

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST
J. E. PURKYNĚ



ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

VEDOUČÍ REDAKTOR

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

REDAKČNÍ RADA

Prof. MUDr. Jaroslav Blahoš, DrSc.
Česká lékařská společnost J. Ev. Purkyně
Sokolská 31, 120 26 Praha 2

Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
Pšenčíkova 16,
142 00 Praha 12

Doc. MUDr. Petr Čáp, PhD.
Centrum alergologie a klinické 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 08 Praha 2

Prof. MUDr. Miloš Hájek, DrSc.
Chirurgická klinika ÚVN
U Vojenské nemocnice 1/1200, 169 02 Praha 6

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

Prof. MUDr. Jan Holčík, DrSc.
Ústav sociálního lékařství a veřejného
zdravotnictví LF MU
Kamenice 5, 625 00 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 patologické fyziologie LF UKa
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
Slovenská republika

Prof. MUDr. Peter Jarčuška, PhD.
I. interná klinika FN
tr. SNP 83/11, 040 11 Košice
Slovenská republika

Doc. MUDr. Lubomír Kukla, CSc.
RECETOX, Přírodovědecká fakulta MU
Kamenice 126/3, 625 00 Brno

Prof. 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 8

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

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

Prof. MUDr. Miroslav Zavoral, Ph.D.
Interní klinika 1. LF UK s ÚVN
U Vojenské nemocnice 1/1200, 169 02 Praha 6

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

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

Přehledový článek

Šmalcová J, Brůha R. Kardiovaskulární změny u jaterní cirhózy123

Původní práce

Mravčík V, Burešová Z, Popov P, Miovský M. Záchytné stanice v České republice v kontextu obdobných služeb o akutně intoxikované v Evropě..... 129

Kazuistika

Čeledová L, Čevela R, Ornerová A. Zkušenosti s personalizovanou medicínou při posuzování invalidity u duševních poruch a poruch chování.....135

Abstrakta

Brdička R. 16. celostátní konference DNA diagnostiky (Brno, 28.–30. listopadu 2012) 139

Sjezdy

Berka J. Co a jak budeme léčit v příštích letech? (Praha, 18. ledna 2013).....160
Kohoutová M, Veselá K. 13. Kaprasův den (Praha, 13. února 2013).....161
Čáp P. Provokační testy v alergologii (Praha, 14. února 2013).....161

Zprávy

Osobní zprávy.....163

Knihy

Laureáti Nobelovy ceny.....167

Laureáti Nobelovy ceny

Čech P. Baruch Samuel Blumberg.....167

CONTENTS

(No. 3, 15th June 2013) Journal of Czech Physicians

Review Articles

Šmalcová J, Brůha R. Cardiovascular abnormalities in liver cirrhosis123

Original Article

Mravčík V, Burešová Z, Popov P, Miovský M. Sobering-up stations in the Czech Republic in the context of analogous models of care for acute intoxications in Europe..... 129

Case Report

Čeledová L, Čevela R, Ornerová A. Experience with personalised medicine with respect to disability assessment in patients suffering from mental and behavioural disorders135

Abstracts

Brdička R. 16th National Conference on DNA Diagnostics (Brno, November 2012) 139

Congresses

Berka J. What and how we will cure in the future years? (Prague, January, 18, 2013).....160
Kohoutová M, Veselá K. Kapras' day (Praha, February 13, 2013)161
Čáp P. Provocation tests in allergology (Praha, February 14, 2013)161

News

Personal News.....163

Books

Nobel Prize Laureates.....167

Nobel Prize Laureates

Čech P. Baruch Samuel Blumberg.....167

<http://www.cls.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2013

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Online verze časopisu na: www.prolekare.cz/cls

Registrací a zadáním svého předplatitelského kódu, který najdete na přebalu časopisu, získáte přístup do online verze časopisu a jeho archivu.
Kontakt pro dotazy: info@prolekare.cz nebo +420 602 244 819



Vedoucí redaktor:
prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.

Odpovědná redaktorka:
Mgr. Helena Glezgová,
e-mail: helena.glezgova@seznam.cz

**Vydává: Česká lékařská společnost
Jana Evangelisty Purkyně,**
Sokolská 31, 120 26 Praha 2

Pro ČLS JEP připravuje Mladá fronta a. s.



Generální ředitel: Ing. David Hurta

Ředitel divize Medical Services:
MUDr. Martin Hofman

Koordinátor odborných časopisů ČLS JEP:
MUDr. Michaela Lizlerová

Produkční: Bc. Michaela Hrdinová

Grafická úprava, sazba: Petra Tejnická

Kreativní ředitel: René Decastelo

Art director: Petr Honzátko

Marketing:
ředitelka marketingu: Hana Holková
brand manager: Kristýna Dytrychová

Distribuce a výroba:
ředitelka distribuce a výroby: Soňa Štarhová
manažerka předplatného: Jana Horáková
výroba: Monika Šnaidrová

Tisk: EUROPRINT a. s.

V ČR rozšiřuje: Postservis Praha
Olšanská 38/9, 225 99 Praha 3

V SR: Mediaprint Kapa – Pressegrasso, a. s.,
Vajnorská 137, P.O. BOX 183
831 04 Bratislava

Vychází: 6krát ročně
Předplatné: na rok pro ČR je 636,00 Kč,
SR 29,70 €, jednotlivé číslo 106 Kč,
SR 4,95 €.

**Informace o předplatném podává
a objednávky předplatitelů přijímá:**
ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2,
tel.: 296 181 805 – J. Spalová,
e-mail: spalova@cls.cz

Inzerce: Dana Vavřínková, vavrinkova@mf.cz
tel.: +420 225 276 299

Rukopisy 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: jjfhorak@gmail.com

Rukopis byl předán do výroby 19. 4. 2013.
Zaslané příspěvky se nevracejí.
Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány,
autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu.

**Příspěvky do Časopisu lékařů českých
procházejí zdvojeným recenzním řízením.
Articles published in the Journal of Czech
Physicians are subject to double review.**

Vydavatel získává otištěním příspěvku výlučné nakladatelské právo k jeho užití.
Vydavatel a redakční rada upozorňují, že za obsah a jazykové zpracování inzerátů a reklam odpovídá výhradně inzerent.
Žádná část tohoto časopisu nesmí být kopírována za účelem dalšího rozšiřování v jakékoli formě či jakýmkoliv způsobem, ať již mechanickým nebo elektronickým, včetně pořizování fotokopii, nahrávek, informačních databází na mechanických nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění.

Kardiovaskulární změny u jaterní cirhózy

Jana Šmalcová, Radan Brůha

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

Čas. Lék. čes. 2013; 152: 123–128

ÚVOD

Hyperdynamický syndrom byl popsán u pacientů s cirhózou již před více než 50 lety. Zahrnoval zvýšenou tepovou frekvenci, zvýšený srdeční výdej a zvýšený plazmatický objem s redukcí systémové vaskulární rezistence a krevního tlaku. Tyto abnormality byly zpočátku připisovány toxickému účinku alkoholu. Na podkladě mnoha klinických i experimentálních studií však bylo prokázáno, že kardiovaskulární abnormality se vyskytují u pacientů s jaterní cirhózou zcela nezávisle na její etiologii.

V současnosti jsou kardiovaskulární abnormality asociované s výskytem jaterní cirhózy a portální hypertenze nejčastější etiologie známým klinickým syndromem ve světové literatuře označovaným jako cirhotická kardiomyopatie (KMP). Tato jednotka byla poprvé oficiálně definována na Světovém kongresu gastroenterologie v Montrealu v roce 2005. Na rozdíl od alkoholické kardiomyopatie, která je řazena mezi dilatační KMP s jednoznačnou souvislostí s abúzem alkoholu, se v případě „cirhotické KMP“ jedná o chronickou oběhovou dysfunkci zahrnující pokles systémové vaskulární rezistence, abnormální a zhoršenou reakci na zátěž (fyzikální nebo farmakologickou), ale normální až

zvýšený srdeční výdej a kontraktilitu za klidových podmínek a/nebo diastolickou dysfunkci levé komory a elektrofyzilogické abnormality, v nepřítomnosti jiného známého kardiálního onemocnění (1–5).

Diagnostická kritéria „cirhotické kardiomyopatie“ shrnuje tabulka 1. „Cirhotická kardiomyopatie“ bývá klinicky latentní, může se demaskovat až během fyzické nebo farmakologické zátěže, při dekompenzaci zdravotního stavu či v rámci výkonů, které představují pro organismus větší nároky na udržení homeostázy a rekonvalescenci (např. zavedení TIPS, transplantace jater). Až 50 % pacientů s jaterní cirhózou podstupujících transplantaci jater vykazuje známky kardiální dysfunkce, která nebyla před transplantací odhalena a až 7–21 % úmrtí po ortotopické transplantaci jater je na podkladě srdečního selhání (6).

EPIDEMIOLOGIE

Epidemiologická data jsou prakticky nedostupná vzhledem k obtížné diagnostice, protože u většiny pacientů je klidová funkce myokardu normální. Většina pacientů je diagnostikována ve fázi klinické dekompenzace cirhózy,

SOUHRN

Jaterní cirhóza je spojena s řadou kardiovaskulárních abnormalit. Pro cirhotické pacienty je charakteristická hyperdynamická splanchnická i systémová cirkulace, která souvisí s arteriální vazodilatací vedoucí k centrální hypovolémii, retenci natria a navýšením intravaskulárního volumu. V souvislosti s těmito změnami jsou pozorovány patofyziologické změny v systolické a diastolické funkci srdce a v jeho elektrofyzilogii popisované v literatuře jako tzv. cirhotická kardiomyopatie. Vzhledem

k obtížnější včasné diagnostice mohou tyto změny nepoznaně vyústit v manifestní srdeční selhání. To může dále negativně ovlivňovat morbiditu a mortalitu již tak závažného stavu, jakým je jaterní cirhóza, proto zůstává zatím předmětem pokračujícího výzkumu..

KLÍČOVÁ SLOVA

kardiomyopatie – hyperdynamická cirkulace – jaterní cirhóza – elektrofyzilogické abnormality – srdeční selhání

SUMMARY

Šmalcová J, Brůha R. Cardiovascular abnormalities in liver cirrhosis

Cirrhosis of the liver is associated with a number of cardiovascular abnormalities. Characteristic features in cirrhotic patients include hyperdynamic splanchnic as well as systemic circulation. This is related to arterial vasodilation leading to central hypovolaemia, sodium retention and increased intravascular volume. As a result of these changes, signs of systolic and diastolic dysfunction of the heart with electrophysiological correlates can develop; this condition is

referred to as cirrhotic cardiomyopathy. Since early diagnosis may be difficult, undiscovered cardiovascular changes can manifest in cardiac failure. It can negatively affect morbidity and mortality of what is already a serious condition such as cirrhosis, and what is a good enough reason for continued research.

KEYWORDS

cardiomyopathy – hyperdynamic circulation – cirrhosis of the liver – electrophysiological abnormalities – cardiac failure

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

kdy jsou přítomny klinické známky kardiální insuficience. Kardiální dysfunkce je nepochybně dobře tolerovaná, měsíce až roky asymptomatická a v mnoha případech nemusí být symptomy snadno odlišitelné od symptomů základního onemocnění. Do jaké míry přispívá jaterní cirhóza ke kardiální dysfunkci, a tím ke zvýšení morbidity a mortality pacientů je stále otázkou.

VZTAH MEZI CIRHOTICKOU A ALKOHOLICKOU KARDIOMYOPATIÍ

Kardiální dysfunkce u alkoholického onemocnění jater je připisována toxickému účinku alkoholu na myokard. Je dobře známo, že chronický abúzus alkoholu způsobuje dilataci srdečních oddílů až do obrazu dilatační kardiomyopatie. Alkohol poškozuje myokard sám o sobě a rovněž prostřednictvím svého metabolitu acetaldehydu. Jako nespecifické histologické známky etanolové kardiotoxicity jsou popisovány disperzní oblasti svalové degenerace, intersticiální fibróza a známky chronického zánětu (7). Podobné histologické změny byly popisovány u pacientů s jaterní cirhózou nezávisle na etiologii (8, 9). Je tedy otázkou, zda popisované změny jsou v souvislosti s alkoholickou nebo „cirhotickou kardiomyopatií“.

PATOFYZIOLOGIE

Mechanismus vedoucí k hyperdynamické cirkulaci není ještě zcela přesně objasněn. Iniclace hyperdynamické cirku-

lace je připisována splanchnické a i systémové arteriolární vazodilataci, která dále vyvolává zvýšení srdečního výdeje a tepové frekvence. Vazodilatace je způsobena pravděpodobně nadprodukcí vazodilatačních působků systémového i intestinálního původu, které při základním onemocnění jater obcházejí biodegradační procesy v játrech. Splanchnická arteriolární vazodilatace vede k redukci systémové vaskulární rezistence s aktivací vazokonstrikčních systémů, jako jsou sympatoadrenální systém, systém renin-angiotenzin-aldosteron, endoteliny, neuropeptid Y aj. vedoucí k rozvoji hyperkinetické cirkulace (3).

V souvislosti s rozvojem hemodynamických změn a „cirhotické kardiomyopatie“ u jaterní cirhózy je zkoumána celá řada dalších vazoaktivních substancí – např. glukagon, vazoaktivní intestinální peptid (VIP), tumor necrosis factor α (TNF- α), oxid dusnatý (NO), endotoxiny a další. Za nejvýznamnější z nich je považován NO. Podle hypotézy Vallance a Moncada (10) je periferní vazodilatace u jaterní cirhózy připisována hlavně uvolnění NO z endotelu produkujícího velké množství NO-syntázy za přispění cirkulujících cytokinů a endotoxinů, které se tak rovněž významně podílejí na rozvoji hyperkinetické cirkulace. Blokáda tvorby NO u zvířecích modelů a cirhotických pacientů významně zvýšila arteriální tlak a snížila plazmatický objem i retenci natria.

Srdeční výdej je regulován autonomním nervovým systémem a závisí na síle srdečního stahu, tepové frekvenci a regulaci diastolického plnění. Tyto fyziologické mechanismy jsou u pacientů s jaterní cirhózou v různé míře modifikovány – v důsledku zvýšení sympatické nervové ak-

Tab. 1 Diagnostická a podpůrná kritéria cirhotické kardiomyopatie (převzato z 26)

Diagnostická kritéria	systolická dysfunkce	nedostatečné zvýšení srdečního výdeje během zátěže klidová ejekční frakce < 55 %
	diastolická dysfunkce	E/A poměr < 1 (s ohledem na věk) prodloužený decelerační čas (> 200 ms) prodloužený čas izovolumické relaxace (> 80 ms)
Podpůrná kritéria		elektrofyzilogické abnormality abnormální chronotropní odpověď elektromechanická dysynchronie prodloužený QTc interval zvětšená levá síň zvýšený BNP a pro-BNP elevace troponinu

Tab. 2 Srovnání hodnot ejekční frakce LK (%) u pacientů za klidových podmínek a rozdíl změny oproti hodnotám EF LK při zátěžové ventrikulografii (volně podle 19)

	Kontrolní skupina	Pacienti bez ascitu	Pacienti s ascitem
Hodnoty klidové ejekční frakce LK (%)	65 ± 4	74 ± 5	72 ± 7
Rozdíly hodnot EF LK při zátěžové ventrikulografii oproti klidovému echokardiografickému vyšetření	6 ± 3	-3 ± 2	-2 ± 3

tivity se zvyšuje tepová frekvence a kontraktilita a dochází k expanzi cirkulujícího objemu. V pokročilejších fázích jaterního onemocnění progreduje pokles periferní vaskulární rezistence, a tím se snižuje efektivní vaskulární objem a krevní tlak, navíc dochází k úniku tekutin do třetího prostoru. Aktivací homeostatických mechanismů dochází k produkci neurohormonů působících jako vazokonstriktory a jako substance působící retenci tekutin a natria, jako jsou např. noradrenalin, angiotenzin, aldosteron, antidiuretický hormon aj. Ty přispívají na jedné straně k udržení oběhové stability, z druhé strany mají negativní vliv na složení tělesných tekutin a mohou nepříznivě ovlivňovat strukturu a funkci srdce. Retence sodíku je hlavním rysem jaterní cirhózy, exkrece natria je nižší oproti normě a vede k progresivní plazmatické expanzi. Podílí se na ní mimo jiné zvýšená aktivita sympatiku, který přímo stimuluje renální retenci natria a vody a nepřímo aktivuje systém renin-angiotenzin-aldosteron, který zvyšuje retenci natria a vody. S postupujícím jaterním onemocněním je porucha metabolismu sodíku stále zřetelnější, což přispívá i k progresi kardiální dysfunkce a ke stále zřetelnějším známkám retence tekutin.

KLINICKÝ OBRAZ, FUNKČNÍ ZMĚNY A STRUKTURÁLNÍ ZMĚNY SRDCE

Z klinického hlediska je fyzikální nálezný u pacientů s cirhotickou kardiomyopatií poměrně chudý, protože většina symptomů jaterní cirhózy a srdečního selhání splývá (otoky, nevykonnost, ascites, fluidothorax, dušnost). Navíc snížení periferní vaskulární rezistence snižuje afterload (odpor, proti kterému je krev ze srdce vypuzována), a tím oddaluje manifestaci známek srdečního selhání. Vzhledem k principu tohoto „ochranného mechanismu“ je zřejmé, že podání terlipressinu ve fázi dekompenzace jaterní cirhózy může naopak vést k demaskování a manifestaci kardiální dysfunkce (11). Z hlediska diferenciální diagnostiky existuje mnoho kardiálních onemocnění vedoucích k lehké až středně významné kardiální dysfunkci, která může napodobovat cirhotickou kardiomyopatii. Pacienti s jaterním onemocněním mohou mít současně se vyskytující primární kardiální onemocnění jako např. ischemická choroba srdeční (ICHS), hypertrofická KMP. U jaterní cirhózy bylo popsáno mnoho aspektů kardiální dysfunkce, zahrnujících histologické a strukturální změny, systolickou a diastolickou dysfunkci, elektrofyziologické změny. Funkční a strukturální změny srdečních komor jsou více vyjádřeny v levé komoře (LK) než v pravé komoře (PK). Většina studií popisuje dilataci levé síně (LS), hypertrofii a dilataci LK. Pravostranné srdeční oddíly mají obvykle normální velikost.

Je omezená reakce na zátěž, echokardiograficky lze pozorovat zhoršenou systolickou i diastolickou funkci. Tepový objem a srdeční index jsou v klidu typicky lehce zvýšené nebo normální, při zátěži dochází k jejich snížení. Prevalence a rozsah systolické dysfunkce je u cirhotických pacientů variabilní (tab. 2). Diastolická dysfunkce se manifestuje jako tuhá a noncompliantní komora a je často přítomna u pacientů s různým stupněm dilatace nebo hypertrofie LK. Nicméně zjevné strukturální změny nejsou pro diastolickou dysfunkci nezbytné. Zhoršení pasivního i aktivního plnění LK v časně a středně pozdní diastole vede k neschopnosti adekvátně zvýšit tepový objem v průběhu odpovědi na zátěž. Ruz-del-Arbor et al. (12) ve své studii poukazuje na to, že nižší hodnoty

středního tlaku a srdeční výdej napomáhají k poklesu renální peruze a jsou nezávislým prediktorem rozvoje hepatorenálního selhání. Rozvoj hepatorenálního selhání dále zhoršuje srdeční výdej pravděpodobně v důsledku redukce preloadu a zhoršení chronotropní odpovědi na zvýšenou aktivitu sympatiku. Klinické důsledky cirhotické kardiomyopatie jsou více patrné po různých intervencích (transplantaci jater, transjugulární intrahepatální portosystémové spojce (TIPS)) nebo v případě dekompenzace jaterní cirhózy (spontánní bakteriální peritonitida, ascites). U takových pacientů je v těchto a podobných situacích nutně myslet na možnou manifestaci kardiální dysfunkce (5).

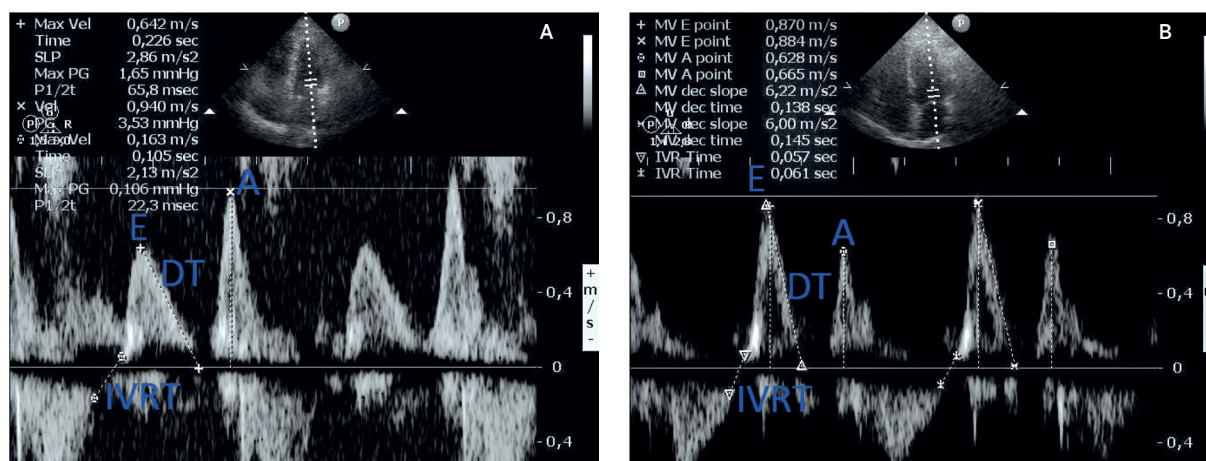
SYSTOLICKÁ DYSFUNKCE

Systolická funkce úzce souvisí s velikostí tepového objemu, srdeční frekvence a srdečního výdeje. Klidová ejekční frakce levé komory je popisována jako normální, avšak v důsledku působení zátěže dochází ke zhoršení funkce LK a neadekvátnímu navýšení kontraktility myokardu. Ačkoliv dříve byla systolická dysfunkce připisována efektu alkoholu na myokard, na základě dalších výzkumů (13), včetně animálních modelů (14) bylo zjištěno, že je možné ji pozorovat i u pacientů s jaterní cirhózou nealkoholické etiologie. Farmakologická nebo fyzická zátěž může u pacientů s jaterní cirhózou demaskovat latentní komorovou dysfunkci, o čemž svědčí zvýšení end diastolického objemu LK a snížení ejekční frakce LK (15). Zátěž u pacientů s jaterní cirhózou zvyšuje srdeční tlaky (16) a způsobuje relativně menší vzestup ejekční frakce LK a tepové frekvence než u zdravých jedinců. I přes zvýšený tonus sympatiku pozorujeme snížený srdeční výkon, který je pravděpodobně způsoben kombinací omezeného zvýšení tepové frekvence na zátěž, snížením kontraktility myokardu a zhoršenou svalovou vykonností. Snížená systolická funkce je přímo úměrná postupujícímu jaternímu selhání (17) a může mít dopad na rozvoj komplikací, jako jsou retence sodíku a vody s následnou tvorbou ascitu, rozvoj renální dysfunkce a celkové zhoršení prognózy (3).

DIASTOLICKÁ DYSFUNKCE

Diastolická dysfunkce u jaterní cirhózy byla poprvé popsána v roce 1997. Ačkoliv některé diastolické změny mohou předcházet systolické poruše, obvykle se obě formy dysfunkce (systolická i diastolická) vyvíjejí současně. Při echokardiografickém vyšetření můžeme pozorovat v rámci diastolického plnění dvě fáze: časnou diastolickou (aktivní) relaxaci a pozdní diastolické (pasivní) plnění (obr. 1). Časná fáze (vlna E) závisí na rychlosti komorové relaxace, elasticitě stěny LK a LS a atrioventrikulárním tlakovém gradientem. Pozdní fáze (vlna A) závisí na síle kontrakce LS a poddajnosti stěny LK. Abnormální diastolická funkce LK je způsobena snížením compliance a relaxace LK. Mění se transmitrální průtok se zvýšením síňového příspěvku ke komorovému plnění. Patofyziologickým podkladem diastolické dysfunkce je zvýšená tuhost myokardiální stěny, pravděpodobně na podkladě kombinace lehké myokardiální hypertrofie, fibrózy a subendotelálního edému. Na podkladě experimentálních i klinických důkazů se předpokládá, že je zvýšeno množství sodíku v séru. To může vést k rozvoji myokardiální hypertrofie (18). Retence sodíku sama o sobě tak může přispívat ke vzniku diastolické dysfunkce u pacientů s cirhózou. Ostatní echokardiografické parametry

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK



Obr. 1 a – echokardiografické zobrazení poruchy diastolického plnění I. stupně (porucha relaxace) a prodloužení izovolumického relaxačního tlaku; b – normální obraz diastolického plnění a IVRT (z archivu autora)

Korigovaný QT (QTc) = Interval QT / $\sqrt{\text{RR interval}}$

Obr. 2 Výpočet QTc intervalu – Bazettova formule

diastolické dysfunkce zahrnují prodloužení izovolumického relaxačního času a zvýšení deceleračního času, který vyjadřuje zvýšený odpor vtoku do komory. Toregrosa et al. (19) pomocí echokardiografického vyšetření zjistili, že u cirhotiků s tenzním ascitem je významně zvýšená rychlost vlny A, poměr E/A je významně snížen a decelerační čas je signifikantně prodloužen. Odstranění ascitické tekutiny vede k redukci rychlosti vlny A a ke zvýšení poměru E/A k hodnotám podobným ostatním cirhotikům bez ascitu, ale stále abnormálním hodnotám oproti zdravým pacientům. Klinicky mají pacienti se silnější stěnou LK a těžší diastolickou dysfunkcí větší pravděpodobnost srdečního selhání po transplantaci jater. Po transplantaci jater se diastolická dysfunkce navrácí k normě během 6–12 měsíců (19).

Pacienti s diastolickou dysfunkcí jsou částečně vnímaví ke změnám objemu, které se objevují např. ve vztahu k zavedení TIPS. Portální dekomprese po zavedení TIPS může vést k dalšímu zvětšení rozměru LS a zvýšení tlaku v zaklínění, což značí, že cirhotické srdce je neschopné přijmout adekvátně zvýšený preload. Změny v diastolické dysfunkci se objevují výrazněji u pacientů s těžkou dekompenzací a u těchto pacientů nacházíme kombinaci hypertrofie myokardu, kontraktilní dysfunkce, změny v srdečních objemech a diastolickou dysfunkci. Vzestup v diastolických objemech po TIPS se normalizuje po měsících, ale s perzistencí lehké hypertrofie LK. Navíc snížená diastolická funkce se zdá být asociována s pomalejší mobilizací ascitu (20).

ELEKTROFYZIOLOGICKÉ ABNORMALITY

Mezi elektrofyziologické abnormality u cirhotické kardiomyopatie patří chronotropní inkompetence, prodloužený QTc interval na EKG a dysynchronie mezi elektrickou a mechanickou systolou.

Chronotropní inkompetence je selhání srdečního rytmu v odpovědi na fyziologické a farmakologické stimuly. Sympatická aktivace různým způsobem např. Valsalvovým manévrem, stimulací psychickou zátěží, izometrickým, izotonickým fyzickým cvičením nebo hemoragií nevede k dostatečné akceleraci srdeční frekvence navzdory zvýšené plazmatických koncentrací noradrenalinu. Toto lze pozorovat u alkoholické i nealkoholické cirhózy a manifestace je přímo úměrná tíži jaterního onemocnění (1, 7, 9).

U pacientů s jaterní cirhózou můžeme pozorovat **elektrofyziologické abnormality v srdeční excitaci**. Snížení proudění K⁺ v myocytech srdečních komor způsobuje zpoždění komorové repolarizace, které prodlužuje **QTc interval**. Bernardi et al. (21) hodnotili funkci srdce u cirhotiků v klidu a po izometrickém cvičení a popsali prodloužení preejekční periody v klidu společně s patologickým zkrácením po cvičení. Dle autorů se jedná o manifestaci **elektromechanické dysynchronie**, která je zodpovědná za kontraktilní dysfunkci u pacientů s jaterní cirhózou. Dle Henriksena et al. (20) je tento časový rozdíl mezi elektrickou a mechanickou systolou výrazně prodloužen u pacientů s prodlouženým QTc intervalem oproti pacientům s normálním QTc. **Aortální tlaková křivka** hodnocená katetrizačně ukazuje, že trvání mechanické systoly u pacientů s prodlouženým QTc není změněné, ale její vztah s trváním elektrické systoly je abnormální, potvrzující dysynchronii mezi elektrickou a mechanickou systolou u těchto pacientů (22). Prodloužení QTc intervalu (> 440ms) (obr. 2) se u cirhotiků objevuje často, nezávisle na etiologii cirhózy. Jeho prevalence je asi 45%, což je výrazně více než je 5% prevalence v běžné populaci. Míra prodloužení QTc intervalu je přímo úměrná tíži jaterního onemocnění. Ve vztahu k Child-Pugh klasifikaci jde o prodloužení asi o 25 % ve třídě A, do 51 % ve třídě B a nad 60 % ve třídě C (1). Prodloužený QTc interval je substrátem komorových arytmií

a možnou příčinou náhlé srdeční smrti. Nicméně výskyt život ohrožujících arytmií je u cirhotiků relativně vzácný. Dle recentních studií prodloužení QTc intervalu koreluje s hladinou BNP – senzitivním markerem kardiální dysfunkce. Byly pozorovány zvýšené hodnoty BNP u pacientů s ascitem i bez ascitu a výše těchto hodnot korelovala s tíží jaterního a stejně tak srdečního onemocnění (23). V cirhóze je délka QTc intervalu spojena s indikátory autonomní dysfunkce a po transplantaci je částečně reverzibilní. Přesný mechanismus vzniku těchto elektrofyziologických změn je nejasný. Studie u cirhotických zvířecích modelů ukazují na funkční změny některých iontových kanálů v plazmatické membráně kardiomyocytů, zvláště draslíkových (24).

TRANSPLANTACE JATER A CIRHOTICKÁ KARDIOMYOPATIE

Po jaterní transplantaci je redukována koncentrace cirkulujících kardiotoxických a vazoaktivních substancí, a může proto docházet k redukci cirkulačních změn zahrnujících hyperdynamickou cirkulaci. Samotný chirurgický zákrok je pro srdce v mnoha směrech náročný. Rizikové faktory představují např. krvácení, únik tekutin do třetího prostoru nebo peroperační svorkování velkých cév s poklesem venózního návratu. Náhlá redukce preloadu vede k poklesu srdečního výdeje. Acidóza, hypotermie a porucha elektrolytů (hypokalémie, hypokalcémie) mohou dále zhoršit kontraktilitu myokardu. Reperfuze jaterního štěpu může být dále spojena s hypotenzí a bradykardií – tzv. reperfučním syndromem, během kterého dochází k uvolňování kardiodepresivních cytokinů, např. TNF- α . V pooperačním období dochází k poklesu srdečního výdeje, tepové frekvence a tlaku v plicnici a ke značnému vzestupu krevního tlaku a systémové vaskulární rezistence. Zvýšený afterload může u LK demaskovat předchozí latentní dysfunkci a u pacientů byly zaznamenávány zjevné známky levostranného srdečního selhávání během prvního týdne po transplantaci. Celkem je srdečnímu selhání připisováno 7–21 % úmrtí spojených s transplantací jater (6), což z něj dělá 3. nejčastější příčinu úmrtí po rejecké štěpu a infekcích. Na základě proběhlých studií bylo po transplantaci pozorováno během 6–12 měsíců významné zlepšení srdečních funkčních parametrů. V podstatě všechny kardiální abnormality detekované před transplantací se mohou postupně navrátit k normě – mizí stav hyperdynamické cirkulace, normalizuje se bazální systolická funkce LK, regreduje tloušťka stěny LK, zlepši se diastolická i systolická dysfunkce v klidu i během zátěže. Byla zaznamenána normalizace prodlouženého QTc intervalu asi u 1/2 pacientů (19). Před transplantací má více než 80 % pacientů v terminálním stadiu jaterního onemocnění autonomní dysfunkci, která se zlepši asi u 2/3 pacientů po transplantaci (25). Některé studie se pokoušely identifikovat pacienty, u nichž je vysoké riziko rozvoje kardiálních komplikací, nicméně spolehlivý diagnostický test nebyl doposud stanoven (26). Nabízí se možnost dobutaminového zátěžového vyšetření, avšak jeho použití k predikci pooperační komorové dysfunkce není dostatečně senzitivní ani specifické, už jen pro sníženou citlivost receptorů vůči inotropikům u pacientů s jaterní cirhózou (27). Další možnosti by mohly představovat metody nukleární medicíny, případně stanovení vhodných biochemických markerů. Nalezení vhodné metody k odhalení rizikových pacientů zůstává ale zatím stále předmětem dalších výzkumů.

TERAPIE

Klinický obraz „cirhotické kardiomyopatie“ a její následné dekompenzace prakticky splývá s obrazem srdečního selhání jakékoliv jiné etiologie, neexistuje tudíž žádná specifická léčba. Pokud se srdeční selhání zjevně manifestuje, je na místě léčba jako u srdečního selhání bez závislosti na etiologii stavu, tzn. klidový režim, diuretika, oxygenoterapie, snížení preloadu, eventuálně inotropní podpora, jejíž efekt je ale vzhledem k již zmíněným skutečnostem sporný (1, 27). Pacienti s manifestací srdečního selhání na podkladě „cirhotické kardiomyopatie“ profitují i z terapie podávané v rámci jaterního onemocnění. Klíčková diuretika přispívají k poklesu renální reabsorbce natria a vody, snižují celkový plazmatický objem, spironolakton je považován za inhibitor osy renin – angiotenzin a má i pozitivní vliv na remodelaci levé komory a zlepšení diastolické dysfunkce LK. Použití beta-blokátorů u pacientů s portální hypertenzí a jícnovými varixy má pravděpodobně příznivý účinek na denzitu β -adrenergních receptorů, která je u pacientů s jaterní cirhózou snížena, mohou redukovat hemodynamické zatížení a částečně mohou ovlivňovat délku QTc intervalu. Použití nitrátů je velmi často limitováno nízkým krevním tlakem (střední arteriální tlak kolem 60 mm Hg není neobvyklý), který bývá u pacientů s jaterní cirhózou běžný. Navíc u pacientů s jaterní cirhózou mají nitráty často jen malý efekt v důsledku vysoké endogenní NO aktivity a následně desenzitizace.

PROGNÓZA

Jaterní cirhóza představuje pro pacienty závažné onemocnění s celkově nepříznivou prognózou, pokud není provedena úspěšná jaterní transplantace. S cirhózou je úzce spjata riziko rozvoje hepatocelulárního karcinomu, krvácení nebo infekce, což dále přispívá ke zhoršení morbiditu a mortality těchto pacientů. Kardiální dysfunkce, která z již zmiňovaných důvodů nebývá vždy diagnostikována, vede rovněž ke zvýšenému riziku úmrtí, zvláště v případech akutní dekompenzace jaterní cirhózy. Zhoršením srdečního výdeje může docházet k horší perfuzi ledvin přispívající k rozvoji hepatorenálního selhání (12). Následně dochází k dalšímu zvýšení aktivity sympatiku s pokusem o zvýšení srdeční kontraktility, retenci natria a vody aktivací systému renin-angiotenzin-aldosteron (1). V případě rychlých hemodynamických změn např. po zavedení TIPS nebo transplantaci jater, mohou zvýšené plnicí tlaky přispět k rozvoji městnavého srdečního selhání. Po jaterní transplantaci se objevují kardiiovaskulární komplikace cca ve 25 % (28).

ZÁVĚR

„Cirhotická kardiomyopatie“ má u pacientů s jaterní cirhózou většinou subklinický průběh, a zůstává tak podhodnocena. Její význam nelze podceňovat převážně u pacientů před plánovanými zákroky, jako jsou např. TIPS nebo transplantace jater. Přesný dopad na morbiditu a mortalitu těchto pacientů zůstává i nadále předmětem dalšího výzkumu.

Zkratky

BNP	senzitivní marker kardiální dysfunkce (brain natriuretic peptide)
EF	ejekční frakce
EKG	elektrokardiogram

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

ICHS	ischemická choroba srdeční
IVRT	izovolumické relaxační čas
KMP	kardiomyopatie
LK	levá komora
LS	levá síň
NO	oxid dusnatý (nitric oxide)
PK	pravá komora
TIPS	transjugulární intrahepatální portosystémová spojka
TNF- α	tumor necrosis factor α
VIP	vazoaktivní intestinální peptid (vasoactive intestinal peptide)

Literatura

1. **Wong F.** Cirrhotic cardiomyopathy. *Hepatology International* 2009; 3(1): 294-304.
2. **Lee SS.** Cardiac abnormalities in liver cirrhosis. *The western journal of medicine.* 1989; 151: 530-535.
3. **Møller S, Henriksen JH.** Cardiovascular complications of cirrhosis. *Gut* 2008; 57(2): 268-278.
4. **Henriksen JH, Møller S.** Cardiac and systemic haemodynamic complications of liver cirrhosis. *Scandinavian Cardiovascular Journal* 2009; 43(4): 218-225.
5. **Timoh T, Protano MA, Wagman G, Bloom M, Vittorio TJ.** A perspective on cirrhotic cardiomyopathy. *Transplantation Proceedings* 2011; 43(5): 1649-1653.
6. **Myers RP, Lee SS.** Cirrhotic cardiomyopathy and liver transplantation. *Liver transplantation* 2000; 6(Suppl S1): S44-S52.
7. **Baik SK, Lee SS.** Cirrhotic cardiomyopathy: causes and consequences. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2004; 19: 185-190.
8. **Piano MR, Schwartz DW.** Alcoholic heart disease: a review. *Heart Lung.* 1994; 23: 3-17.
9. **Ma Z, Lee SS.** Cirrhotic cardiomyopathy: Getting to the heart of the matter. *Hepatology* 1996; 24(2): 451-459.
10. **Vallance P, Moncada S.** Hyperdynamic circulation in cirrhosis: a role for nitric oxide? *Lancet* 1991; 337(8744): 776-778.
11. **Møller S.** Cirrhotic cardiomyopathy: a pathophysiological review of circulatory dysfunction in liver disease. *Heart* 2002; 87(1): 9-15.
12. **Ruiz-del-Arbol L, Monescillo A, Arocena C, Valer P, Ginès P, Moreira V, Milicua JM, Jiménez W, Arroyo V.** Circulatory function and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology* 2005; 42(2): 439-447.
13. **Gould L, Shariff M, Zahir M, Di Lieto M.** Cardiac hemodynamics in alcoholic patients with chronic liver disease and a presystolic gallop. *The journal of clinical investigation* 1969; 48: 860-868.
14. **Inglés AC, Hernández I, García-Estañ J, Quesada T, Carbonell LF.** Limited cardiac preload reserve in conscious cirrhotic rats. *American journal of physiology* 1991; 260, H1912-1917.
15. **Krag A, Bendtsen F, Henriksen JH, Møller S.** Cardiac effects of terlipressin in cirrhosis. Unmasking a cirrhotic cardiomyopathy. *Journal of Hepatology* 2007; 46(Suppl S): 96.
16. **Møller S, Henriksen JH.** Cardiovascular dysfunction in cirrhosis: pathophysiological evidence of a cirrhotic cardiomyopathy. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2001; 36(8): 785-794.
17. **Zardi EM, Abbate A, Zardi DM, Dobrina A, Margiotta D, van Tassel BW, Afeltra A, Sanyal AJ.** Cirrhotic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* 2010; 56(7): 539-549.
18. **Fields NG, Baoxue Y, Leenen FHH.** Sodium-induced cardiac hypertrophy. Cardiac sympathetic activity versus volume load. *Circulation research* 1991; 68: 745-755.
19. **Torregrosa MS, Aguadé L, Segura R, González A, Evangelista A, Castell J, Margarit C, Esteban R, Guardia J, Genescà J.** Cardiac alterations in cirrhosis: reversibility after liver transplantation. *Journal of Hepatology* 2005; 42: 68-74.
20. **Rabie RN, Cazzaniga M, Salerno F, Wong F.** The use of E/A ratio as a predictor of outcome in cirrhotic patients treated with trans-jugular intrahepatic portosystemic shunt. *The American Journal of Gastroenterology* 2009; 104(10): 2458-2466.
21. **Hongqun L, Lee SS.** Cardiopulmonary dysfunction in cirrhosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1999; 14: 600-608.
22. **Henriksen JH, Fuglsang S, Bendtsen F, Christensen E.** Dyssynchronous electrical and mechanical systole in patients with cirrhosis. *Journal of Hepatology* 2002; 36(4): 513-520.
23. **Henriksen JH, Gotze JP, Christensen E, Bendtsen F, Møller S.** Increased circulating pro-brain natriuretic peptide in patients with cirrhosis. *Gut* 2003; 52: 1511-1517.
24. **Ward CA, Ma Z, Lee SS, Giles WR.** Potassium currents in atrial and ventricular myocytes from a rat model of cirrhosis. *American journal of physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* 1997; 273(2): G537-G544.
25. **Rosmawati M, Forsey PR, Davies MK.** Effect of liver transplantation on QT interval prolongation and autonomic dysfunction in end-stage liver disease. *Hepatology* 1997; 23(5): 1128-1134.
26. **Møller S, Henriksen JH.** Cirrhotic cardiomyopathy. *Journal of Hepatology* 2010; 53(1): 179-190.
27. **Mikulic E, Munoz C, Puntoni LE, Lebrech D.** Hemodynamic effects of dobutamine in patients with alcoholic cirrhosis. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 1983; 34(1): 56-59.
28. **Ripoll C, Catalina MV, Yotti R, Olmedilla L, Pérez-Peña J, Lo Iacono O, Rincón D, García-Fernández MA, Bermejo J, Bañares R.** Cardiac dysfunction during liver transplantation: Incidence and Preoperative Predictors. *Transplantation* 2008; 85(12): 1766-1772.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NT-12290/4.

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Jana Šmalcová

IV. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2
e-mail: jana.smalcova@gmail.com

Záchytné stanice v České republice v kontextu obdobných služeb o akutně intoxikované v Evropě

^{1,2}Viktor Mravčík, ²Zdeňka Burešová, ²Petr Popov, ²Michal Miovský

¹Národní monitorovací středisko pro drogy a drogové závislosti, Praha

²Klinika adiktologie 1. LF UK a VFN, Praha

Čas. Léč. čes. 2013; 152: 129–134

SOUHRN

Východisko: Zmapovat institucionální síť typu záchytných stanic, které poskytují péči o osoby akutně intoxikované alkoholem a dalšími drogami v evropských zemích, identifikovat různé modely péče, a tím přispět k diskuzi o změně systému záchytných stanic v České republice.

Metody: V roce 2012 bylo provedeno dotazníkové šetření mezi národními monitorovacími středisky pro drogy a drogové závislosti, které jsou kontaktními místy pro Evropské monitorovací centrum pro drogy a drogovou závislost. E-mailem bylo osloveno všech 27 členských států Evropské unie, Chorvatsko, Turecko a Norsko – celkem tedy 30 zemí. Dotazník tvořily čtyři otevřené otázky.

Výsledky: Odpovědělo celkem 16 zemí. Specifický systém, který se svými funkcemi více či méně blíží systému záchytných stanic v České republice, existuje v pěti zemích, čili přibližně ve třetině z těch, které se průzkumu zúčastnily. Ve zbývajících jedenácti státech speciální typ služeb nemají a péče o opilce a osoby intoxikované drogami je zajištěna prostřednictvím zdravotní péče poskytované na lůžkových odděleních

akutní nebo intenzivní péče různých oborů, nebo v případě porušování veřejného pořádku policií. Model typu záchytných stanic, jak jej známe z České republiky, existoval v minulosti v zemích, které patřily k východnímu bloku. Do současnosti přetrvával kromě České republiky pouze v Polsku, kde byly funkce záchytných stanic, ale i postavení a práva zachycených osob reformovány. To následně přispělo ke zvýšení prestiže této služby a záchytné stanice jsou považovány za významný prvek zdravotní péče o intoxikované osoby. Speciální služby typu záchytných stanic plní v zemích, kde existují, v různé míře následující funkce: poskytují základní zdravotní dohled a péči o akutně intoxikované osoby, předcházejí dalším zdravotním poškozením ve stavu intoxikace, informují a motivují klienty k redukci konzumace a případně k další léčbě, zajišťují návaznost na další specializovanou péči a předcházejí ohrožení ostatních osob, pořádku a majetku.

Závěry: Speciální systém péče o akutní nekomplikované intoxikace alkoholem existuje v několika evropských zemích, kde plní řadu užitečných veřejnozdravotních a pořádkových funkcí. Díky tomu není zatěžována intenzivní medicína

SUMMARY

Mravčík V, Burešová Z, Popov P, Miovský M. Sobering-up stations in the Czech Republic in the context of analogous models of care for acute intoxications in Europe

Background: To map systems of care for persons with acute intoxications with alcohol and other drugs in European countries, to identify various models of this care and to contribute to discussion on the reform of sobering-up stations in the Czech Republic.

Methods: In 2012, a questionnaire survey was performed among national institutions which are focal points to European monitoring centre for drugs and drug addiction. All 27 EU member states, Norway, Croatia and Turkey were addressed, altogether 30 countries. Questionnaire consisted of 4 open questions.

Results: 16 countries responded. Specific system of supervised recovery, which is close to the system of sobering-up stations in the Czech Republic, exists in 5 countries, i.e. approximately one third of participating countries. In remaining 11 countries, a care of boozers and persons intoxicated with other drugs is provided within acute or intensive medical care or in case of public nuisance by police.

Model of sobering-up stations existed in past in countries of the Soviet bloc. Aside from the Czech Republic, sobering-up stations have remained in Poland, where the functions of the service as well as status and rights of clients were reformed. The change has an impact on the increase of prestige of the service and sobering-up stations are regarded as the essential element of medical care for the intoxicated persons. Special sobering-up services can play in different countries similar functions: supervised recovery and care for intoxicated persons, prevention of health harms and injuries, counselling and motivation of clients to reduce the drug consumption and to start treatment, facilitating further special addiction care and prevention of public nuisance and damages to other persons and properties.

Conclusions: Special system of care of boozers and persons acutely intoxicated with other drugs exists in several European countries with number of useful public health and public order functions. It diverts uncomplicated intoxications from intensive medical care or police intervention, which is efficient also in economical terms. The reform of the system of sobering-up

nebo policie v případech, kdy to není potřeba, což má mimo jiné ekonomické přínosy. V České republice je pro další fungování záchytných stanic potřeba dořešit zejména jejich návaznost na specializovanou adiktologickou léčebně-preventivní péči, statut a lidská

práva zachycených osob včetně otázky financování a zpoplatnění této služby.

KLÍČOVÁ SLOVA

intoxikace – alkohol – drogy – záchytná stanice

stations in the Czech Republic should take into account its role within the system of addiction prevention and treatment, status and rights of clients and issues of financing and payments for the service.

KEYWORDS

intoxication – alcohol – drugs – recovery – sobering-up

ÚVOD

První protialkoholní záchytnou stanicí v Československu založil v roce 1951 na Protialkoholním oddělení v Praze u Apolináře MUDr. Jaroslav Skála jako speciální medicínské zařízení pro krátkodobý pobyt při akutní intoxikaci zejména alkoholem a později také jinými návykovými látkami v délce trvání několik hodin, resp. do vystrízlivění či alespoň ostřízlivění do druhého dne. Byla součástí celého komplexu ambulantních, rezidenčních, svépomocných a režimových intervencí určených nejdříve pro problémové uživatele alkoholu, resp. osoby závislé na alkoholu, později i pro závislé na nealkoholových drogách (1, 2).

Postupně došlo k rozvoji celé sítě záchytných stanic, což souviselo s nárůstem výskytu sociálně patologických jevů po 2. světové válce včetně rozvoje alkoholismu (3). Systematický sběr dat o činnosti záchytných stanic probíhá od roku 1963, kdy bylo v České republice evidováno již 21 zařízení. Svého vrcholu dosáhla síť v roce 1989, kdy vzrostl počet záchytných stanic na 34. S rostoucím počtem zařízení se zvyšoval také souhrnný počet lůžek, který se od roku 1963 do roku 1989 zvýšil z 222 na 325 lůžek. Od roku 1990 se počet záchytek i jejich kapacita snižovaly, v roce 2011 dosáhl jejich počet 17 zařízení se 152 lůžky (4-7).

Od roku 1963, kdy bylo v záchytných stanicích ošetřeno přes 16 000 osob, počet případů zachycených rostl. K největšímu nárůstu došlo mezi lety 1968 a 1972 a v roce 1984 dosáhl roční počet zachycených historického maxima 33 000 osob. V následujících letech počet zachycených osob klesal, od roku 1989 prudce a v roce 1996 dosáhl počet zachycených historického minima 9500 osob. K dalšímu významnému nárůstu počtu zachycených došlo od roku 2006, v roce 2010 bylo evidováno více než 30 000 osob. V roce 1963 tvořili muži 96 % a v roce 2011 84 % osob ošetřených v záchytných stanicích. V roce 1963 byl podíl osob do 20 let 6 %, v roce 2011 7,3 % (4-7).

V roce 2011 rozdělil ÚZIS ČR poprvé výkaz zachycených osob podle toho, zda se jednalo o intoxikaci alkoholem nebo jinou návykovou látkou. Z celkového počtu 28 365 zachycených bylo 23 429 osob intoxikováno alkoholem a 3760 ostatními drogami (jedna záchytná stanice nerozdělila zachycené podle látky). Větší podíl případů v souvislosti s nealkoholovými drogami byl zaznamenán u mužů (15 %) než u žen (8 %). Nejvyšší podíl zachycených pro nealkoholové drogy byl ve věkové skupině 0-19 let (20 %), ve věku 20-64 let to bylo 14 % a nad 65 let necelých 8 % z celkového počtu zachycených dané věkové skupiny. Většinu pacientů intoxikovaných nealkoholovými drogami – 3657 pacientů (tj. více než 97 % záchytek intoxikovaných nealkoholovými drogami) – vykazovala záchytná stanice v Praze (8).

V současné době je činnost záchytných stanic definována v § 17 zákona č. 379/2005 Sb., o opatřeních k ochraně

před škodami působenými tabákovými výrobky, alkoholem a jinými návykovými látkami. Zákon zavedl oficiální název „protialkoholní a protitoxikomanická záchytná stanice“. Záchytky zřizují nebo jinak zajišťují „záchytnou službu“ na svém území kraje tak, aby byla dostupná s dojezdovou vzdáleností (dobou) do 45 minut. Zákon (v indikacích pro umístění osoby na záchytnou stanicí) stanoví fyzické osobě povinnost „podrobit se ošetření a pobytu v záchytné stanici po dobu nezbytně nutnou k odeznění akutní intoxikace“, není-li ohrožena na životě, a pokud „pod vlivem alkoholu nebo jiné návykové látky nekontroluje své chování, a tím bezprostředně ohrožuje sebe nebo jiné osoby, veřejný pořádek nebo majetek, nebo je ve stavu vzbuzujícím veřejné pohoršení“. Zákon dále stanoví, že dopravu, vyšetření, ošetření a následný pobyt na záchytné stanici hraje ošetřená osoba, pokud se intoxikace prokáže.

Pro další odbornou péči o zachycené osoby je podstatné, že ošetření osoby na záchytné stanici by mělo být podle zákona oznámeno jejímu registrujícímu praktickému lékaři. Jde-li o osobu mladší 18 let, měl by být informován její zákonný zástupce nebo jiná osoba odpovědná za její výchovu a též orgán sociálně-právní ochrany dětí. Jde-li o osobu zblazenou způsobilosti nebo s omezenou způsobilostí k právním úkonům, oznamuje se tato skutečnost opatrovníkovi.

Předchozí předlistopadový zákon č. 37/1989 Sb., o ochraně před alkoholismem a jinými toxikomaniemi, obsahoval podobná ustanovení, záchytky zřizovaly národní výbory a navíc se zachycená osoba musela „zúčastnit výchovy k ochraně před alkoholismem“. Ta byla prakticky realizována přednáškami, které pořádaly specializovaná ambulantní (ordinace pro léčbu alkoholismu a jiných toxikomanií, OAT), případně lůžková oddělení pro léčbu závislostí. Klíčovou roli hrály nejen u osob na alkoholu již závislých, kterým nabídky bezprostřední možnosti léčby, ale byly také zaměřeny na prevenci rozvoje alkoholismu u osob problémově, resp. škodlivě pijících alkohol.

V současnosti je činnost záchytných stanic financována téměř výhradně z rozpočtu krajů. Ročně je na jejich činnost v posledních letech vynakládáno 70 až 80 mil. Kč, což je přibližně 40 % všech výdajů krajů na politiku v oblasti alkoholu a dalších drog (7). Jediný kraj, který momentálně nezřizuje ani jednu záchytnou stanicí, je kraj Ústecký. V Liberci byla po 12 letech otevřena záchytná stanice na konci listopadu 2012 – dosud kraj dotoval ošetření intoxikovaných osob v nemocnicích v kraji (9, 10).

V posledních měsících se v odborné veřejnosti i v médiích objevily diskuze na téma přítomnosti a budoucnosti záchytných stanic v České republice a jejich zajištění, velkým problémem se jeví také statut zachycených osob a lidskoprávní aspekty omezení jejich svobody. Tyto diskuze o dalším

fungování záchytných stanic by bylo velmi vhodné založit na dostupných datech a analýze funkcí, které záchytné stanice plní nebo by plnit měly. Užitečné a inspirující by také mohly být informace o systému péče o intoxikované osoby v jiných zemích. S tímto cílem byl proveden dotazníkový průzkum v zemích, které jsou členy Evropského monitorovacího střediska pro drogy a drogové závislosti (EMCDDA).

METODIKA

V první polovině roku 2012 byli osloveni členové sítě Reitox, čili sítě národních monitorovacích středisek pro drogy a drogové závislosti (NMS), které jsou národními kontaktními místy pro hlášení dat do EMCDDA (11). E-mailem byla oslovena NMS všech 27 členských států Evropské unie, Chorvatska, Turecka a Norska, celkem tedy 30 zemí. Vedoucím NMS byly položeny krátký dotazník se čtyřmi otázkami:

1. Existuje ve vaší zemi speciální zařízení, síť služeb nebo program, který se zaměřuje na krátkodobou detenci a dohled nad vystřízlivěním u osob pod vlivem alkoholu nebo jiných návykových látek, které ruší veřejný pořádek, případně se chovají antisociálně nebo kriminálně?
2. Pokud takové zařízení ve vaší zemi existuje, můžete nám o něm poskytnout více informací (jeho hlavní funkce, metody, prostředky, kritéria přijetí, kdy bylo založeno, proč atd.)?
3. Pokud takové zařízení neexistuje, jak se vaše země vypořádává s rušením veřejného pořádku, sociálně nevhodným nebo nebezpečným chováním u osob intoxikovaných alkoholem nebo jinými drogami?
4. Pokud existují bližší informace (např. předpisy, směrnice, analýzy, články, zprávy), které se této problematice věnují, budeme rádi za jejich poskytnutí.

Z 30 oslovených odpověděla NMS z 16 evropských zemí, konkrétně z Dánska, Finska, Francie, Chorvatska, Kypru, Litvy, Maďarska, Německa, Polska, Portugalska, Rakouska, Řecka, Slovinska, Španělska, Turecka a Velké Británie. Některé země kromě odpovědí poskytly také dodatečné informace nebo odkazy na ně.

VÝSLEDKY

Speciální systém péče o intoxikované osoby existuje v pěti zemích z 16, které se zapojily do průzkumu: ve Finsku, Litvě, Polsku, Rakousku a ve Velké Británii. Z toho ve Finsku, Polsku a Rakousku se jedná o systém založený na zdravotnických zařízeních, který do značné míry odpovídá modelu protialkoholních záchytných stanic v České republice. V Litvě fungoval systém záchytných stanic v minulosti, v současnosti tam funguje do značné míry odlišný typ speciálních služeb. To platí rovněž o Velké Británii. Získané podrobnější informace z těchto pěti zemí jsou uvedeny níže. V ostatních jedenácti státech, které se průzkumu zúčastnily, žádné speciální zařízení, síť služeb nebo program pro akutně intoxikované osoby neexistuje. Intervence pak probíhá v rámci zdravotnického systému, pokud je ohroženo zdraví nebo život intoxikovaného (nejčastěji na psychiatrii, detoxifikační jednotce nebo na jednotce intenzivní péče), nebo v rámci systému prosazování práva, pokud je narušen veřejný pořádek nebo bezpečnost intoxikovaného, dalších osob nebo okolí. Některé z těchto jedenácti zemí také poskytly podrobnější informace o tom, jak je v případě zajištění intoxikovaných osob systémově postupováno.

Finsko

Policie má dle zákona povinnost přijmout intoxikovanou osobu a vzít ji na „sobering-up station“ (dále je pro anglický výraz sobering-up station používán termín záchytná stanice) nebo do jiného léčebného zařízení, pokud o osobu nemůže být postaráno jinak. Záchytná stanice je obvykle zřízena v rámci detoxifikačního centra ve zdravotnickém zařízení. Osoby jsou během detoxifikace vyšetřeny a pod dohledem. Hlavním cílem je garance dobrého stavu klienta a jeho motivace k další léčbě. Během detoxifikace je klientovi provedeno vyšetření a absolvuje rozhovor, při kterém jsou mu nabídnuty další možnosti léčby. Tato zařízení jsou určena především pro intoxikované alkoholem. V případě intoxikace jinou látkou je ale proces podobný. Existuje národní směrnice pro postup při zajištění intoxikovaných. Ministerstvo vnitra odhaduje, že celková potřeba pro Finsko (které má přibližně 5,5 milionu obyvatel) činí 20–25 záchytných stanic.

Litva

Celonárodní jednotný systém neexistuje, každá obec a každý okres řeší problém individuálně. Praxe a statut služeb, které se problematikou zabývají, se různí. Zákon tyto služby nyní nenazývá záchytné stanice. V době SSSR i nějakou dobu poté existovaly skutečné záchytné stanice u každé policejní stanice, teď jsou ale již 10–15 let všechny zavřeny. Novinkou je obdoba záchytné stanice ve druhém největším litevském městě Kaunasu, která funguje od roku 2012 v rámci centra pro léčbu závislosti a má charakter sociální služby.

Pokud je v Litvě na ulici nalezena osoba v pokročilejším stadiu ebriety, existují tři možnosti:

1. Obecní noclehárny, které mají charakter sociální služby pro bezdomovce i pro osoby z ulice ve stavu opilosti, které nejsou ohroženy na zdraví a životě. Ty neposkytují zdravotní služby. Některé poskytují další služby pro uživatele alkoholu typu poradenství nebo svépomocných skupin. V případě, že je osoba ohrožena na zdraví/životě, je zavolána policie, která zajistí převoz do nemocnice. Tyto noclehárny jsou ale dostupné pouze v několika obcích. Intoxikovaní klienti musí za tuto službu zaplatit (cca 15 euro/1 noc).
2. Pokud není dostupná noclehárna, o osobu je postaráno v nemocnici. Některé nemocnice (všeobecné nemocnice, pohotovost) mají zvláštní místnosti s vyčleněnými lůžky, pro osoby pod vlivem alkoholu. V případě malých nemocnic jsou ale tyto osoby na pokoji s ostatními pacienty.
3. Jednotky policejní detence, pokud nejsou možná předchozí dvě řešení. Oficiálně jsou osoby v detenci drženy z důvodu porušování veřejného pořádku přes noc, nebo dokud nevystřízliví a mohou se o sebe postarat samy.

Polsko

Záchytné stanice se nazývají „izby wytrzeźwien“ (pokoje pro vystřízlivění, dále je rovněž používán český termín záchytná stanice). Jedná se o zdravotnické instituce samosprávy, které fungují 24 hodin denně a podporují orgány prosazování práva a veřejného pořádku. Od roku 1956 jsou zřizovány ve větších městech. Občané za pobyt na těchto stanicích platí. Hlavním úkolem těchto služeb je: 1. péče o pacienty intoxikované alkoholem; 2. poskytnutí hygienických a zdravotních služeb pacientům intoxikovaným alkoholem; 3. poskytnutí první pomoci v urgentních přípa-

PŮVODNÍ PRÁCE

dech; 4. poradenství a poskytnutí informací o škodlivosti užívání alkoholu; 5. motivace klientů k protialkoholní léčbě; 6. příjem klientů ve stavu alkoholové intoxikace, kteří obtěžují veřejnost nevhodným chováním a ohrožují zdraví nebo život svůj i ostatních.

V první fázi existence systému do roku 1981 muselo mít záchytnou stanici každé město nad 100 000 obyvatel. Bylo také možné umístit tam osoby, které byly shledány pod vlivem alkoholu v práci.

Od roku 1997, kdy vstoupila v účinnost nová polská ústava, platí ustanovení, že zachycené osoby se mohou do 7 dnů od nedobrovolného umístění obrátit na soud s žádostí o přezkoumání. V případě, že je neoprávněnost nebo nelegálnost zadržení uznána, soud uvědomí státního zástupce a nadřízené orgány toho, kdo osobu na záchytnou stanici umístil. Do doby nové ústavy nebyla absence možnosti soudního přezkumu protiústavní (12).

Rakousko

„Blue rooms“ (modré pokoje) v rakouských nemocnicích jsou určeny pacientům s akutní alkoholovou intoxikací. Pacienti jsou zde sledováni do doby, než mohou odejít sami. Pacienti se do nemocnice dostávají záchranou zdravotní službou. Kdokoliv, kdo najde v zimě člověka spícího venku ve stavu opilosti, může zavolat záchranou službu. Obvykle je záchraná služba volána policií. V případě, že není intoxikace osoby závažná (pacient není ohrožen na zdraví/životě), ale obtěžuje okolí, je osoba převezena na policejní stanici. V případě jiných psychoaktivních látek jsou lidé při závažnějších intoxikacích také převezeni do nemocnice, většinou jsou ale přijímáni na oddělení intenzivní péče nebo na psychiatrii. Ve Vídni existuje specializovaná „toxikologická intenzivní stanice“ pro všechny druhy intoxikací, která přijímá většinu intoxikovaných osob ve Vídni.

Velká Británie

Systém péče o intoxikované osoby není dostupný v celé zemi, ale služby, které by mohly být označovány jako „Sobering Up Station“ (stanice pro vystřízlivění nebo záchytná stanice), „Drunk Tank“ (místo pro opilce) nebo „Field Hospital“ (plně ošetřovna) fungují v řadě měst. Tzv. „alternative response vehicles“ (vozidla alternativní reakce) známé jako „Booze Buses“ (opilecké autobusy) jsou v provozu řadu let v různých městech Anglie. Londýn navíc během vánočních svátků rozšířil pomoc intoxikovaným jedincům o místa v určených léčebných centrech, kde mohou vystřízlivět, tato místa se nazývají ARC – „Alcohol recovery centre“ (středisko zotavení po alkoholu). Služba nabízí pro intoxikované jedince bezpečné místo, kterým se mohou vyhnout policejní vazbě nebo jednotce intenzivní péče. Booze bus je vozidlo, které parkuje uprostřed města. V některých městech tato služba funguje jen v době Vánoc a během velkých sportovních událostí např. v Cardiffu nebo Yorku. Jinde fungují jen o víkendech (např. Londýn). V Cardiffu je Booze Bus v době sportovních utkání (např. v době ragbyového turnaje šesti národů) umístěn poblíž stadionu a v blízkosti barů a hospod, kde nabízí i zdravotnické služby (drobná ošetření) do 3:00. Alternativou jsou služby „street pastors“ nebo „street angels“, což jsou noční hlídky dobrovolníků, které poskytují pomoc v místech, kde je větší výskyt barů a hospod.

Ostatní země

Z ostatních zemí, které nemají speciální typ služeb, poskytlo některé podrobnější informace o tom, jak se řeší vý-

skyt intoxikovaných osob ve veřejném prostoru, Chorvatsko, Německo, Portugalsko a Turecko.

V Chorvatsku je osoba intoxikovaná alkoholem, která obtěžuje okolí, narušuje veřejnou bezpečnost a pořádek, převezena do policejní cely, kde je do vystřízlivění. V případě, že je osoba intoxikována jinou látkou, je převezena na detoxifikaci a poté si ji převezme policie. Podle přestupkového zákona může být osoba, která byla chycena při činu narušujícím veřejný pořádek a za okolností nasvědčujících tomu, že by mohla v jednání pokračovat, zadržena do vystřízlivění, nikoliv však na dobu delší než 12 hodin.

V Německu mohou být osoby pod vlivem alkoholu (nebo jiné látky) obtěžující veřejnost zadrženy do druhého dne na policejní stanici, nebo jsou tyto osoby přijaty na psychiatrické (nebo jiné vhodné) oddělení k vystřízlivění (obvykle trvá pobyt pár hodin). Běžná praxe je taková, že pokud jedinec nechce dobrovolně podstoupit systematickou detoxifikaci v délce 10–14 dní, druhý den odchází. Jedinou výjimkou jsou osoby, které jsou nebezpečné sobě nebo okolí – v takovém případě je možné osobu držet proti její vůli nejvýše 24 hodin, pokud soud nepotvrdí toto rozhodnutí (alespoň ve většině zemí SRN).

Z Portugalska hlásili existenci služby na velkých hudebních a tanečních festivalech, která pomáhá lidem intoxikovaným alkoholem nebo jinou látkou a kde mohou intoxikovaní zůstat do doby, než se cítí lépe.

V Turecku vydalo ministerstvo vnitra pokyn všem provinciím, aby intoxikované umísťovali do policejních cel zvláště v zimě. Mnoho provincií poskytuje intoxikovaným osobám přístřeší. Pokud je potřeba léčba, je kontaktován zdravotní systém, rezortem vnitra je kontrolován trestní rejstřík zadržovaných, v případě problémů s identifikací je kontaktováno oddělení evidence obyvatel.

DISKUZE

Provedený průzkum byl velmi krátkou a jednoduchou sondou cílenou na úzký okruh klíčových informantů v dané zemi, přičemž míra response mírně přesáhla 50 % – výsledky tedy neposkytují ucelený obrázek o situaci v celé Evropě. Z odpovědí respondentů vyplývá, že specifický systém péče o intoxikované, který se svými funkcemi více či méně blíží systému záchytných stanic, jak jej známe z České republiky, existuje přibližně ve třetině evropských zemí.

Bohužel mezi non-respondenty bylo slovenské NMS. Slovensko díky společné historii mělo donedávna podobně jako Česká republika funkční síť záchytných stanic, která ovšem přibližně před 10 lety zanikla v zásadě z finančních důvodů. V současnosti tvoří pacienti intoxikovaní alkoholem značné potíže na standardních lůžkových odděleních, zejména na interních nebo psychiatrických, kam bývají odvázeni. V tomto smyslu je vývoj na Slovensku zajímavým srovnáním s naší zemí zejména z hlediska diskuzí o možných konsekvencích spojených s případným omezením či zrušením této sítě institucí (13, 14).

Litva a Polsko, dvě z pěti zemí v průzkumu, kde specializovaný systém péče o intoxikované osoby existuje, jsou také z bývalého východního bloku, kde fungovaly systémy na principu záchytných stanic. Ty měly svůj původ v Sovětském svazu, kde byla první záchytná stanice založena v Moskvě v roce 1923 a postupně vznikla celostátní síť těchto stanic. Ty byly určeny pro podnapilé osoby mimo ohrožení zdraví nebo života, které nebyly zdrojem „společenských problémů“

a neměly psychiatrickou diagnózu. Na záchytce vystřízlivěly a byly druhý den propuštěny. Sovětské záchytky fungovaly v pravomoci policie, ale pod medicínským vedením. Pobyt na nich byl zpoplatněn. Sloužící lékař zabezpečoval akutní medicínský dohled, ale také se měl postarat o zajištění další odborné péče u indikovaných případů. Pobyt na záchytce byl hlášen zaměstnavateli. Sovětské záchytné stanice byly považovány za první stupeň péče o osoby závislé na alkoholu v rámci celého sovětského systému tzv. narkologické péče (15). Z popisu funkcí, které plnily záchytné stanice v Sovětském svazu, je vidět, že byly předobrazem záchytných stanic v celém sovětském bloku a že je potřeba korigovat u nás rozšířené vnímání záchytných stanic jako českého vynálezu či exportního artiklu.

V postsovětské Litvě systém záchytných stanic před 10–15 lety zanikl. Také na Ukrajině byly záchytky zrušeny v roce 2000 a péči o opilce a akutně intoxikované osoby zde zajišťují záchranná služba spolu s regionálními nemocnicemi a zdravotními středisky (Svetlana Sidyak z ukrajinského NMS, osobní komunikace, leden 2013). V Polsku přetrvál systém záchytných stanic do současnosti a jeho více než padesátiletá historie je spojena s řadou změn, které reagovaly na měnící se společenskou situaci a potřeby. Záchytné stanice jsou v Polsku považovány za významný prvek systému redukce škod působených alkoholem, i když je jejich existence stále kontroverzní. V době svého vzniku byly vnímány jako moderní nástroj, který omezil trestně-represivní řešení případů intoxikovaných osob, a současně zabezpečil minimální zdravotní péči intoxikovaným osobám a ochránil je před úrazem, smrtí podchlazením nebo pácháním kriminality. Záchytné stanice v Polsku jsou zdravotnická zařízení, která plní současně i funkci pořádkovou či represivní – vůči osobám, které nepředstavují hrozbu pro sebe nebo pro okolí, se projevuje výlučně funkce pečovatelská. Mltník představuje možnost zpětně přezkoumat oprávněnost zadržení na záchytné stanici soudem, což uvedlo činnost záchytných stanic v Polsku do souladu s lidskými právy klientů a snížilo pravděpodobnost represivního zneužití záchytek. Velmi pravděpodobně mělo upravení statutu záchytné služby v Polsku také za důsledek zvýšení profesní prestiže personálu. Stále nevyřešená zůstává v Polsku otázka plateb za pobyt na záchytných stanicích, které jsou považovány za podporu jejich represivní funkce, ale na druhé straně je zmiňována také preventivní funkce vůči některým skupinám klientů (12).

Systémy ve třech dalších zemích, ve kterých existují specializované služby pro intoxikované, ale které nebyly součástí východního bloku, tj. ve Finsku, Rakousku a Velké Británii se liší svou historií i organizací, ale mají s ostatními systémy na bázi záchytných stanic společného jmenovatele – poskytují základní medicínskou péči intoxikovaným osobám s cílem ochránit zdraví a bezpečí samotných intoxikovaných i jejich okolí a jako takové mají výraznou preventivní funkci a funkci minimalizace rizik a škod (harm-reduction).

Záchytné stanice v Československu před více než 60 lety vznikly jako specifická veřejně zdravotní služba, která v tehdejší době představovala velmi moderní přístupy k řešení problémů spojených s užíváním alkoholu, s jasnou návazností na další odvykací léčbu alkoholizmu již v době svého vzniku – každá opakovaně zachycená osoba byla pozvána na vyšetření do protialkoholní poradny (1). I současný zákon dobře pamatuje na „záchytnou“ funkci „záchytek“ a navázání ošetřených osob na další intervence zdravotního nebo

sociálního charakteru, na což se v současných diskuzích také často zapomíná – kulhá především prováděcí praxe a vymáhání zákonných ustanovení a koordinace činnosti záchytných stanic a jejich funkce v rámci celého systému péče o závislé. Zásadním problémem je pak naprostý nedostatek specializovaných ambulantních pracovišť (dřívějších OAT), kam by bylo možno indikované klienty delegovat. V této souvislosti je zajímavým počinem spolupráce záchytné stanice v Českých Budějovicích s o. s. Prevent, které je zavedeným regionálním poskytovatelem adiktologických služeb nejen zdravotních. Spolupráce, která byla zahájena v polovině roku 2012, spočívá v zajištění adiktologického vyšetření a poradenství u mladistvých klientů záchytné stanice a v případě potřeby v zajištění další péče a služeb klientům i rodině (16).

Jak zjistil průzkum provedený v letech 2011–2012, činnost záchytných stanic se v České republice v současnosti potýká s řadou problémů (17). Polovina stanic nehlásí v rozporu se zákonem příjem klienta praktickému lékaři. Jako důvod jsou uváděny chybějící finanční a personální kapacity. Záchyt mladistvé osoby zákonnému zástupci a orgánu sociálně-právní ochrany dětí, který je podle zákona rovněž povinný, oznamuje jen třetina stanic. Se spádovou OAT, jejichž síť se v průběhu posledních 20 let fakticky rozpadla, spolupracují jen čtyři stanice z celkem 17 v České republice. Téměř na polovinu pracovišť zajišťuje provoz lékař se zdravotní sestrou a sanitářem/ošetřovatelem. Častá praxe je, že lékař je přítomen pouze při příjmu a propouštění klienta, jinak je v pohotovosti na telefonu. V záchytných stanicích ve velkých městech považují kapacitu za nedostatečnou, v malých městech naopak.

Poplatek za pobyt na českých záchytných stanicích není jednotný, je určen zřizovatelem a pohybuje se v rozmezí 600–9000 Kč, obvykle 2000–3000 korun (18). S platbami ze strany zachycených osob jsou problémy. Pražská stanice v roce 2006 například vydala 4000 faktur k úhradě pobytu za více než 8 mil. Kč, z toho zůstalo bezmála 3000 faktur neuhrzeno (19). Situaci navíc komplikuje skutečnost, že většina dlužníků není po propuštění k dohledání. Většina nákladů spojená s provozem je tedy na zřizovatele, což může představovat v některých krajích problém (20).

Problém představuje také indikace k pobytu na záchytné stanici versus indikace na nemocničních odděleních intenzivní péče. Kromě výše uvedených indikací uvedených přímo v zákoně č. 379/2005 Sb. nejsou indikační kritéria a postupy péče o zachycené osoby během pobytu na záchytce blíže specifikovány; k zákonu nebyla vydána žádná vyhláška. Vzhledem k tomu, že opilý pacient je pravidelně špinavý, nepříjemný a mnohdy agresivní, nebývá mu na standardních odděleních poskytnuta adekvátní péče nebo mu není péče poskytnuta vůbec (21). Naopak existují případy, kdy primárně bývají osoby odesílány k hospitalizaci na jiných nemocničních odděleních, i když jsou indikovány k ošetření na záchytné stanici, a to i policií, která nejčastěji u intoxikovaných osob zasahuje jako první. Problémem je také prostorové a technické vybavení záchytných stanic, které neodpovídá případnému zvládnutí život ohrožujících stavů (22). U vážnějších stavů je tedy nutný překlad na jednotku intenzivní péče.

ZÁVĚR

Problematika speciální péče o intoxikované osoby a jejího nastavení je aktuální v různých zemích s různými

PŮVODNÍ PRÁCE

historickými zkušenostmi a různými systémy zdravotní péče. V zemích, kde v nějaké formě speciální péče typu záchytných stanic nebo záchytné služby existuje, plní v zásadě tyto základní funkce:

- poskytnutí základního zdravotního dohledu a péče intoxikovaným osobám, pokud o ně nemůže být postaráno jinak,
- prevence zdravotního poškození ve stavu intoxikace jako jsou úrazy, podchlazení, udušení v důsledku vdechnutí zvratků apod.,
- poskytnutí základních informací o škodlivosti alkoholu a jiných drog, poradenství a motivace k další léčbě,
- systémové navázání indikovaných osob na síť zařízení pro léčbu závislosti a na další zdravotní a sociální služby,
- řešení a prevence ohrožení ostatních osob, veřejného pořádku a majetku způsobeného chováním intoxikovaných osob.

Současně speciální systém péče o intoxikované osoby zaručuje, že není nadužíván a zneužíván systém poskytování intenzivní zdravotní péče na jedné straně a ani systém prosazování práva na straně druhé. Jednoduše řečeno, osoby akutně intoxikované alkoholem nezatěžují systém tam, kde to není třeba. Z tohoto hlediska a v současné ekonomické situaci představují záchytné stanice v České republice pravděpodobně i ekonomicky zajímavé řešení. Je ovšem nutné dořešit jejich návaznost na systém léčebně-preventivní péče v oblasti závislosti (a to jak u praktických lékařů, tak ve specializovaných programech oboru návykových nemocí a adiktologie), statut a práva zachycených osob a otázky financování a zpoplatnění této služby. Tyto otázky by mohla řešit např. vyhláška k připravovanému zákonu, který nahradí výše zmiňovaný zákon č. 379/2005 Sb.

Zkratky

ARC	Alcohol recovery centre
EMCDDA	Evropské monitorovací centrum pro drogy a drogovou závislost
NMS	Národní monitorovací středisko pro drogy a drogové závislosti
OAT	ordinace pro léčbu alkoholismu a jiných toxikomanií

Literatura

1. **Skála J.** Historie léčby závislosti v České republice. Kalina K. et al. Drogy a drogové závislosti - mezioborový přístup 2. Praha: Úřad vlády ČR 2003: 91-96.
2. **Kalina K, Douda I, Klímová H, et al.** Spravedlivý jako palma kvést bude. Jaroslav Skála - zakladatel české adiktologie. Zaostřeno Na Drogy 2008; 6 (1): 1-12.
3. **Rubeš J.** Projekt Záchytného ústavu Hlavního města Prahy. Protialkoholický Obzor 1973; 8(2): 65-68.
4. **Mravčík V, Nechanská B, Šťastná L.** Ambulantní péče o uživatele a závislé na návykových látkách v ČR ve zdravotnické statistice od roku 1963. Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie 2011; 60(2): 64-73.
5. **Nechanská B, Mravčík V, Šťastná L, Brožová J.** Uživatelé alkoholu a dalších drog ve zdravotnické statistice od roku 1959. Praha: Úřad vlády ČR a ÚZIS ČR 2011.
6. **Nechanská B.** Činnost záchytných stanic v roce 2011. Aktuální informace č. 14/2012. Praha: ÚZIS ČR 2012.
7. **Mravčík V, Grohmannová K, Chomynová P, et al.** Výroční zpráva o stavu ve věcech drog v České republice v roce 2011. Praha: Úřad vlády ČR 2012.

8. **Nechanská B.** Údaje v Národním registru uživatelů lékářsky indikovaných substitučních látek - rok 2011. Aktuální informace č. 01/2012. Praha: ÚZIS ČR 2012.

9. Liberecký kraj. Liberecký kraj obnovuje po 12 letech záchytnou stanici v Liberci. 2012. [Web Page]. 14. srpna 2012. <http://www.kraj-lbc.cz/aktuality/id:164924> [06/01/2013].

10. Liberecký kraj. Záchytná stanice začne v Liberci zkušebně fungovat 3. prosince. 2012. <http://www.kraj-lbc.cz/aktuality/id:175069> [06/01/2013].

11. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Reitox network. 2012. [Web Page]. 25. září 2012. <http://www.emcdda.europa.eu/about/partners/reitox-network> [07/01/2013].

12. **Zulewska-Sak J.** Funkcjonowanie izb wytrzeźwień w Polsce (Fungování záchytných stanic v Polsku). Alkoholizm i Narkomania 2005; 18(1-2): 89-103.

13. **Turček K, Novotný V.** K znovuzriadovaniu protialkoholických záchytných stanic. Alkoholizmus a Drogové Závislosti (Protialkoholický Obzor) 2009; 44(3): 182-184.

14. **Novotný V, Janík P.** Supluje psychiatria záchytku? Alkoholizmus a Drogové Závislosti (Protialkoholický Obzor) 2010; 45(1): 107-112.

15. **Wortis J.** Alcoholism in the Soviet Union: Public Health and Social Aspects. American Journal of Public Health and the Nations Health 1963; 53(10): 1644-1655.

16. OS PREVENT. Přibývá mladistvých, kteří mají problémy s alkoholem. Tisková zpráva. 28. června 2012. <http://www.os-prevent.cz/aktuality/pribyvamladistvychkterimajiproblemysalkoholem> [09/01/2013].

17. **Burešová Z, Mravčík V, Popov P, Miovský M.** Institucionální analýza současného stavu záchytných stanic v České republice. Česká a slovenská psychiatrie 2013, v tisku.

18. **Burešová Z, Janouškovec V, Sklenář O, Popov P.** Analýza současného stavu záchytných stanic. Praha: 1. LF UK 2011 (nepublikováno).

19. **Chromčák V, Beran M, Novák J.** Protialkoholní záchytná stanice - co s klienty dále? Referátový Výběr z Psychiatrie 2007; 6(2 Speciál): 22-23.

20. **Hlásenský V.** Soumrak záchytek. Zdravotnické Noviny 2003; 52(49): 19.

21. **Podlaha J.** Těžké stavy provázející intoxikaci alkoholem a následné komplikace. Adiktologie 2005; 5 (S2): 271-273. Příspěvek ze sborníku XI. celostátní konference Společnosti pro návykové nemoci a 44. konference sekce AT při ČLS JEP, Měřín 2.-5. 5. 2005.

22. **Wildová O.** 60 let protialkoholní záchytné stanice u Apolináře. www.medicina.cz 16. května 2011. http://www.medicina.cz/verejne/clanek.dss?s_id=8966&s_ts=40680,0738888889 [2012-08-09].



Vznik textu byl podpořen projektem NETAD („Sítování vědecko-výzkumných kapacit a cílený rozvoj spolupráce mezi vysokými školami, veřejnou správou, soukromým a neziskovým sektorem v adiktologii“, reg. č. CZ.1.07/2.4.00/17.0111 OP VK), který je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky a institucionálním programem podpory PRVOUK-P03/LF1/9.

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Viktor Mravčík

Národní monitorovací středisko pro drogy
a drogové závislosti

Úřad vlády ČR

nábřeží E. Beneše 4, 118 01 Praha 1

e-mail: mravcik.viktor@vlada.cz

Zkušenosti s personalizovanou medicínou při posuzování invalidity u duševních poruch a poruch chování

Libuše Čeledová, Rostislav Čevela, Alena Ornerová

Odbor lékařské posudkové služby MPSV, Praha

Čas. Léč. čes. 2013; 152: 135–138

ÚVOD

Zákon č. 155/1995 Sb., o důchodovém pojištění, ve znění pozdějších předpisů, od 1. ledna 2010 nově vymezil posudkově rozhodné skutečnosti pro uznání invalidity a zavedl třístupňový systém invalidity. Stávající medicínsko-posudková kritéria posuzování invalidity podrobněji upravená vyhláškou č. 359/2009 Sb. jsou výsledkem projektu „Promítnutí pokroků lékařské vědy do funkčního hodnocení zdravotního stavu a pracovní schopnosti ve vztahu k Mezinárodní klasifikaci nemocí a s přihlédnutím k Mezinárodní klasifikaci funkčních schopností“ řešeného Českou lékařskou společností J. E. Purkyně. V kapitole V přílohy vyhlášky o posuzování invalidity je oblast duševních poruch a poruch chování zpracována s ohledem na funkční poruchy a jejich dopad

na kvalitu života. Nový způsob posuzování umožňuje posoudit funkčních schopností jedince, jeho zdravotní postižení a cíleně kompenzovat pokles jeho pracovní schopnosti. Posuzováním invalidity z pohledu hodnocení funkčního dopadu zdravotního postižení na kvalitu života, schopnosti vykonávat běžné aktivity a schopnosti pracovat se posudkové lékařství vydalo cestou personalizované medicíny (1, 2).

INVALIDITA A POSOUZENÍ POKLESU PRACOVNÍ SCHOPNOSTI

Invalidita jako posudkově medicínská kategorie systému důchodového pojištění je kategorií vícerozměrnou, neboť obsahuje zdravotní, pracovní, sociální, právní a ekonomické

SOUHRN

Článek seznamuje s tříletými zkušenostmi s posuzováním invalidity u duševních poruch a poruch chování. Nové paradigma posuzování zdravotního stavu, míry poklesu pracovní schopnosti a invalidity u duševních poruch a poruch chování je uplatňováno od roku 2010 na základě výsledků projektu „Promítnutí pokroků lékařské vědy do funkčního hodnocení zdravotního stavu a pracovní schopnosti ve vztahu k Mezinárodní klasifikaci nemocí a s přihlédnutím k Mezinárodní klasifikaci funkčních schopností“

řešeného Českou lékařskou společností J. E. Purkyně a prokázalo své opodstatnění jako vykročení posudkového lékařství do světa personalizované medicíny.

KLÍČOVÁ SLOVA

duševní poruchy a poruchy chování – posudkové lékařství – personalizovaná medicína

SUMMARY

Čeledová L, Čevela R, Ornerová A. Experience with personalised medicine with respect to disability assessment in patients suffering from mental and behavioural disorders

The article presents the outcomes of the new disability assessment paradigm, which was running for three years and concerns patients with mental and behavioural disorders. This paradigm for assessing the state of health, decrease in the working capacity, and disability in patients with mental and behavioural disorders has been asserted since 2010. It is based on the

findings of the project entitled, “Advances in medical science reflected in functional health state assessment and working incapacity in relation to International Classification of Diseases and International Classification of Functional Abilities”, conducted by Czech Medical Association J. E. Purkyne. Consequently, the new paradigm proved its value and significance to the transition of medical assessment into personalised medicine.

KEYWORDS

mental and behavioural disorders – assessment medicine – personalised medicine

KAZUISTIKA

skutečnosti. Základní a výchozí příčinou invalidity je vždy zdravotní postižení, které musí mít charakter dlouhodobě nepříznivého zdravotního stavu (DNZS). Posudkově rozhodné pro uznání invalidity nejsou jen skutečnosti o zdravotním stavu, ale o funkčním dopadu zdravotního postižení na využívání pracovního potenciálu včetně kvalifikace (3-5).

Pojištěnec je invalidní, jestliže procentní míra poklesu pracovní schopnosti poklesla:

- nejméně o 35 %, avšak nejvíce o 49 %, jedná se o invaliditu prvního stupně,
- nejméně o 50 %, avšak nejvíce o 69 %, jedná se o invaliditu druhého stupně,
- nejméně o 70 %, jedná se o invaliditu třetího stupně.

Při určování poklesu pracovní schopnosti se vychází ze zdravotního stavu pojištěnce doloženého výsledky funkčních vyšetření. Přitom se bere v úvahu, zda jde o zdravotní postižení trvale ovlivňující pracovní schopnost, zda se jedná o stabilizovaný zdravotní stav, zda a jak je pojištěnec na své zdravotní postižení adaptován, schopnost rekvalifikace pojištěnce na jiný druh výdělečné činnosti, než dosud vykonával a schopnost využití zachované pracovní schopnosti (3-5).

Duševní choroby představují v rozvinutých státech světa dle údajů Světové zdravotnické organizace největší společensko-ekonomickou zátěž. Počet pacientů přicházejících do psychiatrických ambulancí se zvyšuje rovněž v České republice. Při porovnání s rokem 2000 došlo u dospělé populace k nárůstu počtu pacientů o téměř 54 %. Počet pacientů léčených v ambulantních psychiatrických zařízeních stoupl např. od roku 2007 do roku 2011 téměř o více než 90 000; z 464 836 v roce 2007 na 556 456 v roce 2011. Nárůst zaznamenal i počet pacientů léčených v psychiatrických lůžkových zařízeních, od roku 2007 do roku 2011 se navýšil téměř o 5000; z 54 759 na 59 297. Výsledky posuzování invalidity celkem a u duševních poruch v letech 2007–2012 ukazuje obrázek 1. Od roku 2010 došlo k mírnému snížení invalidit, v roce 2007 bylo přiznáno 177 430 invalidit, zatímco v roce 2012 to bylo 151 299 invalidit.

Naopak však došlo k mírnému nárůstu invalidit pro poruchy duševní a poruchy chování, v roce 2007 bylo přiznáno 28 012 invalidit a v roce 2012 to bylo 32 326 invalidit. Následná kazuistika uvádí proces posuzování invalidity u pacienta trpícího schizofrenií (17).

KAZUISTIKA

Anamnéza

Muž, 30 let, svobodný, žijící s matkou, která se o něho stará a zastupuje ho ve vyřizování osobních záležitostí na základě plné moci. Není zbaven způsobilosti k právním úkonům.

PA: vyučen elektrikářem, v oboru pracoval do roku 2005, poté již nepracoval.

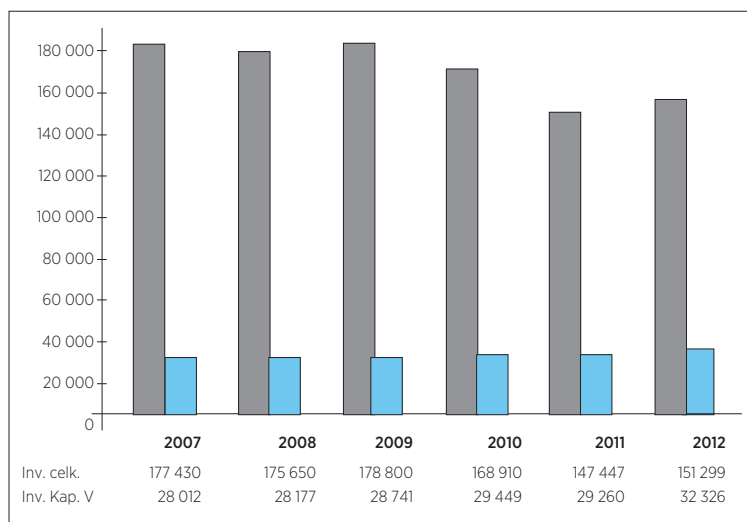
OA: Nebýval vážněji nemocný. Od roku 2005 sledován a léčen pro paranoidní schizofrenii, v letech 2006 a 2007 byl vždy po 2 měsíce hospitalizován v psychiatrické léčebně. Poslední hospitalizace 3 měsíce v roce 2009. Dále léčen ambulantním psychiatrem. Subjektivně si na nic závažného nestěžuje, spí dobře, společnost nevyhledává, chodí na dlouhé procházky (až 40 km). Uvádí, že hlasy neslyší.

Z posudkové dokumentace

Uznán plně invalidním v roce 2006 pro paranoidní schizofrenii. Při kontrolních prohlídkách byl dále plně invalidní a v souvislosti se změnou právních předpisů (od roku 2010) invalidní ve 3. stupni. Při kontrolní lékařské prohlídce v 4/2011 byl na OSSZ snížen stupeň invalidity na 2. Proti rozhodnutí ČSSZ podal námitky a v řízení o námitkách byl také uznán invalidní ve 2. stupni. Námitky tak byly novým rozhodnutím ČSSZ zamítnuty, původní rozhodnutí, že jde o invaliditu 2. stupně, bylo potvrzeno. Podal žalobu k soudu. V žalobě poukazuje (resp. poukazuje matka, která vše za něho vyřizuje) na zdravotní stav, odborné psychiatrické zprávy, které byly součástí spisu i součástí žaloby.

Objektivní nález

Somatický nález v normě. Dle psychiatrické dokumentace se pro paranoidní schizofrenii léčí od roku 2006. Tříkrát byl hospitalizován v psychiatrické léčebně, naposledy 3 měsíce v roce 2009. Od té doby je v ambulantní péči. Aktuálně klidný, orientovaný všemi směry správně, řeč srozumitelná, odpovědi adekvátní, bez latence, myšlení rozvolněné, odbrzděné, nevypravné, floridní psychotickou produkci sice popírá, ale velmi pravděpodobně však byly přítomny sluchové halucinace a zcela jistě přítomna bludná produkce. Fobie v normě, bez výkyvu, emotivita chudá, projev rigidní, viditelný defekt v rámci základního onemocnění. Prognóza nejasná, sociálně opakovaně selhával, spolupráce při léčbě byla špatná a způsobovala dekompenzaci duševního stavu, od roku 2009 ale bez nezbytné nutnosti hospitalizace. Posuzovaný si pod vlivem psychotické produkce změnil příjmení z běžně se vyskytujícího na příjmení zcela nezvyklé z říše pohádek. Je tohoto příjmení jediný v republice. Není zbaven svéprávnosti k právním úkonům.



Obr. 1 Výsledky posuzování invalidit celkem a u duševních poruch a poruch chování (kap. V přílohy vyhlášky č. 359/2009 Sb.) za období let 2007–2012

Zhodnocení

Od roku 2006 léčený pro paranoidní schizofrenii, 3krát hospitalizace v psychiatrické léčebně. Opakovaně vysazování medikace a nespolupráce ze strany posuzovaného. Floridní psychotickou produkci sice popírá, velmi pravděpodobně však jsou přítomny sluchové halucinace, zcela jistě je přítomna bludná produkce. Sociálně opakovaně selhával, od roku 2005 již nebyl schopen najít zaměstnání a pracovat. Při posouzení na Okresní správě sociálního zabezpečení (OSSZ) a v námitkovém řízení byl stav hodnocen jako těžké postižení s přetrvávající závažnou reziduální symptomatikou mezi atakami s podstatným narušením denních aktivit. Dle posouzení v PK MPSV se jednalo o dlouhodobě nepříznivý zdravotní stav, jehož rozhodující příčinou bylo duševní onemocnění – paranoidní schizofrenie, s přetrvávajícími bludy a halucinacemi (i když je sám posuzovaný popíral). Byl léčen se střídavými úspěchy, zejména pro noncompliance. Sociálně opakovaně selhával. Prognóza byla nejasná. Zdravotní stav pracovní zařazení neumožňoval a na závažnost stavu poukazuje i manipulace s rodným příjmením, které se tak vymyká běžnému výskytu. PK MPSV považovala postižení na rozdíl od posudkového lékaře na OSSZ a v námitkovém řízení za zvláště těžké, a to vzhledem k reziduální symptomatice s halucinacemi a bludy, kterou hodnotí jako těžkou, přetrvávající i při dlouhodobé léčbě a stav hodnotí celkově jako neuspokojivý, který vedl k závažnému narušení výkonu denních aktivit a který mu neumožňoval výkon soustavného zaměstnání. Byla přiznána invalidita 3. stupně (resp. invalidita 3. stupně dále pokračovala).

DISKUZE

Pro správné posudkové rozhodnutí není směrodatná samotná diagnóza, neboť neodráží průběh a vývoj onemocnění, neodráží zachovalou psychickou funkční schopnost pacienta. Schizofrenie je onemocnění, které závažným způsobem mění prožívání a chování nemocného člověka, omezuje jeho sociální přizpůsobivost, pracovní schopnost a kvalitu života. Pro správné hodnocení je třeba chápat onemocnění dynamicky, odrážející onemocnění v časovém průřezu a zhodnocující zachovalé psychické funkční schopnosti a pracovní potenciál. V průběhu léčby se obvykle snižuje mohutnost floridních psychotických příznaků, zejména halucinací a bludů. V prezentované kauze funkční stav posuzovanému zatím nedovoluje dostatečnou adaptaci, bezproblémový styk s případnými spolupracovníky, nepochopení okolí. Při odnětí či snížení stupně invalidity je třeba vyčkat určitý čas, aby se mohlo definitivně rozhodnout o schopnosti vykonávat pravidelné zaměstnání, umožnit zpočátku pracovní zařazení formou např. brigádnické práce a ověřit její vliv na další vývoj a průběh choroby v kratším časovém horizontu cca jednoho roku. Snížení stupně invalidity prvoinstančním orgánem bez tohoto ověření považoval odvolací orgán za urychlené a překotné, i když posouzení dle současných posudkových kritérií vypracovaných v součinnosti s příslušnými odbornými společnostmi bylo vcelku správné.

Právě posuzováním invalidity z pohledu hodnocení funkčního dopadu zdravotního postižení na kvalitu života, schopnosti vykonávat běžné aktivity a schopnosti pracovat se posudkové lékařství vydalo cestou personalizované medicíny. Pojem personalizovaná medicína se objevil teprve

v roce 1988 v publikaci K. K. Jain Personalized Medicine a jak uvádí prof. Brdička k zdůrazňování nezbytnosti přijmout individuálnost nemoci každého pacienta přispěly úspěchy v analýze sekvence lidského genomu (6–9). Personalizovaná medicína, jejíž definice je ještě poněkud nejasná, je diskutovaným pojmem spojovaným především s modelem, který zdůrazňuje systematické užití informace o jednotlivém pacientovi k výběru a optimalizaci preventivní péče a léčby (10, 11). Její postavení je zmiňované v kardiologii, psychiatrii, obezitologii aj. (7, 12–14). Personalizovaná medicína je tedy nově koncipovaným oborem, jehož cílem je poskytnout správnou léčbu správnému pacientovi ve správném čase a o splnění tohoto cíle usilují všechny lékařské obory, včetně např. tělovýchovného lékařství (8, 15). Pokud pojmem personalizovanou medicínu jako novou filozofii založenou na vztahu lékaře a pacienta, pak v posudkové medicíně je posuzování invalidity od roku 2010 s prvky klasifikace MKF možné přirovnat k individualizované diagnostice/posuzování a cílené na míru šité terapii/posudek o invaliditě (7, 8, 12).

Součástí personalizované posudkové medicíny je i zhodnocení, zda posuzovaný je schopen pracovní rehabilitace, což je důležité zejména u nemocných s duševními poruchami a poruchami chování. Zákon č. 435/2004 Sb., o zaměstnanosti, uvádí v § 69, že na pracovní rehabilitaci mohou být na základě doporučení ošetřujícího lékaře vydaného jménem poskytovatele zdravotních služeb zařazeny fyzické osoby, které jsou uznány za dočasně neschopné práce, a na základě doporučení okresní správy sociálního zabezpečení vydaného v rámci kontrolní lékařské prohlídky též fyzické osoby, které přestaly být invalidními. Zařazení těchto fyzických osob na pracovní rehabilitaci nesmí být v rozporu s jejich zdravotní způsobilostí; krajská pobočka Úřadu práce je povinna zařazení písemně oznámit příslušné okresní správě sociálního zabezpečení s uvedením data zahájení, místa výkonu, denního rozsahu a celkové délky trvání pracovní rehabilitace a do 5 kalendářních dnů písemně oznámit její ukončení. Zákon o zaměstnanosti tedy umožňuje, aby na pracovní rehabilitaci byli zařazeni dočasně práce neschopní pojištěnci, a to na základě doporučení jejich ošetřujícího lékaře (psychiatra). Obdobnou kompetenci, tj. vydávat doporučení o potřebě pracovní rehabilitace mají okresní správy sociálního zabezpečení při posuzování zdravotního stavu, pracovní schopnosti a invalidity. Doporučení se z posudkově medicínského hlediska vydává v situaci, kdy pojištěnec byl několik let invalidní (zpravidla 4–5 let a popř. i více), nepracoval, ztratil pracovní návyky a dovednosti a případně došlo také ke ztrátě jeho kvalifikace. Vzhledem k tomu, že jde o doporučení, mělo by být vydáváno v těch situacích, kdy to dle odborné úvahy lékaře OSSZ pojištěnec potřebuje, ale současně i za situace, kdy pojištěnec má zájem takové doporučení využít a obrátit se na úřad práce. Jde o nástroj, který má napomoci k zaměstnávání osob se zdravotním postižením a k jejich návratu na trh práce. Není v kompetenci OSSZ, aby doporučovala konkrétní nástroje pracovní rehabilitace. Ke zdravotní způsobilosti k provádění pracovní rehabilitace je kompetentní se vyjádřit ošetřující lékař pojištěnce (3). Jedná se tedy o zcela individualizované/personalizované zhodnocení možností posuzovaného s výrazným dopadem na jeho sociální začlenění. Nárůst invalidit pro duševní poruchy tedy nejen koresponduje s obecným nárůstem duševních onemocnění, ale současně zohledňuje personalizovaný přístup posudkového lékařství.

ZÁVĚR

Pojetí medicínsko-posudkových kritérií invalidity a invalidních důchodů v jejich rozdělení na invaliditu plnou a částečnou bylo v roce 2010 zásadně paradigmaticky změněno. Stávající posudkové lékařství převádí statické diagnózy do funkčně dynamické podoby. Zdravotní postižení je posudkově medicínská kategorie vyjadřující dlouhodobost trvání a při posuzování poklesu pracovní schopnosti se vychází nejen z etiopatogeneze stavu, ale hodnotí se také stav funkčního zdraví. Funkčním zdravím se rozumí hodnocení zachovaných schopností/funkcí a porušení nebo ztráta funkcí na systémech, orgánech, částech těla, které se zdravotním postižením souvisejí ať přímo jako nedílné klinické projevy, či nepřímo v důsledku nepříznivých průvodních jevů léčby, komplikací, průvodních duševních poruch a jiné.

Je třeba však zdůraznit, že základem pro posouzení zdravotního stavu posudkovým lékařem je soubor srozumitelných klinických, pracovních a sociálních dat, bez žargonu, zkratk, bez nadbytečných slov zdůvodňujících diagnózu. Posudkový význam rodinné anamnézy je již nevelký, zejména u starých lidí, významný však v souvislosti s hereditárním výskytem psychiatrických onemocnění. Osobní anamnéza a nynější onemocnění sdělují zdravotní poruchy, jejich vznik či objevení se prvních příznaků, další průběh s uvedením stavů zlepšení a zhoršení, hospitalizací, úspěšnosti či neúspěšnosti léčby a s tím související pracovní neschopnosti, pokusy i neúspěchy v pracovním zařazení. Časově i funkčně definovaná diagnóza tedy obsahuje v jednoduché podobě klíčové momenty dokládající vznik, průběh, závažnost vzniklé poruchy, léčbu, aktuální stav, pracovní úspěchy či neúspěchy. Takto uvedené údaje musí být podloženy ověřenými zdroji dat (nálezy psychiatrickými, psychologickými, neurologickými aj.), nálezy týkajícími se posuzovaného psychiatrického onemocnění, což platí i pro přidružená onemocnění, která mohou být posudkově významná a mohou mít vliv na pokles pracovní schopnosti. Získání potřebných dat k posouzení zdravotního stavu se neobejde bez spolupráce ošetřujícího lékaře, odborných specialistů ambulantních či nemocničních, zdravotnických a sociálních zařízení. Posuzování invalidity je i nadále komplexní proces založený na odborném lékařském posouzení k tomu určeným orgánem sociálního zabezpečení a jeho lékařskou posudkovou službou – na první instanci lékařem OSSZ a na druhé instanci posudkovými komisemi MPSV. Cílem modernizace posuzování invalidity bylo sladit posudkově medicínská kritéria s pokroky lékařské vědy, terapie a moderními lékařskými postupy s akcentací posuzování dopadu funkčního postižení na zdravotní stav a pracovní schopnost posuzovaného. Výsledky posuzování invalidity u duševních onemocnění prokazují svým mírným nárůstem od roku 2010 při mírném poklesu celkové invalidity oprávněnost nastavených posudkově medicínských hledisek, a to i při celkovém nárůstu počtu duševních onemocnění v populaci. Názory lékařské veřejnosti vyjádřené představiteli jednotlivých odborných lékařských společností ČLS JEP se staly základním podkladem pro přijatá právní řešení posuzování zdravotního stavu a pracovní schopnosti. Byl vytvořen systém, který je přehledný, srozumitelný a poskytuje možnost uplatnění personalizované posudkové medicíny (16).

Zkratky

ČSSZ	Česká správa sociálního zabezpečení
LPS	lékařská posudková služba
MKF	Mezinárodní klasifikace funkčních schopností, disability a zdraví
OSSZ	Okresní správa sociálního zabezpečení
PK MPSV	posudkové komise ministerstva práce a sociálních věcí

Literatura

1. Čevela R, Čeledová L, Bělohávková J. Posuzování zdravotního stavu a pracovní schopnosti u duševních poruch a poruch chování. Čas. Lék. čes. 2010; 149(1): 26–31.
2. Čevela R, Čeledová L, Bělohávková J. Posuzování zdravotního stavu a pracovní schopnosti u onemocnění pohybového systému. Čas. Lék. čes. 2009; 148(12): 597–601.
3. Čevela R, a kol. Aktuality pro lékařskou posudkovou službu. Praha: MPSV 2012; 142.
4. Seifert B, Čeledová L. Základní pojmy praktického a posudkového lékařství. 1. vyd. Praha: Karolinum 2012; 193.
5. Zvoníková A, Čeledová L, Čevela R. Základy posuzování invalidity. Praha: Grada Publishing 2010; 360.
6. Brdička R. Personalizovaná medicína – genomická fáze. Proč a zač. Čas. Lék. čes. 2009; 148(10): 477–480.
7. Kinkorová J. Evropská asociace pro preventivní, prediktivní a personalizovanou medicínu. Personalizovaná medicína v evropské unii. Čas. Lék. čes. 2011; 150(7): 402–404.
8. Kinkorová J. Příprava 8. rámcového programu Evropské unie – priorita Health (Evropská komise připravuje návrh zaměření biomedicínského výzkumu s výhledem do roku 2020). Čas. Lék. čes. 2011; 150(9): 502–505.
9. Topolčan O, Kinkorová J. Personalizovaná medicína Klin Farmakol Farm 2012; 26(3): 121–122.
10. Palička V. Personalizovaná medicína a její (možné) postavení v kardiologii. Interv akut Kardiol 2012; 11(1): 6–8.
11. Palička V. Personalizovaná medicína – realita, mýtus, fikce? Čas. Lék. čes. 2010; 149(10): 460–461.
12. Höschl C. Nastal čas uplatnění personalizované medicíny v psychiatrii? Prakt. Lék. 2010; 90(8): 502–505.
13. Rosolová H. Prediktivní, preventivní a personalizovaná medicína. Kardiol Rev 2011; 13(2): 75–76.
14. Svačina Š. Predikce a prevence kardiovaskulárního rizika obezity, personalizovaná léčba obezity. Kardiol Rev 2011; 13(2): 77–79.
15. Novák J. Personalizovaná medicína a tělovýchovné lékařství. Med Sport Boh Slov 2012; 21(1): 12–13.
16. Zvoníková A. Posuzování invalidity a invalidizace v roce 2009 a 2010. Reviz posud Lék 2011; 14(2): 51–53.
17. www.uzis.cz

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

doc. MUDr. Libuše Čeledová, Ph.D.

Odbor posudkové služby MPSV
Na Poříčním právu 1, 128 00 Praha 2
e-mail: libuse.celedova@mpsv.cz

16. celostátní konference DNA diagnostiky

dokončení z čísla 2/2013

28.–30. listopadu 2012, Brno

SEKCE FORENZNÍ GENETIKY

Y-STR analýza – PowerPlex® Y23 System: Jeden kit pro srovnávací a forenzní vzorky (okamžitá amplifikace)

Lachmanová S.¹, Thompson J. M.², Ewing M. M.², Fulmer P. M.², Rabbach D. R.², Sprecher C. J.², Storts D. R.²

¹EAST PORT Praha s.r.o.

²PROMEGA

e-mail: sonja.lachmanova@eastport.cz

Testování Y-STR je osvědčenou metodou pro forenzní genetiku, určování paternity a genealogické studie. PowerPlex® Y23 System obsahuje 17 lokusů Y-STR, které jsou součástí nynějších Y-STR kitů (DYS19, DYS385a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438, DYS439, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635, Y-GATA-H4), a dalších šest Y-STR lokusů (DYS481, DYS533, DYS549, DYS570, DYS576 a DYS643), které mají vysokou rozlišovací schopnost („genediversity factor“). Toto uspořádání zvyšuje schopnost odlišit danou osobu od různých rodičovských linií a určuje další návazné smysluplné analýzy. PowerPlex® Y23 System je robustní multiplex, který toleruje přítomnost mnoha inhibitorů PCR, např. hematinu, taninu nebo huminových kyselin. Systém vykazuje výraznou citlivost v přítomnosti i minimálních množství mužské DNA v přítomnosti nadměrného množství ženské DNA. Byly získány kompletní profily u vzorku obsahujícího 62 pg mužské DNA v přítomnosti 400 ng ženské DNA (6450krát většího množství).

Tento kit umožňuje okamžitou amplifikaci z různých substrátů, např. z krve a bukových stěrů na FTA® kartách (GE Healthcare/Whatman), a z dalších běžně používaných papírových nosičů. Systém PowerPlex® Y23 podává spolehlivě plné profily Y-STR ze stěrů, pokud je používán společně s kitem SwabSolution™ Kit od Promegy. Y-STR amplifikace se systémem PowerPlex® Y23 probíhá pouze 90 minut, což představuje výrazné zkrácení oproti amplifikaci s dostupnými kity. Společně se svou tolerancí k inhibitorům PCR, vylepšenou citlivostí a protokoly pro stopy a srovnávací vzorky je PowerPlex® Y23 System novým standardem pro Y-STR analýzy.

Rychlá forenzní DNA identifikace osob – nový trend v kriminalistické praxi

Minárik M.

Genomac výzkumný a znalecký ústav Praha

e-mail: mminarik@email.com

DNA jako identifikační prvek je v kriminalistice používána od druhé poloviny osmdesátých let 20. století, kdy Sir Alex Jeffreys působící na Univerzitě v Leicesteru objevil přítomnost specifických nekódujících sekvencí v lidském genomu (tzv. minisatelitů) a předvedl využití jejich analýzy pro identifikaci osob (1). Metodika vyšetřování lidských minisatelitů (častěji též VNTR – variable number of tandem repeats) byla označena jako „DNA fingerprinting“ a začala být komerčně dostupná od roku 1987. S příchodem technologie PCR ve stejném období (2, 3) a její následnému rychlému pronikání do rozličných částí aplikované genetiky, byly původní metody DNA fingerprintingu, založené na restričním štěpení (RFLP) následovaném Southernovým blotem, nahrazeny metodikou PCR amplifikace specifické podskupiny VNTR markerů – krátkých opakujících se sekvencí (STR – short tandem repeat). Po uvedení optimalizovaných STR detekčních kitů v singleplex formátu (Promega) a následně i v mutliplex formátu (Promega, Applied Biosystems) se tyto staly neodmyslitelnou součástí forenzní praxe, a to jak v oblasti analýzy referenčních vzorků a databázování, tak i v oblasti DNA typování rozličného typu biologických stop získaných při ohledání místa činu.

Klasický protokol současné forenzní DNA identifikace se sestává ze tří oddělených kroků: 1. izolace DNA z předmětného vzorku, 2. PCR amplifikace STR systémů obsahujícího minimální sadu doporučených STR markerů (tzv. core STRmarkery, CODIS markery) a 3. fragmentační analýzy amplifikovaných produktů s pomocí kapilární elektroforézy (CE). Jakkoliv je tato metodika všeobecně akceptována a řadu let využívána, její hlavní nevýhodou je relativně dlouhý čas nutný k provedení všech postupných kroků, stejně jako nároky na vybavení vyžadující provedení testu ve specializované forenzní DNA laboratoři.

Z tohoto důvodu jsou již řadu let vyvíjeny nové DNA analyzátoři, kde je celková doba nutná pro provedení testu významně zkrácena s využitím mikrofluidních reaktorů na provádění DNA izolace a PCR reakce a mikročipové CE na super rychlou DNA separaci. V nedávné době bylo představeno několik systémů označovaných jako „Rapid DNA“ a první

ABSTRAKTA

z nich je již od léta 2012 komerčně dostupný (4). Ve všech případech se jedná o obdobný princip, kdy výše zmíněné jednotlivé kroky jsou plně integrovány a automatizovány ve formátu jediného kompaktního přístroje. Od vstupu vzorku (vlození tyčinky buklátního stěru) až po výsledný DNA profil, vše probíhá bez jakékoli nutnosti zásahu obsluhy, tedy i bez nutnosti provádění ve specializované laboratoři. Celková doba tohoto tzv. „swab-in/profile-out“ procesu je v současnosti zhruba do 90 minut, což představuje 5–10násobné urychlení oproti standardnímu protokolu. Rapid DNA technologie představuje zásadní nový trend ve forenzní genetické analýze, a lze proto očekávat její brzké uplatnění v rutinní kriminalistické praxi.

Literatura

1. **Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SW.** Hypervariable „minisatellite“ regions in human DNA. *Nature* 1984; 314: 67–73.
2. **Saiki R, Scharf S, Faloona F, Mullis K, Horn G, Erlich H.** Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230: 1350–1354.
3. **Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H.** Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium in Quantitative Biology* 1986; 51: 263–273.
4. **Integen X RapidHIT 200 Human DNA Identification System.** <http://integen.com/wp-content/uploads/2012/05/The-Case-for-Rapid-DNA.pdf>

SEKCE NEXT GENERATION SEQUENCING

High-throughput metody real-time kvantitativní PCR, vysokorozlišující analýzy křivek tání a NGS

Blatný R.
KRD s.r.o
e-mail: lab@krd.cz

Představíme v současnosti nabízené služby a produkty vyvinuté v rámci výzkumných projektů a servisních zakázek s důrazem na pokročilé metody analýzy dat z high-throughput projektů založených na qPCR a HRM. Špičkové technické vybavení doplňujeme použitím nejnovějších metod analýzy dat ve statistickém jazyce R, například balíčcích „HTqPCR“, „qpcr“, „qpcrNorm“ a „ddCt“. Kromě zpracování dat z interních projektů na Idaho LightScanneru 96 a Roche LightCycleru 480 poskytujeme možnost spolupráce při plánování designu experimentů, výběru a vývoji vhodných reagentů a analýze finálních externích zákaznických dat z moderních high-throughput technologií, například ABI TaqMan Low Density Arrays a OpenArrays, CFX destiček společnosti Bio-Rad, konvenčních 96- a 384-jamkových destiček a inovativních mikrofluidních zařízení, například Dynamic Arrays od společnosti Fluidigm Corporation. Tyto metody slibují možnost budoucího vývoje produktů pro amplikonový target enrichment pro sekvenování druhé a třetí generace. Důležitou tradiční součástí našeho portfolia je možnost doplnění a propojení se službami hybridizace a analýzy mikrorejů. Nově nabízíme také zpracování mikrorejů od společnosti Agilent (další informace viz www.krdlab.cz).

Prezentované výsledky vznikly za podpory grantu Ministerstva průmyslu a obchodu TIP FR-TI3-588.

Ion Torrent/Ion Proton – od unikátní technologie sekvenování DNA k diagnostickému využití

Holeňa O.
Life Technologies Czech Republic
e-mail: Ondrej.Holena@lifetech.com

Technologie Ion Torrent je průkopníkem zcela nového přístupu k sekvenování DNA. Namísto použití světla pro průkaz sekvence DNA, Ion Torrent používá polovodičové technologie ve spojení se standardní polymerázovou reakcí. Ion Torrent překládá chemické signály vznikající při syntéze DNA řetězce – uvolněné vodíkové ionty – do digitální informace, podobně jako čip CMOS v digitálním fotoaparátu překládá fotony do pixelů. Tak jako rozvoj mikroprocesorů zpřístupnil počítačovou a digitální technologii široké veřejnosti, polovodičová technologie Ion Torrentu přináší možnost sekvenování DNA nové generace na dosah prakticky jakékoliv laboratoře. V prezentaci bude nastíněn princip polovodičového sekvenování na přístrojích Ion Proton a Ion Torrent, ale stejnou pozornost budeme věnovat možnostem, které uživatelům těchto přístrojů nabízí metoda AmpliSeq pro cílené resekvenování určitých genů nebo oblastí genomu, které mají vztah k diagnostickému využití. Na opačném konci celého metodického postupu je potom zpracování sekvenáčnických dat a možnost, kterou uživatelům nabízí Ion Reporter – „on cloud“ řešení umožňující rychlou a efektivní interpretaci získaných sekvencí.

Více informací lze získat k prezentované problematice lze získat na webových stránkách Life Technologies nebo na portálu uživatelů a zájemců o technologii polovodičového sekvenování DNA – <http://ioncommunity.lifetechnologies.com>

Využití sekvenování nové generace při studiu vzácných onemocnění

Nosková L.
Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN, Praha
e-mail: noskova.lenka@gmail.com

Vzácná onemocnění jsou heterogenní skupinou nemocí, jejichž molekulární podstata je často neznámá. Vzhledem k tomu, že postihují někdy jen stovky či desítky pacientů na celém světě, není možné k jejich studiu přistupovat klasickými genetickými metodami. Díky novým možnostem analýzy genomu, především díky sekvenování nové generace a díky stále se zvyšující znalosti genetické variability člověka (1000 genomů, ESV, dbSNP, DGV) je možné efektivně odhalit kauzální mutace i u těchto onemocnění.

V Ústavu dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN se poslední 2 roky věnujeme studiu vzácných onemocnění a syndromů pomocí sekvenování nové generace, podle charakteru jednotlivých projektů provádíme buď analýzu celého exomu, nebo vybraných kandidátních oblastí a genů. Dosud bylo v rámci 23 projektů sekvenováno přes 80 exomů, další čtyři projekty se zaměřují na sekvenování vybraného souboru genů. Nedílnou součástí analýz je kromě samotné technologie sekvenování také využití adekvátních bioinformatických nástrojů a následná expertiza v molekulárně

biologické, buněčně patologické a cílené klinické charakterizaci nalezených variant.

Zkušenosti s Next-generation sequencing analýzou

Štekrová J.¹, Janošíková B.²

¹ÚBLG VFN, Praha

²1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

e-mail: jstek@lfi.cuni.cz

Na našem pracovišti využíváme metodu Next generation sequencing (NGS) při diagnostice HNPCC a FAP na analýzu genů MLH1, MSH2, MSH6, EPCAM, APC, MUTYH. K amplifikaci používáme MASTR[®] kity od Multiplikomu. Celkem se při vyšetření HNPCC analyzuje 64 amplikonů (celkem 15033 bp) a při vyšetření FAP 53 amplikonů (celkem 14646 bp). V jednom NGS runu lze analyzovat sedm jedinců se susp. HNPCC nebo jedenáct jedinců se susp. FAP (případně jejich kombinaci).

Validace metodiky probíhala analýzou již dříve vyšetřených pacientů (3krát pro HNPCC a 2krát pro FAP). Všechny nalezené varianty (příp. jejich nepřítomnost u WT) byly potvrzeny také s využitím NGS. Jednalo se o čtyři varianty v genu MLH1, WT v případě genu MSH2, dvě varianty v genu APC a jednu variantu v genu MUTYH.

Dále bylo analyzováno 15 pacientů se susp. FAP, kteří byli vyšetřeni zároveň používanou DGGE/HRM metodou a zároveň NGS metodou. U části takto vyšetřených pacientů byly získány identické výsledky – bylo detekováno pět mutací v genu APC a tři varianty v genu MUTYH. Navíc byly pouze metodou NGS nalezeny dvě mutace v části genu, která se vyšetřovala i původní metodou a pět missence mutací na 3' konci genu APC, který se dosud používanou metodou nevyšetřuje. Pouze NGS metodou bylo dosud vyšetřeno 17 jedinců se susp. HNPCC a osm jedinců se susp. FAP. Pro potvrzení jsou všechny varianty nalezené v kódující sekvenci ověřeny amplifikační daného úseku a klasickou sekvenací. Metodou NGS jsou detekovány i „falešně pozitivní“ varianty, jejichž výskyt se liší podle jednotlivých genů a provedení analýzy. Přes relativní pracnost provedení a falešnou pozitivitu je však NGS citlivá a relativně rychlá metoda.

Práce je podporována výzkumným programem PRVOUK-P27/LF1/1.

Sekvenování nové generace v diagnostice mitochondriálních onemocnění – první zkušenosti

Tesařová M.¹, Vondráčková A.¹, Stránecký V.², Stejskal D.³, Hansíková H.¹, Zeman J.¹

¹Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN, Praha

²Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN, Praha

³Gennet, s.r.o.

e-mail: marketa.tesarova@lfi.cuni.cz

Sekvenování nové generace (NGS) představuje významný mezník v objasňování příčiny dědičných onemocnění. Velkým přínosem je zejména pro ty skupiny chorob, které jsou geneticky velmi heterogenní. Takovou skupinu představují mitochondriální onemocnění (MO), která jsou způsobena poruchou systému oxidativní fosforylace, a jejich incidence je odhadovaná na 1 : 5000. Mitochondriální onemocnění se mohou manifestovat v kterémkoliv věku, klinické projevy mohou být mírné, ale i fatální a obvykle postihují více než jednu tkáň. Mitochondriální onemocnění mohou být způsobena mutacemi v mitochondriální DNA, kdy je dědičnost maternální, nebo mutacemi v jaderných genech, kdy je dědičnost autozomálně recesivní, autozomálně dominantní nebo X-vázaná. Doposud bylo popsáno více než 180 různých jaderných genů, jejichž mutace vedou k rozvoji MO, a v posledních 3 letech jsou tyto geny identifikovány právě pomocí NGS (více než 20 genů). Na základě klinických příznaků nebo jednoduchých laboratorních vyšetření je možné přesně zacílit genetické vyšetření pouze u několika málo typů MO (syndrom MNGIE, mitochondriální encefalo-kardiomyopatie – TMEM70, Leigh syndrom způsobený mutacemi v SURF1), u ostatních je to zcela nemožné a ani náročné biochemické vyšetření neumožní jednoznačně vytipovat omezenou skupinu kandidátních genů. Na příkladě čtyř pacientů chceme prezentovat naše zkušenosti s aplikací NGS v diagnostice mitochondriálních onemocnění.

Podpořeno grantem IGA NT13114 a IGA NT11186.

Next generation sequencing v podání Roche 454

Vohánka J.

Roche s.r.o.

e-mail: jaroslav.vohanka@roche.com

Stolní sekvenátor GS Junior je dnes už v mnoha laboratořích v České republice ideálním nástrojem, jak se ve velmi krátkém čase a při akceptovatelných ekonomických nákladech dostat k cenným sekvenačním datům. Rozšíření tohoto systému v České republice ukazuje, že nejen „ready-to use“ soupravy, ale i aplikační a technický servis usnadňují cestu této platformy do rutinního diagnostického provozu.

Otevřenost GS Junior systému dává příležitost k vytváření vlastního experimentálního designu i samotné laboratoři, nebo je možné využít komerčně dostupné diagnostické soupravy. Rozšíření sekvenování nové generace do jednotlivých laboratoří ale také znamená radikální změnu pohledu na analyzovaná data, kdy objemy sekvencí často atakují desítky tisíc sekvencí pro jeden vzorek.

Je tedy nesmírně důležité správně uchopit bioinformatické nástroje, které jsou pro tuto platformu vyvinuty a nebát se naučit správně interpretovat získaná data.

POSTEROVÁ SEKCE

Profilování genové exprese HGPS pacientů pomocí platformy Agilent

Blatný R.¹, Filimonenko V.², Jarolímová L.³, Halbhuber Z.¹, Hozák P.², Krivjanská M.¹

¹KRD s.r.o Praha

²ÚMG, Praha

e-mail: lab@krd.cz

Hutchinsonův-Gilfordův syndrom (zkr. HGPS, tzv. pravá progerie) je vzácné genetické onemocnění, při kterém se v relativně raném věku začínají objevovat známky předčasného stárnutí. Pacienti s vrozenou progerií se obvykle dožívají maximálně dorosteneckého až časně dospělého věku a nejčastějšími příčinami úmrtí jsou infarkt myokardu a mozková mrtvice. HGPS je obvykle způsoben dominantní mutací v genu laminu A (LMNA). Doposud je známo a publikačně doloženo 22 mutací v genu LMNA asociovaných s rozvojem HGPS. Tyto mutace lze detekovat klasickými metodami sekvenování nebo sekvenováním nové generace, vysokorozlišovací analýzou křivek tání (HRMA) a denaturující vysokorozlišovací kapalinovou chromatografií (DHPLC). Na subcelulární, mikroskopické úrovni se onemocnění projevuje morfologickými abnormalitami ve struktuře jaderné blány. V rámci našeho úsilí o integraci technologií (a jejich výsledků) užívaných k získání informací o genomových mutacích (klasické či next-gen sekvenování, skenovací HRMA nebo specifická bodová HRMA za použití neznačené sondy), genové expresi (qPCR, mikroerejová analýza, next-gen sekvenování) a její regulaci (ChIP-chip, ChIP-qPCR, ChIP-seq) u pacientů s HGPS, využitelných k dalšímu zlepšování metod diagnózy, prognózy, léčby a celkové kvality života pacientů s HGPS, jsme provedli pilotní experiment analyzující genovou expresi ve fibroblastových liniích šesti pacientů s HGPS v porovnání s šesti kontrolními fibroblastovými imortalizovanými liniemi. Cílem prezentovaného experimentu bylo získání počáteční přehledné informace o změnách v expresi genů u pacientů s HGPS. Analýza byla provedena s použitím platformy Agilent a její výsledky jsou prezentovány formou plakátového sdělení. Náš projekt, podporovaný Ministerstvem obchodu ČR (grant FR-TI3-588) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR (grant reg. no. COST 4131/10), je zaměřen na detekci mutací ve strukturních proteinech a s nimi souvisejících změn exprese. Jeho cílem je vývoj komplexních diagnostických metod.

Studium metylačního statusu vybraných genů a lokusů u kolorektálního karcinomu

Bóday Á.^{1,5}, Tavanázis S.¹, Horká K.¹, Vaničková P.¹, Dvořáková H.¹, Čáň J.¹, Sýkora M.¹, Hođslavská V.¹, Kasperčík I.², Škrovina M.³, Gruna J.⁴

¹Laboratoř molekulární biologie, P&R LAB a.s., Nový Jičín

²Laboratoř bioptická a cytologická, P&R LAB a.s., Nový Jičín

³Chirurgické oddělení, Nemocnice Nový Jičín a.s., Komplexní onkologické centrum, Nový Jičín

⁴Onkologické oddělení, Nemocnice Nový Jičín a.s., Komplexní onkologické centrum, Nový Jičín

⁵Katedra biomedicínských oborů, LF OU, Ostrava
e-mail: arpađ.boday@pr-lab.cz

Úvod: Kolorektální karcinom (CRC) je celosvětově považován za civilizační chorobu. Navzdory tomu, že incidence CRC v posledních 5 letech v České republice stagnuje, a mortalita mírně klesá, stále jsme na 1. místě na světě ve výskytu tohoto onemocnění u mužů a na 9. místě u žen.

Vznik CRC je výsledkem kumulace rozdílných genetických a epigenetických změn postihující epitelální buňku. Proces je charakterizován inaktivací tumorsupresorů, aktivací protoonkogenů, deficiencí „mismatch repair“ genů a zásahem do dalších genů prostřednictvím mutací, ztrát alel, hypometylací, hypermetylací, ztrátou imprintingu, microRNA atd. Výsledkem je nekontrolovatelné dělení buněk s vysokou invazivitou a schopností zakládání metastáz.

Cíl: Cílem této práce je studium metylačního statusu promotorů genů MLH1, APC, p16, TP53, MGMT a lokusů MINT1 a MINT2 a stanovení frekvence tohoto typu epigenetické změny v souboru vyšetřených nádorů.

Metoda: Tato pilotní studie zahrnuje 100 pacientů s CRC. DNA byla izolována ze mražené nádorové tkáně (Fuji). Po bisulfitové konverzi (Epigentek) byla provedena amplifikace klasicky a/nebo v reálném čase za použití specifických primerů a hydrolyzačních sond. Separace klasicky amplifikovaných PCR produktů proběhla v agarózovém gelu a na DNA čípech (Agilent).

Výsledky a závěr: V analyzovaném souboru byla detekována hypermetylace v genu APC – 33/100 (33 %), MLH1 – 15/100 (15 %), p53 – 11/100 (11 %), p16 – 22/100 (22 %), MGMT – 36/100 (36 %), MINT1 – 21/100 (21 %), MINT2 – 28/100 (28 %).

Výsledky metylačních analýz jsou dále hodnoceny spolu s mikrosatelitovou instabilitou, ztrátou heterozygoty a přítomností mutací v genech K-ras, BRAF, EGFR a PIK3CA a jsou korelovány s histologickými nálezy.

Získané údaje umožňují molekulární subtypizaci CRC, výběr odpovídajícího konkrétního molekulárního markeru ke sledování progresu a predikce onemocnění a také odpovědi na terapii.

Optimalizace a validace RhD a KELL genotypování pro neinvazivní prenatalní diagnostiku

Böhmová J.¹, Vođička R.¹, Lubušský M.², Kratochvílová R.¹, Krejčířková E.¹, Vrtěl R.¹

¹Ústav lékařské genetiky a fetální medicíny FN, Olomouc

²Porodnicko-gynekologická klinika FN, Olomouc

e-mail: bohmovajana@seznam.cz

Úvod: Důvody zavedení metodiky neinvazivního stanovení RHD a KELL statutu plodu na začátku těhotenství jsou dva:

1. U aloimunizovaných těhotných žen určit plody, které jsou ohrožené hemolytickou nemocí plodu i novorozenců.
2. U žen, které aloimunizované nejsou, provést na základě genotypizace prevenci aloimunizace během těhotenství efektivněji a levněji.

Do současnosti však nebyla v České republice provedena studie, která by posoudila citlivost metodiky se zavedením a využitím vnitřní kontroly amplifikace pro účely neinvazivního stanovení RHD a KELL genotypu plodu pomocí kalibrační řady arteficiálních genotypických směsí.

Cíle práce: 1. posoudit dva typy separačních postupů založených na adsorpci na silikagelový povrch a na separaci na magnetických částicích.

2. Optimalizovat a vyhodnotit genotypování RHD a KELL pomocí real time PCR a minisekvenace (SNaPshot).

Metoda: Izolační postupy byly testovány celkem u 86 vzorků cffDNA metodami real time PCR a/nebo kapilární elektroforézou. Celkem bylo použito pro stanovení genotypů 200 kontrolních vzorků. Optimalizace a kalibrace RHD a KELL genotypizace (KEL1/KEL2 – pozitivní/negativní) byly provedeny pomocí real time PCR a kapilární elektroforézou (minisekvenováním).

Výsledky: Mezi testovanými metodami izolace byly zjištěny prokazatelné rozdíly ve výnosu cffDNA mezi různými typy kolonek a mezi silikagelovou kolonkovou metodou a metodou separace pomocí magnetických partikulí.

TaqMan real time PCR systém byl schopen detekovat 0,22 % RHD ± a KEL1 arteficiální genotypové příměsi. Minisekvenací (SNaPshot) na základě kvantifikace bylo možné detekovat 0,22 % RHD ± a 1,7 % KEL1 arteficiální genotypové příměsi. Minisekvenace je vhodná pro rozlišení homozygotů a heterozygotů. Obě metody jsou schopné rozpoznat fetální genotyp.

Projekt je podporován IGA MZ ČR NT12225.

Triploidies identified at prenatal diagnosis

Čejnová V.¹, Wilimská M.¹, Harmaš V.¹, Marečková J.², Klímová A.¹, Laštůvková J.¹

¹Oddělení lékařské genetiky, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

²Patologické oddělení, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

e-mail: vlasta.cejnova@mnul.cz

Triploidy, the presence of an extra haploid set of chromosomes, is one of the most frequent chromosomal abnormalities affecting human gestation. Its prevalence among all pregnancies has been estimated to be approximately 1% to 3%. Triploidy may be the result of either digyny (extra haploid set from mother) or diandry (extra haploid set from father).

Two distinct phenotypes observed in triploid fetuses have been shown to be associated with parental origin of the triploidy (McFadden and Kalousek 1991). The diandric phenotype is characterised by a normally sized or mildly symmetrically growth retarded fetus with normal adrenal glands, and is associated with an abnormally large, cystic placenta with histological features known as partial hydatidiform mole (Type I). The digynic phenotype is characterised by marked asymmetric intrauterine growth restriction (IUGR), marked adrenal hypoplasia, and a very small, non-molar placenta (Type II).

We present chromosomal, fetal ultrasound and pathological findings in two cases of triploidy diagnosed prenatally. The parental origin of the additional haploid chromosome set was determined based on a range of highly polymorphic microsatellite markers. In the first case, the fetal karyotype was 69,XXY and the histological investigation showed bilateral cystic renal dysplasia.

There were external and internal fetal anomalies, and marked IUGR in the second case of triploidy (69,XXX). The parental origin of the triploidies was found to be maternal and both triploidies were screen positive for trisomy 18.

It has been published that digynic triploidy predominates in fetuses, and diandry accounts for about 50–60 % of early triploid spontaneous abortions.

Detection of DNA Variations in the HMBS Gene in patients with AIP: an Update

Douděřová D., Puchmajerová A., Martásek P.

Laboratory for Study of Mitochondrial Disorders, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague

e-mail: dana.u@email.cz

Background: Acute intermittent porphyria (AIP) is the major autosomal dominant acute hepatic porphyria. AIP is caused by decreased activity of hydroxymethylbilane synthase (HMBS), the third enzyme of the heme biosynthetic pathway. Clinical features include autonomous, central, motor or sensory symptoms, but the most common clinical presentation is abdominal pain caused by neurovisceral crises.

Methods: In order to improve molecular testing of the HMBS gene we use a fast, cost-effective pre-screening method of high-resolution melting using the LightScanner instrument. DNA variations detected by this technique are confirmed by sequencing.

Results: Previously in this study, twenty-eight DNA variations were identified in patients with AIP. Out of them, thirteen were novel mutations, ten were previously reported mutations, two were previously reported polymorphisms, and three were novel rare DNA variations, which require further investigation. Moreover, out of the novel mutations identified, two were de novo mutations, which are rare events in this disorder.

Recently, another novel mutation c.710T>G (p.Val237Gly) and one mutation c.500C>A (p.Arg167Gln) novel for Czech population, were identified. To the fifteen mutations known to exist in the Slavic population to date, another two mutations were identified, broadening the molecular heterogeneity of the HMBS gene in our population.

Conclusion: The probability of a life-threatening porphyric attack in AIP is a significant personal burden and creates a challenge for counseling and medical management. Introducing molecular biology techniques to the diagnosis increase our chances for early treatment of AIP. Based on the identification of the causal mutation in the HMBS gene of the index patient, appropriate genetic counselling based on the DNA diagnostics was applied within the AIP affected families.

Supported by Grants UNCE 204011/12, PRVOUK P24/LF1/3, IGA NT 13120-4/2012.

ABSTRAKTA

Array-CGH ukázala, že zdánlivá parciální monozomie X je ve skutečnosti rozsáhlá monozomie Xp spojená s částečnou trizomií 15q jako důsledek t(X,15)

Durcová L.¹, Popelínská E.¹, Freiburger T.², Šíbllová I.¹, Vlašín P.², Grochová D.¹

¹Cytogenetická laboratoř, Brno

²Centrum prenatalní diagnostiky Veveří, Brno

e-mail: luc.ol@seznam.cz

V prenatalní diagnostice je více než 30 let využíváno stanovení karyotypu plodu z plodové vody nebo choriových klků konvenčním cytogenetickým vyšetřením, avšak tato metoda je schopna detekovat jen chromozomální abnormality větší než 5 Mb. Metoda array-CGH dokáže odhalit mikrolece a mikroduplikace s větším rozlišením a je schopna upřesnit nález konvenčního cytogenetického vyšetření. V naší laboratoři využíváme čip na bázi array-CGH od firmy BlueGnome (Cytochip Focus Constitutional), který má rozlišovací schopnost 100 kb ve 143 klinicky významných lokusech a 0,5–1 Mb v dalších oblastech genomu.

Prezentujeme případ 30leté těhotné ženy, u které ultrazvukové vyšetření plodu odhalilo výpotek v levé polovině hrudníku, NT 3,0 mm, srdeční hrot směřující více ke sternu a suspektní koarktaci aorty. Při biochemickém screeningu bylo stanoveno riziko trizomie 21 1 : 2 a trizomie 13 a 18 1 : 180. Klasické G-pruhování chromozomů amniocytů odhalilo strukturální změnu chromozomu X, která se jevila jako parciální monozomie Xp. Pro upřesnění rozsahu této delecce bylo provedeno vyšetření metodou array-CGH, které detekovalo rozsáhlou delecí chromozomu X (Xp11.22p22.33) a zároveň duplikaci části chromozomu 15 (15q25.2q26.3). Tento výsledek byl dále ověřen metodou FISH, která prokázala, že duplikace je důsledkem t(X,15). Podle dostupné literatury bývá duplikace této oblasti chromozomu 15 spojována s „15q overgrowth“ syndromem. Navíc je tato duplikace často asociována s parciální delecí jiného chromozomu (např. 13q34-qter). Dosud však nebyl popsán případ tohoto syndromu spojený s delecí chromozomu X.

Kazuistika podtrhuje důležitost array-CGH v diagnostice chromozomálních abnormalit, která dokáže přesněji objasnit výsledky získané konvenční cytogenetickou analýzou a poukazuje na nutnost propojení klasické a molekulární cytogenetiky.

Molekulárně genetická diagnostika Niemann-Pickovy choroby typu C

Dvořáková L., Vlášková H., Štorkánová G., Boučková-Hnízdová M., Trešlová H., Stolnaya L., Jahnová H., Pešková K., Elleder M., Hřebíček M.

Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN, Praha

e-mail: lenka.dvorakova@lfi.cuni.cz

Niemann-Pickova choroba typ C (NPC, MIM 257220, 607625) je vzácné, ale velice závažné autozomálně recesivní neuroviscerální onemocnění charakterizované hepatosple-

nomegalii a rozvojem neurologických příznaků. Základním rysem onemocnění je lysozomální strádání volného neesterifikovaného cholesterolu a glykolipidů v důsledku poruchy intracelulárního transportu lipidů. Na úrovni DNA je onemocnění způsobeno mutacemi v jednom ze dvou genů – NPC1 (25 exonů) nebo NPC2 (5 exonů), které kódují funkčně kooperující proteiny neenzymové povahy. Naprostá většina pacientů (95 %) náleží do skupiny NPC1, zbylých 5 % pak do skupiny NPC2 (1). Molekulárně genetické vyšetření zavedené na našem pracovišti má zásadní význam pro včasné a přesné určení diagnózy umožňující efektivní genetické poradenství v postižených rodinách. Znalost genotypu pacienta je důležitá i vzhledem k novým experimentálním terapeutickým přístupům založených např. na využití chaperonů (2). Diagnóza na molekulárně genetické úrovni byla potvrzena u 41 pacientů z 38 rodin náležejících do komplementační skupiny NPC1. Mutace v genu NPC2 byly potvrzeny pouze v jedné rodině. Klinické příznaky pacientů byly velmi variabilní – od infantilních neurologických po adultní ryze viscerální formy. Sekvenováním Sangerovou metodou jsme v genu NPC1 identifikovali 73 mutantních alel; ze 32 různých mutací bylo 14 nových, dříve nepopsaných. Vzorky tří pacientů, u nichž byla nalezena pouze jedna mutace, byly analyzovány metodou MLPA, druhá mutace však nebyla zjištěna. Nalezené mutace jsou rozloženy po celém genu, z hlediska genetického poradenství je však důležité, že 60 % všech identifikovaných mutací se nachází ve 4 exonech (18, 19, 20, 23). Nejčastějšími mutacemi byly p.R1186H v exonu 23 (16 alel), p.S954L v exonu 19 (11 alel) a p.P1007A v exonu 20 (8 alel). Celkem bylo nalezeno 21 různých mutací vedoucích k záměně aminokyselinového zbytku. Lze předpokládat, že tyto mutace způsobují snížení, nikoliv absenci, biologické aktivity proteinu, a jsou proto vhodnými kandidáty pro další výzkum vedoucí k novým farmakologickým přístupům v léčbě NPC.

Literatura

1. Vanier MT. Orphanet Journal of Rare Diseases 2010; 5: 16.
2. Gelsthorpe ME, et al. J Biol Chem 2008; 283: 8229.

Práce je podporována granty IGA MZ CR NT12239-5/2011, RVO-VFN64165/2012, PRVOUK-P24/LFI/3.

Molekulární detekce patogenů – možnosti současné laboratorní diagnostiky

Dvořáková L., Čmejla R., Mazal O., Haugvicová R., Lukavská M., Kavanová M., Šnajdr P., Peková S.

Laboratoř molekulární diagnostiky, Chambon s.r.o., Praha

e-mail: lucidvor@gmail.com

Molekulární detekce patogenních mikroorganismů (virů, bakterií, hub, parazitů) je atraktivní metodou volby v celé řadě klinických situací, kdy techniky klasické mikrobiologie, imunohistochemie nebo sérologie neumožňují díky svým praktickým limitacím infekční agens identifikovat. Jedná se především o klinické stavy způsobené obtížně kultivovatelnými patogeny (*Chlamydia* spp., *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Mycobacterium* spp.), reaktivaci

herpetických virů u pacientů s leukopenií a nedostatečnou tvorbou protilátek (hematoonkologičtí, imunosuprimovaní a transplantovaní pacienti), perakutně probíhající infekce (sepe, těžké nozokomiální nebo komunitní pneumonie, meningitidy, epidemie), infekce anaerobními mikroorganismy (mozkové abscesy, kloubní infekty), infekce u novorozenců, malých dětí a infekce v obtížně biotovatelných lokalitách (limitní množství odebraného materiálu).

Techniky molekulární biologie umožňují přesně identifikovat mikroorganismy na základě jim unikátních sekvencí, bez ohledu na jejich fitness po náběru/v průběhu transportu nebo kultivační nároky. Molekulární detekce patogenů založená na technikách kvantitativní Real-Time PCR umožňuje v několika hodinách identifikovat potenciálně kauzální mikroorganismus a rovněž kvantifikovat jeho nálož v odebraném biologickém materiálu. Tento přístup umožňuje klinickým lékařům u akutních lůžek rychlé posouzení klinického stavu pacienta, okamžité nasazení cílené léčby (s dodatečnou úpravou po určení ATB profilu technikami klasické mikrobiologie) a celkově razantní a specifický přístup ke zvládnutí akutní události. V naší laboratoři jsme od roku 2009 vyvinuli rozsáhlý repertoár kvantitativních Real-Time PCR esejí, pro rychlou a kvantitativní detekci přes 250 různých patogenních mikroorganismů (RNA viry, DNA viry, bakterie, houby, paraziti). Pro potřebnou rychlost a úsporu biologického materiálu byly eseje maximálně multiplexovány, s využitím pětibarevné fluorescenční Real-Time PCR technologie a patogen-specifických hybridizačních sond. Diagnosticky nejdůležitější systémy vyvinuté naší laboratoří získaly CE-IVD certifikát. Od ledna 2010 bylo naší laboratoří těmito technikami vyšetřeno 12 389 klinických vzorků nejrozličnějšího původu (BAL, punktáty, aspiráty z dolních dýchacích cest, stěry z lézí, mozkomíšni mok, periferní krev, moč, stolice, biotické materiály). Nepřekonatelnou výhodou těchto vyšetření je jejich rychlost, nezávislost na biologických charakteristikách a kultivačních nárocích mikroorganismů a především kvantitativní nález. Na základě kvantitativního nálezu lze i ve směsných, primárně nesterilních vzorcích (sputum, stěry z lézí) identifikovat potenciálně kauzální agens.

Erythropoietic protoporphyria: Novel mutation in the ferrochelatase gene in a Czech family

Farrag S.¹, Kučerová J.¹, Šlachťová L.¹, Puchmajerová A.¹, Šperl J.², Martásek P.¹

¹LF UK, Praha

²IKEM, Praha

e-mail: sameh.farrag@yahoo.com

Erythropoietic protoporphyria (EPP) is characterized by excess accumulation of protoporphyrin in erythrocytes, liver and plasma due to deficiency of ferrochelatase (FECH), the last enzyme in the heme biosynthesis. EPP, an autosomal dominant disorder, is almost always associated with two molecular defects. In most of EPP patients, clinical expression requires co-inheritance of a private FECH mutation trans to a hypomorphic FECH*IVS3-48C allele that leads to marked decrease in the enzyme activity. EPP is characterized by cutaneous photosensitivity such as redness, itching, blistering after sun exposure. Hepatic failure occurs in some patients (about 3-10% of EPP patients) which may indicate

liver transplantation (1). We investigated mother and son of Czech origin with manifest EPP and 7 members of their family in 4 generations. A novel mutation in the FECH gene in 4 individuals including probands (G→A transition at position 84 in exon 2; W28X, located in a mitochondrial targeting sequence) was found. In both clinically manifest probands (in son, recently, a liver transplantation was performed) (2) we found a hypomorphic allele as well, contrary to two clinically latent individuals with FECH mutation only. In addition, we screened the frequency of the IVS-48C allele in Slavic Czech population in 312 control individuals (149 males, 163 females). We found the IVS-48C allele in 35 cases (15 males and 20 females). The prevalence of the IVS-48C allele was found to be 11% in the Czech population, 10% among males and 12% among females. These results were found to be similar as in other European populations like in white French (11%) and in British (13%).

Literatura

1. Puy H, Gouya L, Deybach JC. Porphyrias. Lancet 2010; 375(9718): 924-937.

2. Šperl J, Procházková J, Martásek P, Subhanová I, Franková S, Trunecka P, Jirsa M. N-acetyl cysteine averted liver transplantation in a patient with liver failure caused by erythropoietic protoporphyria, Liver Transpl. 2009; 15(3): 352-354.

The project was supported by grants from Charles University in Prague, UNCE 204011/2012 and PRVOUK P24/LF1/3/2012.

Tuberózní skleróza - variabilita fenotypových projevů

Filipová H.¹, Hůrková V.¹, Hořínová V.², Godava M.¹, Vodička R.¹, Vrtěl R.¹

¹Ústav lékařské genetiky a fetální medicíny LF UP a FN, Olomouc

²Ambulance lékařské genetiky, Jihlava

e-mail: vrtel@fnol.cz

Tuberózní skleróza je onemocnění autozomálně dominantní. Jeho incidence je odhadována na asi 1 : 5800 živě narozených dětí. Onemocnění způsobuje mutace v tumor - supresorovém genu TSC1 nebo TSC2. Gen TSC1 kóduje hamartin. Gen TSC2 kóduje tuberin. Ve dvou třetinách případů jde o mutaci de novo. V asi jedné třetině případů se jedná o familiární výskyt. Pro tuberózní sklerózu je typická velká variabilita symptomů. Rozdílná exprese je pozorována nejen u pacientů z různých rodin, ale i mezi postiženými příbuznými v rámci jedné rodiny. V první kazuistice jde o případ de novo vzniklé mutace v genu TSC2. U probanda došlo k typickým projevům tuberózní sklerózy.

Přestože byla mutace u rodičů probanda vyloučena, není riziko narození dalšího dítěte s tuberózní sklerózou na úrovni populačního rizika. Zůstává riziko gonadálního mozaicismu, které se udává 2-10 %. Ve druhé kazuistice jde o familiární výskyt tuberózní sklerózy s velice variabilními projevy od velmi těžkého postižení po prakticky nulové příznaky. Přestože u některých členů rodiny s prokázanou mutací v genu TSC1 zatím nedošlo k rozvoji projevů tuberózní sklerózy, je nutné jejich další sledování a prekoncepční péče v genetické ambu-

ABSTRAKTA

lanci. Riziko narození dalšího dítěte s tuberózní sklerózou je 50% a závažnost projevů je dopředu těžko odhadnutelná.

An universal solution for studying epigenetic regulation of SPI1 gene in different types of tumors

Halbhuber Z., Blatný R., Krivjansky V., Vasak J., Krivjanska M.
KRD – obchodní společnost s.r.o.
e-mail: krddlab@krd.cz

The Chromatin immunoprecipitation (ChIP) plays a central role in epigenetic studies but ChIP is also a very technically challenging method and numerous factors can cause it to fail, so researchers who are not experts in the techniques are best served using well-validated and reliable kits to perform these assays. A product line called SureChIP was developed. SureChIP kits make ChIP more consistent, reproducible and faster by offering researchers all components they need in a single product.

The SureChIP protocol was established upon a several optimization and validation steps. All optimization steps were related to URE PU.1 loci using qPCR.

Each individual steps (such as crosslinking, isolation of nuclei, chromatin isolation, chromatin shearing, beads blocking and pre-clearing, DNA isolation, PCR detection) was optimized separately. As an optional accessory is available a validated set of control primers designed to constantly expressed, negative and tissue-specific loci.

SureChIP is rapid and sensitive protocol for ChIP and with related products makes a SureChIP product line. Products range from complete kits for ChIP, through the various reagents to the control sheared chromatin from different cell lines.

This work was supported by grant FR-TI2/509 from Ministry of Industry and Trade of the Czech Republic.

Výsledky testování rodin s podezřením na Lynchův syndrom v MOÚ – analýza MLH1, MSH2, MSH6 a EPCAM

Házová J., Macháčková E., Vašíčková P., Šlahlová Hrabincová E., Navrátilová M., Foretová L.
Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno
e-mail: hazova@mou.cz

Lynchův syndrom (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom, HNPCC) je dominantně dědičná nádorová predispozice spojená s vysokým celoživotním rizikem rozvoje karcinomu tlustého střeva, u žen také karcinomu endometria a vaječníků. HNPCC je způsoben zárodečnými mutacemi v DNA mismatch repair (MMR) genech, které jsou zapojeny do oprav chybného párování bází vznikajících během replikace DNA. Poruchy tohoto systému vedou k akumulaci mutací a rozvoji nádorového onemocnění.

Nejčastější geny spojené s HNPCC jsou MLH1, MSH2, MSH6 a PMS2. Téměř 90 % mutací se nachází v genech MLH1 a MSH2, vzácnější jsou mutace v genech MSH6 a PMS2.

Většina mutací je bodových. Byly nalezeny i velké intragenové delece, které se nejčastěji vyskytují v genu MSH2. Sekvenční změny a přestavby jsou evidovány v HGMD (The Human Gene Mutation Database) a InSiGHT (The International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours) databázi.

Jako nový mutační mechanismus způsobující Lynchův syndrom je popisována zárodečná delece genu EPCAM = TACSTD1 (epithelial cell adhesion molecule, tumor associated calcium signal transducer 1). Gen EPCAM je lokalizován asi 15 kb před genem MSH2, obsahuje 9 exonů. Delece v 3' oblasti, které postihují exony 8 a 9 a úsek pro polyadenylační signál, vedou k narušení terminace translace a vzniku fúzního transkriptu EPCAM/MSH2. Dochází k metylaci promotoru a epigenetické inaktivaci genu MSH2, která je také spojena s predispozicí k Lynchovu syndromu.

V laboratoři Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů MOÚ provádíme molekulárně genetické vyšetření Lynchova syndromu od roku 2008. Testujeme kompletní kódující sekvence a místa sestřihu tří vysoce rizikových genů – MLH1, MSH2 a MSH6. K vyhledávání sekvenčních změn používáme vysokorozlišovací analýzu křivek tání s použitím přístroje Light Scanner (Idaho technology) a nově i denaturační vysokorozlišovací kapalinovou chromatografii s využitím přístroje Wave system 4500 (Transgenomic). U všech těchto genů provádíme také analýzu intragenových přestaveb pomocí metody MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification). Touto metodou lze také analyzovat delece koncových oblastí genu EPCAM.

Doposud jsme vyšetřili 312 nepříbuzných jedinců s podezřením na Lynchův syndrom. Patogenní mutaci jsme našli u 36 probandů, což představuje 11,5 %. Nejčastěji se jednalo o sestřihové a frameshift mutace – 16 záchytů v genu MLH1, 12 v genu MSH2 a v genu MSH6 nebyla nalezena žádná bodová mutace. V osmi případech byla potvrzena rozsáhlá delece zahrnující jeden či více exonů – jeden záchyt v genu MLH1, pět v genu MSH2 a jeden v genu MSH6. U jednoho probanda byla nalezena vzácná delece exonů 8 a 9 a 3' nepřekládané oblasti genu EPCAM. V této rodině se vyskytovaly pouze nádory rekta ve věku 41, 43 a 70 let.

Genetické testování má velký význam pro rodinné příslušníky. Příbuzným z rizikové rodiny, kde byla detekována patogenní mutace, nabízíme po předchozí genetické konzultaci prediktivní vyšetření familiární mutace. Nosičům zárodečné mutace v MMR genech je vytvořen preventivní program na základě mezinárodních doporučení InSiGHT. Prevence je velmi důležitá pro časný záchyt nádorových onemocnění. Více informací o genetickém testování Lynchova syndromu naleznete na adrese www.mou.cz.

Syndrom CHARGE – první pacienti diagnostikovaní na našem pracovišti

Hedvičková P.¹, Apltová L.¹, Simandlová M.¹, Šantavá A.², Puchmajerová A.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha

²Ústav lékařské genetiky a fetální medicíny FN, Olomouc
e-mail: petra.hedvicakova@fnmotol.cz

CHARGE syndrom je velmi variabilní autozomálně dominantní syndrom spojený s četnými malformacemi, které

postihují několik orgánových systémů. Klinicky se částečně překrývá s Kallmannovým syndromem. První pacienti spadající do této kategorie byli popsáni v roce 1979, již v roce 1961 však byly publikovány případy, které odpovídaly později vymezenému syndromu.

Asi 2/3 pacientů s CHARGE syndromem mají mutaci v genu CHD7 (chromodomain helicase DNA-binding protein) na dlouhém raménku 8. chromozomu. Jedná se převážně o heterozygotní mutace typu nonsense nebo frameshift, většinou jsou unikátní. Žádná korelace genotyp-fenotyp nebyla dosud pozorována.

Název syndromu je akronym, v němž se skrývá výčet nejčastějších znaků: C – coloboma (oční kolobom), H – heart (defekty srdce), A – atresia (atrémie choan), R – retardace (růstu a vývoje), G – genital (anomálie genitálu), E – ear (anomálie uší spojené s hluchotou).

Diagnostická kritéria jsou jasně stanovena, ačkoliv se u pacientů nevyskytují vždy všechny typické malformace – a naopak někteří z pacientů s typickým fenotypem nemají mutaci v genu CHD7. Podstatná je zejména přítomnost triády kolobom – atrémie choan – abnormální semicirkulární kanálky. Protein kódovaný genem CHD7, vyskytující se v nukleoplazmě a v jadérku, se účastní regulace transkripce, protože ovlivňuje organizaci chromatinu.

Gen tvoří 38 exonů, první exon a část exonů 2 a 38 se nepřekládá.

Syndrom CHARGE se vyskytuje s prevalencí přibližně 1/10 000–15 000 novorozeneckých dětí. Dědičnost je autozomálně dominantní, s různou penetrancí. Naprostá většina mutací je de novo, nicméně byl popsán i přenos z rodiče s mírnými příznaky na potomka; riziko rekurence se blíží 1%. Literatura potvrzuje riziko germinálního mozaicismu.

V roce 2012 jsme zavedli diagnostiku přímou sekvenací kódující oblasti genu CHD7. Vyšetřili jsme devět pacientů s indikací suspektní syndrom CHARGE, prezentujeme šest pacientů s nálezem různých typů mutací, z nichž některé dosud nebyly popsány.

Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví ČR) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN Motol).

Varianta v oblasti genů pro nikotinové receptory ovlivňuje počty vykouřených cigaret

Hubáček J., Kramná R., Lánská V., Adámková V.
Institut klinické a experimentální medicíny
e-mail: jahb@ikem.cz

Úvod: Kouření tabáku je jedním z nejrozšířenějších preventabilních rizikových faktorů rozvoje kardiovaskulárních a nádorových onemocnění. Odhaduje se, že genetické predispozice ovlivňují kuřácký status a počet vykouřených cigaret až z 60%. Celogenomové screeniny detekovaly potenciál rs578776 varianty v oblasti nikotinových receptorů (konkrétně CHRNA3) ovlivnit závislost na nikotinu. Analyzovali jsme vztah této varianty a rizika vzniku nikotinizmu v české populaci.

Metoda: Rs578776 (C → T) varianta byla analyzována pomocí PCR-RFLP u 2559 reprezentativně vybraných mužů a žen (věk 25–65 let) ze studie post-MONICA. Kuřácký status a počet

vykouřených cigaret byl zjišťován pomocí dotazníků. ANOVA a chí-kvadrát byly použity pro statistickou analýzu.

Výsledky: Frekvence jednotlivých genotypů (CC – 54,3%; CT – 39,2%; T/T – 6,5%) je podobná frekvencím nalezeným u západoevropských populací. Varianta neovlivňuje kuřácký status ($P = 0,65$) ale TT homozygoti vykouřili signifikantně více ($P < 0,01$) cigaret v porovnání s nositeli alespoň jedné C alely ($17,1 \pm 10,5$ vs. $13,7 \pm 8,1$).

Závěr: Studie ukazuje, že rs578776 varianta v oblasti genu pro CHRNA3 je faktorem ovlivňujícím počet vykouřených cigaret v české populaci.

Podpořeno projektem č. NT 12170-5 (IGA MZ ČR).

Inherited peroxisomal disorders

Konkolová J., Petrovič R., Fischerová M., Chandoga J., Böhmer D.
Institut of Medical Biology, Genetics and Clinical Genetics,
Comenius University Faculty of Medicine, University
Hospital Bratislava, Slovakia
e-mail: konkolovajanka@gmail.com

Single-membrane surrounded organelles, the peroxisomes, are present in all eukaryotic cells. In humans, they are abundantly present in the cells of the liver, kidneys, adrenal cortex and myelin. Main function of peroxisomes is the breakdown of very long chain fatty acids through β -oxidation, synthesis of plasmalogens, which is the most abundant phospholipid in myelin, metabolisms of bile acids and also detoxification of peroxide – therefore these organelles were named peroxisomes.

Peroxisomes arise by division of pre-existing peroxisomes and also by de novo biogenesis from endoplasmic reticulum. A set of approximately thirty proteins, known as peroxins or PEX proteins, have been identified as factors critical for correct peroxisomal biogenesis and maintenance of functional peroxisome. Because peroxisomes do not contain endogenous DNA, all peroxins involved in peroxisomal biogenesis must be encoded by nuclear PEX genes. Subsequently, all these proteins, that are required for assembly and function of peroxisomes, are synthesized on free polyribosomes in the cytosol before post-translational import into the peroxisome. Transportation of peroxisomal proteins into the peroxisomes is highly selective process and requires the presence of specific import sequences known as peroxisomal targeting sequences (PTS1 and PTS2). PTS1 is the C-terminal peroxisomal targeting sequence with consensus tripeptide sequence SKL and PTS2 is the N-terminal peroxisomal sequence with nonapeptide motif R-(L/V/I/Q)-XXXXX-(H/Q)-(L/A). These PTSs sequences are recognized by different receptors, which direct peroxisomal proteins to the peroxisomal membrane. At present, it was described about twenty genetically determined peroxisome diseases. Depending on the extent of damaged metabolic functions, they are divided into diseases of generalized loss of peroxisomal functions (for example Zellweger syndrome) and deficiencies of individual peroxisome enzymes (most common X-Adrenoleukodystrophy). Most of disorders are autosomal recessive; however the commonest peroxisomal disorder X-linked adrenoleukodystrophy has an X-linked mode of inheritance. In first step, human patients are cor-

ABSTRAKTA

rectly classified in the group of disease by detection of their metabolites and subsequently by detection of biochemical abnormalities using molecular genetic techniques to identify the exact cause of the disease.

This work was supported by Ministry of Health of the Slovak Republic under the project Inherited peroxisomal disorders – development and translation of laboratory, clinical, diagnostic and therapeutic algorithms to practice.

Genodermatózy

Kopečková L.¹, Borská R.¹, Bučková H.², Nosková N.³, Němečková J.⁴, Caillyová R.⁴, Veselý K.⁵, Fajkusová L.¹

¹Centrum molekulární biologie a genové terapie FN, Brno

²Kožní oddělení 1. pediatrické kliniky FN, Brno

³Masarykova univerzita, CEITEC, Brno

⁴Oddělení lékařské genetiky FN, Brno

⁵I. patologicko-anatomický ústav, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

e-mail: lenka.kopeckova@fnbrno.cz

Genodermatózy, geneticky podmíněná kožní onemocnění, jsou charakteristické velkou variabilitou a genetickou heterogenitou. Výzkum patologických mechanismů genodermatóz výrazně pokročil a vedl k identifikaci několika kauzálních genů. Naše pracoviště ve spolupráci s dětskou klinikou FN Brno a patologicko-anatomickým ústavem Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně zavedlo DNA diagnostiku onemocnění epidermolysis bullosa, incontinentia pigmenti a tří typů ichtyóz – ichtyózy vulgaris, lamelární ichtyózy a X-vázané recesivní ichtyózy.

Epidermolysis bullosa je skupina puchýřnatých dermatóz, které lze na základě histologických rovin štěpení, kde dochází k tvorbě puchýřů, rozdělit na několik skupin, které se liší kožními projevy a prognózou. U simplex formy analyzujeme mutace přítomné v genech pro keratin 5, keratin 14 a plektin. Dystrofická forma je způsobena mutacemi v genu pro kolagen VII.

Incontinentia pigmenti je neuroektodermální multi-systémové onemocnění způsobené mutací NEMO genu. Onemocnění má dominantní dědičnost s vazbou na polhavi.

Hlavním klinickým znakem ichtyóz je suchá a hrubá kůže, které se odlupuje v šupinách jako důsledek geneticky podmíněné poruchy keratinizace. Nejčastějším typem je ichtyóza vulgaris s autozomálně semidominantním typem dědičnosti a je podmíněna mutacemi v genu pro filaggrin (FLG). V současné době provádíme vyšetření dvou prevalentních mutací FLG genu popisovaných v evropské populaci (p. R501X a c.2282del4). X-vázaná recesivní ichtyóza je způsobena parciální nebo úplnou delecí genu pro steroidní sulfatázu (STS). U lamelární ichtyózy, jejíž dědičnost je autozomálně recesivní, sledujeme mutace genu pro transglutaminázu 1 (TGM1).

Výsledky molekulárně-genetického vyšetření genodermatóz prohlubují naše znalosti v dermatologii, umožňují prenatalní diagnostiku, přispívají k efektivní terapii a poskytují informace pro genetické poradenství postižených rodin.

Frequency of Selected SNPs Influencing the Warfarin Pharmacogenetics in Control Group of 112 Individuals

Krajčíová L.^{1,2}, Petrovič R.¹, Děžíová L.¹, Chandoga J.¹, Turčáni P.²

¹Institute of Medical Biology, Genetics and Clinical Genetics, Comenius University Faculty of Medicine, University Hospital Bratislava, Slovakia

²1st Department of Neurology, University Hospital Bratislava, Slovakia

e-mail: lubica.krajciovaa@gmail.com

Warfarin represents the most commonly prescribed oral anticoagulant. Warfarin is an antagonist of Vitamin K, an essential factor of blood coagulation cascade. Warfarin has a narrow dose therapeutical scale. Insufficient dose can cause failure of antithrombotic effect. On the contrary, overdose increases a risk of bleeding. It is known, that variability in two genes has a significant effect on individual response to warfarin dose. The first gene – cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) determines the activity of hepatic isoenzyme cytochrome P450 2C9, which has a crucial role in S-warfarin metabolism. The second gene – Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1), determines the activity of Vitamin K epoxide reductase, which produces an active form of Vitamin K. These polymorphisms (CYP2C9 and VKORC1) influence more than one third of warfarin dose effect. Pharmacogenetics of warfarin is affected less importantly by other polymorphisms CYP4F2 and CYP2C19 too. In a control group (112 randomly selected Individuals), the frequency of selected single nucleotide polymorphisms CYP2C9*2 (430C>T), CYP2C9*3 (1075A>C), VKORC1*2 (-1639G>A/1173C>T), VKORC1*3 (3730G>A) were tested by allele-specific Real-Time PCR. In the same control group, frequency of another selected polymorphisms, specifically CYP2C19*2 (G>A intron4/exon5), CYP4F2*3 (V433M), CYP2C19 IVS3 (-65G>A), were determined using PCR-RFLP.

In the current study, it was found out, that 25% of Slovak population need a standard dose of warfarin (5 mg of warfarin per day). Taking in account the combination of the most severe polymorphisms CYP2C9*2, CYP2C9*3, VKORC1*2, 44% individuals need 4 mg dose warfarin per day, 23% ~ 3 mg and 8% ~ 2 mg according generally therapeutic scheme.

The knowledge of patients genotype before therapy beginning may help to set up the treatment and thus to minimize possible side effect. Moreover, pharmacogenetic testing is recommended also by FDA (Food and Drug Association).

The research was supported by Grant UK, Nr. UK/279/2012.

Fumaráza jako tumor supresor: analýza souboru 44 pacientek s děložním leiomyomem

Kučerová Vidrová V.¹, Tesařová M.¹, Hansíková H.¹, Kubínová K.², Mára M.², Veselá K.³

¹Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF a VFN, Praha

²Cynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

³Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN, Praha

e-mail: vidrova@seznam.cz

Fumaráthydratáza (fumaráza) je klíčový enzym citrátového cyklu. Fumaráza je lokalizovaná jak v mitochondriální matrix, tak i v cytosolu a katalyzuje reverzibilní přeměnu fumarátu na malát. Enzym, který je funkční jako homotrimer, je kódovaný genem FH na chromozomu 1q42.3-43. Mutace v genu FH vedou k rozvoji závažné autozomálně-recesivní fumarové acidurie, která je charakteristická vysokými hladinami fumarátu vylučovanými v moči pacientů. V roce 2002 studie na rozsáhlém souboru pacientů s familiárním výskytem autozomálně-dominantní hereditární leiomyomatózy a karcinomu ledvin (HLRCC) ukázala, že FH má i roli tumor-supresorového genu.

Role fumarázy jako tumor-supresoru byla prokázána i u dalších syndromů (např. MCUL1-multiple cutaneous and uterine leiomyomatosis).

Cílem práce bylo v souboru 44 pacientek, u kterých došlo k rozvoji děložních leiomyomů do 30 let, stanovit aktivitu fumarázy v lymfocytech a provést mutační analýzu genu FH ve vzorcích DNA izolovaných z krve. Aktivita fumarázy i její poměr na aktivitu kontrolního enzymu citrát syntázy byla porovnána s kontrolním souborem (42 žen do 30 let bez výskytu děložních leiomyomů).

U 14 pacientek byla nalezena snížená aktivita fumarázy na 2-50 % kontrolních hodnot, u jedenácti z nich byl snížen i poměr aktivit fumarázy a citrát syntázy (1-44 % kontrol). Pomocí sekvenování všech exonů a jejich přilehlých intronových oblastí genu FH byly nalezeny heterozygotní patogenní mutace u dvou ze 44 pacientek. Pacientka 14 byla nosičkou nové mutace c.892G>C, která vede k záměně p.Ala298Pro. U pacientky 16 byla nalezena mutace c.584T>C (p.Met195Thr). V dostupném zbytku fixovaného vzorku leiomyomu byla mutace c.584T>C přítomná v homozygotním stavu. Obě pacientky zdědily mutace v genu FH od svých matek, u kterých také došlo k rozvoji děložních leiomyomů okolo 30. roku života. U devíti pacientek se sníženou aktivitou fumarázy byly pomocí MLPA analýzy vyloučeny heterozygotní delece jednoho nebo více exonů genu FH. Dále bude provedena mutační analýza promotoru genu FH a analýza cDNA na přítomnost možných sestřihových mutací lokalizovaných v intronech genu.

Výsledky naší studie ukázaly, že analýza aktivity fumarázy v lymfocytech je vhodnou metodou pro zachycení přenašečů heterozygotních mutací v genu FH a měla by být zvážena i u pacientů s dalšími typy nádorových onemocnění, kde fumaráza funguje jako tumor-supresor.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NT11186-5.

Hledání nových mutací v kandidátních genech potenciálně zodpovědných za teratospermii

Liška F.¹, Chylíková B.¹, Hrdlička I.¹, Veselá K.¹, Řežábek K.², Křenová D.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN, Praha

²Centrum asistované reprodukce, Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

e-mail: frantisek.liška@lfi.cuni.cz

Rutiní molekulárně genetické vyšetření pacientů s jinak neobjasněnou nesyndromologickou neplodností dnes

zahrnuje zejména stanovení mikrodelecí chromozomu Y (delece v oblasti AZF) a molekulární diagnostiku mutací v CFTR genu (způsobující obstruktivní azoospermii díky absenci vas deferens). Velký podíl mužské neplodnosti však zůstává etiopatogeneticky neobjasněn. Naproti tomu u modelových zvířat, zejména použitím cílené mutagenese (knock-outy) u myši, byla identifikována velká skupina genů, které jsou nezbytné pro plodnost samců, a jejichž mutace vyvolávají nesyndromologickou neplodnost i neplodnost kombinovanou s postižením dalších orgánů.

Vybrali jsme kandidátní geny, jejichž mutace u modelových organismů interferují se spermiogenezí a vyvolávají teratospermii. Jde o geny CNTROB, HOOK1, HRB, RIMBP3, GOPC, CSNK2A2, SPATA16, CAPZA3. Pacienti s poruchou spermiogeneze (cílová skupina cca 200 osob) jsou vyšetřeni v Centru asistované reprodukce 1. LF UK a VFN a následně odesláni na genetickou konzultaci do ÚBLG, kde je získán jejich informovaný souhlas a odebrána krev na izolaci DNA a RNA. Kontrolní skupinu tvoří muži s prokázanou normospermii. Úseky vybraných genů jsou amplifikovány pomocí PCR nebo RT-PCR a podrobeny amplikonové sekvenaci „nové generace“ na přístroji GS Junior (Roche).

Dosud je do souboru zařazeno zhruba 70 pacientů a 70 kontrol. Zavedli jsme metodu sekvenace z genomové DNA a vyšetřili první pacienty. Kromě známých, klinicky bezvýznamných variant, jsme našli novou bodovou záměnu báze v intronu genu CNTROB. Není zatím jasné, zda tato varianta ovlivní expresi genu CNTROB.

Achondroplázia a molekulárno-genetická diagnostika

Lukáčková L., Jungová P., Petrušová M., Chandoga J.

ÚLBGKG LFUK a UNB; Katedra genetiky PrF UK, Bratislava, Slovakia

e-mail: lukackovalivia@gmail.com

Achondroplázia patrí medzi skeletálne dysplázie s autozómovo dominantným typom dedičnosti, úplnou penetráciou, vysokým výskytom de novo mutácií (80-90 %) a prevalenciou 1 : 10 000 až 1 : 30 000. Najčastejšou príčinou sú mutácie typu gain-of-function v 10-tom exóne génu FGFR3 (4p16, 19 exónov) kódujúcom receptor pre fibroblastový rastový faktor typu 3, s dôležitou úlohou v metabolizme spojiva. Následkom je neprimeraná aktivácia receptora, potlačení proliferácie chondrocytov - ovplyvnenie rastových platničiek a diferenciácie kostného tkaniva. Klinický obraz typický pri narodení zahŕňa disproporcionálny krátky vzrast (rizomelické skrátenie končatín), užší, dlhší hrudník, väčšiu hlavu s výrazným čelom a hypopláziou strednej faciálnej časti s charakteristickým röntgenologickým nálezom. Vyvíja sa výrazná lordóza, možné sú rôzne neurologické komplikácie a obštrukčné poruchy dýchania. Až u 99 % pacientov kaukazoidnej populácie je toto ochorenie spôsobené zamenou glycínu za arginín v pozícii 380 (G380R). Z toho 98 % predstavuje tranzícia G→A a 1 % transverzia G→C v nukleotide 1138. Závažnejší fenotyp sa manifestuje pri náleze mutácie v homozygotnom stave.

V rámci laboratórneho prístupu pre stanovenie diagnózy analyzujeme sekvenciu DNA zodpovedajúcu 10-temu exó-

ABSTRAKTA

nu génu FGFR3 pomocou dvoch molekulárno-genetických metód – PCR-RFLP a sekvenačnou analýzou. Vyšetrenie je možné v indikovaných prípadoch realizovať aj z plodovej vody, pričom stanovenie suspektnej diagnózy na základe abnormálnych ultrazvukových nálezov je možné až v treťom trimestri gravidity.

Detekcia mutácií génov GJB2 a GJB6 u pacientov s bilaterálnou senzorineurálnou poruchou sluchu

Mašindová I.¹, Varga L.^{1,2}, Hučková M.¹, Jovankovičová A.³, Balogová M.¹, Jakubíková J.³, Klimeš I.¹, Profant M.², Gašperíková D.¹

¹Laboratórium diabetu a porúch metabolizmu & Diabgene, Ústav experimentálnej endokrinológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovakia

²I. Otorinolaryngologická klinika, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovakia

³Detská ORL klinika LF UK, Bratislava, Slovakia
e-mail: ivica.masindova@gmail.com

Úvod: Prevalencia hluchoty sa odhaduje na 1 : 1000 živo-narodených detí. Približne polovica prípadov vrodenej straty sluchu vzniká v dôsledku genetických zmien vo viac ako 100 nesyndrómových a 400 syndrómových lokusoch. Mutácie v géne GJB2 sú predominantnou príčinou nesyndrómovej senzorineurálnej poruchy sluchu (SNHL). Obrovské delécie v géne GJB6 môžu byť v závislosti od populácie prítomné zriedkavo alebo až u 50 % nositeľov GJB2 mutácií.

Ciel': Cieľom našej práce bolo analyzovať gén GJB2 a GJB6 u jedincov so senzorineurálnou poruchou sluchu v rámci celého územia Slovenska.

Metódy: Pacienti nášho súboru pochádzali z rovnomer-nom počte z celého územia Slovenskej republiky. Do súboru boli vyberaní na základe prítomnosti bilaterálnej senzorineurálnej poruchy sluchu diagnostikovanej do veku 60 rokov. Kritéria spĺňalo 390 nepríbuzných jedincov, u ktorých bol sekvenovaný gén GJB2 (exóny 1 a 2). Navyše 149 pacientov bolo podrobených aj analýze delécií génov GJB2 a GJB6, metódou MLPA (SALSA MLPA KIT 163-C1).

Výsledky: V súbore 390 nepríbuzných jedincov bolo v géne GJB2 detegovaných 11 známych patogénnych mutácií v exóne 2 (c.35delG, c.71G>A, c.94C>T, c.101T>C c.109G>A, c.167delT, c.224G>A c.229T>A, c.313_326del14, c.250G>A, c.269T>A,), 1 intrónová mutácia (c.1-3201C>A) a 6 polymorfizmov (c.79G>A, c.380G>A, c.457G>A, c.475G>A, c*3C>A, c*84T>C). U 33,1 % (129) jedincov boli identifikované mutácie oboch alieli, v homozygotnej forme u 22,1 % alebo vo forme zložených heterozygotov u 11 % pacientov. Podiel jedincov bez nálezu patogénnej mutácie dosiahol 59,7 %. Najrozšírenejšími mutáciami génu GJB2 v našom súbore boli c.35delG a c.71G>A (60,8 % a 15,3 % zo všetkých patogénnych alieli). Veľká delécia v géne GJB6 (delD13S1830) bola detegovaná u jedného jedinca súčasne s GJB2 mutáciou c.35delG.

Záver: Analýza génov GJB2 a GJB6 u pacientov so senzori-neurálnou poruchou sluchu priniesla prehľad jednotlivých mutácií v géne GJB2 na Slovensku a potvrdila genetickú príčinu straty sluchu u 33,1 % jedincov.

S podporou grantov APVV 0148-10, VEGA 1/0465/11 a TRANSMED 2 (ITMS:26240120030).

Mutation and polymorphisms in the PPOX gene in Jewish family with porphyria variegata

Medek K.¹, Mamet R.², Kučerová J.¹, Puchmajerová A.¹, Martásek P.¹, Schoenfeld N.²

¹First Medical Faculty of the Charles University, Prague, Czech Republic

²National Laboratory for the Biochemical Diagnoses of Porphyrrias, Petah Tikva, Israel
e-mail: medek@seznam.cz

Porphyria variegata (PV, OMIM 176200), a type of acute hepatic porphyrias, is characterized by a deficiency in the activity of the enzyme protoporphyrinogen oxidase (PPOX, E.C.1.3.3.4), the penultimate enzyme in the heme biosynthesis pathway. Affected individuals show increased cutaneous photosensitivity that may occur alone or in combination with acute neurovisceral symptoms such as abdominal pain, hypertension and hemiplegia. PV is inherited as an autosomal dominant disease with low penetrance, as not all individuals carrying a mutation in the PPOX gene develop clinical symptoms. The human PPOX gene is located on chromosome 1q22 and contains one non-coding and 12 coding exons. In heterozygote patients, PPOX activity is decreased by approximately 50% and symptoms do not usually appear before puberty. For diagnosis of PV, plasma fluorescence emission spectroscopy is a first-line test because a peak at 624–626 nm (excitation by 400 nm) establishes the diagnosis of PV. Abnormal fecal porphyrin profile characterized by increased fecal coproporphyrin and protoporphyrin IX, and reversal of the of copro III/I ratio are basal biochemical findings in PV.

In this study, sequencing analysis revealed mutation in new family of Jewish Moroccan origin within exon 10 in PPO gene (frameshift mutation, c1083delT), together with known polymorphisms in exon 1 (g.5044C>A; rs2301286) and in exon 9 (g.8558G>A; rs36013420; R304H). The PV diagnosis was previously determined by clinical symptomatology and biochemical analyses. The identified mutation is a single nucleotide deletion, previously described (Frank and Christiano, 1997). Genetic analysis of 4 family members revealed one silent carrier of causal mutation in the PPOX gene. The identification of the asymptomatic family member can help to reduce risk of onset PV by avoiding triggering factors.

Supported by grants from Charles University in Prague, Czech Republic PRVOUK P24/LF1/3 and UNCE 20401/12).

Frequencies of single nucleotide polymorphisms of SLCO1B1 gene in Slovak population

Mikulová M.^{1,2}, Chandoga J.²

¹Department of Genetics, Faculty of Nat. Sci. Comenius University in Bratislava, Slovakia

²Institute of Medical biology, Genetics and Clinical Genetics Comenius University Faculty of medicine, University Hospital Bratislava, Slovakia
e-mail: mjurkovicova@gmail.com

SLCO1B1 gene is located on the short arm of a chromosome 12 and consists of 15 exons. The product of this gene is a transmembrane protein OATP1B1, which is localized at the basolateral part of the hepatocytes. It mediates the uptake of diverse endogenous substrates, such as bile acids, bilirubin, conjugates of steroid hormones, and several drugs such as HMG-CoA reductase inhibitors (statins), fexofenadine, rifampicin, lopinavir, bosentan and irinotecan. A lot of allelic variants of SLCO1B1 gene were identified in the past, some of which might be important in the metabolism of certain drugs and also can be characterized a potential risk factor for the hyperbilirubinemia. Among the polymorphisms, that may cause modulation of the transport function OATP1B1 protein, there are two common variants of the 521T>C and 388A>G, which together form four reference haplotypes SLCO1B1*A (388A, 521T), SLCO1B1*1B (388G, 521T), SLCO1B1*5 (388A, 521C), SLCO1B1*15 (388G, 521C).

We have tested 80 healthy volunteers for the presence of polymorphisms 521T>C and 388A>G. Polymorphisms in the gene were analyzed by PCR-RFLP analysis (388A>G) and allele-specific Real-Time PCR analysis (521T>C). The genotype frequencies for polymorphism 388A>G was AA – 35.5%, AG – 48.7%, GG – 15.8%, for 521T>C was TT – 56.4%, TC – 39.7%, CC – 3.9%. In considering the high incidence of polymorphisms associated with a possible impact on the level of bilirubin and pharmacokinetics of certain drugs, it is appropriate to monitor these polymorphisms and search their significance on clinical status and therapeutic efficiency.

NGS in molecular diagnostics of epilepsies

Minichová L., Genčík M.

MedGene, Bratislava, Slovakia
e-mail: lucia.minichova@medgene.eu

The molecular genetic diagnosis of epilepsy particularly in children is essential for precise diagnosis, prognosis and has significant implications for the therapeutic strategy. Until now mutation screening was performed by DCGE, Sanger sequencing and MLPA technique.

Here we report on a new mutation screening protocol for Dravet syndrome & GEFS+ associated genes based on Next-Generation Sequencing (NGS) using the Roche 454J platform. Our current testing panel includes mutation analysis of genes SCN1A, SCN1B, GABRG2, GABRD and PCDH19.

So far, 22% of the patients suspected for Dravet syndrome/GEFS+ harboured a mutation in the SCN1A gene, one patient had a mutation in the GABRD gene. The spectrum of identified mutations included small deletions, insertions, indel mutations, truncating and missense mutations, mostly located in the pore and voltage sensitive region of the SCN1A protein. We have also detected a deletion of the whole SCN1A gene as well as a large duplication by MLPA. Interestingly, in two patients with a severe clinical manifestation a homozygous and two compound heterozygous mutations were identified, respectively.

Genetic diagnostics based on the NGS platform enables the analysis of multiple disease-related genes in parallel, to reduce TAT and the cost of the test as well and therefore outperforms the conventional Sanger sequencing.

Thiopurin S-methyltransferáza (TPMT) – interpretace komplexního vyšetření farmakofenotypu/genotypu pro terapii thiopuriny

Mrkvicová M.^{1,2}, Demlová R.^{2,3}, Mikušková A.⁴, Pílatová K.¹, Štěrba J.⁴, Zdražilová Dubská L.^{1,2}, Valík D.¹

¹Oddělení laboratorní medicíny, Masarykův onkologický ústav, Brno

²Farmakologický ústav LF MU, Brno

³Regionální centrum aplikované molekulární onkologie (RECAMO), Oddělení klinických hodnocení, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁴Klinika dětské onkologie FN a LF MU, Brno

e-mail: martina.mrkvicova@mou.cz

Thiopurin S-methyltransferáza (TPMT) je cytoplasmatický enzym katalyzující S-methylaci aromatických a heterocyklických sulfhydrylových komponent thiopurinových léčiv včetně 6-thioguaninu, 6-merkaptopurinu a azathioprinu. Tato léčiva se používají v medicíně jako protinádorová léčiva a imunosupresiva při terapii autoimunitních onemocnění, hematologických onemocnění u dětí, idiopatických střevních zánětů a při transplantacích.

Z thiopurinových léčiv vznikají vlastní účinné thioguaninové metabolity, které se jako falešné báze inkorporují do nukleových kyselin a inhibují tak jejich transkripci. Dalším mechanismem cytotoxického a imunosupresivního účinku je inhibice de novo syntézy purinových nukleotidů zprostředkovaná dalším účinným metabolitem methylthioinosinmonofosfátem, vytvářeným alternativní metabolickou cestou. Dostatečná aktivita TPMT zabraňuje při odbourávání thiopurinových léčiv hromadění thioguaninových nukleotidů a vzniku vedlejších nežádoucích účinků jako jsou neurotoxicita, hepatotoxicita, myelosuprese, záněty sliznic atd.

Snižovaná metabolická aktivita enzymu TPMT je důsledkem funkčních polymorfismů v kódující oblasti genu TPMT, z nichž mezi nejčastější variantní alely v indoevropské populaci patří TPMT*2 (g.238G>C; p.Ala80Pro), TPMT*3A (g.460G>A a g.719A>G; p.Ala154Thr a p.Tyr240Cys), TPMT*3C (g.719A>G; p.Tyr240Cys) a méně častá TPMT*3B (g.460G>A; p.Ala154Thr).

U běžné populace neléčené thiopuriny se polymorfismus TPMT neprojevuje. Klinické projevy deficitu TPMT mohou být závažné pro thiopuriny léčené heterozygoty a homozygoty pro funkčně variantní alely, a genetické polymorfismy tak značnou měrou mohou pacienta predisponovat pro účinnost a úspěšnost léčby. Vyšetření TPMT patří mezi doporučovanou součást farmakogenetického algoritmu pro individualizaci dávek léčiva před podáním thiopurinových léčiv, zvláště u dětských onkologických pacientů při léčbě ALL. Komplexní farmakogenetický protokol vyšetření pacienta před terapií thiopuriny zahrnuje vyšetření farmakofenotypu TPMT i stanovení polymorfismů v genu pro TPMT.

Polymorfismus genu TPMT byl stanoven s využitím metody real-time PCR. V námi vyšetřeném souboru 193 pacientů byly zastoupeny následující genotypy TPMT*1/*1 (wildtype) (87 %; 167 jedinců), TPMT*3A/*1, resp. TPMT*3B/*3C, (13 %; 19 jedinců), TPMT*2/*1 (2 %; čtyři jedinci), TPMT*3C/*1 (0,5 %; jeden jedinec) a TPMT*2/*3A (0,5 %; jeden jedinec), genotyp TPMT*3B/*1 nebyl v našem souboru zachycen. Aktivita enzymu TPMT byla u pacientů sledována v erytrocytech pomocí kinetické HPLC. U vyšetřených pacientů byly zjištěny jak

ABSTRAKTA

individuální rozdíly v aktivitě TPMT, tak významné rozdíly v závislosti na stanoveném genotypu TPMT. Převážná většina jedinců nesoucí variantní alelu vykazovala sníženou aktivitu enzymu. V případě pěti pacientů nesoucích nemutovaný genotyp byla stanovena velmi vysoká aktivita enzymu TPMT, kdy nám možnost současného studia farmakofenotypu navíc poskytuje ojedinělou možnost studovat klinickou relevanci superaktivitních variant, o jejichž farmakologickém, resp. patofyziologickém významu není v současnosti mnoho známo.

Vzhledem ke skutečnosti, že nerovnoměrné rozložení aktivity TPMT v populaci způsobuje rozdíly v účinnosti léčby, je stanovení aktivity TPMT a příslušného genotypu před začátkem léčby dobrým nástrojem pro určení vhodného dávkování léčiva. Postup stanovení polymorfismů v genu TPMT a farmakofenotypu byl úspěšně zaveden na OLM MOŮ jako diagnostický test (<http://www.mou.cz/file.html?id=979>), přičemž genotypizace TPMT byla akreditována ČIA, o. p. s. dle kritérií ČSN EN ISO15189. Nespornou výhodou námi zoptimalizovaného a zavedeného testu je nestandardně malý objem vstupního biologického materiálu (2,6 ml periferní krve) pro obě složky vyšetření představující sníženou zátěž pro pediatrického pacienta. Komplexní farmakogenetické vyšetření TPMT s individuální interpretací výsledku bylo provedeno u 172 dětských pacientů s ALL a dle našeho názoru poskytuje ojedinělé korelativní informace o genotypu a farmakofenotypu pro konkrétního vyšetřovaného jedince.

Práce byla podpořena z OP VaVpl financovaným Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky pro RECAMO (CZ.1.05/2.1.00/03.0101) a projektem BBMRI_CZ (LM2010004).

Molekulární diagnostika svalových kanalopatií – analýza genů CLCN1, SCN4A a CACNA1S

Páclová D., Stehlíková K., Zídková J., Fajkusová L.
Centrum molekulární biologie a genové terapie FN Brno, IHOK
e-mail: daniela.paclova@fnbrno.cz

Kanalopatie kosterní svaloviny jsou skupinou heterogenních onemocnění spojených s poruchou funkce iontových kanálů. Klinicky se projevují svalovou ztuhlostí, zvanou také myotonie, nebo svalovou slabostí vedoucí až k periodické paralýze. Svalové kanalopatie jsou spojovány s poruchou chloridových, sodíkových, případně vápníkových kanálů kosterní svaloviny (gen CLCN1, SCN4A, resp. CACNA1S).

Nejčastější formou myotonie je kongenitální myotonie způsobená mutacemi v genu CLCN1. Mutace v tomto genu jsou spojovány s Thomsenovou kongenitální myotonií (autozomálně dominantní typ) a s Beckerovou kongenitální myotonií (autozomálně recesivní typ). Mutace nacházející se v genu SCN4A mají dědičnost autozomálně dominantní a jsou spojené s onemocněními paramyotonia congenita, myotonie provokované draslíkem, hyperkalemická a hypokalemická periodická paralýza. Mutace v genu CACNA1S jsou autozomálně dominantní a způsobují hypokalemickou periodickou paralýzu.

Z důvodu možného prolínání klinických obrazů jednotlivých typů myotonie a periodické paralýzy právě molekulárně-genetická analýza výše zmíněných genů umožňuje

stanovení konečné diagnózy. Molekulární diagnostika svalových kanalopatií je založena na přímé sekvenční analýze kódující oblasti genů CLCN1, SCN4A a vybraných exonů genu CACNA1S.

V souboru 92 probandů s projevy myotonie jsme u 42 z nich detekovali mutaci v genu CLCN1 (38 probandů s recesivní formou a čtyři s dominantní) a u 17 probandů byla nalezena mutace v genu SCN4A. V genu CLCN1 jsme našli celkem 28 různých mutací, z nichž 13 je dosud nepopsaných. V genu SCN4A jsme detekovali pět různých mutací spojených s fenotypem myotonie, z nichž jedna mutace je nepopsaná. U čtyř probandů s klinickou diagnózou hypokalemická periodická paralýza jsme provedli analýzu vybraných exonů genu SCN4A a CACNA1S. U tří pacientů jsme detekovali mutaci v genu SCN4A a jeden pacient nesl popsanou mutaci v genu CACNA1S. V genu SCN4A jsme detekovali dvě různé mutace spojené s fenotypem hypokalemické periodické paralýzy, z nichž jedna mutace je dosud nepopsaná.

Pharmacogenetic approach to the selection of chemotherapy using 5-fluorouracil and thiopurine D

Petrovič R., Unterländerová D., Krajčiová L., Chandoga J., Böhmer D., Pastoráková A.
Institute of Medical biology, Genetics and Clinical Genetics
Faculty of Medicine Comenius University
e-mail: robkop@post.sk

Gene polymorphism analysis of enzymes involved in metabolism and detoxication of chemotherapy is very important information for prediction of fatal reaction to chemotherapy in case of intoxication of patient. Genotyping of patients is crucial factor for evaluation of effectiveness of the therapy.

Mercaptopurine belongs to the family of thiopurine antimetabolites and is used for the treatment of childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL). Its derivate, azathioprine, is being metabolized similarly, and is administered for immunosuppression to transplant recipients and patients with severe autoimmune diseases. Inside the human body both drugs can be inactivated by thiopurine methyltransferase (TPMT). Approximately 10% of population possess intermediate level of mercaptopurine methylation, and about 0.3% subjects are totally deficient for this enzyme. The reason of 90% cases of reduced or absent TPMT activity are 4 single nucleotides polymorphisms (SNPs- TPMT*3A, TPMT*3C, TPMT*2, TPMT*4). TPMT genotyping analysis is recommended prior prescription of mercaptopurine, azathioprine and thioguanine, in order to avoid life-threatening therapy of TPMT-deficient patients. These patients can be treated but drug-dose adjustment is required – usually 10–15 times lower comparing to normal individuals. We analysed more than 1000 of alleles (control group – Slovak population) and we detect that about 4% of Slovak population is endangered with severe hematopoietic toxicity after standard dosage of thiopurine drugs. We have also identified a patient with homozygous mutation (TPMT*3A/3A) with severe life-threatening hematopoietic toxicity.

5-fluorouracil (5-FU) is a fluoropyrimidine drug and is the most frequently used chemotherapeutic drug in the treatment of colorectal cancer and other solid tumors. Pharmacogenetic variation may contribute to risk of toxicity and/or altered therapeutic benefit.

DPYD mutations have been identified in patients with severe 5-FU toxicity. The most common and clinically significant variant *2A (IVS+14G>A) is associated with reduced enzymatic function. In Slovak population we found frequency 0.27% of this variant (3 alleles out of 1120).

Prediction of tumour sensitivity to 5-FU therapy can be predicted by analysis TYMS gene. Mutations in this gene result in reduced expression of thymidylate synthase (TS) and may be associated with higher clinical responsiveness to 5-FU therapy and increased risk of toxicity. TS overexpression leads to worse prediction and failure of chemotherapy. Variation of 28-bp repeat in 5' untranslated region of TS gene is the best studied polymorphism of TS. Most people have either 2 or 3 tandem repeats (TSER*2 and TSER*3). The TSER*3 allele is associated with higher expression of TS gene and higher resistance, indeed. In addition, some people carry the 6-bp deletion in the 3' untranslated region of TS gene, which is connected with reduced TS expression, thus leading to better therapy prognosis.

Through the PCR, fragmentation analysis and RFLP we have found out the representation of the single genotypes in Slovak population: frequency of TSER*2 allele = 41% and TSER*3 = 59%; 3UTR region deletion allele = 37%, allele without deletion 63%.

This work was supported by grant of Ministry of health: 2007/39-FNSPBA-04.

Strategie molekulárně genetického vyšetření pacientů s hereditárním angioedémem

Ravčuková B.¹, Grodecká L.¹, Kazdová L.¹, Kuklínek P.², Litzman J.^{2,3}, Freiburger T.^{1,2,3}

¹Genetická laboratoř Centra kardiovaskulární a transplantační chirurgie, Brno

²Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

³CEITEC MU, Brno

e-mail: barrav@cktch.cz

Hereditární angioedém (HAE) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění (1 : 10 000 – 50 000), charakterizované kvantitativním nebo kvalitativním deficitem C1 inhibitoru (CIINH). Většina pacientů s HAE (85 %) je řazena k typu I (transkripčně, translačně nebo sekretoricky deficitní pacienti, se sníženou hladinou CIINH v séru (5–30 %)). Zbýlých 15 % pacientů je řazeno k typu II (dysfunkční CIINH, s redukovanou aktivitou, ale kvantitativně normální, klinicky s opakujícími se epizodami podkožních otoků, otoků laryngu nebo trávicího traktu). Projevy jsou variabilní mezi jedinci a nezávisí na typu mutace.

Gen SERPING1 na 11. chromozomu je tvořen 8 exony kódujícími plazmatický protein CIINH o 478 aminokyselinách. Lokus pro CIINH obsahuje Alu repetice, které vedou ke genovým přestavbám až v 20 % případů typu I. Pacienti s typem

II jsou často nositeli bodové mutace v reaktivním centru molekuly CIINH nebo jejím okolí (oblast exonu 8).

K identifikaci mutací v genu SERPING1 přistupujeme na základě klinického obrazu pacienta a imunologických laboratorních výsledků. Při vyšetřování DNA pacientů s HAE typu II začínáme analýzou exonu 8. Pokud není mutace detekována a v případech pacientů s HAE typu I využíváme denaturační gradientové gelové elektroforézy (DGGE) k mutačnímu screeningu všech exonových oblastí. Následuje vyšetření na přítomnost velkých delecí či duplikací jednoho nebo více exonů pomocí semikvantitativní multiplexové PCR a následnou detekcí pomocí fragmentační analýzy. Kombinací těchto metod jsme schopni zachytit asi 90 % mutací. V případech negativního výsledku jsou tyto metody následně doplněny přímou sekvenací celého genu. V rodinách s pozitivním záchytem mutace můžeme nabídnout prenatální diagnostiku.

Zavedení molekulární diagnostiky glykogenózy typu III, zajímavý případ uniparentální disomie

Šilerová P.¹, Pavloušková J.¹, Taslerová R.¹, Plevová K.¹, Honzík T.², Fajkusová L.¹

¹Centrum molekulární biologie a genové terapie, IHOK FN, Brno

²Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha

e-mail: pavla.silerova@fnbrno.cz

Glykogenóza typu III (GSD III, OMIM #232400) je autozomálně recesivně dědičné onemocnění způsobené mutacemi v genu AGL, který kóduje enzym účastnící se degradace glykogenu (enzym odvětvující glykogen). Incidence onemocnění se odhaduje na 1 : 83 000. V některých populacích (např. Faerské ostrovy) je incidence GSD III vyšší, a to z důvodu efektu zakladatele. Klinické projevy GSD III zahrnují jaterní poruchy a postižení srdeční a kosterní svaloviny. Většina pacientů má jaterní i svalové symptomy onemocnění (GSD IIIa). Asi 15 % pacientů má pouze symptomy postižení jater a je klasifikována jako GSD IIIb. Dvě další podskupiny (IIIc a IIId) se odlišují selektivní ztrátou jedné ze dvou aktivit odvětvujícího enzymu a jsou velmi vzácné.

Gen pro odvětvující enzym je lokalizován do oblasti 1.p21.2 a má 35 exonů, z toho 33 je kódujících. Dodnes bylo ve spojitosti s GSD III popsáno v genu AGL nejméně 147 sekvenčních variant. Pouze pro GSD IIIb, kde převažují mutace ve 3. exonu genu AGL, existuje korelace genotyp-fenotyp. U ostatních mutací nebyla doposud nalezena korelace mezi typem mutace a závažností choroby.

Molekulární diagnostika GSD III je založena na sekvenční analýze genu AGL. DNA analýzu genu AGL jsme provedli u 13 probandů, z toho jsme u čtyř probandů diagnózu potvrdili (30,8 %; dva homozygoti a dva složení heterozygoti). U jednoho probanda byla nalezena pouze jedna kauzální mutace v heterozygotním stavu. Celkem bylo nalezeno sedm různých mutací, z nichž v pěti případech se jedná o v literatuře dosud nepopsané mutace. Následně vyšetření rodičů probanda s genotypem c.4260-12A>G/c.4260-12A>G odhalilo přenašečství mutace pouze u jednoho z rodičů. Veškerá polymorfní místa byla u probanda v homozygotní podobě.

ABSTRAKTA

Domnívali jsme se proto, že se jedná buď o rozsáhlejší delecii, nebo o případ uniparentální disomie. Další vyšetření probanda za využití cytogenetického čipu odhalilo na celém chromozomu jednu ztrátu heterozygotnosti beze změny v počtu kopií, tedy v důsledku paternální uniparentální disomie (UPD). Jedná se o celosvětově první popsany případ GSD III, jehož příčinou je vytvoření homozygotního stavu mutace v důsledku UPD.

Genotypizace RHD genu z volné fetální DNA

Štolba P., Masopust J.

Transfuzní oddělení, Krajská zdravotní a.s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.
e-mail: petr.stolba@mnul.cz

Úvod: Pro detekci a kvantifikaci volné plazmatické fetální DNA (cfDNA) se v současnosti nejčastěji používá metoda Real-Time PCR. Ověření přítomnosti fetální DNA se testuje pohlavním markerem SRY a několika dalšími markery, jako Serpin B5 nebo RASSF1A geny, které se liší svou metylací u fetu a jedince po narození. Fetální cfDNA umožňuje provádět neinvazivní vyšetření mutací paternálního původu a také detekci krevních skupin, obvykle RhD.

Metody: K analýzám byla použita metoda Real-Time PCR se značenými sondami FAM/HEX – TAMRA. K detekci přítomnosti fetální DNA sloužil gen RASSF1A a pro kontrolu též SRY gen (Hromadníková et al. 2010). Pro vlastní detekci RHD genu jsme použili systém exonů 5 a 7 (Grootker et al. 2006), na rozdíl od ostatních prací v České republice. Volná DNA v plazmě byla analyzována celkem v 70 vzorcích v různých stadiích těhotenství v širokém rozmezí 12.–37. týden. Všechny vzorky byly odebrány mezi lety 2009–2011, a proto v době vyšetření cfDNA již byla známa krevní skupina a pohlaví.

Výsledky: Všechny 70 vzorků bylo úspěšně vyšetřeno na přítomnost fetální cfDNA a podařilo se nám spolehlivě určit pohlaví od 12. týdne gravidity. Po srovnání Ct obou exonů RHD genu ze vzorků RhD pozitivních plodů a RhD pozitivních dospělých kontrol se podařilo určit hraniční Ct, při kterém máme jednoznačný záchyt dospělého jedince s RHD pozitivním genotypem, a to do Ct 33. U vyšších Ct se vždy jednoznačně jedná o průkazný záchyt cfDNA plodu; hodnoty Ct obvykle 35–37.

Závěr: Ověřili jsme, že je v podmínkách naší laboratoře možné testovat pohlaví plodu a krevní skupinu RhD již od 12. týdne gravidity. Výhodou testování kombinace exonů 5 a 7 RHD genu je možnost záchytu RHD ψ i RHCDE přestavby, obě mutace se v České republice zatím vyskytují pouze v minoritním zastoupení, ale jejich přítomnost v české populaci bude díky migraci narůstat.

Pilotní studie – srovnání vybraných izolačních metod mikroRNA ze séra

Tavandzís S., Krhutová V., Roszková B.
Laboratoř molekulární biologie, P&R LAB a.s.
e-mail: spiros.tavandzís@pr-lab.cz

Úvod: MikroRNA (miRNA) jsou krátké jednovláknové řetězce nekódující RNA, které se podílejí na regulaci genové exprese až u 30 % lidských genů. Mezi geny regulované miRNA patří především geny odpovědné za buněčnou proliferaci, diferenciaci, apoptózu a angiogenezi, ale i za celou řadu dalších biologických procesů. Nedávné studie ukázaly, že miRNA mohou plnit funkci nádorových supresorů a onkogenů, a mají tedy vliv na vznik a vývoj nádorového onemocnění.

Cíl: Výběr nejvhodnější metodiky pro izolaci miRNA ze séra, která může být využita při studiu regulace genové exprese.

Metody: Do pilotní studie byly zahrnuty čtyři kontrolní vzorky a jeden pacient. Vzorky srážlivé krve byly po odběru centrifugovány 10 minut/4000 ot. při pokojové teplotě. Poté byly připraveny alikvoty, ze kterých byla provedena izolace miRNA a zbylá séra byla zamrazena při -80°C pro validaci výsledků. K izolaci miRNA byly vybrány tři různé izolační kity – NucleoSpin miRNA Plasma (MACHEREY-NAGEL), mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion) a Plasma/Serum Exosome RNA Isolation Kit (Norgen Biotek). Přítomnost miRNA byla kontrolována na přístroji Agilent 2100 Bioanalyzer pomocí komerční sady Agilent Small RNA Kit. Po izolaci byly miRNA přepsány specifickou reverzní transkripcí pomocí TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kitu (Ambion). Získanou cDNA jsme amplifikovali pomocí TaqMan® MicroRNA Assay na přístroji LightCycler 480 Real-Time PCR (Roche), kde jsme sledovali možné rozdíly v detekci exprese čtyř miRNA (miR195, miR155, miR296, miR328) izolovaných výše zmíněnými komerčně dodávanými kity.

Výsledky a závěr: První výsledky ukazují výrazné rozdíly v úspěšnosti izolace miRNA vybranými typy souprav. Pro konečný výběr metody jsme rozšířili kontrolní skupinu vzorků a také jsme se zaměřili na faktory ovlivňující preanalytickou fázi izolace. Sledování úrovně exprese miRNA izolované ze séra/plasmy může být dalším prostředkem neinvazivních diagnostických vyšetření nádorových onemocnění. Použití molekulárních markerů při monitorování průběhu nemoci by mohlo přesněji odrazet aktuální biologický stav pacienta a jeho odpověď na léčbu.

Syndrom fragilního chromozomu X – 10 let zkušeností s diagnostikou ve FN Brno

Tichý L.¹, Stehlíková K.¹, Vrzalová Z.¹, Fajkusová L.²

¹Centrum molekulární biologie a genové terapie, Interní hematologická a onkologická klinika FN, Brno

²Central European Institute of Technology, Brno

e-mail: ltichy@fnbrno.cz

Syndrom fragilního chromozomu X je nejčastější příčinou dědičných mentálních retardací s frekvencí výskytu 1 : 4000 u mužů a 1 : 8000 u žen. Z molekulárního hlediska je syndrom fragilního chromozomu X charakterizován expanzí trinukleotidových repetitivních CGG v 5' nepřekládané oblasti FMR1 genu. Od roku 2002 je molekulárně biologická diagnostika tohoto onemocnění prováděna také v laboratořích Centra molekulární biologie a genové terapie IHOK.

Za uplynulých 10 let bylo na našem pracovišti analyzováno více než 2600 pacientů z více než 2200 nezávislých rodin. Tento rozsáhlý soubor analyzovaných vzorků nám

umožnil statisticky zpracovat řadu parametrů týkajících se například rozložení počtu repetitivních trinukleotidů CGG v 5' nepřekládané oblasti FMR1 genu v české populaci, závislosti pravděpodobnosti expanze premutovaných alel na počtu repetitivních a v neposlední řadě i korelace mezi genotypem a fenotypovými projevy u nosičů expandovaných alel.

Molecular genetic testing in patients with Non-Small Cell Lung Carcinoma

Urbanovská I.^{1,2}, Konvalinka D.¹, Žebráková I.¹, Žmolíková J.^{1,2}, Uvírová M.^{1,2}, Dvořáčková J.²

¹CGB laboratoř a.s.,

²LF Ostravské univerzity

e-mail: irena.urbanovska@pathology.cz

Introduction: Non-Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC) is one of the most serious cancers. For targeted biological treatment, sensitive and specific identification of genetic changes is necessary. Identification of genetic changes (mutations) within EGFR, KRAS and ALK oncogenes, associated with NSCLC, allows choosing the patients, which benefit from therapy with tyrosin-kinase inhibitors (TKIs).

Methods: DNA is isolated from biopsy and cytology specimens with verified histological diagnosis. Mutation detection is performed by real-time PCR, fragment analysis, primer-extension analysis and mutant-enriched PCR. WT-EGFR patients (e.g. with no mutation detected) are tested for ALK gene rearrangement, causing the EML4-ALK fusion gene formation. Analyses are performed on histological slides using the FISH method.

Results: Since 10/2010 till 9/2012, 326 DNA samples were successfully analyzed. Out of these, 22 patients (6.75%) were found to be positive for activating mutations within EGFR gene. One patient was found to carry resistant mutation (insertion in exon 20). Since 07/2011 till 9/2012, 132 patients were successfully tested for ALK gene rearrangement. This change has been proven in 9 cases (6.8%).

Discussion: Activating mutations of the EGFR gene correlate with therapeutic response to tyrosin kinase inhibitors. Frequency of mutations within the EGFR gene is 5-20%. ALK gene rearrangement can predict therapeutic response for ALK inhibitors. These rearrangements are found approximately in 5% of NSCLC patients. Our results correlate with abovementioned findings. Occurrence of certain mutations, e.g. T790M or insertion in exon 20, as well as KRAS gene mutations and ALK gene rearrangements predicts resistance to TKIs therapy.

Conclusions: Determination of tumor mutational status can provide powerful tool for setting up strategy and therapeutic protocols in NSCLC patients.

Syndrom Li-Fraumeni - molekulárně genetická analýza genu TP53 v MOU Brno

Vašíčková P., Macháček E., Házová J., Štáhlková Hrabincová E., Navrátilová M., Foretová L.

Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů - laboratoř, Masarykův onkologický ústav, Brno

e-mail: vasickova@mou.cz

Protein p53 je kódován nádorově supresorovým genem TP53 lokalizovaným na krátkém raménku chromozomu 17 (17p13.1). Jedná se o multifunkční protein, který se v návaznosti na stresové faktory (např. poškození DNA, zánět) účastní klíčových procesů jako jsou regulace buněčného cyklu, opravy DNA, apoptóza či senescence. Somatické mutace v tomto genu jsou detekovány až u 50% lidských nádorů, zárodečné mutace genu TP53 jsou pak nejčastější příčinou Li-Fraumeni syndromu. Jedná se o vzácný autozomálně dominantní syndrom dědičné predispozice k nádorům, kdy 50% jedinců onemocní nádorem do 40 let věku a 90% pak do 60 let věku. Nejčastějšími malignitami jsou sarkomy měkkých tkání a kostí, časný karcinom prsu, mozkové nádory, nádory kůry nadledvinek, leukémie a lymfomy.

V případech lidských nádorových onemocnění patří k nejvíce frekventovaným změnám v genu TP53 missense mutace v DNA vazebné doméně, které naruší schopnost proteinu vázat DNA a následně transaktivovat expresi cílových genů. Nalezené sekvenční změny, somatické i zárodečné, jsou evidovány v IARC databázi (International Agency for Research on Cancer).

Laboratoř Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů Masarykova onkologického ústavu v Brně provádí molekulárně genetické vyšetření Li-Fraumeni syndromu od roku 2009. Vyšetření musí být indikováno klinickým genetikem po provedení genetického poradenství a podepsání informovaného souhlasu. Molekulárně genetická analýza genu TP53 zahrnuje jednak přímé sekvenování jeho kompletní kódující sekvence a míst sestřihu, jednak vyšetření velkých intragenových přestavb metodou MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification).

Ve skupině dosud vyšetřených 114 pacientů bylo nalezeno šest různých patogenních mutací, které lze označit za příčinu dědičné predispozice ke vzniku nádorového onemocnění: Li-Fraumeni syndromu. Ve čtyřech případech se jednalo o missense substituce ve vysoce konzervované oblasti p53 proteinu - DNA vazebné doméně (dva záchyty v exonu 7, po jednom záchytu v exonech 4 a 8), v jednom případě pak o mutaci v donorovém místě sestřihu exonu 4 a v jednom případě o velkou delecii celé kódující oblasti genu. V jedné z pozitivních rodin se klinicky jednalo o výskyt pouze nádorů prsu v časném věku. Testování TP53 mutace je vhodné i u pacientek s nádorem prsu diagnostikovaným ve věku pod 30 let, kde nebyla zachycena mutace v genu BRCA1/2. Příbuzným v rizikových rodinách je možné po předchozí genetické konzultaci nabídnout prediktivní testování familiární mutace a následná preventivní opatření. Vzhledem k možnostem komplexní preventivní péče včetně celotělové MR by bylo možné nabídnout prediktivní testování i před 18 rokem věku (Klin Onkol (Suppl) 2009, 22: S20-S22, 2012; 25: S49-54).

Práce byla podpořena Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky (OP VaVpI - RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

An Expanded Multiplex for New Global Standards

Vokurkova Chocova M., Sprecher C., Oostdik K., Ensenberger M., Bourdeau-Heller J., Lenz K., Storts D.

Promega Corp., WI, USA

e-mail: martina.vokurkova@promega.com

ABSTRAKTA

As DNA databases continue to grow and international cooperation increases, the need for a common set of markers is required to facilitate data sharing and to reduce adventitious matches. Promega's PowerPlex® Fusion System provides all of the materials needed for co-amplification and five-color fluorescent detection of 24 loci (23 STR loci and Amelogenin), including the CODIS core loci and the European Standard Set (ESS) loci. The PowerPlex® Fusion System will enable increased discriminatory power and data sharing possibilities by means of the incorporation of common and informative loci used throughout the world. In addition, the PowerPlex® Vision System builds upon recent advances in Promega STR chemistries, including improved inhibitor resistance, faster cycling time, and direct amplification from a variety of common sample types, resulting in more meaningful analyses for both casework and databasing efforts.

Can myoadenylate deaminase deficiency cause severe metabolic disorder?

Vrbová S., Jungová P., Kramarová V., Petrovič R., Mattošová S., Lisyová J., Chandoga J.
Institute of Medical Biology, Genetics and Clinical Genetics, Comenius University Medical School, University Hospital, Bratislava, Slovakia
e-mail: salix@hotmail.sk

Enzyme activities of myoadenylate deaminase are multiple times higher in skeletal muscles than in other tissues. Myoadenylate deaminase with adenylosuccinate synthetase and adenylosuccinate lyase catalyze reactions of purine nucleotide cycle. Putative function of myoadenylate deaminase is to shift equilibrium of myoadenylate kinase reaction towards to production of ATP by removing of AMP. T in position 34, exon 2. As a result of premature stop codon, less than 2% of enzymatic activity remains in cells. In Caucasian population frequency of mutant allele is 10–14%, and frequency of homozygotes is 2%. Primary myoadenylate deaminase deficiency is probably the most common inherited metabolic alteration of skeletal muscle in Caucasian population. In this population, in most cases of genetically caused myoadenylate deaminase deficiency is caused by transition C.

There are two groups of individuals with primary myoadenylate deaminase deficiency: 1. asymptomatic individuals, 2. individuals with difficulties evoked by exercise such as cramps, muscle pain and weakness, fast muscle fatigue. Some of affected individuals have post-exercise myoglobinuria and approximately half of them have elevation of creatine kinase. Ischemic test doesn't demonstrate elevation of venous ammonia.

Method PCR-RFLP is used in our department for diagnostic purpose of this disorder. By PCR amplified 197 bp long fragment is cleaved by HpyCH4IV to two fragments of length of 87bp and 110bp. If mutation C34T is present, restriction site is destroyed and fragment with length of 197bp is detected.

During last 6 years, in our department, molecular-genetic detection of C34T mutation of AMPD1 gene was performed in 206 probands. Out of all probands, there were 149 (72.4%) without mutation, 46 (22.3%) heterozygotes and 11 (5.3%) mutant homozygotes.

Rettův syndrom a jeho varianty – klinické a genetické aspekty

Záhoráková D.¹, Baxová A.², Puchmajerová A.¹, Martásek P.¹
¹Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN, Praha
²Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN, Praha
e-mail: Daniela.Zahorakova@lvfn.cz

Rettův syndrom je vážná porucha psychomotorického vývoje a postihuje téměř výlučně dívky. Primární genetickou příčinou Rettova syndromu jsou de novo mutace v X-vázaném MECP2 genu, jehož produktem je důležitý regulátor transkripce a chromatinového remodelingu, metyl-CpG- vazebný protein 2 (MeCP2). Kromě klasické formy Rettova syndromu existuje několik atypických variant se závažnějším nebo mírnějším průběhem. Na jejich vzniku se podílejí nejen mutace v MECP2 genu, ale i v dalších genech (CDKL5 a FOXP1) a pravděpodobně i jiné genetické faktory.

Prezentujeme klinické příznaky a aktuální diagnostická kritéria klasické formy Rettova syndromu a jeho atypických variant a shrneme naše výsledky mutačních analýz odpovědných genů.

Metody: Mutační analýza genů MECP2, CDKL5 a FOXP1 (jednotlivé geny nebo jejich kombinace) byla dosud provedena u 397 pacientů (384 dívek a 13 chlapců) z České republiky a u 68 pacientů (63 dívek a 5 chlapců) ze zahraničí s podezřením na Rettův syndrom. Analýza MECP2 genu byla provedena DNA sekvenováním, analýzou křívek tání s vysokým rozlišením (HRM) a metodou MLPA. CDKL5 gen byl analyzován DNA sekvenováním a metodou MLPA, FOXP1 gen byl vyšetřen DNA sekvenováním.

Výsledky: Patognomické mutace v genu MECP2 byly potvrzeny u 87 pacientek (60 z České republiky, 27 ze zahraničí). U jedné pacientky, u které byla původní diagnóza suspektního Rettova syndromu změněna na suspektní Lennox Gastautův syndrom, byla detekována mutace v genu CDKL5. Mutace v genu FOXP1 zatím u vyšetřených pacientů nebyla detekována.

Závěr: Mutace v MECP2 genu jsou asociovány především s fenotypem Rettova syndromu i když s nízkou frekvencí jsou detekovány také u jiných, tzv. MECP2 onemocnění. V případě atypických variant Rettova syndromu, kdy pacientka nesplňuje všechna diagnostická kritéria, je doporučeno zvážit také mutační analýzu některého z dalších odpovědných genů, CDKL5 resp. FOXP1.

Práce byla podpořena granty UNCE 20401/12, Prvok P24/LF1/3 a NT 13120-4/2012.

Androgen receptor mutations and their molecular diagnostics

Zelinková H., Lexová-Kolejářová K., Petrovič R., Chandoga J., Böhmer D.
Ústav lékařské biologie, genetiky a klinické genetiky LF UK a UNB, Bratislava, Slovakia
e-mail: hana.zelinkova@gmail.com

Androgen receptor (AR) is a phosphoprotein of the nuclear receptor family and is primarily responsible for the

mediation of the physiological actions of androgens. AR bound to androgen serves as a transcription factor in the regulation of genes that are involved in the regulation of various physiological processes, particularly male sexual differentiation and maturation, and maintenance of spermatogenesis. AR protein is encoded by AR gene, which is located on X chromosome and therefore the manifestation of genetic pathology is almost exclusively in males.

When compared to other members of nuclear receptor family, defects in AR are quite common and they cause wide spectrum of phenotypic abnormalities during male sexual development. Defective AR is directly involved in three basic pathological situations. These are neurological disorders, such as Kennedy disease (spinal and bulbar muscular atrophy), then androgen insensitivity and also prostate cancer. More than 600 mutations have been identified in AR gene so far, most of which are associated with androgen insensitivity and they are primarily substitutions in the ligand-binding domain of AR. Most of them can be detected only by the complete AR gene sequencing. In case of neurodegenerative Kennedy disease, length analysis of the region comprising CAG repeats in the first exon of the gene is sufficient. Currently, we focus mainly on Kennedy disease diagnostics in patients with definite suspicion of the disease. Disorder is confirmed by fragmentation analysis. Another part of our study was to establish the method of sequencing this gene on the basis of optimized conditions for PCR amplification of exons 2-8 of AR gene. This methodical approach allows diagnostics of androgen insensitivity syndromes and prostate cancer.

VÝTAHY PŘEDNÁŠEK “ 8TH GOLDEN HELIX PHARMACOGENOMICS DAY “

ITFoM Future of Medicine, Pharmacogenomics and Public Health Genomics

Angela Brand

Autorka přednesla jednu z nejzajímavějších přednášek tohoto “DNE” a jako ředitelka European Centre for Public Health Genomics (ECPHG), pochopitelně zdůraznila nejen nezbytnost procesu individualizace zdravotní péče (from the Human Genome Project to the Personal Genome Project), ale i používání hlediska populačního. Public Health Genomics (PHG), obor zabývající se významem genomiky použité v rámci péče o veřejné zdraví, je odpovědný za účinné přenesení poznatků získaných analýzou genomu a s tím souvisejícími technologiemi do obecné politiky a do zdravotních služeb ku prospěchu zdravotního stavu celé populace. Ve své přednášce načrtla cestu po které by se tyto snahy měly ubírat např. bychom měli: 1. začít vnímat běžné komplexní choroby jako mnohočetné vzácné choroby, 2. změnit přístup od nemocí k “diseasomes”, 3. postoupit od rizikových faktorů k rizikovým vzorcům (risk pattern), 4. a od klinické užitečnosti přejít k užitečnosti pro danou konkrétní osobu (personal utility). Jednou z oblastí, která má na náš pokrok neobvykle velký vliv jsou rychle se množující informace, které bychom měli využít přesunem zájmu od statistických údajů o rizicích platných pro skupiny osob k charakteristikám jednotlivých osob s vytvářením virtuálních osobních modelů zdravotního stavu

s čímž souvisí uplatnění informačních a komunikačních technologií (ICT) s heslem; “ICT for health & health for ICT” ITFoM (www.itfom.eu).

Next-Generation Sequencing and microarray applications in pharmacogenomics

Florian Graedler

Zástupce evropské sekce firmy Illumina, která je množstvím vyrobených strojů pro novou (druhou) generaci sekvenátorů patrně první na světě, předvedl aplikační možnosti, kterými výrobky této firmy disponují. Zabýval se rozvojem genomiky v posledním desetiletí a ukázal jak se používání sekvenátorů a čipových analyzátorů transkripce liší podle sledovaného cíle. Stroje s největším výkonem např. typ HiSeq 2500, založený na principu sekvenace syntézou, je používán zvláště pro základní výzkum, který se věnuje celogenomovému sekvenování, kdežto stroje typu MiSeq s menším výkonem se s výhodou používají pro medicínské aplikace, a předvedl některé ze systémů k tomu určených (TrueSight). Ty jsou vhodné pro sledování stavu vybraných lokalit v genomu a jsou vybrány podle potřeb některých oborů, např. onkologie. Při použití stroje MiSeq lze testovat 212 ampliconů současně v jedné zkumavce (TruSight Cancer, 48 genů). Podobně ve spolupráci s jinými společnostmi sestavila Illumina na základě exomového testování výzkumné testy zaměřené na autism, kardiomyopatie a test zaměřený na závažné, v dětském věku se rozvíjející, dědičné choroby. Samostatnou soupravou je Cystic Fibrosis Diagnostic Assay, která dokáže detekovat všechny známé mutace i varianty CFTR genu a Cystic Fibrosis Carrier Screening Assay zaměřená na diagnostiku nosičství patogenně významných alel. Firma Illumina se zaměřuje ve svých klinických aplikacích pomocí sekvenování nové generace i na choroby komplexní, mitochondriální, ale i podložené epigenetickými změnami genomu.

Impact of Pharmacogenomics In Europe

George P. Patrinos

Ve své přednášce nejdříve připomněl starořecké myslitele Homera, který v Odysei v uvedl, že drogy mohou být současně jak léčivé tak jedovaté, a Hipokrata s jeho názorem, že je důležitější poznat jaká osoba určitou chorobou trpí, než jakou chorobou trpí. Tak naznačil, že otázkám příčin nemoci, poznání nemocného a vhodného léčení se lidé zabývali „odjakživa“. Hlavně se věnoval aktivitám uskutečňovaným pod hlavičkou PGEnI, což je nezisková instituce jejímž cílem je, mimo jiné, podpořit zavzetí genetických informací do procesu zdravotnického rozhodování o veřejném zdraví. Za tím účelem sbírá výsledky ze spolupracujících států (104 států reprezentujících cca 78 % světového obyvatelstva) tak, aby byla schopna vytvořit lékařská doporučení s celosvětovým dosahem z hlediska priorit platících pro jednotlivé země v rámci farmakogenomicky významných informací.

<http://www.pharmgkb.org/>

ABSTRAKTA

<http://www.pharmgkb.org/search/browseVip.action?browseKey=vipGenes>

Pharmacogenomics in colorectal and breast cancers

Kateřina Kubáčková

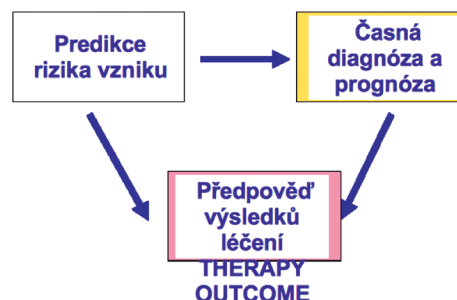
Připomněla dokumenty řešící otázky léků pro pacienty trpící vzácnými chorobami:

- Regulation (EC) No 141/2000 of the European Parliament and of the Council on Orphan Medicinal Products of 16 December 1999,
 - Commission Regulation (EC) No 847/2000 of 27 April 2000,
 - Directive 95/46/EC of the European Parliament and of the Council of 24 October 1995 on the protection of individuals with regard to the processing of personal data on the free movement of such data. (Data Protection Directive),
- a zásadu, že pacientům trpícím „vzácnými chorobami“ by měla být věnována péče stejné kvality jako ostatním pacientům. Tzv. „Orphan drugs“ – léky pro vzácné choroby mají tu nevýhodu, že nesplňují požadavek farmaceutických firem, které vyžadují návratnost svých investic. Za vzácné choroby jsou považovány takové, které splňují tři kritéria a podle nichž se posuzuje zařazení léků pro vzácné choroby, je to jednak jejich prevalence ($\leq 5/10\ 000$), pak závažnost onemocnění, ale i možnost dosažení dostatečného benefitu. Touto problematikou se zabývá Committee for Orphan Medicinal Products – COMP, která je poradním orgánem EU komise a zajišťuje mezinárodní spolupráci. Zajišťuje spolupráci s dalšími organizacemi jako např. HTA (Health Technology Assessment): <http://czechhta.cz/>. Účinkem „orphan drugs“ se v Evropě zabývá European Union Committee of Experts on Rare Diseases (EUCERD) www.eucerd.eu, organizace Orphanet: s internetovým portálem www.orpha.net a agentura (EMA) www.ema.europa.eu.

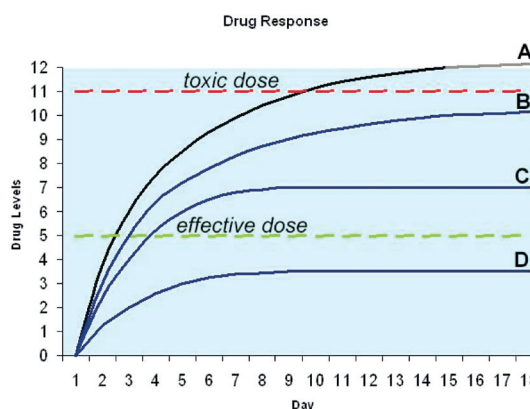
Stav farmakogenomiky v ČR

Onďřej Slanař

První domácí publikace, kterou můžeme zařadit do této oblasti, se v Československu zřejmě objevila již v roce 1978. Ve svém příspěvku se zmínil o European Medicines Agency (EMA), při které v roce 2005 vznikla Pracovní skupina pro Farmakogenetiku. V České republice, která se zvláště po roce 2008 téměř svou publikační aktivitou v této oblasti (vzhledem k počtu obyvatel) vyrovnala Německu, platí doporučení pro farmakogenetické testování genotypů TPMT, CYP2D6, CYP2C19, CYP3A5, CYP2C9, VKORC1, HLA-B*5701 a OATP1B1. Americký federální úřad (FDA) podobně jako EMA klasifikuje léky používané u různých chorob podle významu testování genetických markerů pro jejich používání. Zatím však se do příbalových letáků pro léky dostávají spíše informace o nezbytnosti ujistit se o správné funkci jater a ledvin, avšak uvedení nezbytné informace o potřebě testování genetických markerů se prosazují mnohem obtížněji.



Obr. 1



Obr. 2

Pharmacogenomics in colorectal & breast cancers

Pavel Souček

Zásadní problémy nádorových procesů vyjádřil ve schématu, v němž jsou propojeny klíčové problémy.

Rovněž se zmínil o dalších genech spojovaných s otázkou prognózy vývoje nádorového onemocnění prsu ABCC1 (MRP1) a ABCC8. Jejich produkty patří mezi „transportery“ a snížená transkripce je z hlediska úspěchu léčby, např. antracycliny výhodnější.

Ilustraci genového ovlivnění účinku léků přináší obrázky 1 a 2. Křivky A až D znázorňují rozdíl v účinku vyvolaný geny rozhodujícími o vstřebávání, distribuci, metabolismu a vylučování podaných léků.

Upozornil rovněž na vývoj rezistence na základě selekce nádorových buněk s genovou výbavou zajišťující jim odolnost proti použitému léku. Vzhledem k vysoké mutabilitě je pravděpodobnost existence takových buněk poměrně vysoká.

Uvedl příklady dalších, dnes již farmakogeneticky významných genů např. rodiny CYP, genu pro glukuronosyltransferázu UGT1A1 (www.invaderchemistry.com). Problematickou vztahu genové výbavy k účinku léků se zabývá

pracovní skupina AGAPP (Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention – www.egappreviews.org). Práce skupiny je zatím komplikována omezeným množstvím použitelných údajů, jak na úrovni stanovení genotypů, klinických dat, počtu sledovaných osob a mezipopulačních rozdílů.

State-of-the-art pharmacogenomics in Slovenia

Vita Dolžan

Podobně jako u nás je i v dalších zemích Evropské unie věnována farmakogenomice stále se zvyšující pozornost a to nejen vzhledem k zásadnímu významu pro pacienty léčené farmaky, která mohou, jsou-li podávána nevhodně, být neúčinnými anebo sama způsobit závažné obtíže, případně i smrt. V přednášce byla uvedena přehledná tabulka některých genů a jejich vlivu na léčiva, jimž je ve Slovinsku věnována zvláštní pozornost.

Clinical field	Genes	Drugs
Anticoagulant th	CYP2C9, VKORC1 CYP4A2, ApoE, NQO1	warfarin
Antipsychotic th	CYP2D6, CYP3A4	Risperidone, haloperidol,
Antidepressant th	MDR1, 5HTT mtb/ target	clozapin SSRI / bupropion
Diabetes type 2	CYP2C9, SLC01B1 KCNJ11, ox stress	Sulphonylureas, metformin, antiox enzymes
Antiepileptics	Mtb, transport, channels	Phenytoin, oxCBZ, lamotrigin
Glaucoma	CYP2D6, ox stress, inflammation path	PGF2 analogues, laser th
Rheumatoid arthritis JIA	Folate & adenosine mtb, CYPs, DHODH	Methotrexate, leflunomide
Childhood ALL	Folate path, DNA repair	methotrexate
Malignant mesothelioma, NSCLC Pancreatic cancer	Gemcitabine path, DNA repair, GSTs	asbestos exposure Gemcitabine, cisplatin
Osteosarcoma	Folate path, DNA repair	Methotrexate, platinum

SEKCE MEZILABORATORNÍ KONTROLY KVALITY

Metodické pokyny pro akreditaci poskytovatelů schemat EQA/PT

Radim Brdička

Politika ČIA pro účast v národních a mezinárodních aktivitách v oblasti zkoušení způsobilosti MPA 30 - 03 - 12 http://www.cai.cz/files/02_03-MPA%2030-03-12%20

V zájmu sjednocení kritérií posuzování a způsobu hodnocení mezilaboratorního porovnávání byla vypracována doporučení, která by měla být organizátory dodržována i pokud nebudou pro tuto činnost akreditováni. K lepší orientaci v příslušných dokumentech pomůže následující seznam:

1. ILAC P 9:11/2010 Politika ILAC pro účast v aktivitách zkoušení způsobilosti.
2. EA-4/18:2010 Návod pro určení úrovně a četnosti ve zkoušení způsobilosti.
3. ISO/IEC 17043:2010 Zavedena v ČSN EN ISO/IEC 17043:2010 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na zkoušení způsobilosti.
4. ISO/IEC 17025:2005 Zavedena v ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří.
5. ISO 15189:2007 Zavedena v ČSN EN ISO 15189:2007 Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost.
6. ISO/IEC 17020:2004 Zavedena v ČSN EN ISO/IEC 17020:2005 Posuzování shody – Všeobecná kritéria pro činnost různých typů orgánů provádějících inspekci.
7. IAF/ILAC A4:2004 Směrnice pro aplikaci normy ISO/IEC 17020.
8. Kvalimetrie 17 Mezilaboratorní porovnávání a zkoušení způsobilosti. Pomůcka k zajišťování kvality v chemických, biochemických a klinických laboratořích, Eurachem 2011.

Nabídka poskytovatelů zkoušení způsobilosti a testování kvality i v oboru, jakým je genetické testování neustále stoupá: např. Eurogentest : Pro molekulární genetiku <http://www.eurogentest.org/web/info/unit1/molecular.xhtml> Pro biochemickou diagnostiku

<http://www.eurogentest.org/web/info/unit1/biochemical.xhtml>

Pro cytogenetické vyšetřování

<http://www.eurogentest.org/web/info/unit1/cytogenetics.xhtml>

Další nabídky najdeme u European Molecular Genetics Quality Network (EMQN)

www.emqn.org/emqn/Schemes

Diagnostic Mutation Database

<http://www.ngrl.org.uk/Manchester/page/dmudb-statistics>

Domácí pak na stránkách SLG. Pravidelní účastníci jsou obvykle informováni poskytovateli přímo, noví zájemci o poskytování těchto služeb jsou vítáni.

Co a jak budeme léčit v příštích letech?

Praha, 18. ledna 2013

Česká psychoterapeutická společnost obnovila od roku 2012 tradici pořádání pravidelných vědeckých schůzí. První letošní schůze se konala v Praze v Lékařském domě 18. ledna 2013 a jejím tématem bylo CO A JAK BUDEME LÉČIT V PŘÍŠTÍCH 20 LETECH? Volba tohoto tématu nebyla náhodná; je součástí aktuálního diskurzu v oblasti psychoterapie, který se týká jejího definování, vymezení a podílu jednak na léčbě duševních poruch v oblasti zdravotnictví a přesahu do oblasti sociální, pedagogické a dalších. Garantováním schůze byl výborem ČPS pověřen MUDr. Jiří Berka. V dopoledním byla přednesena tato sdělení: MUDr. PhDr. Jan Poněšický – Budoucnost: strukturální poruchy osobnosti. Ve svém sdělení vycházel z nejmodernějších teorií psychického vývoje jedince, tedy teorií attachmentu a metalizace, jejichž poruchy jsou podkladem stále častěji se vyskytujících strukturálních poruch osobnosti, zejména poruch jáství (Self), což dával do souvislosti se společenským vývojem. Závěr jeho sdělení je citován doslovně: „Jaké jsou příčiny stále častějších vývojových, strukturálních poruch osobnosti? Ty lze snadno nalézt v současném společenském vývoji a tudíž i výchově. Trpělivé zrcadlení duševních stavů dítěte a pomoc při zvládání jeho emocionálních frustrací rodiči naráží na nedostatek času a stres v problémových rodinách při 50% rozvodovosti, je stále více neúplných rodin, singels, značnou roli má i krize otcovské autority, výchova k odvaze a překonávání překážek. K tomu přistupuje na celospolečenské úrovni ztráta náboženské víry, a tím jasných vodítek ve vedení života, a místo toho nastupuje ideologie výkonu, konzumu, zábavy, event. narcistické sebeprezentace. To vede k hybris, přebujení individualizmu na úkor solidarity, na úkor intenzivních vztahů, a tudíž i vytváření autentických meziosobních zkušeností. Naše společnost (a její reprezentanti) neposkytuje ani dostatečnou jistotu ani nepodporuje v první řadě osobnostní růst.“

MUDr. Vladislav Chvála, PhDr. Ludmila Trapková se ve sdělení Oběti příliš liberální výchovy v rodinné terapii psychosomatických poruch zabývali dnes velmi aktuální problematikou nastavování hranic ve výchově dětí, kdy přílišná volnost na straně jedné a nutnost omezování na straně druhé může vést u takto vychovávaných dětí ke stavu vnitřního napětí, vnitřní konfuze, což se může promítat do psychosomatické symptomatiky, zejména v oblasti zažívání, což bylo ilustrováno na instruktivních kazuistikách.

Doc. PhDr. Jiří Kocourek přednesl sdělení Jeden z možných pohledů psychoanalytika na budoucí terapeutickou problematiku. Dle jeho názoru se v léčbě bude pořád vycházet z Freudem definovaného dynamického intrapsychieho konfliktu v oblasti nevědomí a jeho projekce do vnějších psychopatologických projevů. Autor dovozuje, že tak, jak se mění společnost a její hodnotový systém, tak se mění i přístup k duševním chorobám. Na jedné straně se prohlubuje snaha po větším sociálním začlenění jedinců závažně duševně nemocných (schizofrenní poruchy, demence), na druhé straně se projevuje tendence k bagatelitaci neurotických a úzkostných poruch.

PhDr. Blanka Čepická se ve sdělení K čemu je dobrá transakční analýza? zamýšlela nad preventivními možnostmi transakční analýzy a dovozovala nejen léčebné, ale i preventivní možnosti této metody v oblasti poradenství, vzdělávání a práce s organizacemi. Tím přispěla do v úvodu zmíněné diskuze o vymezení oboru psychoterapie.

PhDr. Šárka Gjuríčová, autorka sdělení Proměny rodin a možnosti rodinné terapie, se zabývala předpokládaným vývojem v oblasti rodinné terapie, který se odvíjí od aktuálních společenských změn zmíněných již v prvním sdělení. Hlavní problém vidí ve shodě s tímto sdělením v poměrně rychlých změnách struktury rodin. Tím předznamenala hlavní směřování panelové diskuze, která proběhla po polední přestávce. Účastníky panelu byli přednášející, dále PhDr. Hana Junová a PhDr. Magdalena Frouzová. Na vstupy z panelu probíhala živá diskuze z publika. Dr. Junová vnesla téma transkulturnality vyplývající ze současné úrovně globalizace, a tím migrace a z toho vyplývajícím univerzální téma hranic. Doc. Kocourek v návaznosti na to nanesl problém požadavku terapeutické neutrality a vyhýbání se indoktrinaci a manipulaci na straně jedné a právě narůstající absenci jasných mantinelů a pravidel na straně druhé. Dovodil, že za daného stavu bude terapeut stále více tlačěn do situace, kdy sám bude muset rozhodovat, co je ještě normální a co už není. Dr. Frouzová v tématu pokračovala rozvíjením úvahy o integrativní funkci jazyka, o sémantických posunech v současnosti, což může komplikovat proces interpretací. Dr. Poněšický přenesl diskuzi k problematice vývoje obsahu a zaměření psychoterapie, kdy ještě nedávno existovalo mnoho různých ohraničených pojetí a přístupů a až v posledních desetiletích docházelo k významným integračním tendencím, kde se podle jeho názoru ztrácí identita jednotlivých přístupů. Dr. Brodová ve svém příspěvku nanesla problém vývoje self-sebepojetí na bázi všeobecné nejistoty jakožto důsledku relativizace hodnotového systému společnosti a vlivu historického vývoje v uplynulém století. Dr. Chvála navázal odkazem na problematiku poměru svobody a odpovědnosti, což ilustroval příkladem korupce. V dalším byla diskutována problematika hranic norem a vymezení míry patologie, dále obava z případné komercializace psychoterapie, což je důvodně zejména z hlediska současného trendu omezování péče hrazené ze zdravotního pojištění. Došlo k jednoznačnému konsenzu v tom, že pokud má být psychoterapie nadále integrální součástí léčby duševních poruch, je na jedné straně nutné nadále usilovat o co nejvyšší odbornou úroveň při jejím poskytování, na druhé straně zachovat její dostupnost dle potřeby v jednotlivých případech.

Diskuzi shrnul předseda výboru společnosti dr. Karel Koblic, který zdůraznil potřebu prosazování psychoterapie v léčbě duševních poruch, ale i její ohraničení a vymezení působnosti v dalších oblastech mimo zdravotnictví.

MUDr. Jiří Berka
Psychiatrická ambulance
Vojtova 23, 639 00 Brno
e-mail: berka@medihelp.cz

Kaprasův den na téma klinická genetika

Praha, 13. února 2013

Letošní první akcí Společnosti lékařské genetiky ČLS JEP bylo celostátní setkání na pracovním dni, který je pořádán na památku bývalého člena Společnosti lékařské genetiky a přednosty Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN doc. MUDr. Jana Kaprase, CSc. Kaprasův den na téma klinická genetika se konal 13. února 2013 ve velké posluchárně Purkyňova ústavu v Praze na Albertově. Zájem byl tradičně obrovský, posluchárna s 250 místy byla plná. Posluchači mohli mimo jiné ocenit nově zrekonstruované prostory posluchárny s moderním vybavením včetně počítačové a audiovizuální techniky. Jejich hlavní zájem se však týkal odborné části pracovního dne. Program celodenního zasedání byl nabitý, sestával z 25 přednášek autorských kolektivů z celé republiky (Praha, Brno, Olomouc, Ostrava, Plzeň, Nový Jičín, Hradec Králové).

Úvodem zazněla vzpomínka na zesnulého člena společnosti a bývalého primáře hradeckého pracoviště doc. MUDr. Jana Žižku, DrSc., kterou přednesla primářka Oddělení lékařské genetiky FN Hradec Králové MUDr. Mária Šenkeříková. Účastníci pak uctili památku doc. Žižky povstáním. Následovaly odborné přednášky, které se v dopolední části týkaly převážně prenatální diagnostiky, výsledky v roce 2012, screeningu v I. trimestru gravidity, úlohou ultrazvukové diagnostiky a stále se rozvíjející preimplantační diagnostiky. Novorozenecké období bylo zastoupeno přednáškami o problematice diagnostiky Prader-Willy syndromu a dalších chromozomálních aberací (delece 16q24 jako příčina novorozenecké hypertenze, subtelomerická translokace X;13). Velmi závažná tematika byla přednesena v oblasti nádorových onemocnění dětí. Týkala se Li-Fraumeni syndromu a otázky prediktivního testování dětí a obecně problematiky genetického poradenství v rodinách s karcinomem prsu, ovaria a nádorů jiných soustav. Dopolední zasedání bylo ukončeno krátkými přednáškami sponzorů, firmy PentaGen a Roche s.r.o.

V úvodu odpoledního zasedání zazněla přednáška o práci, která zvítězila v soutěži SLG o nejlepší publikaci za rok 2011 autorů: Hirschfeldova K, Baxova A, Kebrdlova V, Solc R, Mihalova R, Lnenicka P, Vesela K, Stekrova J. Cryptic chromosomal rearrangement in children with idiopathic mental retardation in the Czech population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2011; 15(9): 607-611. Přednáška měla název Kryptické chromozomální přestavby u dětí s idiopatickou mentální retardací.

Následovaly přednášky, které se týkaly problematiky řady syndromů v souvislosti s molekulárně genetickými a cytogenetickými nálezy v prenatálním i postnatálním období včetně prezentovaných kazuistik (např. Marfanův syndrom, X-vázaná hereditární hypofosfatemická rachitida, diagnostika leucinózy, myotonická dystrofie 2. typu, klinická genetika kostí, zubů, šlach a kloubů, varianty lidského chromozomu 9 a další). Mimo jiné informovaly o zkušenostech s molekulárně genetickými metodickými přístupy včetně jejich výhod a slabín (např. tandemová duplikace exonů 4 a 5 v genu LAMP2 v kombinaci se somatickým mozaicismem). Presentována byla i práce propojující problematiku teratospermie a neplodnosti mužů s výzkumem modelu tohoto lidského onemocnění na laboratorních potkanecích.

Přednášky vyvolaly odborné diskuze, které pokračovaly i mimo vyhrazený čas. Přednesená sdělení potvrdila, že klinická genetika a laboratorní cytogenetické a molekulárně genetické vyšetřovací přístupy tvoří v dnešní době nedílnou součást. Tematická rozmanitost přednášek ukázala, že genetický přístup je v dnešní době nutný ve všech oborech medicíny a že současný stav a směr, kterým se ubíráme, je srovnatelný se stavem oboru ve světě.

doc. MUDr. Milada Kohoutová, CSc.
MUDr. Kamila Veselá, Ph.D.

Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN
Albertov 4, 128 00 Praha 2
e-mail: mkoho@lf1.cuni.cz

Odborné setkání alergologů

Praha, 14. února 2013

Dne 14. února se uskutečnilo v rámci akcí CSAKI (Česká společnost alergologie a klinické imunologie) v kongresovém sále Nemocnice Na Homolce odborné setkání s cílem věnovat se obtížnému tématu provokačních testů v alergologii. Tyto testy jsou náročné z hlediska personálního i technického zabezpečení a časová zátěž je rovněž značná. Proto většina terénních specialistů vyšetření neprovádí. V nemocničních

centrech lze podmínky zajistit, ale i tam se naráží na řadu problémů, které metodika provokací obsahuje. Významnost testů spočívá v získání nenahraditelné informace prokazující příčinnou souvislost alergií. Za účelem co nejširší výměny poznatků mezi všemi zainteresovanými odbornostmi byli přizváni odborníci z oboru pneumologie, pracovního lékařství, pediatrie a samozřejmě alergologie. Všechny přednášky

byly vyzvané s ohledem na zkušenosti jednotlivých pracovišť z celé republiky.

Byly prezentovány a následně diskutovány provokační testy z respirační oblasti, dále lékové a samozřejmě provokační testy potravinové spíše s ohledem na dospělé pacienty. Testy respirační byly rozděleny na bronchiální a nazální včetně metodiky detekce a kvantifikace náleží, a to nejen spirometricky, ale i rhinomanometricky.

Dr. J. Satinská-Kociánová z Ostravy prezentovala velmi ucelený přehled metodiky bronchiálních provokací s ohledem na standardizaci a dostupnost příslušné techniky v České republice. **Dr. P. Klusáčková, Ph.D.** z Kliniky pracovního lékařství UK v Praze seznámila auditorium s alergickými reakcemi na látky vysokomolekulární (pšeničná mouka, žitná mouka, srst zvířat) aj., které jsou nejčastěji I. typu, a nízkomolekulární (izokyanáty, akrylové pryskyřice, pigmenty barev, soli platiny aj.), které jsou nejčastěji III. nebo IV. typu, případně i I. typu. Informovala o metodice expozičních, simulovaných, reexpozičních, specifických i nespecifických testů. **Dr. I. Krčmová, Ph.D.** se podělila mimo jiné o zkušenosti s nazálním provokačním testem s lysin-acetylsalicylátem a seznámila přítomné s různými úskalími rhinomanometrických testů. **Dr. L. Sedláčková** nabídla velmi koncizní a užitečný přehled metodiky testů lékových hypersenzitivit včetně nezbytného pojmosloví a následujících zkratk: DRESS (léková reakce s eozinofilii a systémovými příznaky), ACEP (akutní generalizované exantematózní pustulóza), SJS (syndrom Stevens-Johnson), TEN (toxická epidermální nekrolýza), DHS (syndrom lékové přecitlivělosti) aj. **Dr. J. Paukert**, pediatr z Nemocnice v Kolíně, se zabýval publikovanými doporučeními EAACI/ENDA a metodikou lékových testů, včetně ukávek konkrétních protokolů. Nabídl také vlastní výsledky a fotografický materiál ilustrující závažnost některých reakcí.

Dr. K. Ettlerová z hradeckého pracoviště nás seznámila s provokačními testy na potraviny u dospělých osob, s protokoly eliminačních diet a expozičních testů a zmínila i významně spolupůsobící fakt tělesné námahy (tzv. food dependent exercise induced allergy).

V této oblasti je bohužel více otázek než odpovědí a v praxi provést dvojité zaslepený placebem kontrolovaný test je velmi obtížné až nemožné. Financování je zcela nedořešené.

Testovat lékovou hypersenzitivitu je jistě potřebné, nicméně nevděčné finančně i časově. Metodika testů je někdy dost obtížná vzhledem k faktu, že standardní testovací materiál chybí nebo jeho využití je z různých důvodů komplikované. Testy s sebou nesou přirozeně i riziko vyvolání silné reakce. Potřebnost testování vyplývá z nutnosti objektivně lékovou hypersenzitivitu potvrdit, nebo jako falešně pozitivní suspekci vyvrátit. Aspekt potřebnosti lze demonstrovat na příkladu alergie na PNC, který jakožto ATB je samozřejmě v dnešní nabídce nahraditelný, máme-li ovšem na mysli běžné indikace. Pokud bychom však hodnotili význam PNC antibiotik z pohledu jejich schopnosti penetrovat přes hematocentefalickou bariéru při bakteriální meningitidě nebo vnímali tento typ ATB jako součást parenterální ATB kombinace při bakteriální peritonitidě apod., stává se z „obyčejného“ PNC život zachraňující ATB. Falešně pozitivní nálepka z dětského věku, pochybně odůvodněná, pak může doživotně diskvalifikovat toto užitečné ATB z léčby. Naproti tomu testovat lokální anestetika, když cca 90 % těchto reakcí je pseudoalergických, je silně diskutabilní. Je nezbytné počítat s reakcí nejen akutní, subakutní, ale také pozdní. Nebývá vzácné, že reakce na PNC ATB se objeví až se zpožděním několika dní a pak může být příčinná souvislost i zpochybňována. Problematika lékových hypersenzitivit je v praxi dosti odlišná u dětí a dospělých.

Věcná a bohatá diskuze v závěru potvrdila důležitost zvoleného tématu. Účast v kongresovém sále, který byl prakticky celý zaplněn i přes dobu zimní dovolené, byla dostatečným důkazem zájmu o danou problematiku. Za přípravu a dramaturgii setkání byl odpovědný doc. MUDr. P. Čáp z Centra AKI Nemocnice Na Homolce, který také spolu s MUDr. B. Novotnou z Brna celý meeting moderoval.

Závěrem lze s uspokojením konstatovat, že únorová odborná schůze CSAKI byla smysluplná, zaměřená na praxi a debaty k věci pokračovaly živě i v kuloárech.

V rámci schůze České společnosti alergologie a klinické imunologie ČLS JEP proběhl slavnostní křest knihy Akutní a chronický kašel – teorie a praxe. Předseda CSAKI doc. Petrů spolu s hlavními autory doc. P. Čápem a prof. V. Vondrou za laskavé asistence spolupředsedající schůze MUDr. B. Novotné knihu symbolicky pokřtili a popřáli jí mnoho úspěchů. Publikace vydaná nakladatelstvím Mladá fronta a.s. usiluje o komplexní a všestranný pohled na problematiku kašle, který je rozebrán v nejrůznějších souvislostech etiologických, diagnostických i terapeutických. Kniha vznikla díky spolupráci významných českých a slovenských specialistů – alergologa, pneumologa, patofyziologa, pediatra, farmakologa a fyzioterapeuta. Autoři byli vedeni snahou nabídnout aktuální příspěvek užitečný v praxi jak specialistů, tak praktiků.

doc. MUDr. Petr Čáp, Ph.D.
Centrum alergologie
a klinické imunologie
Nemocnice Na Homolce
Rentgenova 2, 150 30 Praha 5
e-mail: Petr.Cap@homolka.cz



Doc. MUDr. Jan Malý, CSc., sedmdesátníkem



Významné životní jubileum, své sedmdesátiny, oslavil nedávno přední český odborník v oblasti vnitřního lékařství a nefrologie, dlouholetý statutární zástupce ředitele Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM) v Praze, později i jeho ředitel, doc. MUDr. Jan Malý, CSc.

Narodil se 10. května 1943 v Praze. Jeho otcem byl významný český antropolog se světovou proslulostí prof. MUDr. Jiří Malý, člen ČSAV (†1950),

profesor antropologie na UK a ředitel Antropologického ústavu UK, držitel vyznamenání „Za statečnost“ (1939–1945), „Za zásluhy“ I. stupně „in memoriam“ za zásluhy o stát v oblasti vědy (2001). Matkou RNDr. Ludmila Malá, rozená Čížková.

Jan Malý vystudoval v letech 1960–1966 Lékařskou fakultu Univerzity Karlovy v Praze, v roce 1973 získal atestaci II. stupně z vnitřního lékařství a v témže roce se stal kandidátem lékařských věd (CSc.). V roce 1985 byl habilitován a v roce 1991 získal atestaci z nefrologie.

Od promoce až do roku 1967 působil v pražské Thomayerově nemocnici jako sekundární lékař, poté byl v letech 1967–1973 aspirantem Výzkumného ústavu experimentální terapie (VÚET) v Praze-Krči. V té době byl také jedním z nefrologů, kteří stáli u zrodu Československé nefrologické společnosti (v té době Nefrologické sekce Československé internistické společnosti ČLS JEP).

Po sloučení původně samostatných výzkumných ústavů v krčském areálu do integrovaného IKEM (1971) pracoval jako vědecký pracovník tohoto institutu a v akademickém roce 1979–1985 působil i jako asistent Subkatedry nefrologie tehdejšího Institutu pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů (ILF).

Doc. Malý byl a je znám jako široce vzdělaný internista se zálibou v diferenciální diagnostice, významně se však po celý svůj profesionální život věnoval i metabolicky pojaté nefrologii, k níž ho přivedl jeho učitel prof. MUDr. Otto Schüick, DrSc. Soustředil se především na metabolismus kyseliny močové ve vztahu k ledvinám a jejich onemocněním; jeho přínosy se týkaly zejména vlivu různých typů diurézy (vodní, osmotické) a různých farmak (benzbromaron, prednison, azathioprin) na renální clearanc a frakční exkreci kyseliny močové. Tyto nálezy byly též tématem jeho habilitační práce (1985) a v těchto směrech doc. Malý významně doplnil Schüickovu krčskou skupinu zaměřenou na metabolické a nutriční aspekty renálních onemocnění dlouhodobě a na nejvyšší úrovni. Své zaměření na problematiku kyseliny močové doc. Malý později rozšířil i na metabolismus a vylučování aminokyselin a na terapeutický vliv nízkoproteinové diety u pacientů s chronickou

renální insuficiencí. V době rozvoje transplantační aktivity v IKEM studoval doc. Malý uvedenou problematiku i u jedinců s transplantovanou ledvinou. U těchto pacientů rovněž zásadním způsobem přispěl k měření glomerulární filtrace na podkladě sérových koncentrací cystatinu C. V posledních letech se doc. Malý podílel i na experimentálním výzkumu arteriální hypertenze. Podporoval a zasadil se společně s prof. Červenkou o zásadní modernizaci – přestavbu Centra experimentální medicíny IKEM.

To, že doc. Malý vedle vynikajících odborných výsledků dosahoval úspěchů i ve sféře řídicí a organizační, se pro tehdejší vedení IKEM stalo podnětem k jeho jmenování do vedoucích funkcí. Doc. Malý tak v letech 1987–1991 nejprve jako přednosta vedl I. interní výzkumnou základnu IKEM. Jeho příchod na kliniku zásadním způsobem podpořil prof. Bartoše při realizaci transplantace ledvin u diabetiků, které do této doby u nás nebyly příliš doporučovány. Díky svým vedoucím, organizačním i lidským vlastnostem a schopnostem harmonicky rozvíjel multidisciplinární kolektiv gastroenterologů, nefrologů, diabetologů, odborníků v transplantaci i metabolické intenzivní péči, klinických farmakologů i všeobecných internistů. Od roku 1995 do roku 1996 vykonával funkci zástupce přednosty kliniky diabetologie a hepatogastroenterologie IKEM.

Poté strávil řadu let v nejvyšších postech Institutu – od listopadu 1996 do července 2007 byl statutárním zástupcem jeho tehdejších ředitelů (MUDr. K. Filipa, prof. R. Poledneho a MUDr. Š. Vítka), v červenci roku 2007 byl sám jmenován do funkce ředitele Institutu a tuto funkci vykonával až do září roku 2011. Při ukončení funkce ředitele IKEM (říjen 2011) mu byla udělena pamětní medaile „Za zásluhy o IKEM“ a ministr zdravotnictví mu při této příležitosti předal dopis s poděkováním za mnohaleté působení ve prospěch Institutu klinické a experimentální medicíny. Nelze také nezpomenout na 17 let tradičních koncertů České filharmonie s předními světovými dirigenty a sólisty, které významně přispívaly k významným setkáním představitelů medicíny, ekonomie i politických činitelů s pracovníky IKEM.

Výpady bulvárních médií vůči němu a jeho blízkým spolupracovníkům v souvislosti s údajnými předraženými zakázkami byly Policií České republiky a Vrchním soudem v Praze shledány jako neoprávněné, urážlivé a nepravdivé a příslušná média za ně musela zveřejnit omluvy v denním tisku.

V současnosti je doc. Malý (od října roku 2011) přednostou Pracoviště odborné ambulantní péče IKEM. Rovněž působil jako externí učitel na 3. LF UK pro obor vnitřní lékařství a externí učitel Institutu pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví (IPVZ).

Jako řešitel řady výzkumných úkolů a grantů je doc. Malý autorem či spoluautorem více než 250 odborných publikací v českých i prestižních zahraničních časopisech a spoluautorem 12 odborných monografií. Významná je i jeho aktivita přednášková (autor a spoluautor 320 odborných přednášek) jakož i rozsáhlá přednášková činnost v rámci pregraduální i postgraduální výuky. Během výkonu funkce odborného asistenta Subkatedry nefrologie tehdejšího ILF v letech 1979–1987 se doc. Malý projevil též jako výborný pedagog.

OSOBNÍ ZPRÁVY/KNIHY

Významná je rovněž činnost doc. Malého v mezinárodním kontextu. V letech 1984–1985 byl členem týmu zakládajícího nefrologického oddělení v hlavním městě Severního Jemenu – Sanná. V roce 2005 získal nejvyšší státní vyznamenání VSR udělované cizincům za zdravotnickou pomoc – „Řád přátelství“. Patří mu i poděkování a uznání (diplom) osobního lékaře prezidenta USA Baracka Obamy za dokonalé zajištění zdravotní péče o prezidenta a jeho doprovod při jejich návštěvě České republiky v roce 2009. Podobně byl požádán o garanci případného poskytnutí zdravotní péče o Billa Gatese (2004). Ministrem zdravotnictví ČR byl jmenován členem kolegia lékařů zajišťujícího zdravotní péči o prezidenta Václava Havla.

Za výsledky své vědecké, pedagogické, klinické i organizační práce získal doc. Malý řadu domácích i zahraničních ocenění, mj. odborné ceny Nefrologické společnosti ČSL JEP (1979, 1983), „Čestné uznání IPVZ“ za výsledky v postgraduální činnosti (1987), Cenu Jana Broda, Cenu rektora UK za monografii *Klinická nefrologie* (spoluautor), Cenu Josefa Hlávky za monografii *Urologie 1–3* (1999 – spoluau-

tor), cenu výboru české společnosti pro hypertenzi za práci „Angiotensin induced hypertension in bradykinin B2 receptor mice“ (spoluautor), nebo Cenu IPVZ za monografii „Metabolismus a ledviny“ (2001 – spoluautor).

Doc. Malý je členem řady domácích i zahraničních vědeckých a redakčních rad a odborných společností, mj. Vědecké rady 1. LF UK (2007–2012) a 3. LF UK, redakční rady časopisů *Medical Tribune* a *Praktický lékař*, Českých společností internistické a diabetologické, dále European Association for the Study of Diabetes (EASD) či International Nephrology Society (INS). V letech 1997–2012 byl členem koordinační rady UK a AV ČR pro postgraduální doktorské studium v biomedicíně a v letech 2005–2011 členem Etické komise MZ ČR.

Společně s manželkou JUDr. Marií Malou, která pracuje jako notářka, vychovali dva syny (Tomáše a Jiřího, který pracuje jako kardiochirurg v IKEM).

Tak tedy: Ad multos annos.

Mgr. Jaroslav Hořejší

Miroslav Mydlík, Július Vajó (eds.)

HISTÓRIA UNIVERZITNEJ NEMOCNICE LOUISE PASTEURA V KOŠICIÁCH

Košice: Univerzita Pavla Josefa Šafaríka 2012.

Měl jsem čest být pozván v listopadu 2012 na oslavu životního jubilea přítele profesora MUDr. Miroslava Mydlíka, DrSc., významného internisty, nefrologa a bývalého prorektora Košické univerzity. Tématem slavnostního setkání byly metabolické změny při chronické renální insuficienci, kterou inicioval prof. Mydlík, absolvent Karlovy univerzity v Praze. Spolu s prof. Mydlíkem jsem dlouhá léta v kontaktu. Společným zájmem není jen medicína, nýbrž i obecná historie a jmenovitě život a dílo Franze Kafky.

Spolu se známým košickým chirurgem prof. MUDr. Juliusem Vajó, DrSc., spolueditorem, předkládají dílo, které podává přehled historie univerzitní nemocnice Louise Pasteura a které by mohlo být příkladem i pro rodící se univerzitní nemocnice v České republice a které je zajímavé i vzhledem k historickým vztahům mezi slovenskou a českou medicínou.

Na objemném díle s 427 stranami se účastnilo 92 autorů, pracovníků nemocnice. Je nutné podotknout, že přes velký počet autorů se editorům podařilo, aby dílo bylo ucelené a jednotlivé příspěvky nevybočovaly z rámce jednotné koncepce.

Jak již v úvodu uvedl ředitel nemocnice MUDr. Jaroslav Šajty, je samotným označením „univerzitní nemocnice“ zdůrazněno jedinečné postavení zdravotnického zařízení.

Úvodní kapitola napsal prof. PaedDr. Štefan Šutaj, DrSc. Uvádí historii Košic od prvních zmínek o této trhové dědině s kostelem, farářem a mlýnem z roku 1230. Po bitvě u Moháče v roce 1526 až do roku 1918 patřily Košice do habsburské monarchie s určitým výsadním postavením. V 17. století, v době protihabsburských povstání a tureckých nájezdů byla 26. února 1657 založena Košická univerzita biskupem

Benediktem Kišdymem jako Universitas Cassoviensis. V tu dobu bylo zejména důležité tzv. Bethlenovo povstání vedené kapitánem J. I. Rákoczim a později Františkem II. Rákoczim. Košické zdravotnictví zaznamenalo rozkvet zejména za vlády Marie Terezie.

Zajímavé jsou demografické údaje. Začátkem 20. století měly Košice 44 000 obyvatel, z toho 18 000 Slováků a 16 000 Maďarů, téměř 7000 židů a 1900 Němců.

Československá vojska vstoupila do Košic až koncem roku 1918 a začátkem roku 1919. Maďarská menšina vedená bolševikem Bélou Kunem však nebyla spokojena se státoprávním uspořádáním a jejich aktivita vyústila dokonce do utvoření bolševické Slovenské republiky rad podle vzoru Maďarské republiky rad. Po porážce československými vojáky bylo od roku 1920 vytvořeno Československé zřízení se čtyřmi krajinami (České, Moravské, Slovenské a Podkarpátorské). V témže roce založili lékaři Ligu pro kulturní povznesení Cikánů. V rámci ČSR došlo v Košicích k rozvoji průmyslu, kultury a školství.

Na základě Vídeňské arbitráže byly roku 1938 Košice připojené k Maďarsku. Začaly ostudné deportace židů a do června 1944 bylo deportováno 15 770 židů. Z koncentračních táborů se vrátilo do Košic jen 600 židů. Za působení strany Šípových křížů začala hrůzovláda s popravami (500 občanů), zatýkání, odsun do koncentračních táborů (1200 občanů).

K návratu Košic z Maďarska do ČSR nastalo až po osvobození Košic Rudou armádou. Košice se staly sídlem prezidenta Beneše, vlády ČSR, Slovenské národní rady pro osvobozená území. Dne 4. dubna se tu vytvořila první vláda Národní fronty Čechů a Slováků a 5. srpna 1945 byl vyhlášen Košický vládní program.

Od 25. února 1948 nastala éra komunistické diktatury. Po okupaci 21. srpna 1968 tzv. bratrskými vojsky v čele s Rudou

armádou došlo dočasně k lidovému odporu proti okupantům, sedm občanů zahynulo a 57 bylo zraněno. Po listopadu 1989 nastaly zásadní demokratické změny, 1. ledna 1993 vznikly z ČSR dvě republiky, Česká a Slovenská.

V kapitole o košickém zdravotnictví popisuje prof. Vajó situace od prvních zpráv z roku 1230 až po aktuální stav. Od 13. století vznikaly chudobince (špitály). Košice jako malé město v Uhrách mělo své „městské lékaře-fiškusy“, kteří však nebyli nikterak organizováni ani jakkoliv evidováni úřady. Pocházeli většinou z Německa a Krakova. Podobný stav byl i s lékárníky. Traduje se, že italský lékař Piperellus Ezekiel pozval na svoji svatbu v roce 1597 městskou radu s darem – oslavnou básní „Hymeneum“. Jiní lékaři si stěžují na nízké platy. V roce 1668 pan doktor Brewer píše městské radě Košic požadavek, aby nemocným s vnitřními chorobami nesměli předepisovat léky lékárníci a nesměli je léčit chirurgové – barbieři. Hygienik Jozef Podesta (physicus ordinarius) píše 8. července 1694, aby se v Košicích vyčistily kanály, aby se prodávalo jen dobré víno (po špatném se pokazí žaludek). Městská rada mu poslala sud vína.

V roce 1657 Benedikt Kisdy zakládá Košickou univerzitu. Univerzitní lékaři si vydělávali na různých evropských univerzitách včetně Prahy. V letech 1709–1710 byla v Košicích morová epidemie, při níž umíralo až 20 občanů denně. Na paměť epidemie byl roku 1923 vystaven morový sloup se sochou Neuposkrvněné Panny Marie.

V té době platily Košice lékařům 60 zlatých, sud tokajského vína, 4 sudy piva a 6 metráků obilí. Pevnější systém zdravotní péče byl zahájen až při vládě Marie Terezie. V roce 1782 byl městským fyzikem Jozef Kis Vitzai, který zavedl i přísnější řád zdravotní péče i hygieny v Košicích. (Jeho busta je ve Východoslovenském muzeu v Košicích). Založil i první park pro rekreaci. Z paměti města lze vyčíst i zprávu o epidemii cholery v roce 1831, která postihla několik měst košického kraje. Prevence spočívala v „sypání chlorového vápna do studní“. Panika se změnila až v občanské nepokoje. V Zemplínské župě onemocnělo 40 329 lidí, zemřelo 18 627 osob. V Košicích zemřelo na cholera 1247 osob.

V roce 1831 byla postavena jednopatrová Veřejná nemocnice nadace Svaté Trojice. Nemocnice však nevyhovovala zejména po personální stránce (pracovali tu jen dva lékaři, žádný chirurg). Proto byla postavena druhá modernější městská nemocnice, která už měla od roku 1913 samostatné chirurgické oddělení, po skončení 1. světové války i psychiatrické a venerologické oddělení.

Stomatologické péče se datuje od roku 1852 a jsou známá i jména stomatologů. Oční lékaři a dětští jsou uváděni od roku 1851. V době napoleonských válek na začátku 19. století i v revolučních letech 1848–1849 byli vojáci léčeni v Košických kasárnách, ve škole a ve Všeobecné nemocnici. Samostatná Vojenská nemocnice byla postavena až v roce 1858.

V roce 1907 byl postaven Ústav pro vzdělávání porodních asistentek. Kurzy byly pětiměsíční a učilo se ve třech jazycích: maďarštině, němčině, slovenštině. Nával raněných v 1. světové válce do Košic si vynutil založení Nemocnice pro válečné invalidy.

Dne 24. června 1924 bylo slavnostní otevření Státní nemocnice v Košicích, která znamenala velký pokrok v péči o nemocné a sloužila i jako výukové centrum. Operování byli pacienti z celého východoslovenského regionu a ze středního Slovenska. Prvním ředitelem byl chirurg MUDr. Jozef Uram. Nemocnice již měla šest primariátů, 18 sekundářů, jednoho prosektora, civilní i řeholní ošetřovatelky.

Druhým ředitelem byl MUDr. Mikuláš Očenášek, narozený v roce 1886 ve Velkých Bílovicích na Břeclavsku. Promoval na Karlově univerzitě v Praze roku 1912. Přátelil se i s T. G. Masarykem a dalšími významnými osobnostmi. Jako internista pracoval v Košicích. Na jeho oddělení pracoval jako sekundář MUDr. Mikuláš Mydlík. Přijal na stáž také MUC. Miloše Nedvěda, pozdějšího internistu u prof. Prusíka. Nedvěd byl činný v lékařském odboji. Zemřel v Osvětimi v roce 1943. Ve svých pamětech vzpomíná s láskou na svůj pobyt v Košicích.

Očenášek miloval hudbu, historii hudby a byl jeden čas ředitelem pěveckého sboru. Zemřel ve svých 87 letech. Je pochovaný na hřbitově ve Strážnici (kapitolu o něm napsal prof. Mydlík).

V roce 1928 se v košickém kraji vyskytovaly četné případy vztekliny, proto byl založen „Pasteurův ústav pro antirabické ověřování osob z krajů Slovenska a Podkarpatské Rusi“, který vedl MUDr. Václav Strimpl, absolvent Univerzity Karlovy v Praze (stal se obětí holokaustu).

Prof. MUDr. Ján Kňazovický měl velké zásluhy o založení lékařské fakulty v Košicích a byl jejím prvním děkanem. Kňazovický byl výborným chirurgem i příkladným učitelem, veřejným zdravotnickým činitelem. U příležitosti 100. výročí narození prof. Kňazovického – 27. října 1993 – byla v rámci Spolku lékařů Košice založena tradice „Memoriálu prof. Kňazovického“.

Po krátkou dobu byli po Kňazovickém řediteli dr. Payer a po něm dr. Meszáros.

A. Böör, M. Mydlík a J. Vajó studovali vznik lékařských spolků v Košicích. Po vzniku ČSR vznikla Východoslovenská župa ústřední jednoty československých lékařů v Košicích a blízkých městech. Na schůzi jednoty byl 8. srpna 1927 zvolený výbor s předsedou dr. Slabejem, místopředsedou dr. Smělým a dr. Uramem, což byl základ Spolku československých lékařů v Košicích. Dnes je tento Spolek v rámci Slovenskej lekárskej spoločnosti (která má podobné poslání jako je Československá společnost J. E. Purkyně). Ve výboru po 2. světové válce byl i prof. Mydlík, který byl hlavním organizátorem několika mezinárodních sympozií. V rámci schůzí Spolku byly i klinicko-patologické konference, které realizoval Ústav patologa Lékařské fakulty UPJŠ a UNLP pod vedením prof. Bööra. Prof. Mydlík a prof. Vajó iniciovali memoriály dvou významných představitelů Košické medicíny – internisty prof. MUDr. Františka Póra a chirurga prof. MUDr. Jána Kňazovického.

O prof. Pórovi, zakladateli košické internistické školy, napsali pěknou stať prof. Mydlík a ing. Katarína Derzsiová. Prof. Pór, průkopník vnitřního lékařství na Slovensku, se narodil 15. dubna 1899. Medicínu studoval v Budapešti a v Praze, kde promoval. Pracoval na různých místech na Slovensku až zakotvil v Košicích, kde byl v roce 1961 jmenován profesorem vnitřního lékařství. S panem profesorem jsem se opakovaně setkával na všeobecně internistických, endokrinologických sjezdech. Byl obecně znám svými širokými znalostmi v celé interně. Prof. Pór měl navíc mimořádný smysl pro organizaci. Byl významným funkcionářem Československé lékařské společnosti a jejích odborných společností, nositelem medaile ČLS J. E. Purkyně a dalších vyznamenání, aktivním členem Spolku lékařů. Pracoval i pro fakultu jako proděkan i pro Ministerstvo zdravotnictví Slovenska. Prof. Pór vychoval svoji školu. Autoři této kapitoly patřili k nejvýznamnějším pokračovatelům. Prof. Pór zemřel v roce 1980.

Autoři se podrobně dále zmiňují o prof. MUDr. Mikulášovi Takáčovi, DrSc. (1927–1999). Prof. Takáč promoval na Karlově univerzitě v Praze. Věnoval se hlavně kardiologii. Byl žákem prof. Herlese. Stýkal se s prof. Válkem a Vančurou. Po odchodu prof. Póra se stal přednostou 1. interní kliniky FN a LF UPJŠ. Byl rovněž lékařem širokého rozhledu. Věnoval se nejen kardiologii, v níž dosáhl velkých úspěchů, nýbrž i dalším oborům (gastroenterologií, nefrologií, imunologií). Prof. Takáč byl také vedoucím kardiopulmonální laboratoře při Katedře vnitřního lékařství fakulty. Druhou část vedli doc. MUDr. M. Kandrác, CSc., který přišel na kliniku ze 3. interní kliniky prof. Charváta a který se věnoval zejména problematice steroidů s mezinárodním přesahem. Prof. Takáč byl místopředsedou Slovenské internistické společnosti, člen redakční rady časopisu Vnitřní lékařství a vedoucím kolektivu učebnice Základy diagnostiky vo vnútornom lekárstve (3. vydání). Prof. Takáč jsem osobně znal a účastnil jsem se několikrát „diskuzních kroužků“ prof. Válka. Byly to nezapomenutelné medicínsko-filozofické a umělecké diskuze.

Zvláštní stať autorů M. Mydlíka a K. Derzsiové je věnována rozvoji nefrologie na košické klinice. Prof. Mydlík zavedl nové vyšetřovací metody. Pro nefrologii je tato kapitola poučná, protože ukazuje, jak postupně se zlepšovala diagnostika i léčba při chorobách ledvin. Práce obou autorů dosáhly i mezinárodních uznání.

K interním klinikám patří klinika prof. MUDr. Ivce Lazúrové, CSc., která poskytuje diagnostiku a léčbu v gast-

roenterologii i v jiných oborech, zejména v endokrinologii. Na klinice je centrum pro léčbu diabetu 1. typu inzulinovými pumpami. Diabetologická a endokrinologická péče navázala na práce prof. M. Tajtákové, PhD. a dr. A. Janco a na spolupráci s SAV v Bratislavě, zejména v problematice tzv. endokrinních disruptorů. Klinika prof. Lazúrové je jediným centrem pro biologickou léčbu zánětlivých revmatických chorob. Zkušenosti prof. Lazúrové jsme využili pro naši publikaci Endokrinologie – Interdisciplinární obor (Blahoš J., Zamrazil V. (ed.) Praha: Triton 2006). Její kapitola se nazývá Endokrinológia a kardiológia (s. 265–288).

Další kapitoly v monografii prof. Mydlíka a Vajó popisují historii a náplň aktivit jednotlivých oborů a oddělení medicíny na lékařské fakultě. Náplň může zajímat příslušné odborníky.

Po přečtení díla jsem přesvědčen, že jde o významný dokument o historii i současnosti košické medicíny. Český čtenář se dozví zajímavé údaje o vztazích mezi slovenskou a českou medicínou a o významných osobnostech, na které bude medicína v Košicích hrdá.

Gratuluji editorům i jednotlivým autorům.

prof. MUDr. Jaroslav Blahoš, DrSc.
předseda České lékařské společnosti
Jana Evangelisty Purkyně

17. ZÁŘÍ 2013

III. ROČNÍK MEZINÁRODNÍ KONFERENCE ASPEKTY PRÁCE POMÁHAJÍCÍCH PROFESÍ (AWHP)

Místo: Hotel Olympik Pořadatel: Společnost pro radiobiologii a krizové plánování ČLS JEP a Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze

Registrace účastníků je 17. září 2013 od 8 do 9 hodin v místě konání konference. Možnost přihlášení k aktivní účasti do 24. srpna 2013 Možnost přihlášení k pasivní účasti do 31. srpna 2013 Možnost přihlášení Studentů FBMI ČVUT do 9. září 2013

Oblasti rokování pro rok 2013 jsou:

SEKCE 1

- fyzioterapie
- psychické a etické aspekty traumy
- aspekty zdravotní péče

SEKCE 2

- medicína katastrof
- urgentní medicína
- krizový management

- krizové řízení
 - odstraňování následků katastrof
 - problematika ochrany obyvatelstva při mimořádných situacích
- Konference bude ohodnocena kredity dle kreditního systému o vzdělávání lékařů a nelékařských zdravotnických pracovníků

Všechny informace naleznete na www.awhp.cz

BARUCH SAMUEL BLUMBERG

(28. července 1925–5. dubna 2011)

V roce 1976 získali Nobelovu cenu za fyziologii nebo medicínu američtí virologové Baruch Samuel Blumberg z Filadelfie a Daniel Carleton Gajdusek z Bethesdy, narození ve státě New York na břehu dolního toku řeky Hudson.

Právník Meyer Blumberg a jeho žena Ida Simonoffová, oba z první generace svých rodů přivedené na svět už v Americe, měli tři děti, z nichž prostřední Baruch Samuel se narodil 28. července 1925 v newyorském Brooklynu. Bystrý chlapec z pravověrné židovské rodiny vyrůstal jako žák ješivy v brooklynském Flatbushu při četbě Starého zákona i Talmudu v hebrejštině. Jeho středoškolské vzdělání ve Far Rockaway High School v newyorském obvodu Queens na břehu Atlantiku korunovala v roce 1943 vědecká cena za konstrukci fungující ledničky ze starého harampádí, načež Baruch (pro přátele Barry) uprostřed 2. světové války narukoval k námořnictvu jako palubní důstojník výsadkového člunu námořní pěchoty. Při této službě studoval na Union College v Schenectady fyziku a v roce 1946 po návratu do civilu v hodnosti poručíka dosáhl bakalářského stupně. Následující rok věnoval na Kolumbijské univerzitě v New Yorku magisterskému studiu matematiky.

Potom však vyhověl přání svého otce a v letech 1947–1951 vystudoval na lékařsko-chirurgické koleji těžce univerzity medicínu. Bylo to v éře slavného Roberta Loeba s prvními ročníky plnými základních věd a základního, neaplikovaného výzkumu. Na léto 1950 po třetím ročníku však profesor parazitologie Harold Brown přichystal studentům několikaměsíční pobyt v zapadlém, pouze po řece přístupném hornickém městečku Moengo alias Mungo uprostřed močálů a buše na severu Surinamu (tehdy Nizozemské Guyany). Barry Blumberg a jeho kolegové konali klinické služby a vedli porody v nemocnici důlní společnosti i vůbec první epidemiologický dohled nad malárií v této kolonii s populací etnicky pestrá (indiáni, Afroameričané, Evropané, Indové, Javánci, Číňané) a k infekcím nestejně vnímavou (kreolští dělníci na třtinových plantážích trpěli často elefantiazou, javánští nikolivi).

V prvních 2 letech po promoci (1951–1953) pak Barry, zaměstnaný v univerzitním oddělení newyorské nemocnice Bellevue, svůj studentský výzkum publikoval (počínaje prací *Filariasis in Moengo (Surinam) in 1950*. *Docum Neerl Indones Morb Trop* 1951; 3: 368–372; s McGiffem a Guicheritem). Další dva roky (1953–1955) strávil v oddělení artritid univerzitního Presbyteriánského lékařského střediska experimentálním výzkumem fyzikální biochemie kyseliny hyaluronové (počínaje prací *Light-Scattering Studies on Hyaluronic Acid*. *Science* 1954; 120: 432–433; s Osterem). V roce 1954 se oženil s malířkou Jean Liebesmanovou, s níž pak měl dcery Anne a Jane a syny George a Noaha.

Postgraduální studium biochemie v letech 1955–1957 na Oxfordské univerzitě u Alexandra G. Ogstona (počínaje prací *The Selective Solvation of the Hyaluronic Acid Complex of Ox Synovial Fluid*. *Biochem J* 1956; 63: 715–717; s Ogstonem) završil Blumberg, tehdy člen oxfordské Balliolovy koleje, v roce 1957 obhajobou studie fyzikálních a biochemických

vlastností hyaluronové kyseliny. Zsvěcen tu do Fordovy teorie polymorfismu a vyzbrojen metodou gelové elektroforézy Ogstonova doktoranda Olivera Smithiese studoval s oxfordským biochemikem Anthonym C. Allisonem sérologické polymorfismy u lidí a zvířat z různých koutů světa i v následujících letech, kdy vedl oddělení geografické medicíny a genetiky Národních ústavů zdraví v Bethesdě (1957–1964). Nacházel značnou biochemickou a antigenní variabilitu (*Haptoglobin Types in British, Spanish Basque and Nigerian African Populations*. *Nature* 1958; 181: 824–825; s Allisonem a Reesovou. *The Haptoglobins and Hemoglobins of Alaskan Eskimos and Indians*. *Ann Human Genet* 1959; 23: 349–356; s Allisonem a Garryovou).

Po příchodu Allisona do Bethesdy v roce 1960 začal s ním Blumberg zkoumat séra příjemců velkého počtu transfuzí a hledat v nich protilátky proti polymorfním sérovým proteinům. Věnoval se pak zkoumání protilátky nalezené u nemocného anemií (*An Isoprecipitation Reaction Distinguishing Human Serum Protein Types*. *Lancet* 1961; 1: 634–637; s Allisonem) a během následujících měsíců zjistil, že v tomto „Ag systému“ reaguje protilátka se zděděnými antigenními specifitami na lipoproteinech nízké denzity (*Antigen Polymorphism of a Low-Density beta-Lipoprotein*. *Allotypes in Human Serum*. *Nature* 1962; 194: 656–658; s Drayem a Robinsonem).

Během posledního Blumbergova roku v Bethesdě přibyl v jeho skupině hematolog Dr. Harvey Alter a bývalý válečný pilot Sam Visnich jako laborant. S nimi Barry zkoumal séra hemofiliků z newyorské nemocnice Mount Sinai. V jednom vzorku objevil pozitivní reakci pozoruhodnou tím, že zatímco zpravidla reagovala anti-Ag antiséra s většinou (50–90 %) sér testovací řady, vzorek tohoto hemofilika reagoval pouze s jediným z 24 testovacích sér, a to se sérem jakéhosi etnicky původního Australana čili Austrálce. Blumberg tak **objevil a pojmenoval „australský antigen“** – zkratkou Au (*Polymorphisms of Serum Proteins and the Development of Isoprecipitins in Transfused Patients*. *Bull N Y Acad Med* 1964; 40: 377–386). v Austrálii získal velké množství sér a na novém pracovišti – ve svém oddělení klinického výzkumu Ústavu pro výzkum nádorů ve čtvrti Fox Chase (Fox Chase Cancer Center) na okraji pensylvánské Filadelfie – budoval od roku 1964 sbírku vzorků sér s tímto velmi stabilním antigenem ke studiu distribuce antigenu i protilátky v různých populacích u různých skupin chorob.

Při vyhledávání antisér proti australskému antigenu měl Sam Visnich soustředit séra osob po transfuzích, z vlastní iniciativy však mezi potenciální zdroje protilátky zahrnul i sady sér pro testování antisér, a shromáždil tak i skupinu vzorků od pacientů s transfuzemi v anamnéze, trpících leukemií. Tato skupina vykazovala vysokou frekvenci australského antigenu („New“ *Antigen in Leukemia Sera*. *J Am Med Assoc* 1965; 191: 541–546; s Alterem a Visnichem). Když pak Blumberg testoval séra z jiných skupin chorob, našel tento antigen jen u osob po transfuzích.

V pátrání, proč sérum Newyorčana reagovalo se sérem Austrálce, vycházel Blumberg zpočátku z předpokladu, že přítomnost či nepřítomnost Au může být zděděným rysem.

Při testování pacientů ve skupinách známých chorob však nacházel Au jen u osob po transfuzi. Soudil, že lidé s Au jsou ohroženi leukémií, a že Au má nějaký vztah k viru jako možnému původci leukémie. Hypotézu podporoval nálezy, že mnohem vyšší incidenci leukémie než normální populace mají mladí lidé s Downovým syndromem a ti jsou asi ve 30 % pozitivní na Au. Pak počátkem roku 1966 původně Au-negativní pacient s Downovým syndromem měl náhle pozitivní nález Au bez patrné změny klinického obrazu, načež jaterní testy 28. června a biopsie jater 20. července 1966 prokázaly chronickou anikterickou hepatitidu (A Serum Antigen /Australia Antigen/ in Down's Syndrome, Leukemia, and Hepatitis. *Ann Intern Med* 1967; 66: 924–931; s Gerstleyovou et al.).

Další doklad spojitosti mezi Au a hepatitidou přinesl duben 1967: Laborantka Barbara Wernerová pracující na procedurách izolace Au se necítila dobře, s vědomím vztahu hepatitidy k Au si otestovala své sérum a zjistila, že je Au-pozitivní. Historicky první diagnózu virové hepatitidy Au testem potvrdil pak rozvoj obrazu žloutenky.

V letech 1969 a 1970 byly spuštěny zkušební programy testování krve dárců, všichni s pozitivním nálezem Au byli vyřazeni a počet případů potransfuzní hepatitidy dramaticky klesl. Virus byl zobrazen v elektronovém mikroskopu a Au ztotožněn s povrchovým antigenem HBsAg.

Blumberg v roce 1969 s Millmanem **vyvinul vakcínu proti virové hepatitidě ze separovaných neinfekčních obalů viru**. V říjnu 1969 si dali výrobu vakcíny patentovat a v lednu 1972 patent získali (Vaccine against Viral Hepatitis and Process. U.S. Patent Office No. 3,636,191, 1972; s Millmanem).

Zkoumal souvislosti výskytu nádorů jater a shledal, že primární rakovina je v tropických oblastech sdružena s velkouzlovou cirhózou, jejíž příčinou je pravděpodobně chronická virová hepatitida B. Téměř u všech případů hepatomu prokázal infekci HBV a u většiny případů primární rakoviny jater našel HBsAg. Strategii viděl ve snižování výskytu vyvolavatele v prostředí a u očkování (The Relation of Infection with the Hepatitis B Agent to Primary Hepatic Carcinoma. *Am J Pathol* 1975; 81: 669–682; s Larouzem et al.).

Poté, co několik badatelů našlo v oblastech vyššího výskytu Au v lidské populaci také Au-pozitivní moskyty, sbíral je v roce 1971 v Ugandě a Etiopii i Blumberg a nacházel Au v nečetných jedincích. Výzkumem z let 1971–1976 na afrických moskytech a štěnicích (počínaje prací Australia Antigen in Mosquitoes. Feeding Experiments and Field Studies. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1973; 6: 719–732; s Willsem et al.) ukázal nicméně, že přenos hepatitidy B hmyzem je možný a pochopení role hmyzu v šíření infekce může pomoci v hledání kontrolní strategie. Z bioetických problémů svých témat vnímal nejsilněji střet zájmů veřejného zdraví a individuální svobody nosičů viru hepatitidy (Bioethical Questions Related to Hepatitis B Antigen. *Am J Clin Pathol* 1976; 65(5 Suppl): 848–853).

Nobelovou cenou za fyziologii nebo medicínu byli v roce 1976 vyznamenáni Baruch Samuel Blumberg a Daniel Carleton Gajdusek „za své objevy nových mechanismů původu a ší-

ření infekčních nemocí“. Dne 10. prosince je na slavnosti ve Stockholmu představil profesor Erling Norrby z Karolinského ústavu a 13. prosince 1976 měl Blumberg ve Stockholmu nobelovskou přednášku (Australia Antigen and the Biology of Hepatitis B. *Science* 1977; 197: 17–25).

Od roku 1977 působil na Pensylvánské univerzitě jako profesor medicíny a antropologie, v letech 1986–1989 ve Fox Chase jako viceprezident pro populační onkologii. Svou sbírku sér začal tehdy využívat i k testování na přítomnost viru lidské imunodeficiency (HIV) ve vzorcích z Austrálie a Tichomoří. Po odchodu z Filadelfie se dočkal pro neangličana zcela mimořádné pocty v Oxfordu, kam byl povolán vést v letech 1989–1994 jako „master“ Balliolovu kolej.

V roce 1999 zahájil svou „druhou kariéru“ jako zakládající ředitel Astrobiologického ústavu NASA v Amesově výkumném středisku na Moffettově federálním letišti v Kalifornii, v letech 2003–2004 pracoval jako vedoucí vědecký pracovník Oddělení základní vesmírné biologie NASA. Po dlouhá léta spolupracoval na projektu lovu vesmírných mikroorganismů. Dne 5. dubna 2011 během konference NASA v Amesově středisku krátce po pronesení programového prohlášení náhle zemřel na selhání srdce.

LITERATURA

1. **Blumberg BS.** Autobiography. In: Lindsten J. (ed.) Nobel Lectures in Physiology or Medicine 1971–1980. Singapore: World Scientific 1992; 271–274.
2. **Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S.** Landmark Article Feb 15, 1965: A „New“ Antigen in Leukemia Sera. By Baruch S. Blumberg, Harvey J. Alter, and Sam Visnich. *JAMA* 1984; 252: 252–257.
3. **Brown E.** Nobelist Baruch Blumberg, Who Discovered Hepatitis B, Dies at 85. *The Washington Post* 6 April 2011.
4. **Carey CW, Jr.** American Scientists. New York: Facts on File Library 2006; 97–98.
5. **Daintith J, Mitchell S, Tootill E, Gjertsen D. (eds.)** Biographical Encyclopedia of Scientists, 2. ed. Bristol – Philadelphia: Institute of Physics Publishing 1994; 1: 91.
6. **Magill FN. (ed.)** The Nobel Prize Winners. Pasadena – Englewood Cliffs: Salem Press 1991; 3: 1237–1245.
7. **McMurray EJ. (ed.)** Notable Twentieth-Century Scientists. New York: Gale Research Inc. 1995; 1: 203–205.
8. **Segelken HR.** Baruch Blumberg, Who Discovered and Tackled Hepatitis B, Dies at 85. *New York Times* 6 April 2011.
9. **Sodomka L, Sodomková Magd., Sodomková Mark.** Kronika Nobelových cen. Praha: Euromedia Group k. s. – Knižní klub 2004; 350–351.
10. **Wasson T. (ed.)** Nobel Prize Winners. New York: The H. W. Wilson Company 1987; 108–110.

MUDr. Pavel Čech

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