. A., Tobin, J. D., Andres, R.:** Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.*, 1979, 237, s. 214–223.
 19. **McLaughlin, T., Reaven, G., Abbasi, F. et al.:** Is There a Simple Way to Identify Insulin-Resistant Individuals at Increased Risk of Cardiovascular Disease? *Am. J. Cardiol.*, 2005, 96, s. 399–404.
 20. **Wajchenberg, B. L.:** Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. *Endocrine Reviews*, 2000, 21, s. 697–738.
 21. **Reaven, G.:** All obese individuals are not created equal: insulin resistance is the major determinant of cardiovascular disease in overweight/obese individuals. *Diabetes Vasc Dis Res.*, 2005, 2, s. 105–112.
 22. **Hannon, T. S.:** Use of markers of dyslipidemia to identify overweight youth with insulin resistance. *Pediatr Diabetes*, 2006, 7, s. 260–266.
 23. **Liao, Y., Kwon, S., Shaughnessy, S. et al.:** Critical evaluation of adult treatment panel III criteria in identifying insulin resistance with dyslipidemia. *Diabetes Care*, 2004, 27, s. 978–983.

Práce byla podporována grantem NR 8066–3/04 Interní grantové agentury MZ ČR.

VÝZVA REDAKCE

Apelujeme na všechny přispěvatele Časopisu lékařů českých, aby ve svých publikacích
neopomíjeli citovat domácí autory.

Uvádění citací českých autorů je nejen v zájmu publikujících, ale v zájmu celé naší lékařské veřejnosti.
Děkujeme za porozumění a spolupráci.

Redakční rada Časopisu lékařů českých

PŮVODNÍ PRÁCE

Využitie profilov génovej expresie k stanoveniu odpovedi k neoadjuvantnej konkomitantnej chemorádioterapii u pacientov s karcinómom rekta: pilotná štúdia

^{1,5}Garajová I., ^{2,5}Slabý O., ^{1,5}Svoboda M., ²Fabian P., ³Silák J., ²Šmerdová T.,

¹Kocák I., ⁴Růžičková J., ⁶Hoch J., ^{1,5}Vyzula R.

¹Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

²Oddělení onkologické a experimentální patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

³Oddělení chirurgické onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁴Klinika radiační onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁵Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

⁶Chirurgická klinika 2. LF UK a FNM, Praha

ABSTRAKT

Východisko. Neoadjuvantná konkomitantná chemorádioterapia je štandardnou liečbou lokálne pokročilých nádorov konečníka. Jej cieľom je zredukovať objem nádoru, viesť k sfinkter-šetriacemu radikálnemu chirurgickému zákroku. Charakteristická je menšia toxicita a menej lokoregionálnych recidív. Je založená na fluoropyrimidínoch (5-fluorouracil, capecitabín) s konkomitantnou rádioterapiou. Cieľom našej štúdie bolo charakterizovať na molekulárnej úrovni pacientov, ktorí sú rezistentní k neoadjuvantnej chemorádioterapii.

Metódy a výsledky. Do pilotnej štúdie bolo zaradených 17 pacientov s histologicky verifikovaným adenokarcinómom rekta v klinickom štádiu II a III podľa IUCC. Odpoveď na liečbu bola hodnotená klinicky pomocou transrektálnej ultrasonografie a CT/MRI pred a po liečbe a histopatologicky pomocou TRG (Tumor Regression Grade) podľa Mandarda. Pacienti s TRG 1–2 boli zaradení do skupiny respondérov a pacienti charakterizovaní TRG 4–5 tvorili skupinu nonrespondérov. Použili sme nízko hustotné oligonukleotidové čipy nesúce sondy pre detekciu 440 génov. K identifikácii génov rozdielne exprimovaných medzi dvoma skupinami pacientov sme použili t-test a metódu SAM (Significance Analysis of Microarrays) s výsledným počtom 8 génov signifikantne up-regulovaných u nonrespondérov (RB1, RBBP4, HYOU1, JUNB, MDM4, CANX, MMP2, TCF7L2).

Záver. Po rozšírení súboru, validácii výsledkov na úrovni mRNA metódou qRT-PCR a imunohistochemicky na proteínovej úrovni, by tieto sady génov mohli slúžiť k individualizácii terapie pacientov s lokálne pokročilým karcinómom rekta.

Kľúčové slová: neoadjuvantná terapia, fluoropyrimidíny, rádioterapia, karcinóm rekta, profily génovej expresie, DNA čipy.

ABSTRACT

Garajová I., Slabý O., Svoboda M. et al.: Gene Expression Profiling in Prediction of Tumor Response to Neoadjuvant Concomitant Chemoradiotherapy in Patients with Locally Advanced Rectal Carcinoma: Pilot Study

Background. Neoadjuvant concomitant chemoradiotherapy has become a standard treatment of locally advanced rectal adenocarcinomas (LARA). It can reduce tumor volume, thus increases a feasibility of sphincter-sparing surgery, shows less acute toxicity, improves local control rate. It is based on fluoropyrimidines (5-fluorouracil, capecitabine) with concurrent radiotherapy. The aim of the study was to evaluate the capability of gene expression method to identify nonresponders (NR) pretherapeutically.

Methods and Results. 17 patients with LARA, clinical stage II, III according to IUCC were enrolled into our pilot study. Response to therapy was determined clinically by transrectal ultrasonography and CT/MRI before and after therapy and histopathologically by TRG (tumor regression grade) according to Mandard. Patients with TRG 1–2 were included to responders group (R) and patients with TRG 4–5 composed NR group. Gene expression levels of 440 genes were obtained by low-density oligonucleotide microarrays. Gene expression data analysis based on SAM (Significance Analysis of Microarrays) and t-test methods identified 8 genes (RB1, RBBP4, HYOU1, JUNB, MDM4, CANX, MMP2, TCF7L2) significantly upregulated in NR.

Conclusions. Validation of identified changes on the mRNA level (Real-Time PCR) and on protein level (immunohistochemistry) is ongoing. We suggest that low-density oligonucleotide microarray technology could contribute to individualize the therapy of patients with LARA.

Key words: neoadjuvant therapy, fluoropyrimidines, radiotherapy, rectal adenocarcinomas, gene expression profiling, DNA arrays. *Ga.*

Čas. Lék. čes., 2008, 147, pp. 381–386.

Neoadjuvantná (predoperačná) konkomitantná chemorádioterapia je štandardnou liečbou lokálne pokročilých nádorov konečníka. Jedná sa o klinické štádium II (cT3–4, N0, M0) a III (cT1–T4, N+, M0) podľa IUCC (International Union Against Cancer). Jej cieľom je zredukovať objem nádoru, a tým viesť k radikálnemu (R0) chirurgickému zákroku a prípadne i zvýšiť pravdepodobnosť sfinkter-šetriaceho výkonu, bez nutnosti vytvorenia stómie, a tým zvýšiť kvalitu života pacientov (1, 2). Neoadjuvantná liečba je založená na konkomitantnej aplikácii rádioterapie (45 Gy v 25 frakciách na panvu + boost na lôžko tumoru do celkovej dávky 50,4 Gy) a chemoterapie na bázi fluoropyrimidínov (5-fluorouracil, 5-FU, v dávke 225 mg/m²/deň aplikovaný kontinuálne po dobu rádioterapie alebo perorálne podávaný kapecitabín v dávke 825 mg/m²/2× denne). Operačné riešenie nasleduje za 4 až 6 týždňov po ukončenej neoadjuvantnej liečbe. Tento typ liečby má nižší výskyt akútnej toxicity a menej lokoregionálnych recidív v porovnaní s pacientmi, ktorí boli liečení primárne operačne s následnou adjuvantnou chemorádioterapiou (3) alebo len samotným operačným výkonom (4). Podľa klinickej štúdie EORTC 22921, ktorá zrovnávala množstvo lokoregionálnych recidív u pacientov liečených buď predoperačne rádioterapiou sólo (45 Gy), alebo predoperačnou chemorádioterapiou (5-FU, 45 Gy), tí pacienti, ktorí boli liečení kombinovanou terapiou, mali nižší počet lokoregionálnych recidív (9 % vs. 17 %) (5). Rovnako dizajnovaná retrospektívna francúzska štúdia FFCD 9203 (predoperačná rádioterapia versus predoperačná chemorádioterapia s 5-FU, celková dávka rádioterapie v oboch ramenách bola 45 Gy) došla taktiež k záveru, že kombinovaná liečba vedie k nižšiemu počtu lokoregionálnych recidív (8 % vs. 16,5 %) (6). Ďalšia štúdia poukazuje na dôležitosť spôsobu aplikácie fluoropyrimidínov, 5-FU podávaný formou kontinuálnej intravenózneho infúzie alebo perorálne podaný kapecitabín vykazujú menší výskyt akútnej toxicity a vyššiu efektívnosť v porovnaní s bolusovým podaním 5-FU (7). Táto liečba nie je úspešná u všetkých pacientov. Odpoveď varíruje od kompletnej patologickej remisie (pCR, ypT0ypN0) až po úplnú rezistenciu k liečbe. Kompletná patologická remisia sa vyskytuje 10–20 % prípadov (8, 9). Pacienti s kompletnou patologickou remisiou majú lepšiu dlhodobú prognózu (9, 10). Pacientov so žiadnou/minimálnou odpoveďou tumoru na neoadjuvantnú chemorádioterapiu dosiaľ nie je možné identifikovať pred začatím liečby. Na základe našich doposiaľ nepublikovaných výsledkov sa jedná približne o 12 % pacientov. Skúšalo sa mnoho potenciálnych prediktorov liečebnej odpovede, žiaden sa však v klinickej praxi nepoužíva (11). Otvára sa možnosť identifikácie tejto skupiny pacientov na molekulárnej úrovni, charakterizovať ich metódami genomického profilovania pomocou DNA čipov (12, 13). DNA čipy umožňujú v krátkom čase paralelne monitorovať expresiu tisícok génov, prípadne

i celý ľudský genóm na úrovni RNA (transkriptóm) (14). Štúdie založené na čípovej technológii dokázali veľmi dobré analytické vlastnosti, ale s minimálnym prienikom medzi jednotlivými génovými sadami. Zrovnateľnosť a reprodukovateľnosť týchto štúdií je ďalej významne ovplyvnená ich technologickou rozmanitosťou a výsledky, ktorých bolo pomocou nich dosiahnutých, nemožno považovať za konkluzívne. Cieľom tejto štúdie bolo overiť možnosti využitia nízkohustotných oligonukleotidových čipov pre molekulárnu charakteristiku adenokarcinómov pacientov liečených neoadjuvantnou chemorádioterapiou a k identifikácii génov spojených s rezistenciou nádorových buniek k neoadjuvantnej liečbe. V budúcnosti by bolo možné získané molekulárne prediktory použiť k individualizácii liečby pacientov s lokálne pokročilým karcinómom rekta a u vybranej skupiny pacientov tak predísť zbytočnému oddialeniu chirurgického výkonu a eventuálnej toxicity neoadjuvantnej liečby.

SÚBOR PACIENTOV A POUŽITÉ METÓDY

Súbor pacientov

Do štúdie bolo zaradených 17 pacientov s histologicky verifikovaným adenokarcinómom rekta v klinickom štádiu II a III podľa IUCC, ktorí boli liečení v Masarykovom onkologickom ústave v rokoch 2005–2007. Odpoveď na liečbu bola hodnotená klinicky (cT a cN) pomocou transrektálnej ultrasonografie (TRUS) a CT/MRI pred a po liečbe a histopatologicky pomocou stupnice TRG (Tumor Regression Grade) podľa Mandarda. TRG skóre nadobúda hodnoty od 1 do 5. Skóre TRG 1 znamená najlepšiu odpoveď tumoru na aplikovanú liečbu, kedy došlo k úplnému vymiznutiu nádorových buniek z pôvodného miesta tumoru a k ich nahradeniu reparačnými bunkami (hlavne fibroblastmi), naopak skóre TRG 5 znamená, že v tumore po liečbe nenastali žiadne alebo iba minimálne zmeny a väčšina jeho objemu je stále tvorená vitálnymi nádorovými bunkami (15). Na základe TRG skóre boli pacienti rozdelení do dvoch skupín. Prvú skupinu, označenú ako „respondéry“, tvorili pacienti s tumormi, u ktorých došlo k regresii nádoru hodnotenou ako TRG 1–2. Druhú skupinu, označenú ako „nonrespondéry“, tvorili pacienti s tumormi, u ktorých nastala minimálna alebo žiadna odpoveď na aplikovanú neoadjuvantnú liečbu, skóre TRG 4–5. Všetci pacienti podpísali informovaný súhlas s neoadjuvantnou liečbou a s odberom vzoriek nádorového tkaniva.

Izolácia a kontrola kvality RNA

Biopický materiál bol ihneď po chirurgickom vyňatí zamrazený a uskladnený pri -80 °C do ďalšieho spracovania. Celková RNA bola izolovaná pomocou TriReagentu (MRC, Research, USA) podľa doporučenia výrobcu. Čistota bola overená spektrofotometricky pomocou prístroja NanoDrop

a nekontaminovaná RNA ($A_{260}/A_{280} > 2$; $A_{260}/A_{230} > 1,7$) bola ďalej spracovaná. Integrita RNA bola kontrolovaná metódou kapilárnej gélovej elektroforézy prístrojom Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, USA). Iba nefragmentovaná RNA charakterizovaná hodnotou RIN (RNA Integrity Number) vyššou než 7 bola použitá pre ďalšiu analýzu (16).

Spracovanie oligonukleotidových čípo (Oligo GEArrays)

K získaniu expresných profilov sme použili nízko hustotné oligonukleotidové čípy Cancer Oligo GEArray (OHS-802) spoločnosti SuperArray (SuperArray Bioscience Corp., USA) nesúce sondy pre detekciu 440 génov so známou funkciou v nádorovej biológii. K lineárnej amplifikácii $\sim 3 \mu\text{g}$ intaktnej RNA každého vzorku a jej značeniu biotínom-16-UTP (Enzo Life Sciences, USA) sme použili kit TrueLabeling-AMPTTM 2.0 (SuperArray Bioscience Corp., USA). Získaná cRNA bola prečistená pomocou kolonkového kitu ArrayGradeTM cRNA Cleanup Kit (SuperArray Bioscience Corp., USA). cRNA sondy boli následne denaturované a hybridizované 20 hodín na nylonovej membráne čípu nesúceho oligonukleotidové sondy špecifické pre jednotlivé gény. Hybridizovaná cRNA bola detekovaná po väzbe biotínu na avidin-fosfatázový konjugát chemiluminiscenčnou reakciou s činidlom CDPstar (Tropix, Inc., Bedford, USA). Všetky postupy boli realizované podľa doporučenia výrobcu. Chemiluminiscenčný obraz bol snímaný 16-bitovou chladenou CCD kamerou (Alpha Innotech Ltd., USA) po dobu 7 minút.

Analýza obrazu a spracovanie dát

Analýza obrazu, odčítanie pozadia (spot s najnižšou intenzitou) a normalizácia dát bola realizovaná pomocou webovej aplikácie GEArray Expression Analysis Suite (SuperArray Bioscience Corp., USA). Intenzita signálu jednotlivých spotov bola normalizovaná pomocou sady housekeepingových génov (GAPDH, ACTB, HSPCB, RPS27A a B2M). Štatistická

analýza a vizualizácia normalizovaných dát boli realizované pomocou softwaru TIGR MultiExperiment Viewer version 3.1 (The Institute for Genomic Research, 2003, <http://www.tigr.org>) (17). K identifikácii génov rozdielne exprimovaných medzi dvoma skupinami pacientov sme použili dvojvýberový t-test ($\alpha = 0,01$) a metódu SAM (Significance Analysis of Microarrays) (18). Metóda SAM bola použitá k štúdiu typu „two class unpaired data“ s počtom permutácií 1000, pre minimálnu hodnotu odhadu FDR (false discovery rate) bola stanovená hranica $\Delta = 0,74$ medzi skupinami pacientov s rôznou odpoveďou na neoadjuvantnú liečbu.

VÝSLEDKY

Klinická charakteristika súboru analyzovaných pacientov

Do štúdie bolo zaradených celkom 17 pacientov; 10 pacientov tvorilo skupinu respondérov (6 pacientov s TRG 1 a 4 pacienti s TRG 2), zvyšných 7 pacientov tvorili skupinu nonrespondérov (všetci TRG 4). Medián veku pacientov bol 55 rokov (v rozmedzí od 31 do 68 rokov). Väčšina pacientov bola mužského pohlavia ($n = 13$), 14 pacientov mala ochorenie v klinickom štádiu III, 3 pacienti v štádiu II. Preferovanejším chemoterapeutickým režimom bol kapecitabín ($n = 13$), najmä kvôli jeho perorálnej liekovej forme (tzv. „patient-friendly chemotherapy“). Dowstaging (DS) v „T/N“ sme definovali ako zníženie „T/N“ klasifikácie od klinického stágingu pomocou TRUS predoperačne (cT a cN) voči patologickému stágingu (ypT a ypN). Downstaging v parametre „T“ nastal u 7 respondérov a 2 nonrespondérov, downstaging v parametre „N“ nastal u 7 respondérov a 5 nonrespondérov. Predoperačnú eleváciu nádorového márkru CEA sme pozorovali u 1 pacienta odpovedajúceho na liečbu a 3 pacientov neodpovedajúcich na liečbu, nádorový marker CA 19-9 bol elevovaný predoperačne len v jednom prípade pacienta, ktorý bol rezistentný k neoadjuvantnej chemorádioterapii. Redukcia chemoterapie nebola nutná u žiadneho pa-

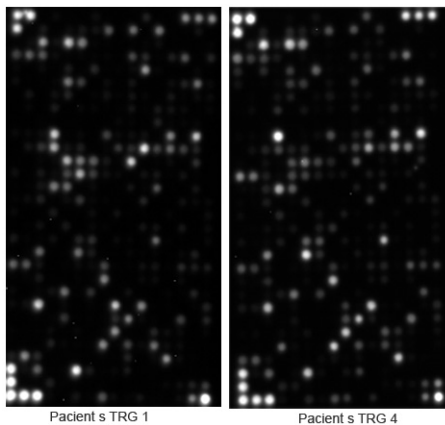
Tab. 1. Charakteristika súboru pacientov

Pacient	Ž/M	vek	TNM	TRG	CHT	DS "T"	DS "N"	G	CEA (μg/l)	CA 19-9 (kU/l)	red. CHT	red. RT	vzd. od AC (cm)	trvalá stómia A/N
1R	M	43	T3N0	1	CA	1	0	x	4,4	1,6	N	N	4	N
2R	Ž	63	T3N1	1	CA	1	1	2	3,4	16,8	N	N	4	A
3R	Ž	59	T3N2	1	CA	1	1	2	2,2	30,9	N	N	10	N
4R	M	52	T3N1	1	FU	1	1	1	4,1	20,3	N	N	8	N
5R	Ž	53	T2N1	1	CA	1	1	x	5,8*	0,0	N	N	4	A
6R	M	68	T3N0	1	FU	1	0	2	2,7	5,5	N	N	5	A
7R	M	31	T1N1	2	CA	0	1	x	2,7	3,0	N	N	12	N
8R	M	65	T3N1	2	CA	1	1	x	1,6	6,2	N	N	7,5	N
9R	M	45	T2N1	2	CA	0	1	2	4,4	6,2	N	N	10	N
10R	Ž	62	TxN1	2	CA	x	0	2	3,9	4,4	N	N	13	N
11NR	M	42	T3N2	4	FU	0	1	x	1,6	0,0	N	N	13	N
12NR	M	61	T3N1	4	CA	0	0	3	3,9	0,0	N	N	12	N
13NR	M	63	T3N1	4	CA	1	1	2	5,6*	4,7	N	N	7	A
14NR	M	55	T3N0	4	CA	1	0	2	0,6	0,7	N	-37%	7	A
15NR	M	59	T3N1	4	CA	0	1	2	12,8*	3,7	N	N	9	N
16NR	M	43	TxN2	4	FU	x	1	3	23,9*	3,8	N	N	13	N
17NR	M	32	T2N2	4	CA	2	1	2	1,8	114,1*	N	N	10	N

R – respondér, NR – nonrespondér, M/Ž – muž/žena, TRG – tumor regression grade podľa Mandarda, CHT – chemoterapia, CA – kapecitabín, 5-FU – 5-fluorouracil, DS (downstaging) „cT“ a „cN“ parametre TNM klasifikácie, 0 – bez DS, 1 – prítomný DS, 2 – upstaging, G – grade, CEA/CA 19-9 – sérová koncentrácia daných nádorových márkrov pred začatím neoadjuvantnej liečby, * – elevácia nad normu, red. – redukcia, RT – rádioterapia, vzd. od AC – vzdialenosť od AC línie, trvalá stómia A/N – áno/nie

Tab. 2. Skupina génov, ktoré sú up-regulované u pacientov, ktorých karcinóm konečníka bol rezistentný na neoadjuvantnú chemorádioterapiu

GeneBank ID	symbol	názov
NM_000321	RB1	retinoblastoma 1 (including osteosarcoma)
NM_005610	RBBP4	retinoblastoma binding protein 4
NM_006389	HYOU1	hypoxia up-regulated 1
NM_002229	JUNB	Jun B proto-oncogene
NM_002393	MDM4	mdm4, transformed 3T3 cell double minute 4
NM_001746	CANX	calnexin
NM_004530	MMP2	matrix metalloproteinase 2
NM_030756	TCF7L2	transcription factor 7-like 2

**Obr. 1.** Ukážka nízko-hustotných oligonukleotidových čipov analyzovaných vzoriek

cienta, jej odklad kvôli myelotoxicite bol nutný u jedného pacienta, redukcia dávky rádioterapie bola zaznamenaná v jednom prípade (34 Gy, -37 %). Vzdialenosť od anokutánnej línie (AC línia) bola od 4 do 13 cm, celkovo u piatich pacientov bola po ukončení neoadjuvantnej liečby nutná trvalá stómia. Charakteristika súboru pacientov je v tabuľke 1.

Analýza expresných profilov nádorov pacientov podľa odpovedi na neoadjuvantnú chemorádioterapiu

Relatívna expresia 440 génov bola stanovená u 17 primárnych rektálnych karcinómov pred začatím liečby neoadjuvantnou konkomitantnou chemorádioterapiou. Gény s expresiou nižšou než 5 % mediánu expresie všetkých analyzovaných génov boli považované za neexprimované. Pomocou t-testu ($\alpha = 0,01$) a metódy SAM bolo identifikovaných 8 génov (RB1, RBBP4, HYOU1, JUNB, MDM4, CANX, MMP2, TCF7L2) signifikantne up-regulovaných v nádoroch nonrespondérov (tab. 2). Príklady dvoch nízko-hustotných oligonukleotidových čipov sú na obrázku 1.

DISKUSIA

Cieľom štúdie bolo overiť možnosť využitia nízko-hustotných oligonukleotidových čipov k predikcii úspešnosti neoadjuvantnej konkomitantnej chemorádioterapie u pacientov s lokálne pokročilým karcinómom rekta. Identifikovali sme 8 génov so signifikantne zvýšenou expresiou v karcinómoch rezistentných k aplikovanej chemorádioterapii. V prípade všetkých 8 génov je naše pozorovanie

v súlade s ich biologickou funkciou. Publikačne je doložená spojitosť medzi expresiou týchto génov a zvýšenou schopnosťou bunkového prežívania, chemorezistencia či rádiorezistencia (19, 20).

Regulátor bunkového cyklu, retinoblastomový gén RB1, a jeho mutácie vedúce k strate regulácie bunkovej proliferácie, boli dokázané u mnohých nádorových ochoreniach (21). Zvýšené hladiny proteínu RB1 sú asociované s amplifikáciou génu pre dihydrofolát reduktázu (DHFR), ktorá je jedným z mechanizmov rezistencia na anti-folátovú chemoterapiu (21). Proteín RB1 bol tiež študovaný v súvislosti s proteínom BAG-1 (Bcl-2 associated athanogene-1), ktorého koexpresia v bunkovom jadre zvyšovala odolnosť kolorektálnych nádorových buniek voči indukcii apoptózy gama žiarením (21). Proteín RB interaguje s viacerými bunkovými proteínmi, napríklad i s RbAp48, ktorý sme identifikovali i v našej štúdií. Tento proteín je up-regulovaný u nonrespondérov. RBBP4 (RbAp48) sa špecificky viaže na C-koniec RB1 génu. Reguluje morfológiu buniek a organizáciu cytoskeletu prostredníctvom zvýšenej K-Ras aktivity a signálnej dráhy MAPK, tým dochádza k zvýšeniu proliferácie a útlmu apoptotických procesov (22). Tento gén je down-regulovaný v prípade nefunkčnosti NF- κ B (nuclear factor kappaB). NF- κ B je multiproteínový komplex, ktorý plní funkciu transkripčného faktora a riadi génovú expresiu hlavne antiapoptotických génov, cytokínov a génov pre angiogénu (23). Imunohistochemická analýza nádorového/nenádorového tkaniva štítnej žľazy potvrdila vysokú expresiu RbAP48 v nádorovom tkanive (23). Proteín HYOU1 (Orp150) má dôležitú úlohu pri hypoxii/ischémií a angiogéneze. Hypoxia je známym induktorom rádiorezistencia (24). Zvýšená expresia HYOU1 bola popísaná u nádorových ochoreniach prostaty, močového mechúra a prsu (25). Jeho zvýšená expresia je indikátorom horšej prognózy u invazívneho mamárneho karcinómu (25). Zvýšená expresia JUNB vedie k zvýšeniu proliferácie buniek, k zníženiu apoptózy, synergizuje s NF- κ B (26). Ďalším z identifikovaných génov je MDM4, ktorého proteínový produkt interaguje s proteínom p53. Ribozomálny stres spôsobený narušením syntézy rRNA vyvolá uvoľnenie proteínov z nukleolov, ktoré vyvážajú MDM2, a bránia tak MDM2-riadenej degradácii p53. K aktivácii p53 ribozomálnym stresom je nutná tiež degradácia MDM4 (27). Bunky so zvýšenou expresiou MDM4 sú menej citlivé k aktinomycínom-D indukovanej zástave bunkového cyklu vďaka tvorbe MDM4-p53 inaktívnych komplexov. Tento efekt bol pozorovaný *in vivo* u myši, kde zvýšená

Tab. 3. Súhrn najdôležitejších štúdií, ktoré sa zaoberali predikciou odpovede na neoadjuvantnú liečbu u pacientov s lokálne pokročilým nádorom konečníka pomocou číbovej analýzy (podľa 35)

Štúdia	TRG	počet pac.	skupiny pc	RT (Gy)	CHT	počet „predictor genes“	predikcia k vzťahená k parametru:	presnosť predikcie
Ghadimi, 2005	DW	30	R:TRG3-4 (16) NR:TRG1-2 (14)	50,4	FUc	54	T-level downsizing	83 %
Watanabe, 2006	JCCC	52	R:G2-3 (13) NR:G0-1 (39)	50,4	žiadna	33	Tumor response	88,6 %
Kim, 2007	DW	46	CR:TRG4 (15) PR:TRG1-3 (31)	50,4	FUb/CA	95	Tumor regression	84 %

TRG – Tumor Regression Grade, DW – TRG podľa Dworaka (36), JCCC – TRG podľa Japanese classification of colorectal carcinoma (37), R – respondéry, NR – nonrespondéry, G – grade, PR – parciálna odpoveď, CR – kompletná odpoveď, RT – rádioterapia, CHT – chemoterapia, FUc – 5-FU podávaný kontinuálne, FUb – 5-FU podávaný ako bolus, CA – kapecitabín, „predictor genes“ – počet génov, ktoré boli rozdielne exprimované v skupine R/NR

expresia MDM4 bola spojená s rezistenciou na 5-fluorouracil (27). Kalnexín je membránový proteín endoplazmatického retikula (ER), s vysokou afinitou k vápenatým iónom, ktorý sa zásadným spôsobom podieľa na regulácii indukcie apoptózy na základe ER stresu (28). Metaloproteínázy a ich inhibítory sa všeobecne zúčastňujú procesu metastázovania nádorového ochorenia. Menšia expresia MMP-2 (gelatináza A) je spojená s lepšou odpoveďou na neoadjuvantnú chemorádioterapiu u pacientov s nádormi dutiny ústnej (29). Zvýšená plazmatická hladina MMP-2 (30) i zvýšená expresia MMP-2 v nádorovom tkanive u pacientov s kolorektálnym karcinómom koreluje s horším prežívaním a väčším rizikom vzniku vzdialených metastáz (31). TF7L2 (TCF-4) je dôležitou súčasťou Wnt/ β -katenínovej signálnej dráhy. TCF/ β -katenínový komplex je spojený s trvalou aktiváciou Wnt signálnej dráhy, ktorá sa zúčastňuje regulácie transkripcie predovšetkým génov, ktoré sú nutné pre proliferáciu bunky a génov s antiapoptotickou funkciou, napr. c-myc, cyklín D1 (32).

V tabuľke 3 sú zhrnuté najdôležitejšie štúdie, ktoré pomocou číbovej analýzy identifikovali gény, ktorých nádorová expresia sa líšila medzi skupinami pacientov s lokálne pokročilým karcinómom konečníka, ktorí odpovedali na neoadjuvantnú liečbu a ktorí boli k nej rezistentní. Ghandimi et al. analyzovali profil génovej expresie 30 pacientov, na 23 vzorkách identifikoval 54 génový prediktor liečebnej odpovede, ktorý overil na validačnej skupine 7 pacientov s citlivosťou 78 % a špecificitou 83 % (33). Watanabe et al. analyzovali génovú expresiu u 52 pacientov, identifikovali 33 génov, ktoré označili za prediktívne k odpovedi na rádioterapiu (34). Kim et al. pracovali so 46 pacientmi, identifikovali rozdiel v nádorovej expresii 95 génov medzi jednotlivými skupinami pacientov (35).

Pomocou nízko hustotných oligonukleotidových čípo v sme identifikovali 8 génov; ich zvýšená expresia je asociovaná s rezistenciou k neoadjuvantnej chemorádioterapii. Po rozšírení nášho súboru pacientov a po validácii výsledkov na úrovni mRNA metódou qRT-PCR a imunohistochemicky na proteínovej úrovni, by tieto sady génov mohli slúžiť nielen k rozšíreniu poznatkov o molekulárnej podstate nádorovej invazivity, diseminácie, chemorezistencie a rádiorezistencie, ale súčasne byť tiež jedným z krokov vedúcich smerom

k individualizácii terapie pacientov s lokálne pokročilým karcinómom rekta.

Skratky

CT	– počítačová tomografia
ER	– endoplazmatické retikulum
Gy	– gray
IUCC	– International Union Against Cancer
MR	– magnetická rezonancia
mRNA	– messenger RNA
NF- κ B	– nuclear factor kappa B
NR	– nonrespondéry
5-FU	– 5-fluorouracil
R	– respondéry
RNA	– ribonukleová kyselina
qRT-PCR	– kvantitatívna PCR v reálnom čase
TRG	– tumor regression grade
TRUS	– transrektálna ultrasonografia

LITERATÚRA

1. Rimkus, C., Friederichs, J., Boulesteix, A. et al.: Microarray-based prediction of tumor response to neoadjuvant radiochemotherapy of patients with locally advanced rectal carcinoma. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2008, 6, s. 53–61.
2. Kocáková, I., Růžičková, J., Kocák I. et al.: Role of concomitant chemoradiotherapy in the treatment algorithm for rectal carcinoma. *Čas. Lék. čes.*, 2003, 142 (Suppl. 1), s. 32–35.
3. Sauer, R., Becker, H., Hohenberger, W. et al.: Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N. Eng. J. Med.*, 2004, 351, s. 1731–1740.
4. Kapiteijn, E., Marijnen, C., Nagtegaal, I. et al.: Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N. Eng. J. Med.*, 2001, 345, s. 638–646.
5. Bosset, J., Collette, L., Calais, G. et al.: Chemotherapy with preoperative radiotherapy in rectal cancer. *N. Eng. J. Med.*, 2006, 355, s. 1114–1123.
6. Gerard, J., Conroy, T., Bonnetain, F. et al.: Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil with leucovorin in T3–4 rectal cancers: results of FFC9203. *J. Clin. Oncol.*, 2006, 24, s. 4620–4625.

7. **Yerushalmi, R., Idelevich, E., Dror, Y. et al.:** Preoperative chemoradiation in rectal cancer: retrospective comparison between capecitabine and continuous infusion of 5-fluorouracil. *J. Clin. Oncol.*, 2006, 93, s. 529–533.
8. **Ortholan, C., Francois, E., Thomas, O. et al.:** Role of radiotherapy with surgery for T3 and resectable T4 rectal cancer: evidence from randomized trials. *Dis. Colon Rectum*, 2006, 49, s. 302–310.
9. **Kim, D., Kim, D., Kim, T. et al.:** Is T classification still correlated with lymph node status after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer? *Cancer*, 2006, 106, s. 1694–700.
10. **Theodoropoulos, G., Wise, W., Padmanabhan, A. et al.:** T-level downstaging and complete pathological response after preoperative chemoradiation for advanced rectal cancer result in decreased recurrence and improved disease-free survival. *Dis. Colon Rectum*, 2002, 45, s. 895–903.
11. **Kocáková, I., Svoboda M., K., Kubosova, K. et al.:** Preoperative radiotherapy and concomitant capecitabine treatment induce thymidylate synthase and thymidine phosphorylase mRNAs in rectal carcinoma. *Neoplasma*, 2007, 54, s. 447–453.
12. **Merkerová, M., Kráčmarová, A., Bručová, H. et al.:** Využití biočipových technologií v onkologii. *Klin. Onkol.*, 2006, 19 (Suppl. 2), s. 333–337.
13. **Brdička, R., Bručová, H. et al.:** Vznik a rozmach čipových technologií. *Klin. Onkol.*, 2006, 19 (Suppl. 2), s. 331–332.
14. **Svoboda, M., Michálek, J. et al.:** Úvod do technologie DNA čipů. *Lékař a technika*, 2006, 35, s. 67–75.
15. **Mandard, A., Dalibard, F., Mandard, J. et al.:** Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of oesophageal carcinoma: Clinicopathologic correlations. *Cancer*, 1994, 73, s. 2680–2686.
16. **Schroeder, A., Mueller, O., Stocker, S. et al.:** The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements. *BMC Mol. Biol.*, 2006, 7, s. 3–13.
17. **Dudoit, S., Gentleman, R., Quackenbush, J. et al.:** Open source software for the analysis of microarray data. *Biotechniques*, 2003 (Suppl.), s. 45–51.
18. **Kooperberg, C., Sipione, S., LeBlanc, M. et al.:** Evaluating test statistics to select interesting genes in microarray experiments. *Hum. Mol. Genet.*, 2002, 11, s. 2223–2232.
19. **Slabý, O., Garajová, I., Svoboda, M. et al.:** Pilotní studie identifikace prognostických markerů u pacientů s kolorektálním karcinomem analýzou profilů genové exprese. *Klin. Onkol.*, 2006, 19 (Suppl. 2), s. 402–407.
20. **Slabý, O., Garajová, I., Svoboda, M. et al.:** Studium patogeneze kolorektálních karcinomů pomocí profilů genové exprese a možnosti jejich využití v diagnostické a prediktivní onkologii. *Klin. Onkol.*, 2006, 19 (Suppl. 2), s. 382–388.
21. **Clemo, N., Arhel, N., Barnes, J. et al.:** The role of the retinoblastoma protein (Rb) in the nuclear localization of BAG-1: implications for colorectal tumour cell survival. *Biochem. Soc. Trans.*, 2005, 33, s. 676–678.
22. **Scuto, A., Zhang, H., Zhao, H. et al.:** RbAp48 regulates cytoskeletal organization and morphology by increasing K-Ras activity and signaling through mitogen-activated protein kinase. *Cancer Res.*, 2007, 67, s. 10317–10324.
23. **Pacifico, F., Paolillo, M., Chiapetta, G. et al.:** RbAp48 is a target of nuclear factor-kappaB activity in thyroid cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2007, 92, s. 1458–1466.
24. **Wardman, P.:** Chemical radiosensitizers for use in radiotherapy. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)*, 2007, 19, s. 397–417.
25. **Stojadinovic, A., Hooke, J., Shriver, C. et al.:** HYOU1/Orp150 expression in breast cancer. *Med. Sci. Monit.*, 2007, 13, s. 231–239.
26. **Mathas, S., Hinz, M., Anagnostopoulos, I. et al.:** Aberrantly expressed c-Jun and JunB are a hallmark of Hodgkin lymphoma cells, stimulate proliferation and synergize with NF-B. *Embo J.*, 2002, 21, s. 4104–4113.
27. **Gilkes, D., Chen, L., Chen, J. et al.:** MDMX regulation of p53 response to ribosomal stress. *Embo J.*, 2006, 25, s. 5614–5625.
28. **Delom, F., Fessart, D., Chevet, E. et al.:** Regulation of calnexin sub-cellular localization modulates endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in MCF-7 cells. *Apoptosis*, 2007, 12, s. 293–305.
29. **Arenas-Huertero, F., Herrera-Goepfert, R., Delgado-Chavez, R. et al.:** Matrix metalloproteinases expressed in squamous cell carcinoma of the oral cavity: correlation with clinicopathologic features and neo-adjuvant chemotherapy response. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 1999, 18, s. 279–284.
30. **Angenete, E., Langenskiöld, M., Falk, P. et al.:** Matrix metalloproteinases in rectal mucosa, tumour and plasma: response after preoperative irradiation. *Int. J. Colorectal Dis.*, 2007, 22, s. 667–674.
31. **Hilka, M., Roberts, P., Collan, Y. et al.:** Prognostic significance of matrix metalloproteinases-1,-2,-7 and -13 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1,-2,-3 and -4 in colorectal cancer. *Int. J. Cancer*, 2007, 15, s. 714–723.
32. **Burwinkel, B., Shanmugam, K., Hemminki, K. et al.:** Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) variant is associated with familial breast cancer risk: a case control study. *BMC Cancer*, 2006, 6, s. 268–271.
33. **Ghadimi, B., Grade, M., Difilippantonio, M. et al.:** Effectiveness of gene expression profiling for response prediction of rectal adenocarcinomas to preoperative chemoradiotherapy. *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23, s. 1826–1838.
34. **Watanabe, T., Komuro, Y., Kiyomatsu, T. et al.:** Prediction of sensitivity of rectal cancer cells in response to preoperative radiotherapy by DNA microarray analysis of gene expression profiles. *Cancer Res.*, 2006, 66, s. 3370–3374.
35. **Kim, I., Lim, S., Kang, H. et al.:** Microarray gene expression profiling for predicting complete response to preoperative chemoradiotherapy in patients with advanced rectal cancer. *Dis. Colon Rectum*, 2007, 50, s. 1342–1353.
36. **Dworak, O., Keilholz, L., Hoffman, A. et al.:** Pathological features of rectal cancer after preoperative radiochemotherapy. *Int. J. Colorectal Dis.*, 1997, 12, s. 19–23.
37. **Response assessment of nonsurgical treatment for colorectal carcinoma. Japanese classification of colorectal carcinoma. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. 1st English ed.** Tokyo, Kanehara & Co. Ltd, 1997, s. 77–82.

Práce bola podporená grantom IGA MZ ČR NR/9076-4.

PŮVODNÍ PRÁCE

Poruchy chování u sedmiletých dětí – výsledky studie ELSPAC

3. Vývoj v období po narození*

¹Kukla L., ²Hrubá D., ³Tyrlík M., ²Matějová H.

¹Výzkumné pracoviště preventivní a sociální pediatrie LF MU, Brno

²Ústav preventivního lékařství LF MU, Brno

³Psychologický ústav FF MU, Brno

ABSTRAKT

Východisko. V prospektivní longitudinální studii ELSPAC (European Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood) byly při pediatrickém vyšetření kohorty 6100 dětí v jejich 7. roce života diagnostikovány poruchy chování u 4,4 % dětí.

Metody a výsledky. Děti trpěly úporným negativismem, agresivitou, neschopností soustředění, nepřiměřenými reakcemi, projevy hyperaktivity, známkami poruch psychomotorického vývoje, opožděním školní zralosti a poruchami spánku, horším školním prospěchem a sociální přizpůsobivostí. První rozlišení v četnosti markerů poruch chování se projevovalo už v 18. měsíci a ve 3 letech věku. Do rutinní praxe dětských lékařů by měla být zařazena dostupná kritéria pro orientační posouzení možných poruch chování a děti se suspektním pozitivním nálezem by měly být předány do péče specializovaných dětských psychologů či psychiatrů už v batolecím věku.

Závěry. Možné kauzální vztahy mezi prenatální expozicí nikotinu a pozdějšími poruchami chování jsou dalším důvodem pro zvýšenou primárně preventivní aktivitu gynekologů zaměřenou na nekouření těhotných žen.

Klíčová slova: poruchy chování v dětství, prospektivní vývoj prevalence, ELSPAC, prenatální expozice tabákovému kouři.

ABSTRACT

Kukla L., Hrubá D., Tyrlík M., Matějová H.: Conduct Disorders in Seven-year-old Children – Results of ELSPAC Study. 3. Postnatal Development

Background. In the European Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood (ELSPAC), the pediatric observation of the cohort of 6100 7-year-old children described 4.4% of them as having conduct disorders.

Methods and Results. The predominant markers such as strong negativism, aggressivity, attention deficit, non-adequate reactions, hyperactivity, disorders of psychomotoric development, school maturation delay, poorer school results and social adaptation described children behavioral problems. The first signs of conduct disorders were often discovered already at the 18th month and the 3rd year of children's age. The acceptance of standardized criteria of possible conduct disorders in the routine pediatric practice, and the special psychologic and/or psychiatric care for children with the confirmed diagnosis should be recommended as soon as in their toddler age.

Conclusions. Possible causal associations between prenatal exposure to nicotine and conduct disorders in childhood are another strong reason for the primary prevention and smoking cessation in antenatal clinics.

Key words: conduct disorders in childhood, prospective development of prevalence, ELSPAC, prenatal exposition of smoking. *Ku.*

Čas. Lék. čes., 2008, 147, pp. 387–391.

*1. Komorbidita: Čas. Lék. čes., 2008, 147, s. 269–277; 2. Rizikové faktory: Čas. Lék. čes., 2008, 147, s. 315–322.

Řada studií dnes vesměs konzistentně dokumentuje, že u dětí prenatálně exponovaných tabákovému kouři vlivem kuřáctví jejich matek v těhotenství se ve zvýšené míře vyskytují různé poruchy chování. Jejich typické projevy bývají specifické pro různý věk sledovaných dětí a jsou dokumentovány od narození do adolescence. Mnohé studie jsou pojaty jako prospektivní a zahrnují kontrolu řady možných matoucích faktorů; dokumentují, že i při jejich standardizaci jsou vztahy poruch chování k prenatální expozici kouření patrné.

Po narození se u prenatálně exponovaných novorozenců popisuje hyperaktivita, zvýšený tonus a třes, a to dokonce i v závislosti na dávce (1). Ve druhém roce života už lze rozpoznat v chování batolat výrazný negativismus, opět častější u dětí narozených kuřáčkám (2). Prenatální expozice také přispívá k výskytu poruch označovaných jako attention – deficit/hyperactivity syndrome (ADHD) (3). V USA zjistili větší potřebu psychiatrické péče kvůli závažným poruchám chování u synů narozených kuřáčkám v době jejich věku mezi 7. a 12. rokem (4). Pravděpodobně největší zájem vzbudila studie finských autorů (5) popisující vztahy mezi kouřením matek v těhotenství a zvýšenou kriminalitou jejich synů v mladém dospělí.

Mnozí autoři, ve snaze eliminovat možný faktor menší tolerantnosti kuřáček k chování jejich dětí, zahrnují do studií i hodnocení lékařů a učitelů (6). Z těchto studií máme informace o souvislostech mezi prenatální expozicí cigaretovému kouři a častějším výskytem horších výsledků, kterými se testuje inteligence a školní prospěch dětí (2), častější nutnost opakování první třídy či indikace pozdějšího nástupu do školy (7). I když výsledky studia vlivu prenatální expozice kouření nejsou u kognitivních schopností tak jednoznačné jako u problémů s chováním a významnost některých se ztrácí po standardizaci matoucích faktorů, hypotézu kauzálních souvislostí podporují zjišťované rozdíly mezi exponovanými a neexponovanými sourozenci (8) a také to, že poškozující účinky jsou menší či zcela nepřítomné u dětí, jejichž matky kouření v době těhotenství zanechaly (9).

V prospektivní longitudinální studii ELSPAC (European Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood) byly při lékařském vyšetření kohorty 6100 dětí z Brna a okresu Znojmo v jejich 7. roce života diagnostikovány poruchy chování u 4,4 % dětí, častěji u chlapců. Diagnóza se opírala o přítomnost 4 znaků: úporný negativismus, agresivita, neschopnost soustředění, nepřiměřené reakce. Děti s uvedenými znaky poruch chování měly podle zpráv lékařů i častěji výrazné projevy hyperaktivity, známky poruch psychomotorického vývoje, opoždění školní zralosti a poruchy spánku. Četné znaky poruch chování uváděly o těchto dětech i jejich matky. Zhruba třetina z celého souboru dětí ELSPAC dosáhla v roce této etapy šetření 8. roku věku: O těchto dětech podali údaje jejich učitelé. Potvrdili častější horší prospěch, zejména v matematice a čtení, horší sociální přizpůsobivost, která výrazně narušuje proces vyučování v celé třídě (10).

Z možných rizikových faktorů, které mohly ovlivnit výskyt poruch chování, nejvýrazněji dominovala nižší průměrná tělesná hmotnost při narození a nižší průměrný obvod hlavičky, signifikantně gradující u dětí, u nichž se vyskytly všechny 4 sledované markery poruch chování ve srovnání s dětmi s menšími problémy a s dětmi bez poruch chování. Matky problémových dětí častěji kouřily během celého těho-

tenství, popisovaly častěji různé psychologické problémy během jejich dětství i v dospělém věku. Otcové postižených dětí měli častěji konflikty se zákonem. Rodiče dětí s poruchami chování měli častěji jen základní vzdělání (11).

Tato práce se zaměřila na hodnocení, zda poruchy chování zjištěné v 7. roce věku bylo možno predikovat i v mladším věku.

POUŽITÉ METODY

V anamnestických dotaznících, které vyplňovali lékaři a matky v různých etapách věku dítěte, byly i znaky popisující chování dětí. Pro 3 skupiny dětí podle absence či přítomnosti poruch chování v 7. roce života (bez poruch chování = 1. skupina, s jedním až dvěma znaky poruch chování = 2. skupina, se třemi až čtyřmi znaky poruch chování = 3. skupina) byl hodnocen výskyt poruch chování v období:

- 6 týdnů po narození,
- 6 měsíců po narození,
- 18 měsíců po narození,
- ve 3. roce života.

Rozdíly byly hodnoceny Pearsonovým χ^2 a Fisherovým testem a poměrem pravděpodobností.

VÝSLEDKY

V období bezprostředně po narození se výpovědi matek o chování jejich dětí v podstatě nelišily (tab. 1). Zajímavá se zdá být informace o tom, že matka v poporodním období ještě nenašla silný vztah ke svému dítěti. Ta se častěji vyskytovala ve 3. skupině dětí (s pozdějšími největšími problémy), ale jde o efekt malých čísel. První rozlišení v četnosti signálů o možných poruchách chování je patrné při vyšetření v 18. měsíci věku, kdy silné emotivní reakce byly častěji pozorovány zejména ve skupině dětí s pozdějšími závažnějšími projevy poruch chování. Také ve 3. roce věku už bylo možno usuzovat na možné pozdější problémy s chováním.

Při šetřeních ve věku dětí 18 měsíců i 3 roky vyjadřovaly matky dětí z obou skupin s pozdějším problémovým chováním častěji znepokojení nad stavem řeči, chováním a celkovým vývojem dítěte (tab. 2). Podle frekvence jednotlivých znaků charakterizujících chování, schopnosti vyjadřování i motorické dovednosti byly tyto obavy odůvodněné (12).

Z výpovědí matek lze také usuzovat, že v prvních týdnech života měly děti s pozdějšími problémy chování méně výchovných podnětů (tab. 3).

DISKUZE

Problémové chování v dětském věku je popisováno jako jev, který postihuje až 10 % populace. Jednotlivé studie, zejména starší, bývají obtížně srovnatelné, neboť chybí jednotná kritéria pro posuzování chování. V současnosti sice určité jednotné principy existují, nicméně jsou rozdíly mezi metodickými pokyny v Evropě a v USA (13).

V posledních 30 letech bylo publikováno mnoho prací, které se věnují problematice poruch označovaných jako

Tab. 1. Hodnocení dětí matkami v různém období jejich života (%)

Znaky chování	skupiny		
	1	2	3
počet dětí ve skupinách	5825	187	88
	s koncem šestinedělí		
dítě mi připadá zlostné	10,1	12,2	0,0
dítě mi připadá tvrdohlavé	12,6	13,4	0,0
své dítě ještě plně nemiluji	0,8	1,5	10,0
	ve věku 6 měsíců		
dítě obvykle vnímá hračku méně než minutu	20,0	25,0	33,3
dítě nikdy nevnímá hračku déle než 10 minut	18,6	23,2	33,3
	ve věku 18 měsíců		
dítě mívá časté výbuchy hněvu	26,4	35,1*	44,4**
dítě často silně reaguje, když se mu něco nezdaří	34,2	38,7	22,2
dítě často silně reaguje na zklamání	30,0	40,0*	44,4**
dítě často silně reaguje, když nemůže dokončit hru	31,0	32,6	22,2
u dítěte jsou často neobvyklé projevy chování	2,7	6,6	44,4***
dítě se často neúčelně pohybuje (kývá hlavou, tělem)	12,4	15,4	44,4**
dítě se často/vždy snadno rozčílí	25,4	38,9**	33,3**
dítě při rozčilení často/vždy velmi silně reaguje	40,5	52,1*	88,8***
	ve věku 3 let		

Statistická významnost: (rozdílů mezi skupinou dětí bez problémů a skupinami dětí s problémy) * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$

Tab. 2. Celkové hodnocení dítěte matkou (%)

Znak	věk	skupiny		
		1	2	3
matka je znepokojena vývojem řeči u dítěte	18 měs.	11,7	22,6*	22,2*
	3 roky	15,4	33,0*	44,4***
matka je znepokojena vývojem chování dítěte	18 měs.	5,5	10,9	66,6***
	3 roky	14,8	29,3*	44,4***
matka je znepokojena celkovým vývojem dítěte	18 měs.	1,5	7,6	22,2**
	3 roky	2,4	4,1	55,5***

Statistická významnost: (rozdílů mezi skupinou dětí bez problémů a skupinami dětí s problémy) * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$

Tab. 3. Péče věnovaná dítěti v časném období po narození – do věku 6 týdnů (%)

Znak	skupiny		
	1	2	3
matka ještě nic dítě neučí	13,4	27,6	22,2
matka se často snaží dítě něčemu učit	58,3	50,7	33,3***
matka často/stále na dítě hovoří	91,7	92,6	88,8*
matka si s dítětem denně hraje	91,5	88,9*	88,8*
otec si s dítětem denně hraje	66,5	64,9	44,4*

Statistická významnost: (rozdílů mezi skupinou dětí bez problémů a skupinami dětí s problémy) * = $p < 0,05$, *** = $p < 0,001$

„attention deficit hyperactivity disorders“ (ADHD – podle diagnostických kritérií USA), resp. hyperkinetické poruchy (podle diagnostických kritérií WHO) (14). Klíčovými symptomy onemocnění jsou hyperaktivita, impulzivnost a nepozornost. U postižených osob je zvýšené riziko progresu, zejména rozvoje dalších symptomů poruch chování, užívání návykových látek, výskyt stavů deprese, úzkosti a poruchy učení. Komorbiditou může být postiženo 50–80 % pacientů s ADHD (15).

Asi 25–50 % pacientů s ADHD mívá závažné problémy se spánkem, v určité době byly dokonce poruchy spánku zahrnuty mezi diagnostická kritéria ADHD. Častá komorbidita těchto dvou poruch musí být brána v úvahu, neboť chronické

poruchy spánku mohou výrazně ovlivnit klinickou manifestaci symptomatologie ADHD a naopak – léčebné prostředky užívané u pacientů s ADHD mohou negativně působit na kvalitu jejich spánku (16).

Uvedená komorbidní symptomatologie se projevila i v kohortě českých dětí ELSPAC při jejich vyšetření ve věku 7 let – s výjimkou užívání návykových látek, které je pro tuto věkovou skupinu ještě netypické.

Současní odborníci se shodují na tom, že poruchy chování, označované jako ADHD jsou polykauzální. U postižených osob jsou diagnostikovány dysfunkce v prefrontální a striální oblasti mozku a snížená aktivita dopaminergního, noradrenergního a i serotoninového systému; tyto změny

jsou pravděpodobně dědičné. K nim přistupují vlivy biologické a sociální: rodiny, školy, společnosti (17).

Některé formy ADHD by podle posledních genetických studií mohly být rozpoznány pomocí biochemických a genetických markerů. Za tzv. kandidátské geny jsou pokládány geny dopaminových a serotoninových transportérů a receptorů. Z biochemických ukazatelů bývá zvýšená hladina noradrenalinu u pacientů ADHD, postižených současně dyslexií a poruchami chování, naopak snížení hladin serotoninu se vyskytuje u hyperkinetického syndromu a osob s impulzivním chováním (14).

Více než 30 let byla diagnostika ADHD téměř výlučně soustředěna na území USA, částečně i Kanady. V ostatních zemích byla hyperaktivita pokládána spíše za průvodní jev nebo následek některých dětských nemocí (18). Až v posledním desetiletí minulého století byla diagnostika ADHD akceptována globálně na celém světě. Zdá se, že výskyt onemocnění má vzestupný trend, což však může být ovlivněno jednak tím, že se k diagnostice soustřeďuje větší pozornost, jednak i tím, že poruchy, které by se za příznivějších podmínek vyskytovaly jen v latentní formě, přejdou do akutního stadia pod tlakem rodinného, školního a společenského prostředí, v němž se vyskytují četné zátěžové situace (19). Tuto hypotézu potvrzují naše výsledky naznačující vzestupný trend prevalence známek poruch chování v průběhu předškolního období. Vzhledem k prospektivnímu aranžmá studie ELSPAC bude trend ve vývoji chování dětí sledován při analýze dalších etap vyšetření.

V této souvislosti vyvstávají dvě zásadní otázky:

1. Zda poruchy zjištěné v dětství přetrvávají do dospělého věku a zda mohou progredovat?
2. Jak toto onemocnění léčit?

Odpověď na první otázku souvisí s diagnostikou ADHD, která je v praxi stále nejčastěji založena na subjektivním posuzování a hodnocení problémů, které mají děti doma, či ve škole. Nebývají podchyceny okolnosti provázející problémy s učením či chováním, jako jsou chyby rodičů, učitelů, vliv televize či počítačových her, dezintegrace rodiny či širší společnosti, v níž dítě žije. Tyto a další okolnosti působí různě v různých obdobích života a mohou průběh příznaků pozitivně i negativně ovlivňovat (20).

Přestože se onemocnění pokládá za neurologickou poruchu a v některých studiích byly nalezeny určité objektivní znaky a odchylky, není v současné době definován výčet objektivních klinických testů a diagnostických kritérií. To umožňuje, že v podstatě kterékoliv dítě, mající konflikt s rodiči nebo školou, může být pokládáno za nemocné, přičemž diagnózu obvykle stanoví praktický lékař během několika minut na základě výpovědi rodičů. Lze proto předpokládat, že alespoň u části osob s diagnózou ADHD, u nichž poruchy nemají podklad v organické poruše, se v průběhu života může symptomatologie zmírnit až vytratit. Tyto okolnosti vystupují do popředí i proto, že děti s diagnózou ADHD bývají pokládány za rizikové jednak ve smyslu postižení stávající výkonnosti, jednak z možného dalšího vývoje do typu dospělé „maligntní osobnosti“.

Ve studii ELSPAC byly údaje o možných markerech poruch motorického vývoje i chování analyzovány rovněž podle kuřáctví jejich matek během těhotenství a po narození dítěte: podle možných kombinací prenatální a postnatální expozice byly vytvořeny 4 skupiny:

1. děti nikdy neexponované,
2. děti exponované až postnatálně,
3. děti exponované jen prenatálně a
4. děti exponované před i po narození.

Výskyt ukazatelů možných poruch psychického a motorického vývoje byl sledován ve 3 a v 5 letech věku dětí. Statisticky významné rozdíly (vyšší frekvence ukazatelů motorických a psychických poruch) se vyskytly při porovnání s dětmi neexponovanými pouze u dětí s prenatální expozicí (tj. u skupin 3 a 4). Naopak, frekvence výpovědi kuřáček a nekuřáček, které v těhotenství nekouřily (skupiny 1 a 2), byla obdobná. Rozdíly v údajích matek, které kouřily během těhotenství, ale měly rozdílné kuřácké chování po narození dítěte (mezi skupinami 3 a 4), byly rovněž většinou statisticky nevýznamné (20).

Nedostatek spolehlivých diagnostických kritérií je závažný pro rozhodování o léčbě, k níž se používají amfetaminy. Jde o látky potenciálně návykové, a tak je určité riziko, že budou podávány za účelem modifikace chování i zcela zdravým dětem, u nichž pak vznikne závislost. Výskyt závislosti dospělých jako důsledek léčby amfetaminem v dětství byl skutečně již prokázán (21).

V experimentálních studiích se podávání amfetaminů projevilo následným vývojem chronických poruch chování a kognitivních funkcí (21). U dětí léčených amfetaminem se častěji vyskytují deprese (22). V této souvislosti se nabízí hypotéza, že častá komorbidita poruch chování u pacientů s ADHD by mohla být alespoň zčásti vyvolána amfetaminovou léčbou. Kromě amfetaminů bývají užívány i léky ze skupiny neuroleptik, které mohou vyvolávat dyskineze (u 5 až 7 % dospělých pacientů užívajících léky 1 rok, u 25–35 % pacientů užívajících léky po dobu 5 let) (22).

V přehledu literatury chybí dlouhodobé prospektivní studie, které by hodnotily, zda u ADHD jsou splněna základní kritéria pro používání léčebných metod: Aby byly bezpečné a aby zajistily, že nemoc vlivem léků nebude progredovat. Vyskytují se dokonce vyhraněné kritické názory, že onemocnění ADHD bylo vykonstruováno Americkou psychiatrickou asociací (APA) jen proto, aby se legalizovalo užívání drog typu amfetaminů pro usměrnění dětského chování (21).

ZÁVĚR

Ve studii ELSPAC jsme potvrdili, že znaky problémového chování diagnostikovaného v 7. roce se u většiny postižených dětí vyskytovaly už v batolecím věku. Diagnostika poruch chování se ve studii opírá o anamnestické výpovědi rodičů, které vyhodnocují spolupracující lékaři; vyšetření objektivních markerů zahrnuje není. Dosavadní výsledky naznačují, že do rutinní praxe dětských lékařů by měla být zařazena dostupná kritéria umožňující alespoň orientační posouzení možných poruch chování a děti se suspektním pozitivním nálezem by měly být předány do péče specializovaných dětských psychologů či psychiatrů. Za děti se zvýšeným rizikem by měly být pokládány děti s prenatální růstovou retardací, především pak ty, jejichž matky během těhotenství kouřily. Lze předpokládat, že včasné upřesnění diagnózy a usměrňování výchovných postupů specialisty sníží výskyt poruch chování na případy, u nichž jsou příčinou organické poruchy.

Zdá se, že v krátké době bude nikotin široce akceptován odbornou veřejností jako humánní neuroteratogen. Možné kauzální vztahy mezi prenatální expozicí nikotinu a pozdějšími poruchami chování jsou dalším důvodem pro zvýšenou primárně preventivní aktivitu gynekologů zaměřenou na nekouření těhotných žen.

Zkratky

ADHD – attention – deficit/hyperactivity syndrome
 APA – Americká psychiatrická asociace
 ELSPAC – European Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood

LITERATURA

- Denson, R., Nanson, J. L., McWalter, M. S.:** Hyperkinesia and maternal smoking. *Can. Psychiatr. Assoc. J.*, 1975, 20, s. 183–187.
- DiFranza, J. R., Aligne, C. A., Weitzman, M.:** Prenatal and postnatal environmental tobacco smoke exposure and children's health. *Pediatrics*, 2004, 113, s. 1007–1013.
- Milberger, S., Biederman, J., Faraone, S. et al.:** Is maternal smoking during pregnancy a risk factor for attention-deficit hyperactivity disorders in children? *Am. J. Psychiatry*, 1996, 153, s. 1138–1142.
- Wakschlag, L. S., Lahey, B. B., Lober, R. et al.:** Maternal smoking during pregnancy and the risk of conduct disorders in boys. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1997, 83, s. 670–680.
- Rantakallio, P., Laara, E., Isohanni, M., Moilanen, I.:** Maternal smoking during pregnancy and delinquency of the offsprings: an association without causation? *Int. J. Epidemiol.*, 1992, 21, s. 1106–1113.
- Fergusson, D. M., Horwood, L. J., Lynskey, M. T.:** Maternal smoking before and after pregnancy: effects on behavioral outcomes in middle childhood. *Pediatrics*, 1993, 92, s. 815–822.
- Byrd, R., Weitzman, M.:** Predictors of early grade retention among children in United States. *Pediatrics*, 1994, 93, s. 481–487.
- Fergusson, D. M., Lloyd, M.:** Smoking during pregnancy and its effect on child cognitive ability from the ages 8 to 12 years. *Pediatr. Perinat. Epidemiol.*, 1991, 5, s. 189–200.
- Olds, D. L., Henderson, C. R. jr., Tatelbaum, R.:** Prevention of intellectual impairment in children of women who smoke cigarettes during pregnancy. *Pediatrics*, 1994, 93, s. 228–233.
- Kukla, L., Hrubá, D., Tyrlik, M., Matějová, H.:** Poruchy chování u sedmiletých dětí – výsledky studie ELSPAC. 1. Komorbidita. *Čas. Lék. čes.*, 2008, 147, s. 215–221.
- Kukla, L., Hrubá, D., Tyrlik, M., Matějová, H.:** Poruchy chování u sedmiletých dětí – výsledky studie ELSPAC. 2. Rizikové faktory. *Čas. Lék. čes.*, 2008, 147, s. 315–322.
- Kukla, L., Hrubá, D., Tyrlik, M.:** Některé aspekty rodinného prostředí českých dětí. Výsledky studie ELSPAC. *Čes.-slov. Pediatr.*, 2006, 61, s. 357–364.
- Paclt, I., Florian, J.:** Hyperaktivní porucha (ADHD): pokroky v kognitivním, neurobiologickém a genetickém výzkumu. *Čs. Pediatr.*, 1999, 54, s. 503–508.
- Paclt, I., Koudelková, J., Křepelová, A. et al.:** Biochemical markers and genetic research of ADHD. *Neuroendocrinology Letters*, 2005, 26, s. 423–430.
- Jensen, P. S., Martin, B. A., Cantwell, D. P.:** Comorbidity in ADHD: Implications for research, practice and DSM – IV. *J. Amer. Acad. Child Adolesc. Psychiatr.*, 1997, 36, s. 1065–1079.
- Owens, J. A.:** The ADHD and sleep conundrum: a review. *J. Dev. Behav. Pediatr.*, 2005, 26, s. 312–322.
- Linnet, K. M., Dalsgaard, S., Obel, G. et al.:** Maternal life-style factors in pregnancy risk of Attention deficit hyperactivity disorders and associated behaviors: review of the current evidence. *Am. J. Psychiatry*, 2003, 160, s. 1028–1040.
- Barkley, R. A.:** Attention-deficit hyperactivity disorder: A handbook for diagnosis and treatment. New York, Guilford Press, 1998.
- Faraone, S. V., Biederman, J., Krifcher, B. et al.:** Evidence for the independent familiar transmission of attention deficit hyperactivity syndrome and learning disabilities: Results from a family genetic study. *Amer. J. Psychiatr.*, 1993, 150, s. 891–895.
- Kukla, L., Hrubá, D., Tyrlik, M.:** Kouření matek v těhotenství ve vztahu k poruchám psychického a motorického vývoje dětí ve věku 3 a 5 let. *Psychológia a patopsychológia dieťaťa*, 2006, 41, s. 39–49.
- Kean, B.:** The risk society and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): A critical social research analysis concerning the development and social impact of the ADHD diagnosis. *Ethical Human Psychology and Psychiatry*, 2005, 7, s. 131–142.
- Breggin, P. R.:** A critical analysis of the NIMH multimodal treatment study for attention-deficit/ hyperactivity disorder (The MTA study) *Ethical Human Science and Services*, 2000, 2, s. 63–71.

Tato práce byla napsána s podporou grantu IGA MZ ČR č. NR 8791–2/2006.

KAZUISTIKA

Je stanovení sérového kreatininu vždy věrohodné? Úskalí preanalytické fáze

Kotaška K., Jedličková B., Průša R.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FNM, Praha

SOUHRN

Kreatinin je stanovován v séru a v moči chemickými a enzymovými metodami. Chemické metody jsou založené na reakci kreatininu s kyselinou pikrovou v alkalickém prostředí (Jaffého reakce). Stanovení ruší řada interferujících látek (kyselina askorbová, bilirubin, bílkoviny, ketony, cefalosporiny a jiné léky). Chemické i enzymatické metody stanovení mají srovnatelnou přesnost. Enzymatické metody mohou pracovat s menším objemem vzorku, jsou dražší než chemické metody a nejsou tak náchylné k interferencím. Kazuistika popisuje neobvyklý případ lékové interference s enzymatickou kreatindeaminázovou metodou. Významnou roli při stanovení kreatininu hrají biologické vlivy (denní rytmus, těhotenství, hemodialýza, transplantace, stres, nadměrné cvičení), analytické a preanalytické interference (pH, glukóza, pyruvát, bilirubin, mastné kyseliny, vliv skladování a gelových separátorů). Velký význam hraje i biologická variabilita samotného kreatininu.

Klíčová slova: kreatinin, biologická variabilita, interference.

SUMMARY

Kotaška K., Jedličková B., Průša R.: Is the Assessment of Serum Creatinine Reliable?

Chemical and enzymatic methods are used to measure creatinine in serum and urine. Chemical methods are mostly based on the reaction of creatinine with alkaline picrate (Jaffe reaction). The Jaffe reaction is not specific for creatinine, the same reaction resulting in Jaffe-like chromogens show many interfering substances (ascorbic acid, bilirubin, proteins, ketones, cephalosporins and other drugs). Chemical and enzymatic methods show similar accuracy and day-to-day precision. Chemical methods are cheaper than enzymatic methods. Enzymatic methods require low sample volume and are not affected by the interfering substances as the chemical methods. Presented case report shows an unusual occurrence of drug interference in the enzymatic creatine deaminase procedure. Biological factors (circadian rhythm, pregnancy, hemodialysis, transplantation, stress, exercise), analytical and preanalytical factors (pH, glucose, pyruvate, bilirubin, fatty acids, sample storage and sample collection – gel tubes) and biological variability of creatinine play significant role in the creatinine examination.

Key words: creatinine, biological variability, interference.

Ko.

Čas. Lék. čes., 2008, 147, pp. 392–395.

Kreatinin (2-imino-1-metylimidazolin-4-on) vzniká dehydratací kreatinu, který je uvolňován z kreatinfosfátu při svalové činnosti. Koncentrace v krvi je úměrná svalové hmotě a nepodléhá větším změnám s výjimkou onemocnění ledvin, kdy vzrůstá. Kreatinin je bezprahově vylučován močí, a je tedy využíván k vyšetření funkce ledvin (kreatininová clearance). Kreatinin je stanovován v séru a v moči prakticky výhradně chemickými a enzymovými metodami. Metody chemické jsou založeny na modifikacích Jaffého reakce vycházející s reakce kreatininu s kyselinou pikrovou v alkalickém prostředí. Po deproteinaci vzniká červený reakční produkt, jehož absorbance se měří při 510 nm. Prob-

lémem Jaffého reakce je nespecifita. Stanovení ruší řada interferujících látek (bílkoviny, ketony, ketokyseliny, glukóza, bilirubin, cefalosporiny, mastné kyseliny, pyruvát, kyselina askorbová), významnou roli hrají také vliv pH (v silně alkalickém prostředí reaguje hydroxylový anion s kreatinidem i s pikrátem, což vede k rychlejší reakci, ale zároveň k rychlejšímu rozpadu barevného komplexu), teplota (reakční rychlost v intervalu 20–40 °C o 30–60 %/10 °C, termochromní odezva je při 490 nm 3× vyšší než při 500 nm a 15× vyšší než při 520 nm) a časový interval měření (interferenty zvyšují nebo snižují rychlost vzniku Janovského komplexu). Obecně se doporučuje měřit 20–80 sekund od startu reakce.

Délka měření nesmí být příliš krátká, protože přírůstek absorbance je malý (1).

Enzymatické metody jsou založeny na kaskádě enzymových reakcí. V prvním kroku je kreatinin převeden na kreatin, který je pak převáděn sledem enzymatických reakcí na konečné produkty (NAD, peroxid vodíku), které jsou pak stanoveny fotometrickou reakcí (1).

Chemické metody založené na Jaffého reakci i enzymatické metody vykazují srovnatelnou přesnost (analytický variační koeficient 2 %, přesnost mezi sériemi 3–5 %). Jaffého metoda je levnější oproti enzymatickým metodám. Enzymatické metody mohou pracovat s menším množstvím vzorku a nejsou tolik ovlivněny analytickými interferencemi jako metody chemické (1).

KAZUISTIKA

Muž, 73 let, u kterého byla před 5 lety provedena jednostranná nefrektomie, byl přijat na chirurgické oddělení s bolestmi břicha a byla diagnostikována akutní pankreatitida. Laboratorní vyšetření séra ukázalo při diuréze 2600 ml/24 hodin vysoké hodnoty urey (22,5 mmol/l) a významně sníženou hladinu sérového kreatininu stanoveného enzymatickou metodou využívající technologii suché

chemie na principu kreatindeaminázové reakce (22 $\mu\text{mol/l}$), což neodpovídalo klinickému stavu pacienta. Vzhledem k tomu, že pacient byl po nefrektomii, předpokládala se spíše zvýšená hladina sérového kreatininu. Sérový kreatinin byl opakovaně vyšetřen Jaffého chemickou metodou a byla stanovena hodnota 176 $\mu\text{mol/l}$, která korelovala s klinickým stavem pacienta. Pacient dostával vysoké dávky $3 \times 5 \text{ ml i.v.}$ v pomalé infuzi spazmoanalgetika Algifen (BB Pharma, a.s.) obsahujícího 500 mg/ml metamizolu. Vzhledem k významně odlišným hodnotám sérového kreatininu stanoveného Jaffého chemickou a enzymatickou metodou bylo vysloveno podezření na interferenci metamizolu při stanovení kreatininu enzymatickou metodou. Podobně odlišné výsledky koncentrací sérového kreatininu stanoveného enzymatickou kreatindeaminázovou metodou a chemickou metodou byly nalezeny i u několika dalších pacientů, kterým byl podáván metamizol (pacient 1: enzymatický kreatinin 7 $\mu\text{mol/l}$ vs. kreatinin Jaffé 45 $\mu\text{mol/l}$; pacient 2: enzymatický kreatinin 22 $\mu\text{mol/l}$ vs. kreatinin Jaffé 176 $\mu\text{mol/l}$; pacient 3: enzymatický kreatinin 36 $\mu\text{mol/l}$ vs. kreatinin Jaffé 111 $\mu\text{mol/l}$; pacient 4: enzymatický kreatinin 26 $\mu\text{mol/l}$ vs. kreatinin Jaffé 96 $\mu\text{mol/l}$; pacient 5: enzymatický kreatinin 52 $\mu\text{mol/l}$ vs. kreatinin Jaffé 101 $\mu\text{mol/l}$).

Interference vysokých dávek metamizolu s enzymatickým stanovením kreatininu byla potvrzena přidáváním metamizolu o různých koncentracích do vzorku o známé koncentraci sérového kreatininu stanovené chemickou a enzymatickou metodou. Bylo zjištěno, že se vzrůstající koncentrací metamizolu přidávanou do vzorku o známé koncentraci sérového kreatininu dochází u kreatininu stanoveného enzymatickou metodou k významnému poklesu hodnot (tab. 1).

Tab. 1. Přehled přidávaných koncentrací metamizolu do vzorku o známé koncentraci kreatininu

S-metamizol) (mg/l)	S-kreatinin (enzymaticky) $\mu\text{mol/l}$	S-kreatinin (Jaffé) $\mu\text{mol/l}$
0	95	96
10	94	95
20	91	97
50	87	95
100	78	96
1000	29	96

DISKUZE

Kazuistika popisuje neobvyklý případ interference léčiva (metamizol) s enzymatickým stanovením sérového kreatininu kreatindeaminázovou reakcí. V praxi jsou významně čas-

Tab. 2. Přehled lékových interferencí u kreatininu stanoveného Jaffého metodou (4)

snížené hodnoty	Kreatinin		v moči	
	v séru	zvýšené hodnoty	zvýšené hodnoty	snížené hodnoty
<ul style="list-style-type: none"> • amikacin • heparinát amonný • kyselina askorbová • cefaclor • cefamandol • cefazolin • cefuroxim • cephalothin • cephradín • citráty • dipyron • dopamin • ethamsylát • methylidopa • N-acetylcystein • norfenefrin • phenacemid • sarkosin 	<ul style="list-style-type: none"> • acetoheksamid • aminohippurát • kyselina askorbová • azlocillin • cefaclor • cefaleksín • cefaloridin • cefamandol • cefazolin • cefixim • cefoperazon • cefotiam • cefoxitin • cefpirom • cefsoludin • cefuroxim • cephalothin • cephradín • dopamin 	<ul style="list-style-type: none"> • flucytosin • glycerin • glykokyamidin • β-hydroxybutyrát • α-ketoglutarát • levodopa • lidocain • lithium • methylidopa • moxalactam • nitrofurantoin • nitromethan • novaminsulfon • phenolsulfonphtalein • resorcinol • sarkosin • sulbactam • sulfamethoxazol • sulfasalazin • sulfobromophthalein 	<ul style="list-style-type: none"> • kyselina askorbová • asparagin • cefoxitin • cephalothin • glykokyamidin • histidin • indol • levodopa • nitrofurantoin • nitrofurazon • fenolsulfonftalein • reserpin 	

Tab. 3. Biologické faktory ovlivňující stanovení kreatininu (1, 5)

Zvyšují hodnoty kreatininu	Snížují hodnoty kreatininu
<ul style="list-style-type: none"> • denní rytmy: maximum 14 hod • lačnění • horečka • nárůst svalové hmoty • nadměrné cvičení • šok • stres • trauma 	<ul style="list-style-type: none"> • denní rytmy: minimum 8 hod • těhotenství (první a druhý trimestr pokles o 25 %) • hemodialýza (výrazný pokles po HD) • transplantace (výrazný pokles po transplantaci) • chronický alkoholismus (-20 $\mu\text{mol/l}$)

Tab. 4. Preanalytické faktory stanovení kreatininu (1, 5)

Zvýšené hodnoty	Snížené hodnoty
<ul style="list-style-type: none"> • glukóza • hemoglobin • pH (6,8 – vzrůst konc krea o 8 $\mu\text{mol/l}$) (8,8 – vzrůst konc krea o 10 $\mu\text{mol/l}$) • proteiny (více než 120 g/l – vzrůst konc. krea až o 30%) • pyruvát (vzrůst konc. krea až o 22 $\mu\text{mol/l}$) • mastné kyseliny • gelové separátory 	<ul style="list-style-type: none"> • hemolýza • bilirubin (pokles konc. krea až o 40 %) • lipémie • EDTA • citrát • vitamin C • skladování vzorku

tější lékové interference při stanovení kreatininu Jaffého metodou. Přehled lékových interferencí popsanych u Jaffého metody je shrnut v tabulce 2.

Stanovení kreatininu je zatíženo řadou biologických a preanalytických faktorů. Biologické faktory mající významný vliv na stanovení kreatininu jsou shrnuty v tabulce 3. Přehled preanalytických faktorů je shrnut v tabulce 4.

Biologická variabilita kreatininu je významným faktorem majícím vliv na stanovení. Celková biologická variabilita kreatininu (CV_c) vypočtená jako druhá odmocnina kovariance intraindividuální (CV_i) a biologické variability (CV_G) je:

$$CV_c = \sqrt{(CV_i^2 + CV_G^2)} = 13,6 \%$$

Hodnoty CV_i a CV_G jsou převzaty z analytických kritérií klinické použitelnosti pro stanovení kreatininu v krevním séru publikovaných ve studiích (2, 3), kde CV_i je 4,3 % a CV_G je 12,9 %.

Významnou charakteristikou biologické variability kreatininu je kritická diference dvou po sobě následujících stanovení kreatininu, o nichž předpokládáme, že pochází z normálního rozložení dat. Kritická diference (K_D) je definována jako ještě analyticky definovatelné minimální množství, které způsobí významné klinické rozdíly na hladině pravděpodobnosti 95 %. K_D se vypočte podle vztahu:

$$K_D = 2,77 \sqrt{(CV_a^2 + CV_i^2)}$$

kde CV_a je analytický variační koeficient a CV_i je intraindividuální biologická variabilita. Hodnota CV_a pro kreatinin vychází z výsledků ve studiích (2, 3), kde $CV_a = 2,2 \%$.

Dosadíme-li do vztahu pro K_D hodnoty CV_a a CV_i , pak pro kreatinin dostaneme hodnotu 13,4 %. To znamená, že například stanovíme-li hladinu kreatininu v prvním měření 100 $\mu\text{mol/l}$ a ve druhém měření 110 $\mu\text{mol/l}$ (nárůst koncentrace o 10 %), pak lze říci, že nedošlo ke klinicky významné změně, protože nárůst koncentrace o 10 % nepředstavuje klinicky významnou změnu. Klinicky významnou změnu by představovala koncentrace kreatininu lišící se od původní hodnoty o hodnotu větší, než je K_D , tedy o 13,4 %.

ZÁVĚR

Při stanovení koncentrací kreatininu v séru a v moči hraje významnou roli řada analytických, preanalytických a biologických faktorů, které mohou mít vliv na konečnou koncentraci kreatininu. Významnou roli hraje i biologická variabilita samotného kreatininu.

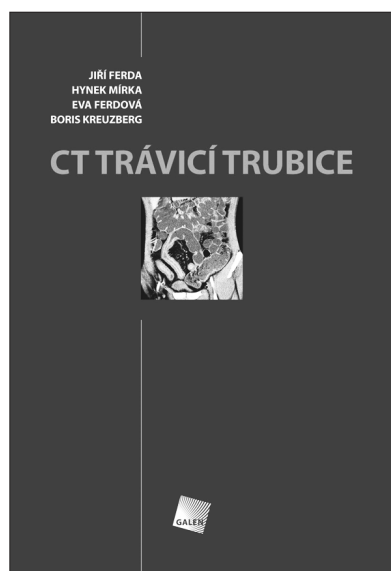
Zkratky

- CV_a – analytický variační koeficient
- CV_i – intraindividuální variační koeficient
- CV_G – interindividuální variační koeficient
- CV_c – celková biologická variabilita
- EDTA – etylendiamintetraoctová kyselina

HD – hemodialýza
 K_D – kritická diference
 NAD – nikotinamidadeninukleotid

LITERATURA

1. **Burtis, C. A., Ashwood E. R.:** Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Edition, WB Saunders, Philadelphia, 1997, 1900 s.
2. **Ricós C., Alvarez V., Cava F. et al.:** Current databases on biologic variation pros, cons, and progress. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1999, 59, s. 491–500.
3. **Fraser C. G.:** Biological Variation from principles to practice. AACC Press® 2001.
4. Chronolab, The Quality of Diagnostic Samples, Chronolab AG, Switzerland 2000–2007 (CD-ROM).
5. **Young, D. S.:** Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, 2nd Edition, AACC Press®, 1997.



CT TRÁVICÍ TRUBICE

Jiří Ferda, Hynek Mírka, Eva Ferdová, Boris Kreuzberg

V posledním desetiletí se technika vyšetření výpočetní tomografií rychle vyvíjí. Zavedením multidetektorové výpočetní tomografie došlo vedle explozivního zvýšení objemu dat především k výraznému nárůstu prostorového rozlišení v dlouhé ose těla. Začínají se tak objevovat nové indikace výpočetní tomografie v zobrazení trávicí trubice, které postupně vytlačují klasické radiodiagnostické metody.

Zcela novými způsoby zobrazení se stávají CT kolografie s virtuální endoskopií, CT angiografie zobrazující mezenterální cévní systém a také CT enteroklyza a enterografie používané nově pro cílené zobrazení tenkého střeva.

Tato monografie plzeňských autorů shrnuje současné zkušenosti s vyšetřováním trávicího ústrojí pomocí výpočetní tomografie a také pomocí nové zobrazovací modalitě PET/CT, která vnáší do výpočetní tomografie metabolický pohled na chování tkání a stává se významnou metodikou především u stagingu a restagingu nádorových onemocnění trávicí trubice. V obecné části autoři popisují základní principy výpočetní tomografie trávicí trubice, rozsáhlá speciální část seznamuje s aplikací této diagnostické metody u různých onemocnění gastrointestinálního traktu.

Vydalo nakladatelství Galén, 2006, 243 s. – První vydání, formát 195 × 280 mm, vázané, barevně, cena 1200 Kč, ISBN 80-7262-436-9.

Objednávku můžete poslat 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 název časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli.

SPECIÁLNÍ SDĚLENÍ

Pokrok v lékařství: Oč se máme snažit a co máme omezovat?*

Callahan D.

Nic není v současnosti častější než rozprava o potřebě reformy zdravotnictví. Sotva se dá najít země, kde by se taková diskuze, diskuze namnoze žhavá, týkající se budoucnosti systému zdravotnictví nevedla. Ba dokonce lze pokládat potřebu reformy za zvláštní druh chronické choroby moderního lékařství a systému zdravotnictví. Ještě ke všemu tehdy, když se jistá reforma zahájí, ozvou se hlasy požadující reformu jinou. Téměř vždy se pak požadavek na reformu soustředí na náklady zdravotní péče a na způsob jejich ovlivňování i řízení. Avšak zdá se, že nic z toho nemá dlouhého trvání.

Co je příčinou této chronické choroby? Alespoň zčásti jsou příčiny jistě politické spočívající ve střídání politických stran, které sledují různé doktríny a snaží se aplikovat je. Avšak daleko fundamentálnější je důvod spočívající v povaze moderní medicíny i toho, že medicína se musí vyrovnat s demografickou scénou v pohybu. Nabízejí se celkem tři hlavní důvody konstantního napětí.

1. Jedním z důvodů je to, že populace stárne, což se týká všech vyspělých západních zemí. Lidí starších věkem přibývá a přibývat bude relativně i absolutně v nadcházejících dekádech dál. Nyní pacienti ve věku přes 65 roků spotřebují na zdravotnictví podle odhadů zhruba čtyřikrát tolik co zbytek obyvatel a předpokládá se, že toto číslo bude stárnutím populace a proporcionální převahou starších obyvatel ještě růst.

2. Dalším důvodem je přetrvávající zavádění nových a často dražších technologií s důrazem na nové zařízení či léky s tím, že i technologie starší se vytěžují důsledněji.

3. Konečně posledním důvodem je přibývajících veřejná zakázka na dobrou či stále lepší zdravotní péči. Lidé moderní doby očekávají stálý pokrok medicíny a zdravotnictví. To, co bylo adekvátní péčí před desítkami roků, již nyní za adekvátní považováno není; a úroveň péče nynější nebude pravděpodobně adekvátní v budoucnosti.

Avšak přesně z těchto důvodů jsou podle mě inovace technologií vedoucí k lékařskému pokroku klíčové. Myšlenka lékařského pokroku relativně nová. Před 2500 roky za Hippokratových časů byla medicíně tato myšlenka vzdálená. Jisté diagnostické dovednosti a poskytování útěchy bylo vše, co mohli tehdy lékaři nabídnout a tento stav trval jistě do 16. či 17. století. K obrovské změně v přístupu došlo díky tomu, že François Bacon či René Descartes začali uvažovat poněkud jinak: Měli za to, že vědu lze zapřáhnout do zkoumání biologie a boji s chorobami. A Descartes dokonce předjímal možnost výrazného prodloužení lidského života.

Leč trvalo další stovky let, než se takto uvažované možnosti staly skutečností. Ve druhé polovině 19. století se medicína překonávala ve svých objevech a jejich aplikacích v klinické práci. Četnost úmrtí začala klesat a průměrná délka života se prodlužovala, přičemž v tom hrálo svou roli veřejné zdravotnictví se svým důrazem zejména na dietu, hygienu a čistší vzduch i vodu. Ve druhé polovině 20. století byla myšlenka pokroku díky vědeckému výzkumu a možnosti stálých inovací technologie již zcela běžná.

Výdaje na výzkum dramaticky vzrostly a průmysl vyrábějící lékařské přístroje pochopil, že lidé jsou ochotni platit za stálý pokrok, přičemž role zdravotní péče coby významné společenské instituce a zájmu vlády se stala obecnou. Avšak někdy po roce 1960 se s rozmachem lékařského pokroku začaly objevovat první známky finančních omezení. Vzápětí po roce 1970 se starost o rostoucí náklady za zdravotní péči stala předmětem zájmu každé vlády. Leč navzdory tomuto zájmu a různým pokusům něco s tím udělat náklady rostly dál a rostou až dosud. Rozvrhy nákladů za zdravotní péči v budoucnosti za 20, 30 či 40 roků jsou všude zdrojem obav.

Pokrok medicíny se nám ohromně vyplatil: Prodloužila se nám délka života a žijeme zdravěji. Většina novorozenců i jejich matek přežívají porod a většina mladých lidí může očekávat, že z nich budou lidé staří. Většina starých lidí může očekávat život delší a zdravější než měli jejich rodiče či prarodiče. Sotva se lze nechat překvapit tím, že pokrok medicíny a technologie je tak uctíván. Avšak problém je s náklady: Rozvoj přináší zdražování celého podniku. Navzdory všeobecnému bohatnutí nikdy nemáme to, co bychom si přáli.

Odhady v USA praví, že 40–50 % růstu nákladů lze přičíst na vrub technologickému vlivu, přičemž já mám za to, že v Evropě je toto číslo ještě vyšší. Šíření technologických vymožeností a dalších faktorů v USA působí průměrné zvýšení všeobecných nákladů o 7–10 % ročně v poslední době a do budoucnosti nelze počítat se zpomalením. Nakolik je mi známo, též evropské země jsou též pod podobným finančním tlakem, ačkoliv ve srovnání s USA je to snad o něco méně. Díky důslednějšímu vládnímu řízení výdajů za zdravotnictví roční procento růstu nákladu je proti USA poloviční. Avšak stále jsou vyšší než růst všeobecné inflace a procento hrubého národního důchodu věnované na zdravotnictví stále roste téměř všude.

Co se s tímto problémem dá dělat? Jistě nebude prostě dál možné, aby systémy zdravotní péče v rozvinutých zemích pokračovaly v této cestě. Další zvyšování výdajů na zdravot-

*Dne 28. května 2008 byl udělen čestný doktorát Univerzity Karlovy významnému odborníkovi v oblasti lékařské etiky, prof. Danielu Callahanovi PhD. z Harvard Medical School. Se souhlasem autora otiskujeme jeho inaugurační přednášku v českém znění.

Prof. Daniel Callahan je hostujícím profesorem I. lékařské fakulty UK v Praze. Přednášku přeložil dr. Jan Payne.

nictví bez omezení je neudržitelné, přičemž hlavní hrozbou pro eskalaci nákladů je myšlenka rovného přístupu ke zdravotní péči, což většina evropských zemí uskutečnila v posledních desítkách roků. Poněkud mírnější, avšak nikoliv triviální hrozbou jsou přetrvávající zákonodárné pŕtky týkající se zdravotní péče, totiž transparentní rozdělování (*rationing*) prostředků, seznamy na čekacích listinách či obecná nespokojenost s poskytovanou péčí. A přece, ironicky, je momentální zdravotní stav populace na nejvyšší úrovni v dějinách. Avšak poněvadž očekávání počítají s konstantním zdokonalováním, přibrzdění tohoto zdokonalování je přirozené pokládáno za známku selhání.

Rozmanité snahy o reformu doutnají v pozadí a já ve stručnosti zmíním některé z nejvýznamnějších: podpora zavádění příplatků (*co-payments*) a spoluúčasti (*deductibles*), privatizace částí zdravotního systému a dlouhé čekací listiny na výběrové chirurgické zákroky či další formy nikoliv emergentní péče, práce s vědeckými poznatky (*evidence based medicine*) sloužícími k určení efektivní péče a různé podoby rozdělování (*rationing*) namnoze nikoliv obecně přijaté.

Všechny tyto snahy jsou cenné, avšak mám za to, že pravděpodobně nebudou fungovat lépe v budoucnosti, než tomu bylo v minulosti. Ba, když se omezíme jen na ně, bude krize v reformách pokračovat a ještě se prohloubí. Pokládám všechny tyto metody za administrativní a organizační čili za úsilí změnit systém důmyslně tak, aby si poradil s problémem výdajů.

Ovšem v povaze problému je, že důmyslností takto nedosáhneme nikdy. Musíme promýšlet tento problém daleko hlouběji a radikálnějším způsobem. Zbývá jen změnit naše myšlenky a některé moderní hodnoty týkající se medicíny i zdravotnictví a nikoliv jen pokoušet se najít výhodnější způsoby reorganizace stávajících systémů samotné.

Potřebujeme něco, co jsem pojmenoval „udržitelná (*sustainable*) medicína“: Medicína vyžaduje přemyslet myšlenku pokroku v medicíně a konstantních technologických inovací s tím, že pod „udržitelnou (*sustainable*) medicínou“ si představují rozvrh medicíny a zdravotní péče takový, který se zaměří na: a) rovnost pro všechny, b) únosnost pro systémy zdravotní péče, c) obojí v dlouhodobém a nikoliv krátkodobém plánu.

Přejímám výraz „udržitelnost“ z oblasti životního prostředí, přičemž jeho hlavním obsahem je zachovat na zemi lidský život a život i kvalitní po dobu bez omezení. Záměrem je vyhnout se ničení atmosféry i země tak, aby příští život nebyl poškozen. Navrhuji podobnou myšlenku i pro zdravotní péči.

V současné době nemáme takový systém v žádné zemi. Stávající pokrok v lékařství zatěžující výdaje i stárnoucí populace opět zatěžující výdaje dávají záruku toho, že takový pokrok udržitelný nebude; stejně tak zaručuje i hrozbu pro všeobecnou zdravotní péči a dostupné léčení. Avšak když medicína dostupná není, pak ani nemůže být rovným způsobem rozdělována. Důsledkem bude, že jen bohatí jedinci si budou moci nejlepší zdravotní péči zaplatit, přičemž zbytku zbude pouze spokojit se s něčím skrovnějším.

Již jsem naznačil, že podle mého přesvědčení organizační a manažerská reforma je schopna zvládnout současný neudržitelný stav. Je třeba fundamentálního přemýšlení. Pro zachování udržitelné medicíny potřebujeme vyjádřit myšlenku pokroku přiživující náklady za technologie i společen-

skou poptávku jiným způsobem, přičemž souběžně bychom měli přijmout to, že dříve či později dosáhneme stability růstu a díky tomu i výdaje na zdravotnictví.

Západní myšlenka pokroku v medicíně je tím, co jsem pojmenoval „bezmezný model“ pokroku. Domnívám se, že myšlenka pokroku sama o sobě neklade žádné hranice podpory zdraví a omezení mortality či léčby kterékoliv choroby i zmírnění vši bídy v lékařství. Konečkonců pojetí toho, co je pro medicínu jejím hlavním problémem, se stále mění, když tento úkaz byl pojmenován medicinalizace a tkví v tom, že myšlenka vývoje neklade žádné meze zdokonalování zdraví čili snižování úmrtnosti lidí, léčbě všech chorob a ulehčení v každé podobě utrpení. Pojetí toho, co je problémem současné medicíny se tudíž stále mění a přesně tento jev je znám coby medicinalizace.

Je bez veškerých mezí ve smyslu toho, že navzdory zdokonalování co do snižování úmrtnosti i četnosti výskytu chorob nikdy nebude stačit k tomu, aby uspokojil lidské potřeby; důsledkem je to, že se vývoj je hnán dále kupředu. Pokud by se i dosáhlo toho, že průměrný věk lidí v ordinacích a nemocnicích by bylo sto, tito lidé by stále žádali: Pane doktore, pomozte mi a zachraňte mě, tlumte mou bolest i utrpení, navraťte mi mé zdraví. Myšlenka vývoje bez hranic probouzí takovéto bezuzdné touhy, jež není ve svých aspiracích ničím vázána.

Avšak takovou všechny hranice překračující či nekonečnou představu nelze zaplatit konečným zdroji peněz. Místo toho musíme jinak definovat pokrok, přičemž jde o to, aby se v něm dalo pokračovat dlouhodobě a aby k němu měli rovný přístup všichni; avšak to vyžaduje představu modelu konečné medicíny a zdravotní péče. Oním „konečným lékařstvím“ míním to, že v něm nejde o překonání stárnutí a smrti či chorob, nýbrž o potlačení chorob ve starším věku a o bránění smrti předčasné s jistotou, byť nikoliv dokonalou kvalitou zdraví.

Myšlenka „konečného lékařství“ s omezenými cíli a aspiracemi by ovšem měla mít následující podobu. Předně by měla důrazně posunout směrem výzkumu i zdravotní péče ve směru k ochraně zdraví a prevenci chorob. Mělo by se tudíž dávat daleko více peněz na výzkum způsobů chování způsobujících pravděpodobně nemoci a choroby i na to jak toto chování změnit. Obrovské množství dolarů se vydalo na mapování lidského genomu a srovnatelnou částku je třeba vydat na porozumění zdravému způsobu chování. Čím to je, že obezita je téměř všude častější a co se s tím dá dělat? Čím to je, že tolik lidí kouří tvář v tvář poznání jeho škodlivosti vedoucí ke smrti? Čím to je, že je tak těžké přivést současného člověka k tomu, aby cvičil?

Řešení těchto otázek neznáme a ještě méně víme jak zhoubné chování změnit. Avšak řešení potřebujeme. Každopádně nemůžeme pokračovat v poskytování stále dražší medicíny budované čistě jen na moderních technologiích každému.

1. Předně je tudíž třeba znát důkladněji způsoby jejich udržení na uzdě čili jde o to, abychom ony technologie již tolik nežádali.

2. Dále je třeba najít správné nástroje ke srovnání výdajů na zdravotní péči a výdaje na další sociální statky rázu vzdělání, vytváření pracovních míst a ochranu životního prostředí. Například je známo, že čím vzdělanější určitá populace je, tím pravděpodobněji bude zdravější. Co se zaměstnání

týče, je známo též to, že nezaměstnaní či zaměstnaní v rozporu se svým nadáním jsou daleko ohroženější než ti, kdo jsou zaměstnaní přiměřeně. Avšak v mnoha zemích se zdravotní péče pokládá za něco výlučného, přičemž není třeba výdaje na ni s jinými výdaji vůbec srovnávat. Konečně pak platí i to, že vyvážená společnost potřebuje cit pro klíčově významné priority s tím, že prioritou překračující všechno ostatní nemůže být vždycky jen zdravotní péče.

3. Zároveň s tím musí veřejnost počítat s tím, že rozdělování (*rationing*) je a v každém systému zdravotní péče vždycky i bude klíčové. Žádný systém nemůže poskytnout každému všechno to, co potřebuje ve jménu jeho zdraví. Naše aspirace budou vždycky přesahovat naše zdroje, když pokrok v medicíně samotné vzbuzuje veřejná očekávání toho, co pro ni může medicína udělat. Jisté šetření prováděné před několika roky v USA prokázalo to, že přibýlo lidí, kteří mají za to, že jsou na tom po zdravotní stránce hůře než lidé před 30 roky. Avšak fakticky jsou na tom lépe. Jde o to, že se změnilo jejich pojetí toho, co zdravý je. Požadujeme, očekáváme i stěžujeme si tehdy, když něco postrádáme. Sotva to dostaneme, zvedneme latku a začneme generovat potřeby další. V každém případě je tudíž rozdělování (*rationing*) něčím, co potřebujeme. Ovšem tato otázka se musí diskutovat veřejně, ačkoliv zákonodárci a reprezentanti zdravotnictví to nemají rádi. Má-li být rozdělování (*rationing*) moudré, pak musí být provedeno na základě znalosti a shody všech zúčastněných.

4. Souběžně je nutné technologie důkladně vyhodnotit, přičemž by k tomu mělo dojít spíše před jejich zavedením do praxe než po něm. Již zmíněna byla medicína budovaná na vědeckých poznacích (*evidence based medicine*) a tento přístup je třeba aplikovat coby nástroj k řízení nákladů. Navzdory tomu, že tento způsob vyhodnocování je běžně zaměřen na efektivnost diagnostických a terapeutických postupů a nikoliv na ekonomický dopad, využívat ho je nutné i zde; jen by ho měli provádět výrobci technologií a léků samotní. V současnosti jsou výrobci povinni vyhodnocovat léky co do jejich bezpečnosti a účinnosti, ovšem bylo by navýsost vhodné, aby též zvažovali ekonomický dopad na zdravotní péči. Při tom by vláda měla mít kontrolu nad touto prací placenou sice výrobci, ovšem schvalovanou vládou. Pouze tehdy, když technologie nepřinášejí významný vzrůst nákladů, rozhodla by vláda o jejich uhrazení. Důsledkem by byl pevný standard na kvalitnější úrovni než nyní, kdy technologie vpadnou do systému zdravotnictví coby vetřelci. Pro budoucnost by mělo platit, že veškeré technologie budou vyžádány na základě výrobcem prokázané úspornosti a nikoliv jen prospěšnosti zdraví.

5. Konečně a hlavně: Každá změna od nekonečného ke konečnému modelu medicíny bude muset přijmout jiný přístup ke stárnutí a smrti. Ačkoliv se v běžné lékařské praxi se stárnutím a smrtí počítá, výzkumníci se tomuto tématu vesměs vyhýbají. Obvykle se totiž má za to, že každá smrtelná choroba by měla být léčena a že fenomén stárnutí lze pokládat za stav, který je též druhem choroby a kterému se lze vyhnout. Požadavek zemřít má jen málo lidí a vzácné je též přijmout stáří. Avšak tyto skutečnosti jsou součástí lidského běhu, který je stále odmítán navzdory diskuzím o něm.

Je třeba, aby se medicína soustředila spíše na kvalitu života než na jeho délku, totiž od léčby chorob na péči o ty, kteří léčení již být nemohou. Když medicína udržuje lidi při

životě příliš dlouho a přitom je zatěžuje technologickou léčbou, která jim přináší hodně bolesti (*pain*) se skrovným ziskem (*gain*), pak nejde o medicínu vycházející z lidskosti. Před dvěma stovkami let lidé umírali na infekční choroby rázu záškrty či moru. A stonání se lišilo tím, že člověk trpící infekční chorobou buď zemřel rychle, anebo se během krátké doby uzdravil; pokud to přežili, zčásti u nich některé symptomy přetrvávaly. Současnost nabízí udržování životů mnoho let s přítomností choroby, od rakoviny přes srdeční infarkt až po Alzheimerovu chorobu.

Přirozeně pak ti, kteří umírali na infekční choroby před dvěma stovkami let, byli daleko mladší. Nyní máme sice to štěstí, že žijeme mnohem déle, avšak i naše umírání je protražované a ještě k tomu provázené chorobami, které sice nemohou být vyléčeny, ovšem mohou být zčásti pod kontrolou lékařů. Můžeme se sice dožít osmdesátky či devadesátky, avšak jen za cenu mnoha chronických stavů, díky kterým jsme nemocní, avšak nikoliv mrtví. V USA má starý člověk s terminální chorobou v průměru pět vážných chorob, kdežto ti, kteří žijí, mají v průměru jen jednu.

Má se za to, že jde o dobrý obchod spočívající v tom, že žijeme nyní déle, avšak strávíme poslední roky zatížení chorobami. Někdy dost pochybuji. Upřednostnil bych snad zemřít v pětácti letech na neštovice s tím, že bych se vyhnul smrti v pětadesáti na srdeční selhání? Přiznám se, že si nejsem jist, když za to, že neštovice byly vyhlazeny, pocituji vděčnost. Upřednostnil bych zemřít nyní ve věku sedmadesáti na rakovinu či selhání ledvin, nebo proti tomu žít do osmdesáti s padesátiprocentní pravděpodobností Alzheimerovy choroby? Ale vždyť infekční choroby, ironicky, nebyly zcela zvládnuty. Například AIDS či spousta dalších, na antibiotika rezistentních chorob působí, že v nemocnicích se na infekce umírá stále. Četnost úmrtí na infekce je stejně vysoká jako před čtyřiceti lety.

Když tvrdím, že bychom měli myšlenku pokroku znovu zvážit, rozhodně mi nejde o to, abychom pokrok zastavili; zajímá mě jen, kterým směrem by se měl ubírat. Současný směr soustřeďující se na léčbu na základě vyspělých, obvykle nákladných technologií není udržitelný. Navzdory veškerým našim investicím peněz do boje se stárnutím a smrtí vždycky v posledu zvítězí. Poněkud se to podobá výzkumu vesmíru: Ať dospějeme jakkoliv daleko, vždycky můžeme jít ještě dále.

S výlety do vesmíru za bádáním bez hranic jsou ekonomické meze daleko zjevnější: Omezení procházek po měsíci a redukce lidských posádek na Mars. Spokojili jsme se místo toho s lacinější kyvadlovou dopravou coby dosažitelným prostředkem zkoumání vesmíru. Ba dokonce v poslední době se letecký průmysl a výroba dohodly na tom, že nadzvukové osobní letadlo není právě ekonomicky průchodné. Potřebujeme analogické pochopení pokroku medicíny bez hranic. Nemůžeme si dovolit všechno to, co by se nám líbilo – ani život samotný.

Poukazováním na změnu v našem chápání budoucnosti zdravotní péče mám na mysli jen to, že bychom měli být rozumnější ve výdajích a očekáváních. Opravdu nikdo nechce žít se systémem zdravotnictví ve stálém ekonomickém zmatku či takovém, který zbavuje chudé všech vymožeností. Výhradně udržitelný systém zdravotní péče je s to být přijatelným v dlouhodobém rozvrhu. Vyžaduje to ovšem omezení technologického pokroku s tím, že někteří lidé

nebudou žít tak dlouho, kolik by si přáli; a mnohá léčebná přání zůstanou neuspokojena. Připouštím sice, že je to dost vysoká cena za udržitelnost, ovšem jsem si jist, že za současný neudržitelný stav systému zdravotnictví budeme platit cenu daleko vyšší v podobě ohrožení spravedlnosti a stability společnosti. Méně je často více v lidském životě a zdá se, že to platí i pro případ zdravotní péče.

Leč jistou útěchu lze přece jen najít. Odborníci dokládají to, že zhruba 60 % zlepšení zdravotního stavu za posledních sto roků je způsobeno zlepšením sociální a ekonomických podmínek života a jen 40 % jde na vrub zlepšení lékařské péče. Tento trend se zdá pokračovat. Vyjádřeno jinak, i když se pokrok v technologiích zpomalí a bude rozdělován (*rationed*) mezi lidmi, život se bude dále prodlužovat a i zdraví bude lepší než nyní. Jeden z nejzajímavějších rozdílů mezi evropským a americkým zdravotnictvím spočívá v tom, že v Americe jsou k dispozici různé technologie od zobrazovacích metod přes vyspělou kardiologii až po drahou léčbu rakoviny. A přece jsou výsledky zdravotní péče v Evropě lepší než u nás. Stručně – více technologií a snazší přístup k nim nepřináší nutně více zdraví.

Mezi významnými důsledky zdravotní péče v poslední době je třeba zdůraznit kromě vzrůstajícího počtu doživších se osmdesátého či devadesátého roku též to, že naopak mnozí se tohoto věku díky vyspělé medicíně nedožili. Zatímco věk léčených vyspělými technologiemi stále stoupal, hlavně co se chirurgie týče, klesal počet případů akutní lékařské péče u osob nad osmdesát roků. Kromě toho ti, kteří se dožili devadesátí, měli po většinu svého života zdraví vesměs dobré a lékařům, nemocnicím a jednotkám intenzivní péče se spíše vyhýbali. Vyjádřeno jinak, stále pěstovaná snaha o potlačení morbiditu u dlouhověkých s důsledkem dobrého zdraví a rychlou smrtí se týká vzrůstajícího počtu lidí. Jistě, ne každý je tak šťastný a pro mnohé z nás je pomalý úpadek stále pravděpodobný.

Chtěl bych zakončit dvěma otázkami vznesenými na začátku: Oč se máme snažit a co máme omezovat?

Měli bychom se snažit o:

- přechod z mládí do stáří a nikoliv o život bez konce,
- pěstování dobrého zdraví u našich dětí natolik, nakolik je to možné,
- život co nejzdravější co se jídla, váhy, kouření, pití a pravidelného cvičení týče,
- omezování návštěv u lékaře; lékaři mají za úkol najít poruchu, a když jim poskytnete možnost, určitě něco najdou (jde o to, že kdo se chce dožít devadesátky, měl by se medicíně vyhýbat),
- to, abychom v případě onemocnění navzdory veškerým snahám nečekali od lékařů zázraky a ani to, že nás za každou cenu udrží při životě díky nejdražším technologiím, to, aby systém zdravotnictví přistupoval ke každému stejně a rozdělovat péči rovným způsobem mezi všechny,
- to, aby společnost poskytovala každému přiměřené vzdělání tak, aby si našel práci a aby se s každým zacházelo čestně (*fairly*) i aby se mu dostalo přiměřené péče v případě chudoby; zdravá společnost potřebuje zdravé jedince spíše než perfektní systém zdravotní péče.

Měli bychom omezit:

- pošetilou snahu stále podporovat očekávání dlouhého života; při průměrném věku 75–80 máme šanci zakusit všechno, co plný život nabízí,

- snahu najít lékařské řešení všech problémů života pomocí léků či rozvojem tělesné stránky,
- snahu nechat bobtnat dodávky dalších technologií a nechat je jen pro ty, u kterých přinášejí prokazatelný prospěch za dosažitelnou cenu,
- touhu po naplnění utopických myšlenek: děti přesně podle našich představ, prodlužování života daleko za průměrný věk, léky zbavující nás přirozeného utrpení rázu smutku,
- snahu vědeckou, lékařskou či komerční nabízet nám, že nic není důležitějšího než lepší zdraví; to, že přijmeme a žijeme se svou konečností je stejně důležité jako dobré zdraví; dobré zdraví je totiž k ničemu ve špatné společnosti; choroba se lépe snáší v dobré společnosti.

Medicína bude jistě pokračovat ve svém vývoji navzdory tomu, že by sledované cíle měly mít své meze. Nic v lidském životě totiž nezůstane v klidu, a to platí i pro medicínu samotnou. Avšak pokrok je třeba chápat vždy v kontextu dalších společenských potřeb, potřebných též pro šťastný život: strava, oblečení, ubytování, zaměstnání, bezpečnost ekonomická a blaho rodiny, národní obrana i ochrana životního prostředí. Zdraví je jistě významná lidská hodnota a poskytování zdravotní péče je významná společenská povinnost. Ovšem není to jediným společenským cílem.

Prof. Daniel Callahan, PhD.

Prof. Daniel Callahan se narodil v roce 1930 a věnoval se po celý svůj život humanizaci lidského života. Získal titul PhD. v oboru filozofie na Harvardské univerzitě, svůj magisterský titul na Georgetownské univerzitě a svůj bakalářský titul na Yaleské univerzitě. Vybaven filozofickým vzděláním i širokými znalostmi v dalších humanitních oborech začal poměrně záhy spolupracovat s některými lékaři a stal se jednou z vůdčích osobností v oblasti lékařské etiky a etiky biologických věd. Rozhodujícím momentem v jeho životě bylo setkání s psychiatrem a posléze též celoživotním přítelem Willem Gaylinem, s nímž v roce 1969 založil The Hastings Center (Garrison, NY), jenž byl prvním výzkumným a vzdělávacím ústavem lékařské etiky v USA a jehož byl mezi roky 1969 a 1996 prezidentem i ředitelem. V současné době je ředitelem mezinárodního programu tohoto ústavu a dále vedoucím akademické výuky badatelů na Harvardově univerzitě či Institutu politiky a politických věc na Yaleské univerzitě. Rovněž je od roku 1996 hostujícím profesorem na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze a významně přispěl k rozvoji etiky v českém zdravotnictví, avšak je proslulým expertem též v mnoha dalších zemích Evropy.

Předmětem jeho zájmu i mnoha jeho odborných publikací jsou různé otázky lékařské etiky s důrazem na lékařský pokrok a etiku výzkumu, etický přístup ke starým lidem, hlavní priority zdravotnictví, klíčové problémy umírání a smrti, trh v medicíně a morální stránku potratů.

Prof. Callahan je autorem či editorem 40 knih, které se týkají lékařské etiky v různých souvislostech: *Equity versus Choice* (Johns Hopkins University Press, 2006); *What Price Better Health? Hazards of the Research Imperative* (University of California Press, 2003); *False Hopes*

(Simon & Schuster, 1998); *The Troubled Dream of Life: In Search of a Peaceful Death* (Simon & Schuster, 1993); *What Kind of Life: The Limits of Medical Progress* (Simon & Schuster, 1990); *Setting Limits: Medical Goals in an Aging Society* (1987); *The Tyranny of Survival* (1973); *Abortion: Law, Choice and Morality* (1970); *Ethics in Hard Times* (1982); a se svou ženou Sidney *Abortion: Understanding Differences* (1984). Napsal stovky článků a publikoval je v časopisech: *Daedalus*, *Harpers*, *The Atlantic*, *The New England Journal of Medicine*, *the Journal of the American Medical Association*, *The Nation*, *The New Republic* a dalších.

Byl zvolen členem Institute of Medicine, National Academy of Sciences; je bývalým členem Director's Advisory Committee, Centers for Disease Control and of the Advisory Council, Office of Scientific Integrity, U.S. Department of Health and Human Services. Vyhrál v roce 1996 cenu Freedom and Scientific Responsibility udělenou American Association for the Advancement of Science a získal v roce 2006 cenu Centennial Medal udělenou Harvard Graduate School of Arts and Sciences i celkem pět čestných doktorátů.

Manželka Prof. Callahana je významnou americkou psycholožkou a spolu vychovali svých šest dětí.

Toll-like receptory a jejich generická variabilita při streptokokové pneumonii

Streptococcus pneumoniae je nejčastější příčinou infekční pneumonie, což je příliš častá příčina morbidit i mortality v celém světě. Výzkum se soustředil na genový polymorfismus, který je odpovědný za infekčnost i závažnost infekce *Streptococcus pneumoniae*. V této studii autoři vyšetřili polymorfismus v několika genech včetně

TLR2-Arg/Gln753, TLR4-Asp/Gly299, TLR4-Thr/Ile399, CD14-159C/T and FcγRIIA-R/H131. Bylo vyšetřeno 85 dětí s pneumokokovou sepsí a 409 zdravých krve. Prevalence polymorfismu TLR4-299/byla signifikantně nižší nežli u kontrol (4 vs. 11 %), zatím co prevalence CD14-159CC and FcγRIIA-R/R131 genotypů byla evidentně vyšší (35 vs. 25 %). Jen 35 % pacientů mělo nízkorizikové genotypy nebo genotypy protektivní na rozdíl od 61 % u kontrol. Genetická variabilita TLR4,

CD14 a FcγRIIA genů je spojena s vývojem invazivní choroby u pacientů, kteří jsou *Streptococcus pneumoniae* infikováni.

Literatura:

Yuan F. F. et al.: Clinical relevance of TLR2, TLR4, CD14 and FcγRIIA gene polymorphisms in *Streptococcus pneumoniae* infection. *Immunology and Cell Biology* 2008, 86, s. 268–270.

P. Barták

OSOBNÍ ZPRÁVY

**PROF. R. ČIHÁK – ANATOM
A EMBRYOLOG –
80. VÝROČÍ NAROZENÍ**

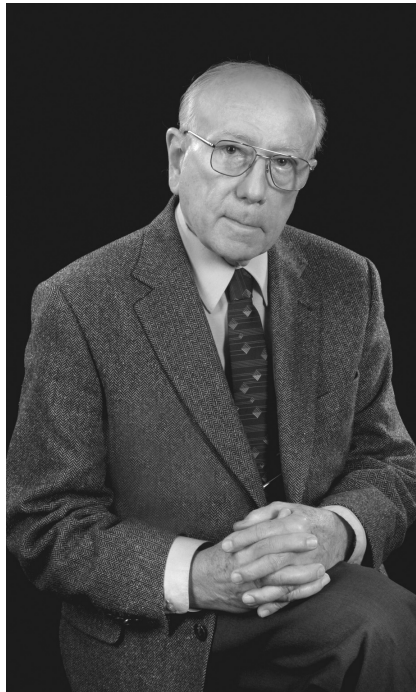
Dne 30. května 2008 se dožil osmdesáti let prof. MUDr. Radomír Čihák, DrSc., významný představitel pražské anatomické školy a v letech 1970–1990 přednosta Anatomického ústavu 1. lékařské fakulty UK.

Radomír Čihák se narodil v Soběslavi v rodině středoškolského profesora. Větší část gymnaziálních studií absolvoval v době války. Mezi jeho učiteli byla řada vynikajících osobností – přírodovědců, z tehdy uzavřených vysokých škol, kteří u svých žáků vzbudili zájem o přírodní vědu a uváděli je do výzkumné práce. Velkou inspirací byla i pozoruhodná jihočeská krajina s řadou příležitostí k zajímavým pozorováním. Za účast na přírodovědné práci z této doby byl gymnaziální student R. Čihák oceněn v roce 1947 diplomem Vesmíru.

Po maturitě v roce 1947 se R. Čihák stal posluchačem lékařské fakulty UK v Praze a již v prvním semestru byl volentérem na Anatomickém ústavu. Ještě jako medik se stal výpomocným asistentem. Promoval před vánočními dny roku 1952 a hned od 1. ledna následujícího roku byl ustanoven odborným asistentem. Byl – jako mnozí další – fascinován vědomostmi a osobností tehdejšího přednosty ústavu, prof. Ladislava Borovanského. Anatomickému ústavu zůstal věrný po celý život. Kandidátskou práci obhájil v roce 1964 a doktorskou práci o pět let později. V roce 1964 se habilitoval a profesorem byl jmenován v roce 1973. Věnoval se postupně všem formám výuky – vedl praktická a pítevní cvičení, přednášel a zkoušel. Za dobu svého působení vyzkoušel přes čtyři a půl tisíce mediků při závěrečné rigorózní zkoušce z anatomie. Byl učitelem obětavým a náročným a zpočátku byl i velmi přísný.

Těžiště vědecké práce prof. Čiháka spočívá v anatomii a embryologii pohybového systému. Jeho zaměření ovlivnil rozhodujícím způsobem prof. Borovanský, který chápal anatomii jako vědu o formě a o vzniku formy a o jejím vztahu k funkci. Čihákův přístup k poznání zákonitostí anatomické stavby orgánů je proto založen na studiu jejich vývoje.

Podobnost forem, které známe z anatomie člověka a které nacházíme v různých obměnách u většiny obratlovců, je během vývoje patrná v daleko větší míře než v definitivním stavu. Zčásti však uniká naší pozornosti, protože základy orgánů se ještě za vývoje přestavují a některé se vyvíjejí



pouze jako přechodné útvary. Jejich stavební materiál zaniká, nebo je použit při vzniku nových struktur. Právě tento úsek vývoje byl v centru vědeckého zájmu prof. Čiháka. Předmětem jeho pozorování byla především končetina člověka. Popsal jednotlivé fáze vývoje jejího skeletu i svalů a našel dosud neznámé vztahy mezi vývojem končetiny člověka a historickým vývojem končetiny obratlovců. To mu dovolilo nově interpretovat způsob vývoje tvarových znaků končetin a jejich zákonitosti. Končetina člověka se ve světle těchto poznatků jeví jako soubor struktur, které ve své ontogenezi překvapivě detailně rekapitulují svůj fylogenetický vývoj. Význam tohoto přístupu dokládá současný rozvoj poznatků o genech, zejména Hox genech, které řídí vývoj končetiny v celé živočišné říši.

Své poznatky o vývoji skeletu a svalů končetiny shrnul prof. Čihák do monografie *Ontogenesis of the skeleton and intrinsic muscles of the human hand and foot* publikované v roce 1972 ve Springer-Verlag. V průběhu morfogeneze kosterního svalu popsal 4 fáze vývoje, které vedou k individualizaci svalu. Na rozdíl od tradičního pojetí zahrnují i období přestavby již vytvořených svalových základů a případný zánik některých složek. Teprve tento pohled propojuje ontogenetický a fylogenetický vývoj svalu.

Několik prací prof. Čiháka je věnováno objasnění osudu svalové vrstvy mm. *contrahentes*. Tato vrstva není v dospělé končetině člověka obsažena v celém rozsahu,

neboť se z ní zachovává pouze adduktor palce. Ulnární část vrstvy postupně zaniká procesem abortivní myogeneze. Čihákově schéma osudu této svalové vrstvy bylo převzato do učebnic a monografií. Obdobné publicity se dočkalo i Čihákově ontofylogenetické schéma vývoje karpu a tarsu. Snad nejvíce citovanou prací prof. Čiháka je studie o hormonální závislosti m. levator ani u laboratorního potkana a zjištění, že jeho fyziologickému zániku u samic lze zabránit podáváním testosteronu. Tento poznatek publikovaný spolu s prof. E. Gutmannem a dr. V. Hanzlíkovou z Fyziologického ústavu Akademie věd se stal východiskem pro celou řadu obdobně zaměřených endokrinologických studií.

Anatomické poznatky vyplývající ze studií vývoje svalů a jejich inervace dovedl prof. Čihák využít i pro klinickou medicínu. Stal se vyhledávaným spolupracovníkem ortopedů a chirurgů. Spolu s dr. B. Eislemtem, dr. M. Fleischmannem, prof. O. Hněvkovským, prof. S. Popelkou a s prof. G. M. Löschem z Lübecku navrhl a prováděl řadu rekonstrukčních výkonů k náhradě funkce ztracené po úrazu nebo pro vrozenou vadu. Z takového přístupu vychází např. návrh rekonstrukčního výkonu k obnově opozice palce. Začátek radiální hlavy m. *interosseus dorsalis primus* je přemístěn na místo úponu m. *opponens pollicis* a pro snadnější nastartování celého pohybu je úpon m. *adductor pollicis* přesunut z radiální sesamkové kůstky palce na ulnární kůstku. Podobně byla řešena náhrada chybějící dolní části m. *trapezius*, která je nezbytná pro rotaci lopatky při abdukci paže nad horizontálu. Použita byla kraniiální, vývojově samostatná část m. *latissimus dorsi*, která byla přemístěna na *tuberositas triangularis spinae scapulae*. K rekonstrukci ochrnuté přední části m. *deltoides* byla použita jedna z pěti samostatných složek m. *pectoralis major* a na její místo byla posunuta další složka tohoto svalu z *manubrium sterni*. Současný posun dvou složek umožnil ochránit příliš krátké nervové větve před napětím. V posledních letech se prof. Čihák věnoval též biomechanické problematice zejména v oblasti axiálního skeletu.

Seznam publikací prof. Čiháka obsahuje 78 původních prací ve vědeckých časopisech a v monografiích. Dalšími publikacemi jsou skripta, učebnice, překlady a příležitostné články. Pozoruhodná je také jeho editorská a redakční činnost. Do širokého povědomí několika generací mediků a lékařů se prof. Čihák zapsal zejména třídílnou učebnicí anatomie, která vyšla v nakladatelství Grada ve dvou vydáních.

Čihákovy práce o vývoji skeletu a svalů lidské ruky jsou často citovány. Jsou uváděny v učebnicích embryologie i anatomie a odkazy na ně najdeme i v nejrozšířenější anatomické monografii – v Gray's Anatomy. Do širokého povědomí tak prof. Čihák vstoupil jako anatom a embryolog pohybového systému.

Vědecké zaměření prof. Čiháka bylo atraktivní pro řadu mladších spolupracovníků, kteří navázali na jeho výsledky a pokračovali ve studiu vývojových zákonitostí pohybového systému včetně experimentálních studií orientovaných do oblasti kauzální morfogeneze tohoto systému. Z této problematiky vzešla dlouhá řada kandidátských, doktorských a habilitačních prací, které prof. Čihák tematicky a metodicky vedl. Skoro polovina z nich byla zpracována ortopedy a je zaměřena na klinické využití anatomických poznatků.

Mimořádné jazykové znalosti usnadnily prof. Čihákovi rozsáhlé mezinárodní uplatnění. Byl v osobním kontaktu s pracovníky řady anatomických ústavů v Anglii, NSR, NDR, Francii, Rakousku, Polsku, SSSR a v Holandsku. Přednášel v těchto zemích na sjezdech anatomických společností a významně přispěl k rozvoji mezinárodních kontaktů československé anatomie. V této oblasti se v letech 1980–1990 uplatnil i jako proděkan fakulty pro zahraniční styky. Jako člen mezinárodního výkonného výboru se podílel také na tvorbě a aktualizaci mezinárodního anatomického názvosloví.

V současné době působí prof. Čihák jako emeritní profesor na 1. lékařské fakultě UK. Je stále aktivní jako anatom a autor publikací a překladů a věnuje se též Univerzitě 3. věku. Na její organizaci se podílí i v celostátním měřítku. Prof. Čihák si zachoval k naší veliké radosti plnou duševní svěžest, zájem o obor a o 1. lékařskou fakultu.

Vážený pane profesore, přejeme Vám k osmdesátým narozeninám všechno nejlepší, dobré zdraví a spokojenost z celoživotního díla, které jste věnoval rozvoji morfologických oborů.

Seznam publikací prof. MUDr. Radomíra Čiháka, DrSc. (březen 2008)

připravila Veronika Nemravová

PŮVODNÍ PRÁCE

1. **Čihák, R.:** O stehenní žláze ptakopyska. *Vesmír*, 1952, 31, s. 250–251.
2. **Čihák, R.:** Variace dorsálních svalů stehna v klinickém syndromu Genu flectum congenitum. *Čs. Morfologie*, 1954, 2, s. 1–12.

3. **Brůčková, Z., Čihák, R.:** Klinické a anatomické poznámky k chirurgickému léčení manus vara congenita. *Acta Chir. Orthop. Traum. Českoslov.*, 1956, 23, s. 219–223.
4. **Hněvkovský, O., Čihák, R.:** Muskelvariationen bei Genu flectum congenitum. *Z. Orthop.*, 1957, 88, s. 371–381.
5. **Čihák, R.:** Musculus sphincter colli v ontogenese člověka. *Čs. Morfologie*, 1957, 5, s. 3–15.
6. **Čihák, R.:** Ein neuer Typus der Präparierpinzette. *Z. Orthop.*, 1958, 90, s. 92–93.
7. **Čihák, R., Eiselt, B., Fleischmann, M.:** Použití nového typu preparační pinzety v orthopedické operační technice. *Voj. lék. listy*, 1959, 27, s. 437.
8. **Čihák, R.:** M. pectoralis major a jeho části v ontogenese člověka. *Čs. Morfologie*, 1959, 7, s. 174–191.
9. **Čihák, R.:** M. pectoralis major, m. trapezius a m. latissimus dorsi v ontogenese člověka. (kandidátská dizertační práce). Praha, Fakulta všeobecného lékařství UK, 1960, 104 s.
10. **Čihák, R., Puzanová, L.:** Tvar a poloha pately a utváření úponové části m. quadriceps femoris v době fetální. *Čs. Morfologie*, 1960, 8, s. 15–23.
11. **Čihák, R.:** The origin of interosseous muscles of human hand. *Čs. Morfologie*, 1960, 8, s. 183–194.
12. **Čihák, R.:** M. dorsoepitrochlearis lidských fetů. In: Sborník z Celostátní konference Čs. morfologů, Plzeň, 1961 (abstrakt).
13. **Čihák, R., Popelka, S.:** Částečné defekty velkého prsního svalu. *Acta Chir. Orthop. Traum. Českoslov.*, 1961, 28, s. 185–194.
14. **Puzanová, L., Čihák, R.:** Musculus tensor fasciae latae v ontogenese člověka. *Anthropologia (Brno)*, 1961, 6, s. 1–5.
15. **Čihák, R., Vlček, E.:** Crista et fovea musculi zygomaticomandibularis chez les Primates. *L'Anthropologie*, 1962, 66, s. 503–525.
16. **Čihák, R., Eiselt, B.:** Proposition for replacement of the paralyzed deltoid muscle by parts of m. pectoralis major. *Acta Univ. Carol. Medica*, 1962, 8, s. 367–381.
17. **Čihák, R.:** Musculus latissimus dorsi v ontogenese člověka. *Sborník lékařský*, 1962, 65, s. 21–26.
18. **Čihák, R.:** The development of the dorsal interossei in the human hand. *Čs. Morfologie*, 1963, 11, s. 199–208.
19. **Čihák, R.:** Comment on the paper by K. R. L. Hall: Tool using Performances as Indicators of Behavioral Adaptability. *Current Anthropology*, 1963, 5, s. 488–489.
20. **Čihák, R.:** Vývoj hlubokých svalů lidské ruky. (Habilitationní spis). Praha, Fakulta všeobecného lékařství UK, 1963, 121 s.
21. **Čihák, R., Eiselt, B., Fleischmann, M.:** Reconstruction of thumb opposition by intrinsic hand muscles. *Acta Univ. Carol. Medica (Praha)*, 1963, 9, s. 3–26.
22. **Čihák, R., Hněvkovský, O.:** Vývoj širokého svalu zádového a použití jeho složek. *Acta Chir. Orthop. Traum. Českoslov.*, 1963, 30, s. 3–13.
23. **Eiselt, B., Čihák, R., Fleischmann, M.:** Příspěvek k technice odběru krve z mrtvých. *Voj. zdravot. Listy*, 1965, 34, s. 105–108.
24. **Čihák, R.:** Verwendung eines Kunststoffes zur Herstellung plastischer Rekonstruktionen nach dem Verfahren von Born. *Mitteilungsblatt d. Ges. f. Exper. Med.*, 1968, s. 41–42.
25. **Lunda, O., Čihák, R.:** Klinický význam m. extensor digitorum manus brevis a podobných variací. *Rozhl. Chir.*, 1967, 46, s. 652–658.
26. **Čihák, R.:** The developmental significance of some intrinsic hand muscles. In: *Akten des Anthropol. Kongresses, Brno 1965. Anthropos Brno*, 1967, 19, s. 75–79.
27. **Čihák, R.:** The occurrence of mm. contrahentes and their changes during the development of the human hand. *Folia Morphol. (Praha)*, 1967, 15, s. 197–205.
28. **Čihák, R., Gutmann, E., Hanzlíková, V.:** Morphologische, physiologische Merkmale, Entwicklung und Homologie des M. "levator" ani der Ratte. *Anat. Anz.*, 1967, 120, s. 492–506.
29. **Gutmann, E., Hanzlíková, V., Čihák, R.:** Persistence of the Levator ani Muscle in Female Rats. *Experientia*, 1967, 23, s. 852–853.
30. **Hanzlíková, V., Gutmann, E., Čihák, R.:** Vliv kastrace a denervace na kontrakční vlastnosti musculus levator ani krys. *Čs. Fysiologie*, 1967, 16, s. 24.
31. **Hněvkovský, O., Čihák, R.:** M. sternocleidomandibularis u člověka. Vzácný případ spojený s achondroplazií a s myositis ossificans progressiva congenita. *Acta Chir. Orthop. Traum. Českoslov.*, 1967, 34, s. 12–22.

32. **Čihák, R.:** Contribution à l'ontogénèse des muscles "contrahentes" de la main humaine. *C. R. Ass. Anat.*, 1968, 141, s. 704–712.
33. **Čihák, R.:** Mode of extinction of the contrahent muscle layer in the embryonal human hand. *Folia Morphol. (Praha)*, 1968, 16, s. 184–194.
34. **Čihák, R.:** Musculus opponens pollicis and the deep thenar muscles in human ontogenesis. *Acta Univ. Carol. Medica*, 1969, 15, s. 499–513.
35. **Čihák, R.:** Ontogenesis of the layer of mm. contrahentes in the human foot. *Folia Morphol. (Praha)*, 1969, 17, s. 432–440.
36. **Čihák, R.:** Vývoj kostry a krátkých svalů lidské ruky a nohy (doktorská dizertační práce). Praha, Fakulta všeobecného lékařství UK, 1969, 301 s.
37. **Čihák, R.:** Variations of lumbosacral joints and their morphogenesis. *Acta Univ. Carol. Medica*, 1970, 16, s. 145–165.
38. **Kaneff, A., Čihák, R.:** Die Umbildung des M. extensor digitorum lateralis in der Phylogenese und in der menschlichen Ontogenese. *Acta Anat.*, 1970, 77, s. 583–604.
39. **Čihák, R., Gutmann, E., Hanzlíková, V.:** Involution and hormone-induced persistence of the M. sphincter (levator) ani in female rats. *J. Anat.*, 1970, 106, s. 93–110.
40. **Čihák, R.:** The Connection of the Musculus Abductor Pollicis Longus with the Abductor Pollicis Brevis in Human Ontogenesis. *Scripta Medica*, 1972, 45, s. 15–27.
41. **Čihák, R.:** Ontogenesis of the Skeleton and Intrinsic Muscles of the Human Hand and Foot. *Advances in Anat., Embr., Cell Biol.* Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 46, 1972, 194 s.
42. **Čihák, R.:** Connections of the Abductor pollicis longus and brevis in the Ontogenesis of the Human Hand. *Folia Morphol. (Praha)*, 1972, 20, s. 102–105.
43. **Čihák, R.:** Ontogenesis of the skeleton of the rat polydactyl foot. *Folia Morphol. (Praha)*, 1972, 20, s. 106–109.
44. **Čihák, R.:** Reduction of the Insertion of M. interosseus dorsalis accessorius in Human Ontogenesis. *Folia Morphol. (Praha)*, 1973, 21, s. 228–231.
45. **Čihák, R.:** Musculus trapezius and the change of its formation in human ontogenesis. *Acta Univ. Carol. Medica*, 1974, 20, s. 45–66.
46. **Čihák, R.:** Differentiation and Rejoining of Muscular Layers in the Embryonic Human Hand. In: *Birth Defects, 13th Morphogenesis and Malformations of the Limb.*, New York, A. R. Liss, 1977, s. 97–110.
47. **Čihák, R.:** Developmental Recapitulation as seen in Modern Morphology. In: *19th Morphol. Congress Symposia*, Praha, Univerzita Karlova, 1978, s. 13–21.
48. **Čihák, R.:** Vývojová rekapitulace z hlediska moderní morfologie. In: *Sborník z Paleontol. konference 77*, Praha, Univerzita Karlova, 1978, s. 15–23.
49. **Čihák, R., Doskočil, M., Seichert, V.:** Some morphogenetic aspects of the aneurogenetic and explanted limb primordia. In: *19th Morphol. Congress Symposia*, Praha, Univerzita Karlova, 1978, s. 119–125.
50. **Lösch, G. M., Buck-Gramcko, D., Schrader, M., Čihák, R., Seichert, V.:** Versuch einer Klassifikation der Extremitätenfehlbildungen unter Berücksichtigung von morphogenetischen Faktoren. In: *Congressus Anatomicus Europensis V.*, Praha, 1979, s. 246 (abstrakt).
51. **Čihák, R.:** Die Morphologie und Entwicklung der Wirbelbogengelenke. *Die Wirbelsäule in Forschung und Praxis*, 1981, 87, s. 13–28.
52. **Čihák, R.:** Zusammenfließen von mehreren Anlagen während der Ontogenese des M. brachialis beim Menschen. *Verh. d. Anat. Ges.*, 1982, 77, s. 36.
53. **Čihák, R.:** Morfologie první poloviny 19. století a vystoupení Ch. Darwin. *Čas. Nár. muzea v Praze*, 1983, 152, s. 85–90.
54. **Čihák, R.:** Způsob inervace a vnitřního větvení nervů v m. brachialis člověka. In: *Sborník z 26. Čs. morfol. kongresu*, Hradec Králové, 1983, s. 12 (abstrakt).
55. **Čihák, R.:** Die Innervation und innere Verteilung der Nerven im menschlichen M. brachialis. *Verh. d. Anat. Ges.*, 1983, 78, s. 245.
56. **Čihák, R.:** Periodizität in der Struktur der Kompakta bei Röhrenknochen. *Verh. d. Anat. Ges.*, 1984, 79, s. 129.
57. **Lösch, G. M., Buck-Gramcko, D., Čihák, R., Schrader, M., Seichert, V.:** An Attempt to Classify the Malformations of the Hand Based on Morphogenetic Criteria. *Chirurgia Plastica*, 1984, 8, s. 1–18.
58. **Čihák, R.:** Recapitulation of ancient patterns during ontogenesis of the human hand. In: *Plzeň. lék. sborník*, 1984, 51 (Suppl.), s. 1–18.
59. **Čihák, R.:** The periodic structure in the compacta of long bones. In: *13th Symp. of the Europ. Soc. of Osteoarthrology*, Praha, 1985, s. 12 (abstrakt).
60. **Čihák, R.:** Die Ziele der experimentellen Embryologie in ihrer Historie und Gegenwart. *Verh. d. Anat. Ges.*, 1985, 80, s. 168.
61. **Čihák, R.:** The aims of experimental embryology in its history and at present. *Verh. d. Anat. Ges.*, 1986, 80, s. 85–91.
62. **Čihák, R.:** Die phylogenetisch alten und neuen Merkmale in der embryonalen menschlichen Hand. *Verh. d. Anat. Ges.*, 1987, 81, s. 211–223.
63. **Grim, M., Čihák, R.:** Abortiver Verlauf der Myogenese in der Contrahentenschicht der menschlichen Hand. *Verh. d. Anat. Ges.*, 1987, 81, s. 225–227.
64. **Čihák, R., Grim, M., Dylevský, I.:** Morphological research of the locomotor apparatus. *Czechoslovak Medicine*, 1989, 12, s. 40–52.
65. **Čihák, R., Grim, M., Dylevský, I.:** Morfoloģičeskoe issledovanie dvigatelnogo apparata. *Čechoslovakaja Medicina*, 1989, 12, s. 40–52.
66. **Čihák, R.:** Phylogenetically Ancient Pattern in Ontogenesis of Limb Muscles. In: *Developmental Patterning of the Vertebrate Limb*. Hinchliffe, J. Richard et al. (Eds.) Series A: Life Science Vol. 205. New York, Plenum Press, 1991, s. 355–363.
67. **Čihák, R., Valenta, J.:** The periodic structure of the long bone compacta in man and its functional significance. In: *Valenta, J. et al.: Biomechanics*. Praha, Academia, 1993, s. 66–75.
68. **Valenta, J., Růžička, M., Čihák, R.:** Modelling Tissue Behaviour Based on Hyperelasticity Theory. *Biomedical Materials and Engineering*, 1994, 4, s. 381–395.
69. **Valenta, J., Hruš, T., Sochor, M., Čihák, R., Povýšil, C., Steidl, J.:** Residual Stresses in Human Aorta and their Influences by Growth and Remodelling. *Biomedical Materials and Engineering*, 1997, 7, s. 159–169.
70. **Mečíř, J., Čihák, R.:** Psychické poruchy básníka Friedricha Hölderlina. *Česká a slovenská psychiatrie*, 2000, 96, s. 38–44.
71. **Valenta, J., Víték, K., Čihák, R., Konvičková, S., Sochor, M., Horný, L.:** Age related constitutive laws and stress distribution in human coronary arteries with reference to

- residual strain. *Biomedical Materials and Engineering*, 2002, 12, s. 121–134.
72. **Čihák, R., Královec, K., Roček, Z.:** Developmental Origin of the Frontoparietal Bone in *Bombina variegata* (Anura: Discoglossidae). *J. Morphol.*, 2003, 255, s. 122–129.
73. **Seichert, V., Čihák, R., Naňka, O.:** Průvodce sbírkami Anatomického ústavu 1. lékařské fakulty UK. Praha, Nakladatelství Karolinum, 2006, 99 s.
74. **Čihák, R.:** Sbírký Anatomického ústavu 1. LF UK v Praze. In: Seichert, V., Čihák, R., Naňka, O.: Průvodce sbírkami Anatomického ústavu 1. lékařské fakulty UK. 1. vyd. Praha, Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2006, s. 9–11.
75. **Čihák, R.:** Historie anatomie. In: Seichert, V., Čihák, R., Naňka, O.: Průvodce sbírkami Anatomického ústavu 1. lékařské fakulty UK. 1. vyd. Praha, Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2006, s. 24–35.
76. **Čihák, R.:** Poslední etapy vývoje rodu *Homo* – člověk. In: Seichert, V., Čihák, R., Naňka, O.: Průvodce sbírkami Anatomického ústavu 1. lékařské fakulty UK. 1. vyd. Praha, Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2006, s. 35–37.
77. **Čihák, R.:** Antropologie. In: Seichert, V., Čihák, R., Naňka, O.: Průvodce sbírkami Anatomického ústavu 1. lékařské fakulty UK. 1. vyd. Praha, Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2006, s. 37–39.
78. **Haninec, P., Vereš, P., Orlický, M., Tomáš, R., Čihák, R.:** Development and clinical significance of the dorsoepitrochlearis muscle in man (rukopis).

PŘÍLEŽITOSTNÉ ČLÁNKY

79. **Čihák, R., Kos, J.:** In memoriam Prof. MUDr. et RNDr. Ladislav Borovanský, DrSc. *Folia Morphol.* (Praha), 1972, 20, s. 99–101.
80. **Čihák, R.:** Pamjati profesora Ladislava Borovanského, doktora medicinských i estestvennych nauk. *Archiv Anat. Gistol. Embriol.*, 1972, 62, s. 116–117.
81. **Pařízek, J., Morávek, F., Čihák, R.:** 80th birthday of Prof. Dr. V. Vrtiš. *Folia Morphol.* (Praha), 1981, 29, s. 323–325.
82. **Čihák, R.:** Stellung von Latein in der medizinischen Fachnomenklatur. In: *Sammelschrift der Konferenz der EIRENE*, 1983, 82, s. 218–221.
83. **Čihák, R.:** Vzpomínka na profesora MUDr. Leo Lemeže, DrSc. *Sborník lékařský*, 2001, 102, s. 535–536.
84. **Čihák, R.:** Prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc. – 65 let. *Čas. Lék. čes.*, 2006, 145, s. 143.
85. **Čihák, R., Grim, M.:** Za prof. MUDr., RNDr. h.c. Emanuelem Vlčkem, DrSc. *Čas. Lék. čes.*, 2007, 146, s. 178–177.
86. **Čihák, R.:** Anatomie pohybového aparátu pro kursy ZTV. Praha, Ústav pro rozvoj školství, 1960.
87. **Čihák, R., Rychter, Z.:** Návod k topografické pitvě. I. – Pitva hlavy a krku. Praha, SPN, 1963.
88. **Čihák, R., Rychter, Z., Lemež, L.:** Návod k topografické pitvě. II. – Pitva hrudníku, zad, břicha a pánve. Praha, SPN, 1963.
89. **Lemež, L., Čihák, R., Rychter, Z.:** Návod k topografické pitvě. III. – Pitva horní a dolní končetiny. Praha, SPN, 1963.
90. **Čihák, R., Rychter, Z.:** Návod k topografické pitvě. I. – Pitva hlavy a krku. 2. doplň. vyd. Praha, SPN, 1966.
91. **Čihák, R., Rychter, Z., Lemež, L.:** Návod k topografické pitvě. II. – Pitva hrudníku, zad, břicha a pánve. 2. doplň. vyd. Praha, SPN, 1966.
92. **Lemež, L., Čihák, R.:** Návod k topografické pitvě. III. – Pitva horní a dolní končetiny. 2. doplň. vyd. Praha, SPN, 1966.
93. **Čihák, R., Rychter, Z.:** Návod k topografické pitvě. I. – Pitva hlavy a krku. 3. doplň. vyd., Praha, SPN, 1967.
94. **Čihák, R., Rychter, Z., Lemež, L.:** Návod k topografické pitvě. II. – Pitva hrudníku, zad, břicha a pánve. 3. doplň. vyd. Praha, SPN, 1967.
95. **Lemež, L., Čihák, R.:** Návod k topografické pitvě. III. – Pitva horní a dolní končetiny. 3. doplň. vydání. Praha, SPN, 1967. 98 s.
96. **Čihák, R., Med, M., Macháček, S.:** Anatomie člověka. Edice obrazů pro magnetickou tabuli. Praha, Komeňum, 1974.
97. **Čihák, R.:** Anatomie pro posluchače lékařství. I. Obecná anatomie a pohybový aparát. Praha, SPN, 1980, 270 s.
98. **Čihák, R.:** Anatomie pro posluchače lékařství. I. Obecná anatomie a pohybový aparát. 2. doplň. vyd. Praha, SPN, 1985, 270 s.
99. **Čihák, R.:** Anatomie 1. Praha, Avicenum, 1987, 448 s.
100. **Čihák, R.:** Anatomie pro posluchače lékařství. II. Gastropulmonální systém. Praha, SPN, 1987, 240 s.
101. **Čihák, R.:** Anatomie pro posluchače lékařství. II. Gastropulmonální systém. 2. doplň. vyd. Praha, SPN, 1988, 244 s.
102. **Čihák, R.:** Anatomie pro posluchače lékařství. III. Urogenitální systém a žlázy s vnitřní sekrecí. Praha, SPN, 1988, 162 s.
103. **Čihák, R.:** Anatomie 2. Praha, Avicenum, 1988, 387 s.
104. **Čihák, R.:** Anatomie pro posluchače lékařství. IV. Angiologie. Praha, SPN, 1989, 219 s.
105. **Čihák, R.:** Anatomie 3. Praha, Grada Publishing – Avicenum, 1977, 655 s.
106. **Čihák, R.:** Anatomie 1. 2. uprav. a doplň. vyd. Praha, Grada Publishing – Avicenum, 2001, 497 s.
107. **Čihák, R.:** Anatomie 2. 2. uprav. a doplň. vyd. Praha, Grada Publishing – Avicenum, 2002, 470 s.
108. **Čihák, R.:** Anatomie 3. 2. uprav. a doplň. vyd. Praha, Grada Publishing – Avicenum, 2004, 692 s.

ODBOBNÁ REDAKCE A EDITORSKÁ ČINNOST

109. **Christ, B., Čihák, R. (Eds.):** Development and Regeneration of Skeletal Muscles. Symposium held on occasion of the 7th European anatomical congress in Innsbruck. *Bibliotheca Anatomica*, no. 29. Basel, Karger, 1986, 221 s.
110. **Borovanský, L. et al.:** Soustavná anatomie člověka. Díl 1. 4., oprav. a zčásti pozmeněné vyd. (odborná redakce **R. Čihák**). Praha, Avicenum, 1972, 583 s.
111. **Borovanský, L. et al.:** Soustavná anatomie člověka. Díl 2. 4., oprav. a zčásti pozmeněné vyd. (odborná redakce **R. Čihák**). Praha, Avicenum, 1973, 589–1055 s.
112. **Borovanský, L. et al.:** Soustavná anatomie člověka. Díl 1. 5., oprav. a zčásti pozmeněné vyd. (odborná redakce **R. Čihák**). Praha, Avicenum, 1976, 583 s.
113. **Borovanský, L. et al.:** Soustavná anatomie člověka. Díl 2. 5., oprav. a zčásti pozmeněné vyd. (odborná redakce **R. Čihák**). Praha, Avicenum, 1976, 589–1055 s.

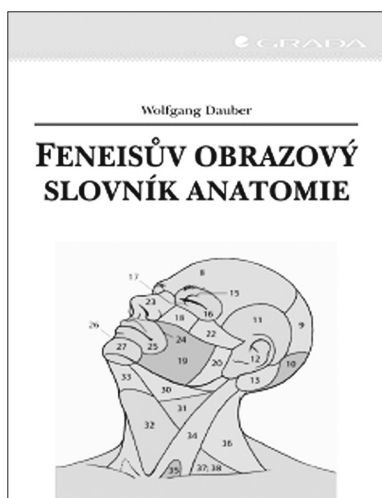
PŘEKLADY A REDAKCE

114. Překlad a redakce: **Čihák, R., Lemež, L.:** Heinz Feneis. Anatomický obrazový slovník. 4. přepracované německé vydání, 1. české vydání. Praha, Avicenum, 1981, 478 s.
115. Redakce překladu a účast na překladu: **Čihák, R., Lemež, L.:** R. D. Sinělnikov. Atlas anatomie člověka. Díl 1. Praha, Avicenum, 1980, 467 s.
116. Redakce překladu a účast na překladu: **Čihák, R., Lemež, L.:** R. D. Sinělnikov. Atlas anatomie člověka.

- Díl 2. Praha, Avicenum, 1981, 472 s.
117. Redakce překladu a účast na překladu: **Čihák, R., Lemež, L.:** R. D. Sinělnikov. Atlas anatomie člověka. Díl 3. Praha, Avicenum, 1982, 399 s.
118. Překlad a redakce knihy: **Čihák, R., Lemež, L.:** Heinz Feneis. Anatomický obrazový slovník 7. německé přepracované a rozšířené vydání, 2. české vydání. Praha, Grada Publishing – Avicenum, 1996. 455 s.
119. Překlad, úprava a redakce knihy: **Čihák, R., Grim, M.:** Wolfgang Dauber. Feneisův obrazový slovník anatomie. 9. německé, zcela přepracované vydání, 3. české vydání. Praha, Grada Publishing, 2007. 536 s.

ník anatomie. 9. německé, zcela přepracované vydání, 3. české vydání. Praha, Grada Publishing, 2007. 536 s.

*prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc.
a prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.
Anatomický ústav
1. a 2. lékařské fakulty UK
U Nemocnice 3, 128 00 Praha 2
fax: +420 224 965 770,
e-mail: milos.grim@lf1.cuni.cz
rastislav.druga@lf1.cuni.cz*



FENEISŮV OBRAZOVÝ SLOVNÍK ANATOMIE překlad 9. zcela přepracovaného vydání

Wolfgang Dauber

Feneisův obrazový slovník anatomie se za více než 30 let stal opravdovým pojmem. Současné 9., zcela přepracované vydání profesorem Wolfgangem Dauberem navazuje úspěšně na tradici předchozích vydání. Všechny anatomické pojmy jsou slovem i obrazem vysvětleny krátce, pregnantně a precizně.

V tomto vydání byly poprvé použity poslední platné termíny stanovené FCAT (Federative Committee on Anatomical Terminology), a tato nová Terminologia Anatomica se tak stala podkladem pro více než 1250 odborných výrazů.

V knize je přes 8000 pojmů definováno přesně a krátce a nejméně jedenkrát je příslušný výraz zakreslen na více než 800 anatomických vyobrazeních.

Kniha je ideální příručkou pro přípravu na zkoušku či při potřebě rychle si některý anatomický pojem objasnit. Publikace je mimořádně přínosná a důležitá pro studenty medicíny a stomatologie, lékaře, vědecké pracovníky a pro všechny, kteří ke své práci potřebují znalost správných anatomických odborných pojmů.

Originál publikace vydalo nakladatelství Georg Thieme Verlag. Precizně přeložili a vzhledem k nové anatomické nomenklatuře upravili prof. MUDr. R. Čihák, DrSc. a prof. MUDr. M. Grim, DrSc.

Ukazuje se, že v klinické praxi se znovu stává znalost anatomických pojmů nezbytnou a její bezchybné použití je dokladem dobré erudice lékaře.

Vydalo nakladatelství Grada Publishing a.s., formát A5, pevná vazba, 548 s., cena 590 Kč (939 Sk), ISBN 978-80-247-1456-1, kat. číslo 1636.

Objednávku můžete poslat 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 název časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli.

ZPRÁVY

SÉRIE SEMINÁŘŮ „NOVÁ LEGISLATIVA“ PROGRAMU PACE OSLOVILA I LÉKAŘE

Více než 600 lékařů se zúčastnilo série odborných seminářů na téma „Nová léková legislativa pro lékaře“, kterou v dubnu a květnu pokračoval kontinuální vzdělávací program lékárníků a lékařů PACE 2010.

Semináře byly zařazeny mezi akce kontinuálního vzdělávání členů České lékařské komory (ČLK) a stěžejní částí jejich programu je byla odborná přednáška osvětlující ze všech úhlů dopady nové legislativy na každodenní praxi lékařů. Jejím garantem pro legislativu byla přednášející – JUDr. Monika Bakešová, která se jako advokátka specializuje na zdravotnické právo, zvláště se zaměřením na legislativu týkající se léčivých přípravků, lékárenství a farmaceutického průmyslu.

Program PACE 2010 je kvalitativně novou formou prověřeného projektu Pharmacy & Apotex Continuing Education, který byl založen v Kanadě v roce 1991 největší kanadskou farmaceutickou společností Apotex. V České republice zahrnuje

NOVÁ LÉKOVÁ LEGISLATIVA PRO LÉKAŘE

JUDr. Monika Bakešová,
garant pro legislativu programu PACE 2010

konference, semináře, publikační činnost, výzkumné projekty aj. Odborným garantem projektu je bývalý prezident České lékařské komory (ČLeK) PharmDr. Lubomír Chudoba.

Program byl zahájen v únoru letošního roku sérií odborných seminářů na téma „Nová legislativa v praxi lékárníka“. Spo-

lečnost Apotex ČR také vyšla vstříc zájmu odborníků a na počátku května vydala i tištěného průvodce „Nová legislativa v praxi lékárníka“, který praktickým a přehledným způsobem seznamuje lékárníky a farmaceutické asistenty s těmi ustanoveními, která souvisejí s jejich každodenní prací, především s výdejem léčivých přípravků. Na 18. června přichystala obdobného průvodce i pro lékaře. Orientaci lékárníků a lékařů v novém právním prostředí, které vytváří reforma zdravotnictví, odnědávna napomáhá i Právní poradna, kterou společnost Apotex otevřela pro odbornou veřejnost v rámci programu PACE na svých webových stránkách.

„Cílem programu PACE je rozvíjet profesionalitu lékárnického stavu, podporovat jeho spolupráci s lékaři a přispět tak ke zvýšení kvality a bezpečnosti léčení pacientů,“ vysvětluje ředitelka společnosti Apotex ČR Martina Antenová. Další aktivity programu PACE 2010 budou následovat průběžně. Více naleznete na www.pace.cz.

J. Hořčica

MEDICAL FAIR

Předposlední říjnový týden (21.–24. října 2008) se na brněnském výstavišti bude konat nejvýznamnější přehlídka zdravotnické techniky, vybavení nemocnic, lékařských praxí, rehabilitace a protetiky v regionu střední Evropy – největší mezinárodní středoevropský zdravotnický veletrh MEDICAL FAIR, doposud známý jako HOSPIMedica.

Veletrh je tradičním místem setkání špičkových odborníků ze všech oblastí zdravotnictví z České republiky i ze zahraničí. Jaké novinky lze letos očekávat?

Evropské špičky budou v Brně prezentovat svoje zkušenosti se zaváděním elektronického zdravotnictví a aplikací infor-

mačních technologií do zdravotnictví. Odborný program veletrhu naváže na úspěchy minulých let a ještě více svoji specializaci prohloubí. Top témata zdravotnického veletrhu MEDICAL FAIR budou i letos HI-TEC technologie a nově lékařské obory, které mají v našem regionu jednoznačně špičkovou evropskou úroveň – ať už se jedná o témata z oblasti chirurgie, onkologie či asistované reprodukce. Prezentace silných oborů bude probíhat jak v rámci odborných kongresů – mezinárodních a kreditovaných, tak i v rámci výstavní plochy – v tzv. „start up centrech“.

V expozicích se budou tedy opět prezentovat nejmodernější technologie a výrobky odrážející poslední trendy v diagnostice a léčebných postupech. V rámci

kongresů proběhnou i setkání nad tématy zdraví, prevence, rehabilitace, fyzioterapie – jen namátkou ta nejžádanější témata pro odbornou veřejnost. Celkově očekáváme zájem 5000 aktivních účastníků z tuzemska i ze zahraničí.

Veletrh MEDICAL FAIR byl letos premiérově zařazen mezi proexportní veletrhy a koná se s podporou Ministerstva průmyslu a obchodu ČR. Součástí projektu je realizace incomingového programu obchodních misí z vytípaných teritorií, o které naši vystavovatelé projevují dlouhodobě velký zájem. Pro vystavující firmy bude připraven opakovaně projekt BUSINESS POINT, který umožní si předem dohodnout obchodní jednání se zahraničními partnery. Více informací najdete na: www.medical-fair.cz

M. Střítecký

KNIHY

**Koukolík, F.
PŘED ÚSVITEM, PO RÁNU**

Praha, Karolinum 2008, 225 s., vydání první, formát 185 x 140 mm, brožované, dvoubarevné. ISBN 978-80-246-1496-0.

Vlastností všech knih MUDr. F. Koukolíka, DrSc. je, že jsou „chytře“. Je to tím, že on sám je velmi vzdělaný, sečtělý. Má o čem psát a umí to napsat. Patří k uznávaným populizátorům medicíny, speciálně neurověd. Především z těchto důvodů jsem se s touto knihou seznámil a rozhodl se podat o ní zprávu.

O čem kniha je? Předkládá nové (převážně experimentální) poznatky o vývoji dětského mozku a dětské psychiky (poznávání, interpretace materiálních i psychických jevů, které dítě obklopují, jejich vznik, fyziologický vývoj a narušení aj.). Kniha je rozdělena do sedmi kapitol, jejichž obsah na sebe vzájemně navazuje, nebo se i prolí-

ná. První kapitola (s poetickým názvem *Před úsvitem*) se zabývá vznikem a vývojem druhů a stavbou a funkcí jejich mozku (14 s.), druhá (rozsahově největší – 60 s.) citovým vývojem dítěte. Třetí poznáváním (38 s.), čtvrtá pamětí (18 s.), pátá jazykem a řečí (22 s.). Zvláštní, byť krátká šestá kapitola (jen 8 s.) se věnuje problematice čísel – úmyslně nepíše „matematiky“. Tato problematika je mimořádně zajímavá, protože se týká pochopení a manipulace s abstraktními pojmy (snad proto se mi konstrukce i interpretace citovaných experimentů „moc nezdála“). Poslední, sedmá kapitola s názvem „*Jak se tvoří člověk*“, je druhá nejdelší (48 s.) a velmi zajímavá, ale také velmi spekulativní (např. jak to bylo s „jástvím“ u Australopitěka a *Homo ergaster* nelze asi ani tušit, tím méně kvantifikovat, také některé pokusy provedené např. na 6 členech nemohu přijmout jako přesvědčující). Ale přes tyto připomínky je tato kapitola velmi, velmi zajímavá a inspirativní.

Odkazy na literaturu, z níž autor čerpal, jsou – jako konečně vždy – z posledních několika let, a časopisy náleží k velmi prestižním.

Kniha je sice určena široké veřejnosti, „přestože je náročnější“ (citace z autorovy předmluvy). S tím je nutné jen a jen souhlasit – dokonce si myslím, že těch „dědečků a babiček, kteří budou mít sílu ji přečíst“ (citace z autorovy předmluvy) nebude skutečně mnoho.

Co napsat závěrem? Ani tento titul čtenáře knih MUDr. F. Koukolíka, DrSc. nezklame. Mohu ji doporučit tomu, kdo si chce přečíst kvalitní populárně-vědeckou knihu (nejen „pro babičky a pro dědečky“), kdo se chce dozvědět něco nového (určitě se dozví!) a kdo chce třeba o prázdninách strávit s knihou řadu hezkých hodin.

Jan Petrášek
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

**Perlík, F.:
ZÁKLADY KLINICKÉ
FARMAKOLOGIE**

Praha, Galén, 2008, 192 s., Vydání první, 280 x 185mm, brožované vydání, dvoubarevné, cena 690 Kč. ISBN 978-80-7262-528-4.

Požadavky EU na profil, rozsah a úroveň zubních lékařů (nikoliv již stomatologů) si vyžádalo přepracování celého výukového curricula. To si vyžádalo mj. vypracování nových učebních pomůcek. Základy klinické farmakologie jsou jedna z prvních učebnic pro tuto „modernizovanou“ výuku na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze. Rozsahem i úrovní odpovídá požadavkům tak, jak byly stanoveny EU.

Nesnadného úkolu napsat novou učebnici farmakologie podle tohoto zadání se ujal přednosta Farmakologického ústavu 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Institutu pro další vzdělávání lékařů ve zdravotnictví prof. MUDr. František Perlík, DrSc. Úkol byl nesnadný mj. i proto, že tato

koncepte učebnice farmakologie nemá precedent.

Kniha je rozsahem přiměřená době výuky tohoto předmětu na fakultě, odráží předpoklad, že zubní lékař nebude nikdy léčit interně nemocné, a tudíž ani předepisovat speciality. Výjimkou jsou akutní stavy, o nichž musí být informován a poučen tak, aby je mohl úspěšně zvládnout na úrovni kvalifikované první pomoci.

Kniha ale uvádí vše podstatné i potřebné: Farmakokinetické principy, Farmakodynamické principy, Individuální rozdíly lékové odpovědi, Lékové interakce, Nežádoucí účinky léčiv, Terapeutické monitorování léčiv, Toxicitu látek a jejich antidota i Klinické hodnocení léčiv. Zvláštními kapitolami jsou Podávání léčiv v těhotenství a při kojení a Farmakoterapie ve stáří. Zvláštní důraz (odrážející se i v rozsahu kapitol) je věnován Farmakoterapii bolesti, Farmakoterapii anestezie, Farmakoterapii úzkosti a sedaci, Profylaxi a léčbě infekce v zubním lékařství, Nežádoucím účinkům léků v zubním lékařství, Urgentním stavům v zubním lékařství a Prevenci zubního kazu.

Text je informačně bohatý, i když velmi úsporně psaný, dobře se čte a bude se i dobře pamatovat. Je doplněn 65 přehlednými tabulkami (!), schémata, algoritmy. Specifické určení knihy vyjadřují i odstavce „Poznámky po zubní praxi“, na závěr jednotlivých skupin léků.

Jsem přesvědčen, že kniha splňuje nejen odborné, ale i pedagogické požadavky na vysokoškolskou učebnici. Věřím, že se dočká dalších vydání, a i když bude třeba doplňována (podle budoucích znalostí farmakologie), rozšiřována a modifikována, zcela určitě bude zachována její nadčasová a pro zubní lékaře doslova „na míru šitá“ koncepce. V té nemá – alespoň prozatím – žádný precedent. Prof. F. Perlíkovi patří uznání, nakladatelství Galén poděkování za rychlé a pečlivé vypravení a knize samé zájem studentů, jimž je určena. Nepochybuji, že kniha bude úspěšná.

Jan Petrášek
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých

UPOZORNĚNÍ PRO AUTORY

Níže uvedené Pokyny pro autory se v některých bodech liší od pokynů dříve uveřejňovaných, zejména upozorňujeme na nutnost přiložit k článkům typu původní práce a vyšetřovací metody anglický překlad. Žádáme autory, aby pokynům a přípravě rukopisů věnovali zvýšenou pozornost.

Pokyny pro autory

Časopis lékařů českých zpoplatňuje publikaci článků s dedikací grantového či jinak finančně podporovaného výzkumu a vývoje z veřejných zdrojů. Cena jedné černobílé tiskové strany v časopisu je 1800 Kč včetně DPH a potřebnou částku lze čerpat z prostředků na tento výzkum.

Pokud si přeje autor článku uveřejnit dedikaci grantu, výzkumnému záměru apod., zašle redakci spolu s rukopisem vyplněný formulář objednávky k publikaci práce. Formulář lze nalézt na domácí stránce ČLČ (). Na objednávku je třeba uvést přesnou adresu plátce, v případě právnické nebo podnikající fyzické osoby také IČ a DIČ. Příslušná částka bude fakturována ve fázi korektury a daňový doklad bude autorovi zaslán po zveřejnění článku. Rukopisy s dedikací bez přiložené objednávky nebudou redakcí posuzovány a autor bude upozorněn na nutnost zaslání objednávky publikace. Pokud ani pak redakce objednávku neobdrží, bude rukopis autorovi vrácen.

Bližší informace Vám poskytne Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 224 266 258 (Marcela Havlíková), fax: 224 266 226, e-mail: havlikova@cls.cz.

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Časopis lékařů českých je vydáván Českou lékařskou společností J. Ev. Purkyně. Je časopisem interdisciplinárním. Tím se liší od úzce oborově profilovaných časopisů odborných společností. Je časopisem vědeckým, publikujícím přehledové články a původní vědecké práce ze všech oborů medicíny. Přináší rovněž informace z jednání, sjezdů, recenze nejnovějších knih, kapitoly z dějin medicíny, osobní zprávy, kazuistiky, články o pre- i postgraduálním vzdělávání lékařů, odpovědi na odborné dotazy čtenářů aj.

Tyto Pokyny pro autory jsou v souladu s „Jednotnými požadavky na úpravu rukopisů určených k publikaci v lékařských a biologických časopisech“ (3. revize, 1988, „Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals“ publikovanými v plném překladu v Čas. Lék. čes., 2000, 139, s. 31.

OBECNÉ POŽADAVKY NA ÚPRAVU RUKOPISŮ

K publikaci v Časopisu lékařů českých může být přijat pouze rukopis, který nebyl a nebude publikován v jiném časopisu. Výjimku tvoří pouze abstrakta vědeckých konferencí.

Rukopisy zasílejte v originálu a jedné kopii formátu A4. **Přiložte tabulky, obrázky, fotografie i seznam použité literatury a celý text včetně příloh na CD nebo disketě 3,5“ (Word 6.0/95 a vyšší verze, typ písma Times New Roman, velikost 12, řádkování 1,5). Text, který má být zvýrazněn, podtrhněte souvislou čarou, text, který má být kurzívou, podtrhněte vlnovkou. Text v elektronické podobě graficky neupravujte!**

Redakce netrvá na „Imprimatur“ vedoucího pracoviště; jeho udělení ponechává na zvyklostech pracoviště. **K originálu rukopisu přiložte prohlášení podepsané všemi uvedenými autory, že splňují požadavky autorství a že souhlasí s jeho uveřejněním v předkládaném znění, a dále prohlášení, že autoři souhlasí s bezplatným a časově neomezeným zveřejněním jejich článku na internetu.**

Práce musí být formulovány s konečnou platností.

Při autorské korektuře není dovoleno měnit, eventuálně doplňovat text. Korekturu je nutné provést podle platných korektorských značek (ČSN 88 0410), a to nejlépe výraznou (barevnou) tužkou. **Korektury vracejte obratem, nejpozději však do 8 dnů od data odeslání z redakce.** Na pozdější autorské korektury nemůže být z časových důvodů brán zřetel.

Pro urychlení komunikace uvádějte prosím svoji e-mailovou adresu a telefonní číslo.

MÍRY, HMOTNOSTI, JEDNOTKY

Výsledky chemických, fyzikálních i klinických vyšetření se uvádějí v jednotkách SI normy (Système international de Unités). Hodnoty pulzu, teploty a krevního tlaku je možné uvádět v konvenčních jednotkách.

NÁZVY LÉČIV

U léčivých specialit je nutné vedle výrobního názvu uvést i generický název.

ZKRATKY A SYMBOLY

Pokud je použita zkratka, musí před jejím prvním použitím v textu předcházet plný název. **V nadpisu a souhrnu zkratky nepoužívejte.** Seznam zkratek v abecedním pořádku s vysvětlením přikládejte na zvláštním listu.

TABULKY

Rozsáhlé tabulky přeplněné daty nebudou přijaty. Každá tabulka musí být na zvláštním listu, číslována arabskými číslicemi, s popisem, vysvětlivkami a symboly statistického hodnocení. **Číslo tabulky musí být uvedeno na příslušném místě v textu.**

OBRAZOVÁ DOKUMENTACE

Obrázky, fotografie musí mít profesionální úroveň. **Pérovky, fotografie a výstupy z přístrojů přijímá redakce ve formátech tif, eps a jpg, grafy v programu Excel zpracované pro jednobarevný tisk. Fotografie, obrázky, grafy a schémata dodejte na disketě 3,5“, CD, zip nebo jaz, ale veškerá dokumentace musí být zaslána i v papírové podobě.** Pokud jsou obrázky ve formátu jpg, je třeba užít velkého rozlišení (nejlépe kompresní poměr 10–12) z důvodů kvality. Názvy obrázkových souborů musí vycházet ze jména autora a čísla obrázku (např. MACEK1.tif).

U mikrofotografií musí být uveden způsob barvení a zvětšení. Každou ilustraci označte na rubu jménem autora a počátkem názvu práce a označte horní okraj obrázku. Jménem autora a názvem práce označte i médium (disketu, CD...). **Autor je povinen zbavit dokumentaci osobních iniciál pacienta.**

Možnosti **barevné reprodukce** jsou v časopisu omezeny. Časopis přešel na systém úhrady barevných reprodukcí. V rukopisech předkládaných k publikaci je nutné přesně vyznačit, **kteř obrázky mají být barevné, a připojit písemný souhlas s platbou.** Je třeba uvést přesnou adresu plátce, v případě právnické nebo podnikající fyzické osoby také IČ a DIČ. **Barevné strany** bez ohledu na to, kolik obsahují barevných obrázků, **si hradí autoři sami.** Obrazová dokumentace, která nebude mít tyto náležitosti, bude automaticky publikována černobíle.

KLÍČOVÁ SLOVA

Tři až deset klíčových slov uveďte pod souhrnem/abstraktem. Užívejte termínů/hesel z Index Medicus (tezaurus MeSH).

LITERATURA

Smí obsahovat jen skutečné prameny, tj. publikace, na něž se autor v textu odvolává. Nesmějí se uvádět práce jen z důvodů formálních. **Citace jsou sestaveny v pořadí, v jakém se vyskytují v textu, nikoliv řazeny abecedně.** V textu citace vyznačte číslem v závorce, např. (1).

Vyhýbejte se odkazům na abstrakta; tzv. „nepublikovaná pozorování“, „ústní sdělení“ a „osobní informace“. Správnost odkazu (citace) by měla být ověřena. Při citacích **upřednostňujte domácí autory a publikace před zahraničními.**

Příklady citací monografické publikace (1), příspěvku v monografické publikaci (2), ve sborníku (3), článku v časopisu (4):

1. **Haškovcová, H.:** Informovaný souhlas. Praha, Galén, 2007, 104 s.

2. **Máček, M.:** Stárnutí a tělesná aktivita. In: Kalvach, Z., Zadák, Z., Jirák, R. et al.: Geriatrie a gerontologie. 1. vyd. Praha, Grada Publishing, 2004, s. 153–164.

3. **Dunovský, J.:** Umluva o právech dítěte a práva dětí v České republice. In: Sborník z 1. mezinárodní konference o dětských právech, České Budějovice, Zdravotně sociální fakulta JU, 2003, s. 5–15.

4. **Gürlich, R., Novotný, J., Stríž, I. et al.:** Riziko vzniku malignity po orgánové transplantaci. Čas. Lék. čes., 2005, 144, s. 597–600.

POUŽITÍ CIZÍCH MATERIÁLŮ

Materiály (schémata, obrázky, grafy aj.) převzaté z jiných pramenů/publikací mohou být publikovány pouze s písemným souhlasem osoby/nakladatelství, které mají příslušné autorské/nakladatelské právo (copyright ©). Vyžádejte si svolení i od autorů prací v tisku, nepublikovaných dat, příp. osobního sdělení. Písemné potvrzení o svolení přiložte k rukopisu.

ETICKÉ ASPEKTY

Je-li referováno o pokusech na lidech, přiložte čestné prohlášení, že studie byla před zahájením schválena místní etickou komisí. **Zásadně neuvádějte na ilustrujícím materiálu jména nebo iniciály nemocných nebo nemocniční či protokolová čísla.** U pokusů na zvířatech uveďte, zda byly dodrženy ústavní nebo národní předpisy a směrnice pro chov a experimentální používání zvířat, nebo přiložte čestné prohlášení o souhlasu místní etické komise.

KONFLIKT ZÁJMŮ

Autor má povinnost oznámit redakci podporu firmy, jejíž produkt v práci použil.

Předpokládá se, že autoři přehledových farmakoterapeutických článků nejsou finančně zainteresováni (nebo konkurenti) ve společnosti/firmě, o jejímž výrobku v článku referují.

Všechny informace tohoto druhu, které budou redakci svěřeny, budou drženy v tajnosti.

FORMY PUBLIKACÍ A JEJICH ROZSAH

Přehledový článek

Maximální rozsah 10 stran textu, tj. 2500 slov, 40 citací, 4 kusy libovolných ilustrací, pokud redakce nerozhodla jinak.

Aktuální téma, Původní práce, Speciální sdělení, Vyšetřovací metody

Maximální rozsah textu 10 stran, tj. 2500 slov, 6 tabulek, 40 citací, 4 ilustrace.

Farmakoterapie, Kazuistika, Lékařská etika, Dějiny lékařství, Vzdělávání

Maximální rozsah 8 stran, tj. 2000 slov, 30 citací, 4 ilustrace.

Komentáře

Maximální rozsah 4 strany, tj. 1000 slov, 5 citací.

Zprávy ze sjezdů a konferencí

Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov; u světových sjezdů 3 strany, tj. 750 slov.

Recenze

Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov.

Dopisy redakci, Diskuze

Maximální rozsah 2 strany, tj. 500 slov, 5 citací.

Zprávy, Osobní zprávy

Maximální rozsah 1,5 strany.

Maximální rozsah 2,5 strany + fotografie. Jubilea významných osobností (pouze 60, 70, 80, 90 let).

Otázky z praxe

Maximální rozsah půl strany, bez citací.

ÚPRAVA JEDNOTLIVÝCH TYPŮ ČLÁNKŮ

Aktuální téma, Přehledový článek, Farmakoterapie, Kazuistika, Speciální sdělení

Titulní strana:

krátký, výstižný název práce,
zkratka jména, příjmení autora/ů,
úřední název pracoviště.

Souhrn: 2x (1x česky, 1x anglicky), maxim. rozsah 1 strana (200 slov) bez vnitřního členění, zakončeno 3–10 klíčovými slovy.

Vlastní text. Seznam použitých zkratk. Literatura. Poděkování.

Celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

Původní práce, Vyšetřovací metody

Titulní strana:

krátký, výstižný název práce,
zkratka jména, příjmení autora/ů,
úřední název pracoviště.

Strukturovaný abstrakt: 2x (1x česky, 1x anglicky), maxim. rozsah 1 strana (200 slov).

Části abstraktu:

Východisko: 2–4 věty charakterizující stav problému, 2–3 věty udávající cíl práce.

Metody a výsledky: charakteristika sledované skupiny, použité metody. Nejvýznamnější výsledky, vyjádřené numericky s udáním statistické významnosti.

Závěry: co z dané studie vyplývá.

Klíčová slova: 3–10 slov.

Vlastní text, metody, výsledky, diskuze. Seznam použitých zkratk. Literatura.

Celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ

Všechny rukopisy typu původní práce a vyšetřovací metody jsou od 1. ledna 2008 redakci přijímány pouze s anglickým překladem, který dodá autor. Článek v angličtině podléhá stejným požadavkům recenzentů jako článek v češtině a po proběhlém recenzním řízení a příp. úpravách bude uveřejněn v anglické mutaci časopisu na internetu. Redakce překlady nezajišťuje, vyhrazuje si však právo nekvalitní překlad vrátit autorovi k přepracování.

Zprávy ze sjezdů, Dějiny lékařství, Dopisy redakci, Diskuze

Titulní strana:

krátký, výstižný název práce,
zkratka jména, příjmení autora/ů,
úřední název pracoviště.

Vlastní text, celé jméno s tituly, adresa, fax a e-mail prvního autora.

U VŠECH FOREM RUKOPISŮ

Pod seznam použité literatury se uvádí informace o případné podpoře grantem (plný název agentury a číslo grantu), dále přesná adresa pracoviště i bydliště a rodné číslo prvního autora.

Každý rukopis je hodnocen redakcí a prochází zdvojeným recenzním řízením. Nepřijatá práce jsou na vyžádání vráceny zpravidla do 3 měsíců.

Redakce nepřijme práce:

kteřé neodpovídají uvedeným požadavkům,
kteřé byly nepříznivě posouzeny recenzenty,
jestliže redakce v poslední době práci stejného tématu přijala nebo již publikovala,

není-li v záměru redakce a posláni časopisu danou problematiku publikovat,

pokud k článku charakteru původní práce či vyšetřovacích metod není přiložen anglický překlad.

Rukopisy vyhovující uvedeným požadavkům zasílejte na adresu:

prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.

I. interní klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady

Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

e-mail: horak@fnkv.cz

LAUREÁTI NOBELOVY CENY

V roce 1947 získali Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu tři vědci, kteří na dvou od sebe vzdálených místech odlišnými přístupy zásadně obohatili poznání látkové přeměny cukrů.

CARL FERDINAND CORI

(1896–1984)

Syn zoologa Carla Isidora Coriho a Marie Lippichové a prapravnuk českého národního buditele Františka Martina Pelcla se narodil 5. prosince 1896 v Salmovské ulici č. 6 v Praze 2. Jeho otec se v roce 1898 stal ředitelem zoologické stanice v Terstu; rodina ho následovala a Carl tam prožil dětství až do maturity na terstském klasickém gymnáziu (1914). Několik dní nato začala válka, zoologická stanice byla uzavřena a personál včetně otce povolán k armádě, kdežto Carl odešel do Prahy studovat na německé univerzitě lékařství. Počátkem roku 1917 byl však i on povolán jako zdravotník do služby v Krkonoších a na italské frontě.

Po válce studium v Praze dokončil; promován byl 20. května 1920, nedlouho po Gerty Radnitzové, přítelkyni a spoluautorce první publikace o komplementu (1920). Pro manželství se židovkou se římský katolík rozhodl proti vůli rodičů; 5. srpna 1920 byli oddáni u sv. Josefa ve Vídni a oba tam už zůstali: Gerty pracovala v dětské nemocnici, Carl dopoledne jako asistent na I. lékařské klinice prof. H. Eppingera a odpoledne ve farmakologickém ústavu vídeňské univerzity; studoval fyziologii a farmakologii tvorby srdečních vzruchů, čímž zaujal prof. H. H. Meyera a ten ho doporučil H. R. Gaylordovi, řediteli Státního ústavu pro výzkum zhoubných chorob v Buffalo (stát New York), který hledal v Evropě nadějných biochemiků. Rozhovory s Gaylordem nikam nevedly; Cori, hmotnou i morální bídou poválečné Vídně rozčarováný, přijal nabídku prof. O. Loewiho a na podzim 1921 se stal asistentem farmakologického ústavu univerzity ve Štýrském Hradci. Tam však bylo ještě huře. Manželé se přihlásili k pětileté práci na Jávě.

Náhle přišlo pozvání od Gaylorda – počátkem roku 1922 tedy nastoupil Cori jako biochemik v Buffalo. Práci v ústavu našel i pro Gerty a chtěl ji zapojit do svého bádání. Zprvu však narážel na tamní zásadu, že pracovat s vlastní ženou je „neamerické“. Od počátku se manželé věnovali studiu látkové přeměny cukrů: Předmětem jejich zájmu byla kvantitativní analýza

metabolismu monosacharidů i glykogenu a jeho regulace v živočišném těle i ve zku-mavce. V roce 1928 zveřejnili své závěry: metabolickou dráhu, v jejímž průběhu je glykogen v játrech odbouráván na glukózu, ta v krvi putuje do svalu, kde je z ní opět stavěn glykogen, ze svalu je krví odváděn laktát a v játrech je z něj znovu budován glykogen, nazvali „cyklus karbohydrátů“ („Cori cycle“).

Aby se zbavil přítěže rutinní práce, stal se Carl asistentem v ústavu fyziologie univerzity v Buffalo (1930–1931); pak přijal nabídku místa mimořádného profesora a přednosta farmakologického ústavu na Washingtonově univerzitě v Saint Louis (1931); Gerty umístil na ústavu jako výzkumnou pracovníci.

Po objevu „cyklu karbohydrátů“ sledovali jednotlivé jeho kroky: identifikovali 5'-adenylovou kyselinu jako aktivátor; objevili glukóza-1-fosfát (G-1-P, „Cori ester“), potvrdili jeho strukturu syntézou a prokázali, že se uvolňuje reakcí glykogenu s anorganickým fosfátem, čímž se glykogenový řetězec zkracuje o jeden glukózový zbytek; fosforylázou nazvali enzym katalyzující tuto reakci, fosfoglukomutázou enzym proměňující G-1-P v G-6-P, který je poté glukóza-6-fosfatázou měněn ve volnou glukózu uvolňovanou do krve. V dalších letech usilovali o syntézu glykogenu ve zku-mavce. Veřejně ji Carl předvedl 12. dubna 1939 přilítím roztoku enzymu do roztoku G-1-P. Vyvrátil tak představu, že reakce může probíhat jen v živých buňkách, a podal důkaz struktury glykogenu syntézou.

Prozkoumání syntézy a chemické struktury produktu tvořeného z G-1-P vyžadovalo fosforylázou v čisté podobě; v letech 1942–1943 probádali její přípravu i vlastnosti a objevili v játrech „roztěvovací enzym“ katalyzující připojení glukózových zbytků a s fosforylázou vytvářející strukturu glykogenu.

Kromě ústavu farmakologie vedl Cori od roku 1942 za děkana fakulty i ústav biochemie a vedení laboratoří svěřil Gerty. V roce 1944 byl jmenován řádným profesorem biochemie, po dvou letech přešel na ústav biochemie jako přednosta a jeho ústav se stal světovým centrem biochemického výzkumu.

V roce 1947 byla Carlovi a Gerty udělena Nobelova cena „za jejich objev průběhu katalytické přeměny glykogenu“.

Později zkoumal Cori strukturu polysacharidů vlastními enzymatickými metodami, izoloval a purifikoval několik enzymů a zkoumal jejich účinky; od počátku

50. let s Gerty do konce jejího života (1957) a s B. Illingworthovou do svého odchodu ze Saint Louis (1966) odhaloval na molekulární úrovni enzymové defekty jako podstatu chorob ze střádání glykogenu. Zároveň studoval metabolické regulace; ukázal, že glukagon a adrenalin zvyšují míru konverze fosforylázy b v a, čímž kontrolují míru glykogenolýzy v játrech; prokázal stimulaci vstřebávání glukózy inzulinem a inhibici hexokinázy při diabetu. V roce 1966 opustil Saint Louis a do konce života působil jako hostující profesor biochemie na lékařské fakultě Harvardovy univerzity; v laboratoři pro výzkum enzymů Massachusettské všeobecné nemocnice se zabýval studiem glukóza-6-fosfatázy, její purifikací a identifikací strukturálního genu pro její syntézu; s genetičkou S. Gluecksohn-Waelschovou prokázal nezbytnost jak strukturálních, tak regulačních genů k syntéze jednotlivých bílkovin; zahájil tím novou etapu výzkumu regulace syntézy enzymů na úrovni genové exprese.

Zemřel 20. října 1984 ve svém domě v Cambridge (Massachusetts).

GERTY THERESA RADNITZOVÁ-CORIOVÁ

(1896–1957)

Potomek starých pražských židovských rodů, dcera budoucího centrálního ředitele cukrovarů Otto Radnitze a Marthy rozené Neustadtlové, narodila se 15. srpna 1896 v Petřské ulici č. 25 (dnes 29) na pražském Novém Městě. Do deseti let byla vyučována doma, pak navštěvovala dívčí lyceum (1906–1912). Toužila studovat chemii, proto po dvouleté domácí přípravě složila maturitu na reálném gymnáziu v Děčíně (1914). Pak ale na přání prastrýce, profesora pediatrie Roberta Wolfa Raudnitze, vystudovala na pražské německé univerzitě lékařství (1914–1920).

Brzy se spřátelila s kolegou Carlem Corim, společný badatelský rozběh však přerušila jeho válečná služba (1917–1918); tehdy Gerty jako asistentka pomáhala při výuce (1917–1919). Po Carlově návratu se podílela na práci o komplementu, završené první společnou publikací. 31. ledna 1920 byla v Praze promována a 5. srpna 1920 se u sv. Josefa ve vídeňském Mariáhilfu za Carla provdala. Oba si ve Vídni našli práci – Carl na klinice prof. H. Eppingera a v ústavu farmakologie, Gerty v Karolinině dětské

nemocnici, kde se vedle péče o pacienty mohla věnovat i bádání; na placené místo ve výzkumu však neměla naději. Přitom v hladovějící poválečné Vídni trpěla podvýživou a ztrátu zraku z xeroftalmie odvrátila teprve přechodným návratem do mnohem lépe zásobované Prahy.

Na podzim 1921 odešel Carl na univerzitu do Štýrského Hradce, nevydržel však ani tam a Gerty byla už odhodlána sdílet s ním pět let práce na Jávě; pak ale byl pozván do Státního ústavu pro výzkum zhubných chorob v americkém Buffalo. Na jaře 1922 nastoupil a opatřil jí místo výzkumné pracovnice na oddělení patologie téhož ústavu; za půl roku ho následovala. V dobře vybavené laboratoři prováděla rutinní mikroskopická vyšetření; když chtěla jednotvárné povinnosti vyvážit účastí na Carlově výzkumu, poznala tamní přísné zásady potírání nepotismu – byla varována, že může ohrozit manželovu kariéru. Přesto si uměla poradit: Ilegální pokusy přenesla z Carlovy laboratoře pod svůj mikroskop a vtípně je zakomponovala do svých úkolů. Výsledkem byla publikace uznale přijímané studie o vlivu hormonů štítné žlázy na rozmnožování trepek (1923). Tehdy zveřejnila Gerty i čtyři práce o vlivu paprsků X na kůži a metabolismus tělních orgánů (za expozici záření zaplatila později zdravím).

Badatelské úspěchy jí otvíraly dosud zavřené dveře: Roku 1925 byla přijata jako asistentka na oddělení biochemie a na manželově výzkumu se už neskryvaně podílela. Jako první autor je podepsána pod významnou publikací jejich metodiky kvantitativní analýzy hexóza-monofosfátů. Společně objevenou metabolickou dráhu nazvali „cyklus karbohydrátů“, v celém světě je však znám jako „Cori cycle“ (v českém písemnictví mnohdy přezíravě „cyklus Coriho“).

V roce 1931 opustili Buffalo, když Carl přijal profesuru farmakologie a vedení farmakologického ústavu lékařské fakulty Washingtonovy univerzity v Saint Louis ve státě Missouri a Gerty u něho nastoupila jako výzkumná pracovnice. Pokračovali ve studiu „cyklu karbohydrátů“; v tropickém vedru mimořádně horkého srpna 1936 vydržela těhotná prvoroďička v laboratoři bez klimatizace do poslední chvíle a třetí den po porodu jediného syna byla už zase zpět, když ze žabího svalu izolovali meziprodukt cyklu a identifikovali jej jako glukóza-1-fosfát (vžité synonymum „Cori ester“ mívá nepřesný český překlad „ester Coriho“).

Z Gertina podnětu a pod jejím vedením zahájili na konci 30. let průkopnický výzkum enzymů, který vyvrcholil uprostřed II. světové války, kdy Gerty řídila

laboratoře ústavu za zaneprázdněného Carla. V roce 1942, zatímco ovdovělou Marthu Radnitzovou vezl transport z Prahy do Terezína, aby tam přežila pouhých čtyřicet dnů, pracovaly za mořem její dcera s A. A. Greenovou na čtyřech epochálních studiích o krystalické svalové fosforyláze; objevily formy a a b. Gerty s Carlem pak zjistili jejich interkonverzi a pochopili její roli v metabolické regulaci.

V roce 1944 byl Carl jmenován přednostou biochemického ústavu a Gerty konečně mimořádnou profesorkou biochemie Washingtonovy univerzity; řádné profesury se dočkala až v roce 1947, kdy byli oba manželé „za svůj objev průběhu katalytické přeměny glykogenu“ poctěni Nobelovou cenou. V projevu na stockholmské slavnosti zdůraznil Carl podíl své ženy: „Naše úsilí se velkou měrou vzájemně doplňovalo a tak daleko jako spolu bychom jeden bez druhého nedošli.“

Gerty – jedna z pěti v Praze narozených nositelů Nobelovy ceny, polovina třetího manželského páru laureátů po Curieových (1903) a Joliot-Curieových (1935), teprve čtvrtá nobelistka – občanka USA po bojovnicích za mír Addamsově (1931) a Balchové (1946) a spisovatelce Buckové (1938), teprve třetí žena světa po Marii a Ireně Curieových a první (až do roku 1963 jediná) žena celého amerického kontinentu poctěná za některou z věd – byla nadto po nepřetržité řadě padesáti mužů první a až do roku 1977 jedinou ženou-laureátkou ceny za medicínu.

Do Stockholmu odjížděla Gerty s diagnózou myelofibrózy. Zhoršující se chorobě čelila pilnou prací v laboratoři: s J. Larnerem prohlubovala poznání struktury glykogenu a objevila „odvětovací enzym“ amylo-1,6-glukozidázu, posledních šest let života pak věnovala glykogenózám. Prokázala, že podstatou každé z nich je porucha funkce jednoho či více enzymů katalyzujících přeměny glykogenu, podle toho je třídila („Cori classification“) na typy („Cori type I–VIII“) a sama určila čtyři z nich – z nedostatku glukóza-6-fosfatázy v játrech (glykogenóza I), z nedostatku odvětovacího enzymu amylo-1,6-glukozidázy (glykogenóza III), z nedostatku větvicího enzymu amylo-(1,4→1,6)-transglukozidázy (glykogenóza IV) a z neznámé enzymové poruchy (glykogenóza VIII). Jedna z chorob – glykogenóza III (koncová neboli limitní dextrinóza) – je v obecné vědecké mluvě zvána „Cori disease“ (tu je maskulinum v českém překladu zvláště nepatřičné).

Deset let vzdorovala Gerty těžké chorobě vstoje. Laboratoř neopouštěla, ani když ji po ní Carl musel později přenášet. Zemřela v Saint Louis 26. října 1957.

BERNARDO ALBERTO HOUSSAY

(1887–1971)

Na sklonku 19. století se v Buenos Aires usadili právník Albert Houssay a jeho žena Clara rozená Laffontová, oba Francouzi. Z osmi jejich dětí proslulo čtvrté – syn Bernardo Alberto, narozený 10. dubna 1887. Chlapec s úžasnou pamětí získal ve třinácti letech bakalaurát s poctami od Colegio Nacional de Buenos Aires a zvolil studium farmacie. Když je sedmnáctiletý dokončil (1904), už ho představa kariéry v tomto oboru nelákala a rozhodl se studovat dále, tentokrát lékařství. Už v roce 1907 se stal asistentem na ústavu fyziologie a v roce 1910 mimořádným profesorem fyziologie na veterinární fakultě. Doktorát medicíny získal v roce 1911 po obhajobě dizertace *Estudios sobre la acción de los extractos hipofisarios* (Studie působení hypofyzárních výtahků), poctěné univerzitní cenou. Sám zvolil téma dosud v Argentině netknuté a vypracoval i vlastní metodiku.

Po nemocniční praxi se v roce 1913 stal hlavním lékařem Alvearovy nemocnice, v letech 1915–1919 vedl zároveň i laboratoř experimentální fyziologie a patologie v Národním hygienickém ústavu. Roku 1919 byl jmenován profesorem fyziologie a ředitelem ústavu fyziologie lékařské fakulty. Nedostatek peněz na odborný laboratorní personál překonával s pomocí studentských nadšenců, materiál získával levně z místních jatek a v chudém vybavení laboratoře hledal klady stránky (míní, že přílišná technika může svazovat badatelovy duševní síly). S přispěním Rockefellerovy nadace přivedl ústav už ve 20. letech minulého století k věhlasu světového střediska biomedicínského výzkumu.

Už v dizertaci otevřel Houssay svá životní témata interakce endokrinních žláz a metabolismu sacharidů. I v následujících dvou desetiletích přes šíři i rozmanitost zájmů zůstala hypofýza předmětem mnoha publikací jako *La acción fisiológica de los extractos hipofisarios* (Fyziologické působení hypofyzárních výtahků), 1918; jiným endokrinním žlázám věnoval práce jako *Tiroides e inmunidad: Estudio crítico y experimental* (Štítná žláza a imunita: kritická a experimentální studie – 1924), (s A. Sordellim). Koncem 20. let umožnila dostupnost inzulínu Houssayovi zkoumat diabetogenní účinky výtahků z předního laloku hypofýzy. Objevil citlivost psů po odstranění podvěsku vůči hypoglykemizujícímu účinku inzulínu. Nejdůležitějšími plody tohoto období jsou *Functions of the Pituitary Gland* (Funkce hypofýzy – 1936), *La acción diabetogena de la hipofisis* (Diabetogenní působení hypofýzy – 1945)

a koruna literárního díla – Fisiología humana (Lidská fyziologie – 1946) přeložená do mnoha jazyků (např. Human Physiology – 1948).

Druhou významnou stránkou Houssayova díla je úsilí o reformu výuky a výzkumu ve fyziologii i ostatních vědách. Věnoval tomu řadu článků-pamfletů od *La investigación es la función primera de la universidad* (Výzkum je prvotním posláním univerzity) v roce 1923 přes *Concepto de la universidad* (Pojetí univerzity) a *La crisis actual y bases para el adelanto de la universidad* (Nynější krize a východiska pro pokrok univerzity) ve 40. letech až po *Organization of Scientific Research in Latin America* (Organizace vědeckého výzkumu v Latinské Americe), *My Struggle for Science* (Můj boj za vědu) a *Role of the Scientist in Modern Society* (Úloha vědce v moderní společnosti) v 60. letech. Jeho snahy omezovat memorování a zkoušky ve prospěch praktické výuky nebyly zprvu vítány, oponenty však přesvědčoval úspěšností svých absolventů.

Byl přísným ochráncem akademických

svobod a svobody vědeckého bádání. Po nástupu Perónovy vojenské diktatury v roce 1943 podepsal manifest žádající demokracii na všech úrovních a svobodnou mezinárodní spolupráci, načež byl zbaven místa na univerzitě. Tehdy založil a od otevření v roce 1944 řídil soukromý Instituto de Biología y Medicina Experimental (Ústav biologie a experimentální medicíny), kde pokračoval ve výzkumu. Na univerzitu se vrátil nakrátko v roce 1945. Po nástupu Peróna do prezidentského úřadu (1946) však vládou dosazený univerzitní „interventor“ poslal devětapadesátiletého profesora do penze. Houssay byl pak zahrnován nabídkami ze zahraničí, všechny však odmítl v přesvědčení, že musí zůstat ve vlasti jako symbol a jako jádro budoucí výzkumné struktury, o níž usiloval.

V roce 1947 mu byla udělena Nobelova cena „za objev významu hormonů předního laloku hypofýzy pro metabolismus cukrů“. Pro Argentinu to byla první Nobelova cena za medicínu a druhá vůbec. Oslavy však byly úředně zakázány, vládní tisk označoval výběr laureáta za politicky motivovaný,

zpochybňoval původnost a hodnotu jeho díla a káral Houssaye za přehlížení skutečných lékařských problémů jako tuberkulóza, lues a rakovina.

Druhý návrat na univerzitu umožnil až konec Perónova režimu (1955). O rok později však Houssay rezignoval. Zato v roce 1957 prosadil vytvoření Národní rady pro vědecký a technický výzkum. Zpočátku byl jejím předsedou, do konce života ředitelem a v těchto funkcích se pokoušel, dovolávaje se vlastenectví mladých vědců, zadržovat odliv mozků z Argentiny. K tomu celé čtvrtstoletí života po Nobelově ceně věnoval řízení Ústavu biologie a experimentální medicíny a nepřestal bádát. Do poslední práce o ketonemii u psa po pankreatektomii (1970) si uchoval pozornost každému hledisku zkoumaného problému. Zemřel 21. září 1971 v Buenos Aires.

MUDr. Pavel Čech
Kabinet dějin lékařství 3. LF UK
Ruská 87, 100 00 Praha 10
e-mail: pavel.cech@lf3.cuni.cz



*Maličkosti dělají dokonalost,
ale dokonalost není maličkost.*

MICHELANGELO BUONAROTTI