

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. E. Purkyně
Sokolská 31, 120 26 Praha 2

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

Doc. MUDr. Petr Čáp, Ph.D.
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., Ph.D.
Centre hospitalier de l'université de Montreal
Hotel Dieu 3840, rue Saint-Urbain
Montreal (Québec) H2W 1T8, Canada

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. interní 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 Říhová, 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.
Ústav molekulární genetiky AV ČR v.v.i.
Útvar BIOCEV, City Point
Hvězdova 1689/2a, 140 62 Praha 4

OBSAH

Přehledové články

Stříteská J, Nekvindová J, Černý V, Palička V. MikroRNA a ledviny	187
Bendlová B, Lukášová P, Vaňková M, Vejražková D, Bradnová O, Včelák J, Stanická S, Zamrazilová H, Aldhoon-Hainerová I, Dušátková L, Kunešová M, Hainer V. Genetické pozadí běžných forem obezity – od studií identických dvojčat po studium kandidátních genů obezity	193
Aldhoon-Hainerová I, Včelák J, Zamrazilová H. Monogenně podmíněná obezita – současný stav molekulárně genetického výzkumu a význam v klinické praxi	200

Abstrakta

Zavoral M. Kolorektální karcinom (část 3).....	207
--	-----

Dopisy redakci

Stejskal L. Cenzura v medicíně.....	218
-------------------------------------	-----

Sjezdy

Kinkorova J., Ochozka J. MEDTEL – mezinárodní konference o zdravotní informatice a telematicce (Praha, 27.-28. listopadu 2013).....	219
Králíková E. Účinná kontrola tabáku nemusí být nákladná ani cílená na děti (Istanbul, 26.-29. března 2014).....	220

Zprávy.....	192, 224
-------------	----------

Osobní zprávy.....	222
--------------------	-----

CONTENTS

(No. 4, 22nd August 2014) Journal of Czech Physicians

Review Articles

Stříteská J, Nekvindová J, Černý V, Palička V. MicroRNAs and kidneys.....	187
Bendlová B, Lukášová P, Vaňková M, Vejražková D, Bradnová O, Včelák J, Stanická S, Zamrazilová H, Aldhoon-Hainerová I, Dušátková L, Kunešová M, Hainer V. Genetic background in common forms of obesity – from studies on identical twins to candidate genes of obesity.....	193
Aldhoon-Hainerová I, Včelák J, Zamrazilová H. Monogenic obesity – current status of molecular genetic research and clinical importance	200

Abstracts

Zavoral M. Colorectal carcinoma (Part 3).....	207
---	-----

Letters to the editor

Stejskal L. Censorship in Medicine – a narration.....	218
---	-----

Congresses

Kinkorova J., Ochozka J. MEDTEL – international conference on medical informatics and telematics (Prague, November 27–28, 2014)	219
Králíková E. Effective control of tobacco need not to be expensive nor aimed at children (Istanbul, March 26–29, 2014)	220

News.....	192, 224
-----------	----------

Personal News.....	222
--------------------	-----

<http://www.cls.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2014

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:
Karel Novotný, BA (Hons)

Koordinátor odborných časopisů ČLS JEP:
MUDr. Michaela Lizlerová

Produkční: Jana Schrammová

Grafická úprava, sazba: Petra Tejnická

Kreativní ředitel: René Decastelo

Art director: Petr Honzátko

Marketing:

ředitelka marketingu: Hana Holková
brand manager: Veronika Zofová

Distribuce a výroba:

ředitelka distribuce a výroby: Soňa Štarhová
koordinátorka výroby a distribuce divize
Medical Services: Monika Šnaidrová

Tisk: EUROPRINT a. s.

V ČR rozšiřuje: A.L.L. production s.r.o.,
P.O. BOX 732, 111 21, Praha 1

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: František Bauer, bauer@mf.cz
tel.: +420 225 276 393

Rukopisy zasílejte na adresu:

Prof. MUDr. Jiří Horák, CSC,
I. interní klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady
Srobarova 50, 100 34 Praha 10
e-mail: jjhorak@gmail.com

Rukopis byl předán do výroby 22. 6. 2014.
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 publisher 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 jakékoliv formě či jakýmkoliv způsobem, ať již mechanickým nebo elektronickým, včetně pořizování fotokopíí, nahrávek, informačních databází na mechanických nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění.

MikroRNA a ledviny

¹Jana Střiteská, ²Jana Nekvindová, ³Vladimír Černý, ⁴Vladimír Palička

¹Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové; Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc

³Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice, Hradec Králové; Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové; Dalhousie University, Department of Anesthesia, Pain Management and Perioperative Medicine, Halifax, Canada

⁴Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové; Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta, Hradec Králové

Čas. Lék. čes. 2014; 153: 187–192

SOUHRN

MikroRNA jsou krátké nekódující molekuly ribonukleové kyseliny, které působí jako regulátory genové exprese na post-transkripční úrovni. Regulací genové exprese zasahují do důležitých fyziologických i patofyziologických dějů v organismu, např. buněčné diferenciaci, proliferace, apoptózy, metabolismu, a patogeneze mnoha onemocnění včetně karcinogeneze. Mnohé mikroRNA jsou tkáňově či orgánově specifické. Současný výzkum se zabývá možnostmi využití mikroRNA jako biomarkerů, případně terapeutik. Důležitou roli mají mikroRNA nejen pro správné fyziologické funkce a vývoj ledvin, ale i v patogenezi onemocnění ledvin. Intenzivní výzkum v této ob-

lasti je zaměřen zejména na nádorová onemocnění ledvin a močového ústrojí, akutní poškození ledvin, chronická onemocnění ledvin (polycystická choroba ledvin), případně renální komplikace systémových onemocnění (diabetická a hypertenzní nefropatie, imunitní poškození ledvin včetně akutní rejeckce transplantované ledviny). V přehledu jsou uvedeny základní informace o ovlivnění vývoje a funkce ledvin a patogeneze nejčastějších onemocnění ledvin prostřednictvím mikroRNA.

KLÍČOVÁ SLOVA

mikroRNA – akutní poškození ledvin – diabetická nefropatie – genová exprese – biomarkery

SUMMARY

Střiteská J, Nekvindová J, Černý V, Palička V. MicroRNAs and kidneys

MicroRNAs are short non-coding ribonucleic acid molecules that regulate gene expression at the post-transcriptional level thus affecting important physiological as well as pathophysiological processes in the organism, for example cell differentiation, proliferation, apoptosis, and metabolism. They are involved in pathogenesis of many diseases including cancer. Many microRNAs are tissue or organ-specific which implies their possible potential as biomarkers or maybe even therapeutic agents as documented by microRNA research interest rising exponentially during last years. Among all, microRNAs are important also for physio-

logical function of the kidney and they are involved in various renal disorders. Today research is focused mainly on renal and urinary tract carcinogenesis, acute kidney injury, chronic renal diseases (polycystic kidney disease) or renal complications of systemic diseases such as diabetic or hypertension nephropathy and autoimmune kidney injury including acute allograft rejection after kidney transplantation. The review summarizes current information about microRNA effect on kidney development and function and also on the most common kidney diseases.

KEYWORDS

microRNA – acute kidney injury – diabetic nephropathy – gene expression profiles – biomarkers

ÚVOD

MikroRNA (miRNA) jsou endogenní molekuly ribonukleové kyseliny (RNA), dlouhé přibližně 18–25 nukleotidů, které v organismech regulují expresi genů na post-transkripční úrovni. První miRNA, označená lin-4, byla objevena Ambrosem a kolegy v roce 1993 u háďátka obecného (*Caenorhabditis elegans*) z kmene hlístic (*Nematoda*). V pořadí druhá miRNA (let-7) byla u stejného živočicha objevena v roce 2000, na rozdíl od lin-4 však byla nalezena napříč živočišným spektrem od hmyzu po člověka (1). Tyto objevy spustily intenzivní výzkum miRNA, které jako regulátory

genové exprese zcela zásadním způsobem zasahují do procesů buněčné diferenciaci, proliferace, apoptózy, metabolismu a patofyziologie mnoha onemocnění (1).

Regulační síť miRNA je jednou z hlavních oblastí rozsáhlého regulačního systému kontroly genové exprese v organismech prostřednictvím mechanismů tzv. RNA interference (RNAi), jejíž podstatou je post-transkripční útlum genové exprese (tzv. „gene silencing“) (2). Mechanismus RNAi poprvé popsali v roce 1998 Andrew Z. Fire a Craig C. Mello a za tento objev jim byla v roce 2006 udělena Nobelova cena za fyziologii a medicínu (3).

RNAi je evolučně konzervovaný mechanismus, přirozeně se vyskytující u rostlin, živočichů i člověka. Primární funkcí RNAi byla zřejmě protivirová ochrana a suprese potenciálně nebezpečných segmentů genomu, jako jsou transpozony, později se mechanismy RNAi rozšířily na regulaci endogenních transkriptů (4). Existuje mnoho speciálních typů malých regulačních RNA, které v současnosti řadíme do tří hlavních skupin: 1. miRNA, 2. small interfering RNA (siRNA) a 3. poněkud odlišně působící a delší Piwi-interacting RNA (piRNA). Mezi miRNA a siRNA existuje několik zásadních rozdílů: Endogenní miRNA jsou kódovány přímo miRNA geny, jejichž transkripce vznikají vlásenkové prekurzory miRNA, zatímco siRNA jsou generovány štěpením exogenní (např. virové) nebo dlouhé endogenní dvouvláknové RNA (double stranded RNA, dsRNA) (5). Komplementarita siRNA a cílové messenger RNA (mRNA) je úplná a vede k degradaci mRNA, zatímco miRNA obvykle vykazují pouze částečnou komplementaritu s cílovou mRNA a častěji vedou k útlumu translace mRNA než její degradaci (5, 6).

BIOGENEZE A VÝZNAM MIKRORNA

MiRNA regulují expresi genů na post-transkripční úrovni. U člověka se předpokládá existence několika tisíc miRNA genů, z nichž se asi 70 % nachází v intronech a exonech a zbývajících 30 % v intergenových oblastech (7). Biogeneze miRNA začíná v buněčném jádře, kde vznikají primární miRNA transkripce miRNA genů (působením RNA polymerázy II). Tyto primární miRNA jsou následně štěpeny na kratší prekurzory vlásenkové pre-miRNA, a to působením komplexu endonukleázy zvané Drosha a kofaktoru DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region 8) (1, 7). Proces vzniku zralých miRNA pokračuje v cytosolu buňky, kam jsou pre-miRNA transportovány prostřednictvím transportního faktoru exportin-5. V cytosolu jsou pre-miRNA štěpeny RNA polymerázou III zvanou Dicer na konečnou zralou formu miRNA (dvouvláknovou RNA) (1, 8, 9).

Vedoucí vláknem zralé miRNA je po rozvolnění duplexu rozpoznáno a navázáno aktivní ribonukleázou (RNázou), tzv. RISC komplexu (= RNA induced silencing complex) za vzniku miRNA-RISC spojení. Po vazbě miRNA-RISC komplexu na cílovou mRNA dojde k post-transkripční inhibici exprese genů jedním ze dvou možných mechanismů – buď degradací cílové mRNA (při úplné shodě sekvencí), nebo – ve většině případů – inhibicí translace mRNA (při neúplné shodě) (1, 7).

Z výsledků dosavadního výzkumu vyplývá, že každá jednotlivá miRNA může potenciálně regulovat translaci velkého počtu různých mRNA, a naopak, každá mRNA může mít mnohočetná vazebná místa pro různé miRNA – je to dáno skutečností, že specifita miRNA je determinována hlavně komplementaritou bází na jejím 5'-konci. Předpokládá se, že více než 60 % lidských genů je regulováno prostřednictvím miRNA (1). Množství miRNA objevených během posledního desetiletí významně vzrůstá, existují pravidelně aktualizované databáze miRNA, např. <http://www.mirbase.org> (8), <http://www.mir2disease.org/> (7). V prozatím poslední aktualizaci databáze miRBase je u člověka popsáno 2578 zralých miRNA (10).

Z výsledků studií expresního profilování miRNA v organismech za různých okolností vyplývá, že některé miRNA jsou specifické pro určité tkáně a orgány. Dalšími zásadními vlastnostmi pro využití miRNA v medicíně je jejich strukturální jednoduchost a významná stabilita ve tkáních

a biologických tekutinách včetně séra, kde jsou chráněny proti endogenním RNázám jednak díky jejich malé velikosti, jednak díky jejich uložení v exozomech (příp. jiných mikročásticích) nebo ve vazbě na vysokodenzitní lipoproteiny (high-density lipoprotein, HDL) či v komplexech s proteiny. Díky těmto charakteristickým vlastnostem se molekuly miRNA jeví jako ideální kandidáti na biomarkery pro diagnostiku a monitorování progresu některých onemocnění. Potenciální hodnota miRNA jako biomarkerů některých typů nádorů byla již demonstrována, byla popsána i možnost predikce odpovědi některých nádorů na chemoterapii (1, 11, 12).

Zajímavou a slibnou oblastí výzkumu je možnost využití miRNA jako terapeutický cíl při některých chorobách. Inhibice miRNA lze v principu dosáhnout přerušením její biosyntézy, bohužel nespecifický charakter této metody vede k nežádoucímu celkovému snížení funkce miRNA v organismu. Selektivněji působí tzv. antagomiRs (antisense oligonucleotides, ASO) komplementární k miRNA. Pro miRNA redukované při určitých onemocněních se nabízí možnost obnovení jejich funkce užitím tzv. miRNA mimetik, výzkum zatím probíhá pouze na experimentální úrovni (7, 13).

FYZIOLOGIE, VÝVOJ LEDVIN A MIKRORNA

MiRNA hrají významnou úlohu ve vývoji ledvin, ale i v udržení jejich správné funkce. Expresní profilování prokázalo několik miRNA specificky se vyskytujících v ledvinách (tzv. „kidney-specific“): miR-146a, miR-886, miR-192, miR-194, miR-204, miR-215, miR-216. Jiné miRNA se v ledvinách exprimují preferenčně (tzv. „kidney-enriched“), např. miR-196a-b, miR-10a-b, miR-872 a miR-200a (7, 14, 15). Zastoupení jednotlivých miRNA v ledvině je odlišné v kůře a ve dřeni, což pravděpodobně odráží rozdílné fyziologické funkce těchto kompartmentů (9, 15).

Jak bylo uvedeno, přítomnost miRNA je nezbytná pro správnou funkci ledviny, což dokazují výsledky některých experimentálních studií na pokusných zvířatech – selektivní vyřazení RNA polymerázy zvané Dicer, specifické pro podocyty ledvin, vede k časnému rozvoji proteinurie a následnému rozvoji terminálního selhání ledvin a úmrtí zvířete během několika týdnů. Podocyty, buňky podílející se na filtrační funkci kapilár glomerulů, potřebují pro svoji správnou strukturu a funkci miRNA patřící do rodiny miR-30. Proteinurie je spojena se signifikantním snížením exprese členů rodiny miR-30 (miR-30a, miR-30d a miR-30c) a akumulací jejich prekurzorů (7, 15, 16).

MiRNA jsou esenciální i pro správný vývoj ledvin. Ačkoliv je inhibice translace mRNA působením miRNA účinná pouze z 30-50%, je pravděpodobně dostačující pro snížení exprese např. transkripčních faktorů pod práh účinnosti. MiRNA zasahují až do pozdějších fází vývoje ledvin (zejména terminální diferenciace), podílejí se na časové i prostorové regulaci genové exprese ve vyvíjejících se ledvinách.

Stěžejním prvkem v časové regulaci genové exprese je interakce mezi *lhx1* a členy rodiny miR-30. *lhx1* je klíčovým faktorem několika úrovní vývoje ledviny, za normálních okolností je down-regulován až do terminální diferenciace; při absenci rodiny miR-30 je však udržována vysoká hladina *lhx1* s negativním dopadem na vývoj ledvin (17). V prostorové regulaci genové exprese hraje významnou roli mezenchymální-epiteliální tranzice (MET), která je ovlivněna členy rodiny miR-200. Vysoké hladiny miR-200 chrání epitheliální buňky ledvin před jejich spontánní dediferenciací (17).

V experimentech na zvířecích modelech, u nichž byla vyřazena funkce enzymu Diceru v jednotlivých typech renálních buněk, bylo prokázáno, že snížená funkce miRNA vede k útlumu proliferace, chybnému vývoji a snížení počtu nefronů a k opožděné diferenciaci ledvinných tubulů. MiRNA pravděpodobně ovlivňují uvedené pochody proapoptotickým působením (17, 18).

MikroRNA A CHOROBY LEDVIN

Diabetická nefropatie

Diabetická nefropatie (DN) je jednou z nejčastějších příčin chronického renálního selhání, nezřídka vyžadujícího dialyzační léčbu. Incipientní a manifestní diabetickou nefropatii dělí hranice ztráty 300 mg albuminu močí za 24 hodin. Kromě hyperglykémie, která je rozhodujícím faktorem, se na vzniku a progresi DN podílejí i genetické faktory (19). Histologicky je DN charakterizována zesílením bazální membrány glomerulů, hypertrofií a expanzí mezangia, zmnožením extracelulární matrix (ECM) a setřením struktury podocytů. Na zmnožení ECM, tedy i na vzniku diabetické nefropatie, se podílejí proteiny, regulační enzymy a růstové faktory (např. transforming growth factor beta (TGF- β) nebo angiotenzin II). Klíčová role TGF- β vyvolávajícího patologickou syntézu kolagenu a hypertrofií buněk byla prokázána v mnoha experimentech, tento růstový faktor je indukován chronickou hyperglykémií. TGF- β působí v buňkách mezangia několika různými mechanismy, jejichž výsledným efektem je zvýšené přežívání a hypertrofie mezangiálních buněk s následnou progresí DN (19, 20–22).

MiRNA hrají v patogenezi DN nepochybně důležitou, byť ne zcela probádanou, úlohu. Regulují patofyziologické pochody v buňkách mezangia, v podocytech i v buňkách epitelu proximálních tubulů. Vliv hyperglykémie a TGF- β na expresi miRNA v rozdílných typech buněk ledvin byl studován na buněčných kulturách i zvířecích modelech. Centrální úlohu při vzniku a progresi DN hraje miR-192. U experimentálních myší s diabetem byly nalezeny zvýšené hladiny miR-192 v glomerulech. MiR-192 reguluje geny ovlivňující produkci kolagenu, její inhibice vede ke snížení exprese genů pro kolagen v mezangiálních buňkách a kůře ledvin (23). Uvedená zjištění však byla v některých studiích zpochybněna – u člověka na rozdíl od experimentálních zvířat vykazovaly biopsie ledvin pacientů s DN signifikantní snížení miR-192; snížená exprese miR-192 přímo korelovala s mírou tubulointerstiální fibrózy a sníženou glomerulární filtrací. Lze tedy uvažovat o odlišném regulačním efektu miR-192 v mezangiálních buňkách a v buňkách proximálních tubulů prostřednictvím TGF- β . Přesný mechanismus vysvětlující tyto rozdíly není zatím zcela objasněn (22).

Experimentálně byla zjištěna upregulace některých dalších miRNA v procesu vzniku diabetické nefropatie, např. miR-377, miR-21, miR-216 a miR-217; zvyšují produkci proteinu fibronektinu, byť každá z uvedených miRNA jiným mechanismem (23). Členové rodiny miR-200 ovlivňují (jako regulátory epitelového fenotypu, viz vývoj ledvin) interakce miRNA s TGF- β a epiteliálně-mezenchymální tranzici (EMT). TGF- β snižuje expresi rodiny miR-200 v tubulárních epitelálních buňkách, negativní zpětnou vazbou pak miR-200a down-reguluje TGF- β 2, čímž dochází k progresi renální fibrózy (23).

Vzhledem k tomu, že se na složitém procesu vzniku diabetické nefropatie účastní mnoho různých faktorů, narůstá množství objevených miRNA, které do tohoto procesu na různých úrovních zasahují. Patří k nim např. i miR-93, která reguluje expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (vascular endothelial growth factor, VEGF). Hyperglykémie snižuje expresi miR-93 v podocytech, což zpětně vede k represí VEGF, indukci kolagenu a fibronektinu, a progresi renální fibrózy (23).

Neméně důležitým článkem v patogenezi DN jsou již zmíněné podocyty, pro jejichž vývoj a správnou funkci je miRNA esenciální (viz výše). Cílené vyřazení Diceru v podocytech způsobilo u pokusných zvířat proteinurii, rychlý rozvoj terminálního stadia onemocnění ledvin a úmrtí během několika týdnů (15).

Jiné nefropatie

K chronickým nefropatiím patří (mimo diabetické) i hypertenzní nefroskleróza a polycystická choroba ledvin.

Při profilování exprese miRNA u hypertenzní nefrosklerózy (hypertenzní nefropatie) byly nalezeny zvýšené hladiny několika miRNA (miR-200a, miR-200b, miR-141, miR-429, miR-205 a miR-192) (24). S uvedenou prací jsou ve shodě výsledky studie Wanga et al. (25), ve které byla prokázána upregulace rodiny miR-200, miR-205 a miR-192 u hypertenzní nefrosklerózy, a to v korelaci s tíží postižení ledvin. Ačkoliv přesná úloha miRNA v patogenezi hypertenzní nefropatie není známa, některé práce naznačují jejich význam v procesu rozvoje renální fibrózy u chronických chorob ledvin (např. miR-29b ovlivňující produkci kolagenu v extracelulární matrix) (22).

Z dosud provedených experimentů vyplývá, že nejdůležitější miRNA regulující arteriální krevní tlak je miR-155; suprimuje expresi receptoru pro angiotenzin II (angiotensin II type I receptor, AT1R). Gen mir-155 se nachází na chromozomu 21, čemuž odpovídá nález vysoké hladiny miR-155 a sníženého množství AT1R u jedinců s trizomií chromozomu 21 (15, 25).

Polycystická choroba ledvin autozomálně dominantního typu (PCHLAD), charakterizovaná formací renálních cyst v dospělosti, je častou příčinou chronického selhání ledvin, vyžadujícího dialyzační léčbu či transplantaci ledviny. Polycystická choroba ledvin autozomálně recesivního typu (PCHLAR) se vyskytuje u novorozenců. Klinický obraz choroby je charakterizován formací obrovských cyst postihujících mnoho orgánů, především ledviny, ale i plíce, játra a další, příčinou úmrtí bývá často respirační selhání. Předpokládaným patogenetickým mechanismem je deregulace interakcí mezi buňkou a extracelulární matrix s následným excesivním buněčným růstem a formací cyst (7). V animálním experimentu byla zjištěna signifikantně snížená exprese miR-15a, zasahující do regulace buněčného cyklu; *in vitro* studie prokázaly významnou redukci růstu cyst následkem zvýšené hladiny miR-15a (7, 15).

Akutní poškození ledvin

Akutní poškození ledvin (acute kidney injury, AKI) významně zvyšuje morbiditu a mortalitu kriticky nemocných pacientů. Je nezávislým rizikovým faktorem pro rozvoj chronické nefropatie (chronic kidney disease, CKD) (22, 26). V běžné klinické praxi je AKI obvykle diagnostikováno na základě zhodnocení sérové hladiny kreatininu, diurézy a klinických okolností včetně případného vyvolávajícího

inzultu, což neumožňuje vždy dostatečně rychlou a spolehlivou diagnostiku AKI. Bylo zkoumáno několik potenciálních biomarkerů renálního poškození (27), žádný z nich se však neuplatnil v rutinní klinické praxi.

MiRNA se díky svým unikátním vlastnostem jeví jako ideální biomarkery – získání konkrétních miRNA měnících expresi vlivem akutního poškození ledvin je předmětem několika recentně provedených studií, animálních i humánních.

Na modelu ischemicko-reperfučního poškození ledvin myši prokázali Wang et al. (28) zvýšení exprese miR-10a a miR-30d v moči, korelující s tíží poškození ledvin; předpokládaným patogenetickým mechanismem je uvolnění zralých miRNA z poškozené tkáně ledviny do moči. Význam těchto miRNA u ledvinného poškození podporuje i nález jejich zvýšených hladin v moči pacientů s fokální segmentální glomerulosklerózou (28).

V modelově podobném experimentu zjistili Saikumar et al. (29) signifikantní zvýšení exprese miR-21, miR-155 a miR-18a ve tkáni ledvin následkem jejich ischemicko-reperfučního poškození. Stejně tak toxické poškození ledvin vyvolané gentamycinem způsobilo zvýšení exprese miR-21 a miR-155 ve tkáni ledviny, a to v těsné korelaci s tíží histopatologického poškození (29). Zásadní význam miRNA v patogenezí AKI vyplývá ze zjištění, že Dicer-knockoutovaní potkani (specificky v buňkách proximálních tubulů ledvin) jsou rezistentní ke vzniku AKI následkem ischemicko-reperfučního poškození (22).

Bhatt et al. (30) se zabývali změnou exprese miR-34a, která je cílovým genem proteinu p53 – jeho prostřednictvím dochází k indukci miR-34a jako odpovědi na nefrotoxicitu vyvolanou cisplatinou, uvažuje se o cytoprotektivním účinku miR-34a na ledvinné buňky. Naopak hypoxie vykazuje opačný (suprimující) efekt na expresi miR-34, jejím potlačením podporuje epiteliálně-mezenchymální tranzici v epiteliálních buňkách tubulů ledvin (22).

Většina prací zabývajících se změnou exprese miRNA u AKI vychází z experimentů na zvířecích modelech. Lorenzen et al. (26) studovali expresní profily miRNA v séru kriticky nemocných pacientů s AKI vyžadujícím eliminační terapii. Prokázali významné snížení exprese miR-16 a miR-320 a významné zvýšení exprese miR-210, která byla navíc identifikována jako silný nezávislý prognostický faktor pro 28denní přežití. Při znalosti úlohy miR-210 v molekulární odpovědi buněk na hypoxii lze předpokládat, že je uvolňována z endoteliálních buněk cév ledvin v rámci hypoxického poškození při AKI (26).

Akutní a chronická rejeckce transplantované ledviny

Akutní rejeckce transplantované ledviny je nejvýznamnějším rizikovým faktorem pro vznik chronické transplantáční nefropatie a následnou ztrátu funkce štěpu (31). V současné době je diagnóza akutní rejeckce možná pouze na základě provedení invazivního vyšetření (biopsie transplantované ledviny) – získání citlivých biomarkerů je proto jednou z priorit výzkumu v této oblasti nefrologie.

Sui et al. (31) v jedné z prvních studií prokázali rozdílnou expresi dvaceti miRNA v transplantované ledvině a identifikovali některé cílové mRNA naznačující možné patofyziologické mechanismy rejeckce štěpu. Výsledky studie byly limitovány nízkým počtem vyšetřovaných vzorků a porovnáváním bioptických vzorků ledvin poškozených akutní rejeckí s tkání netransplantovaných ledvin.

Anglicheau et al. (32) ve své práci prokázali vzájemnou korelaci zvýšené exprese miR-142-5p, miR-155 a miR-223 ve tkáni ledviny postižené akutní rejeckí a v mononu-

kleárních leukocytech periferní krve, tyto změny naznačují vzájemnou interakci epiteliálních buněk tubulů a aktiva-ce mononukleárních leukocytů u akutní rejeckce štěpu. MiR-142-5p a miR-155 ve štěpu ledviny vykazovaly dokonce 100% senzitivitu a 95% specifickou v predikci funkce štěpu a vzniku akutní rejeckce štěpu.

Lorenzen et al. (33) studovali změny exprese miRNA v moči pacientů s akutní rejeckí transplantované ledviny. Prokázali významnou deregulaci miR-10a, miR-10b a miR-210, z nichž právě miR-210 byla identifikována jako silný prediktor dlouhodobé funkce transplantované ledviny (33). Hypoxie je významným faktorem indukujícím miR-210 prostřednictvím hypoxií indukovaného transkripčního faktoru (hypoxia-inducible factor, HIF), např. v endoteliálních buňkách. Předpokládá se tedy, že miR-210 může být ovlivněna hypoxií během akutní rejeckce transplantované ledviny, vedoucí k zvýšenému množství miR-210 ve tkáni štěpu a následné redukci množství v moči (34).

Chronickou transplantáční nefropatií se ve své práci zabývali Scian et al. (35). Zjistili rozdílnou expresi pěti miRNA ve tkáni ledvin, u tří z nich byla současně prokázána odlišná exprese v moči (miR-142-3p, miR-204, miR-211).

Charakteristické změny exprese miRNA v moči a séru pacientů s akutní a chronickou rejeckí transplantované ledviny mohou v budoucnu představovat citlivé neinvazivní biomarkery a umožnit časné zahájení anti-rejeckní terapie, byť je v současnosti spektrum deregulovaných miRNA v jednotlivých studiích rozdílné.

Nádorová onemocnění ledvin

Aberantní exprese miRNA je přítomna u většiny lidských maligních nádorů. V onkogenezi mohou miRNA působit ambivalentně – jednak jako onkogeny (tzv. oncomirs), jednak jako tumor-supresorové geny. MiRNA geny se často nacházejí na fragilních místech chromozomů nebo v blízkosti jiných onkogenů (36). Kromě stanovení expresních profilů miRNA s cílem najít biomarkery byla u některých typů nádorů (např. plicních, leukémie) popsána i možnost predikovat prognózu pacientů, případně odpověď nádoru na léčbu (37).

Nádorová onemocnění ledvin u dospělých představují asi 3 % všech malignit, v 80–95 % případů se jedná o renální karcinom (37). Byla provedena řada studií s nálezem rozdílné exprese miRNA v nádorové tkáni, nicméně zastoupení konkrétních miRNA se ve výsledcích jednotlivých studií liší.

Gottard et al. (37) prokázali zvýšenou expresi čtyř miRNA ve tkáni ledviny s renálním karcinomem v porovnání se zdravými ledvinami (miR-28, miR-185, miR-27, let-7f-2). Rozdílná exprese členů rodiny let-7 je často asociována s nádory díky jejich cílovému onkogenu (Ras). Zvýšená exprese Ras způsobená klesající expresí let-7 byla pozorována např. u plicního karcinomu, naopak let-7-f-2 byla zvýšeně exprimována u nádorů ledvin – výsledek studie ukazuje na možnost opačného efektu jednotlivých miRNA na různé tkáně či orgány při stejném typu onemocnění (37, 38).

Catto et al. (38) uvádí rozdílnou expresi jiného spektra miRNA (miRs-141/200, miR-23b, miR-29b, miR-438-3p) u nádorových onemocnění ledvin, zajímavým nálezem byla i neobvykle zvýšená exprese miR-34a u karcinomu ledviny (ta je vlivem regulace proteinu p53 u většiny nádorových onemocnění redukována) (38).

Ve studii Radové et al. (39) zabývajících se cirkulujícími miRNA v séru pacientů s renálním karcinomem byla zjištěna zvýšená hladina miR-378 a snížená hladina miR-451.

MiRNA mohou mít význam i pro predikci prognózy některých nádorových onemocnění. Zaman et al. ve své práci prokázali korelaci exprese miR-21 ve tkáni renálního karcinomu s přežitím nemocných a závažností stadia onemocnění; u skupiny pacientů se sníženou expresí miR-21 bylo zjištěno významně vyšší pětileté přežití (40).

Slabý et al. (41) ve své práci zjišťovali možnost predikce relapsu onemocnění po nefrektomii. Prokázali rozdílnou expresi celkem 64 miRNA v primární nádorové tkáni u pacientů s a bez následného relapsu onemocnění. U pacientů s relapsem onemocnění byla potvrzena snížená exprese miR-143, miR-26a, miR-145, miR-10b, miR-195, a miR-126 ve tkáni primárního tumoru (nejnižší hladiny vykazovaly primárně metastazující tumory). Naopak zvýšená exprese miR-127-3p, miR-145, miR-126 signifikantně korelovala s absencí relapsu onemocnění po nefrektomii (41).

Nádorová onemocnění ledvin u dětských pacientů jsou zastoupena především nefroblastomem (Wilmsův tumor), jenž představuje přibližně 6–8 % všech malignit dětského věku. Charakteristickým znakem Wilmsova tumoru je zvýšená exprese genu E2F3, jejímž následkem je zvýšená exprese členů rodiny oncomiR-1, tj. onkogenního svazku miR-17-92 (miR-17-5p, miR-18a, miR-19b, miR-92, miR-20a), lokalizovaného na chromozomu 13 (7, 36). Recentní studie prokazují sníženou expresi miR-562 a miR-185 a zvýšenou expresi miR-483-3p u Wilmsova tumoru (22, 38).

Na rozdíl od stanovení exprese profilů miRNA ve tkáni ledviny se na popředí zájmu dostává hledání specifických miRNA v krvi a moči pacientů s cílem získat biomarkery pro diagnostiku a posouzení rozsahu nádorů.

ZÁVĚR

MiRNA jsou fascinující molekuly RNA, jejichž výzkum od okamžiku jejich objevu před dvěma desetiletími dosáhl obrovského rozmachu. Zcela zásadním způsobem regulují expresi mnoha genů na posttranskripční úrovni, čímž ovlivňují fyziologické i patofyziologické procesy v organismech. Jsou slibnými kandidáty na biomarkery a do budoucna i slibnými nástroji terapeutických intervencí.

Význam miRNA pro nefrologii spočívá v možnosti lepšího porozumění vývoji a fyziologickým funkcím ledvin, stejně jako patofyziologickým změnám u primárních i sekundárních onemocnění ledvin. Změny expresních profilů miRNA u jednotlivých typů onemocnění ledvin byly pozorovány v mnoha experimentech, jejich výsledky se prozatím jednoznačně neshodují na konkrétních miRNA u konkrétních onemocnění. Naopak některé konkrétní miRNA hrají roli u více onemocnění (např. AKI a akutní rejekce transplantované ledviny nebo nefropatie diabetická a hypertenzní), což podporuje úvahu o možnosti podobných patofyziologických mechanismů. MiRNA tak představují zajímavou oblast pro další medicínský výzkum.

Zkratky

AKI	acute kidney injury
ASO	antisense oligonucleotides
AT1R	angiotensin II type I receptor
CKD	chronic kidney disease
DGCR8	DiGeorge syndrome critical region 8
DN	diabetická nefropatie
dsRNA	double-stranded RNA
ECM	extracelulární matrix
EMT	epiteliálně-mezenchymální tranzice

HDL	high-density lipoprotein
HIF	hypoxia-inducible factor
MET	mezenchymální-epiteliální tranzice
miRNA	mikroRNA
mRNA	messenger RNA
PCHLAD	polycystická choroba ledvin autozomálně dominantního typu
PCHLAR	polycystická choroba ledvin autozomálně recesivního typu
piRNA	Piwi-interacting RNA
RISC	RNA induced silencing complex
RNA	ribonucleic acid, ribonukleová kyselina
RNAi	RNA interference
RNÁza	ribonukleáza
siRNA	small interfering RNA
TGF-β	transforming growth factor beta
VEGF	vascular endothelial growth factor

LITERATURA

- Li JY, Yong TY, Michael MZ, Gleadle JM. Review: the role of microRNAs in kidney disease. *Nephrology* (Carlton) 2010; 15(6): 599–608.
- Mahmood-ur-Rahman, Ali I, Husnain T, Riazuddin S. RNA interference: the story of gene silencing in plants and humans. *Biotechnol Adv* 2008; 26(3): 202–209.
- Slabý O. MikroRNA vstupují do klinického testování. *Klin Onkol* 2012; 25(2): 139–142.
- Duxbury MS, Whang EE. RNA interference: a practical approach. *J Surg Res* 2004; 117(2): 339–344.
- Shabalina SA, Koonin EV. Origins and evolution of eukaryotic RNA interference. *Trends Ecol Evol* 2008; 23(10): 578–587.
- Shan G. RNA interference as a gene knockdown technique. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42(8): 1243–1251.
- Karolina DS, Wintour EM, Bertram J, Jeyaseelan K. Riboregulators in kidney development and function. *Biochimie* 2010; 92(3): 217–225.
- Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: Discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutat Res* 2011; 717(1-2): 1–8.
- Kaucsár T, Rácz Z, Hamar P. Post-transcriptional gene-expression regulation by micro RNA (miRNA) network in renal disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62(14): 1390–1401.
- miRBase: the microRNA database <http://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl?org=hsa>
- Reid G, Kirschner MB, van Zandwijk N. Circulating microRNAs: association with disease and potential use as biomarkers. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 80: 193–208.
- Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K, Zhang CY. Secreted microRNAs: a new form of intercellular communication. *Trends Cell Biol* 2012; 22(3): 125–132.
- Esau CC, Monia BP. Therapeutic potential for microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 101–114.
- Tang Y, Liu D, Zhang L, Ingvarsson S, Chen H. Quantitative analysis of miRNA expression in seven human foetal and adult organs. *PLoS ONE* 6(12): e28730. doi:10.1371/journal.pone.0028730.
- Akkina S, Becker BN. MicroRNAs in kidney function and disease. *Transl Res* 2011; 157(4): 236–240.
- Ho J, Ng KH, Rosen S, Dostal A, Gregory RI, Kreidberg JA. Podocyte-specific loss of functional MicroRNAs leads to rapid glomerular and tubular injury. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 2069–2075.
- Wessely O, Agrawal R, Tran U. MicroRNAs in kidney development: lessons from the frog. *RNA Biol* 2010; 7(3): 296–299.
- Ho J, Kreidberg JA. MicroRNAs in renal development. *Pediatr Nephrol* 2013; 28(2): 219–225.

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

19. **Kvapil M.** Manifestní diabetická nefropatie. *Vnitř. Lék.* 2005; 51(S1): S45–S49.
20. **Kato M, Arce L, and Natarajan R.** MicroRNAs and their role in progressive kidney diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1255–1266.
21. **Kato M, Park JT, Natarajan R.** MicroRNAs and the glomerulus. *Exp Cell Res* 2012; 18: 993–1000.
22. **Bhatt K, Mi QS, Dong Z.** microRNAs in kidneys: biogenesis, regulation, and pathophysiological roles. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 300(3): F602–F610.
23. **Alvarez ML, DiStefano JK.** The role of non-coding RNAs in diabetic nephropathy: potential applications as biomarkers for disease development and progression. *Diabetes Res Clin Pract* 2013; 99(1): 1–11.
24. **Heggermont WA, Heymans S.** MicroRNAs are involved in end-organ damage during hypertension. *Hypertension* 2012; 60(5): 1088–1093.
25. **Chandrasekaran K, Karolina DS, Sepramaniam S, et al.** Role of microRNAs in kidney homeostasis and disease. *Kidney Int* 2012; 81: 617–627.
26. **Lorenzen JM, Kielstein JT, Hafer C, et al.** Circulating miR-210 predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6(7): 1540–1546.
27. **Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E, Van Biesen W.** Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28: 254–273.
28. **Wang N, Zhou Y, Jiang L, et al.** Urinary MicroRNA-10a and MicroRNA-30d serve as novel, sensitive and specific biomarkers for kidney injury. *PLoS ONE* 2012; 7(12): e51140. doi: 10.1371/journal.pone.0051140.
29. **Saikumar J, Hoffmann D, Kim TM, et al.** Expression, circulation, and excretion profile of microRNA-21, -155, and -18a following acute kidney injury. *Toxicol Sci* 2012; 129(2): 256–267.
30. **Bhatt K, Zhou L, Mi QS, Huang S, She JX, Dong Z.** MicroRNA-34a is induced via p53 during cisplatin nephrotoxicity and contributes to cell survival. *Mol Med* 2010; 16(9–10): 409–416.
31. **Sui W, Dai Y, Huang Y, Lan H, Yan Q, Huang H.** Microarray analysis of MicroRNA expression in acute rejection after renal transplantation. *Transpl Immunol* 2008; 19(1): 81–85.
32. **Anglicheau D, Sharma VK, Ding R, et al.** MicroRNA expression profiles predictive of human renal allograft status. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(13): 5330–5335.
33. **Lorenzen JM, Volkman I, Fiedler J, et al.** Urinary miR-210 as a mediator of acute T-cell mediated rejection in renal allograft recipients. *Am J Transplant* 2011; 11(10): 2221–2227.
34. **Lorenzen JM, Thum T.** Circulating and urinary microRNAs in kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7(9): 1528–1533.
35. **Scian MJ, Maluf DG, David KG, et al.** MicroRNA profiles in allograft tissues and paired urines associate with chronic allograft dysfunction with IF/TA. *Am J Transplant* 2011; 11(10): 2110–2122.
36. **Saal S, Harvey SJ.** MicroRNAs and the kidney: coming of age. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18(4): 317–323.
37. **Gottardo F, Liu CG, Ferracin M, et al.** Micro-RNA profiling in kidney and bladder cancers. *Urol Oncol* 2007; 25(5): 387–392.
38. **Catto JW, Alcaraz A, Bjartell AS, et al.** MicroRNA in prostate, bladder, and kidney cancer: a systematic review. *Eur Urol* 2011; 59(5): 671–681.
39. **Redova M, Poprach A, Nekvindova J, et al.** Circulating miR-378 and miR-451 in serum are potential biomarkers for renal cell carcinoma. *J Transl Med* 2012; 10: 55. doi: 10.1186/1479-5876-10-55.
40. **Zaman MS, Shahryari V, Deng G, et al.** Up-regulation of microRNA-21 correlates with lower kidney cancer survival. *PLoS One* 2012; 7(2): e31060; doi: 10.1371/journal.pone.0031060.
41. **Slaby O, Redova M, Poprach A, et al.** Identification of MicroRNAs associated with early relapse after nephrectomy in renal cell carcinoma patients. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51(7): 707–716.

Podpořeno projektem Ministerstva zdravotnictví ČR (konceptního rozvoje výzkumné organizace) 00179906, projektem PRVOUK P37/11 a grantem Operačního programu Vzdělávání pro konkurenceschopnost (OPVK) CZ.1.07/2.3.00/20.0019.

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Jana Stříteská

Klinika anesteziologie, resuscitace
a intenzivní medicíny FN
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
e-mail. jana.striteska@fnhk.cz

PLÁNOVANÉ AKCE SLOŽEK ČLS JEP

ZÁŘÍ 2014

2. až 3. září

Podzimní vědecko-pracovní dny

Místo: Praha

Pořadatel: Společnost lékařů sociálního zabezpečení

10. září

Odborný oční seminář u příležitosti

90. výročí založení očního oddělení

Místo: Opava

Pořadatel: Spolek lékařů v Opavě ČLS

11. září

Kmenové buňky - naděje pro život

Místo: Praha

Pořadatel: Česká společnost alergologie a klinické imunologie a Česká imunologická společnost

16. září

41. konference s mezinárodní účastí Kojení ♀ Laktace

Místo: Praha

Pořadatel: Česká neonatologická společnost ČLS JEP, Pracovní skupina pro dětskou gastroenterologii a výživu České pediatrické společnosti

16. až 18. září

26. Pečenkovy epidemiologické dny

Místo: Luhačovice

Pořadatel: Společnost pro epidemiologii a mikrobiologii ČLS JEP

19. až 20. září

12. konference o menopauze

Místo: Praha

Pořadatel: Česká menopauzální a andropauzální společnost ČLS JEP, Sekce pro otázky menopauzy ČGPS ČLS JEP

30. září

Hemaferéza - vysoce účinná separační technika v hematologických a nehematologických indikacích

Místo: Praha

Pořadatel: Společnost pro transfuzní lékařství ČLS JEP, Česká asociace sester

ŘÍJEN 2014

9. až 10. října

VI. česko-slovenská konference paliativní medicíny

Místo: Brno

Pořadatel: Česká společnost paliativní medicíny

22. října

Večer Oční kliniky

29. října

Večer Oddělení léčebné rehabilitace

Místo: Plzeň

Pořadatel: Spolek lékařů Plzeň ČLS JEP

Genetické pozadí běžných forem obezity – od studií identických dvojčat po studium kandidátních genů obezity*

Běla Bendlová, Petra Lukášová, Markéta Vaňková, Daniela Vejražková, Olga Bradnová, Josef Včelák, Soňa Stanická, Hana Zamrazilová, Irena Aldhoon-Hainerová, Lenka Dušátková, Marie Kunešová, Vojtěch Hainer

Endokrinologický ústav, Praha

Čas. Lék. čes. 2014; 153: 193–199

SOUHRN

Obezita je výsledkem interakcí mezi geny a vnějšími faktory. Míra heritability běžné obezity je 40–70 %. Nejen náchylnost k obezitě, ale např. i úspěšnost hmotnostních redukčních režimů je do značné míry dána genetickou výbavou každého člověka. Článek podává přehled současných znalostí o genetickém pozadí běžných forem obezity. Velkým přínosem pro poznání genetické determinace obezity jsou celogenomové asociační studie (GWAS), které identifikovaly asociaci 32 variant genů s body mass indexem (BMI) a 14 variant s distribucí tělesného tuku. GWAS tak díky objevu nových rizikových genů obezity přispívají i k postupnému objasňování složitých regulací energetické rovnováhy. Přesto však nalezené varianty zdaleka nevyvětlují heritabilitu obezity, kdy se zřejmě uplatňují i další mechanismy – vzájemné interakce genů,

interakce genů s prostředím, vzácné varianty či polymorfismy typu copy number variants nebo epigenetické modifikace a mikroRNA – ovlivňující transkripci genů. Přehledně zde prezentujeme také naše práce týkající se studia genetického pozadí obezity u dětí a dospělých včetně několika studií, kdy jsme hodnotili vliv vybraných rizikových variant na úspěšnost hmotnostního redukčního režimu.

KLÍČOVÁ SLOVA

obezita – studie dvojčat – celogenomové asociační studie – kandidátní geny – jednonukleotidové polymorfismy (SNPs) – BMI – antropometrické parametry – hmotnostní redukční režim – korelace genotyp-fenotyp

SUMMARY

Bendlová B, Lukášová P, Vaňková M, Vejražková D, Bradnová O, Včelák J, Stanická S, Zamrazilová H, Aldhoon-Hainerová I, Dušátková L, Kunešová M, Hainer V. Genetic background in common forms of obesity – from studies on identical twins to candidate genes of obesity

Common obesity is a result of interaction between genes and environmental/lifestyle factors, with heritability estimates 40–70%. Not only the susceptibility to obesity but also the success of weight management depends on the genetic background of each individual. This paper summarizes the up-to-date knowledge on genetic causes of common obesities. Introduction of genome-wide association studies (GWAS) led to an identification of a total of 32 variants associated with obesity/BMI and 14 with body fat distribution. Further, a great progress in revealing

the mechanisms regulating the energy balance was also noted. However, the proportion of explained variance for BMI is still low, suggesting other mechanisms such as gene-gene and gene-environment interactions, rare gene variants, copy number variants polymorphisms, or epigenetic modifications and microRNAs regulating gene transcription. In summary, we present results of our studies on obesity risk variants in Czech adults, children and adolescents including those evaluating the influence of selected gene variants on the outcomes of weight management.

KEYWORDS

obesity – genome-wide association studies – candidate gene – single-nucleotide polymorphisms (SNPs) – BMI – anthropometric parameters – weight management – genotype-phenotype correlations

* Článek je věnovaný k 70. narozeninám doc. MUDr. Vojtěcha Hainera, CSc.

ÚVOD

Obezita a zdravotní komplikace, které jsou spojeny s nadměrným ukládáním tuku, představují celosvětově závažný zdravotní a socioekonomický problém. V současné době žije na Zemi téměř 700 milionů obézních dospělých. Pokud současný trend bude pokračovat, v roce 2030 budou na světě 1,12 miliardy lidí s obezitou (20 % světové dospělé populace) a 2,16 miliardy lidí s nadváhou (38 %) (1, 2). Alarmující je i to, že rychle přibývá dětí a mladistvých s nadváhou a obezitou, u nichž většinou obezita přetrvává do dospělosti (3). Přitom už i dětská obezita je spojena s mnoha kardiovaskulárními rizikovými faktory, jako je hypertenze, dyslipidémie, metabolický syndrom a diabetes mellitus 2. typu (4).

Ve většině studií je obezita definována na základě hodnoty BMI > 30 kg/m², nicméně BMI nepodává informaci o distribuci tuku v těle (5). Se zdravotními riziky a celkovou mortalitou asociuje spíše abdominální (centrální) obezita určovaná v klinické praxi a v epidemiologických studiích nejčastěji podle obvodu pasu (6, 7).

Obezita je komplexní metabolické onemocnění, které vzniká v důsledku pozitivní energetické bilance, kdy energetický příjem převládá nad energetickým výdejem. Příčinou pandemie obezity je markantní změna způsobu života spojená zejména se změnou jídelních zvyklostí (konzumace vysoce energeticky bohatých jídel) a s poklesem pohybové aktivity (1, 8). Náchyllost k obezitě je ovlivněna genetickým pozadím každého jedince. Odhaduje se, že heritabilita obezity se pohybuje mezi 40–70 % (9, 10). Obezita je tedy výsledkem interakcí mezi geny a vnějšími faktory, do značné míry danými životním stylem (11). Předpokládá se, že identifikace genetických determinant obezity pomůže najít nejen nové patogenetické cesty a cíle pro farmakoterapii, ale umožní i lepší predikci onemocnění a preventivní strategie. I když přesné příčiny obezity nejsou zcela známy, důležitými etiologickými faktory jsou regulace příjmu potravy, metabolismu, či adipogeneze, které jsou silně geneticky determinovány. Běžná obezita je velmi heterogenní, multifaktoriální onemocnění s komplexním typem dědičnosti, kdy příspěvky jednotlivých rizikových genů k fenotypové variabilitě jsou velmi malé, a proto hledání genetických determinant není jednoduché.

K identifikaci rizikových genetických variant se nejprve využívalo metody studia kandidátních genů a vazebných studií. Výsledkem bylo nalezení řady genů asociovaných s obezitou, nicméně žádný z nich nebyl všeobecně validován. To bylo způsobeno různými metodologickými omezeními těchto studií, jako jsou malá statistická síla, nedostatek biologických a genomických znalostí aj. Jediným genem, jenž byl objeven díky kombinaci obou metod a který přestál pozdější přísnou validací, je gen *PCSK1* (12). Průlomem ve studiu genetického pozadí obezity bylo zavedení celogenomových asociačních studií (GWAS), které byly umožněny díky větší znalosti variability lidského genomu (International HapMap Consortium) a technologickému pokroku (zavedení čipových technologií – DNA arrays). Tato metoda nevyžaduje hypotézu, je založena pouze na asociaci polymorfismu se sledovaným fenotypovým znakem. Statisticky se hodnotí rozdíl ve frekvenci těchto polymorfismů mezi kohortou pacientů a kontrolních jedinců. V jedné analýze je možné genotypovat 500 000–1 600 000 jednonukleotidových polymorfismů (SNPs), které pokrývají téměř celý genom. Aby bylo dosaženo dostatečné statistické síly, soubory musejí být velmi

rozsáhlé, čítající mnoho tisíc lidí, a výsledky musejí být validovány jak nezávislými studiemi, zahrnujícími různé etnické skupiny, tak i meta-analýzami. Éra GWAS obezity začala v roce 2006 a proběhla ve čtyřech vlnách (2007–2010), kdy byly postupně objeveny geny asociující nejen s BMI, ale také s morbidní obezitou, obvodem pasu, poměrem pas/boky (WHR) a dalšími fenotypovými znaky obezity (13). Díky tomuto přístupu bylo nalezeno 43 genomických lokusů asociujících s obezitou a 18 lokusů predisponujících k viscerální akumulaci tuku, z nichž bylo celogenomově signifikantních 32 variant ovlivňujících BMI a 14 variant ovlivňujících obvod pasu/WHR. Nejvýznamnější je asociace BMI s variantami *FTO*, potvrzená v mnoha replikačních studiích. Relativně silné asociace s obezitou též potvrzené v nezávislých studiích včetně asijské populace jsou s geny *MC4R*, *TMEM18*, *NEGR1*, *SH2B1*, *MTCH2*, *GNPDA2*, *FAIM2* a *BDNF*. Biologická funkce nalezených variant je předmětem intenzivního výzkumu. Většina z těchto variant totiž leží v nekódujících oblastech genomu (mezigenové oblasti či intronické varianty genů). Některé z nalezených variant mohou být kauzální (např. dosud neznámé regulační funkce apod.), jiné mohou ležet ve vazebné nerovnováze se skutečnou kauzální variantou, která však pomocí GWAS nebyla detekována. Předpokládá se, že tyto varianty spíše ovlivňují genovou transkripci než funkci příčinného genu, pro což svědčí i řada expresních studií. Většina genů asociovaných s BMI je totiž silně exprimována v centrálním nervovém systému, zatímco mnoho z genů asociujících s distribucí tuku je exprimováno spíše v periferních tkáních (14). Některé z nalezených predisponujících genů mají známou funkci, která přímo ovlivňuje obezitu. Například *MC4R* je důležitý v regulaci příjmu potravy, *BDNF* hraje roli při poruchách příjmu potravy a v tzv. odměňovacím systému, *SH2B1* hraje roli v leptinové a inzulínové signalizaci, *NRXN3* se také účastní odměňovacího systému, *TMEM18* je zřejmě zodpovědný za neuronální vývoj, podobně i *NEGR1*. Některé z nalezených genů jsou specificky exprimovány v oblastech hypothalamu, kde jsou centra regulace příjmu potravy. Patří sem *FTO*, *MTCH2*, *FAIM2*, *GNPDA2*, *KCTD15*, *ETVS* a *NPC1*, nicméně jejich přesná biologická funkce zatím není jasná. Geny, které ovlivňují distribuci tuku, zejména *TFAP2A* a *LYPLAL1*, jsou vysoce exprimovány přímo v tukové tkáni a jsou odpovědné za akumulaci tuků a aktivitu lipáz (13). I když bylo díky celogenomovým studiím objeveno mnoho nových lokusů asociovaných s obezitou a distribucí tuku, zdaleka nevysvětlují vysokou heritabilitu obezity. Např. riziková alela *FTO* (rs9939609) způsobuje zvýšení BMI pouze o 0,36 kg/m², což představuje zvýšení rizika obezity oproti nenositelům této alely o 31 % (odds ratio 1,31; 95% CI (1,23–1,39)). Konsorcium GIANT odhaduje, že potvrzené varianty asociované s obezitou vysvětlují pouze 1,45 % inter-individuální variability BMI. „Chybějící“ heritabilitu mohou vysvětlit zejména přímé vzájemné interakce genů, interakce genů s prostředím, tedy s faktory životního stylu (15), např. přímé nutriční interakce s genovými variantami, či vliv fyzické aktivity na funkci a expresi některých genů aj. (16). Roli mohou hrát i jiné typy variability genomu, studovány jsou zejména vzácné varianty (frekvence alely < 5 %, resp. 1 %), či polymorfismy typu copy number variants (CNVs), tedy variabilita v opakování delších sekvencí genomu. Velkou roli budou hrát i epigenetické modifikace (methylace DNA, modifikace histonů) či mikroRNA ovlivňující transkripci genů.

NAŠE ZKUŠENOSTI - OD STUDIÍ IDENTICKÝCH DVOJČAT PO STUDIUM GENETICKÉ VARIABILITY OBEZITY

Studie monozygotních obézních dvojčat

Již v devadesátých letech 20. století doc. V. Hainer spolu s doc. M. Kunešovou a dalšími kolegy a ve spolupráci s nstorem světové obezitologie prof. Albertem Stunkardem z Pennsylvánské univerzity využili vzácného souboru obézních žen - 14 párů identických monozygotních dvojčat, aby u nich studovali míru heritability obezity a metabolických dějů s ní spojených. Sledovali nejen BMI, tělesné složení, distribuci tuku a další antropometrické parametry, ale i hormonální a metabolické ukazatele, jako např. hladiny kortizolu (17) či lipolýzu (18), složení mastných kyselin v séru a v tukové tkáni (19), klidový metabolický obrat a lačný respirační kvocient měřený pomocí nepřímé kalorimetrie, a to před a po dietetické intervenci (po týdenní stabilizaci pacientek na lůžku byla po dobu 1 měsíce podávána za hospitalizace a standardizace pohybového režimu velmi přísná nízkoengetická dieta (VLCD - very low calorie diet); poté následoval roční redukční režim. Byly hledány i prediktory úspěšnosti redukčního režimu (20). Výstupem bylo zjištění, že je daleko významnější (až 17krát) podobnost v redukci tukové hmoty uvnitř párů než podobnost mezi páry. Bylo potvrzeno silné genetické ovlivnění nejen BMI a tělesného složení (21, 22), ale i hladin kortizolu a androgenů (23), a to jak před, tak po redukčním režimu. Identická dvojčata měla podobné i složení sérových mastných kyselin, zejména ve fosfatidylcholinové frakci. Např. i po ročním redukčním režimu byla uvnitř párů prokázána signifikantní podobnost ve složení neesenciálních i esenciálních, zejména n-3 polynenasycených mastných kyselin v tukové tkáni, a to nezávisle na dietě, což svědčí o jejich silné genetické determinaci (24). Studie monozygotních dvojčat, která žijí odděleně, jsou nejvěrohodnějším modelem pro odhad heritability obezity a pro studium geneticky determinovaných procesů, proto jsou tyto pionýrské publikace stále velmi cenné.

Studium genetického pozadí běžné obezity u dospělých

Od devadesátých let také participujeme na výzkumu rizikových genů a jejich variant, které predisponují k běžným formám obezity. Nejprve jsme vycházeli z kandidátních genů obezity, které byly predikovány na základě jejich předpokládané biologické funkce, později z výsledků celogenomových asociačních studií, které jsme chtěli ověřit na české populaci a studovat vliv těchto rizikových variant na podrobně charakterizovaný fenotyp.

V našich studiích většinou využíváme dlouhodobě kompletované soubory dobrovolníků - pacientů a zdravých kontrol. Databáze dospělých jedinců již čítá téměř 2000 podrobně charakterizovaných jedinců. Všichni jsou vyšetřováni podle jednotného základního protokolu. Je u nich zjišťována řada anamnestických a demografických údajů, antropometrických, hormonálních a klinicko-biochemických parametrů, u nediabetických jedinců je prováděn orální glukózový toleranční test (OGTT). Antropometrické vyšetření provádí antropolog. Vyšetření je zaměřeno na základní antropometrické rozměry - tělesnou hmotnost a výšku, obvodové rozměry (pas, boky, břicho, obvod paže), kožní řasy (suprailiální, břicho, triceps, subskapulární, biceps) a tělesné složení. Pomocí bioimpedance bylo měřeno celkové procento tělesného tuku, procento tuku na trupu (Tanita) a stupeň zmnožení viscerálního tuku (ViScan).

Vzorky DNA jsou podrobovány molekulárně genetické analýze. Genotypizaci jsme nejdříve prováděli pomocí restrikční analýzy či pomocí metody polymorfismu konformace jednovláčkové DNA (SSCP) nebo sekvenačně, v poslední době prakticky výlučně pomocí TaqMan genotyping assays, a to buď na našem přístroji Real-time PCR (LC-480, Roche), nebo extenzivně na přístroji Biomark (Fluidigm) ve spolupráci s Biotechnologickým ústavem AV ČR.

Výsledky naší první pilotní studie kandidátních genů obezity byly publikovány již v roce 1997. Studovali jsme vliv mutace Trp64Arg β 3-adrenergního receptoru (**ADRB3**) na tělesné složení a distribuci tuku, ale i na inzulínovou rezistenci, energetický metabolismus a lipidové spektrum. Tehdy jsme využili unikátního souboru mladých hypertoniků a kontrol, kdy frekvence mutace byla v souboru pacientů dvakrát vyšší než v kontrolním souboru. Proto jsme se rozhodli pro následnou studii, kdy podsoubor mladých mužů s různými genotypy byl podroben velmi detailní klinické charakterizaci včetně provedení euglykemického hyperinulinemického clampu, stanovení množství a distribuce tuku (hodnoceno antropometricky a pomocí CT) a energetického metabolismu (hodnoceno nepřímou kalorimetrií). Nepotvrdili jsme však vliv této mutace ani na energetický metabolismus ani na inzulínovou rezistenci a lipidové spektrum (25, 26).

Dalším intenzivně studovaným genem byl **PPARG2** (peroxisome proliferator-activated receptor γ 2), především jeho známý polymorfismus Pro12Ala (rs1801282). **PPAR γ 2** je transkripčním faktorem, který hraje důležitou roli v diferenciaci adipocytů a v lipidovém metabolismu. Jeho přirozenými ligandy jsou volné mastné kyseliny (VMK), ale je také cílem známých inzulínových senzitivátorů thiazolidindionů. Bylo popsáno, že nositelé alely 12Ala mají vyšší inzulínovou senzitivitu, ale i tendenci přibývat na váze. V našem souboru byla frekvence alaninové alely vyšší nejen u obézních, ale i u diabetiků 2. typu a její nositelé měli signifikantně nižší hladiny lačného inzulínu (27). Zjistili jsme, že tento genotyp významně interaguje s hladinami a se složením VMK v krvi. Genotyp v interakci s hladinami VMK významně ovlivnil bazální glykémii, inzulínovou senzitivitu a sekreci inzulínu, hladiny triacylglycerolů, HDL-cholesterolu a leptinu, a to především u žen. Již dříve popisovaný protektivní vliv alely Ala na metabolismus byl pozorován jen při nízkých hladinách VMK. Nejnižší inzulínová senzitivita byla dokonce zjištěna u skupiny nositelů „protektivní alely 12Ala“, kteří však měli vysoké hladiny sérových nasycených mastných kyselin (28). Tato interakce by mohla vysvětlit různé, často protichůdné, účinky polymorfismu Pro12Ala, popisované ve vztahu k BMI, inzulínové senzitivitě nebo k diabetu 2. typu.

Vyšetřili jsme i mutaci Leu162Val (rs1800206) **PPARA** (peroxisome proliferator-activated receptor alpha), který také působí jako transkripční regulátor genů zapojených do lipidového metabolismu, a to jak u pacientů s nadváhou a obezitou, tak u normostenických osob. Asociace tohoto polymorfismu s parametry lipidového metabolismu, tělesného složení nebo psychobehaviorálními charakteristikami však potvrzeny nebyly.

Dalšími kandidátními geny obezity jsou mitochondriální odprahující proteiny (UCP - uncoupling protein), které odprahují aerobní fosforylaci od produkce adenosintrifosfátu (ATP), a energie oxidovaných substrátů se uvolňuje v podobě tepla. UCP tak kontrolují výdej energie. Byl studován promotorový polymorfismus A-3826G **UCPI** (rs1800592), který sni-

žuje transkripci genu, a vede tak ke snížené hladině tohoto proteinu, zejména v hnědé tukové tkáni. Ve skupině potomků diabetiků s genotypem AG jsme pozorovali signifikantně vyšší BMI a trend k vyššímu WHR, obvodu pasu, vyššímu procentu podkožního tuku ve srovnání s homozygoty AA. Podobná tendence byla pozorována i u kontrolní skupiny (29).

V oblasti obezitologie a diabetologie je nejzajímavějším výsledkem celogenomových asociačních studií silná asociace genu **FTO** (Fat Mass and Obesity Associated) s BMI a obezitou obecně. Funkce **FTO** v organismu není ještě zcela objasněna. Sekvenční analýzy ho zařazují do rodiny nehemových dioxigenáz, spekuluje se o jeho možném ovlivnění metylací DNA. Tento gen je vysoce exprimován v hypothalamu a podílí se zde zřejmě na regulaci energetického příjmu. Polymorfismy tohoto genu neasociují pouze s obezitou a diabetem 2. typu, ale podle nedávno publikovaných dat i např. s kardiovaskulárním onemocněním, renálním onemocněním, Alzheimerovou chorobou a řadou dalších patologií. Podle některých studií riziková varianta **FTO** genu ovlivňuje příjem potravy a výběr potravy, resp. preferenci tuků. Ne zcela jednoznačné jsou nálezy ohledně vlivu **FTO** na lipolýzu v tukových buňkách a navození rezistence k inzulinu v centrálním nervovém systému.

Ve velké studii prováděné u 1388 osob jsme již v roce 2008 zjistili, že gen **FTO**, resp. jeho intronické rizikové polymorfismy rs1121980; rs17817449; rs1421085; rs9939609 jsou velmi silně asociovány nejen s kvantitativními znaky charakterizujícími obezitu (zejména s BMI, hmotností a obvodem břicha), ale i s vyššími hladinami glukózy a leptinu v průběhu OGTT, což bylo nejvíce patrné u kontrolních zdravých žen (30).

Cílem následné studie bylo zjistit, jak se projevují varianty **FTO**, které jsou rizikové pro obezitu, u štíhlých žen. U těchto žen bylo nosičství pro obezitu rizikového haplotypu CAGA **FTO** spojeno se zvýšenými hladinami růstového hormonu. Hormonální antikoncepce významně prohloubila tyto účinky. Je možné, že právě vyšší hladiny růstového hormonu chrání tyto ženy před rozvojem obezity. Zúčastnili jsme se také velké metaanalýzy (zařazeno více než 2500 pacientek), které hodnotila dopad variant **FTO** na rozvoj obezity u pacientek se syndromem polycystických ovarií (PCOS). Bylo zjištěno, že efekt rizikových variant **FTO** je u nich více než 2krát vyšší, než je tomu u běžné ženské populace. Pacientky, homozygotky pro rizikovou alelu polymorfismu rs9939609 měly vyšší BMI přibližně o 3,3 kg/m² a tělesnou hmotnost o 9,6 kg oproti homozygotním nositelkám wild-type alely. Z toho lze usuzovat na interakci variant **FTO** s metabolickým kontextem či polygenním pozadím PCOS (31).

Asociaci rs17817449 **FTO** s BMI publikuje u východoevropské populace i Hubáček et al. (32). V následné studii na české populaci, kdy byly soubory rekrutovány ze studií post-MONICA a 3PMFs vyšla překvapivě asociace rizikové alely s BMI pouze u mužů a postmenopauzálních žen, nikoliv u žen premenopauzálních (33). Skupina dr. Hubáčka z IKEM studovala varianty **FTO** nejen v souvislosti s obezitou, ale i ve spojitosti s dalšími onemocněními. Autoři např. prokázali, že varianta rs17817449 ovlivňuje riziko akutního koronárního syndromu (34). Rovněž prokázali robustní asociaci téže varianty s chronickým onemocněním ledvin – riziková homozygoti GG dospěli k úplnému selhání ledvin o více než 3 roky dříve než homozygoti TT (35). Souvislost variant **FTO** s kolorektálním karcinomem, počtem krevních destiček, konzumací alkoholu či s kouřením prokázána nebyla, nicméně byla prokázána asociace polymorfismu rs17817449 se zkracováním

telomer (ke zkracování těchto koncových částí chromozomů dochází během stárnutí, ale v patofyziologických situacích může být spojeno i se závažnými onemocněními) (36). Jak vidno, účinky **FTO** jsou velmi komplexní a budou jistě ještě dlouho předmětem bádání.

Studovali jsme i dvě varianty receptoru pro melanokortin 4. typu (rs12970134 a rs17782313). Melanokortinový receptor 4. typu (**MC4R**) je exprimován v hypothalamu. Zprostředkovává účinek melanokortinu, kdy cestou leptinové signalizace snižuje příjem potravy a zvyšuje výdej energie. Mutace **MC4R** jsou nejčastější formou monogenní obezity. Varianty v genu pro **MC4R** jsou dle literárních dat asociovány s množstvím tuku, tělesnou hmotností a rovněž s rizikem obezity a inzulinové rezistence u různých populací. Nedávná meta-analýza 15 GWAS potvrdila asociaci polymorfismu rs17782313, ležícího 188 kb před **MC4R** s BMI a rizikem obezity u dospělých i dětí. Překvapivě jsme nenalezli asociaci polymorfismu rs12970134 ani rs17782313 s obezitou ani s žádným z antropometrických parametrů, nicméně nositelky minoritní alely A (rs12970134) měly vyšší inzulinovou senzitivitu, vyšší hladiny růstového hormonu a leptinu. Naše studie naznačuje, že se variabilita **MC4R** uplatňuje nejen v regulaci energetického metabolismu, ale i v komplexnějších hypothalamických regulacích (37).

Detailní antropometrická data jsme využili při studiu různého efektu variability obezitogenních genů vybraných zejména na základě výsledků GWAS (tab.1) na BMI a další antropometrické ukazatele: obvod pasu, WHR, tělesné složení. Studovaná skupina zahrnovala 597 premenopauzálních žen (věk 29,4 ± 7,05 let; BMI 24,4 ± 4,30 kg/m²). BMI byl signifikantně asociován s polymorfismy rs7561317 (**TMEM18**; p = 0,008), rs9939609 (**FTO**; p = 0,022), rs29941 (**KCTD15**; p = 0,049); WHR s rs29941 (**KCTD15**; p = 0,005) a rs7561317 (**TMEM18**; p = 0,045); obvod pasu s rs7561317 (**TMEM18**; p = 0,016) a rs7498665 (**SH2B1**; p = 0,035); obvod břicha s rs7561317 (**TMEM18**; p = 0,012); tuková hmota s rs7561317 (**TMEM18**; p = 0,01) a rs1800592 (**UCPI**; p = 0,032); svalová hmota s rs1800592 (**UCPI**; p = 0,020) a rs925946 (**BDNF**; p = 0,040). Hodnoty p jsou udány pro minoritní vs. majoritní homozygoty. Potvrdili jsme asociaci šesti z deseti studovaných variant (**TMEM18**, **FTO**, **KCTD15**, **SH2B1**, **UCPI**, **BDNF**) s několika různými parametry charakterizujícími obezitu. Nejkomplexnější vliv na antropometrické ukazatele byl zjištěn u varianty rs7561317 genu **TMEM18**. Ta asociovala se základními antropometrickými parametry (BMI, WHR, obvodem pasu a břicha), ale i s tělesným složením (% tukové hmoty) (38).

„Obezitogeny“ a ovlivnění úspěšnosti redukčního režimu

Genetické varianty neovlivňují pouze náchylnost k obezitě, ale i úspěšnost různých hmotnostních redukčních režimů. Přehled známých genetických variant, které mají vliv na úspěšnost hubnutí a udržení snížené hmotnosti podává Hainer et al. (39). Několik z nich (**NMB** P73T (rs1051168); **UCP2** -866G/A (rs659366); **PPARG2** Pro12Ala (rs1801282) a **PPARA** Leu162Val (rs1800206)) jsme studovali u našich obézních pacientů před a po 2,5letém redukčním režimu (doporučená nízkokalorická dieta, zvýšená fyzická aktivita, změna životního stylu). Kromě antropometrických parametrů bylo měřeno tělesné složení; byly hodnoceny standardizované dotazníky týkající se jídelních zvyklostí (Three-Factor Eating Questionnaire – zahrnuje skóre restrikce, disinhibice a hladu) a skóre deprese (Beck Depression Inventory). Před vstupem do studie a po 2,5 letech sledování byly stanove-

Tab. 1 Studované genové varianty rizikové pro obezitu a frekvence minoritních alel (MAF) v české populaci (38)

Gen	rs	Záměna	MAF v naší studii (%)	Frekvence MAF v Evropské populaci (HapMap-CEU European) (%)
<i>ADIPOQ</i>	rs2241766	G/T	10,1	13,3
<i>BDNF</i>	rs4923461	A/G	21,4	23,0
<i>BDNF</i>	rs925946	G/T	23,8	32,3
<i>FTO</i>	rs9939609	A/T	43,9	46,0
<i>KCTD15</i>	rs29941	C/T	30,5	32,3
<i>MC4R</i>	rs12970134	A/G	25,5	27,9
<i>MC4R</i>	rs17782313	C/T	28,0	28,0
<i>PCSK1</i>	rs6232	AAT/GAT Asn221Asp	5,6	4,4
<i>PCSK1</i>	rs6235	C/G	26,7	26,7
<i>SEC16B</i>	rs10913469	C/T	18,0	25,4
<i>SH2B1</i>	rs7498665	ACA/GCA Thr484Ala	42,5	38,1
<i>TMEM18</i>	rs7561317	A/G	16,4	14,6
<i>UCP1</i>	rs1800592	A/G	27,9	27,5

ny hladiny glukózy v séru, plazmatického adiponektinu, ghrelinu, leptinu a lipidový profil. Ač byly po 2,5 letech pozorovány signifikantní pozitivní změny v antropometrických ukazatelích, lipidovém profilu, hladinách leptinu, adiponektinu a ghrelinu, nebyl pozorován vliv na skóre dišihibice a deprese. Efekt variant *PPARG2* Pro12Ala a *PPARA* Leu162Val na antropometrické, biochemické, hormonální ani psychobehaviorální charakteristiky nebyl prokázán (40).

V případě neuromedinu β (*NMB*) byla potvrzena interakce s genotypem. *NMB* je členem rodiny peptidů podobných bombesinu. Tyto peptidy jsou exprimovány v mozku, pankreatu, nadledvinách a gastrointestinálním traktu. Regulují exokrinní i endokrinní sekrece, kontrakce hladkých svalů, příjem potravy, krevní tlak, glykémii, tělesnou teplotu a buněčný růst. Byla publikována signifikantní asociace polymorfismu P73T (rs1051168) se skórem dišihibice a s náchylností k hladu. Homozygotní mutace TT byla asociována se zvýšenou hmotností, BMI, obvodem pasu a tělesným tukem. V naší studii muži – nositelé alely T vykazovali na počátku léčby signifikantně vyšší příjem energie ($p = 0,009$), proteinů ($p = 0,018$) a tuku ($p = 0,002$) a vyšší skóre hladu ($p = 0,015$). Naopak muži, kteří nebyli nositelé alely T, lépe odpovídali na redukční program – vykazovali signifikantní snížení obvodu pasu, příjmu energie, skóre deprese. U žen před zahájením redukčního programu a ani po 2,5 letech redukčního programu nebyl zaznamenán žádný rozdíl mezi nositelkami a nenositelkami alely T kromě signifikantního snížení skóre hladu u žen, které nebyly nositelkami alely T (41).

V případě *UCP2*-866 G/A (rs659366) byl též u obézních žen pozorován vliv genotypu na rozvoj obezity a úspěšnost redukčního programu. Nositelky alely A na rozdíl od nenositelky udávaly signifikantně vyšší váhový přírůstek od 20 let svého věku (v průměru o 6 kg). Obě skupiny žen vykazovaly významné změny v energetickém a nutričním příjmu a v psy-

chobehaviorálních ukazatelích při kontrolním vyšetření po 2,5 letech sledování. Zajímavé je, že pouze nositelky alely A vykazovaly signifikantní pokles BMI $-0,7 \pm 0,28$ kg/m² a hladin leptinu $-18,72 \pm 7,33$ μ g/l (zatím nepublikovaná data).

„Obezitogeny“ u dětí a mladistvých

Zapojili jsme se i do genetických studií cílených na dětskou obezitu a obezitu adolescentů.

V roce 2006 publikuje Hainerová et al. (42) studii provedenou u 289 dětí a mladistvých s časnou obezitou, u kterých bylo pátráno po variantách genu kódujícího neuromedinu U (*NMU*). *NMU* je anorexigenní peptid, který je exprimován v hypothalamu. Souvislost *NMU* s regulací příjmu potravy byla prokázána na myších modelech. Myši, kterým byl tento gen odstraněn, trpí hyperfagií a jsou velmi obézní. Naopak myši se zvýšenou expresí tohoto genu jsou štíhlé. V publikované studii nalezená vzácná varianta Arg165Trp v jedné z českých rodin kosegregovala s dětskou obezitou. U dánské dospělé populace bylo ověřeno, že s obezitou asociuje i polymorfismus Ala19Glu. Homozygotní nositelé alely Glu byli zastoupeni v souboru dospělých s obezitou a nadváhou více než dvojnásobně oproti souboru štíhlých jedinců.

Další studie hodnotí prevalenci mutací *MC4R* u českých obézních dětí, fenotyp nositelů těchto mutací a efekt mutací na hmotnostní redukční režim. Opět byl využit soubor dlouhodobě sledovaných 289 českých dětí a mladistvých s časnou obezitou. U všech pacientů byl osekvenován gen pro *MC4R*. Byla zjištěna prevalence mutací 2,4 % – bylo detekováno šest různých mutací u osmi probandů, včetně jedné nově popsané záměny Cys84Arg (u ní byla provedena funkční studie potvrzující snížení přenosu signálu *MC4R*) (43). Popsána byla i zajímavá kazuistika 20letého chlapce s hypogonadotropním hypogonadismem, který je nositelem homozygotní mutace *MC4R* (G181D). U chlapce, který

neodpovídal na intenzivní úpravu životosprávy a neustále přibýval na váze, byla nasazena léčba sibutraminem. Efekt léčby byl patrný, po roce chlapec zhubl, došlo ke zlepšení parametrů tělesného složení a některých metabolických abnormalit (44). Připomeňme i naši studii COPAT (Childhood Obesity Prevalence and Treatment), která v sobě snoubila epidemiologickou a intervenční část a jejíž mnohá data se ještě vyhodnocují. U 1443 adolescentů ve věku 13–17,9 let byla provedena genotypizace 11 variant uvnitř/v blízkosti genů **TMEM18**, **SH2B1**, **KCTD15**, **PCSK1**, **BDNF**, **SEC16B**, **MC4R** a **FTO** a byla studována jejich asociace s obezitou a metabolickým syndromem definovaným dle IDF (International Diabetes Federation). I v této věkové kategorii byla varianta **FTO** rs9939609 silně asociována s nadváhou a obezitou, zatímco podobně jako v dospělé české populaci je minoritní alela **TMEM18** rs7561317 naopak signifikantně spojena s nízkou hmotností. Minoritní alely **BDNF** rs925946 a **MC4R** rs17782313 zvyšovaly riziko metabolického syndromu a naopak variantní alela **PCSK1** rs6235 snižovala hladinu krevní glukózy. Studie prokázala vliv těchto obezitogénů nejen na obezitu, ale i na riziko metabolického syndromu (45).

V tomto přehledovém článku jsme se snažili podat nejen aktuální přehled současných znalostí genetického pozadí běžných forem obezity, které pomohly poodhalit složité regulace energetické rovnováhy, ale dovolili jsme si prezentovat i naše skromné příspěvky na tomto poli výzkumu.

Práce byly podpořeny zejména granty IGA MZ ČR, norským finančním mechanismem CZ0123 a podporou MZ ČR pro rozvoj výzkumné organizace (00023761, Endokrinologický ústav).

Seznam použitých zkratk

BMI	body mass index
COPAT	Childhood Obesity Prevalence and Treatment
DNA	kyselina deoxyribonukleová
GIANT	Genetic Investigation of Anthropometric Traits
GWAS	celogenomová asociční studie (genome-wide association study)
IDF	International Diabetes Federation
OGTT	orální glukózový toleranční test
PCOS	syndrom polycystických ovarií (polycystic ovary syndrome)
RNA	kyselina ribonukleová
SNPs	jednonukleotidové polymorfismy (single nucleotide polymorphisms)
SSCP	polymorfismus konformace jednovláknové DNA (single-strand conformation polymorphism)
VMK	volné mastné kyseliny
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)
WHR	poměr pas/boky (waist to hip ratio)

Literatura

1. **World Health Organization**: Obesity and overweight, Fact sheet #311, May 2012.
2. **Kelly T, et al.** Global burden of obesity in 2005 and projection to 2030. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32: 1431–1437.

3. **Serdula MK, et al.** Do obese children become obese adults? A review of literature. *Prev Med* 1993; 22: 167–177.
4. **Freedman DS, et al.** Relation of body mass index and skinfold thicknesses to cardiovascular disease risk factors in children: the Bogalusa heart study. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 210–216.
5. **Jansen I, et al.** Prevalence and secular changes in abdominal obesity in Canadian adolescents and adults, 1981 to 2007–2009. *Obes Rev* 2011; 12: 397–405.
6. **Jansen I, et al.** Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Ann J Clin Natur* 2004; 79: 379–384.
7. **Bigaard J, et al.** Waist circumference and body composition in relation to all-cause mortality in middle-aged men and women. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29: 778–784.
8. **Erlhman J, et al.** Physical activity and its impact on health outcomes. Paper 2: prevention of unhealthy weight gain and obesity by physical activity: and analysis of the evidence. *Obes Rev* 2002; 3: 273–287.
9. **Stunkard AJ, et al.** The body mass index of twins who have been reared apart. *N Engl J Med* 1990; 322: 1483–1487.
10. **Allison DB et al.** The heritability of body mass index among the international sample of monozygotic twins reared apart. *Int J Obes Relat Met Disord* 1996; 20: 501–506.
11. **Maes HH, et al.** Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet* 1997; 27: 325–351.
12. **Rankinen T, et al.** The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14: 529–644.
13. **Sandholt CH, et al.** Beyond the fourth wave of genome-wide obesity association studies. *Nutr Diab* 2012; 2: e37; doi:10.1038/nutd.2012.9.
14. **Shmueli O, et al.** GeneNote: whole genome expression profiles in normal human tissues. *Comptes Rendus Biologies* 2003; 326: 1067–1072.
15. **van Vliet-Ostaptchouk JV, et al.** Gene-lifestyle interactions in obesity. *Curr Nutr Rep* 2012; 1: 184–196.
16. **Andreassen CH, et al.** Low physical activity accentuates the effect of the **FTO** rs9939609 polymorphism on body fat accumulation. *Diabetes* 2008; 87: 95–101.
17. **Hainer V, Kunesová M, Parížková J, et al.** Serum cortisol and sex hormone binding globulin (SHBG) levels, body fat distribution and the role of genetic factors in obese females. *Sb Lek.* 2002; 103(4): 471–475.
18. **Stich V, Harant I, De Glisezinski I, et al.** Adipose tissue lipolysis and hormone-sensitive lipase expression during very-low-calorie diet in obese female identical twins. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(3): 739–744.
19. **Kunesová M, Hainer V, Tvřizicka E, et al.** Assessment of dietary and genetic factors influencing serum and adipose fatty acid composition in obese female identical twins. *Lipids.* 2002; 37(1): 27–32.
20. **Fried M, Kasalický M, Kunesova M, Hainer V.** Influence of some hereditary factors on weight loss following conservative and surgical treatment of obese female monozygotic twins. *Obes Surg.* 1999; 9(3): 265–268.
21. **Hainer V, Stunkard AJ, Kunesová M, et al.** Intrapair resemblance in very low calorie diet-induced weight loss in female obese identical twins. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24(8): 1051–1057.
22. **Hainer V, Stunkard A, Kunesová M, et al.** A twin study of weight loss and metabolic efficiency. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001; 25(4): 533–537.
23. **Hainer V, Kunešová M, Stunkard AJ, et al.** The within-pair resemblance in serum levels of androgens, sex-hormone binding globulin and cortisol in female obese identical twins – effect of negative energy balance induced by very low-calorie diet. *Horm Metab Res* 2001; 33(7): 417–422.
24. **Kunešová M, Phinney S, Hainer V, et al.** The responses of serum and adipose Fatty acids to a one-year weight reduction regimen in female obese monozygotic twins. *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 967: 311–323.
25. **Bendlová B, Mazura I, Včelák J, et al.** Is a mutation of the beta 3-adrenergic receptor gene related to non-insulin-dependent diabetes mellitus and juvenile hypertension in the Czech population? *Ann N Y Acad Sci.* 1997; 827: 135–143.

26. **Bendlová B, Mazura I, Včelák J, et al.** Mutation in the beta3-adrenergic receptor gene (Trp64Arg) does not influence insulin resistance, energy metabolism, fat distribution and lipid spectrum in young people. Pilot study. *Vnitř. Lék.* 1999; 45(5): 267–272.
27. **Šrámková D, Kunešová M, Hainer V, et al.** Is a Pro12Ala polymorphism of the PPARgamma2 gene related to obesity and type 2 diabetes mellitus in the Czech population? *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 967: 265–273.
28. **Bendlová B, et al.** PPARgamma2 Pro12Ala polymorphism in relation to free fatty acids concentration and composition in lean healthy Czech individuals with and without family history of diabetes type 2. *Physiol Res* 2008; 57(Suppl 1): S77–90.
29. **Šrámková D, Krejčichová S, Včelák J, et al.** The UCP1 gene polymorphism A-3826G in relation to DM2 and body composition in Czech population. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2007; 115(5): 303–307.
30. **Včelák J, Lukášová P, Vaňková M, et al.** FTO gene is associated not only with obesity-related quantitative traits but also with higher OGTT stimulated glycaemia and leptin levels. *Diabetologia* 2008; 51(Suppl 1): A818: S326.
31. **Wojciechowski P, Lipowska A, Rys P, et al.** Impact of FTO genotypes on BMI and weight in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia.* 2012; 55(10): 2636–2645.
32. **Hubáček JA, Bohuslavová R, Kuthanová L, et al.** The FTO gene and obesity in a large Eastern European population sample: the HAPIEE study. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16(12): 2764–2766.
33. **Hubáček JA, Piňha J, Adámková V, et al.** A common variant in the FTO gene is associated with body mass index in males and postmenopausal females but not in premenopausal females. Czech post-MONICA and 3PMFs studies. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47(4): 387–390.
34. **Hubáček JA, Stanek V, Gebauerová M, et al.** A FTO variant and risk of acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta* 2010; 411(15–16): 1069–1072.
35. **Hubáček JA, Víklík O, Dlouhá D, et al.** The FTO gene polymorphism is associated with end-stage renal disease: two large independent case-control studies in a general population. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(3): 1030–1035.
36. **Dlouhá D, Piňha J, Lanská V, Hubáček JA.** Association between FTO 1st intron tagging variant and telomere length in middle aged females. 3PMFs study. *Clin Chim Acta* 2012; 413(15–16): 1222–1225.
37. **Bradnová O., Vaňková M., Lukášová P., et al.** Melanocortin-4 receptor gene polymorphism (rs12970134) influences glucose metabolism, leptin and GH levels in women. 12th European Congress of Endocrinology, 24.–28. 4. 2010, Prague, Czech Rep., *Endocrine Abstracts* 22: P352.
38. **Lukášová P, Vaňková M, Včelák J, et al.** Associations of Polymorphisms in Several Common Obesity-Susceptibility Genes with Body-Mass Index and Other Anthropometric Characteristics. *Diabetes* 2011; 60(Suppl 1): A507: 1881.
39. **Hainer V, Zamrazilová H, Spálová J, et al.** Role of hereditary factors in weight loss and its maintenance. *Physiol Res* 2008; 57(Suppl 1): S1–15.
40. **Aldhoon B, Zamrazilová H, Aldhoon Hainerová I, et al.** Role of the PPARalpha Leu162Val and PPARgamma2 Pro12Ala gene polymorphisms in weight change after 2.5-year follow-up in Czech obese women. *Folia Biol (Praha)* 2010; 56(3): 116–123.
41. **Spálová J, Zamrazilová H, Včelák J, et al.** Neuromedin beta: P73T polymorphism in overweight and obese subjects. *Physiol Res.* 2008; 57(Suppl 1): S39–48.
42. **Hainerová I, Torekov SS, Ek J, et al.** Association between neuromedin U gene variants and overweight and obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(12): 5057–5063.
43. **Hainerová I, Larsen LH, Holst B, et al.** Melanocortin 4 receptor mutations in obese Czech children: studies of prevalence, phenotype development, weight reduction response, and functional analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(9): 3689–3696.
44. **Hainerová I, Zamrazilová H, Sedláčková D, Hainer V.** Hypogonadotropic hypogonadism in a homozygous MC4R mutation carrier and the effect of sibutramine treatment on body weight and obesity-related health risks. *Obes Facts* 2011; 4(4): 324–328.
45. **Dušítková L, Zamrazilová H, Sedláčková B, et al.** Association of obesity susceptibility gene variants with metabolic syndrome and related traits in 1,443 Czech adolescents. *Folia Biol (Praha)* 2013; 59(3): 123–133.

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

doc. RNDr. Běla Bendlová, CSc.Endokrinologický ústav
Národní 8, 116 94 Praha 1
e-mail: bbendlova@endo.cz

POSTGRADUÁLNÍ ŠKOLENÍ V OBEZITOLOGII

se bude konat ve dnech **3.–7. listopadu 2014** v Endokrinologickém ústavu v Praze.**Kontakt:** Centrum pro diagnostiku a léčbu obezity, Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1, tel.: 224 905 350, fax: 224 905 105Přihlášky a bližší informace na adrese: vraisova@endo.cz

Školení je organizováno pod záštitou České obezitologické společnosti ČLS JEP, je akreditováno ČLK a je podpořeno Českou technologickou platformou pro potraviny.

Zodpovědní pořadatelé: doc. MUDr. Marie Kunešová, CSc., doc. MUDr. Vojtěch Hainer, CSc.

Monogenně podmíněná obezita – současný stav molekulárně genetického výzkumu a význam v klinické praxi*

^{1,2}Irena Aldhoon-Hainerová, ¹Josef Včelák, ¹Hana Zamrazilová

¹Endokrinologický ústav, Praha

²Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FNKV, Praha

Čas. Lék. čes. 2014; 153: 200–206

SOUHRN

Obezita a její komorbidity představují v současné době jeden z největších zdravotních problémů. V celosvětovém nárůstu prevalence obezity v posledních několika desetiletích hraje klíčovou roli pozitivní energetická bilance v důsledku nežádoucích změn životního stylu. Vliv genetických faktorů je rovněž podstatný – několik studií dospělo k závěru, že geny přispívají k rozvoji obezity ze 40–70 %. Genetická variabilita předurčuje jedince k náchylnosti či rezistenci navyšovat tělesnou hmotnost v interakci s obezitogenním prostředím. Ačkoliv se u naprosté většiny obézních jedinců jedná o tzv. polygenní typ dědičnosti, výzkum za posledních 20 let identifikoval nositele mutací genů způsobujících tzv. monogenně podmíněnou obezitu. Dosud bylo identifikováno jen několik genů (pro leptin, leptinový receptor, prohormon konvertázu 1, proopiomelanokortin, melanokortinový receptor 4. typu, single-minded homolog

1, brain-derived neurotrophic factor a receptor neurotrofické tyrozinové kinázy 2. typu), které se buď podílejí na neuronální diferenciaci hypothalamu, nebo jsou součástí leptino-melanokortinové signalizační osy. Nositelé mutací se kromě časné vzniklé obezity s hyperfagií dále vyznačují např. adrenální insuficiencí, poruchou imunity a fertility. Předkládaný přehledový článek rekapituluje aktuální stav molekulárně-genetického a klinického výzkumu v oblasti monogenně podmíněné obezity včetně terapeutických možností.

KLÍČOVÁ SLOVA

monogenní obezita – řízení energetické bilance – leptin – leptinový receptor – proopiomelanokortin – melanokortinový receptor – prohormon konvertáza – single-minded homolog 1 – brain-derived neurotrophic factor – receptor neurotrofické tyrozinové kinázy 2. typu

SUMMARY

Aldhoon-Hainerová I, Včelák J, Zamrazilová H. Monogenic obesity – current status of molecular genetic research and clinical importance

Obesity and its comorbidities represent one of the major health problems worldwide. A positive energy balance due to inappropriate life-style changes plays a key role in the current obesity epidemic. The influence of genetic factors is also significant – several studies concluded that genes contribute to the development of obesity by 40–70%. Genetic variability predisposes an individual to tendency or resistance to increase body weight in obesogenic environment. Polygenic type of inheritance is responsible in most of obese individuals. However, an intensive research of the past 20 years has led to an identification of several genes causing monogenic forms of obesity. To date, several monogenic genes (leptin, leptin receptor, prohormon convertase 1, proopiomelanocortin, melanocor-

tin 4 receptor, single-minded homolog 1, brain-derived neurotrophic factor, neurotrophic tyrosine kinase receptor type 2) that are either involved in the neuronal differentiation of the paraventricular nucleus or in the leptin-melanocortin pathway are known to cause obesity. Mutation carriers apart from severe early onset obesity manifest with additional phenotypic characteristics as adrenal insufficiency, impaired immunity and impaired fertility. This review provides an overview of molecular-genetic and clinical research in the field of monogenic obesities including therapeutical approaches.

KEYWORDS

monogenic obesity – energy balance regulation – leptin – leptin receptor – proopiomelanocortin – melanocortin receptor – prohormon convertase – single-minded homolog 1 – brain-derived neurotrophic factor – neurotrophic tyrosine kinase receptor type 2

* Článek je věnován k 70. narozeninám doc. MUDr. Vojtěcha Hainera, CSc.

ÚVOD

Obezita je klasické multifaktoriálně podmíněné onemocnění a celosvětově se řadí mezi nejzávažnější zdravotní problémy dneška. Diagnostikovat jednoznačnou příčinu je s ohledem na komplexnost onemocnění a individuální variabilitu vlivu jednotlivých faktorů mnohdy poměrně obtížné. Příčinou je nepochybně pozitivní energetická bilance v důsledku nepříznivých změn životního stylu. Ty vedou zejména u geneticky predisponovaných jedinců ke zmožení tukových zásob. U naprosté většiny obézních jedinců můžeme kombinovaný vliv environmentálních a genetických faktorů označit za klíčový. Z genetického hlediska je tento typ obezity možné označit jako polygenně dědičný – na vzniku a rozvoji obezity se podílí řada genů, ovšem s malým efektem na tělesnou hmotnost. Jejich účinek je však v závislosti na přítomnosti pozitivních či negativních environmentálních faktorů potencionálně nebo naopak zeslabován. Takto postižení jedinci vykazují index tělesné hmotnosti (body mass index – BMI) v pásmu nadváhy až obezity s nástupem v podstatě kdykoliv během života, často v návaznosti na kritická životní období (puberta, menopauza, změna zaměstnání, změna rodinného stavu, úraz, operace).

V průběhu posledních 20 let se podařilo odhalit několik genů, jejichž jediná mutace má potenciál vyvolat již v časném věku těžkou obezitu, tzv. monogenně podmíněnou, tedy bez významného přispění dalších genů či faktorů zevního prostředí. Jedná se o geny kódující hormony, resp. neuropeptidy a jejich receptory, které se uplatňují v centrálním nervovém systému (CNS) buď v neuronální diferenciaci nucleus paraventricularis, či v leptino-melanokortinové signální cestě. Přestože jsou mutace těchto genů velmi vzácné, jejich identifikace nám umožňuje objasnit dosud neznámé patofyziologické procesy ovlivňující energetickou bilanci. Monogenně podmíněná obezita je nejčastěji vyvolána mutacemi genu pro melanokortinový receptor 4. typu (MC4R). Obezita podmíněná mutacemi ostatních genů je spíše vzácnější – jedná se o geny pro leptin (LEP), leptinový receptor (LEPR), proopiomelanokortin (POMC), prohormon konvertázu 1 (PC1), transkripční faktor single-minded homolog 1 (SIM1), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) a receptor neurotrofické tyrosinové kinázy 2. typu (NTRK2). Pro úplnost a snazší orientaci v problematice si dovoluujeme nastínit začátky výzkumu a též samotnou regulaci energetické bilance v lidském organismu.

REGULACE ENERGETICKÉ BILANCE NA ÚROVNI CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU

Rychle postupující genetický výzkum přinesl řadu objevů, které mají zásadní význam pro pochopení regulace energetické bilance a jídelního chování. Nejprve se jednalo o studie na zvířecích modelech, později i u lidských jedinců. Známý myší ob/ob model, popsán již v padesátých letech 20. století (1, 2), je charakteristický excesivní tělesnou hmotností, nadbytkem tělesné tukové tkáně a porušenou reprodukcí (3). Příčina tohoto fenotypu nebyla známa dlouhá léta. V roce 1994 se podařilo identifikovat nejen LEP, ale i jeho produkt, hormon leptin (4). Další myší model, tzv. db/db, který se rovněž vyznačuje závažnou obezitou, umožnil objev LEPR (5). Jak u hlodavců, tak i u lidí, se leptin řadí mezi klíčové faktory v regulaci energetické bilance a tělesné hmotnosti.

Regulace energetické bilance, pocitu hladu a sytosti, je dána interakcí periferních signálů s CNS, zejména s oblastí

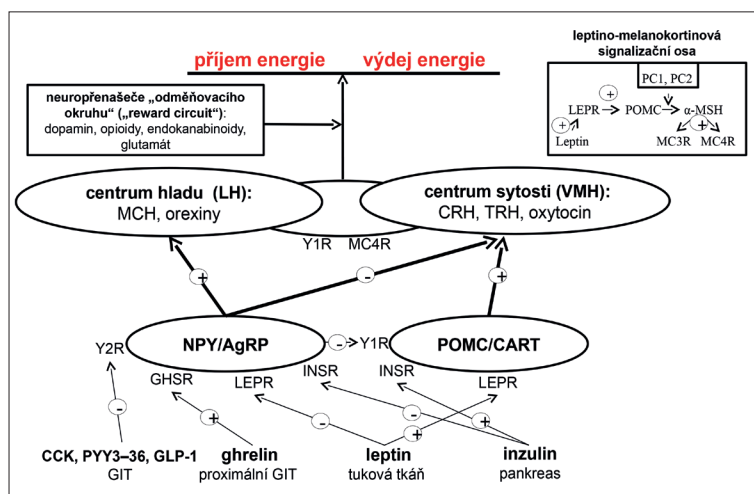
hypothalamu. V jeho ventromediální části se nachází centrum sytosti, zatímco v laterální části centrum hladu. Hypothalamus disponuje dvěma druhy neuronů exprimujících orexigenní a anorexigenní neuropeptidy, které společně s adrenergními, dopaminergními, serotoninergními a endokanabinoidními neuropřenašeči regulují v CNS energetickou bilanci. Mezi orexigenní neuropeptidy se řadí neuropeptid Y a agouti-related peptide. K anorexigenním neuropeptidům patří POMC a cocaine-amphetamine related transcript. Orexigenní neuropeptidy aktivují centrum hladu, a tím stimulují příjem potravy a snižují energetický výdej. Oproti tomu anorexigenní neuropeptidy aktivují centrum sytosti, a tudíž příjem potravy potlačují. Hypothalamické neuropeptidy reagují na periferní signalizaci zprostředkovanou řadou působků – leptin a inzulin aktivují anorexigenní neurony a zároveň inhibují orexigenní. Ghrelin, hormon gastrointestinálního traktu, orexigenní neurony aktivuje prostřednictvím svého receptoru. Naopak peptid YY₃₋₃₆, cholecystokinin a glucagon-like peptide-1 je tlumí přes Y2 receptory. Orexigenní neurony potlačují funkci anorexigenních neuronů prostřednictvím Y1 receptorů. Signály obou typů neuronů aktivací či inhibicí MC4R a Y1 receptorů ovlivňují neurony v hypothalamu (obr. 1).

Leptin

Od roku 1997, kdy byli identifikováni první homozygotní nositelé mutací LEP, bylo popsáno několik málo desítek případů těchto mutací na světě. Většinou se jednalo o nekavkazskou rasu, nejčastěji pakistánské či tureckého původu. Nedávná studie provedená na náhodně vybraných obézních pakistánských dětech rodičů z příbuzenského sňatku odhalila, že 16,1 % jedinců byli nositelé LEP mutace (6). Nositelé mutace se vyznačují těžkou časně nastupující obezitou spojenou s hyperfagií, hypogonadotropním hypogonadismem, zvýšeným výskytem infekcí souvisejících s porušenou T-buněčnou imunitou a poruchami sympatického nervového systému (7, 8). V laboratorním nálezu dominují velmi nízké až nulové hladiny leptinu (9). U některých jedinců byla popsána hyperinzulinémie, rozvoj cukrovky 2. typu a dyslipidémie.

Saeed et al. hodnotili změny periferních hormonů ovlivňující jídelní chování u homozygotních a heterozygotních nositelů a nenositelů LEP mutace. Na rozdíl od heterozygotů či kontrolní skupiny zůstávaly hladiny ghrelinu i po konzumaci stravy u homozygotních nositelů bez změny. Dále u homozygotů nebyl pozorován postprandiální vzestup peptidu YY (10). Ukázalo se, že i řada polymorfismů LEP je spojena s obezitou u lidí (11).

Děti i dospělí s mutací LEP jsou dosud jediní, u kterých je možné účinně terapeuticky zasáhnout. Každodenním subkutánním podáváním rekombinantního methionyl leptinu ve večerní dávce 0,02–0,04 mg/kg lze zcela zvrátit nepříznivý fenotyp doprovázený mutací tohoto genu. Dochází k výraznému snížení až normalizaci tělesné hmotnosti, snížení množství tělesného tuku, snížení energetického příjmu s vymizením hyperfagie, zvýšení pohybové aktivity bez snížení bazálního metabolického výdeje, zlepšení lipidového profilu, inzulinové senzitivity, imunitního systému (zvýšení počtu cirkulujících CD4+ T-lymfocytů, zlepšení porušené proliferace T-lymfocytů), vzestupu gonadotropních hormonů a navození puberty (12 až 15). V rámci jedné studie byla u dospívající dívky provedena funkční magnetická rezonance po 1 roce a po 2 letech terapie leptinem. Tímto vyšetřením docházelo k vizuální stimulaci, a to tak, že dívky byly předkládány obrázky vysoce a nízkokalorických potravin a obrázky neznázorňující potraviny. Cílem



Obr. 1 Regulace energetické bilance v lidském organismu (viz text)
 AgRP – agouti-related peptide; CART – cocaine-amphetamine related transcript, CCK – cholecystokinin; GHSR – growth hormone secretagogue receptor; GIT – gastrointestinální trakt, GLP-1 – glucagon-like peptide-1; INSR – inzulinový receptor; LH – laterální hypothalamus; LEPR – leptinový receptor; MCH – melanin koncentrující hormon; MC3R – melanokortinový receptor 3. typu; MC4R – melanokortinový receptor 4. typu; MSH – melanostimulující hormon; PC1 – prohormon konvertáza 1; POMC – proopiomelanokortin; PYY₃₋₃₆ – peptid YY₃₋₃₆¹
 VMH – ventromediální hypothalamus; Y1R – Y1 receptor; Y2R – Y2 receptor

studie bylo sledovat změny v oblasti hypothalamu a v oblastech mozku souvisejících s odměňováním (striatum, orbitofrontální kůra, substantia nigra/ventrální tegmentální oblast, amygdala). Studie demonstrovala, že dlouhodobá terapie leptinem vede k pozitivním změnám jak v centrech pro homeostázu a ve frontálních oblastech mozku, tak v hedonických odpovědích (16). Po zavedení terapie dochází u pacientů k vývoji sekundárních pohlavních znaků, u ženského pohlaví navození ovulace a menstruačního cyklu. Kazuistiky jednotlivých pacientů ukazují, že terapie leptinem vede poměrně rychle k výraznému zlepšení jaterní steatózy (17). Vynechání léčby leptinem po dobu 6 týdnů vedlo k signifikantnímu hmotnostnímu nárůstu.

Leptinový receptor

Jedinci s deficitem LEPR vykazují obdobné fenotypové projevy jako jedinci s deficitem leptinu a též se řadí mezi velmi vzácné případy. Mutace LEPR byly identifikovány zejména u určitých specifických etnických skupin (např. Alžírsko, Turecko, Egypt), u kterých jsou příbuzenské sňatky poměrně běžné (18, 19). U homozygotních či složených heterozygotních nositelů dochází k porušení signalizace tohoto receptoru, což vede k hyperfagii a ke značnému nárůstu tělesné hmotnosti a tělesného tuku od prvních měsíců věku. Dále je pro nositele mutace charakteristická přítomnost endokrinních abnormalit, jako jsou hypogonadotropní hypogonadismus, porušená sekrece růstového hormonu a thyreotropinu, snížená tělesná výška v dospělosti a těžké infekce v důsledku porušené T-buněčné imunity (20). Sérové hladiny leptinu jsou zvýšené úměrně nadměrnému množství tukové tkáně. Polymorfismy LEPR též souvisí s obezitou u kavkazské populace (21).

Heterozygotní nositelé mutace LEPR mají tělesnou hmotnost normální či jen lehce zvýšenou. Toto bylo potvrzeno i metaanalýzou, která zkoumala v různých populacích tři jednonukleotidové polymorfismy LEPR (Lys109Arg, Gln223Arg

a Lys656Asn) a nenalezla žádný vztah s BMI či obvodem pasu (22).

Účinná terapie není u těchto pacientů doposud známá. Terapie leptinem je na rozdíl od pacientů s mutací LEPR neúčinná. Nicméně nedávno byla publikována kazuistika homozygotního nositele LEPR mutace způsobené uniparentální disomií chromozomu 1, který podstoupil vertikální gastroplastiku v období dospívání. Došlo ke snížení tělesné hmotnosti o 40 kg a jeho udržení do dospělosti (23).

Prohormon konvertáza 1

Deficit PC1 je autozomálně recesivně dědičné onemocnění způsobené vzácnými mutacemi genu pro proteín konvertázu subtilisin/kexin typu 1 (PCSK1). PC1 je enzym zodpovědný za proteolytické štěpení řady prohormonů (např. proinzulinu) a proneuropeptidů (např. POMC) (24). Mutace PCSK1 jsou velmi vzácné. První kazuistika byla popsána v roce 1997 (25). Vrozený deficit PC1 vede k těžké hyperinzulinémii, malabsorpci spojené s průjmy, hypogonadotropnímu hypogonadismu, částečným centrálním poruchám adrenální a tyroidální osy a těžké obezitě (25-27). Částečně lze tento klinický obraz vysvětlit

poruchami fyziologické role PC1, tedy proteolytického štěpení mj. proinzulinu, POMC, proglukagonu, pro-gonadotropin uvolňujícího hormonu a pro-tyreotropin uvolňující hormonu (28). Nedávná studie zkoumala klinický obraz 13 dětí s deficitem PC1 (29). Demonstrovala, že vývoj endokrinopatií souvisí s věkem. Některé mutace způsobovaly závažné biochemické změny již *in vitro*. Pro novorozenecké období bylo typické neprosívání, těžké malabsorpční průjmy a vysoká mortalita. Ostatní endokrinopatie se postupně objevovaly s progresí onemocnění, včetně deficitu růstového hormonu, primárního hypogonadismu, adrenální insuficience, diabetu insipidu a hypotyreózy. I přes časnou poruchu růstu je toto onemocnění většinou doprovázeno těžkým stupněm obezity spojenou s polyfagií (29). Běžné varianty PCSK1 se též asociují s vyšším rizikem rozvoje obezity (30).

Proopiomelanokortin

POMC je polypeptid, který je exprimován nejen v nucleus arcuatus v hypothalamu, ale i v placentě a v pankreatu (31). Expresie POMC je stimulována navázáním leptinu na LEPR. POMC se následně štěpí na několik menších peptidů – adrenokortikotropní hormon (ACTH), α - β - a γ -melanostimulující hormon (MSH), β -endorfin a β - γ -lipotropin, z nichž některé jsou důležitými ligandy pro skupinu melanokortinových receptorů (32). Navázáním ligandů na tyto receptory je stimulována pigmentace (vazbou α -MSH na melanokortinový receptor 1. typu), sekrece kortizolu (vazbou ACTH na melanokortinový receptor 2. typu) a ovlivňována energetická bilance na úrovni CNS (vazbou α -MSH na melanokortinový receptor 3. typu (MC3R) a MC4R). Proto jsou typickými znaky nositelů homozygotních mutací POMC adrenální nedostatečnost, těžká obezita doprovázená hyperfagií, rusovlasost a bledá pleť. Byl popsán i případ těžce obézní nositelky mutace POMC, která se neprezentovala charakteristickou rusovlasostí a bledou pleť,

avšak byla u ní prokázána nedostatečnost v řadě hormonů hypofýzy (33). Heterozygotní nositelé mají oproti homozygotům normální či jen mírně zvýšenou tělesnou hmotnost (34). Kompletní deficit POMC je u člověka velmi vzácný a ve světě bylo popsáno jen několik případů (34–36).

Přestože léčba obezity způsobené deficitem POMC zůstává nadále neznámá, literatura uvádí několik pokusů o ovlivnění tělesné hmotnosti u takto postižených jedinců (37). Nízkokalorická dvanáctiměsíční dieta vedla u tří dětí – heterozygotních nositelů mutace POMC – k normalizaci tělesné hmotnosti, množství tukové tkáně i inzulinové rezistence (38). Předchozí studie je velmi kontroverzní, jelikož se později ukázalo, že heterozygotní nositelství mutací POMC nemá vliv na tělesnou hmotnost. Intranazální podávání ACTH4-10, jež je obdobou α -MSH, dvěma pacientům s deficitem POMC ani ve své maximální dávce (5 mg/den) nijak neovlivnilo tělesnou hmotnost, tělesné složení či bazální energetický výdej (34). Jedním z možných vysvětlení je nižší afinita ACTH₄₋₁₀ k MC4R. U pacientů s mírnou centrální hypotyreózou nevedla roční léčba hormony štítné žlázy k významnému úbytku tělesné hmotnosti (34).

Melanokortinový receptor 4. typu

MC4R, protein o 332 aminokyselinách kódovaný jediným exonem na chromozomu 18q22 (39), je jedním z klíčových faktorů hypothalamické regulace energetické bilance. Myši s inaktivní genovou variantou (nebo-li *Mc4r* knock-out myši) jsou velmi obézní, projevují se hyperfagií s patologickým nevnímáním pocitu sytosti, hyperinzulinémií, hyperglykemií, větším lineárním růstem, ale normální reprodukční schopností.

Mutace MC4R představují nejčastější monogenně podmíněnou formu obezity u lidí. Vyskytují se v rozmezí 2–6 % u extrémně obézních dětí a dospívajících i 1–2 % u obézních dospělých. Studie provedené na cca 300 českých dětech s těžkou obezitou vzniklou v raném dětství odhalila 2,4% prevalenci mutací MC4R (40).

Do současné doby bylo identifikováno více než 130 funkčních mutací, které většinou vedou k intracelulární retenci. Mutace se většinou dědí autozomálně dominantně s různým stupněm penetrance a expresivity – variabilní je věk nástupu obezity, stejně jako její závažnost, a to i pro stejnou mutaci v rámci jedné rodiny. Podobně jako na zvířecích modelech byl prokázán i u lidských jedinců s deficitem MC4R vyšší lineární růst v dětství, vyšší finální výška v dospělosti a závažnější hyperinzulinémie než u stejně obézních jedinců bez mutace. Na základě nálezu zachování sekrece růstového hormonu v pulzech u nositelů MC4R mutace lze předpokládat, že MC4R hraje roli v regulaci růstu v oblasti hypothalamu (41). Pro úplnost uvádíme fakt, že u dvou poměrně častých polymorfismů MC4R byl naopak zjištěn malý protektivní účinek na vývoj obezity (42).

Vzhledem k tomu, že nositelství mutací MC4R je ze všech monogenně podmíněných forem obezity nejčastější, řada experimentálních studií se snaží najít terapeutické řešení. Studie s melanokortinovými agonisty ukázala, že mutovaný lidský MC4R s porušenou funkční odpovědí na endogenní ligandy může být aktivován některými z těchto agonistů a může představovat terapeutický cíl (43). Rovněž obnovení povrchové buněčné exprese a funkce mutovaných MC4R pomocí farmakologických chaperonů, má potenciál pro vývoj cílené terapie vhodné pro velkou část obézních pacientů s deficitem MC4R (44). Publikovány byly i studie, které sledovaly hmotnostní

změny nositelů, resp. nenositelů mutací v odpověď na změnu životního stylu. U nositelů mutace byly zaznamenány obdobné hmotnostní úbytky jako u nenositelů jak po šestidenním léčebném pobytu (40), tak po roční ambulantní intervenci. (45). Nicméně, ve druhém případě nebyli nositelé mutace úspěšní v následném udržení tělesné hmotnosti.

Dále byl u obézních dětí jak s MC4R mutacemi, tak se syndromem Pradera-Williho zkoumán účinek sibutraminu, tj. inhibitoru zpětného vychytávání serotoninu, noradrenalinu a dopaminu. Výsledky ukázaly, že redukce hmotnosti po léčbě sibutraminem byla dosažena v obou skupinách, ale v menší míře u jedinců s MC4R mutacemi (46). Léčbu sibutraminem podstoupil i náš pacient – homozygotní nositel mutace Gly181Asp (40, 47). V 18 letech dosáhl tělesné hmotnosti 174,4 kg a BMI 55 kg/m². Po roční léčbě, která byla chlapcem dobře tolerována, jsme zaznamenali výrazně menší přibývání na váze než před léčbou (1,4 kg) (47). Dále došlo ke zlepšení dyslipidémie, zvýšení inzulinové senzitivity a snížení hladin jaterních enzymů, kyseliny močové, pocitu hladu a Beckova skóre deprese. Ovšem rok po ukončení farmakologické léčby se tělesná hmotnost pacienta zvýšila o 10,8 kg (47).

U několika nositelů MC4R mutace byly provedeny bariatrické zákroky. Laparoskopická bandáž žaludku vedla u nositelů mutace k menšímu snížení hmotnosti a menšímu zlepšení metabolického syndromu než u nenositelů mutace (48). Také byl zaznamenán vyšší výskyt pooperačních komplikací u nositelů oproti nenositelům MC4R mutací (48). Minimální hmotnostní pokles byl též popsán u adolescenta s kompletním nedostatkem MC4R po provedené laparoskopické adjustable bandáži žaludku a trunkální vagotomii (49). V roce 2011 publikovaná studie sledující výsledky Roux-en-Y žaludečního bypassu (RYGB) u heterozygotních nositelů MC4R mutací zjistila, že po ročním sledování byl pokles tělesné hmotnosti u nositelů srovnatelný s nenositeli mutace (50). O rok později výsledky s RYGB výkonem na myších modelech a na heterozygotních nositelích MC4R mutací potvrdily, že přítomnost jedné nemutované alely je dostatečná pro dosažení dobré odpovědi na tento výkon (51). Léčebné možnosti případů mutací MC4R představují slibné pole výzkumu.

PORUCHY SIGNALIZACE V KROCÍCH NIŽE OD MC4R

Single Minded Homologue 1

SIM1 je transkripční faktor, který hraje významnou roli při diferenciaci buněk CNS, zejména paraventriculární oblasti hypothalamu. U myši vedou heterozygotní mutace *Sim1* k časně vzniklé obezitě, k urychlenému růstu, hyperinzulinémií a hyperleptinémii (52). *De novo* balancovaná translokace mezi chromozomy 1p.22.1. a 6q16.2, která vede k poruše SIM1, či missense mutace *SIM1* způsobují těžkou časně nastupující obezitu spojenou s hyperfagií a vývojové opoždění různé tíže (53, 54). Nedávná studie zjistila, že delece 6q oblasti, která obsahuje *SIM1*, způsobuje fenotyp podobný syndromu Pradera-Williho včetně přítomnosti hypopituitarismu. Genotypizace *SIM1* u obézních dětí a adolescentů a u normostenických dospělých vedla k objevení raritních variant tohoto genu jak u obézních, tak i normostenických jedinců. Následné funkční studie prokázaly, že varianty Thr481Lys a Ala517Val nalezené u obézních jedinců vedou ke snížené transkripční aktivitě *SIM1* (55). Ve studii Ramachandrapa et al. bylo identifikováno devět různých heterozygotních variant *SIM1* se

sníženou aktivitou (56). Nositelé těchto variant se vyznačovali těžkou obezitou, zvýšeným *ad libitum* energetickým příjmem, normálním bazálním metabolickým výdejem a poruchou autonomního nervového systému. Větší část pacientů též vykazovala neurobehaviorální obtíže. Autoři spekulují o tom, zda obdobný klinický projev mezi nositeli mutací pro MC4R a SIM1 není v obou případech dán porušenou melanokortinovou signalizací. Další výzkum skutečně prokázal, že oblasti mozku, ve kterých se exprimují Sim1 neurony, jsou zásadními místy působení melanokortinové osy. Xu et al. zjistili, že glutamát je klíčovým neurotransmiterem, který zprostředkovává působení MC4R na Sim1 neuronech, a tím přispívá k regulaci tělesné hmotnosti (57). Lze očekávat, že tato místa budou předmětem studia cílené terapie.

Brain-derived neurotrophic factor a jeho receptor

BDNF a jeho receptor, receptor neurotrofické tyrosinové kinázy B (TrkB), jsou kódovány NTRK2 a ovlivňují jídelní chování a energetickou bilanci. U knock-out *Bdnf* myši se vyvine obezita a hyperfagie (58). Infuze BDNF snižuje příjem potravy u modelů s deficitem MC4R, což nasvědčuje tomu, že BDNF/TrkB signalizace se nejspíše vyskytuje distálně od MC4R (58). *De novo* missense mutace způsobující poruchu funkce TrkB vedla u 8leté dívky k časně vzniklé těžké obezitě s hyperfagií, mentální retardací, poruše krátkodobé paměti, opoždění vývoje řeči, stereotypnímu chování a poruše nocicepce (59). Dále byl identifikován pacient s *de novo* chromozomální inverzí, 46,XX,inv(11)(p13p15.3), která zahrnuje BDNF lokus, a ruší tím jeho expresi (60). Han et al. zjistili, že pacienti s WAGR syndromem (Wilmsův tumor, aniridie, anomálie urogenitálu a mentální retardace), kteří měli několik delecí včetně chybění BDNF lokusu, vykazovali časně vzniklou obezitu (61). Funkční analýzy identifikovaných variant NTRK2 ve studii Gray et al. shledali, že pouze varianta Tyr722Cys NTRK2 způsobuje poruchu signalizace a vede k porušené neurogenезi hypothalamu. Nositel této varianty vykazoval kromě těžké obezity též poruchu paměti (62).

Diskutabilní melanokortinový receptor 3. typu

Role mutací MC3R je v regulaci energetické homeostázy stále předmětem diskuzí. Zvířecí modely prokázaly, že MC3R je společně s MC4R klíčovým receptorem v rámci leptino-melanokortinové signalizační kaskády. Myši s chybějícím *Mc3r* se prezentují normální tělesnou hmotností, zvýšeným tělesným tukem a mírnou hypofagií ve srovnání s kontrolní skupinou. Řada mutací byla nalezena u štíhlých lidí a ne všechny mutace vedly k poruše tohoto receptoru. Zároveň ale byli některé mutace MC3R častěji nalezeny u obézních jedinců (63). Nedávno publikovaná studie ukázala obdobnou prevalenci MC3R mutací u belgických obézních a štíhlých dětí a adolescentů (1,0 vs. 1,02 %) (64). Tyto výsledky poukazují na nezbytnost provedení funkčních studií u každé z identifikovaných variant.

Polymorfismy Thr6Lys a Val81Ile MC3R byly asociovány s dětskou obezitou, vyšším z-skóre BMI a větším množstvím tělesného tuku než u nenositelů. U obézních dětí, přítomnost obou těchto polymorfismů MC3R asociovala s větším množstvím tělesného tuku, vyššími hladinami leptinu a inzulinu a vyšší inzulinovou rezistencí ve srovnání s heterozygotními nositeli či nenositeli (65). *In vitro* studie prokázaly, že tyto polymorfismy vedou k porušené signalizaci v rámci MC3R. Několik studií sledovalo vztah mezi přítomností těchto polymorfismů MC3R a odpovědí obézních jedinců na redukční režim. Vyšší prevalence nositelů MC3R polymorfismů byla identifikována

ve skupině dětí s nižšími hmotnostními úbytky po 6 a 12 měsících sledování (66). Výsledky v rámci NUGENOB studie naproti tomu neprokázaly vliv variant MC3R na účinek desetidenní intervence (67).

Mutace MC3R na rozdíl od mutací MC4R nejspíše nezpůsobují autozomálně dědičné formy monogenní obezity, jelikož studie na rodinách ve většině případů neprokázaly jasnou kosegraci mutace s daným fenotypem. Na druhou stranu výsledky dosavadních studií ukazují, že varianty tohoto genu přispívají k navýšení tělesného tuku (68). Rutinní screening MC3R u obézních jedinců zůstává tudíž stále diskutabilní.

POKROKY V MOLEKULÁRNĚ-GENETICKÉ LABORATORNÍ ANALÝZE

Výzkum i diagnostika genetických příčin monogenně podmíněné obezity byla donedávna omezena malým výkonem kapilárních sekvenátorů, technickou náročností metod a vysokými finančními náklady na stanovení. Před 10 lety došlo k technologickému zlomu v sekvenování deoxyribonukleové kyseliny (DNA). První světové laboratoře použily sekvenátory nové generace (next-generation sequencing, NGS), u nichž již není nutná separace a identifikace jednotlivých bází (čtení genetického kódu) pomocí elektroforézy. V nových přístrojích se paralelně ve stejný moment sekvenují miliony fragmentů DNA – sekvenování probíhá v reálném čase, čímž se o několik řádů zvýšila kapacita, rychlost a přesnost čtení genetické informace. Zjištěné sekvence DNA se porovnávají s referenčními pomocí bioinformatických algoritmů. Následně se nalezené odlišnosti v pořadí bází DNA ověřují s klinickými záznamy v databázích (např. ClinVar, COSMIC, 1000 Genomes, NHLBI Exome Variant Server, Variant Effect Predictor, PubMed). Hlavní část celého pracovního postupu se dnes přesouvá k analýze velkých objemů dat, vyhledávání subsekvencí v datech, srovnávání podobných DNA/ribonukleových kyselin (RNA) či proteinových sekvencí. Zatímco dříve byla časově nejnáročnější laboratorní část, dnes je to bioinformatické vyhodnocení a klinická interpretace výsledků. Zároveň se intenzivně vyvíjejí laboratorní postupy (69) jak z kompletní DNA konkrétního pacienta vybrat pouze geny požadované k analýze, tzv. příprava DNA knihoven. V současnosti je na trhu dostupných několik typů sekvenátorů upravených přímo pro diagnostiku, které začínají být využívány i rutinními molekulárně-genetickými laboratořemi. Endokrinologický ústav používá pro přípravu DNA knihoven genů spojených s monogenní obezitou reagenční soupravy HaloPlex firmy Agilent a sekvenátor MiSeq od firmy Illumina.

Je třeba si ale uvědomit, že většinu nově nalezených variant nedokážeme aktuálně zhodnotit z hlediska jejich klinického významu pro pacienta. Správná klinicko-genetická interpretace vyžaduje i rozsáhlé genetické/biochemické analýzy v rodině pacienta, funkční studie *in vitro* nebo na tkáňových kulturách. Nástup NGS je ale nyní tak masivní, že lze předpokládat rychlý nárůst dostupných geneticko-klinických záznamů v databázích z laboratoří celého světa, což tuto interpretaci u monogenní obezity usnadní a zpřesní.

ZÁVĚR

Dosud bylo identifikováno několik genů kódujících hormony, resp. neuropeptidy, a jejich receptory zapojené do regulace energetické bilance, jejichž mutace vedou k monogenně podmíněné obezitě. Nicméně v budoucnosti lze očekávat objevení dalších genů a chromozomálních lokusů zodpovědných

za rozvoj obezity. Příkladem může být nedávno popsaná delece chromozomální oblasti 16p11.2, která obsahuje Src homology 2 B adapter protein 1 (SH2B1). Ten se podílí na signalizaci leptinu a inzulinu (70, 71). SH2B1 zřejmě hraje významnou roli nejen v regulaci jídelního chování a tělesné hmotnosti, ale i v sociálních aspektech jedince. V objevení nových faktorů genetického pozadí obezity určitě nadále sehraje svoji roli technický pokrok. Na druhou stranu nelze opomenout důležitost důkladného anamnestického a klinického vyšetření, které může napomoci stanovit diagnózu a následně určit další diagnostický a terapeutický postup. Lze očekávat, že u pacientů s monogenními formami obezity budou využívány nové lékové formy zapojené do regulace CNS. V budoucnu se též u takto postižených jedinců dá očekávat i potenciální využití genového inženýrství či jasně cílených přístupů týkajících se nejen terapie, ale i prevence geneticky predisponovaných jedinců.

Seznam použitých zkratk

Zkratky v textu uvedené *kurzívou* označují gen, oproti tomu název jejich proteinového produktu je psán bez kurzívy.

ACTH	adrenokortikotropní hormon
AgRP	agouti-related peptide
BMI	body mass index
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
CART	cocaine-amphetamine related transcript
CCK	cholecystokinin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
GHSR	growth hormone secretagogue receptor
GIT	gastrointestinální trakt
GLP-1	glucagon-like peptide-1
INSR	inzulinový receptor
LEP	leptin
LEPR	leptinový receptor
LH	laterální hypothalamus
MCH	melanin koncentrující hormon
MC3R	melanokortinový receptor 3. typu
MC4R	melanokortinový receptor 4. typu
MSH	melanostimulující hormon
NGS	sekvenování nové generace (next-generation sequencing)
NTRK2	receptor neurotrofické tyrosinové kinázy 2. typu
PC1	prohormon konvertáza 1
PCSK1	proprotein konvertáza subtilisin/kexin typu 1
POMC	proopiomelanokortin
PYY ₃₋₃₆	peptid YY ₃₋₃₆
RNA	ribonukleová kyselina
RYGB	Roux-en-Y žaludeční bypass
SH2B1	Src homology 2 B adapter protein 1
SIM1	single-minded homolog 1
TrkB	neurotrofická tyrosinová kináza B
VMH	ventromediální hypothalamus
Y1R	Y1 receptor
Y2R	Y2 receptor

Podpořeno granty IGA MZ ČR NT/13792-4/2012, NT12342-5/2011 a MZ ČR – RVO (Endokrinologický ústav – EÚ, 00023761).

Literatura

1. Ingalls AM, et al. Obese, a new mutation in the house mouse. *Obes Res* 1996; 4: 101.
2. Ingalls AM, et al. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered* 1950; 41: 317–318.

3. Houseknecht KL, et al. The biology of leptin: a review. *J Anim Sci* 1998; 76: 1405–1420.
4. Zhang Y, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425–432.
5. Chua SC, et al. Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science* 1996; 271: 994–996.
6. Saeed S, et al. High prevalence of leptin and melanocortin-4 receptor gene mutations in children with severe obesity from Pakistani consanguineous families. *Mol Genet Metab* 2012; 106(1): 121–126.
7. Montague CT, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903–908.
8. Echwald SM, et al. Identification of two novel missense mutations in the human OB gene. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21: 321–326.
9. Karvonen MK, et al. Identification of new sequence variants in the leptin gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(9): 3239–3242.
10. Saeed S, et al. Changes in levels of peripheral hormones controlling appetite are inconsistent with hyperphagia in leptin-deficient subjects. *Endocrine* 2014; 45(3): 401–408.
11. Oksanen L, et al. Novel polymorphism of the human ob gene promoter in lean and morbidly obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21: 489–494.
12. Farooqi IS, et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med* 1999; 341(12): 879–884.
13. Farooqi IS, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest* 2002; 110(8): 1093–1103.
14. Galgani JE, et al. Leptin replacement prevents weight loss-induced metabolic adaptation in congenital leptin-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 851–855.
15. Andreev VP, et al. Deconvolution of insulin secretion, insulin hepatic extraction post-hepatic delivery rates and sensitivity during 24-hour standardized meals: time course of glucose homeostasis in leptin replacement treatment. *Horm Metab Res* 2009; 41: 142–151.
16. Frank S, et al. Long-term stabilization effects of leptin on brain functions in a leptin-deficient patient. *PLoS One* 2013; 14: e65893.
17. von Schnurbein J, et al. Rapid improvement of hepatic steatosis after initiation of leptin substitution in a leptin-deficient girl. *Horm Res Paediatr* 2013; 79(5): 310–317.
18. Mazen I, et al. Homozygosity for a novel missense mutation in the leptin receptor gene (P316T) in two Egyptian cousins with severe early onset obesity. *Mol Genet Metab* 2011; 102(4): 461–464.
19. Andiran N, et al. Homozygosity for two missense mutations in the leptin receptor gene (P316:W646C) in a Turkmenian girl with severe early-onset obesity. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2011; 24(11–12): 1043–1045.
20. Clement K, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392: 398–401.
21. Masuo K, et al. Leptin-receptor polymorphisms relate to obesity through blunted leptin-mediated sympathetic nerve activation in a Caucasian male population. *Hypertens Res* 2008; 31: 1093–1100.
22. Heo M, et al. Pooling analysis of genetic data: the association of leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics* 2001; 159(3): 1163–1178.
23. Le Beyec J, et al. Homozygous leptin receptor mutation due to uniparental disomy of chromosome 1: response to bariatric surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(2): E397–402.
24. Zhou A, et al. The prohormone convertases PC1 and PC2 mediate distinct endoproteolytic cleavages in a strict temporal order during proopiomelanocortin biosynthesis processing. *J Biol Chem* 1993; 268(3): 1763–1769.
25. Jackson RS, et al. Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1. *Nat. Genet* 1997; 16: 303–306.
26. Jackson RS, et al. Small-intestinal dysfunction accompanies the complex

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

- endocrinopathy of human proprotein convertase 1 deficiency. *J Clin Invest* 2003; 112: 1550–1560.
- 27. Farooqi IS, et al.** Hyperphagia and early-onset obesity due to a novel homozygous missense mutation in prohormone convertase 1/3. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 3369–3373.
- 28. Seidah NG.** The proprotein convertases, 20 years later. *Methods Mol Biol* 2011; 768: 23–57.
- 29. Martín MG, et al.** Congenital proprotein convertase 1/3 deficiency causes malabsorptive diarrhea and other endocrinopathies in a pediatric cohort. *Gastroenterology* 2013; 145(1): 138–148.
- 30. Benzinou M, et al.** Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity. *Nat Genet* 2008; 40: 943–945.
- 31. O'Donohue TL, Dorsa DM.** The opiomelanotropinergic neuronal and endocrine system. *Peptides* 1982; 3(3): 353–395.
- 32. Whitfield PL, et al.** The human pro-opiomelanocortin gene. *DNA* 1982; 143(1): 133–143.
- 33. Clément K, et al.** Unexpected endocrine features and normal pigmentation in a young adult patient carrying a novel homozygous mutation in the POMC gene. *Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(12): 4955–4962.
- 34. Krude H, et al.** Obesity due to proopiomelanocortin deficiency: three new cases and treatment trials with thyroid hormone and ACTH4–10. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(10): 4633–4640.
- 35. Krude H, et al.** Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet* 1998; 19(2): 155–157.
- 36. Krude H, Gruters A.** Implications of proopiomelanocortin (POMC) mutations in humans: the POMC deficiency syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11(1): 15–22.
- 37. Aldhoon-Hainerová I, Lebl J.** Treatment options for children with monogenic forms of obesity. *World Rev Nutr Diet* 2013; 106: 105–112.
- 38. Santoro N, et al.** Weight loss in obese children carrying the proopiomelanocortin R236G variant. *J Endocrinol Invest* 2006; 29: 226–230.
- 39. Gantz I, et al.** Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor. *J Biol Chem* 1993; 15(20): 15174–15179.
- 40. Hainerová I, et al.** Melanocortin 4 receptor mutations in obese Czech children: studies of prevalence, phenotype development, weight reduction response, and functional analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 3689–3696.
- 41. Martinelli CE, et al.** Obesity due to melanocortin 4 receptor (MC4R) deficiency is associated with increased linear growth and final height, fasting hyperinsulinemia, and incompletely suppressed growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(1): E181–E188.
- 42. Hinney A, et al.** Prevalence, spectrum, and functional characterization of melanocortin-4 receptor gene mutations in a representative population-based sample and obese adults from Germany. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1761–1769.
- 43. Roubert P, et al.** Novel pharmacological MC4R agonists can efficiently activate mutated MC4R from obese patient with impaired endogenous agonist response. *J Endocrinol* 2010; 207: 177–1783.
- 44. René P, et al.** Pharmacological chaperones restore function to MC4R mutants responsible for severe early-onset obesity. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 335: 520–532.
- 45. Reinehr T, et al.** Lifestyle intervention in obese children with variations in the melanocortin 4 receptor gene. *Obesity (Silver Spring)* 2009; 17: 382–389.
- 46. Danielsson P, et al.** Impact sibutramine therapy in children with hypothalamic obesity or obesity with aggravating syndromes. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 4101–4106.
- 47. Aldhoon Hainerová I, et al.** Hypogonadotropic hypogonadism in a homozygous MC4R mutation carrier and the effect of sibutramine treatment on body weight and obesity-related health risks. *Obes Facts* 2011; 4(4): 324–328.
- 48. Potoczna N, et al.** Gene variants and binge eating as predictors of comorbidity and outcome of treatment in severe obesity. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 971–981.
- 49. Aslan IR, et al.** Bariatric surgery in a patient with complete MC4R deficiency. *Int J Obes (Lond)* 2011; 35: 457–461.
- 50. Aslan IR, et al.** Weight loss after Roux-en-Y gastric bypass in obese patients heterozygous for MC4R mutations. *Obes Surg* 2011; 21: 930–934.
- 51. Hatoum IJ, et al.** Melanocortin-4 receptor signaling is required for weight loss after gastric bypass surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(6): E1023–E1031.
- 52. Michaud JL, et al.** Sim1 haploinsufficiency causes hyperphagia, obesity and reduction of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 1465–1473.
- 53. Holder JL, et al.** Profound obesity associated with a balanced translocation that disrupts the SIM1 gene. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 101–108.
- 54. Hung CC, et al.** Studies of the SIM1 gene in relation to human obesity and obesity-related traits. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31(3): 429–434.
- 55. Zegers D, et al.** Mutation screen of the SIM1 gene in pediatric patients with early-onset obesity. *Int J Obes (Lond)* 2013; Epub ahead of print.
- 56. Ramachandrapa S, et al.** Rare variants in single-minded 1 (SIM1) are associated with severe obesity. *J Clin Invest* 2013; 123(7): 3042–3050.
- 57. Xu Y, et al.** Glutamate mediates the function of melanocortin receptor 4 on Sim1 neurons in body weight regulation. *Cell Metab* 2013; 18(6): 860–870.
- 58. Xu B, et al.** Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat. Neurosci* 2003; 6: 736–742.
- 59. Yeo GS, et al.** A de novo mutation affecting human TrkB associated with severe obesity and developmental delay. *Nat Neurosci* 2004; 7: 1187–1189.
- 60. Gray J, et al.** Hyperphagia, severe obesity, impaired cognitive function, and hyperactivity associated with functional loss of one copy of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Diabetes* 2006; 55(12): 3366–3371.
- 61. Han JC, et al.** Brain-derived neurotrophic factor and obesity in the WAGR syndrome. *N Engl J Med* 2008; 359(9): 918–927.
- 62. Gray J, et al.** Functional characterization of human NTRK2 mutations identified in patients with severe early-onset obesity. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31(2): 359–364.
- 63. Lee YS, et al.** The role of melanocortin 3 receptor gene in childhood obesity. *Diabetes* 2007; 56(10): 2622–2630.
- 64. Zegers D, et al.** Prevalence of rare MC3R variants in obese cases and lean controls. *Endocrine* 2013; 44(2): 386–390.
- 65. Feng N, et al.** Co-occurrence of two partially inactivating polymorphisms of MC3R is associated with pediatric-onset obesity. *Diabetes* 2005; 54(9): 2663–2667.
- 66. Santoro N, et al.** Effect of the melanocortin-3 receptor C17A and G241A variants on weight loss in childhood obesity. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(4): 950–953.
- 67. Santos JL, et al.** Consortium Allelic variants of melanocortin 3 receptor gene (MC3R) and weight loss in obesity: a randomised trial of hypo-energetic high- versus low-fat diets. *PLoS One* 2011; 6(6): e19934.
- 68. Lee YS.** Melanocortin 3 receptor gene and melanocortin 4 receptor gene mutations: the Asian Perspective. *Diabetes Metab Res Rev* 2012; 28: 26–31.
- 69. Bonnefond A, et al.** Highly sensitive diagnosis of 43 monogenic forms of diabetes or obesity through one-step PCR-based enrichment in combination with next-generation sequencing. *Diabetes Care* 2014; 37(2): 460–467.
- 70. Bochukova EG, et al.** Large, rare chromosomal deletions associated with severe early-onset obesity. *Nature* 2010; 463: 666–670.
- 71. Doche ME, et al.** Human SH2B1 mutations are associated with maladaptive behaviors and obesity. *J Clin Invest* 2012; 122(12): 4732–4736.

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Irena Aldhoon-Hainerová, Ph.D.
Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FNKV
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10
e-mail: ihainer@hotmail.com

Kolorektální karcinom (část 3)

6.–7. prosince 2013, Praha

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

následující text představuje třetí, poslední část abstrakt ze 2. národního kongresu o kolorektálním karcinomu a 4 postgraduálního kurzu Společnosti pro gastrointestinální onkologii ČLS JEP (SGO), který se konal v prosinci loňského roku. Tato abstrakta jsou zaměřena na chirurgickou a onkologickou léčbu kolorektálního karcinomu (KRK), včetně jatrných metastáz a pragmatické hodnocení kvality péče v digestivní onkologii. V chirurgické části je zmíněno vyšetření sentinelové uzliny, které může zlepšit přesnost určení stadia onemocnění. Problematika tumor infiltrujiících lymfocytů (TIL) je zde nahlížena z pohledu dvou pracovišť – plzeňského a pražského. Obě studie potvrdily význam TIL jako významného prognostického faktoru, pomocí kterého lze identifikovat pacienty ohrožené rekurencí KRK. Otázkou lokalizace primárního nádoru se zabývají dvě abstrakta, která souhlasně popisují rozdíl mezi levostranným a pravostranným kolorektálním karcinomem. Z pohledu patologa je důležitá implementace standardního protokolu při vyhod-

nocování preparátů resektovaného KRK. V sekci onkologická léčba jsou abstrakta zaměřena na terapii metastatického KRK, zejména na vyšetření onkogenů RAS, neadjuvantní terapii a doporučený algoritmus léčby. Generalizací tumoru do jater a plic se zabývají také texty orientované na roli multioborového týmu, a to z pohledu radiologa, chirurga a onkologa. V poslední části jsou popsána kritéria pro hodnocení kvality péče, a to jak v digestivní onkologii obecně, tak i v případě kolorektálního karcinomu.

Věřím, že všechna abstrakta publikovaná v posledních třech číslech tohoto časopisu budou přínosem pro vaši klinickou praxi a budou sloužit jako pozvánka na další ročník Národního kongresu o kolorektálním karcinomu a postgraduálního kurzu SGO v roce 2015.

prof. MUDr. Miroslav Zavoral, Ph.D.
předseda organizačního výboru kongresu
předseda Společnosti pro gastrointestinální
onkologii ČLS JEP

CHIRURGICKÁ LÉČBA

Sentinelová uzlina

Duběn J., Gatěk J., Dudašek B., Kotoč J., Kosáč P., Vážan P.
Chirurgické oddělení nemocnice Atlas a. s., Univerzita
T. Bati, Biopoptická a cytologická laboratoř, Zlín

Úvod: Kolorektální karcinom představuje druhou nejčastější malignitu v rozvinutých zemích a je 4. nejčastější malignitou vedoucí k úmrtí pacienta. Standardem chirurgické léčby je segmentální resektce s en-bloc lymfadenektomií. Regionální metastázy v lymfatických uzlinách jsou jedním z nejdůležitějších faktorů indikace k adjuvantní léčbě systémovou chemoterapií. Pětileté přežití u stadia I je 90 %, u stadia II je 75%. Tato stadia jsou definována jako stadia s negativními uzlinami (NO), přesto se u 30 % pacientů v těchto stádiích vyvinou vzdálené metastázy a pacienti umírají na kolorektální karcinom. Jednou z příčin tohoto stavu je chybné zařazení do časnějšího stadia u pacientů během diagnostického procesu včetně rozsahu chirurgického výkonu (nedostatečný rozsah) a histopatologického vyšetření – nedetekované metastázy, mikrometastázy a ITC v lymfatických uzlinách. V případě histopatologického vyšetření se jedná o absolutní počet vyšetřených uzlin a techniku vyšetření. Dnešním histopatologickým standardem je vyšetření lymfatických uzlin jedním 4 µm řezem vedeným každou uzlinou. Ideálním řešením by bylo vyšetření všech odebraných uzlin sériovými řezy, imunohistochemicky či RT-PCR technikami. Vyšetření sériovými řezy či imunohistochemicky by však bylo pro velké množství detekovaných uzlin časově a technicky velmi náročné a drahé. Koncept sentinelové uzliny nabízí řešení jak zlepšit přesnost určení stadia onemocnění. Přínosem biopsie sentinelové uzliny je mimo jiné i možnost podrobného vyšetření pouze několika uzlin.

Lymfogenní metastazování kolorektálního karcinomu: Lymfogenní metastazování u kolorektálního karcinomu nejčastěji probíhá do lymfatických uzlin podél příslušných arterií. Jsou popsány i extraanatomické lymfatické metastázy a lymfatické metastazování podél stěny střevní. Možné je také metastazování podél centrálněji následující arkádové tepny až ke kmeni a. mesenterica superior či inferior a tyto uzliny jsou popisovány jako vzdálené metastázy. U a. mesenterica inferior se jedná o metastazování do oblasti preaortální a levé paraaortální, zřídka také do oblasti interaortokavální. Konečně přes uzliny za pankreatem je možné šíření do hepatoduodenálního ligamenta. Podobně se chová i v případě vzdáleného metastazování a. mesenterica superior. Tyto vzdálené metastázy nejsou objektem standardní lymfadenektomie, ale mají smysl v případě terapeutické lymfadenektomie. Ze studie japonského chirurga Jinaie vyplývá, že maximum časných metastáz do uzlin se nachází v oblasti podél stěny střevní proximálně ve vzdálenosti 7,5 cm, a proto je nutné se věnovat arteriálním splavům této oblasti. U tumorů v obou flexurách je nezbytné předpokládat metastazování oběma směry. Nádory pravé flexury metastazují v oblasti a. colica dextra (která jen v 15 % odstupuje přímo z a. mesenterica superior), ale také metastazují podél a. ileocolica a stejně tak podél pravého raménka a. colica media. Karcinomy kolon transversum mohou metastazovat v rámci velké sítě i do oblasti arkády a. gastroepiploica dextra. Nádory levé poloviny kolon transversum se mohou šířit také do uzlin při dolní hraně pankreatu. U karcinomů v blízkosti levého kolon se zvětšuje množství metastáz v oblasti kmene a. mesenterica inferior šířící se přes odpovídající arterie a to především přes a. colica sinistra ascendens. Naproti tomu u karcinomů proximální části kolon descendens jsou metastázy nálezány při kmeni a. colica media. Karcinomy sigmoidea metastazují výhradně do uzlin ke kmeni a. mesenterica inferior, což platí i pro karcinomy rekta. Kontroverzní je v současnosti i názor na vysokou ligaturu art. mesenterica inf. Karcinomy horní třetiny rekta metastazují

ABSTRAKTA

aborálně pouze do vzdálenosti 4 cm, a proto je nutné provést resekci mezorekta 5 cm aborálně od hranice nádoru. Tumory dolních dvou třetin rekta metastazují do jakýchkoli části mezorekta, tudíž je vždy nezbytné provést totální excisi mezorekta. Na rozdíl od Japonska je kontroverzní řešení metastazování tumorů dolní třetiny rekta podél a. iliaca interna. Metastázy zde mohou být nalezeny až ve 40 % u lokálně pokročilých tumorů. Byla publikována anatomická studie laterálních pelvických uzlin se zaměřením na výskyt metastáz a technickými problémy vznikajícími při laterální lymfadenektomii v chirurgické terapii karcinomu rekta. V oblasti malé pánve bylo na 16 kadaverech nalezeno průměrně 28,6 uzlin (16–46) s maximem výskytu ve fossa obturatoria. Hypogastrické uzliny leží převážně v blízkosti dolního hypogastrického plexu, ale zasahují až k hlubokým pánevním žilám. Potíže při pánevní lymfadenektomii jsou spojeny mimo jiné s identifikací hypogastrických nervů a ev. následnou sexuální dysfunkcí. Komplikace spojené s rutinním prováděním pánevní laterální lymfadenektomie mohou být řešeny aplikací techniky značení tumoru radiokoloidem, který označí spádové lymfatické uzliny.

Zásady lymfadenektomie – prognostické faktory, doporučený počet vyšetřených uzlin, lymfatický staging: Po kurativní resekci kolorektálního karcinomu přibližně kolem 50 % pacientů umírá na metastázy v prvních 5 letech. Staging nám umožňuje diferencovat různé skupiny onemocnění s různou prognózou. Současný staging vychází z modifikované Dukesy klasifikace, resp. z klasifikace TNM. Pacienti klasifikováni dle Dukesy A/stadium I mají pětileté přežití cca 90 %, ve stadiu Dukesy B/stadium II 70–80 % a ve stadiu Dukesy C/stadium III 35–60 %. Studie s adjuvantní chemoterapií potvrdily snížení mortality ve stadiu Dukesy B/C o 22 %. Třileté přežití se zvýšilo z 64 % na 76 % u stadia Dukesy C. Přesto u 27 % pacientů s Dukesy B2 dojde k relapsu onemocnění do 5 let. Relaps u pacientů ve stadiu B2 je pravděpodobně způsoben okultními metastázami v lymfatických uzlinách či šířením nádoru mimo lymfatické uzliny. Pokud by bylo možné tuto rizikovou skupinu pacientů identifikovat, může profitovat z adjuvantní chemoterapie. Současné metody stagingu však nejsou dostatečně citlivé. V případě lymfatického šíření mohou být pozitivní lymfatické uzliny také přehlédnuty, pokud je vyšetřeno jen malé množství uzlin. Studie z osmdesátých a devadesátých let potvrdily, že u více než 75 % pacientů s kolorektálním karcinomem je vyšetřeno méně než 10 uzlin. Po celosvětové diskuzi a na základě randomizovaných studií na téma nezbytného počtu vyšetřených uzlin se sešla komise odborníků na kolorektální karcinom v roce 1990 při světovém gastroenterologickém kongresu v Sydney. Výsledkem bylo doporučení ke klinicko-patologickému stagingu a chirurgii kolorektálního karcinomu. Další doporučení (Guidelines 2000 for Colon and Rectal Cancer Surgery) následovala z expertního panelu chirurgů při americkém National Cancer Institute (NCI) a na základě randomizovaných studií byl doporučen při operaci kolorektálního karcinomu jako minimální počet 12 vyšetřených uzlin. Identifikace lymfatických uzlin v resekátu není jednoduchá, a proto byly vyvinuty techniky „fat clearance“ ke zvýšení počtu detekovaných lymfatických uzlin. Technika izolace uzlin pomocí alkoholu zvyšila průměrný počet vyšetřených uzlin na 18,5, resp. na 39 dále až na 52. K upstagingu a migraci ze stadia Dukesy B na stádium Dukesy C došlo u 8,6 % pacientů. Tato technika je velmi pracná a náročná na čas. Modernější metody popsaly rychlejší rozpouštění tuku s průměrným počtem vyšetřených uzlin až 58 a také se zvýšeným počtem nalezených pozitivních uzlin na 53 %. Ačkoliv techniky rozpouštění tuku vedly k upstagingu pacientů, nedošlo ke zlepšení přežívání u skupiny pacientů s negativními uzlinami. Přes pokrok jsou stále všechny tyto techniky náročné na zpracování preparátu a čas a nejsou proto rutinně používány.

Při určení prognózy onemocnění stejně jako u karcinomu žaludku a jícnu, se však stále více prosazuje názor, že poměr pozitivních uzlin a negativních uzlin má větší prognostický význam než pouze absolutní počet pozitivních uzlin. Stále však platí, že je nezbytný minimální počet vyšetřených uzlin i při hodnocení poměru pozitivních a negativních uzlin. Předmětem výzkumu je nyní vhodné rozdělení vyšetřených uzlin do jednotlivých rizikových skupin podle jejich vzájemného poměru. Pacienti jsou rozdělováni nejčastěji do čtyř skupin podle poměru pozitivních a negativních uzlin. LNR skupiny: 1 ($0 < \text{LNR} \leq 0,1$); 2 ($0,1 < \text{LNR} \leq 0,25$); 3 ($0,25 < \text{LNR} \leq 0,5$); a 4 ($\text{LNR} > 0,5$) pětileté přežití u jednotlivých skupin LNR1, LNR2, LNR3 a LNR4 bylo 73 %, 64 %, 44 % a 22 % (Qiu).

Současná doporučení v oblasti lymfadenektomie:

NCCN guidelines 1. 2014:

- Lymfatické uzliny v oblasti vyživujících cév mají být identifikovány pro vyšetření patologem.
- Klinicky pozitivní lymfatické uzliny mimo oblast resekce mají být biopskovány a odstraněny.
- ponechané pozitivní uzliny pak značí inkompletní resekci (R2).
- **Minimum 12 lymfatických uzlin** musí být vyšetřeno ke stanovení N stadia.

AJCC 2010 staging system (TNM 7. edice): Počet postižených uzlin rozdělil odebrané uzliny na N1 a N2 skupinu. Skupina N1 byla dále rozdělena na N1a (metastáza v jedné uzlině) a N1b (metastázy ve 2–3 uzlinách). N2 byla rozdělena na N2a (metastázy ve 4–6 uzlinách) a na skupinu N2b (metastázy ve více než sedmi uzlinách). Obě nové podskupiny reprezentují vždy cca 50 % pacientů.

Minimální počet vyšetřených uzlin je 12.

Modrá kniha České onkologické společnosti 17. vydání (2013):

Indikace pro adjuvantní chemoterapii ve stadiu II (pT3, N0, M0 high-risk podskupina).

High-risk skupina: neznámé resekční okraje, obstrukce, perforace střeva nádorem, špatná diferenciacie nádoru, mucinózní složka, **nedostatečný počet vyšetřených lymfatických uzlin** (podmínkou pro přesný patologický staging je vyšetření **nejméně 12 lymfatických uzlin**). Lymfatická a/nebo vaskulární a/nebo perineuronální invaze.

Sentinelová uzlina – historie: V roce 1977 Cabanas byl první, kdo použil termín „sentinelová uzlina“ u pacientů s karcinomem penisu. V roce 1992 Wong popsal techniku detekce sentinelové uzliny na „felino model“. Ve stejném roce Morton popsal techniku a klinické využití metody u pacientů s melanomem. Morton použil techniku mapování pomocí Blue, další autoři použili k detekci sentinelové uzliny gama sondu. V roce 1994 Giuliano popsal techniku sentinelové uzliny u karcinomu prsu. Od té doby byl koncept sentinelové uzliny použit v mnoha rozličných lokalizacích – karcinomu štítné žlázy, vulvy, jazyku, oesofagu, žaludku, plic, kolon a rekta. V roce 1990 popsal Joosten první použití techniky sentinelové uzliny u kolorektálního karcinomu. U 50 pacientů použil techniku aplikace 1–2 ml Patentblue V, kterou instiloval do okolí tumoru subserózně a submukózně pomocí rektoskopu. Techniku použil u pacientů s karcinomem rekta. Identifikoval sentinelovou uzlinu u 70 % pacientů, se senzitivitou okolo 45 %. Saha a Wiese byli prvními autory, kteří popsal úspěšnou techniku lymfatického mapování s použitím modré barvy (Isosulfan blue = Lymfazurin). Dokázali identifikovat sentinelové uzliny u 99–100 % pacientů s vysokou senzitivitou 91 %, resp. 92 %. Kitagawa popsal odlišnou techniku mapování s použitím radioaktivního nosiče. Endoskopicky aplikoval ^{99m}Tc koloid do submukózy několik hodin před operaci. Jelikož má nosič větší molekulu a je absorbován makrofágy, přetrvává v sentinelových uzlinách delší dobu a odstraňuje problém s průchodem uzlinou jako je u Patent blue. Wong popsal tzv. *ex vivo* metodu lymfatického mapování. Po excisi preparátu patolog aplikoval Blue dye do submukózy na antimezenterální straně. Jelikož i Blue dye aplikována po excisi preparátu také prochází lymfaticky a nabarví uzliny, je možné provést mapování i tímto způsobem. Při použití této techniky však není možné detekovat ektopicky uložené uzliny. Někteří autoři (stejně jako v našem souboru) používají kombinovanou semi *ex vivo* techniku. Blue dye je aplikována *in vivo* a uzliny jsou detekovány *ex vivo*. Bilchik provádí tuto techniku jako doplňkovou při selhání *in vivo* techniky. Ve všech studiích, jež obsahují karcinom rekta, je zdůrazněno, že identifikace je u karcinomu rekta mnohem složitější a je zatížena vyšším počtem falešně negativních uzlin. Je to způsobeno anatomii mezorekta, jež postrádá serózní obal, je mnohem tlustší a neforemnější než mezokolon a je hladké. Také extraperitoneální pozice mezorekta znesnadňuje přehled a detekci zbarvených uzlin. Principem chirurgického výkonu na kolorektu je odstranění primární léze společně s přílehlou oblastí lymfatické drenáže mezenteria. Biopsie sentinelové uzliny u kolorektálního karcinomu nevede zásadně na rozdíl od melanomu a karcinomu prsu ke změně techniky ani rozsahu výkonu. Typicky je využívána ke zlepšení stagingu. Lymfatické mapování však může změnit rozsah výkonu, pokud se prokáže aberantní drenáž tumoru, která je definována jako uložení sentinelové uzliny mimo oblast předpokládaného rozsahu resek-

ce. Detekce aberantní lymfatické drenáže je však smysluplná pouze při aplikaci *in vivo* techniky lymfatického mapování a chirurg, který během výkonu detekuje aberantní lymfatickou drenáž je schopen přizpůsobit rozsah výkonu mapované oblasti. Nejčastěji se aberantní lymfatická drenáž vyskytuje u karcinomu pravého kolon a sigmoidu.

Histologické vyšetření lymfatických uzlin u kolorektálního karcinomu: Standardem histologického vyšetření lymfatických uzlin u karcinomu kolorekta je vyšetření všech odebraných uzlin jedním 4 µm řezem každou odebranou uzlinou. Preparát je barven hematoxylin eosinem a metastázy jsou detekovány mikroskopicky. Standardem vyšetření sentinelových uzlin je metodika sériových řezů a ev. imunohistochemické a RT-PCR vyšetření. Upstaging je definován jako metastázy či mikrometastázy nalezené v sentinelových uzlinách, a to v jiných řezech než ve standardním řezu. Použitím metodiky lymfatického mapování a vyšetřením sentinelových uzlin dochází k upstagingu v cca 5–15 % případů.

Imunohistochemické vyšetření ev. RT-PCR techniky zlepšují staging onemocnění, nicméně jsou příliš technicky a časově náročné, pokud bychom je použili na všechny nalezené uzliny. Zvláště se stává problémem v dnešní době, kdy je kladen důraz na co největší počet vyšetřených uzlin. Problém odpadá, pokud ovšem použijeme těchto moderních technik k vyšetření sentinelových uzlin, u nichž je nejvyšší šance na postižení metastázami. Jsou často jedinými, v nichž je metastáza nalezena. Pokud by byla technika sentinelové uzliny uznána jako ověřená i v případě kolorektálního karcinomu, pak by bylo možné se soustředit pouze na sentinelovou uzlinu (nebo několik) uzlin a detekovat v nich metastázy, mikrometastázy či volné buňky. Technika sentinelové uzliny tudíž má potenciál stát se rychlejší a levnější procedurou při stanovení přesného stagingu kolorektálního karcinomu.

Současná technika lymfatického mapování a biopsie SLN u kolorektálního karcinomu: Ke značení lymfatických uzlin jsou nejčastěji používány lymfotropní látky Isosulfan Blue a Patentblau. Látka se aplikuje subserózně – vpichy jsou vedeny tenkou jehlou cirkulárně okolo tumoru. Při extrakci jehly je nutné vytvořit podtlak, jinak dochází k výronu barvy. Po aplikaci je nutné vyčkat 3–10 minut, než dojde k úplnému mapování lymfatického stromu. Aplikace je možná *in vivo* či *ex vivo* technikou. *n vivo* technika je výhodná pro možnost detekce aberantní lymfatické drenáže tumoru a možné korekce výkonu, což odpadá při *ex vivo* identifikaci. *Ex vivo* technika je prováděna patologem. K aplikaci je vhodný nefixovaný preparát a je nutné provádět mapování bezprostředně po výkonu. *Ex vivo* technika má výhodu exaktní aplikace barviva do submukózy na rozstříženém preparátu a neprodukuje operační výkon. Obě techniky přinášejí ekvivalentní výsledky, co se týče senzitivity. Další možností je použití ^{99m}Tc koloidu. Používá se jednodenní či dvoudenní protokol. Podle velikosti použité molekuly pak radiokoloid zůstává různou dobu v mapovaných uzlinách a je detekovatelný gama sondou. V současné době je preferován především u karcinomu rekta, kde je obtížnější detekce zbarvených uzlin.

Technika sentinelové uzliny je novým pokrokem v kolorektální chirurgii. Kromě dvou iniciálních studií všechny ostatní studie prokázaly úspěšné lymfatické mapování. Je možné s vysokou pravděpodobností identifikovat sentinelové uzliny u většiny pacientů, a předpovědět tak stav uzlin s vysokou přesností. S pomocí aplikace „blue dye“ je technika jednoduchá, levná, rychlá a může být použita na kterémkoli pracovišti. Metodika má krátkou učební dobu, po níž může být dosaženo procento záchytu blížící se 100 %. I když vlastní sentinelová uzlina je prakticky vždy detekována, může být falešně negativní. Důvody falešné negativity SLN:

- Obstrukce lymfatických cest tumorem může změnit směr toku lymfatických uzlin do alternativních cest vedoucích do dalších lymfatických uzlin, jež mohou být následně identifikovány jako sentinelové a nemusí v tomto případě obsahovat metastázu (popsáno i u karcinomu prsu). Nádor může také při šíření mimo stěnu střevní ev. rekta prorůstat přímo do přilehlých uzlin a deformovat lymfatickou síť.
- Chyby v samplingu se mohou vyskytnout během standardního patologického vyšetření sentinelové uzliny. Je vyšetřeno asi 0,04 % lymfatické uzliny, a je tak možné přehlédnutí metastázy.
- Během mobilizace kolon nebo rekta je možná destrukce lymfatické uzliny, a tím se znemožní nabarvení sentinelové uzliny.
- Procedurální chyba může také vést ke špatné identifikaci sentinelové uzliny. Místo aplikace je velmi důležité. Je třeba aplikovat

látku cirkulárně okolo tumoru, jinak může dojít ke špatné identifikaci sentinelové uzliny.

Falešná negativita sentinelové uzliny nicméně většinou neovlivní staging onemocnění. Technika sentinelové uzliny je totiž vždy doprovázena standardní resekcí mezokolon či mezorekta s patologickým vyšetřením všech nalezených uzlin. To znamená, že downstaging není častý. Nicméně jedna uzlina obsahující metastázu menší než 5 mm je těžko k nalezení klasickou patologickou technikou. Pomocí techniky sentinelové uzliny však může být nalezena, a vést tak k upstagingu, tzn. ke správnému zařazení do stadia. Technika sentinelové uzliny může odhalit aberantní lymfatickou drenáž v 2–15 % případů u klasických technik a ve 28–36 % případů u laparoskopických technik, což vede následně k rozšíření resekce. Nález ektopických sentinelových uzlin mohou být důležité u karcinomu rekta.

Studie z Japonska ukázaly signifikantně vyšší četnost recidiv a kratší dobu přežití pokud laterální uzliny obsahují mikrometastázy, což může prokázat metodika lymfatického mapování. I když tumory většinou dříve metastazují do perirektálních uzlin, tak v určitých případech (7,7 %) mohou být jedinými uzlinami, do nichž tumor metastazuje. Kitagawa nalezl laterální uzlinu jako sentinelovou v 10 % případů u pacientů s nízkým karcinomem rekta.

Na základě metaanalýzy všech prací zabývajících se tematikou sentinelových uzlin u kolorektálního karcinomu, publikovanou v Lancet Oncology 2011 byl položen základ pro budoucí studie, které jsou nezbytné pro stanovení významu lymfatického mapování a biopsie sentinelové uzliny u kolorektálního karcinomu:

Panel: Recommendations for future studies of sentinel lymph nodes in patients with colorectal cancer

- At least 20 sentinel-lymph-node procedures should be done by each surgeon in charge of dye injection to account for the learning curve.
- Patients with clinical signs of lymph-node involvement or metastatic disease should be excluded.
- The sentinel lymph node should be identified as the first lymph node to accumulate tracer material by the person undertaking the tracer-material injection during the procedure in the resected specimen, which has been freshly harvested and not processed (eg, by fixation in formalin).
- Data for rectal and colon cancer should be analysed and reported separately.
- When all lymph nodes are haematoxylin and eosin negative, the pathological assessment of the sentinel node should at least include multi-sectioning. One section of each ribbon should be assessed with haematoxylin and eosin staining. If no metastases are identified the rest of the sections should be assessed with immunohistochemistry. Based on published works, we recommend the use of at least CAM5.2 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) at five sections with 250 µm intervals.
- All metastases identified by immunohistochemistry and multi-sectioning should be classified and reported as done by Hermanek and colleagues, occult tumour cells < 0.2 mm, micrometastasis 0.2–2.0 mm, and metastasis > 2.0 mm.
- The number of non-sentinel lymph nodes and sentinel lymph nodes identified should be reported. The pathologist should aim to retrieve a minimum of 12 lymph nodes (including sentinel lymph node).

Závěr: Technika lymfatického mapování a biopsie sentinelové uzliny je novým pokrokem v kolorektální chirurgii. Použití techniky lymfatického mapování je jednoduchá, levná a obecně aplikovatelná metoda s krátkou učební dobou, s možností provádění na jakémkoli pracovišti. Signifikantně zvyšuje počet vyšetřených uzlin a selektuje sentinelové uzliny k podrobnějšímu vyšetření. *In vivo* aplikovaná metoda lymfatického mapování dále napomáhá peroperační rozvaze ohledně rozsahu resekce. Je viditelně zobrazena oblast možných lymfatických metastáz, což usnadňuje operujícímu chirurgovi rozhodnutí o rozsahu resekce při postižení rizikových částí střeva na rozhraní cévního zásobení (resekce sigmoidu či levostranná hemikolektomie, rozsah resekce při tumoru transverza, tumorů flexur – především lienální). Lymfatické mapování usnadňuje výběr uzlin, které jsou nejvíce rizikové pro výskyt metastáz. Těmto uzlinám je pak věnována větší pozornost při patologicko-anatomickém vyšetření.

ABSTRAKTA

T infiltrující lymfocyty při kolorektálním karcinomu – pohledem z Plzně

Liška V., Daum O., Novák P., Třeška V., Vyčítal O., Brůha J., Pítule P., Holubec L.
LF UK, Plzeň

Úvod: Hlavním medicínským problémem kolorektálního karcinomu (KRCA) je vysoké riziko recidivy po radikálním chirurgickém výkonu. Tumor infiltrující lymfocyty (TIL) byly popsány jako dobrý prognostický faktor u pacientů s KRCA s vysokým rizikem recidivy onemocnění. Jejich počet, typ a morfologie odráží prognózu maligního onemocnění. TIL jsou důležitým faktorem, který nás informuje o schopnosti organismu potlačit rozvoj malignity.

Cíl: Autoři hodnotili vztah mezi známými klinickými a histopatologickými faktory a TIL za účelem diagnostiky pacientů s vysokým rizikem krátkého celkového přežití (OS) a časně recidivy (krátké bezpříznakové přežití – DFI) po radikální chirurgické terapii.

Metodika: Byl zpracován soubor 150 pacientů elektivně radikálně operovaných pacientů pro KRCA na Chirurgické klinice FN Plzeň v letech 2004–2007. Byla provedena statistická analýza následujících faktorů: předoperační leukocytóza, radikality, pooperační komplikace, onkologická terapie, grading, staging, morfologická struktura TIL, počty TIL a reaktivní změny lymfatických uzlin (LU) ve vztahu k OS a DFI. Byla hodnocena imunohistopatologická pozitivita lymfocytů (CD4+, CD8+).

Výsledky: Ve studii se nacházelo 93 mužů a 57 žen, OS 1, 3 a 5 let bylo 92,2 %, 76,5 % a 70,2 %, DFI 1,3 a 5 let pak 85,3 %, 64,3 % a 49,4 %. Endovaskulární infiltrace a infiltrace LU metastázami byly prokázány jako negativní prognostické faktory OS. N2 postižení LU snižuje OS 9,3krát a DFI 5krát. Přítomnost Crohn-like peritumorální lymfocytární infiltrace (PTL), PTL a folikulární hyperplazie byla prokázána jako pozitivní (protektivní) faktor.

CD8+ TIL byly prokázány jako pozitivní prognostický faktor OS. CD4+ TIL byly prokázány jako negativní prognostický faktor OS. Poměr CD8+/CD4+ nebyl potvrzen jako signifikantní prognostický faktor. Multivariate Cox Regression Hazard Model prokázal kombinaci závažnosti infiltrace LU metastatickým procesem a LN-FH jako nejlepší prognostický faktor pro predikci vysokého rizika krátkého celkového přežití.

Přítomnost perineurální infiltrace byla prokázána jako prognostický faktor časně recidivy. Zvýšená míra CD8+ TIL byla prokázána jako pozitivní prognostický faktor prodloužující DFI. Negativním prognostickým faktorem bezpříznakového přežití byla prokázána infiltrace lymfatických uzlin metastatickým procesem. Multivariate Cox Regression Hazard Model prokázal kombinaci závažnosti infiltrace LU metastatickým procesem a CD8 pozitivitu jako nejlepší prognostický faktor pro predikci vysokého rizika krátkého bezpříznakového přežití.

Závěr: Provedená studie detekovala charakter a kvantitu morfologického uspořádání TIL jako prognostické faktory ovlivňující prognózu pacienta po radikální chirurgické terapii KRCA.

Podpořeno VZ MSM 0021620819 (Náhrada a podpora funkce některých životně důležitých orgánů) a grantem IGA MZ ČR 14329 a 12025.

T infiltrující lymfocyty při kolorektálním karcinomu – pohled z Prahy

Kocián P.¹, Fialová A.¹, Šedivcová M.², Drgáč J.¹, Hoch J.¹

¹ LF UK a FNM, Praha

² Ústav patologie LF, Plzeň

Prognóza kolorektálního karcinomu v současné době vychází z TNM klasifikace, která stratifikuje nemocné do jednotlivých klinických stadií a je zároveň určujícím kritériem pro indikaci adjuvantní onkologické léčby. Nevýhodou TNM klasifikace je skutečnost, že nepřináší žádné informace o biologickém chování nádoru, a proto prognóza pacienta stejného klinického stadia se může do značné míry lišit. Aktuálním tématem je hledání nových prognostických a prediktivních biomarkerů, které povedou k selekci rizikových pacientů napříč klinickými stadii a racionalizaci adjuvantní onkologické léčby. V současné době jediným rutinně používaným biomarkerem je stanovení mutace K-ras. Mutace

K-ras se u kolorektálního karcinomu vyvíjí v časně fázi tumorigeneze, během progresu z adenomu na karcinom, a její prevalence se u zmíněné malignity pohybuje mezi 30–50 %. Stanovení mutace K-ras je jednoznačným negativním prediktivním markerem pro použití cílené terapie inhibitory EGFR, tj. cetuximabem či panitumumabem (prediktivní biomarker), naopak prognostický význam této mutace zůstává stále kontroverzní. Vedle molekulárních biomarkerů představuje jednu z dalších možností vyšetření imunitního infiltrátu. Nedávno publikovaná data získaná od pacientů s kolorektálním karcinomem prokazují, že přítomnost efektorových T-lymfocytů (Th1-lymfocyty, cytotoxické T-lymfocyty a paměťové T-lymfocyty) v nádorové tkáni je pozitivním prognostickým faktorem. Význam imunitní reakce mj. v kontrole lokálního růstu nádoru, způsobu a rozsahu jeho lokální invaze a metastazování potvrzuje skutečnost, že přítomnost těchto efektorových T-lymfocytů je v korelátu s histopatologickými nálezy vylučujícími časně metastatické šíření nádoru (perineurální šíření, angioinvaze, lymfangioinvaze). Vedle intratumorálních T-lymfocytů je nádorová tkáň infiltrována antigen prezentujícími buňkami (dendritické buňky), které jsou zcela klíčové pro zahájení imunitní odpovědi. Prognostický význam jednotlivých subpopulací dendritických buněk v nádoru není zatím zcela objasněn.

Na našem pracovišti byla provedena retrospektivní studie s cílem určit význam imunitního infiltrátu u kolorektálního karcinomu a jeho korelaci s K-ras mutacemi pro prognózu onemocnění. Výsledky této studie prokázaly, že kombinací molekulárních biomarkerů s imunologickými daty lze získat slibný prognostický faktor, pomocí kterého by bylo možné identifikovat rizikové pacienty ohrožené rekurencí onemocnění. Jedná se o pacienty s mutací K-ras v kodonu 13, nízkou denzitou intratumorálních T-lymfocytů a vysokým poměrem nezralých/zralých (CD1a+/DC-LAMP+) dendritických buněk v nádoru.

Peritonektomie a HIPEC u kolorektálního karcinomu

Vítek P., Antoš F.

Nemocnice Na Bulovce, Praha

U cca 17 % nemocných s metastazujícími nádory kolorekta (CRCA) se nádorové postižení šíří také per continuitatem formou drobnoložiskového peritoneálního rozsevu a u cca 2 % je to jediná forma šíření. Peritoneální karcinomatóza představuje prognosticky nepříznivou formu rozsevu s kratším přežíváním a kratší dobou do progresu, pokud je dosaženo terapeutického efektu. V terapii peritoneální karcinomatózy byla již v devadesátých letech vyvinuta metodika peritonektomie nebo maximální cytoredukce s hypertermickou intraperitoneální peroperační chemoterapií – laváží (HIPEC). Pro HIPEC se u CRCA užívá oxaliplatin a nebo mitomycin C se stejnou účinností. Lze pak dosáhnout relativně dlouhého přežívání až přes 24 měsíců. V ojedinělé randomizované studii srovnávající peritonektomii s HIPEC a následnou chemoterapií proti standardní chemoterapii bylo dosaženo signifikantní prodloužení přežívání 22,2 měsíců, resp. 12,6 měsíců. Z těchto zdánlivě jednoznačných výsledků se nyní 15 let po zahájení studie obtížně odvodí závěry. V první řadě standardní chemoterapie ve srovnávacím rameni studie (FUFA) již nyní zdaleka není standardní. Dále soubor zahrnoval nemocné s nádory primárně apendikálního původu, které mají s využitím HIPEC lepší prognózu než primární nádory kolorekta. O několik let později již retrospektivní analýza z klinik s delší erudicí v peritonektomiích a HIPEC již umožňuje stratifikovat soubor 1290 nemocných s karcinomatózou gastrointestinálního původu. Z toho u 523 nemocných s karcinomatózou původu CRCA se dosahuje mediánu přežívání 30 měsíců a doby do progresu přes 18 měsíců. Jako nejvýznamnější prognostické faktory byly v dalších studiích vedle primárního origa shodně identifikovány rozsah postižení v době diagnózy (Peritoneal Cancer Index – PCI) a rozsah chirurgického výkonu (Completeness of Cytoreduction – CC).

Metoda peritonektomie a HIPEC má jednoznačnou indikaci a suverénní účinnost s mnohaletým přežíváním v léčbě klinické jednotky pseudomyxoma peritonei (medián přežívání obvykle není ve sledovaných souborech dosažen), která je nejčastěji původu apendikálního. Primární CRCA se formou pseudomyxomatu peritonea šíří jen velmi ojediněle. Přesto je peritonektomie s HIPEC u CRCA racionální, a to jen pokud není vedle karcinomatózy peritonea další viscerální neresekova-

telné postižení, zvláště ne extraabdominální. To je splněno pouze u 2 % generalizovaných nádorů kolorekta.

V Nemocnici Na Bulovce je metoda peritonektomie a HIPEC zavedena již 14 let. Bylo léčeno již 230 nemocných. Hlavní indikací k výkonu jsou nádory spadající do klinické jednotky pseudomyxoma peritonei a nádory typu mezoteliomu peritonea epitelálního typu. Přesto byla peritonektomie provedena i u 35 specifických nemocných s primárním CRCA šířícím se formou peritoneální karcinomatózy. Absence neresekabilních metastáz v parenchymových orgánech a absence extraabdominálního šíření je striktně dodržovaná podmínka. Výkon byl doplněn HIPEC s parametry: doba trvání výkonu 90 min, účinná látka – mitomycin C, izotonický nosný roztok – 0,9% NaCl v celkovém objemu do 3000 ml, teplota 42–43 °C. V časné pooperačním období byla dále aplikována „perioperační intraperitoneální chemoterapie“ (EPIC) 5-fluorouracilem v 5 po sobě následujících dnech. V dalším průběhu byli nemocní léčeni podle úvahy ošetřujícího onkologa, převážně kombinacemi paliativní chemoterapie a biologické léčby.

Dosahujeme intervalu do progresu onemocnění o mediánu nad 20 měsíců. Medián přežívání nepřesahuje 30 měsíců. HIPEC významně nezvyšuje pooperační morbiditu. Neutropenie a trombocytopenie jsou po HIPEC ojedinělé.

I přes náročnost a nákladnost výkonu je interval do progresu onemocnění dlouhý. Pravděpodobně by takové efektivity nebylo možné dosáhnout intenzivní chemoterapií a biologickou léčbou (mj. s významně vyššími náklady), byť přímým srovnáním přirozeně nedisponujeme. Parametr přežívání není reprezentativní s ohledem na chemoterapii a bioterapii nepravidelně aplikovanou v období po výkonu, při progresu onemocnění. Peritonektomie a HIPEC vysoce přínosná metoda, kterou lze u některých pokročilých CRCA dosáhnout významné efekty a pravděpodobně i prodloužit přežívání, a to i přestože CRCA není prioritní indikací metody. Za omezených podmínek, v nichž se v ČR na jediném pracovišti nyní peritonektomie HIPEC provádějí, prokazují vlastní výsledky, jak zásadní význam má správná indikace výkonu pouze u CRCA s dominantním peritoneálním šířením per continuitatem a současně správné provedení cytoredukčního výkonu do maxima možnosti.

KARCINOM KOLON A KARCINOM REKTA: DVĚ KLINICKÉ ENTITY?

Skutečně dvě entity?

Hoch J.

Chirurgická klinika 2. LF UK a FNM, Praha

Karcinom tlustého střeva a karcinom konečníku je běžně považován za jedno onemocnění, které se liší pouze lokalizací nádoru. Podobnost a současně odlišnost nádoru v obou lokalitách vede k otázce, zda se jedná o jednu či dvě patologické entity.

Etiologie karcinomu je shodná: Až 90 % karcinomů je sporadických a vzniká maligní přestavbou adenomových polypů. Nádory, které vznikají z polypů, tzv. nonpolypózní karcinom, postihují tlusté střevo, nikoli rektum. Ačkoli progresse nádoru ve střevní stěně a lymfatické a hematogenní šíření je podobné, projevy obou nádorů se v pokročilých stadiích liší: Nádory tlustého střeva vedou častěji ke vzdálenému metastatickému postižení, nádory konečníku k postižení lokoregionálnímu.

Anatomické rozdíly jsou zřejmé. Tlusté střevo je uloženo intraperitoneálně, dlouhé mezokolon ponechává všem oddílům tračniku značnou pohyblivost, peritoneem je kryta ventrální plocha celého tlustého střeva. Krevní zásobení pochází z horních i dolních mezenterických cév, lymfatický spád je víceetážový, ve všech úsecích sice směřuje centripetálně, ale v některých úsecích aborálně a v dalších orálně směrem. Rektum je ze dvou třetin uloženo extraperitoneálně v pávi, jeho uložení nedovoluje dosáhnout pohyblivosti tračniku. Kromě obtížného přístupu při operaci je omezená pohyblivost rekta důležitá pro radioterapii. Krevní zásobení je cestou dolní mezenterické tepny a jen zlomkem z vnitřních lilyckých tepen. Lymfatický spád směřuje přes mezorektum vertikálně. Pouze orální třetina rekta je kryta peritoneem. Anatomické rozdíly jsou příčinou nestejného šíření nádoru ve střevní stěně a v lymfatickému spádu.

Funkčně je postradatelné tlusté střevo i konečník, odstranění konečníku však hrubě narušuje fyziologickou kontinenci a vyžaduje nezřídka stomii.

Zejména anatomické rozdíly jsou důvodem, proč se léčba nádorů tračniku a konečníku a jejich komplikací liší. Operace rekta patří mezi nejnáročnější břišní operace, jednak kvůli nesnadnému přístupu a technické náročnosti, jednak kvůli vysokému riziku závažných časných i pozdních komplikací včetně recidiv. Převažuje shoda, že tyto operace patří na specializovaná pracoviště. Počet operací pro nádor tlustého střeva je v ČR více než 2krát vyšší než pro nádor konečníku, operace na tračniku jsou v mnoha ohledech snáze proveditelné, akutně je operováno až 15 % nemocných. I když onkologická závažnost se neliší od nádorů konečníku, argumentace ve prospěch léčby na specializovaných pracovištích není jednotná. Všechny zmíněné momenty mají vliv na výsledek léčby. Kromě pooperačních komplikací to je onkochirurgická radikalita, která vypovídá o kvalitě chirurgické operace. Vedle dostatečné vzdálenosti proximálního a distálního resekčního okraje o kvalitě operace vypovídá cirkumferenční resekční okraj, rozsah lymfadenektomie vyjádřený mj. počtem získaných lymfatických uzlin a správné odstranění mezokolona, resp. mezorekta. Oba posledně zmíněné anatomické prostory jsou přirozenou lokalizací spádových lymfatických uzlin, včetně metastaticky postižených uzlin. Poznání, že tyto celky jsou pokračováním embryonálního vývoje střeva, umožnilo v průběhu posledních dvou desetiletí rozpracovat techniku totální excize mezorekta (TEM) a kompletní excize mezokolona (CME) a zavést je do praxe. Dokonalé zvládnutí a dodržování obou postupů vedlo ke snížení počtu lokálních recidiv a dokonce prodloužení přežití až o 15 %.

Etiopatologická podobnost nádorů tlustého střeva a konečníku svádí je nerozdělovat ve dvě zásadně odlišné entity, naopak prakticky orientované aspekty zaměřené na operační a radiační léčbu z těchto nádorů dvě entity činí.

Histopatologická a molekulárně genetická heterogenita karcinomů tlustého střeva s ohledem na lokalizaci primárního nádoru

Ryška A., Hovorková E., Haďži-Nikolov D., Vošmiková H., Kamarádová K.

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN, Hradec Králové

Levostranný a pravostranný karcinom tlustého střeva jsou dvě diametrálně odlišné choroby, které mají nejen odlišnou klinickou symptomatologii, ale rovněž rozdílnou etiologii, molekulární patogenezi a vyžadují jisté odlišnosti v diagnostickém algoritmu.

Vliv protokolu na kvalitu léčby

Zonča P.¹, Ihnát P.¹, Dvořáčková J.², Delongová P.²

¹Chirurgická klinika FN a LF, Ostrava

²Ústav patologie FN a LF, Ostrava

Efektivní léčba pacientů s kolorektálním karcinomem je založená na multidisciplinárním přístupu s nutností sestavování individualizovaného léčebného plánu založeného na přesném stagingu onemocnění. Cílem této chirurgicko-patologické studie bylo vyhodnocení vlivu zavedení standardního patologického protokolu na kvalitu hodnocení preparátů resekovaného kolorektálního karcinomu.

Standardní patologický protokol na hodnocení preparátů resekovaného kolorektálního karcinomu byl vytvořen a zaveden ve FNO do praxe od 1. 1. 2013. Protokol byl vytvořen v souladu s platnými NCCN guidelines pro karcinom kolorekta a dle doporučení American Joint Committee on Cancer (AJCC). Do studie byli zařazeni všichni pacienti, kteří podstoupili resekci pro kolorektální karcinom ve FNO v prvním pololetí 2013. Získaná data byla srovnána se souborem pacientů po resekci kolorektálního karcinomu ve FNO v letech 2011–2012, a statisticky testována.

V období od 1. 1. 2013 do 30. 6. 2013 byla ve FNO vykonána resekce kolorekta u 51 pacientů. Kontrolní soubor pacientů po resekci kolorekta v období od 1. 1. 2011 do 31. 12. 2012 byl tvořen 184 pacienty. V resektech kolorekta byl počet nalezených lymfatických uzlin (LU) 12,5 ± 6,3 (kolon) a 12,6 ± 6,2 (rektum) v kontrolním souboru pacientů. Po zavedení protokolu byl počet LU 15,0 ± 4,6 (kolon) a 16,8 ± 6,7 (rektum); rozdíly jsou statisticky signifikantní.

ABSTRAKTA

Před zavedením protokolu nebyl dosažen požadovaný limit 12 LU u 49 pacientů s karcinomem kolon (43,8 %) a u 32 pacientů s karcinomem rekta (44,4 %). Po zavedení standardního protokolu nebyl dosažen limit 12 LU u pěti pacientů s karcinomem kolon (18,5 %) a u čtyř pacientů s karcinomem rekta (16,7 %). Rozdíly jsou statisticky signifikantní.

Byly prokázány rovněž signifikantní rozdíly v početnosti vyhodnocení cirkumferenčního resekcího okraje, početnosti hlášení stupně diferenciací karcinomu (grading) a známek mikroskopické agresivity tumoru (intravaskulární invaze, perineurální šíření) ve prospěch histopatologických zpráv po zavedení standardního protokolu.

Implementace standardního patologického protokolu do praxe při vyhodnocování preparátů resekovaného kolorektálního karcinomu zvyšuje kvalitu definitivní histopatologické zprávy. To má za následek přesnější staging onemocnění, správnou indikaci adjuvantní léčby a zlepšení přežívání pacientů s kolorektálním karcinomem.

ONKOLOGICKÁ LÉČBA

Možnosti léčby mCRC v závislosti na stavu onkogenů RAS

Tomášek J.

Masarykův onkologický ústav, Brno

Molekulární vyšetření nádorové tkáně pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem (mCRC) se stalo rutinní praxí. Do poloviny roku 2013 jsme stanovovali mutační stav onkogenů KRAS v exonu 2. Průkaz aktivační mutace KRAS predikuje rezistenci k inhibitorům receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR), tedy k cetuximabu a panitumumabu. V roce 2013 byla publikována data z rozšířené molekulární analýzy klinické studie III. fáze PRIME. V této studii byla testována účinnost panitumumabu s chemoterapií FOLFOX4 v 1. linii léčby mCRC proti chemoterapii FOLFOX4 samotné. Výsledky prokazují, že stejný prediktivní význam jako KRAS v exonu 2 má stav KRAS v exonu 3 a 4 a stav NRAS v exonu 2, 3 a 4, hovoříme o rodině onkogenů RAS. U skupiny pacientů s nemutovaným RAS (WT RAS) bylo celkové přežití (OS) delší v rameni s panitumumabem o 5,8 měsíce (26,0 vs. 20,2 měsíce, HR 0,78; 95% CI, 0,62–0,99; $p = 0,043$), podobně bylo prodlouženo také přežití bez progresu (PFS) (10,1 vs. 7,9 měsíce, HR 0,72; 95% CI, 0,58–0,90; $p = 0,004$). V případě mutace RAS (MTRAS) vedla kombinace panitumumabu s FOLFOX4 k významnějšímu zkrácení jak OS, tak PFS. V případě panitumumabu platí doslova, že pokud není lék indikován, je kontraindikován. Tyto výsledky vedly ke změně indikačních kritérií v SPC Vectibixu (panitumumab).

Recentně byla v září 2013 na kongresu ECC 2013 v Amsterdamu prezentována data rozšířené molekulární analýzy klinické studie III. fáze FIRE-3, do které byli zařazováni nepředléčení pacienti s mCRC WT KRAS a randomizováni byli do ramene FOLFIRI+ cetuximab nebo FOLFIRI+ bevacizumab. Prokázalo se, že pacienti MT RAS nemají z přidání cetuximabu k chemoterapii FOLFIRI žádný prospěch. U pacientů WT RAS bylo v obou ramenech dosaženo obdobné odpovědi na léčbu (ORR) i PFS, přežití bylo signifikantně delší v rameni s cetuximabem (33,1 vs. 25,6 měsíce, HR 0,70; 95% CI, 0,53–0,92; $p = 0,011$). Naloklik byl výsledek OS ovlivněn léčbou ve druhé a vyšších liniích je předmětem diskuzí.

V případě pacientů s mutací onkogenů RAS (KRAS) je ve většině případů vhodné do 1. linie použít některý intenzivní režim na bázi oxaliplatinu nebo irinotekanu v kombinaci s bevacizumabem. Složitější je situace v případě nemutovaného typu RAS (KRAS). Zde lze zahájit chemoterapii v kombinaci jak s inhibitory EGFR (a použitím inhibitorů VEGF nechat do 2. linie), tak s bevacizumabem (a inhibitory EGFR nechat do pozdějších linií). Řadu odpovědí jistě přinesou výsledky a analýzy mimořádně robustní studie III. fáze CALGB 80405. Do studie byli zařazováni pacienti s mCRC WT KRAS ($n = 2900$), kteří byli léčeni chemoterapií FOLFOX nebo FOLFIRI a randomizovaně cetuximabem nebo bevacizumabem. Primárním sledovaným ukazatelem studie je celkové přežití, sekundárně jsou hodnoceny RR, PFS a dosažení resektability u neresektabilních metastáz. Výsledky lze očekávat v roce 2014. Je jasné, že nebudeme mít nikdy randomizovaná data všech možných režimů léčby a sekvencí, lze

však předpokládat, že s širším využitím nových biomarkerů bude možné vybrat účinný režim terapie pro konkrétního pacienta přesněji, což se odrazí v dalším prodloužení života pacientů. Jak se to bude dařit u našich pacientů, to ukáží výsledky z registru CORECT. Do tohoto registru jsou zaznamenávána data dominantní většiny pacientů s mCRC, kterým je podávána cílená léčba v Komplexních onkologických centrech ČR.

Účinnost terapie bevacizumabem u nemocných s mCRC bez průkazu mutace K-RAS

Kubáčková K.¹, Hejduk K.², Bortlíček Z.², Brabec P.², Prausová J.¹

¹FNM, Praha

²IBA MÚ, Brno

Standardním léčebným přístupem pro první linii metastatického karcinomu kolorektálního karcinomu je chemoterapie v kombinaci s monoklonálními protilátkami, bevacizumabem ovlivňujícím nádorovou novotvorbu cév či anti-EGFR monoklonálními protilátkami (panitumumab, cetuximab). Mutační stav KRAS genu je validovaný prediktivní marker odpovědi pro anti-EGFR léčbu. Pro bevacizumab neexistují žádné validované biomarkery. V naší analýze jsme se zaměřili na hodnocení léčebného efektu u skupiny nemocných s nemutovaným KRAS léčených kombinací bevacizumabu s chemoterapií. Medián doby do progresu byl 11,3 měsíce a medián celkového přežívání 28,4 měsíce. Data o efektivitě této léčebné kombinace jsou konzistentní s léčebným efektem kombinace chemoterapie s anti-EGFR protilátkami a potvrzují účinnost bevacizumabu i u nemocných s nemutovaným KRAS.

Neoadjuvantní terapie karcinomu rekta ve FN v Motole

Prausová J.

2. LF UK a FNM, Praha

Sdělení se zabývá hodnocením výsledků vlastního souboru pacientů léčených ve FN v Motole v letech 1998–2006 neoadjuvantní konkomitantní chemoradioterapií či samotnou radioterapií.

Z celkového počtu 266 pacientů v souboru bylo po neoadjuvantní léčbě operováno 91,7 %, inoperabilních pacientů zůstalo po neoadjuvanci 8,3 % bez ohledu na typ neoadjuvantní terapie. Nejčastějším typem operace byla resekce rekta s anastomózou, která umožnila zachovat nemocným pasáž. Při histopatologickém hodnocení operovaných pacientů byla u 8,6 % stanovena pCR. Redukce objemu primárního nádoru byla statisticky významně lepší ve prospěch konkomitantní chemoradioterapie oproti samotné radioterapii. Hodnocení uzlinového postižení přesným počtem histologicky pozitivních uzlin infiltrovaných nádorem z počtu vyšetřených uzlin bylo u 168 pacientů a „cut-off“ hodnota pro minimální počet vyšetřovaných uzlin byla více než 5. K lokální recidivě onemocnění došlo u 17,2 % pacientů, to představuje vyšší procento než ve srovnatelných mezinárodních studiích. Četnost recidiv vzrůstá s vyšší vstupní klinické stadiem. Metastatické postižení vzniklo u 19,2 % nemocných s mediánem doby vzniku 15 měsíců. Tento údaj je nižší než u srovnatelných mezinárodních studií. Statisticky významný je ve sledovaném souboru vztah mezi výskytem metastáz a Dukousovou klasifikací, vztah mezi výskytem metastáz přítomností angioinvasí v nádoru.

Medián celkového přežití i bezpříznakového přežití je statisticky významně závislý na velikosti tumoru před zahájením léčby, je statisticky významně závislý na přítomnosti angioinvasí a gradingu nádoru, je statisticky významně závislý na typu léčby ve prospěch konkomitantní chemoradioterapie.

Na našem souboru nemocných bylo prokázáno, že neoadjuvantní léčba je významný posunem v léčebné strategii karcinomu rekta a ve shodě s mezinárodními studiemi potvrzuje správnost zařazení této léčebné modality ke zlepšení výsledků léčby karcinomu rekta i zachování kvality života pacienta. Lepších výsledků je dosaženo konkomitantní chemoradioterapií než samotnou radioterapií. Práce také podtrhuje význam rizikových vstupních faktorů pro výsledek léčby (stadium onemocnění, přítomnost angioinvasí, grading). Pro správnou volbu léčebné strategie je nutná týmová spolupráce diagnostiků, chirurgů, onkologů a radioterapeutů.

Nové léky a jejich postavení v algoritmu léčby metastatického kolorektálního karcinomu

Kiss I.

Klinika komplexní onkologické péče MOU A LF, Brno

Karcinomy tlustého střeva a konečníku jsou nejčastější nádory trávicího traktu a patří celosvětově mezi nejčastější malignity. Dle údajů získaných ze SVOD1 i v roce 2010 je incidence metastatického onemocnění v ČR stacionární, tj. kolem 23 % a u dalších téměř 50 % pacientů dojde ke generalizaci onemocnění v pozdější době. Nejčastěji metastazuje kolorektální karcinom do jater.

V léčbě metastatického inoperabilního onemocnění hraje nejdůležitější roli systémová chemoterapie, jejíž efekt je v posledních letech potencionálně „cílenou léčbou“. Léčebná odpověď je příznivým prognostickým faktorem, který se odráží i v prodlouženém přežívání pacientů. Největšího efektu ve smyslu prodlouženého přežití dosahuje farmakoterapie, která sekundárně vede ke konverzi inoperabilního onemocnění v radikálně operabilní a hlavně teprve po završení léčby R0 resekci.

Základem léčby inoperabilního metastatického karcinomu je chemoterapie (dvojkombinace, trojkombinace) samostatně či v kombinaci s cílenou léčbou VEGF (bevacizumab) či EGFR (cetuximab, panitumumab) inhibitory. V roce 2013 byly do klinické praxe léčby metastatického karcinomu zavedeny další inhibitory angiogeneze – aflibercept a regorafenib.

Aflibercept (Zaltrap) je plně humanizovaný protein, označovaný jako VEGF TRAP, což je rekombinantní fúzní protein, který se skládá z VEGF – vazebných částí tvořených extracelulárními doménami lidských VEGF receptorů 1 a 2 fúzovaných k Fc části lidského IgG1. Aflibercept blokuje VEGF a PlGF, vykazuje silnější vazbu k VEGF než bevacizumab s biologickým poločasem t_{1/2} ~ 17 dnů. Efekt v léčbě metastatického kolorektálního karcinomu (mKRK) prokázal aflibercept v kombinaci s chemoterapií na bázi irinotekanu (FOLFIRI) ve 2. linii léčby ve fázi III. klinického hodnocení VELOUR. Do studie byli zařazeni pacienti s histologicky potvrzeným metastatickým adenokarcinomem kolon či rekta bez možnosti kurativní terapie. U pacientů byl tolerován jen jeden předchozí chemoterapeutický režim pro metastatické onemocnění na bázi oxaliplatinu. Zařaditelní do klinického hodnocení byli i pacienti s relapsem onemocnění do 6 měsíců od ukončení adjuvantní chemoterapie na bázi oxaliplatinu a byla povolena i předléčenost bevacizumabem. Ve studii VELOUR aflibercept přináší signifikantní zlepšení mediánu celkového přežití (OS) i doby do progresu (PFS). OS byl téměř o 50 % vyšší po 2 letech (28,0 % vs. 18,7 %) a o 86 % vyšší po 30 měsících (22,3 % vs. 12,0 %) pro pacienty léčené afliberceptem v kombinaci s FOLFIRI ve srovnání s režimem FOLFIRI samotným. Analýza podskupin ukazuje zlepšení OS i PFS nezávisle na předchozím předlčení či nepředlčení bevacizumabem, navíc předchozí předlčení bevacizumabem v 1. linii terapie nezvyšuje VEGF nežádoucí účinky afliberceptu v 2. linii terapie. Aflibercept v kombinaci s chemoterapií FOLFIRI je alternativou pro 2. linii léčby mKRK, po selhání chemoterapie na bázi oxaliplatinu. V této indikaci je alternativou ke kombinaci FOLFIRI s bevacizumabem na (studie TML) a stejně tak FOLFIRI s panitumumabem (studie 20050181).

Regorafenib (Stivarga) je prvním perorálním multikinázovým inhibitorem s průkazem účinnosti u metastatického kolorektálního karcinomu (mKRK). Efektivitu prokázal v rámci studie CORRECT, kde regorafenib zvýšil OS a PFS u pacientů s mKRK, kteří selhali na standardní dosavadní terapii (předlétní režim na bázi irinotekanu i oxaliplatinu). Studie fáze III. splnila primární cíl, OS: 6,4 vs. 5,0 měsíců, HR = 0,77, p = 0,0052, PFS: 1,9 vs. 1,7 měsíců, HR = 0,49, p < 0,000001, DCR (PR + SD): 41,0 % vs. 14,9 %, p < 0,000001. V analýze podskupin regorafenib prokázal benefit OS a PFS u všech vyspecifikovaných podskupin. Účinnost regorafenibu nebyla závislá na mutačním stavu K-RAS a nebyly pozorovány nové či neočekávané závažné nežádoucí účinky. Nejčastějším nežádoucím účinkem stupně 3 byly hand-foot syndrom, únava, průjem, hypertenze a rash.

Regorafenib prokázal svojí účinnost u skupiny těžce předlčených pacientů, kteří profitovali z toho, že se signifikantně oddálila další progresse. Regorafenib je tak na základě studie alternativou šetrné, systémové léčby po selhání chemoterapie na bázi oxaliplatinu a irinotekanu, tedy do 3. nebo 4. linie léčby.

SOUČASNÁ ÚČINNÁ LÉČBA JATERNÍCH METASTÁZ KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU V RÁMCI MULTIOBOROVÉHO TÝMU

Současný konsenzus v kurativní resekci jater při léčbě nemocného s metastatickým kolorektálním karcinomem

Ryska M.

Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN, Praha

Úvod: V incidenci kolorektálního karcinomu (KRK) je ČR trvale na předním místě na světě, zvláště pak u mužů. Trvale narůstá a dosahuje 8500 pacientů za rok. Z větší části se jedná o pacienty s pokročilým onemocněním: asi 25–30 % nemocných má v době stanovení primárního nádoru na střevě již zjištělné metastatické postižení jater. U dalších cca 35 % se jaterní sekundarity vyvinou s časovým odstupem. Méně často nacházíme postižení plic, raritně mozek. Dříve byla terapie u metastatického postižení jater málo úspěšná. Léčebné možnosti se však u nemocných s diseminovaným onemocněním v průběhu posledních dvou desetiletí výrazně rozšířily. Nejúčinnější léčbou je chirurgicky jaterní metastázy radikálně odstranit, tj. provést kurativní resekci. Tato může být provedena primárně po jejich zjištění, kdy hovoříme o primárně resekabilních jaterních metastázách. V případě primárně neresekabilních metastáz, ať již z důvodů jejich mnohočetného bilobárního výskytu či velkém operačním riziku spojeném s lokalizací, se rozdělí tato skupina na dvě podskupiny v závislosti na léčebné odpovědi podané chemoterapie. Zatímco po CT(MR) re-stagingu u skupiny bez léčebné odpovědi můžeme pokračovat v paliativní chemoterapii, ze druhé skupiny s regresi jaterního postižení indikujeme část nemocných, u kterých jsme schopni ložiska odstranit, k operačnímu výkonu opět s cílem kurabilní resekce. U této skupiny, u které došlo po podání chemoterapie k tzv. konverzi (odtud konverzní chemoterapie). Poslední skupinu tvoří pacienti, u kterých po resekci došlo v průběhu dispenzárního sledování k opětovnému vytvoření metastatického ložiska a jsou indikováni k re-resekci, opět s jejím kurabilním cílem.

Nejlépeších výsledků v léčbě nemocných s metastatickým postižením jater při kolorektálním karcinomem lze dosáhnout kombinací resekčního výkonu se systémovou protinádorovou léčbou. U primárně resekabilních s adjuvantní, u části nemocných s primárně neresekabilními metastázami s neoadjuvantní (konverzní) a následně po operačním výkonu s adjuvantní systémovou léčbou. U části pacientů s primárně resekabilními metastázami je přínosné podávat neadjuvantní cytotoxickou léčbu. Přínos biologické léčby u této skupiny nemocných nebyl prokázán. V určitých případech, kdy nelze primárně jaterní resekci indikovat, zvažujeme možnost tzv. etapových výkonů (viz níže). Odstranění ložiska pomocí radiofrekvenční ablace (RFA) nelze v případě metastáz kolorektálního karcinomu považovat za kurabilní resekci. Nicméně z této ablativní metody může pacient v určitých případech výrazně profitovat. U nemocných, u kterých nelze metastatické ložiska odstranit, lze na určitou dobu onemocnění stabilizovat paliativní protinádorovou terapii.

Předpokladem úspěšné léčby jaterních metastáz kolorektálního karcinomu je proto především posoudit jejich resekabilitu s cílem jejich kurabilního odstranění. Podmínky kvalifikovaného rozhodnutí jsou následující:

- kvalitní zobrazení jaterního nálezu a eventuálních extrahepatických metastáz, určení jejich resekability (technicky),
- posouzení kvality nádorem nepostiženého jaterního parenchymu a jeho předpokládaného ponechaného objemu,
- posouzení technické proveditelnosti resekce a rizika výkonu zkušeným jaterním chirurgem (a anesteziologem),
- posouzení načasování resekce a systémové protinádorové léčby.

Vzhledem k tomu, že na léčbě těchto nemocných se podílí několik oborů (onkolog, chirurg, radiolog, radioterapeut, patolog, hepatolog, gastroenterolog, anesteziolog), pacienti jednoznačně profitují z jejich společného rozhodování a výběru optimálního terapeutického postupu

ABSTRAKTA

u každého z nich v rámci multioborových komisí (MK), z tzv. personalizované medicíny.

Provedení adekvátního zobrazovacího vyšetření je zásadní jak pro stanovení diagnózy a stagingu, tak pro plánování chirurgického výkonu či terapeutického postupu vůbec. Má též význam pro následnou dispenzarizaci. Dalšími podmínkami jsou posouzení funkční kvality jaterního parenchymu a odhad objemu ponechané části jater (remnant). Hlavním smyslem předoperačního vyšetření je:

1. definovat počet a segmentární či lobární distribuci metastáz, identifikovat eventuelní přítomnost extrahepatických metastáz,
2. určit resekalibilitu na základě onkologického hlediska a technických možností.

Zobrazení jaterních a extrahepatických metastáz: V současné době je k identifikaci jaterních metastáz používána celá řada moderních metod – od ultrasonografie (US), přes CT, MR až po PET.

Abdominální ultrasonografie má v diagnostice jaterních metastáz KRK význam limitovaný, daný nízkou senzitivitou 50–70 % a významnou závislostí na kvalitě sonografisty („operator-dependent“ vyšetření). Nicméně s použitím mikrobublin (perflubutane ultrasound microbubbles) lze docílit o 20 % vyšší senzitivity. Tato metoda je dnes využívána především u malých lézí, kde může předčít i kontrastní CT vyšetření.

Dnes nejčastěji užívanými zobrazovacími vyšetřeními k detekci jaterních a plicních metastáz jsou multidetektorové CT (MDCT), magnetická rezonance (MR) a fluorodeoxyglukózová pozitronová emisní tomografie – F18-FDG. PET (PET) se senzitivitou 74,4 %, 80,3 % a 81,4 % („per lesion“) a 83,6 %, 88,2 % a 94,1 % („per patient“). Nicméně data z PET jsou obtížně srovnatelná s ostatními metodami. MR prokazuje ve srovnání s CT vyšší senzitivitu u ložisek menších než 10 mm (81,1 % oproti 74,8 % u pacienta, 86,3 % oproti 82,6 % u ložiska). Je však třeba zdůraznit, že tyto údaje opomíjejí zkušenosti konkrétních pracovišť, která dnes nejčastěji používají CT, MR a kontrastní ultrasonografii (CEUS – contrast-enhanced ultrasound) s tím, že MR je v současné době považována v určení charakteru jaterní léze za nejlepší. Nicméně CT v arteriální fázi ukáže chirurgovi vaskulární anatomii a vztah ložiska k těmto strukturám. Zobrazovací vyšetření mají své místo i po ukončení neadjuvantní chemoterapie. Při nekontrastním CT a MR se lze vyjádřit k jaterní steatóze, ale steatohepatitidu zobrazit nelze. Na sinusoidální poškození lze usuzovat na základě nepřímých známek portální hypertenze či použitím kontrastní látky při MR (Eovist). Pomocí CT volumetrie lze s dostatečnou přesností určit objem předpokládaného jaterního remnantu po plánované resekci.

Intraoperační US (IOUS) je v kombinaci s explorací chirurga v současné době nejlepším standardem k upřesnění patologického nálezu v jaterním parenchymu a jeho vztahu se strukturami. Původní operační plán mění u každého čtvrtého pacienta. V sestavě 250 nemocných oproti předoperačnímu nálezu při kontrastním CT vyšetření navíc odhalilo patologickou lézi v jaterním parenchymu u 27 % nemocných.

Pro detekci extrahepatických metastáz se dnes většinou používá kombinace CT a PET. Zatímco s vysoce kvalitním CT u většiny pacientů vystačíme, PET může u části nemocných prokázat metabolicky aktivní ložiska navíc. V současné době je proto PET indikován pouze u nemocných s vysokým rizikem extrahepatického šíření KRK s tím, že jeho senzitivita je u nemocných po neadjuvantní chemoterapii nižší.

Nálezy při zobrazovacích vyšetření je třeba vždy posuzovat v celém kontextu rozhodovacího procesu MK u konkrétního pacienta. Hrubou chybou je poskytnutí informace na základě přecenění jednoho, mnohdy z kontextu vytrženého, nálezu.

Určení resekalibility jaterních metastáz: Po vyloučení kontraindikací k provedení velkého nitrobrášíšního výkonu vzhledem k internímu nálezu ze strany anesteziologa je vhodné determinovat resekalibilitu z hlediska onkologického a technického. Z onkologického hlediska je třeba zvážit možnosti léčby eventuelních extrahepatických metastáz a případnou odpověď na neadjuvantní systémovou léčbu. Z technického hlediska musíme posoudit radikální resekce s odstraněním všech metastáz do zdravé tkáně při ponechání dostatečného objemu funkčního jaterního parenchymu.

A – Onkologická resekalibilita: Z onkologického hlediska je cílem léčby, při současných možnostech účinné systémové protinádorové terapie, dosáhnout úplného odstranění jak jaterních, tak i mimojaterních metastáz.

I – Při zjištění extrahepatického onemocnění je třeba zhodnotit lokalizaci, multiplicitu, rozsah a možnosti resekce všech ložisek. Pokud nehovoříme o primární lokalizaci KRK a jeho eventuelní rekurenci, nejčastější lokalizací jsou intraabdominální lymfatické uzliny a plíce. Extrahepatická diseminace je po provedené resekci jaterních metastáz vedle pozitivní resekční plochy a počtu ložisek nezávislým negativním faktorem výsledku léčby: Zatímco po odstranění izolovaných plicních metastáz či periportální lymfadenopatii pacient přežívá 5 let ve 30–40 % a při rozsahem limitované peritoneální diseminací v 15–30 %, při mnohočetných aortokaválních ložiscích z jaterní resekce pacient neprofituje a 5 let se dožívá méně než v 15 % případů. Rekurence onemocnění je u nemocných s extrahepatickou diseminací po resekci jater zaznamenána v 84–95 %. Z výše uvedených důvodů plyne, že u pacientů, u kterých lze radikálně extrahepatické metastázy odstranit (např. izolovanou periportální lymfadenopatii či izolovanou plicní metastázu) není jaterní resekce kontraindikována a pětileté přežití u této skupiny nemocných se blíží výsledku u skupiny bez extrahepatických ložisek. Pokud nelze extrahepatická ložiska odstranit, jaterní resekci neindikujeme.

II – U nemocných indikovaných k podání systémové terapie před plánovanou resekci jater dojde k regresi ložisek ve více než 85 %. U části z nich lze kurabilní jaterní resekci provést. U zbylé skupiny progres v průběhu terapie svědčí pro agresivní biologické chování nádoru. Vzhledem k nízkému procentu pětiletého přežívání po hepatektomii resekci jaterních ložisek někteří autoři nedoporučují. R. Adam prokázal, že pokud dojde v průběhu protinádorové terapie k progresi u pacienta s více než třemi jaterními ložisky, jeho šance na pětileté přežití po jaterní resekci je pouze 8 %. I když některé pozdější studie tento názor změkčují, je všeobecně přijato, že tvorba nových ložisek v průběhu systémové léčby je významným negativním faktorem výrazně snižujícím přežívání po hepatektomii.

B – Technická resekalibilita: Kvalifikovaný odhad resekalibility závisí na posouzení lokalizace jaterních metastáz, anatomického uspořádání jater, jejich funkce, odhadu velikosti jaterního remnantu v rámci MK. Podmínkou kurabilní resekce je dosažení radikálního odstranění ložisek s negativními okraji při ponechání minimálně dvou sousedících segmentů s adekvátním cévním přítokem a odtokem a s adekvátní biliární drenáží. V současné době jde především o přesné posouzení jaterního remnantu z hlediska objemu a funkce, dále o zvolení vhodné strategie operačního výkonu a dodržení negativních resekčních okrajů.

I – Odhad adekvátního objemu ponechaného jaterního parenchymu je umožněn tzv. volumetrií, nejčastěji CT volumetrií. Umožňuje stratifikovat pacienty podle rizika rozvoje poresekčního jaterního selhání. Navíc může být vodítkem, kdy u pacienta provést portální venózní embolizaci (PVE) s cílem dosáhnout hypertrofie předpokládaného jaterního remnantu a umožnit provedení velké jaterní resekce. Zatímco zdravý jaterní parenchym toleruje snížení objemu až na 25–20 %, volem jater po systémové protinádorové terapii či při fibrotické přestavbě by neměl podkročit 40 % původního objemu.

II – Odhad ponechaného jaterního objemu nemusí korelovat s adekvátní jaterní funkcí. K objektivizaci funkce jater se používá celá řada funkčních testů: ICG, hodnota sérového bilirubinu či agregovaná skóre – např. MELD. Při chronickém jaterním onemocnění je vhodné provést jaterní biopsii s vyšetřením eventuelní histologické abnormality. V každém případě je nutné dát výsledek do korelace s ostatními údaji (absolvovaná chemoterapie, obezita, prodělaná virová hepatitida apod.). Skutečnost, že PVE vede u nemocného ke zjevné hypertrofii, je posuzována jako pozitivní faktor funkce jaterního remnantu. Naopak: nedejde-li po PVE k hypertrofii objemově alespoň o 5 %, můžeme hovořit o vysokém riziku pooperačního jaterního selhání.

III – Strategie resekčního výkonu odvisí od lokalizace, velikosti a množství jaterních metastáz. V případě malých resekci je jednodobý výkon bezpečný. V případě biliární lokalizace ložisek existuje několik možností, jak docílit kurabilní resekce. Nejčastěji se provede výkon dvoudobý, kdy v první době odstraníme ložiska v předpokládaném jaterním remnantu na straně kontralaterální následně PVE. Ve druhé době po kontrole hypertrofie remnantu po PVE provádíme resekci jater ipsilaterálně. Dlouhodobé přežití u těchto nemocných se překvapivě blíží skupině po jednodobém výkonu. Perkutánní

PVE je považována ve srovnání s prostou ligaturou větve v. portae za efektivnější. Nově se v rámci klinického experimentu analyzuje přínos metody ALPPS (associating liver partition and portal vein ligation for stage hepatectomy), u které je popisována dostatečná hypertrofie v průběhu 2 týdnů. Nicméně řada autorů popisuje s metodou spojenou vysokou morbiditu a mortalitu (40 %, resp. 12 %).

IV – Podmínky na onkologickou radikalitu stran negativních okrajů resekční plochy se v průběhu posledního desetiletí výrazně změnila. R0 resekce původně znamenala dodržení minimálně 1 cm širokého lemu zdravé tkáně. V současné době je prokázáno, že jedinou podmínkou dodržení pravidla R0 resekce je pouhá negativita okrajů, nikoliv její šíře. Tento závěr je podložen genetickou a patologickou studií.

Léčba tzv. mizejících metastáz kurabilní resekci: Jaterní ložiska jsou v části nemocných po podání neadjuvantní chemoterapie při kontrolním zobrazovacím vyšetření obtížně detekovatelná či dokonce nedetekovatelná, při PET mohou původní ložiska jevit známky non-viability. Hovoříme o pozitivní odpovědi na podanou systémovou terapii. Nacházíme ji jak u nemocných primárně neresekovatelných, tak i resekovatelných, je spojena především s podáním biologické léčby a je pro pacienta nepochybně pozitivním faktorem. Nicméně kompletní rentgenologická odpověď není totožná s kompletní „sanací“ metastáz a bývá pro následnou léčbu závažným problémem z následujících důvodů:

- Mohou být mylně považována za „vyléčená“ (překvapivě častý omyl).
- Při resekčním výkonu mohou být tato ložiska v jaterním remnantu mylně ponechána, protože nejsou pro chirurga při operaci detekovatelná.

Výskyt mizejících metastáz u 5–38 % pacientů bývá vyšší zejména v případě nekvalitního nebo nekompletního vyšetření před zahájením léčby nebo v situaci, kdy je přesnost kontrastního CT vyšetření snížena přítomností steatózy či steatohepatitidy. U těchto nemocných je indikována MR.

Z výše uvedených důvodů je snahou se této kompletní odpovědi vyvarovat a to omezením počtu cyklů chemo(bio)terapie a časnějším provedením re-stagingového zobrazovacího vyšetření. Při pozitivní odpovědi je třeba rentgenologickému „vymizení“ metastáz předjet včas indikovaným chirurgickým výkonem. V případě, že již tato situace nastane, je doporučeno po provedení hepatektomie pokračovat v loko-regionální chemoterapii intraarteriálním přístupem (HAI – hepatic artery infusion) aplikací oxaliplatinu. Nicméně cílem i u této skupiny nemocných je provést resekční výkon kurabilně.

Zásadní význam resekce jaterních metastáz: Současné výsledky ukazují, že správně indikovaná a provedená resekce jaterních metastáz dokáže významně prodloužit život pacientů. Za prognostické faktory se považuje velikost jaterní metastázy > 5 cm, počet > 4, bilobární charakter postižení, invaze do lymfatických uzlin pediklu a vysoká hladina CEA.

V naší republice bohužel není vždy chirurgická intervence zvažována na prvním místě. Pacienti s jaterními metastázami dostávají většinou primárně systémovou léčbu a možnost provedení resekce je odsunuta. Ne vždy jsou však jaterní metastázy operabilní. Velká retrospektivní studie autorů Kopetz a spol. ukázala na souboru 2470 pacientů přibližně 20 % primární operabilitu jaterních metastáz s tím, že pětiletého přežití se dožilo 55,2 % pacientů v porovnání s 19,5 %, kteří operaci neprodělali. Význam operability jaterních metastáz se jeví jako zásadní pro prognózu onemocnění. Radikální resekce jater u nemocných s jaterními metastázami KRK přináší ve srovnání s jinými léčebnými modalitami významně nejdelší přežívání a to nepochybně v výraznějším léčebném pokroku biochemoterapie. Až 60 % nemocných, u kterých byla provedena resekce jater R0 s následnou adjuvantní biochemoterapií se dožije 5 let od stanovení diagnózy. Zásadním problémem je nízké procento resekovatelných nemocných nepřevyšující 20 %. U těchto nemocných je nutné využít všech dostupných možností k dosažení downstagingu (downsizingu). Odpověď nádoru a sekundární resekabilita jaterních metastáz KRK po neadjuvantní chemoterapii v kombinaci s cílenou léčbou cetuximabem prokázala randomizovaná studie 2. fáze CELIM u 111 pacientů s primárně neresekovatelnými metastázami (technicky neresekabilní nebo ≥ 5 metastáz). Ve skupině pacientů s neoadjuvantně podávaným cetuximabem v kombinaci s FOLFOX6 došlo ke konverzi u 20 (38 %), ve skupině s FOLFIRI u 16 (30 %) nemocných. Celkově tak byl pokus

o konverzi (a tím i k resekci jater) úspěšný u 36 (32,5 %) primárně neresekovatelných nemocných (!). Ve zpětném srovnání léčebné odpovědi převládali nemocní s K-RAS divokého typu oproti mutovanému (70 % vs. 41 %, $p = 0,008$). Z tohoto důvodu je nejlepších výsledků dosahováno multimodální terapií s uplatňováním personalizovaného přístupu ke každému pacientovi s dodržení kritérií zachování co nejvyšší kvality jeho života. A to nehlédě na celou řadu doposud nevyjasněných otázek týkajících se jednotlivých léčebných postupů. Vzniká tak pojem „oncosurge“ postihující celou komplexnost problematiky a především multidisciplinární přístup v léčbě těchto nemocných. „Oncosurge“ systém považuje provedení resekce všech metastatických ložisek za zásadní při ponechání zbytkového parenchymu zdravé tkáně > 20 %. Za prognostické faktory je považován PS a stav nepostiženého jaterního parenchymu. Extrahepatické metastázy nejsou a priori považovány za kontraindikaci resekčního výkonu. Takto lze v případě provedení resekce jater R0 dosáhnout více jak 50% pětiletého přežití.

Závěr: Efektivním diagnosticko-terapeutickým přístupem lze u pacientů s metastatickým postižením jater u kolorektálního karcinomu docílit pětileté přežití přesahující 50 %. Nejúčinnější léčbou je kurabilní resekce jater, kterou lze v současné době indikovat primárně u 20 až 25 % nemocných. U části nemocných lze resekci provést po konverzní systémové protinádorové léčbě. Lze také použít speciálních chirurgických technik (výkony kombinované, dvoudobé) či výkon umožnit po artifiálně vyvolané hypertrofii plánovaného jaterního remnantu. Současnou bezpečnost operačního výkonu, s mortalitou menší než 1 %, umožňuje nejen pokročilá operační technika, ale sofistikovaný odhad velikosti a funkčnosti ponechaného jaterního parenchymu, kvalitní perioperační péče anesteziologa a minimalizaci hepatotoxického poškození jater předoperačně podávanou protinádorovou léčbou.

Úspěšná léčba u těchto nemocných závisí na těsné mezioborové spolupráci (multioborové komise), která na principu personalizované medicíny určuje léčebný a dispenzární postup u jednotlivých pacientů.

Poznámka: Upravený text publikován ve Farmakoterapii, Kolorektální karcinom, 2013.

Podpořeno granty IGA MZČR NT 13 660 a ZRO MO 1012.

Současné problémy při radikálním odstranění jaterních a plicních metastáz a jejich možné řešení
Třeška V., Vodička J., Špidlen V., Liška V., Skalický T., Fichtl J., Sutnar A.
Chirurgická klinika FN, Plzeň

Úvod: Jaterní a plicní metastázy kolorektálního karcinomu se vyvinou přibližně u 20–70 %, resp. u 10–22 % nemocných s kolorektálním karcinomem. Otázka jejich optimální léčby je stále předmětem mnoha diskuzí. Cílem práce proto bylo zhodnocení výsledků chirurgické léčby v rámci multimodálního léčebného postupu.

Materiál a metoda: V rozmezí let 2002 až 4/2013 jsme řešili celkem 30 nemocných s oběma typy metastáz kolorektálního karcinomu. Průměrný věk nemocných byl $62,8 \pm 10,7$ let. U 19 nemocných se jednalo o metachronní a u jedenácti pak o synchronní metastázy. U metachronních metastáz předcházely jaterní metastázy ve 14 případech plicním a plicní metastázy pak byly diagnostikovány před jaterními u pěti nemocných. U sedmi nemocných se oba typy metastáz vyskytly současně. Jaterní resekci jsme provedli u 23, radiofrekvenční ablaci (RFA) u sedmi nemocných. U 15 nemocných byla provedena laserová metastasektomie, u 14 pak plicní resekce a u jednoho nemocného RFA ložisek. U 25 nemocných jaterní výkon předcházela výkonu plicnímu. 73,3 % nemocných mělo následnou adjuvantní onkologickou léčbu.

Výsledky: Do 30 dní po operaci zemřel 1 nemocný (3,3 %) na aktinomykotickou sepsi komplikovanou infekcí methicillin rezistentním stafylokokem. Morbidita souboru činila 10 %. K recidivě metastáz v játrech došlo u šesti nemocných, u všech byla provedena RFA. Medián celkového a bezpříznakového přežívání nemocných po primární operaci metastáz byl 6,9, resp. 1,1 roku.

Závěr: Chirurgická léčba je jedinou alternativou v rámci multimodální léčby nemocných s jaterními a plicními metastázami kolorektálního původu, která nabízí nemocným dobré dlouhodobé výsledky.

KONTOVERZE DIAGNOSTIKY A LÉČBY KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU

Je možné vyléčit lokalizovaný karcinom rekta bez chirurgické intervence?

Dytrych P., Krška Z., Hoskovec D.

I. chirurgická klinika LF UK a VFN, Praha

Kolorektální adenokarcinom je nejčastější malignitou zažívacího traktu. ČR zaujímá přední místa ve světových statistikách incidence a mortality. Terapie adenokarcinomu rekta je založena na chirurgické resekci a u vyšších stadií nádoru je tato kombinována s radioterapií či chemoradioterapií (CHRT). Zdokonalením chirurgické techniky v druhé polovině minulého století (koncept totální mezorektální excize – TME) se počet lokálních recidiv výrazně snížil. Dlouhodobé přežívání pacientů je determinováno zejména systémovým (vzdáleným), nikoliv lokálním relapsem.

Neoadjuvantní radioterapie či chemoradioterapie u vyšších stadií onemocnění může přispět k regresi tumoru, k tzv. downsizingu a downstagingu, tudíž u nádorů původně dosahujících cirkumferenčního radiálního okraje lze po neoadjuvanci dosáhnout s vyšší pravděpodobností R0 resekce, krom toho dochází také k regresi případné malignity ve spádových uzlinách. Nádory střední a distální třetiny rekta mohou metastazovat v 16–23 % do laterálního lymfatického systému pánve. Kurativní dávka pro adenokarcinom rekta se pohybuje okolo 70 Gy. V neoadjuvanci jsou vzhledem k toxicitě využívány dávky okolo 46–56 Gy. U některých pacientů však mohou mít již tyto nižší dávky kurativní efekt. Rada retrospektivních studií ukázala pětileté přežívání 50–90 % u T1-T2-T3 stadií adenokarcinomu rekta, pacientů léčených pouze radioterapií (bez chirurgického výkonu), řada úmrtí neměla souvislost s malignitou. Je tedy evidentní, že i tyto nižší dávky neadjuvantní terapie mohou u senzitivních karcinomů vést až ke kompletnímu zániku nádoru.

Rada autorů demonstrovala, že právě míra regrese tumoru po neoadjuvantní CHRT je prediktivním ukazatelem přežívání. Nejlepší prognózu mají pacienti s kompletní regresi nádoru (pCR – pathologic complete response) či téměř kompletní odpovědi. Podle použité neoadjuvantní CHRT je pCR dosahována v různé míře (10–36 %). Ve skupinách s nižším stadiem před radioterapií a menšími tumory je pCR dosahována ve větší míře.

Příznivé onkologické výsledky pacientů s pCR zpochybňují nutnost odstranění rekta s mezorektem, případně i análního kanálu – chirurgickými výkony zatíženými nemalou morbiditou. Úskalím případného „wait and see“ postupu je za prvé potvrzení kompletní odpovědi nádoru na neoadjuvanci (korelace klinické a patologické CR dosahuje jen 25–60 %), za druhé vyloučení metastatického postižení spádových lymfatických uzlin (3–8,7 % s ypT0 je N+). Dostupné literární údaje demonstrují vyšší výskyt lokální rekurence (5–6 %) v případě pacientů vedených „wait and see“ managementem, oproti radikálnímu chirurgickým výkonům u pacientů s pCR, resp. ypT0 (0,5–3,3 %). V případě srovnání celkového přežívání se však rozdíly mezi těmito soubory stírají. Alternativou „wait and see“ politice je potvrzení ypT0 pomocí lokální excize postradiační jizvy. Revizí výsledků takto vedených pacientů uvedených v dostupné literatuře zjišťujeme u souboru 159 pacientů cca 2 % lokální rekurence při průměrné délce sledování asi 58 měsíců. Příznivé výsledky experimentálních souborů pacientů, kteří podstoupili CHRT a lokální excizi dokonce pro tumory s nekompletní odpovědí na neoadjuvanci vedenou k zahájení řady randomizovaných studií, kdy pacienti s T1-T3 tumory, kteří dobře odpovídají na neoadjuvantní CHRT, jsou indikováni k lokální excizi, s předpokladem dostatečně radikálního výkonu s menší morbiditou a mortalitou – ACOSOG Z6041 (USA), GRECCAR 1, GRECCAR 2 (Francie), CONTEM (UK, Francie, Dánsko, Švédsko), CARTS (Nizozemí).

Teprve výsledky takto designovaných studií s dostatečnou dobou follow-up a dalších, které budou porovnávat časnou ale také pozdní morbiditu, funkční výsledky a kvalitu života jednotlivých terapeutických modalit, by mohly mít potenciál zodpovědět položenou otázku – zda je možné a racionální uplatnit rutinně rektum zachovávající přístup léčby adenokarcinomu rekta u většího množství pacientů.

PRAGMATICKÉ HODNOCENÍ KVALITY PÉČE V DIGESTIVNÍ ONKOLOGII

Pragmatické hodnocení kvality péče v sugestivní onkologii

Žaloudek J.

LF MU, Brno

Pro základní hodnocení kvality péče v onkologii solidních nádorů stačí sledovat osm parametrů, shrnutých do akronymu NoT ResStng SurGEONS. Pět z nich charakterizuje daný případ nádorového onemocnění (Nodes, Tcategory/Typing, Resection margins, postoperative Staging, Investigation on Grade), tři parametry vypovídají o pracovišti, zda sleduje výsledky péče (Survival), navrhuje optimální léčbu každého případu v multidisciplinárním indikačním týmu (Guaranteed Estimation by Oncologists) a jakou disponuje pro danou diagnózu zkušeností (Numbers). Tyto údaje jsou v ČR k dispozici v Národním onkologickém registru a Systému pro vizualizaci onkologických dat (SVOD). Práce s těmito údaji je demonstrována v případě kolorektálního karcinomu na souboru 75 512 případů z let 2001–2010. Hodnocení kvality péče na základě reálných dat je součástí koncepce specializačního oboru onkochirurgie a podobnou cestou jde od roku 2012 i evropský program EURECCA (European Registration of Cancer Care).

Cirkumferentní resekční okraj a kompletnost mezorektální excize – ukazatele kvality chirurgické léčby karcinomu rekta

Ferko A.

Chirurgická klinika LF UK a FN, Hradec Králové

Cirkumferentní resekční okraj (CRO) a kvalita mezorektální excize dokladují kompletnost totální mezorektální excize (TME) a jsou významnými faktory, bez kterých již nelze hodnotit radikalitu resekčních výkonů na rektu. Ukazuje se, že pCRO lze využít jako bezprostřední ukazatel onkologické radicality, který významně ovlivňuje výsledek léčby. Podle některých, pozitivní patologický cirkumferentní okraj (pCRO) je významnějším nezávislým prediktivním faktorem než samotné pT stadium nádoru. Laparoskopický přístup k resekci rekta byl 15 let opakovaně podrobený analýze. V současnosti dominuje otázka, zda jsme cirkumferentně dostatečně, tj. srovnatelně radikální s otevřeným přístupem. Nejde o výkony na horním konečniku, ale zejména o karcinom do 10 cm. Studie publikované na toto téma jsou zatíženy metodickými nedostatky. Bud' zahrnují do studie pacienty včetně karcinomu horního rekta, nebo vylučují karcinom distální třetiny konečniku, nebo jde o selektovanou skupinu pacientů.

Prediktivní data NOR a odhad kvality péče u nemocných s jaterními metastázami koloarektálního karcinomu v ČR

Ryska M.¹, Dušek L.²

¹Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN, Praha

²Institut biostatistiky a analýz MU, Brno

Úvod: Kolorektální karcinom metastazuje především do jater: synchronně ve 20–25 %, metachronně až v 35 %. Ostatní lokalizace jsou výrazně méně zastoupeny (plíce cca v 8 %). Současné léčebné postupy umožňují, že více než polovina nemocných této skupiny přežívá 5 let. Podmínkou je provedení radikální resekce metastázami postižené části jater. V souladu se světovou literaturou a našimi statistikami je radikální resekce jaterních metastáz, jako součást komplexní onkologické terapie, neefektivnější, s nejdelším prodloužením života. Primárně radikálně resekbilních je 20 % nemocných s jaterními metastázami, tj. cca 1850–2000 pacientů. Při použití současných možností konverzní terapie a eventuálně etapových operačních výkonů, lze uvést, že dalších 13–15 % nemocných lze po absolvování neadjuvantní systémové léčby indikovat k radikální resekci. Celkově se tak dostáváme k počtu cca 3000 nemocných, u kterých by měla být v souladu s moderní terapií indikována resekce jater

Tab. 1 Prediktivní údaje incidence a prevalence KRK v ČR pro rok 2013

		Incidence		Prevalence
stadium I	1980	(1808; 2150)	18 152	(17 843; 18 461)
stadium II	1939	(1797; 2081)	16 643	(16 356; 16 930)
stadium III	2222	(2070; 2373)	12 237	(11 986; 12 488)
stadium IV	2177	(2022; 2332)	7557	(7361; 7753)
stadium neznámo				
• z objektivních důvodů	360	(237; 483)	2 661	(2543; 2779)
• bez udání důvodu	89	(56; 115)		
celkem	8764	(7990; 9534)	57250	(56 089; 58 411)

Data IBA 2013

s kurabilním cílem. V souladu se současným konsenzem léčby je proto nutné u každého nemocného nejprve zvážit resekabilitu.

Metoda: Ke kvalifikovanému odhadu počtu provedených jaterních resekcí vyjadřujících dodržení současného konsenzuálního postupu v komplexní onkologické péči o nemocného s metastazujícím kolorektálním karcinomem jsme srovnali kumulativní počet predikovaných nemocných ve 4. stadiu onemocnění pro rok 2013 s výsledkem dotazníkové akce z chirurgických pracovišť zabývajících se jaterní chirurgií z roku 2008. Do předpokládané resekability jsou zahrnuti primárně resekovatelní nemocní s navýšením o 13 % dosažené resekability konverzní léčbou (celkově 33 %). Poměrem provedených resekcí s jejich předpokládanou potřebou vyjadřujeme odhad současné kvality dostupné péče u nemocných s metastatickým postižením jater při kolorektálním karcinomu v ČR při předpokládaném pětiletém přežívání 40–50 %. Toto procento bylo z velkých chirurgických pracovišť potvrzeno v průběhu jednohodenního sympozia v roce 2011.

Výsledky: Z údajů Národního onkologického registru z roku 2010 plyne, že narůstající incidence kolorektálního karcinomu v ČR znamenala 9200 nových případů/rok, při prevalenci 49 000 osob. Predikované údaje na rok 2013 tato čísla potvrzují a dokládají, že můžeme očekávat 7557 nemocných ve IV. stadiu onemocnění (tab. 1).

Vezmeme-li v úvahu, že část nemocných v neznámém stadiu onemocnění (n = 2661) patří do IV. stadia onemocnění, lze dovést, že u přibližně 9000 nemocných můžeme diagnostikovat jaterní metastázy, ať již synchronně nebo metachronně. Z tohoto počtu je 20 % nemocných, tj. 1800, u kterých je indikována jaterní resekce při primární resekabilitě. Následných 13 % nemocných po predikované úspěšné konverzní terapii představuje dalších 1170 pacientů. Celkově lze dovést, že z poolu prevalence nemocných s metastazujícím KRK by měla být provedena jaterní resekce u 2970 pacientů.

Z počtu nově diagnostikovaných nemocných s KRK lze očekávat u 25 % synchronní metastázu, tj. u 2200 pacientů. Dvacet procent z nich činí 440 pacientů s primárně resekabilním nálezem a 286 s predikcí resekability po konverzní terapii. Celkově 726 nemocných.

Na základě dotazníkové akce dosáhl roční kumulativní počet provedených jaterních resekcí na 35 chirurgických pracovištích zabývajících se jaterní chirurgií, včetně všech pracovišť fakultního typu, čísla 466.

Diskuze: Je zřejmé, že kvalitu péče u nemocných s metastazujícím kolorektálním karcinomem lze posuzovat v přímém vztahu poměru počtu provedených jaterních resekcí k počtu predikovaných resekcí. Tuto úvahu lze podpořit následujícími argumenty:

- A – optimálního výsledku pětiletého přežití lze dosáhnout pouze u pacienta, u kterého je v rámci komplexní onkologické péče provedena radikální jaterní resekce,
- B – současná perioperační mortalita jaterních resekcí se na high volume chirurgických pracovištích pohybuje v rozmezí 0–3 %),

C – současná účinná systémová terapie a možnost tzv. etapových výkonů zvyšuje signifikantně resekabilitu. V této skupině nemocných je udáváno pětileté přežití vyšší než 30 %,

D – personalizovaná medicína s rozhodováním v multioborové komisi umožňuje v rámci dispenzáře indikovat k jaterní resekcí nemocné opakovaně, aniž by bylo výše uvedené pětileté přežívání významně sníženo.

V rámci ČR lze na základě prediktivních dat IBA MU v Brně uvést následující kvalifikovaný odhad požadavku na jaterní resekcí.

Synchronní metastázy (u 25 % nemocných s KRK):

- Nutné provést jaterní resekcí u 440 pacientů v návaznosti na resekcí primárního ložiska.

- Nutné provést jaterní resekcí po konverzní terapii u 286 nemocných. Celkově je jaterní resekce indikována u skupiny nemocných s KRK se synchronními jaterními metastázami u 726 nemocných/rok.

Metachronní metastázy (u cca 30–35 % nemocných po resekcí primárního karcinomu):

- Celá skupina čítá téměř 3000 nemocných, u kterých je v průběhu jejich dispenzáře indikována jaterní resekce.

- Odhad počtu nemocných, který je z této skupiny nemocných indikován k jaternímu výkonu v průběhu 1 roku, se musí pravděpodobně odvíjet od jejich průměrného přežívání, tj. počet každoročně indikovaných musí být výsledkem celkového počtu nemocných s metastazujícím KRK v prevalenci vyděleného délkou jejich průměrného přežívání v letech. Vzhledem k tomu, že u této skupiny nemocných se bez jaterní resekcí udává přežívání 22–30 měsíců, spekulativně lze mluvit o intervalu 2–2,5 roku, po kterémto období by měla být jaterní resekce provedena. Znamenalo by to, opět spekulativně, že každoročně by z počtu indikovaných nemocných ze skupiny prevalence měla být jaterní resekce provedena u více než 1000 nemocných. Tento odhad není literárně uváděn. Srovnáme-li celkové údaje získané z dotazníkové akce s predikovaným počtem nemocných se synchronními a metachronními jaterními metastázami KRK, lze odvozovat, že je adekvátní ošetření v ČR, tj. provedení radikální resekcí jaterních metastáz, provedeno přibližně u 27 % indikovaných pacientů.

Závěr: Odhad stávající kvality dostupné péče u nemocných s metastazujícím kolorektálním karcinomem, vyjádřený poměrem provedených resekcí jater s jejich předpokládanou potřebou, dosahuje v ČR 27 %. U většiny nemocných tak není indikována radikální resekce jater provedena a tím jim není dána šance dlouhodobého přežití. Kvalita péče o tyto nemocné je u nás nedostačující. Detailní rozbor bude možné provést po dokončení plánované statistické studie.

Podpořeno granty IGA MZ ČR NT 13 660 a ZRO MO 1012.

Cenzura v medicíně – jeden příběh

Čas. Lék. čes. 2014; 153: 218

Šestnáct občanů v nejlepší věku utrpělo zlomeninu hrudní páteře ve výši Th2-Th11 se všemi příznaky transverzální léze míšní. Všichni byli operováni, u všech byla provedena repozice a stabilizace páteře ze zadního přístupu.

Neurolog na neurochirurgické klinice, kde pracuje 40 let a předtím byl 7 let primářem v Kladrubech, vyšetřil tyto nemocné s ohledem na léčbu těžké spasticity. Bylo provedeno vyšetření klinické, obrazové a elektrofyziologické.

Z příložené dokumentace vyplývalo, že u 75 % nemocných byla stabilizace provedena podruhé, většinou předním přístupem, nebo byla provedena zadní reinstrumentace. Téměř 50 % bylo stabilizováno potřetí. Důvodem opakovaných operací byl neuspokojivý obrazový (RTG, CT) nálezn.

Na tento námět bylo vypracováno sdělení, v němž se konstatovala plná zdůvodněnost první operace a byla diskutována výtěžnost opakovaných stabilizací. Byly uvedeny skutečnosti, které je vhodné vzít v úvahu při rozhodování o opakovaných operacích. Článek byl sepsán jako podnět k diskusi.

Práce byla nabídnuta časopisu Acta chirurgiae orthopaedicae et traumatologiae Českoslovaca. Byli dva recenzenti, podle připomínek byla práce upravena. Druhou recenzi provedlo pět recenzentů, nesouhlasné a odmítavé připomínky autor dílem přijal a rukopis podle nich upravil, dílem diskutoval. Některé připomínky rozvíjely základní tézi autora: „reoperace je třeba indikovat po důkladné rozvaze a zohlednění všech okolností, nejen podle rentgenového nálezu“, „přední výkony už indikujeme velmi málo, jelikož krédo nutné rekonstrukce předního sloupce platí pro Th1 přechod a ne pro celou hrudní páteř“, „myšlenky, analýza a závěry autora jsou správné“, „cenný je poukaz na fakt, že revizní stabilizace páteře u pacientů s poškozením míchy jsou nežádoucí“, „v naprosté většině případů stačí k ošetření zadní přístup“, „vyčíslené závěry jsou závažné“, „léčbu bychom měli indikovat uváženě a zbytečně neoperovat“, „nebráním se diskusi na kontroverzní téma“. Zvláště pracoviště C (tj. spondylochirurgické oddělení FN Motol) opakovaně indikuje reoperaci v případech správně provedené první operace, a zatěžuje tak pacienta zbytečnými dalšími operacemi. Přesto všichni recenzenti uveřejnění článku odmítli. Důvody byly různé: vývoj pseudoartrózy a kyfózy, „nešťastné případy“, článek není vědecky relevantní, soubor je příliš malý, článek má formální nedostatky, výsledky jsou zmatené. Jedna recenze neměla věcný obsah („autor je zaměřen proti chirurgům“), jiná konstatovala, že autor má sice ve všem podstatném pravdu, ale „takový článek nemá v našem časopisu co dělat“. Byla třetí recenze – jeden oponent práci odmítl, druhý vzhledem k tomu, že důvody k reoperaci jsou „spíše častěji přinejmenším sporné“, ji zhodnotil jako prospěšnou. Nicméně redakce s politováním oznámila, že práci nelze v časopise ACTA uveřejnit.

Nemocné potkala zdravotní katastrofa, o jejímž operacním léčení sami nemají potuchy. Tím větší odpovědnost je na lékařích. Je opakovaná stabilizace – doporučená autoritami – nutná? Byla doba medicíny, kdy opakované pouštění žilou

u vysílených nemocných bylo v rukách nejodpovědnějších autorit.

Práce byla nabídnuta časopisu Rozhledy v chirurgii. Jeden recenzent práci uvítal, druhý měl v něčem pravdu a podle toho byl rukopis upraven, v něčem se mýlil a podle toho autor odpověděl.

Autor neobdržel rozhodnutí redakce. Obdržel ale rozčílené vyjádření předsedy spondylochirurgické společnosti: Práce je škodlivá, aniž bylo sděleno, v čem a komu je škodlivá.

Šéfredaktor Rozhledů v chirurgii se autorovi omluvil.

Autor pochopil, že hráz, kterou představitelé spondylochirurgie článku o přídatných stabilizacích páteře nastavili, je bez strategického partnera ochotného ocenit závažnost popsané příhody neprůrazná. Obrátil se na člena výboru chirurgické společnosti, který má vztah k hrudní chirurgii s uctívou žádostí, aby výbor společnosti článek posoudil: Nemocní s těžkým úrazem hrudní páteře jsou většinou polytraumatizovaní. Mají fraktury sterna, žeber, kontuzi plic, pneumotorax nebo hemotorax, hemomediastinum, disekci aorty. Trpí dechovou nouzí, po operaci je někdy nutná umělá plicní ventilace i tracheotomie. Po provedené zadní stabilizaci nebyla u žádného nemocného zjištěna dlah zložená nebo deformovaná. Spolu s vývojem přemostujícího svalku byla zadní stabilizace odpovědným statickým zajištěním. Opravná nebo doplňující operace byla zdůvodněna výhradně RTG/CT náleznem, nikoliv klinickým stavem. Byly uvedeny další skutečnosti navádějící k důkladné úvaze před doplňujícími operacemi. Článek byl vytvořen jako podnět pro výměnu názorů. Autor si uvědomoval, na jak tenkém ledě se takový podnět pohybuje, neboť některé přídatné stabilizační výkony osvědčovaly vrcholnou odbornou zdatnost chirurga. A teď by měl být průkaz svého mistrovství zbaven? To je zneklidňující pro celé odborné společenství a v této věci musí být všichni zajedno.

Žádost autora nebyla uznána za hodnou odpovědi, článek nebyl v Rozhledech v chirurgii uveřejněn.

Cenzura je kontrola a omezení sdělování informací. Slouží udržení ideologického monopolu. Je součástí praktik mocenských struktur. V letech 1953–1968 ji zajišťovala Hlavní správa tiskového dohledu. V současné době je cenzura v rukou hlavních redaktorů novin a časopisů, orgánů TV a rozhlasových stanic. Hlavní redaktoři jsou dozorováni majiteli tiskovin a vysílacích stanic. Ti mají specifické ekonomické zájmy a pečlivě dbají o jejich bezpečné udržení a rozvoj.

Ke stabilizaci zlomené páteře se používá drahé instrumentarium vyráběné několika firmami a obchodované několika jinými firmami. Je pochopitelné, že mezi těmito firmami panují konkurenční vztahy, zápas o trh a přízeň zákazníků.

prof. MUDr. Lubor Stejskal, DrSc.
Neurochirurgická klinika 1. LF UK,
Ústřední vojenská nemocnice Praha
e-mail: lubor.stejskal@uvn.cz

MEDTEL – mezinárodní konference o zdravotní informatice a telematicce

Praha, 27. až 28. listopadu 2013

Ve dnech 27. až 28. dubna 2013 se v kongresovém centru hotelu Clarion v Praze konal mezinárodní kongres MEDTEL, pravidelně pořádaná mezinárodní konference oboru zdravotnické informatiky a telematiky. Cílem konference je navazovat a rozšiřovat evropské kontakty a vytvářet otevřené fórum pro oblast evropského zdravotnictví (<http://www.action-m.com/medtel2013/>).

Konference byla pořádána společností MEDTEL o.p.s. ve spolupráci se Světovou zdravotnickou organizací (WHO), Českou lékařskou společností JEP a Technologickým centrem AV ČR. Hlavním partnerem konference byl CompuGroup Medical, konferenci dále podpořili IMB CZ, Morpho Cards CZ, ATOS IT solution and services, SUKL, Medical systems.

Záštitu nad konferencí převzal ministr zdravotnictví MUDr. Martin Holcát, MBA.

Mezinárodní konference MEDTEL mají již dlouhou tradici, i letos se podařilo zajistit účast významných odborníků z řady českých i mezinárodních institucí, kteří prezentovali připravovaná řešení a informovali o výsledcích a postupech realizovaných systémů. Bylo tak možné posoudit eHealth aktivity v podmínkách ČR s pracemi v Německu, Norsku, Maďarsku, Itálii a Rakousku, rovněž i s nadnárodním pohledem WHO nebo IBM.

Cílem konference bylo: navazovat a rozšiřovat evropské kontakty a vytvářet otevřené fórum pro oblast evropského zdravotnictví.

Programové zaměření konference

Podat aktuální informace o dosažených výsledcích oboru, prezentovat uskutečněné záměry a informovat o postupech přípravy a realizací.

Konferenci otevřel Clayton Hamilton, WHO regionální kancelář v Dánsku. V projevu připomněl hlavní historické milníky eHealth: 2005, 2013 přijetí standardů pro interoperabilitu a Health na/po internetu.

Sekce A: Společnost CompuGroup Medical v sérii přednášek představila komplexní přístup k budování systémů eHealth „zdola“ podle potřeb skutečných uživatelů – praktických a ambulantních lékařů. Tento přístup je zásadním inovativním pohledem na postupné zavádění „elektronizace“ do našeho zdravotnictví. Systémy e-zdravotnictví v praxi ambulantních a praktických ordinací, ambulantní informační systémy patří v ČR ke standardnímu vybavení valné většiny ordinací. Perspektivou je rozšiřování funkcí ambulantních informačních systémů tak, aby se mohly stát základem pro budování plnohodnotných elektronických zdravotních záznamů navázaných na síť bezpečné výměny patientských dat mezi partnery při poskytování kvalitních a bezpečných zdravotnických služeb. Samozřejmostí je elektronický dávkový export dat pro vyúčtování jednotlivých výkonů lékaře do jednotlivých zdravotních pojišťoven či objednávkový systém pro objednávání pacientů k lékaři. Upgrade těchto SW je možné pomocí vzdáleného přístupu. Již v současné

době jsou všechny dostupné ambulantní programy v ČR vybaveny datovým rozhraním pro kryptované strukturované odesílání lékařských zpráv do tzv. elektronických zdravotních knížek s pomocí české normy DASTA 3. Dále jsou předmětem testování různá propojení ambulantních SW s asistenčními technologiemi různých dodavatelů či vývojářů umožňující on-line monitoring pacientova zdraví lékařem.

Z přednášejících uvedme např. příspěvky O. Veselý, SÚKL, *elektronická preskripce*; V. Píkrýl, J. Hlaváček, O. Zeman, J. Gulyas, *CompuGroup Medical pro ČR a SK se sděleními ohledně aktuálních aktivit společnosti CompuGroup v oblasti eHealth v ČR a blok uzavřel J. Jansa, Immobiliser Central Europe přednáškou o elektronicky asistované primární péči.*

Sekce B – Asistenční technologie ve zdravotnictví byla věnována demonstraci praktických řešení v oblasti asistenčních technologií. Cílovou skupinou je stárnoucí populace stejně jako zdravotně postižení občané, kterým moderní technologie umožňují kvalitnější a bezpečnější pobyt v domácím prostředí, rehabilitaci, sledování pooperačních stavů. Možnost výkonu vybraných zaměstnání a zefektivnění domácí a sociální péče má přímý ekonomický efekt. Blok otevřela L. Lhotská, ČVUT Praha informací o osobních přenosných přístrojích v teorii a praxi, následoval příspěvek P. Pharow, Fraunhofer IDMT (Německo) o použití osobních přístrojů a jejich možnostech pro aplikace v (e-, m-, p-) Health.

A. Hovsto, ITS Norway z Norska, představil senzory, akumulátory a síť senzorů pro eHealth pro specifické skupiny – stárnoucí populaci, sportovce a atlety.

Sekce C – eHealth v kontextu evropské a mezinárodní spolupráce byla věnována aktuálnímu stavu v oblasti eHealth v rámci evropské a mezinárodní spolupráce s důrazem na priority evropských států v rámci předsednictví EU. V sekci byly představeny nové programy a iniciativy v evropské a mezinárodní spolupráci v eHealth v období 2014–2020.

Zásadním příspěvkem bylo představení evropského rámcového programu Horizon 2020 se zaměřením na oblast ICT a eHealth J. Kinkorovou, TC AV ČR. Další příspěvky uvedly příklady eHealth zkušeností a programů z ostatních států: J. Kandutsch, Atos IT solutions, eHealth v Rakousku – záměry a skutečnost; F. Sicurello, Univerzita v Miláně, Itálie, eHealth programy telemedicíny v Itálii a středomoří; N. Nader, GIE SESAM – Vitale, Francie, elektronická výměna dat ve zdravotnictví a P. Simon, Templar Partnership Company, Hungary, Maďarsko, ICT řešení ve zdravotnictví osobní péče (pHealth): možnosti a očekávání. Důležitou prezentací bylo představení účasti českého partnera ve velkém EU projektu EESSI o vybudování kontaktního místa vstupu elektronických dat z oblasti zdravotnictví do EU sítě představenou L. Švecem, CMÚ.

Sekce D: Standardy v národním informačním systému (NIS). Aktuální stav a problémy zavádění mezinárodních, evropských a národních norem pro standardizaci a interoperabilitu eHealth, legislativní a institucionální za-

kotvení standardizace v oblasti elektronického zdravotnictví a souvisejících procesů, zkušenosti a doporučení.

M. Zeman z KZ a.s. informoval o nových konceptech v národním standardu pro přenos zdravotnických dat, a o projektech CALLIOPE, SNOMED CT, epSOS, DASTA a dalších, L. Seidl a D. Krsička, I. LF UK Praha, představili standardy a metody jako hnací sílu udržitelných inovací v eHealth; K. Erenberger, Medical Systems a.s. informoval o zkušenostech s využitím DASTA formátu při integraci informačních systémů v řetězci nemocnic AGEL.

Sekce E: Podpora veřejného zdraví – WHO, dvouletá smlouva o spolupráci Ministerstva zdravotnictví ČR a Regionální evropské úřadovny

Světové zdravotnické organizace (SZO/WHO) na léta 2012–2013 obsahuje v prioritě 5 „Zdravotní informace, výzkum a inovace“. V rámci této smlouvy budou zavedeny analytické nástroje pro plánování, monitorování a hodnocení zdravotní situace. V současné době Ústav zdravotnických informačních systémů (ÚZIS) ve spolupráci s WHO zavádí do praxe interaktivní atlas nerovností v poskytování zdravotní péče ve světě. Zástupci WHO i ÚZIS prezentovali jak zkušenosti s interaktivním atlasem, tak i představy o možnosti dalšího využití nástroje v ČR. Národní lékařská knihovna (NLK) představila svůj systém on-line zpřístupnění odborných zdravotnických informací.

C. Hamilton, WHO Kodaň, Dánsko, ukázal stávající stav znalostí a výhled pro podporu zdravotní politiky ze strany WHO. M. Zvolský, ÚZIS ČR, prezentoval vybrané specifické ukazatele nemocnosti prostřednictvím nástroje InstantAtlas. H. Bouzková, Národní lékařská knihovna prezentovala dlouhodobé uchování a online zpřístupnění odborných zdravotnických informací v Národní lékařské knihovně.

Konference představila současný stav aktivit eHealth v ČR a srovnání s ostatními, zejména sousedními členskými státy EU. Vzhledem k novému rámcovému programu HORIZONT 2020 Evropské komise na roky 2014–2020 konference přispěla k motivaci zapojení do tohoto programu, který je více než předcházející zaměřen na asistenční technologie ve vztahu ke stárnoucí a populaci a eHealth v celém systému zdravotně sociální péče.

doc. RNDr. Judita Kinkorová, CSc.

Technologické centrum Akademie věd ČR
Ve Struhách 27, 160 00 Praha 6
e-mail: kinkorova@tc.cz

Ing. Jiří Ochozka

MEDEL, o.p.s.
Veletržní 67, 170 00 Praha 7
e-mail: ochozka@medtel.cz

Účinná kontrola tabáku nemusí být nákladná ani cílená na děti

Istanbul, 26. až 29. března 2014

Istanbul, Association of European Cancer Leagues a Turecká národní koalice Tabák nebo zdraví hostili 26. až 29. března 2014 již 6. evropskou konferenci Tabák nebo zdraví. Mezi téměř 500 účastníky ze 46 zemí byly známé tváře mezinárodní kontroly tabáku a autoři mnoha významných publikací. Konference tak měla vysokou odbornou úroveň a její jasné doporučení přistupovat k tabákovému průmyslu stejně jako k jiným původcům devastujících epidemií, tedy jej eliminovat, bylo podloženo.

Obecně se kontrolou tabáku již tradičně zabývá Škála kontroly tabáku (Joossens L, Raw M. Tobacco Control Scale 2013 in Europe, ECL, Brussels, 2013). Tato škála hodnotila 34 zemí Evropy včetně Chorvatska, Srbska, Turecka a Ukrajiny v základních účinných krocích, kterými jsou cena cigaret, naprostý zákaz reklamy a propagace včetně místa prodeje, nekuřácké veřejné prostory, vzhled krabiček a zdroje vynaložené na kontrolu a léčbu závislosti na tabáku. Kromě posledního bodu jsou to legislativní opatření, která stát nic nestojí: Kuřák si zapalí za dveřmi místo přede dveřmi, krabičky tiskne výrobce. Pokud jde o daně, je ekonomika obzvláště zajímavá: **Za méně prodaných cigaret s vyšší**

daní vybere stát víc peněz, které by tak mohl investovat do kontroly tabáku.

Bohužel, ČR je v této škále na 31. místě, tedy čtvrtá od konce, za námi už je jen Kypr, Německo a Rakousko.

Právě tyto legislativní kroky jsou tím, co sníží kouření dětí – nákladné a málo účinné školní programy či zákaz prodeje mladistvým, které jsou jistě správné, nejsou účinnou prevencí užívání tabáku a konference jim pozornost nevěnovala.

Prof. Simon Chapman z univerzity v Sydney upozornil, že pokud by Austrálie byla v Evropě, byla by na prvním místě škály kontroly tabáku – prevalence kouření je jen 15 %, 90 % kuřáků lituje, že kouří, tedy jen 1,5 % obyvatel Austrálie jsou „spokojení kuřáci“. Významný pokles prevalence je zejména mezi mladými. Chapman zdůraznil, že v Austrálii se nikdy žádná kampaň nezaměřila na děti a mladé – byla vždy cílená na kouření obecně, bez zmiňování věku. To potvrzuje výše uvedený význam vysoké ceny, nekuřáckých veřejných prostor, zákazu reklamy. Austrálie má i zákaz vystavování v místě prodeje a jako první země od roku 2012 jednotné balení. Zvýšil se počet těch, co nikdy nekouřili na 49 %, což znamená, že tento pokles prevalence je výsledkem prevence, nikoliv léčby.

Jednotné balení není bílá krabička, ale krabička s obrázkovým varováním na většině plochy, tedy padělání obrázků plíc je asi stejně obtížné jako padělání velblouda. Není na ní žádné logo značky, odpadá tedy adherence a ztotožnění s oblíbeným symbolem – všechny názvy značek jsou uvedeny stejnou velikostí a stejným písmem. Z reakcí tabákového průmyslu je jasné, že je to klíčově důležitý bod kontroly tabáku: Mnoha cestami se snaží zastrašit vlády jiných zemí. Jsou to jednak žaloby na australskou vládu, jednak šíření falešných dat, například o tom, že spotřeba cigaret v Austrálii za první rok s novými krabičkami vzrostla – naopak, klesla o 0,9 %. Předpokládaný pokles prevalence kouření 6 % byl ve skutečnosti poklesem o 11 %, více kuřáků uvažuje o tom, že přestanou, cigarety z „ošklivých“ krabiček jim méně chutnají a hlavně – nelákají tolik děti. Nejvýznamnější dopad měly na osoby s nízkým socioekonomickým statutem.

Je zajímavé sledovat, co říká samotný tabákový průmysl: Na jedné straně označují dopad jednotných balení jako „katastrofální, zničitelský pro jejich byznys“, na druhé straně říkají, že takové opatření nemá žádný význam.

Austrálie plánuje v budoucnu dispenzarizaci kuřáků stejně jako pro jiná chronická onemocnění – dyslipidémie, hypertenze. Kuřáci by měli být registrováni a prodej cigaret možný pouze po předložení karty, možná za roční licenční poplatky...

Podobný přístup má Finsko. Prof. Jaakko Kaprio představil finský program TobaccoFree Finland 2040. Systematickou strategii kontroly tabáku mají Finové už od roku 1972 – cenová politika, nekuřácké veřejné prostory, zákaz vystavování i v místě prodeje atd., stále dokola. Každoroční pokles prevalence kouření je 0,5 %. Bohužel, u nás již více než 10 let kouří stále 30 % obyvatel, 2krát více než v zemích s účinnou kontrolou tabáku, která je navíc dobrou ekonomickou investicí pro stát, společnost i jednotlivce – nikoliv nákladná aktivita.

Také Skotsko plánuje být do roku 2043 nekuřácké. Bohužel ČR zatím nemá ani plán kontroly tabáku na několik příštích let. Doufejme, že nám v tom alespoň pomůže nová direktiva o tabákových výrobcích, která vstoupí v platnost v roce 2016. Na formulaci jejího konečného znění se podstatným dílem podílela organizace Smoke Free Partnership (www.smokefreepartnership.eu). Skupinu vedla Florence Berteletti Kemp, která mluvila o „endgame“ v Evropě: Je to realita nebo utopie? K „endgame“ máme rozhodně dobré důvody – tabák je příčinou 16 % všech úmrtí v Evropě, navíc jsme si tuto epidemii způsobili sami, měli bychom tedy přijmout odpovědnost.

Velký zájem byl o sdělení věnovaná elektronickým cigaretám (EC) – z pohledu toxikologa, epidemiologa, lékaře-zdravotníka, ekonoma i tabákového průmyslu. Jakkoliv mohou být EC kontroverzním tématem, neměly by rozdělovat komunitu kontroly tabáku. Je jasné, že jejich dopad na zdraví v porovnání s klasickým kouřením je minimální,

i když nemusí být zcela nulový. Kdyby na ně přešli všichni kuřáci, znamenalo by to globálně nepochybně prevenci milionů předčasných úmrtí ročně. Stopová množství toxických či kancerogenních látek byla nicméně v některých výrobcích prokázána, přehled o tom přinesla publikace German Cancer Research Center: Electronic Cigarettes – An Overview, Heidelberg, 2013, dostupná na www.tabakkontrolle.de. Nejpodrobnější monitorování spotřeby tabákových výrobků a nikotinu má v Evropě zcela jistě UK (viz volně dostupný web www.smokinginengland.info) – v roce 2013 tam poprvé klesla prevalence kouření významně pod 20 % (cca 17 %) a zdá se, že to částečně bude možné přičíst právě elektronickým cigaretám, i když dostatečně velké randomizované studie jejich účinnosti v léčbě závislosti na tabáku zatím nemáme. Ani užívání EC mladými, kteří zatím nekouřili, se nezdá být takovou hrozbou, jak někteří uvádějí, patří spíše do oblasti experimentování. V UK se očekává, že koncem roku 2014 budou regulovány jako forma náhradní terapie nikotinem. Určitá regulace je jistě potřeba. Pokud jde o pasivní kouření, i když je riziko EC blízko nule, mohly by normalizovat kouření tam, kam již nepatří. To je také jedna ze skulin, kterou využívá tabákový průmysl. Jeho problém je získávání dětí a adolescentů (dospělí kouřit nezačínají, je třeba, aby začaly kouřit děti), další ztráty zákazníků vznikají odvykáním kouření kuřáků: EC mohou také být jedinou možností, jak si zlepšit reputaci („jsme zodpovědní“), proniknout tam, kde se nesmí kouřit či vrátit se do světa reklamy, sponzorování a marketingu. Všechny velké tabákové firmy dnes vlastní některou značku EC.

Témat bylo mnohem více, všechna však sjednocoval nekompromisní přístup k výrobcům cigaret jako ke zdroji epidemie (nebrat jako partnery pro kontrolu tabáku), ke kuřákům jako k nemocným (poskytovat a hradit léčbu) a ke kontrole tabáku jako ekonomicky výhodné pro státní příjem. Vodítkem může být Rámcová úmluva o kontrole tabáku, zatím jediný právně závazný dokument WHO, o jehož existenci neví ani řada zdravotníků, natož politiků. Měla by nás inspirovat k jednomu zákonu na kontrolu tabáku.

Příští, tedy 7. evropská konference Tabák nebo zdraví bude opět za 3 roky, tedy v roce 2017.

Podpořeno projektem PRVOUK P25/LF1/2.

doc. MUDr. Eva Králíková, CSc.

Ústav hygieny a epidemiologie

1. LF UK a VFN

Centrum pro závislé na tabáku

III. interní kliniky 1. LF UK a VFN

Studničkova 7, 128 00 Praha 2

e-mail: eva.kralikova@lf1.cuni.cz

Prof. MUDr. Jan Petrášek, DrSc. jubiluje

Dne 8. září 2014 se dožívá bývalý vedoucí redaktor Časopisu lékařů českých prof. MUDr. Jan Petrášek, DrSc. neuvěřitelných 85 let. Je dosud velmi aktivní. Recenzuje a kontroluje texty pro zdravotnická nakladatelství a pravidelně dochází na kliniku a poslouchá, komentuje a glosuje zejména velké vizity. Rovněž se stále zajímá o nové přístroje, ty byly jeho koníčkem vždy.

Časopis lékařů českých vedl jako vedoucí redaktor dlouhých 17 let až do roku 2001. Časopis byl tehdy týdeníkem a musela to být neuvěřitelně náročná redakční práce. V tomto období byl časopis velmi významným a dlouho také jediným víceoborovým zdrojem informací pro lékaře v češtině.

Prof. Petrášek se narodil ve Vřátu, které se nedávno znovu oddělilo od Českých Budějovic. S rodiči se přestěhoval za války do Třeboně, která je stále jeho nejmilejším místem a kde tráví každoročně pár týdnů. I letos pan profesor na pohled z Třeboně napsal: Posílám pozdrav z Třeboně – my snad ani jinak jezdit neumíme a taky ani nechceme.

V roce 1948 absolvoval gymnázium v Třeboni a v roce 1953 Lékařskou fakultu UK v Praze. Již za studií pracoval jako medik v laboratořích III. interní kliniky a z té doby pochází i jeho první publikace v Časopisu lékařů českých. Po promoci nastoupil do Nemocnice v Českém Krumlově a působil krátce i jako obvodní a závodní lékař v Horní Plané a ve Větrní. V roce 1956 byl na základě konkurzu přijat na III. interní kliniku VFN a FVL UK, kde pracoval po celý život.

V roce 1959 se stal odborným asistentem a v roce 1964 obhájil kandidátskou práci na téma Klinický význam některých metabolitů katecholaminů. V roce 1972 obhájil habilitační práci na téma „Současné možnosti klinické diagnostiky a léčby feochromocytomu“ a v roce 1975 byl jmenován docentem vnitřních nemocí. Doktorskou práci rovněž na téma



(foto Karel Meister)

Feochromocytom obhájil v roce 1981 a v roce 1983 byl jmenován profesorem pro obor vnitřních nemocí.

Profesor Petrášek se zabýval nejprve endokrinologií, byl dokonce členem výboru Endokrinologické společnosti. Dnes je však známý především jako kardiolog. V roce 1970 se významně podílel na vzniku jedné z prvních českých koronárních jednotek na III. interní klinice. Zkušenosti čerpal i ze zahraničních pobytů v Dánsku a Německu. V roce 1976 přivezl z Německa echo-kardiografické zkušenosti a rozvinul na klinice první echokardiografickou laboratoř a vydal první publikace z tohoto oboru u nás. Mnoho let vedl na klinice kardiologickou skupinu, při které vznikla i laboratoř, kde byly prováděny jedny z prvních koronarografií u nás a byla zde provedena první en-

domyokardiální biopsie u nás. K žákům prof. Petráška patří především prof. J. Hradec, prof. M. Aschermann, doc. J. Král a další lékaři kardiologické skupiny kliniky. Jako vynikající pedagog a přísný examinator ovlivnil celé generace lékařů.

Profesor Petrášek je nositelem mnoha ocenění a svým celoživotním působením ovlivnil svou fakultu, nemocnici, kliniku, českou endokrinologii a kardiologii, ale rovněž i českou ediční činnost jak časopiseckou, tak knižní. Přejeme panu profesorovi do dalších let hlavně hodně zdraví a ještě mnoho knih vydaných pod jeho pečlivým dohledem.

prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc.
přednosta III. interní kliniky 1. LF UK a VFN

prim. MUDr. Petr Sucharda, CSc.
primář III. interní kliniky 1. LF UK a VFN

Doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc. 75letý

V srpnu slaví 75. narozeniny doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc., emeritní přednosta IV. interní kliniky 1. LF UK a VFN v Praze, který je lékařské veřejnosti znám jako velmi vzdělaný internista, svými zájmy zaměřený na kardiologii, zejména arytmiologii a kardiologickou intenzivní péči.

Doc. Bartůněk je ale také zdatným organizátorem a publicistou. Již v době studií na lékařské fakultě založil časopis Reflex a později (v letech 1963–1968) byl členem redakční rady akademického čtrnáctideníku Universita Karlova. V roce 1968 inicioval studentskou expedici do afrického Lambaréné s cílem dopravit pomoc nemocnici, kterou založil a léta v ní působil velký humanista a lékař Albert Schweizer. Již tehdy se u jubilanta projevoval organizační nadání spojené s vytrvalostí k dosažení cíle, pokud byl vnitřně přesvědčen o jeho správnosti.

Během studií ovlivnily doc. Bartůňka dvě významné osobnosti – prof. MUDr. Zdeněk Štáva, DrSc. a prof. MUDr. Ctirad John, DrSc. Petr Bartůněk promoval na Fakultě všeobecného lékařství UK v roce 1969 a nastoupil na IV. interní kliniku jako sekundární lékař a klinice zůstal věrný dodnes. V roce 1972 složil I. a v roce 1976 i II. atestaci z vnitřního lékařství. O 13 let později obhájil kandidátskou práci a v roce 1991 byl jmenován docentem vnitřního lékařství. V letech 1991–1995 vykonával funkci LP zástupce přednosta kliniky doc. MUDr. Vladimíra Puchmayera, CSc., a v letech 1995–2000 kliniku vedl.

Během svého působení na IV. interní klinice se významně podílel na jejím rozvoji. V roce 1983 stál u zrodu jednotky intenzivní péče a 5 let byl jejím vedoucím. V letech 1987–1990 byl hlavním organizátorem a koordinátorem rekonstrukce kliniky. Zasloužil se o modernizaci laboratorního komplementu kliniky, vybudování jednotky hyperbarické oxynoterapie a otevření nového oddělení s jednotkou intenzivní angiologické péče, která se stala první jednotkou svého druhu u nás. Několik let organizoval benefiční koncerty s účastí významných umělců. Získané finance pomáhaly k zajištění projektů spojených s modernizací kliniky.

Počátky zájmu v kardiologii a arytmiologii u doc. Bartůňka sahají do osmdesátých let, kdy společně s MUDr. Svjatoslavem Vinogradovem a spolupracovníky z ČVUT realizoval zavedení přenosu EKG po telefonu (systém TELSAR). V dalších letech se orientoval na problematiku lymeské borreliózy, zejména lymeské karditidy. Nemocní s tímto onemocněním byli dispenzarizováni v ambulanci, která se stala základem Centra lymeské borreliózy VFN.



Neméně významné jsou také akademické aktivity doc. P. Bartůňka. V letech 1990–1993 a 2002–2005 stával funkci proděkana 1. LF UK pro rozvoj fakulty, od roku 2005 je členem kolegia děkana, od roku 2007 členem Akademického senátu 1. LF UK. V posledních letech se věnuje koordinaci výuky vnitřního lékařství praktického zubního lékařství a významně se angažuje při organizaci výukového curricula nelékařských oborů na 1. LF UK, je činný ve vědecké radě i etické komisi ČLK, je členem akreditační komise pro vnitřní lékařství a zkušební komise pro atestační zkoušky v oboru vnitřního lékařství a členem Etické komise MZ ČR.

Je autorem či spoluautorem více než 70 publikací, převážně z oboru kardiologie. Již v roce 1982 se spolupracovníky publikoval monografii „Nové možnosti identifikace dysrytmií metodou TELSAR“. Více je známý jako autor monografií „Lymeská borelióza“ a „Lymeská karditida“, jež se dočkaly opakovaných vydání. Je členem redakční rady české mutace JAMA a Medical Tribune. Několik let byl také vedoucím redaktorem Časopisu lékařů českých, kdy se mu podařilo připravit elektronické vydání anglické mutace ČLČ.

Zážitky z expedice do Lambaréné ztvárnil v knize „Za džunglí je Lambaréné“. Společně s doc. V. Puchmayerem představili zakladatele IV. interní kliniky a československé angiologie prof. MUDr. Bohumila Prusíka v knize s názvem Bojovník proti bolesti. Doc. Bartůněk je také sběratelem příhod z lékařského prostředí, které postupně vyšly pod tituly: Smích z posluhářen (1991), Smích na recept (1996), Svěťte se odborníkovi ... to se nasmějete (1999), Další, prosím ... (2003) a To snad nemyslíte vážně, pane doktore ... (2009). V letošním roce připravuje 6. pokračování s názvem Doktoři jsou taky lidi!

Doc. Petr Bartůněk ke IV. interní klinice prostě patří! Jeho vřelý humor a zejména jeho pozitivní myšlení dokážou povzbudit, sblížit protichůdná stanoviska a uklidnit rozjitřenou náladu. Doc. Bartůněk je také známý vstřícným přístupem k mladým pracovníkům, kterým z pozice své funkce pomáhal při jejich dalším vzdělávání a nastartování kariérního postupu.

Vážený pane docente, milý Petře, k narozeninám Ti všichni přejeme ještě mnoho let úspěšné práce, hodně osobního i rodinného štěstí, pevně zdraví, nevysychající humor a trvalý optimismus.

spolupracovníci

Spolek českých lékařů v Praze pořádá v září a říjnu 2014 pravidelné přednáškové večery s diskuzí

Začátek vždy v **17 hodin** v Lékařském domě v Praze 2,
Sokolská 31.

DNE 22. ZÁŘÍ 2014

Přednáškový večer Kliniky plastické chirurgie 1. LF UK
a Nemocnice Na Bulovce, Praha
Přednosta: doc. MUDr. Jan Měšťák, CSc.

Onkochirurgické problematiky řešené na Klinice plastické chirurgie 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce

Koordinátor: doc. MUDr. Jan Měšťák, CSc.
Předsedající: prof. MUDr. Tomáš Trč, CSc., MBA
1. J. Měšťák: Úvod (5 min)
2. J. Měšťák: Plastická a rekonstrukční chirurgie současnosti (10 min)
3. M. Molitor, O. Měšťák, L. Kalinová: Mikrochirurgická rekonstrukce u rozsáhlých nádorů obličeje (15 min)
4. L. Zárubová, M. Molitor, J. Měšťák a spol.: Profylaktická mastektomie s následnou rekonstrukcí u BRCA pozitivních žen (10 min)
5. M. Molitor, L. Kalinová: Bezpečnost prsních implantátů v rekonstrukční a estetické chirurgii (10 min)
6. O. Měšťák, M. Molitor, L. Kment, K. Urban: Rekonstrukce prsů tukovou tkání v onkochirurgii (10 min)
Diskuze 30 min

DNE 29. ZÁŘÍ 2014

Přednáškový večer Chirurgické kliniky dospělých 2. LF UK
a FN Motol, Praha
Přednosta: prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.

Rekonstrukční výkony v chirurgii

Koordinátor: prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.
Předsedající: prof. MUDr. Robert Gürlich, CSc.
1. J. Hoch: Slovo úvodem (5 min)
2. B. East, T. Krejčí: Rekonstrukce břišní stěny po laparotomii – víme jak? (10 min)
3. M. Vjaclovský, J. Hoch: Resekce střeva a obnova jeho kontinuity (10 min)
4. Z. Jech, J. Charvát: Rekonstrukce po kritické ztrátě střeva (10 min)
5. R. Kuřa, J. Kozák, L. Frajer, P. Moravcová: Rekonstrukční operace obličeje u Moebiova syndromu (15 min)
6. L. Fialová: Rekonstrukce spastické horní končetiny (10 min)
Diskuze 30 min

DNE 6. ŘÍJNA 2014

Přednáškový večer Gynekologicko-porodnické kliniky
Nemocnice Na Bulovce, Praha
Přednosta: prof. MUDr. Michael Halaška, DrSc.

Škřivanův večer

Koordinátor: prof. MUDr. Michael Halaška, DrSc.
Předsedající: prof. MUDr. Jan Hořejší, DrSc.
1. M. Halaška: Úvod (5 min)
2. B. Sehnal: HPV infekce a lidské malignity (5 min)
3. D. Driák: Buněčná apoptóza a její význam při rozvoji karcinomu endometria (5 min)
4. M. Dvořák: Možnosti onkologického UZ v časných dg. tumorů a jejich recidiv (5 min)
5. K. Rauš: Gynekologicko-porodnická klinika na Bulovce v systému komplexní senologické péče (5 min)
6. P. Bolehovská: Analýza výsledků prvotrimestrálního screeningu (5 min)
7. H. Neumannová: Indukované potraty z genetické indikace u nás (5 min)
8. M. Mojhová, I. Mikysková: Problematika hepatitidy C v graviditě (5 min)
9. J. Vlášil: Návrat lokální anestezie ve vaginální chirurgii (5 min)
10. K. Maxová: Instrumenty hodnocení kvality života v urogynekologii (5 min)
Diskuze 30 min

DNE 13. ŘÍJNA 2014

Přednáškový večer Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN, Praha
Přednosta: prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

Hořejšího večer

Koordinátor: prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA
Předsedající: prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.
1. T. Zima: Úvodní slovo (5 min)
2. V. Adámková: Využití MAL TOF v nemocniční epidemiologii (12 min)
3. I. Janatková, M. Hindoš, K. Malíčková: Paraneoplastické autoantilátky – diagnostický a klinický význam (12 min)
4. T. Kvasnička, Z. Kudrnová, S. Štátná a spol.: Nová perorální antitrombotika v léčbě žilního tromboembolismu – naše zkušenosti (12 min)
5. T. Petr, V. Šmíd, K. Váňová a spol.: Protektivní efekt hemoxxygenázy a gangliosidů při cholestáze (12 min)
6. D. Springer, K. Omastová: Kontrola použití glukometrů (12 min)
Diskuze 30 min

DNE 20. ŘÍJNA 2014

Přednáškový večer Kardiologické kliniky IKEM, Praha
Přednosta: prof. MUDr. Josef Kautzner, CSc., FESC

Weberův večer

Novinky v léčbě a diagnostice chronického srdečního selhání

Koordinátor: prof. MUDr. Josef Kautzner, CSc.
Předsedající: prof. MUDr. Vladimír Staněk, DrSc.
1. J. Kautzer: Úvod (5 min)
2. R. Kočková: Nové zobrazovací metody při diagnostice a léčbě srdečního selhání (15 min)
3. M. Kubánek: Recentně vzniklé srdeční selhání (15 min)
4. M. Hegarová: Pokročilé srdeční selhání (15 min)
5. V. Melenovský: Srdeční selhání se zachovanou EF (15 min)
6. A. Krebsová: Použití nových genetických metod při diagnostice srdečního selhání (15 min)
Diskuze 40 min

DNE 27. ŘÍJNA 2014

Přednáškový večer I. interní kliniky 1. LF UK a VFN, Praha
Přednosta: prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

Eiseltův večer

Chronická lymfocytární leukémie - stará nemoc s novými výsledky

Koordinátor: prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.
Předsedající: prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.

1. M. Trněný: Úvod (5 min)
 2. T. Stopka, M. Trněný: Patogenetické poznámky (12 min)
 3. M. Špaček, J. Karban, A. Berková: Diagnóza a prognostické faktory (12 min)
 4. P. Obrtlíková, M. Trněný: Léčebný přístup (12 min)
 5. V. Válková: Alogenní transplantace krvetvorných buněk (10 min)
 6. P. Otáhal: Imunoterapie a chimerické antigenní receptory (10 min)
- Diskuze 40 min

Vzdělávací akce jsou pořádány dle Stavovského předpisu ČLK č. 16 a jsou ohodnoceny dvěma kredity.

Přednášky jsou zařazeny jako volitelný předmět pro studenty 1. LF UK Praha.

prof. MUDr. Richard Škába, CSc.
vědecký sekretář

prof. MUDr. Jiří Raboch, DrSc.
předseda

PRÁVNÍ PORADNA PRO LÉKAŘE V ČASOPISU LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Vážení čtenáři,

Redakční rada Časopisu lékařů českých se rozhodla otevřít rubriku Právní poradnu pro lékaře. Odborného vedení poradny se laskavě ujal pan JUDr. Petr Šustek, odborník na problémy zdravotnického práva. Své dotazy laskavě zasílejte elektronicky na adresu vedoucího redaktora (jjfhorak@gmail.com).

V nejbližším možném termínu bude dotaz v ČLČ uveřejněn spolu s odpovědí právníka.

Věříme, že se tato služba setká se zájmem našich čtenářů.

prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.
vedoucí redaktor Časopisu lékařů českých

STANOVISKO PŘEDSEDNICTVA ČESKÉ LÉKAŘSKÉ SPOLEČNOSTI J. E. PURKYNĚ K SYSTÉMU ATESTAČNÍHO (SPECIALIZAČNÍHO) VZDĚLÁVÁNÍ

1. Specializační vzdělávání má navazovat na dokončené studium na lékařských fakultách, které by měly obecně zvýšit podíl praktické výuky a rozhodující část posledního (před-promočního) ročníku již věnovat klinické přípravě v praxi.
2. Předsednictvo ČLS JEP akceptuje současný vzdělávací systém, který je postaven na systému 47 atestačních oborů, které vycházejí ze 17 kmenů. Absolvent lékařské fakulty se na jedné z lékařských fakult zapisuje do specializačního oboru a fakulta odborně i organizačně řídí jeho přípravu a vzdělávání.
3. Každý kmen by měl být ukončen oficiálním ověřením znalostí (nejlépe písemným testem, případně zkouškou), jehož absolvování umožní lékaři vykonávat přesně specifikované výkony, případně výkony pod dohledem. Seznam těchto výkonů musí sestavit akreditační komise všech navazujících oborů, které z kmene vycházejí, a tento seznam musí být akceptován nejen příslušnými odborníky, ale i ministerstvem zdravotnictví a plátcí zdravotní péče.
4. Délka kmene je dvouletá, další specializační příprava je dvou- až čtyřletá. Počet a spektrum atestačních oborů by měl co nejvíce korespondovat s obecnou situací v zemích EU.
5. Atestační přípravu a zkoušky po absolvování kmene a atestační zkoušky odborně i organizačně zajišťují lékařské fakulty (s výjimkou pro všeobecné praktické lékařství a praktické lékařství pro děti a dorost, kde přípravu a zkoušky zajišťuje IPVZ). Je žádoucí, aby jednotlivé obory vypracovaly atestační náplně i otázky k atestačním zkouškám společně, a zajistily tak celorepublikovou vyváženost výuky a jejího ověřování.
6. Vzdělávací programy a počty jimi požadovaných výkonů musí být akreditačními komisemi upraveny tak, aby byly v praxi realizovatelné a aby bylo možné co největší část vzdělávacího programu absolvovat v akreditovaném zdravotnickém zařízení, ve kterém je lékař v pracovním poměru.
7. Ministerstvo zdravotnictví ČR by mělo v úzké spolupráci s ČLS JEP, SOR a KOR koordinovat systém vzdělávání a zajišťovat jeho vyváženost a propojenost ve smyslu délky vzdělávání, odborné náplně a mezioborových vazeb.
8. Ministerstvo zdravotnictví ČR je zodpovědné za centrální evidenci atestačních oborů a jejich absolventů.
9. Systém atestačního (specializačního) vzdělávání musí být dlouhodobě stabilní.
10. Předsednictvo ČLS JEP považuje za naprosto zásadní, aby ve všech jednáních týkajících se organizace, struktury a náplně atestačního vzdělávání byly odborné společnosti ČLS JEP vždy neopominutelným účastníkem jednání.

PODZIMNÍ JEDNODENNÍ KURZY KLINICKÁ ANDROLOGIE V PRAXI

Andrologická sekce ČUS ČLS JEP připravila **10 jednodenních kurzů** určených všem zájemcům o praktické zvládnutí základní andrologické diagnostiky a léčby v klinické praxi. Každý kurz trvá **8 hodin** a je určen pro 1-2 účastníky na jednom z uvedených pracovišť.

Kurz **není** kompetitivní aktivitou k teoretickému kurzu Andrologie v rámci specializačního vzdělávání (ten je v gesci Urologické kliniky 1. LF UK Praha).

Termíny, vedoucí kurzu a pracoviště:

10. září 2014, MUDr. L. Bittner – Urologická klinika FNKV a 3. LF UK, Praha

10. září 2014, MUDr. M. Chocholatý – Urologická klinika FNM a 2. LF UK, Praha

17. září 2014, MUDr. L. Bittner – Urologická klinika FNKV a 3. LF UK, Praha

19. září 2014, MUDr. M. Broul – Klinika urologie a robotické chirurgie MN v Ústí nad Labem

22. září 2014, MUDr. M. Louda – Urologická klinika FN, Hradec Králové

1. října 2014, MUDr. L. Zámečník – Urologická klinika VFN a 1. LF UK, Praha

6. října 2014, MUDr. M. Louda – Urologická klinika FN, Hradec Králové

15. října 2014, MUDr. L. Zámečník – Urologická klinika VFN a 1. LF UK, Praha

31. října 2014, MUDr. M. Broul – Klinika urologie a robotické chirurgie MN v Ústí nad Labem

19. listopadu 2014, MUDr. M. Chocholatý – Urologická klinika FNM a 2. LF UK, Praha

Náplň kurzu:

Teoretická část – základní teoretický úvod v délce 30–45 minut

Praktická část – základní andrologické ambulantní vyšetření

- specializovaná vyšetření – duplexní USG, TRUS
- možnosti léčby specifických onemocnění (*inj. léčba m. Peyronie, ESWL, intrakavernózní aplikace PGE1*)
- řešení urgentních stavů (priapismus)
- interpretace endokrinologických nálezů
- ev. návštěva Centra asistované reprodukce

Realizace je podpořena Výborem ČUS ČLS JEP a společností Eli Lilly.

Registrace a další informace na e-mailu: sekr@cus.cz

Garant: MUDr. Libor Zámečník, PhD., FEBU, FECSM (resp. Andrologická sekce ČUS ČLS JEP).