

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

ČAS. LÉK. ČES., 151
2012, č. 3, s. 121–184
CLC EAL 151 (2)
121–184 (2012)

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

ROČNÍK 151/2012, č. 3

VEDOUcí REDAKTOR

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

REDAKČNÍ RADA

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

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

Doc. MUDr. Petr Čáp, PhD.
Centrum alergologie a klinické imunologie
Nemocnice Na Homolce
Rentgenova 2, 150 30 Praha 5

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

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

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

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

Prof. MUDr. Jan Holčík, DrSc.
Ústav sociálního lékařství a veřejného zdravotnictví LF
MU
Kamenice 5, 625 00 Brno – Bohunice

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 UK
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovenská republika

Doc. MUDr. Peter Jarčuška, PhD.
I. interní klinika FN
trída SNP 83/11, 040 11 Košice, Slovenská republika

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

Prof. MUDr. Jaroslav Lindner, CSc.
II. chirurgická klinika kardiologicko-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–Bohunice

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

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

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

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

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

prof. MUDr. Miroslav Zavoral, Ph.D.
Interní klinika 1. LF UK a ÚVN
U Vojenské nemocnice 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

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.
1. interní klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

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

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

OBSAH

Přehledové články

- Bendlová B, Dvořáková Š, Sýkorová V, Václavíková E, Hálková T.*
Nádory štítné žlázy – molekulárně genetické příčiny
a možnosti cílené léčby 123
- Krejsek J, Hrnčířová L, Holmannová D, Berglová I, Abuattieh M,
Andrýs C.* Autofagie a její úloha v obranné
a poškozující zánětové reakci 128
- Marinov Z, Pastucha D.* Běžná dětská obezita
a její metabolické následky 135

Původní práce

- Hrubá D, Okrajek P, Kukla L.* Faktory ovlivňující experimentování
s kouřením: výsledky studie ELSPAC 141

Speciální sdělení

- Štěpánková L, Kalvachová M, Kořínková I.* Kurz koordinátorů
HPH (Health Promoting Hospitals, Nemocnic podporujících
zdraví) a podzimní škola WHO v Praze 149

Abstrakta

- Turnovec M, Brdička R.* XV. celostátní konference
DNA diagnostiky 152

Sjezdy

- Donát J.* Jedenáctá konference o menopauze
(Seč, 14. až 16. října 2011) 172
- Blahoš J.* World Medical Association (WMA) o sociálních
determinantách zdraví (Montevideo, 11.–14. října 2011) ... 174
- Neumanová R.* 17. ročník onkologického sympózia na téma
„Onkologie v gynekologii a mammologii“
(Brno, 6. až 7. ledna 2012) 175
- Hladík M.* 10. sympozium Aktuality v dětské intenzivní péči
(Ostrava, 24. ledna 2012) 176

- Zprávy** 134, 140, 171, 177, 179
- Osobní zprávy** 151
- Knihy** 178

- Pokyny pro autory Časopisu lékařů českých** 181

Laureáti Nobelovy ceny

- Čech P.* Earl Wilbur Sutherland 183

CONTENTS

(No. 3, 13rd March 2012) Journal of Czech Physicians

Review Articles

- Bendlová B, Dvořáková Š, Sýkorová V, Václavíková E, Hálková T.*
Thyroid tumors - molecular-genetic causes and choices for
target therapy 123
- Krejsek J, Hrnčířová L, Holmannová D, Berglová I, Abuattieh M,
Andrýs C.* Autophagy and its role in protective
and damaging inflammatory response 128
- Marinov Z, Pastucha D.* Children obesity
and its metabolic outcomes 135

Original Article

- Hrubá D, Okrajek P, Kukla L.* Factors influencing
the experimentation with smoking: Observed
in ELSPAC Study 141

Special Article

- Štěpánková L., Kalvachová M., Kořínková I.* Seminar for HPH
coordinators (Health Promoting Hospitals) and WHO HPH
Autumn School 2011 held in Prague 149

Abstracts

- Turnovec M, Brdička R.* 15th national conference
on DNA diagnostics 152

Congresses

- Donát J.* Eleventh conference on menopause
(Seč, October 14 to 16, 2011) 172
- Blahoš J.* World Medical Association (WMA)
on social determinants of health
(Montevideo, October 11–14, 2011) 174
- Neumanová R.* 17th year of oncology symposium on the topics
“Oncology in gynaecology and mammology”
(Brno, January 6 to 7, 2012) 175
- Hladík M.* 10th symposium on News in the Intensive
Paediatric Care (Ostrava, January 24, 2012) 176

- News** 134, 140, 171, 177, 179
- Personal News** 151
- Books** 178

- Instruction to the Authors** 182

Nobel Prize Laureates

- Čech P.* Earl Wilbur Sutherland 183

<http://www.cls.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2012

ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

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

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

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

Příspěvky do Časopisu lékařů českých procházejí zdvojeným recenzním řízením.

Articles Publisher in the Journal of the Czech Physicians subject to double review.

Tiskne: Tiskárna Prager – LD s.r.o., Kováků 9, 150 00 Praha 5. Rozšiřuje v ČR: Nakladatelství Olympia, a.s., Praha,
do zahraničí (kromě SR): Myris Trade s.r.o., V Štíhlách 1311/3, P.O.Box 2, 142 01 Praha 4, myris@myris.cz, 234 035 205,
v SR Mediaprint-Kapa Pressegrasso, a.s., oddelenie inej formy predaja, P.O.Box 183, Vajnorská 137, 830 00 Bratislava 3,
tel.: 004212444 588 16, 00421 244 458 821, fax: 00421 244 458 819, e-mail: predplatne@abompkapa.sk

Vychází: 12x ročně. Předplatné: na rok pro ČR je 1272,00 Kč, SR 59,40 € jednotlivé číslo 106,00 Kč, SR 4,95 €

Informace o předplatném podává a objednávky českých předplatitelů přijímá:

Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 296 181 805 – J. Spalová, e-mail: spalova@cls.cz

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Inzertní oddělení ČLS JEP,

tel.: 224 266 253, tel./fax: 224 266 265, e-mail: ntsinzerce@cls.cz

Registrační značka MK ČR E77.

Rukopisy zasílejte na adresu: Prof. MUDr. Jiří Horák, CSc., I. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10, e-mail: horak@fnkv.cz

Rukopis byl předán do výroby 16. 3. 2012. Zasláné příspěvky se nevracejí.

Vydavatel získává otiskem příspěvku výlučné nakladatelské právo k jeho užití.

Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány, autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu.

Vydavatel a redakční rada upozorňují, že za obsah a jazykové zpracování inzerátů a reklam odpovídá výhradně inzerent.

Žádná část tohoto časopisu nesmí být kopírována za účelem dalšího rozšiřování v jakémkoliv formě či jakýmkoliv způsobem,

at již mechanickým nebo elektronickým, včetně pořizování fotokopii, nahrávek, informačních databází

na mechanických nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění.

Nádory štítné žlázy – molekulárně genetické příčiny a možnosti cílené léčby

Běla Bendlová, Šárka Dvořáková, Vlasta Sýkorová, Eliška Václavíková,
Tereza Hálková

Endokrinologický ústav Praha, Oddělení molekulární endokrinologie

SOUHRN

Karcinomy štítné žlázy jsou nejběžnější malignitou endokrinního systému. Hlavními genetickými změnami jsou bodové mutace v *RET* proto-onkogenu (somatické či zárodečné) v případě medulárního karcinomu, u karcinomů pocházejících z folikulárních buněk se jedná především o bodové mutace v genech *BRAF* a *RAS* či vznik tzv. *RET/PTC* přeskupení. Molekulárně-genetická diagnostika *RET* mutací u pacientů s medulárním karcinomem a jejich příbuzných je v současné době již součástí klinické praxe. Nyní se poznatky o genetické příčině nádorů začínají aplikovat také do cílené genové terapie, která umožňuje přesnější zacílení nových léčiv a větší individualizaci léčby. Článek shrnuje hlavní genetické příčiny nádorů štítné žlázy a jejich využití v cílené terapii.

Klíčová slova: *RET*, karcinomy štítné žlázy, mutace, genová terapie.

SUMMARY

Bendlová B, Dvořáková Š, Sýkorová V, Václavíková E, Hálková T. Thyroid tumors – molecular genetic causes and choices for target therapy
Thyroid tumors are the most common endocrine malignancy. The main genetic changes are point mutations in the *RET* proto-oncogene (somatic or germ-line) in medullary thyroid carcinoma and point mutations in *BRAF* and *RAS* genes or *RET/PTC* rearrangements in carcinomas developing from follicular cells. Molecular genetic diagnosis of *RET* mutations in patients with medullary thyroid carcinoma and their relatives is now the part of clinical approach. Currently, knowledge about genetic causes of thyroid tumors has begun applying into target gene therapy providing new therapeutic drugs and more individualized treatment. This review summarizes main genetic causes of thyroid tumors and their application in target gene therapy.

Key words: *RET*, thyroid carcinoma, mutations, gene therapy.

Be.

Čas Lék čes 2012; 151: 123–127

ÚVOD

Nádory štítné žlázy jsou nejčastější malignitou endokrinního systému. Karcinomy štítné žlázy tvoří nehomogenní skupinu nádorů, lišících se morfoloogicky i biologickým chováním. Mezi nádory vznikající z folikulárního epitelu patří dobře diferencované karcinomy (DTC) (papilární – PTC a folikulární – FTC), které si jsou podobné některými klinickými vlastnostmi, málo diferencované karcinomy (poorly differentiated thyroid carcinoma – PDTC), označované také jako insulární karcinomy, a velmi agresivní nediferencované karcinomy (anaplastické – ATC). Od parafolikulárních buněk (C-buněk produkujících kalcitonin) je odvozen medulární karcinom štítné žlázy (MTC) (1).

Všechny tyto karcinomy vznikají v důsledku určitých genetických změn vedoucích k aktivaci proteinkináz zapojených do dvou signálních drah – MAPK (mitogen-activated protein kinase), která je důležitá v buněčné proliferaci, diferenciaci a programované buněčné smrti, a PI3K-AKT, která hraje roli v regulaci glukózového metabolismu, v přežívání, adhezi a motilitě buněk (2). Uplatňují se zde především dva molekula-

ární mechanismy – bodové mutace, tzn. jednonukleotidové změny v DNA, a chromozomální přeskupení, při kterém dochází ke zlomu a spojení dvou genů na stejném či odlišném chromozomu. Etiologie obou mechanismů je odlišná. Chromozomální přeskupení mohou vznikat působením radiačního záření (terapeutické či náhodné ozáření, např. po černo-bylské havárii) či v důsledku blízkosti fragilních chromozomálních míst. Bodové mutace vznikají pravděpodobně chemickou mutagenezí, uvažuje se také o roli vysokého příjmu jódu (1). Většina těchto mutací je somatických, tzn. nacházejících se pouze v nádoru, zárodečné mutace jsou příčinou familiárního medulárního karcinomu (3). Identifikace genetických změn a objasnění jejich role v karcinogenezi je důležitá nejenom z diagnostického a prognostického hlediska, ale poznatky mohou být aplikovány i v léčbě, především v podobě rozvíjející se cílené genové terapie.

HLAVNÍ GENY ZAPOJENÉ DO KARCINOGENEZE ŠTÍTNÉ ŽLÁZY (tab. 1)

RET proto-onkogen

RET (REarranged during Transfection) proto-onkogen je lokalizován na 10. chromozomu (10q11.2) a má 21 exonů. Kóduje transmembránový tyrozinkinázový receptor s klíčovou úlohou v buněčném růstu, diferenciaci a přežití buněk (4). Skládá se ze tří funkčních domén – extracelulární se čtyřmi kadherinu podobnými oblastmi, doménou vázající

ADRESA PRO KORESPONDENCI

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

Tab. 1. Hlavní geny zapojené v karcinogenezi štítné žlázy

Gen	Genetická změna	Typ karcinomu	Výskyt (%)
RET	bodové mutace zárodečné	familiární MTC	95
		sporadický MTC	50
	přeskupení	PTC	20
BRAF	bodové mutace	PTC	29–69
		ATC	30–40
	přeskupení	PTC	1
		PTC spojený s ozářením	11
RAS	bodové mutace	PTC	10–20
		FTC	40–50
		ATC	20–40
NTRK1	přeskupení	PTC	5–10
		PTC spojený s ozářením	3
PIK3CA	bodové mutace nebo amplifikace	FTC	10–30
		ATC	25–45
PTEN	ztráta nebo bodové mutace	FTC	8–10
		ATC	6
TP53	ztráta nebo bodové mutace	ATC	60–70
CTNNB1	bodové mutace	ATC	65
PPAR γ	přeskupení	PTC	1–5
		FTC	30–35

vápník a cysteinově bohatou doménou, dále z transmembránové a tyrozinkinázové domény. Mezi cysteiny se tvoří disulfidické vazby, které jsou rozhodující při formování terciární struktury RET proteinu. Po vazbě ligandu na extracelulární oblast receptoru dochází díky cysteinově bohaté oblasti k dimerizaci a autofosforylaci intracelulárních tyrozinových zbytků. Aktivovaný protein stimuluje několik signálních drah, kromě MAPK a PI3K-AKT signální dráhy, také p38MAPK, Src/JAK/STAT3, JNK a proteinkinázu C (5). Za normálních okolností je RET protein exprimován v raných vývojových fázích pouze v buňkách odvozených z neurální lišty. Je tedy nepostradatelný pro vývoj štítné žlázy, ledvin a sympatického, parasympatického a enterického nervového systému. V případě štítné žlázy se vyskytuje pouze v parafolikulárních buňkách. Aktivace RET proteinu je velmi přísně regulovaný, tkáňově specifický proces. Pokud dojde k jeho poruše, stává se účinným onkogenem. U karcinomů štítné žlázy se uplatňují oba výše popsané molekulární mechanismy, které způsobí na ligandu nezávislou aktivaci.

U papilárního karcinomu je RET proto-onkogen aktivován pomocí tzv. RET/PTC přeskupení, kdy dochází ke spojení tyrozinkinázové domény RET genu s jiným běžně exprimovaným genem. Druhý gen poskytuje promotor a dimerizační funkci, a tím dochází k expresi aktivační domény RET genu, který za normálních okolností ve folikulárních buňkách štítné žlázy přepisován není. Neporušená tyrozinkinázová doména RET genu umožňuje RET/PTC proteinu aktivovat MAPK signální dráhu (6). V současné době je známo 12 různých genů tvořících s aktivační doménou RET genu 18 typů RET/PTC přeskupení, nejčastější je RET/PTC1 (s genem CCDC6, dříve H4) a RET/PTC3 (s genem NCOA4, neboli ELE1) (2). Zajímavé je, že všechny zlomy v RET genu jsou v 11. intronu. RET/PTC se vyskytuje asi u 10 až 20 % PTC a je pro tento typ karcinomu specifický. Výskyt RET/PTC je častější u dětí a u pacientů s radiační historií. Prevalence RET/PTC přeskupení v nádorových tkáních je spojena s geografickou variabilitou, ale liší se i v závislosti na použité molekulárně genetické metodě (1). V našem souboru jsme za použití standardních metod našli RET/PTC

přeskupení u 25,5 % pacientů s PTC. Naše pilotní studie ukazuje, že vznik RET/PTC přeskupení mohou ovlivňovat i některé polymorfismy v RET genu.

U medulárního karcinomu je RET proto-onkogen aktivován bodovými mutacemi a hraje klíčovou roli především u familiárních forem (MEN2A a MEN2B syndromy a FMTC), kde se jedná o zárodečné mutace, na rozdíl od sporadického MTC, kde se somatické mutace vyskytují pouze v nádorové tkáni (7, 8). U MEN2A téměř 90 % mutací postihuje kodón 634 (11. exon), zatímco u FMTC jsou mutace více rozptýleny v extracelulární doméně bohaté na cystein (10., 11., 13., 14. exon). Tyto mutace způsobují dimerizaci mutovaných proteinů a na ligandu nezávislou konstitutivní aktivaci RET kinázy. U syndromu MEN2B se většina zárodečných mutací nalézá v kodónu 918 (16. exon) v intracelulární tyrozinkinázové doméně RET proteinu (9, 10). Předpokládá se, že tato mutace mění substrátovou specificitu RET kinázy, způsobující fosforylaci neobvyklých intracelulárních proteinů. Naše výsledky detekce mutací v RET proto-onkogenu, rozdělení mutací vzhledem k fenotypu a záchyt mutací udávají tabulky 2 a 3. U sporadických MTC postihuje většina somatických mutací kodón 918 (16. exon), což odpovídá i u našeho souboru nádorových tkání (11). Detekce zárodečných mutací umožňuje identifikovat příbuzné pacienta, kteří mají vysoké riziko vzniku MTC a u kterých se proto doporučuje profylaktická operace. Podle klinické závažnosti se dle nových amerických kritérií jednotlivé mutace rozdělují do čtyř rizikových skupin A až D s doporučeným věkem a rozsahem profylaktické operace (12). Do skupiny D se řadí nejagresivnější mutace v kodónech 918 a 883. U těchto pacientů se doporučuje profylaktická operace již do jednoho roku života. Skupina C zahrnuje mutace v kodónu 634 s doporučením operace do 5 let života. U skupiny B (mutace v kodónech 609, 611, 618, 620 a 630) se doporučuje operace také do 5 let života, ale je možné ji provést i později. Nejméně agresivní jsou mutace v kodónech 768, 790, 791, 804 a 891 (skupina A). U těchto pacientů je možné provést profylaktickou operaci až po 5. roce života, případně až při zvýšené hladině kalcitoninu.

Tab. 2. Zárodečné mutace *RET* proto-onkogenu detekované v českých rodinách s MTC

Exon	Mutace	Báze	Počet rodin s detekovanou mutací			
			Spor. MTC	FMTC	MEN2A	MEN2B
5	Gly321Arg	GGG/AGG	-	1	-	-
10	Cys609Tyr	TGC/TAC	1	-	-	-
	Cys611Arg	TGC/CGC	1	-	-	-
	Cys611Tyr	TGC/TAC	1	-	-	-
	Cys618Arg	TGC/CGC	-	1	-	-
	Cys620Arg	TGC/CGC	-	-	1	-
	Cys620Phe	TGC/TTC	-	-	1	-
11	Cys634Arg	TGC/CGC	-	-	8	-
	Cys634Phe	TGC/TTC	1	-	-	-
	Cys634Ser	TGC/AGC	1	-	1	-
	Cys634Ser	TGC/TCC	-	-	1	-
	Cys634Tyr	TGC/TAC	-	-	1	-
	Cys634Trp	TGC/TGG	-	1	-	-
13	Glu768Asp	GAG/GAC	-	1	-	-
	Leu790Phe	TTG/TTT	1	-	-	-
	Tyr791Phe	TAT/TTT	3	2	1	1
14	Val804Leu	GTG/TTG	1	-	-	-
	Val804Met	GTG/ATG	4	1	-	-
16	Met918Thr	ATG/ACG	-	-	-	9
počet testovaných rodin			342	12	14	9

Tab. 3. Procentuální záchyt zárodečných mutací *RET* proto-onkogenu a výsledky genetické analýzy u probandů a jejich příbuzných v českých rodinách s MTC (celkem testováno 725 osob)

Fenotyp rodin s MTC	Spor. MTC	FMTC	MEN2A	MEN2B	Celkem
Počet testovaných rodin	340	12	14	9	375
záchyt <i>RET</i> mutace	14	7	13	9	43
procentuální záchyt	4 %	58 %	93 %	100 %	
Počet probandů s MTC	340	11	14	8	373
záchyt <i>RET</i> mutace	14	6	13	8	41
neinformativní výsledek	326	5	1	0	332
Počet rodinných příslušníků	202	61	69	20	352
záchyt <i>RET</i> mutace	13	19	25	3	60
negativní výsledek	20	20	43	17	100
neinformativní výsledek	169	22	1	0	192

BRAF proto-onkogen

Gen *BRAF* kóduje serin-threoninovou proteinkinázu, která je součástí MAPK signální dráhy. Gen může být aktivován bodovými mutacemi, malými delecemi či inzercemi v rámci čtecího rámce nebo chromozomálním přeskupením (*AKAP9/BRAF*). V současné době je známo již přes 40 mutací, ale 98–99 % *BRAF* mutací nalezených u karcinomů štítné žlázy tvoří substituce V600E v 15. exonu (13). Tato mutace způsobuje konformační změnu, která imituje fosforylovanou formu proteinu, a dochází tak k neustálé aktivaci signální dráhy bez jinak nezbytné stimulace aktivovaným RAS proteinem (14). Mutace V600E je nejčastější mutace nalézaná u PTC a je pro tento typ nádoru specifická. Je nalézána i u 20–40 % PDTC a 30–40 % ATC, ale tyto karcinomy se mohou vyvinout z PTC, jak dokládá nalézaná koexistence obou typů karcinomů (1). V našem souboru 242 českých pacientů s PTC byla mutace detekována u 33,5 % papilárních, 16,7 % málo diferencovaných a jednoho anaplastického karcinomu. U medulárních karcinomů mutace detekována nebyla. Mutace byla

daleko méně častá u folikulární varianty PTC (13,2 %) než u klasické papilární varianty (46,4 %). Její přítomnost byla spojena s vyšším věkem v čase diagnózy, větší velikostí nádoru a vyšší agresivitou, především s přítomností metastáz v lymfatických uzlinách, pokročilejším TNM stadiem a recidivou onemocnění (15). *RET/PTC* a *BRAF* se jen vzácně vyskytují zároveň, v našem souboru jsme našli obě alterace současně u pěti pacientů s PTC.

RAS proto-onkogen

RAS proteiny aktivují MAPK, PI3K-AKT a další signální dráhy a tím regulují proliferaci a přežití buněk. Jsou součástí rodiny GTP vazebných proteinů. V patogenezi nádorů jsou důležité tři geny – *H-RAS*, *K-RAS* a *N-RAS*, které se nacházejí na různých místech v genomu, ale vykazují velkou homologii. Mutace se vyskytují především v GTP vazebné doméně (12. a 13. kodón), kde způsobují zvýšenou afinitu ke GTP, a v GTPázové doméně (61. kodón), kde brání hydrolyze GTP (16). Oba typy mutací způsobují stabilizaci aktivní formy pro-

teinu, a tím také neustálou stimulaci signální dráhy. Mutace *RAS* genů se nacházejí až u 30 % všech lidských nádorů, ale zatímco u většiny nádorů jsou nejčastější mutace ve 12. a 13. kodónu *K-RAS* genu, u tyroidálních tumorů jsou nejčastější mutace v 61. kodónu *N-RAS* genu a 61. kodónu *H-RAS* genu (17). Mutace *RAS* se nacházejí u všech nádorů štítné žlázy, u 10–20 % PTC (v podstatě všechny u folikulární varianty PTC), 20–40 % folikulárních adenomů, 40–50 % FTC a 20–40 % PDTC a ATC (1). Byly nalezeny také u MTC (18). V našem souboru 98 pacientů jsme u folikulární varianty PTC našli i několik nových genetických změn *RAS* genů, z nichž některé by dle *in silico* analýzy mohly výrazně ovlivňovat strukturu proteinu, a hrát tak významnou roli v patogenezi PTC.

Další geny

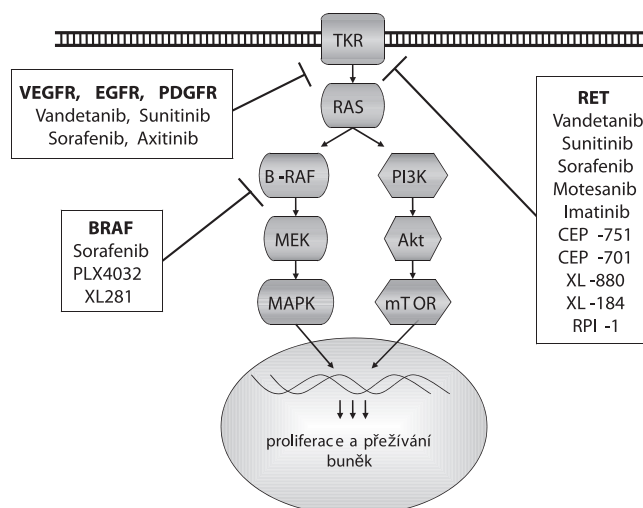
PAX8/PPAR γ přeskupení vzniká chromozomální translokací a fúzí genu *PAX8*, který kóduje transkripční faktor, a genu *PPAR γ* kódující jaderný receptor (peroxisome proliferator-activated receptor). *PAX8/PPAR γ* je detekován u 30–35 % FTC, ale také u 2–13 % FTA a 1–5 % folikulární varianty PTC (1).

NTRK1 gen (*NTRK1* – neurotrophin tyrosine kinase receptor 1, neboli TrkA) je lokalizován na 1q21–22. Kóduje transmembránový receptor nervového růstového faktoru a za normálních okolností je exprimován v periferních nervových gangliích. Ve folikulárních buňkách je aktivován pomocí fúze tyrozinkinázové domény *NTRK1* genu s jedním ze tří genů. Jsou známy čtyři formy vyskytující se u méně než 10 % PTC (19). U málo diferencovaných a anaplastických karcinomů se kromě výše popsaných mutací nacházejí ještě další genetické změny, především v tumor-supresorových genech *TP53*, *CTNNB1* (beta-katenin) a genech účastnících se PI3K-AKT signální dráhy (geny *PIK3CA*, *PTEN* a *AKT1*). U onkocytárních (Hürthleho) karcinomů se nacházejí mutace v tumor-supresorovém genu *GRIM-19* (*NDUFA13*), který kóduje protein regulující apoptózu a účastní se mitochondriálního metabolismu (2).

MOLEKULÁRNĚ CÍLENÁ TERAPIE

Klasickou léčbou karcinomů štítné žlázy je většinou radikální chirurgický výkon – totální tyreoidektomie. Jak bylo zmíněno, u familiárních forem MTC je tento výkon indikován i u dosud asymptomatických příbuzných pacienta – nositelů patogenní zárodečné mutace *RET* genu. U diferencovaných karcinomů následuje po operaci léčba radiojódem. Některé karcinomy ovšem radiojód nepřijímají, především PTC s pozitivní *BRAF* mutací (13). Navíc karcinomy štítné žlázy recidivují i po mnoha letech, proto je nezbytné doživotní sledování pacienta. Léčba málo diferencovaných karcinomů a anaplastických karcinomů, které jsou často neoperovatelné, je obtížná a prognóza těchto pacientů velmi nepříznivá. Pro pokročilejší metastatické karcinomy a méně diferencované či anaplastické karcinomy se proto hledají nové možnosti léčby. V posledních letech se intenzivně studuje především molekulárně cílená léčba, tedy možnost inhibice abnormálně aktivovaných proteinů zahrnutých do signálních drah, které přímo vedou ke vzniku karcinomů štítné žlázy, nebo dalších signálních drah, které růst nádoru a angiogenezi obecně podporují. V prvním případě se jedná o výše popsané proteiny *RET* a *BRAF*, ve druhém především o receptorové kinázy růstových faktorů *EGFR* (epidermal growth factor receptor), *PDGFR* (platelet-derived growth factor receptor) a *VEGFR* (vascular endothelial growth factor receptor), které se podílejí na angiogenezi endoteliálních buněk a jejichž exprese je u karcinomů štítné žlázy často zvýšená (20, 21).

Pro inhibici těchto proteinů je k dispozici několik strategií, zahrnujících RNA interferenci k zastavení exprese genu, genovou terapii s dominantně negativní mutantní alelou nebo využití malých molekul, které slouží jako inhibitory tyrozinkináz.



Obr. 1. Působení inhibitorů na signální dráhu

Genová terapie je pro léčbu nádorů štítné žlázy zvláště atraktivní, protože je zde možnost selektivního zacílení terapeutických genů do nádorových buněk aplikací tkáňově specifických promotorů, jako je např. kalcitoninový promotor u MTC, čímž dochází ke snížení mimonádorové toxicity. Možnosti jsou zatím testovány zejména *in vitro* na tkáňových kulturách nebo na zvířecích modelech (22, 23).

Již v klinické fázi je testování inhibitorů tyrozinkináz (TKI) (24, 25). Mechanismus jejich působení spočívá v blokaci ATP vazebného místa kinázy. Tím se zabrání navázání buněčného ATP, fosforylaci a stimulaci signálních drah. Výhodou TKI je perorální podávání, relativně malá toxicita, nevýhodou je malá specifická inhibitorů pro určitou kinázu a postupná rezistence nádoru k použitému inhibitoru. Tato rezistence je primárně způsobena klonální expanzí nádorových buněk nesoucích sekundární mutace, které mohou chránit kinázu změnou konformace nebo přímo mění vazebné místo pro TKI.

Proti aktivaci *RET* proteinu bylo vyvinuto několik malých molekul TKI, jejichž testování nejen *in vitro* a *in vivo*, ale i v preklinických a klinických studiích přineslo slibné výsledky pro terapii MTC a PTC. Jsou to inhibitory s firemními názvy Vandetanib, Sunitinib, Sorafenib, Motesanib, Imatinib, CEP-751, CEP-701, XL-880, XL-184 a RPI-1, jejichž působení na signální dráhu je zobrazeno na obrázku 1. Klinické studie ukázaly úspěšnost léčby pomocí TKI u 30–50 % pacientů s metastatickým MTC. Nejslibnějším kandidátem z testovaných potenciálních léčiv se zatím jeví Vandetanib (ZD6474). Vandetanib je v první řadě inhibitorem *VEGFR-2*, ale efektivně blokuje i *RET* a *EGFR* (26, 27). Inhibuje tak nádorový růst a působí zároveň jako antiangiogenní agens, přitom má relativně nízkou toxicitu pro okolní tkáň. Vandetanib blokuje růst nádorových lidských linií nesoucích nejčastější mutace *RET* genu spojené s *MEN2B*, *MEN2A* a *FMTC* i *RET/PTC* přeskupením, ale není schopný inhibovat aktivaci způsobenou mutací v kodónu 804. Proto je důležité před nasazením léčby provést u pacienta genotypizaci *RET* genu. U pacientů s metastatickým MTC po podání Vandetanibu klesla hladina kalcitoninu v plazmě a zastavil se nádorový růst. Sunitinib je dalším multikinázovým inhibitorem působícím proti aktivaci *RET* (včetně *RET/PTC*), ale také proti *PDGFR* a *VEGFR2* (28).

Bylo identifikováno a testováno i několik inhibitorů *BRAF* proteinu. Jejich použití je výhodné především díky vysokému zachytu mutace *BRAF* u PTC a její asociaci s dediferenciací nádoru a rezistencí na radioterapii. Navíc, v *MAPK* signální kaskádě je *BRAF* protein až za *RET* a *RAS* proteiny, a tak inhibitory *BRAF* mohou působit efektivně i v nádorech s jinými mutacemi této signální dráhy (obr. 1). Sorafenib (BAY43-9006) byl původně vyvinut jako inhibitor *BRAF* pro-

teinu, ale zjistilo se, že ještě účinnější je u ostatních kináz VEGFR-2, VEGFR-3, PDGFR-beta a RET (včetně RET/PTC a mutace v kodónu 804) (29, 30). Inhibuje proliferaci PTC, MTC a ATC buněk a angiogenezi indukci endoteliální apoptózy. Efektivně blokuje normální i mutovanou V600E BRAF kinázovou aktivitu. Tento inhibitor byl úspěšně testován u pacientů s metastatickým PTC, FTC a MTC. Dalšími inhibitory proti BRAF jsou PLX4032 a XL281. Oba se váží i na aktivní formu BRAF proteinu, na rozdíl od Sorafenibu, který se váže pouze na inaktivní formu a udržuje ji v inaktivní konformaci (31). Inhibitorem VEGFR je také Axitinib (AG-013736), který je více specifickým proti VEGFR než výše zmíněné TKI. Blokuje také aktivitu PDGFR kinázy (32).

ZÁVĚR

Nádory štítné žlázy, stejně jako všechna nádorová onemocnění, jsou způsobeny genetickými poruchami, nejčastěji aktivací proto-onkogenů či inhibicí tumor-supresorových genů. Znalost těchto genetických poruch je důležitá nejen z pohledu základního výzkumu, ale zejména z diagnostického a prognostického hlediska. Nedávné pokroky v molekulární onkologii umožnily vývoj nových léčebných strategií, které jsou velkým příslibem pro léčbu pacientů, zejména s agresivními formami nádorů štítné žlázy, u kterých jsou možnosti léčby velmi omezené. Průběžné výsledky probíhajících klinických studií, které ověřují účinnost některých inhibitorů tyrozinkináz vyjadřují velmi nadějně. Možná se v dohledné době dočkáme i cílené genové terapie těchto nádorů, která by umožnila specifičtější zásah a větší individualizaci léčby.

Zkratky

ATC	– anaplastický karcinom štítné žlázy
DNA	– deoxyribonukleová kyselina
DTC	– diferencované karcinomy štítné žlázy
EGFR	– receptor pro epidermální růstový faktor
FMTC	– familiární medulární karcinom štítné žlázy
FTC	– folikulární karcinom štítné žlázy
GTP	– guanozin trifosfát
MAPK	– proteinkináza aktivovaná mitogeny
MEN2A	– mnohočetná endokrinní neoplazie typu 2A
MEN2B	– mnohočetná endokrinní neoplazie typu 2B
MTC	– medulární karcinom štítné žlázy
PDGFR	– receptor pro růstový faktor pocházející z destiček
PDTC	– málo diferencovaný karcinom štítné žlázy
PPAR	– kódující jaderný receptor
PTC	– papilární karcinom štítné žlázy
TKI	– inhibitory tyrozinkinázy
TNM	– tumor-node-metastasis
VEGFR	– receptor pro vaskulární endoteliální růstový faktor

LITERATURA

1. **Nikiforov YE, et al.** Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 569–580.
2. **Mitsuades N, Fagin JA.** Molecular Genetics of Thyroid Cancer: pathogenetic significance and clinical applications. *Genetic diagnosis of endocrine disorders* 2010; 11: 117–138.
3. **Nikiforov YE.** Molecular diagnostics of thyroid tumors. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 569–577.
4. **Hansford JR, et al.** Multiple endocrine neoplasia type 2 and RET: from neoplasia to neurogenesis. *J Med Genet* 2000; 37: 817–827.
5. **Lodish MB, et al.** RET oncogene in MEN2, MEN2B, MTC and other forms of thyroid cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008; 8: 625–632.
6. **Zitzelsberger H, et al.** Molecular rearrangements in papillary thyroid carcinomas. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 301–308.
7. **van Veelen W, et al.** Medullary thyroid carcinoma and biomarkers: past, present and future. *J Intern Med* 2009; 266: 126–140.
8. **Cakir M, et al.** Medullary thyroid cancer: molecular biology and novel molecular therapies. *Neuroendocrinology* 2009; 90: 323–348.
9. **Mulligan LM, et al.** Genotype-phenotype correlation in multiple endocrine neoplasia type 2: report of the International RET Mutation Consortium. *J Intern Med* 1995; 238: 343–346.
10. **Raue F, et al.** Genotype-phenotype relationship in multiple endocrine neoplasia type 2. Implications for clinical management. *Hormones (Athens)* 2009; 8: 23–28.
11. **Dvorakova S, et al.** Somatic mutations in the RET proto-oncogene in sporadic medullary thyroid carcinomas. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 284: 21–27.
12. **Kloos RT, et al.** Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid* 2009; 19: 565–612.
13. **Xing M.** BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocr Rev* 2007; 28: 742–762.
14. **Wan PT, et al.** Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell* 2004; 116: 855–867.
15. **Sykorova V, et al.** BRAF^{V600E} Mutation in the Pathogenesis of a Large Series of Papillary Thyroid Carcinoma in Czech Republic. *J Endocrinol Invest* 2010; 33: 318–324.
16. **Namba H, et al.** H-Ras Protooncogene Mutations in Human Thyroid Neoplasms. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 223–229.
17. **Vasko V, et al.** Specific Pattern of RAS Oncogene Mutations in Follicular Thyroid Tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2745–2752.
18. **Moura MM, et al.** High prevalence of RAS mutations in RET-negative sporadic medullary thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: E863–868.
19. **Handkiewicz-Junak D, et al.** Molecular prognostic markers in papillary and follicular thyroid cancer: Current status and future directions. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 322: 8–28.
20. **Torino F, et al.** Medullary thyroid cancer: a promising model for targeted therapy. *Curr Mol Med* 2010; 10: 608–625.
21. **Wells SA Jr, et al.** Targeting the RET pathway in thyroid cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 7119–7123.
22. **Castellone MD, et al.** Receptor tyrosine kinase inhibitors in thyroid cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22: 1023–1038.
23. **Cerrato A, et al.** Molecular genetics of medullary thyroid carcinoma: the quest for novel therapeutic targets. *J Mol Endocrinol* 2009; 43: 143–155.
24. **Pinchot SN, et al.** Medullary thyroid carcinoma: targeted therapies and future directions. *J Oncol* 2009; 2009: 183031.
25. **Santarpia L, et al.** Beyond RET: potential therapeutic approaches for advanced and metastatic medullary thyroid carcinoma. *J Intern Med* 2009; 266: 99–113.
26. **Wells SA Jr, et al.** Vandetanib for the treatment of patients with locally advanced or metastatic hereditary medullary thyroid cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 767–772.
27. **Morabito A, et al.** Vandetanib (ZD6474), a dual inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) and epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinases: current status and future directions. *Oncologist* 2009; 14: 378–390.
28. **Pasqualetti G, et al.** The emerging role of sunitinib in the treatment of advanced epithelial thyroid cancer: our experience and review of literature. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 746–752.
29. **Hong D, et al.** Medullary thyroid cancer: targeting the RET kinase pathway with sorafenib/tipifarnib. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 1001–1006.
30. **Duntas LH, et al.** Sorafenib: rays of hope in thyroid cancer. *Thyroid* 2010; 20: 1351–1358.
31. **Dienstmann R, et al.** BRAF as a target for cancer therapy. *Anticancer Agents Med Chem* 2011; 11: 285–295.
32. **Deshpande HA, et al.** Axitinib: The evidence of its potential in the treatment of advanced thyroid cancer. *Core Evid* 2010; 4: 43–48.

Výzkum genetických poruch u nádorů štítné žlázy byl podpořen grantem IGA MZ ČR NS/9165–3.

Autofagie a její úloha v obranné a poškozující zánětové reakci*

Jan Krejsek, Lucia Hrnčířová, Drahomíra Holmannová, Irena Berglová, Mouhammed Abuattieh, Ctirad Andrýs

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Ústav klinické imunologie a alergologie FN

SOUHRN

Autofagie je součástí biologické strategie buňky překonat nepříznivé životní podmínky. Je významnou složkou obrany cytoplazmatického kompartmentu buňky před intracelulárními patogeny. Abnormality v autofagii jsou jednou z příčin nedostatečné kontroly mikrobiomu střeva nemocných s Crohnovou chorobou a podílejí se na její imunopatogenezi. Deregulace autofagie přispívá k přežívání autoreaktivních T-lymfocytů, a uplatňuje se tak v imunopatogenezi roztroušené sklerózy.

Klíčová slova: autofagie, imunita, zánět, roztroušená skleróza, Crohnova choroba.

SUMMARY

Krejsek J, Hrnčířová L, Holmannová D, Berglová I, Abuattieh M, Andrýs C. Autophagy and its role in protective and damaging inflammatory response

Autophagy is an integral part of cell strategy to overcome adverse living conditions. Moreover, autophagy participates in the protection of cytoplasm against invasion of the intracellular pathogenic bacteria. Abnormalities in the autophagy are participating on the inability of Crohn's disease patients to maintain gut microbiome homeostasis ultimately in the development of immunopathological reaction in these patients. Autophagy can enhance the survival of autoreactive T cells in multiple sclerosis patients thus contributing to the disease induction and progression.

Key words: autophagy, immunity, inflammation, multiple sclerosis, Crohn's disease.

Kr.

Čas Lék čes 2012; 151: 128–134

*Rukopis je dedikován jako součást připomenutí 150. výročí vzniku Časopisu lékařů českých.

ÚVOD

Organismy si evolučně vytvořily velmi účinné a rozmanité strategie jak přežít. Vrcholu svého „umu“ dosáhla v tomto ohledu evoluce v *Homo sapiens*. V tomto přehledovém sdělení se pokusíme stručně vysvětlit jeden z adaptačních mechanismů, který využívá ke svému přežití základní funkční jednotka organismů – buňka. Konkrétně se budeme zabývat procesem autofagie, který původně zajišťoval buňce přežití za nepříznivých podmínek. Od této základní úlohy autofagie se postupně oddělily další významné funkce. Autofagie se podílí na udržení integrity buňky na úrovni makromolekul a organel. Sahrává významnou roli v obraně proti nitrobuněčně lokalizovaným patogenním mikroorganismům a uplatňuje se v regulačních i efektorových funkcích imunitního systému. Autofagie, která byla ještě v nedávné době tématem výzkumu pro specialisty v buněčné biologii, se v současnosti dostává do popředí zájmu mnoha odborníků v klinické medicíně. Jsou totiž již nyní k dispozici údaje, že autofagie se fyziologicky i patofyziologicky podílí na udržení buněčné i celkové homeostá-

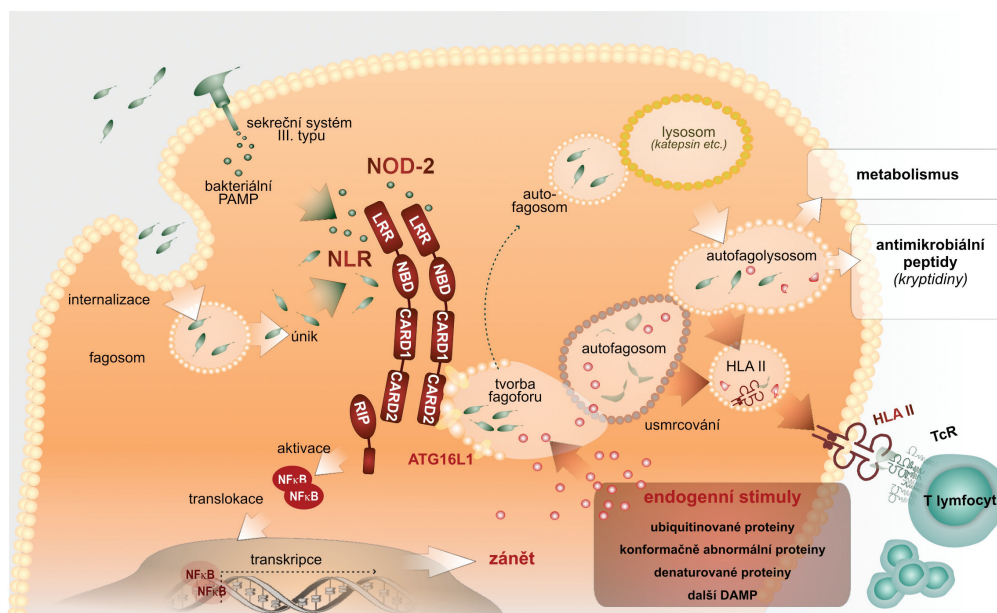
zy. Uplatňuje se v patogenezi zánětlivých a degenerativních procesů, které jsou příčinou vzniku a rozvoje závažných onemocnění a určují i stárnutí člověka (1–3).

AUTOFAGIE – HOMEOSTATICKÝ BUNĚČNÝ MECHANISMUS

V průběhu životního cyklu buňky, který začíná vznikem nové buňky a končí některou z forem buněčné smrti (apoptóza, nekróza, pyroptóza, pyronekróza, autofagie aj.) jsou v procesu proteosyntézy tvořeny nové proteiny (4, 5). Proteosyntéza je složitě strukturovaný děj, který je na mnoha úrovních regulován. Přesto vznikají i za fyziologických okolností proteiny, které jsou strukturně a funkčně alterované. Pravděpodobnost tvorby alterovaných molekul se zvyšuje vlivem buněčného stresu či stárnutí buňky. Buňka může část defektních konformačně změněných bílkovin opravit prostřednictvím stresových proteinů Hsp, patřících do rodiny chaperonů. Většina alterovaných makromolekul nebo agregátů bílkovin však musí být degradována. Buňka jejich degradaci sleduje dva cíle: odstraňuje potenciálně škodlivé makromolekuly a jejich recyklaci získává energii a výchozí složky pro nové biosyntézy. Pro degradaci bílkovin využívá tzv. proteazomovou cestu, kdy je protein denaturován, označen ubiquitinem a směřován do specializované organely, proteazomu, k degradaci. Zvláštní postavení v této cestě zaujímají tzv. imunoproteazomy, které vytváření peptidové fragmenty následně transportované do en-

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.
Ústav klinické imunologie a alergologie LF UK a FN
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
fax: +420 495 832 015, e-mail: krejsek@fnhk.cz



Obr. 1. Autofagie – nitrobuněčný mechanismus

doplazmatického retikula prostřednictvím transportních systémů TAP. V endoplazmatickém retikulu tyto antigenní fragmenty vytvářejí komplexy s molekulami HLA I. třídy a jsou po vystavení na buněčné membráně rozpoznávány cytotoxickými CD8⁺ T-lymfocyty.

Degradace alterovaných makromolekul je realizována i teprve v nedávné minulosti popsanou cestou autofagie. Autofagii mohou být odstraněny velké buněčné struktury, např. mitochondrie, jejichž degradace prostřednictvím proteazomu není pochopitelně možná. Autofagie spočívá v ohraničení a sekvestraci alterovaných makromolekul, agregátů či narušených organel v určitém okrsku cytoplazmy dvojí cytoplazmatickou membránou. Vzniká tak autofagosom, který je následně směřován k fúzi s lyzozomem. Ve vzniklém autofagolysozomu je ohraničený materiál proteolyticky rozložen. Takto popsána je tzv. makroautofagie. Kromě ní se na směřování materiálu do endozomálního/lyzozomálního kompartmentu podílejí ještě mikroautofagie a autofagie zprostředkovaná chaperony. Jak již bylo řečeno, autofagie pro buňku zajistí odstranění potenciálně škodlivých makromolekul. Degradace oxidativně či enzymaticky modifikovaných makromolekul, ale i zdravých komponent cytoplazmy však umožní i přežití buňky za situace buněčné metabolické krize, nutriční, oxidativní, informační či jiné deprivace buňky. Zde částečná konzumpce vlastních buněčných struktur dá buňce možnost překonat období metabolické či jiné deprivace. Klíčovou regulační molekulou, která slouží jako senzor nitrobuněčné úrovně energie a živin, tj. ATP a volných aminokyselin, je kináza mTOR. Nutrienty a růstové faktory udržují kinázu mTOR aktivní a procesy autofagie jsou jejím prostřednictvím blokovány (1).

Autofagie zahrnuje tři kroky: iniciační, ve kterém vzniká z biomembrán útvar ve tvaru púlměsíce, zvaný fagofor; dále elongační a uzavírací krok, ve kterém je v kompletní autofagosom uzavřen a obklopuje materiál určený k degradaci (cargo). Posledním je maturační krok charakterizovaný přeměnou autofagosomu do degradační organely – autofagolysozomu, který vzniká jeho fúzí s pozdními endozomálními a lyzozomálními organelami. Lze konstatovat, že naše představy o molekulárním základu tohoto procesu jsou zatím neúplné. Detailní popis je za rámcem tohoto sdělení, a proto odkazujeme na původní literaturu. Rámcově lze konstatovat, že kináza mTOR spolu s dalšími komponentami zajistí tvorbu fagoforu vycházejícího z endoplazmatického retikula. Tohoto procesu se zúčastní cytoplazmatická membrána, endoplazmatické retikulum, mitochondrie, proteinové a lipidové komponenty, na-

př. fosfatidyletanolamin a fosfatidylserin, které jsou odvozeny právě z mitochondrií. S ohledem na další výklad uvedeme, že iniciační fáze autofagie regulují molekuly beclin a mATG14. V kroku elongace konjugují molekuly ATG5-ATG12 s ATG6L, které se regulačně podílejí na vytvoření organely, tvořené dvojitou biomembránou, která obklopí obsah pro následnou lyzu. V třetím, maturačním kroku, fúzuje autofagosom s lyzozomy opět účinkem složitých molekulových komplexů, obsahujících beclin. Po fúzi je vnitřní membrána autofagosomu lyzována a proteolyticky je degradován i obsah autofagolysozomu (2) (obr. 1).

AUTOFAGIE A IMUNITNÍ ODPOVĚĎ

Od základní funkce autofagie, tj. udržovat homeostázu buňky a umožnit její přežití v nepříznivých podmínkách, je evolučně odvozena úloha autofagie v regulačních a efektorových funkcích imunity. Vhled do této mimořádně komplexní oblasti imunologie umožnil fundamentální paradigmaticky nový pohled na vrozenou imunitu. V uplynulých 15 až 20 letech byla znovu objevena a šířeji pochopena zásadní role vrozené imunity na udržení homeostázy, jak byla formulována již v roce 1883 Iljou Mečnikovem. Ve zcela zkratkovitém přehledu zdůrazníme několik klíčových aspektů.

Bylo prokázáno, že buňky vrozené imunity, zvláště dendritické a makrofágové elementy, ale v určité míře všechny ostatní buňky těla včetně epitelových a endotelových buněčných struktur exprimují receptory, které označujeme jako receptory PRR (pattern recognition receptors). Receptory PRR jsou schopny odlišit nebezpečné vzory, tj. takové struktury, které přímo nebo zprostředkováně narušují homeostázu člověka. Protikladem k signálům nebezpečí, na které musí tělo reagovat zánětovou odpovědí, jsou bezpečné signály, které homeostázu nenaruší a tělo na ně nebude reagovat. Každá obranná reakce těla je spojena s metabolickými náklady a jistou mírou poškození vlastních struktur. Proto je koncepce „nebezpečné“ vs. „bezpečné“ tak významná. Receptory PRR jsou lokalizovány na buněčných membránách nebo se nacházejí v nitrobuněčných kompartmentech – např. v endozomu. Některé jsou však rozptýleny i volně v cytoplazmě. V tělních tekutinách, např. plazmě, se nacházejí solubilní receptory PRR. Receptory PRR jsou v současnosti představovány již několika desítkami plně definovaných struktur (6, 7).

Jak již bylo řečeno, receptory PRR identifikují signály nebezpečí, které můžeme rozdělit na nebezpečné vzory nacházející se ve vnějším prostředí – exogenní a na signály nebezpečí, které vznikají v organismu – endogenní signály nebezpečí. Exogenní nebezpečné vzory jsou těžko popsateľnou směsicí nebezpečných podnětů různého původu a různého charakteru. Pro naše úvahy se soustředíme pouze na nebezpečné vzory charakterizující patogenní mikroorganismy. Velmi zjednodušeně lze říci, že patogenní mikroorganismy jsou charakterizovány přítomností PAMP (pathogen associated molecular patterns) a indukují obrannou zánětovou reakci. Naopak nepatogenní mikroorganismy včetně přirozené mikroflóry člověka vzory PAMP neobsahují a zánětovou reakci neindukují. Tímto způsobem je vyřešen paradox klasického paradigmatu fungování imunitní soustavy postavený na rozpoznávání „cizího“ a toleranci „vlastního“. Je zřejmé, že v modelu mikrobiálního světa by realizace této koncepce vedla k reakci i na nepatogenní mikroorganismy, případně na složky vlastní mikroflóry, protože i tyto se jeví specifické imunitě jako cizí. Koncepce receptorů PRR jako charakteristických rozpoznávacích struktur vrozené imunity, ale také epitelových a jiných buněčných struktur těla schopných odlišit vzory PAMP a reagovat na ně rozvojem zánětové reakce řeší (8, 9).

Tepřve s časovým odstupem byla propracována koncepce endogenních signálů nebezpečí. Jakékoliv inzulty, které poškodí integritu buněk a tkání, jsou příčinou vzniku alterovaných struktur nebo jsou odpovědné za buněčnou smrt charakteru nekrózy, lze označit jako endogenní nebezpečné vzory DAMP (danger associated molecular pattern). Opět lze stěží provést výčet vzorů DAMP, které v průběhu života člověka vznikají. Velmi zjednodušeně lze za vzory DAMP považovat chemicky nebo oxidativně modifikované molekuly (oxLDL), konformačně změněné proteiny (tau protein), agregáty bílkovin, ale také přítomnost krystalů urátů. Výraznými vzory DAMP jsou struktury translokované do jiných než fyziologických kompartmentů buňky. Takovým příkladem mohou být nukleoproteiny (HMGB-1), které se z jaderné lokalizace při nekróze dostávají mimo tento kompartment. Extracelulárně zvýšené koncentrace primárně intracelulárně lokalizovaných molekul, např. ATP či eflux draslíku, jsou opět identifikovány receptory PRR jako přítomnost endogenních signálů nebezpečí (10–12).

K identifikaci exo- i endogenních signálů nebezpečí má buňka k dispozici omezené množství několika desítek v současné době definovaných receptorů PRR. Tyto receptory jsou spojeny s nitrobuněčnými signálními drahami, které obvykle vedou k aktivaci transkripčního faktoru NF κ B a aktivaci kináz MAPK. Cestou NF κ B je stimulován přepis genů s obecně prozáněťovými aktivitami. Tyto kroky jsou realizovány v časných fázích rozvoje zánětové odpovědi, na kterých se podílí složky vrozené imunity a jiných buněčných systémů těla. Zapojení specifické imunitní odpovědi, především T lymfocytárního systému, představuje následnou etapu rozvoje zánětové odpovědi. Je dobře doloženo, že T lymfocytární specifická imunitní odpověď je podmíněna funkcí buněk vrozené imunity, především dendritických buněk a makrofágů, které slouží jako buňky prezentující antigen. Z naznačeného je tedy zřejmé, že specifická T lymfocytární imunita je rozvíjena pouze za situace, kdy buňky vrozené imunity identifikovaly nebezpečné vzory, zpracovaly je a antigenní fragmenty prezentovaly T-lymfocytům v kontextu kostimulačních molekul a v kontextu optimálního cytokinového mikroprostředí (13).

Výše uvedený stručný nárys současného paradigmatu fungování imunitní soustavy byl nutný pro následující popis, jak je do funkce imunitní soustavy integrován fenomén autofagie. Autofagie ve vztahu k imunitní reakci totiž musí výrazně kooperovat s některými komponentami imunitního systému (14). Rozhodující je úvodní fáze, která je na počátku autofagické mašinérie. Autofagie se spolupodílí na udržení bezmikrobního prostředí buňky, především jejího cytoplazmatického kompartmentu. Schopnost patogenních bakterií vstupovat do tohoto kompartmentu představuje významný mechanismus

úniku této skupiny patogenů imunitnímu dozoru. Cytoplazma buňky slouží pro patogenní bakterie jako ideální zdroj živin. Navíc jsou bakterie v tomto kompartmentu skryty složkám imunitního dozoru. Intracelulárně parazitické bakterie si evolučně vytvořily velmi sofistikovaný způsob jak vstupovat do hostitelských buněk, zvláště do buněk vrozené imunity. Využívají k tomu i receptory vyjádřené na povrchu buněk. Jiné skupiny bakterií mají schopnost pomocí sekrečních systémů, např. sekrečního systému III. typu, vnášet do cytoplazmy hostitelské buňky své nebezpečné vzory. Proto je nezbytné, aby v cytoplazmě buněk byly přítomny receptory PRR, které patogenní bakterie či jejich produkty identifikují a eliminují (15).

V cytoplazmě jsou lokalizovány receptory, které označujeme jako receptory NLR (16). Jejich strukturní charakteristika je známá. Dalšími strukturně odlišnými senzory PRR jsou v cytoplazmě receptory označované jako RIG. Identifikace velmi rozmanitých bakteriálních PAMP – např. muramyl-dipeptidu Gram+ bakterií, kyseliny diaminopimelové *M. tuberculosis* a mnoha jiných prostřednictvím receptorů NLR vede k sestavení tzv. inflamazomu. Opět velmi zjednodušeně uvádíme, že inflamazom je definován jako multimolekulový komplex, který funkčně vede k aktivaci latentní prokaspázy-1 za vzniku aktivní kaspázy-1. Ta štěpí biologicky neaktivní prekurzory interleukinu-1 β (IL), IL-18 a zřejmě také IL-33 za vzniku v případě IL-1 β a IL-18 zřetelně pluripotentních prozáněťových cytokinů, které stimulují rozvoj zánětové odpovědi na v cytoplazmě přítomné mikroorganismy. Imunobiologické efekty IL-33 jsou komplikovanější a nebudou v tomto přehledu diskutovány (17, 18).

Pro vytvoření prozáněťových podmínek jako odpovědi na intracelulárně lokalizované patogenní bakterie vedle sebe působí jednak signální dráha NF κ B, která vede k zvýšené tvorbě latentních forem proIL-1 β , proIL-18, proIL-33 a dalších cytokinů (19). Současně je výše popsaným způsobem stimulováno sestavení inflamazomu, který konvertuje latentní formy interleukinů na zmíněné mimořádně potentní prozáněťové působky (20). Součinnost signální dráhy NF κ B a sestavení inflamazomu jako nutné podmínky tvorby pluripotentních prozáněťových cytokinů představuje významný regulační prvek zánětové reakce. Zvýšená tvorba prozáněťových cytokinů je charakteristická právě pro časné fáze obranné reakce proti mikroorganismům. Paradoxně však neřeší vlastní sanaci nitrobuněčných kompartmentů od invadujících patogenních mikroorganismů (21). Jejich eliminace je možná cytotoxickou aktivitou, při které je však infikovaná buňka likvidována. Vhodnější způsob, který není spojen se ztrátou infikované buňky, je nitrobuněčná očista. Na ní se podílí právě autofagie. Velmi zjednodušeně je autofagie využita k tomu, aby identifikované patogenní bakterie byly výše popsanými způsoby obklopeny autofagozomálním membránovým aparátem, a tak sekestróvány od zbytku cytoplazmy. V dalším kroku je potom autofagozom směřován k endozomálnímu či lyzozomálnímu aparátu buňky, se kterým fúzuje. Vytvoření autofagozomu obklopujícího patogenní bakterie v úvodních krocích vyžaduje součinnost s receptory NLR, které mikroba identifikují. Po vytvoření autofagolýzozomu jsou bakterie v agresivním prostředí usmrcovány a proteolyticky rozkládány. Vznikají z nich využitelné živiny (22).

Výše uvedené představy o iniciaci autofagie prostřednictvím receptorů NLR jsou v současné době postupně doplňovány o hlubší poznání podílu dalších molekulově odlišných cytoplazmatických receptorů signálů nebezpečí. Některé z receptorů TLR jsou lokalizovány intracelulárně, a mohou tak sloužit jako inicializační receptory procesu autofagie. Takováto vazba byla prokázána mezi heterodimery TLR2/TLR1, dále TLR3 a TLR7/8. Dalšími z nich jsou receptory označované jako SLR (sequestosome-like-receptors). SLR jsou definovány jako autofagické receptorové/adaptorové molekuly, které rozpoznávají substráty určené pro autofagii ubikvitinací. Byla prokázána úloha receptorů SLR v autofagii nitrobuněčně lokalizovaných bakterií rodů *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria* a *Streptococcus* (23).

Je obecně přijímáno, že v procesu autofagie jsou některé cytoplazmatické proteiny, které jsou přivedeny do procesu autofagie prostřednictvím SLR zpracovány tak, že jejich rozložení v autofagolysozomu dochází k jejich úplnému rozkladu na jednotlivé aminokyseliny, které jsou použitelné pro anabolické potřeby buňky. Z pohledu imunity je však unikátní možnost, že částečným proteolytickým rozštěpením těchto cytoplazmatických substrátů vznikají peptidové molekuly, které mají vlastnosti antimikrobiálních peptidů. Mohou se bezprostředně podílet na autofagozomovém usmrcení sekvestrovaných patogenů (mykobakterií). Mají však i signální úlohy pro rozvoj imunitní reakce, protože antimikrobiální peptidy, např. defenziny jsou považovány za významné endogenní nebezpečné vzory stimulující vznik a rozvoj zánětové odpovědi. Pro tyto vlastnosti se označují jako tzv. alarminy (24). Alarminy stimulují diferenciaci dendritických buněk a zpracování antigenů v těchto buňkách s následným rozvojem specifické T lymfocytární odpovědi. Defenziny a jiné antibakteriální peptidy tedy v sobě nesou duální funkce, tj. regulační i efektorové. Podstatnou pro další kroky imunitní odpovědi je však tvorba peptidových fragmentů, které jsou navázány na HLA molekuly II. třídy a prezentovány pomocným CD4⁺ T-lymfocytům. Tak je aktivována specifická T-buněčná imunita, která mnohými způsoby, např. tvorbou interferonu- γ zesiluje mikrobicidní aktivity makrofágů a jiných buněk těla.

Autofagie je efektorovým antimikrobiálním mechanismem, který vychází z funkce molekul IRG (imunity-related GTPases). U člověka byla prokázána významná úloha IRGM v indukci autofagické obranné reakce nutné pro eliminaci *M. tuberculosis* v makrofázích. IRGM jsou rovněž aktivní v epitelových buňkách zvláště střevní sliznice, kde se uplatňují v eliminaci mikrobiálních podnětů.

Procesy vedoucí k autofagii jsou iniciovány nejenom identifikací exogenních nebezpečných mikrobiálních vzorů PAMP v cytoplazmě buněk, ale autofagie může být iniciována i identifikací endogenních nebezpečných vzorů DAMP (25). Těmi jsou například krystaly urátů, nukleoproteiny uvolněné z narušeného jaderného aparátu buňky (HMGB-1), extracelulárně lokalizované ATP, ale také eflux kalia. Jejich přítomnost vede k prozáněťovým aktivitám mimo jiné spojených s funkcí inflamazomu. Na příkladu nukleoproteinu HMGB-1 můžeme ukázat, že jeho translokace do cytoplazmy vede k jeho oxidaci na cysteinu. Další dva cysteinové zbytky (C23, C45) potom vytvářejí můstky s autofagozomální adaptorovou molekulou Beclin1, a stimulují tak proces autofagie. Tímto způsobem HMGB-1 reguluje přežití buněk v nepříznivých podmínkách. Pokud HMGB-1 je z buněk uvolněno v procesu nekrózy, je identifikováno buněčnými povrchovými receptory PRR, zvláště buněk vrozené imunity. Typickým receptorem pro HMGB-1 jsou receptory RAGE, které jsou pojmenovány podle své primární schopnosti identifikovat produkty pokročilé glykace (advanced glycation end products – AGE). Kromě AGE a HMGB-1 však receptory RAGE patří do rodiny imunoglobulinů, identifikují řadu dalších molekul charakteru alarminů či DAMP. Na konci je vždy prozáněťová aktivita (26, 24).

AUTOFAGIE – VÝZNAMNÝ ČINITEL IMUNOPATOLOGICKÝCH PROCESŮ

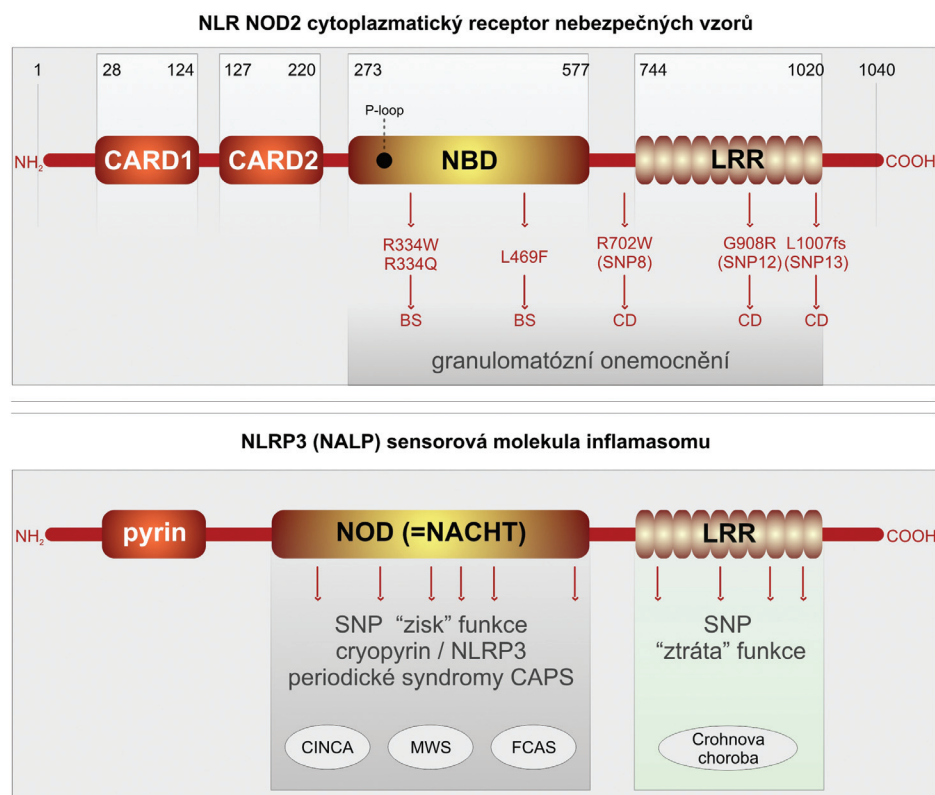
Fenomén autofagie ovlivňuje mnoho aspektů fyziologické zánětové odpovědi. Mimo jiné i tím, že významným způsobem zasahuje do fungování imunitního systému, který je jedním z ústředních prvků zánětové odpovědi. Nejvíce informací, jak vyplývá z předchozího textu, je k dispozici v oblasti antiinfekční obranné reakce (23). V posledních letech jsou však již k dispozici experimentální údaje na zvířecích modelech a výsledky prvních klinických studií, které naznačují podstatnou účast autofagie v patogenezi imunopatologických a autoimunitních onemocnění. Pro naše sdělení jsme vybrali jako model dvě imunopatologické nemoci, a to Crohnovu chorobu a roztrou-

šenou sklerózu mozkomíšni. Tato dvě závažná a frekventní onemocnění se zásadně odlišují ve své patogenezi. Podle nejnovějších konceptů je podstatnou součástí vzniku a rozvoje Crohnovy choroby nedostatečnost slizničního imunitního systému kontrolovat střevní mikroflóru. Důsledkem je pronikání prozáněťově působících složek či celých mikroorganismů do epitelových struktur s následným rozvojem zánětové odpovědi. Je to proces, který zahrnuje jak buňky imunitního systému, tak epitelové struktury střevní sliznice. Paradoxně můžeme velmi zjednodušeně říci, že v případě Crohnovy choroby se zřejmě jedná primárně o „nedostatečnost“ imunitního systému (27, 28).

Roztroušená skleróza mozkomíšni je podle stávajícího paradigmatu považována za prototypovou autoimunitní imunopatologickou nemoc, v jejichž patogenezi jsou zatím za nejdůležitější považovány autoreaktivní T-lymfocyty. Ty rozpoznávají již velmi dobře charakterizované molekulové terče, které jsou součástí myelinové pochvy neuronů (MBP). Díky skutečnosti, že pro mozkomíšni sklerózu existuje zvířecí experimentální model experimentální autoimunitní encefalitidy (EAE), je imunopatogeneze této nemoci velmi detailně poznána na buněčné i molekulární úrovni. Autoreaktivní T-lymfocyty subpopulace pomocných CD4⁺ T-lymfocytů patří do subsetu TH1 T-lymfocytů. Ve spolupráci s dalšími komponentami imunitního systému je u nemocných s mozkomíšni sklerózou rozvíjena imunopatologická reakce IV. typu. Právě subset autoreaktivních T-lymfocytů, jeho vznik a udržování jsou významně regulovány prostřednictvím autofagie. Rychle přibývají důkazy, že dosavadní důraz na patofyziologické působení specifické buněčné imunity brání pochopit imunopatogenezi roztroušené sklerózy v celé šíři. Je postupně doceňována úloha protilátek. Především však začínáme vidět zřetelně fundamentální úlohu mechanismů vrozené imunity.

AUTOFAGIE A IMUNOPATOGENEZE CROHNOVY CHOROBY

Crohnova choroba je závažné imunopatologické onemocnění, které postihuje trávicí trubici. Studium imunopatogeneze tohoto poměrně častého onemocnění je věnována značná pozornost. Přesto i v takto dobře a dlouhodobě studované lidské nemoci lze získat nové překvapivé pohledy (29, 30). Ty přinesla aplikace nových metod, které umožňují analýzu lidského genomu po jednotlivých nukleotidech. Takovýto přístup je označován GWS (genome-wide studies) (31). Překvapivé bylo v případě Crohnovy choroby v několika nezávislých studiích zahrnujících etnicky odlišné rozsáhlé soubory nemocných zjištěno, že nejvýznamněji predisponují k rozvoji Crohnovy choroby, zvláště jejích klinicky nejzávažnějších forem, polymorfismy v molekulách PRR, které jsou lokalizovány intracelulárně. Jde o receptory NLR NOD1,2 a sensorové molekuly inflamazomu NLRP3 (32, 33). Molekula NOD2 se skládá ze dvou N-terminálních segmentů, odpovědných za vazbu kaspázy-1 (úseky CARD), které jsou spojeny s centrálně umístěnou částí vázací nukleotidy (NOD). Na C terminální části se nachází doména bohatá na leucin (LRR), která je odpovědná za identifikaci nebezpečných vzorů. Pro rozvoj Crohnovy choroby predisponují jedinci se záměnami na třech pozicích nukleotidů v oblasti domény LRR. Receptory NOD2 jsou konstitutivně exprimovány v myeloidních buňkách, zvláště makrofázích, neutrofilech a dendritických buňkách. Zásadní pro střevní homeostázu je jejich exprese ve střevní sliznici, kde jsou lokalizovány v Panethových buňkách. Vlivem prozáněťových pluripotentních cytokinů TNF- α a interferonu- γ je jejich přítomnost indukována i v intestinálních epitelových buňkách. Fyziologicky jsou receptory NOD2 schopny identifikovat komponenty bakteriální stěny gram-pozitivních mikroorganismů, konkrétně muramyl-dipeptid. Polymorfismy SNP v doméně LRR nemocných s Crohnovou chorobou jsou odpovědné za ztrátu schopnosti receptoru identifikovat bakteriální signály nebezpečí (loss of function) (obr. 2).



Obr. 2. Receptory NLR, jejich polymorfismus a funkce

Autofagie je výsledkem složité kaskády interakcí adaptorních a efektorových bílkovin. Za klíčovou je považována molekula ATG16L1, která vytváří komplex s dalšími dvěma molekulami ATG5-ATG12. Tento adaptorní komplex je odpovědný za membránovou kolokalizaci autofagické kaskády a tvorbu autofagoforu s následným vytvořením autofagozomu. Struktura molekuly ATG16L1 je kompletně známa. V jejím středu se nachází doména odpovědná za multimerizaci spolu s několika opakujícími se sekvencemi kyseliny asparťové a tryptofanu (WD). Prostřednictvím GWAS studií bylo ukázáno, že SNP polymorfismus, který vede substitucí treoninu za alanin na pozici 300 (T300A) v karboxiterminální části molekuly ATG16L1, je spojen se zvýšenou vnímavostí k rozvoji Crohnovy choroby. Takto alterovaná molekula neumožní, aby došlo ke kolokalizaci receptoru NOD2 spolu s komplexem ATG5-ATG12 na cytoplazmatické membráně. Tato kolokalizace je nutnou podmínkou pro průběh autofagie. Poslední nově objevenou molekulou predisponující pro rozvoj Crohnovy choroby je molekula IRGM. Ta je členem rodiny interferon- γ inducible immunity-related guanosine phosphatases (IRGs). Molekuly IRGM se velmi zjednodušeně podílejí na odstraňování patogenní mikroorganismů z cytoplazmy buněk. IRGM je exprimována v buňkách různých tkání, např. epitelových buněk tlustého střeva, tenkého střeva, granulocytů a monocytů. Mnohočetné SNP v genu pro IRGM jsou asociovány významně s rozvojem Crohnovy choroby (2).

Imunopatogeneze Crohnovy choroby je spojena s SNP polymorfismy vedoucími k defektům ve funkcích receptorů NLR. K nim se připojují jako vysoce rizikové CNP polymorfismy v molekulách významně se podle současných znalostí podílejících na procesu autofagie. K tomu je třeba přičíst ještě skutečnost, že v Panethových buňkách nemocných s Crohnovou chorobou jsou opět z důvodu SNP tvořeny v menší míře antibakteriálně působící alfa defenziny, které slouží současně jako endogenní signály nebezpečí charakteru alarminů. Lze tedy shrnout, že primární příčinou vzniku rozvoje Crohnovy choroby je vlastně v jistém slova smyslu imunitní nedostatečnost kontrolovat mikrobiální osídlení na povrchu sliznice a rozvinout účinnou zánětovou odpověď za situace, kdy pa-

togenní mikroorganismy penetrují do epitelových buněk střevní sliznice. Výsledkem je nedostatečná kontrola střevní mikroflóry, která indukuje abnormální zánětovou reakci ve střevní stěně. Poruchy ve vrozené větvi imunity jsou následně příčinou abnormální reaktivity specifické T lymfocytární imunity, která je směřována k abnormální aktivitě subsetu TH17 a TH1 T-lymfocytů spojené mimo jiné se zvýšenou produkcí IL-17 a IL-23 (29, 34).

AUTOFAGIE A ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA MOZKOMÍŠNÍ

V imunopatogenezi roztroušené sklerózy se autofagie uplatňuje přinejmenším dvojím způsobem. Prvním je účast autofagie ve zpracování a prezentaci primárně nitrobuněčných jaderných molekul, které jsou rozpoznávány jako autoantigeny. Procesem makroautofagie je prostřednictvím nitrobuněčného degradačního aparátu rozkládán endogenní potenciálně antigenní materiál a je prezentován v kontextu HLA I. či II. třídy T lymfocytárnímu systému. Původní představa, že antigenní fragmenty, které se vážou na molekuly HLA I. třídy a stimulují CD8⁺ cytotoxické T-lymfocyty, jsou zpracovány proteazomovou cestou zcela odlišnou od cesty zpracování extracelulárně lokalizovaných antigenních podnětů, které jsou po internalizaci rozkládány v endozomálním/lyzozomálním kompartmentu, se ukázaly jako nepřesvědčivé. Analýzou navázaných antigenních fragmentů na molekulách HLA I. či II. třídy bylo prokázáno, že takové striktní oddělení, které by zjednodušilo procesy regulace imunitní odpovědi, neexistuje. Ukazuje se, že molekuly HLA II. třídy jsou možná až z jedné pětiny obsazeny antigenními fragmenty odvozenými od vnitrobuněčných struktur. Předpokládá se, že je to zprostředkováno právě procesem autofagie.

Zpracování a prezentace antigenních fragmentů stojí i na samém vzniku buňkami zprostředkované T lymfocytární imunity (32). Při intratymovém vyžívání jsou tymocyty, které ne-

sou receptor TCR náhodně vznikl v procesu přeskupení genových segmentů, exponovány molekulám HLA a poté komplexům molekul HLA a antigenních fragmentů endogenního původu. Prezentace molekul HLA I. a II. třídy prostřednictvím kortikálních tymových epitelových buněk určí v prvním kroku v procesu tzv. pozitivní selekce, zda bude daný T-lymfocyt přežít a zda bude připuštěn k dalším diferenačním krokům. Určuje také, do které funkčně odlišné větve (CD4⁺ vs. CD8⁺) se daný tymocyt bude diferencovat. V pozitivní selekci převážná část vyzrávajících tymocytů hyne, protože nebyly schopny efektivně interagovat s vlastními molekulami HLA. Další diferenační krok, tzv. negativní selekce, spojený s prezentací vlastních struktur navázaných v podobě antigenních fragmentů na molekuly HLA je opět provázen apoptózou vyzrávajících T-lymfocytů, které s vysokou afinitou reagovaly s vlastními antigenními fragmenty, tj. klonů autoreaktivních T-lymfocytů. Tento proces je, jak bylo doloženo experimentem na zvířatech, zřetelně určován aktivitou autofagie.

Rozvoj autoimunitního procesu je důsledkem neadekvátních homeostatických regulací autoreaktivních T-lymfocytů. U nemocných s roztroušenou sklerózou bylo prokázáno na úrovni mRNA a také průkazem exprese proteinů zvýšené zastoupení molekuly ATG5 v T-lymfocytech periferní kve a T-lymfocytech, které infiltrují postiženou mozkovou tkáň. Jejich podíl byl dále zvýšen u nemocných s relabující remitující formou roztroušené sklerózy v době relapsu. Tyto výsledky přinejmenším implikují, že procesy autofagie se významně zapojují do regulací přežívání a proliferace autoreaktivních T-lymfocytů jak v experimentální modelu EAE, tak u nemocných s mozkomíšni roztroušenou sklerózou (35, 36). Možnost manipulace s autofagií otevírá další potenciální možnosti jak ovlivnit poškozující zánětovou reakci u nemocných s roztroušenou sklerózou. Otevřena v tomto ohledu jsou i jiná onemocnění postihující mozek a nervový systém (37–40).

Zkratky

AGE	– produkty pokročilé glykace (advanced glycation end products)
ATG	– autophagy-related gene
DAMP	– endogenní nebezpečné vzory (danger associated molecular patterns)
EAE	– experimentální autoimunitní encefalitida (experimental autoimmune encephalitis)
GWS	– celogenomová analýza (genome-wide studies)
HMGB	– nukleoprotein HMGB (high-mobility group box)
IL	– interleukin
IRG	– GTPázy spojené s imunitou (immunity-related GTPases)
MAPK	– mitogenem aktivované proteinové kinázy (mitogen activated protein kinase)
MBP	– myelinový bazický protein (myelin basic protein)
NFκB	– transkripční faktor kappa B (nuclear factor kappa B)
NLR	– nod like receptors
NLRP	– složka inflamazomu
PAMP	– nebezpečné vzory patogenů (pathogen associated molecular patterns)
PRR	– receptory nebezpečných vzorů (pattern recognition receptors)
RAGE	– receptor pro produkty pokročilé glykace (receptors for AGE)
SLR	– sequestasome-like-receptors

LITERATURA

- Deretic V. Autophagy in immunity and cell-autonomous defense against intracellular microbes. *Immunol Rev* 2011; 240(1): 92–104.
- Deretic V. Links between autophagy, innate immunity, inflammation and Crohn's disease. *Dig Dis* 2009; 27(3): 246–251.
- Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood* 2011; 117(14): 3720–3732.
- Brodsky IE, Medzhitov R. Pyroptosis: macrophage suicide exposes hidden invaders. *Curr Biol* 2011; 21(2): R72–75.
- Yazdi AS, Guarda G, D'Ombrain MC, Drexler SK. Inflammatory caspases in innate immunity and inflammation. *J Innate Immun* 2010; 2(3): 228–237.
- Krejsek J, Kuneš P, Andrýs C, Holická M, Novosad J, Kudlová M, Koláčková M. Přirozená imunita, receptory pro exogenní a endogenní nebezpečné vzory v imunopatogenezi aterosklerózy. I. část: Přirozená imunita, rozlišení signálů nebezpečí. *Čas Lék čes* 2005; 144(12): 785–789.
- Krejsek J, Kuneš P, Andrýs C, Holická M, Novosad J, Kudlová M, Koláčková M. Přirozená imunita, receptory pro exogenní a endogenní nebezpečné vzory v imunopatogenezi aterosklerózy. II. část: Receptory TLR, význam polymorfizmu receptorů pro nebezpečné vzory. *Čas Lék čes* 2005; 144(12): 790–794.
- Krejsek J, Berglová I, Jankovičová K, Krčmová I, Andrýs C. Imunitní systém jako integrální součást zánětové odpovědi – základní principy funkce. *Ortopedie* 2011; 4: 124–128.
- Krejsek J, Berglová I, Jankovičová K, Krčmová I, Andrýs C. Osteoimunologie – vzájemné interakce mezi kostí a imunitním systémem. *Ortopedie* 2011; 4: 136–139.
- Aimanianda V, Haensler J, Lacroix-Desmazes S, Kaveri SV, Bayry J. Novel cellular and molecular mechanisms of induction of immune responses by aluminium adjuvants. *Trends Pharmacol Sci* 2009; 30(6): 287–295.
- Martinon F. Signaling by ROS drives inflammasome activation. *Eur J Immunol* 2010; 40(3): 616–619.
- Murphy DM, O'Byrne PM. Recent advances in the pathophysiology of asthma. *Chest* 2010; 137(6): 1417–1426.
- Sidiropoulos PI, Goulielmos G, Voloudakis GK, Petraki E, Boumpas DT. Inflammasomes and rheumatic diseases: evolving concepts. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(10): 1382–1389.
- Delgado MA, Deretic V. Toll-like receptors in control of immunological autophagy. *Cell Death Differ* 2009; 16(7): 976–983.
- Martinon F, Tschopp J. NLRs join TLRs as innate sensors. *Trends Immunol* 2005; 26(8): 447–454.
- Tattoli I, Travassos LH, Carneiro LA, Magalhaes JG, Girardin SE. The nodosome: Nod1 and Nod2 control bacterial infections and inflammation. *Semin Immunopathol* 2007; 29(3): 289–301.
- Bauernfeind F, Ablasser A, Bartok E, Kim S, Schmid-Burgk J, Cavalet T, Hornung V. Inflammasomes: current understanding and open questions. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(5): 765–783.
- Kuneš P, Holubcová Z, Koláčková M, Krejsek J. The counter-regulation of antherogenesis: a role for interleukin-33. *Acta Medica* 2010; 53(3): 125–129.
- Andrýs C, Drahosova M, Hornychova J, Tambor V, Musilova I, Tosner J, Flidrova E, Kacerovsky M. Umbilical cord blood concentrations of IL-6, IL-8, and MMP-8 in pregnancy complicated by preterm premature rupture of the membranes and histological chorioamnionitis. *Neuroendocrinol Lett* 2010; 31(6): 101–107.
- Goldbach-Mansky R, Kastner DL. Autoinflammation: The prominent role of IL-1 in monogenic autoinflammatory diseases and implications for common illnesses. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124(6): 1141–1149; quiz 1150–1151.
- Vance RE. Inflammasome activation: how macrophages watch what they eat. *Cell Host Microbe* 2010; 7(1): 3–5.
- Lamkanfi M, Dixit VM. Manipulation of host cell death pathways during microbial infections. *Cell Host Microbe* 2010; 8(1): 44–54.
- Lamkanfi M, Dixit VM. Inflammasomes: guardians of cytosolic sanctity. *Immunol Rev* 2009; 227(1): 95–105.
- Yang D, Oppenheim JJ. Alarmins and antimicrobial immunity. *Med Mycol* 2009; 47(Suppl 1): S146–153.
- Srikrishna G, Freeze HH. Endogenous damage-associated molecular pattern molecules at the crossroads of inflammation and cancer. *Neoplasia* 2009; 11(7): 615–628.
- Wewers MD, Sarkar A. P2X₇ receptor and macrophage function. *Purinergic Signal* 2009; 5(2): 189–195.
- Alexopoulou L, Kontoyiannis D. Contribution of microbial-associated molecules in innate mucosal responses. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62(12): 1349–1358.
- Magalhaes JG, Tattoli I, Girardin SE. The intestinal epithelial barrier: how to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Semin Immunol* 2007; 19(2): 106–115.
- Sewell GW, Marks DJ, Segal AW. The immunopathogenesis of Crohn's disease: a three-stage model. *Curr Opin Immunol* 2009; 21(5): 506–513.

30. **Shih DQ, Targan SR, McGovern D.** Recent advances in IBD pathogenesis: genetics and immunobiology. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10(6): 568–575.
31. **Villani AC, Franchimont D.** The contribution of genetic studies in shifting the immunopathogenesis paradigm of Crohn's disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2009; 5(4): 361–364.
32. **Eisenbarth SC, Flavell RA.** Innate instruction of adaptive immunity revisited: the inflammasome. *EMBO Mol Med* 2009; 1(2): 92–98.
33. **Lamkanfi M, Kanneganti TD.** Nlrp3: an immune sensor of cellular stress and infection. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42(6): 792–795.
34. **Brand S.** Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut* 2009; 58(8): 1152–1167.
35. **Alirezaei M, Fox HS, Flynn CT, Moore CS, Hebb AL, Frausto RF, Bhan V, Kiosses WB, Whitton JL, Robertson GS, Crocker SJ.** Elevated ATG5 expression in autoimmune demyelination and multiple sclerosis. *Autophagy* 2009; 5(2): 152–158.
36. **Klein L, Munz C, Lunemann JD.** Autophagy-mediated antigen processing in CD4⁺ T cell tolerance and immunity. *FEBS Lett* 2010; 584(7): 1405–1410.
37. **Coutinho AE, Chapman KE.** The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 335(1): 2–13.
38. **Fornai F, Longone P, Ferrucci M, Lenzi P, Isidoro C, Ruggieri S, Paparelli A.** Autophagy and amyotrophic lateral sclerosis: The multiple roles of lithium. *Autophagy* 2008; 4(4): 527–530.
39. **Mavers M, Ruderman EM, Perlman H.** Intracellular signal pathways: potential for therapies. *Curr Rheumatol Rep* 2009; 11(5): 378–385.
40. **Pasquali L, Longone P, Isidoro C, Ruggieri S, Paparelli A, Fornai F.** Autophagy, lithium, and amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2009; 40(2): 173–194.

Práce vznikla s podporou VZ MŠMT ČR č. MSM0021620812, dále byla podpořena specifickým výzkumným projektem č. 262902.

Za vytvoření obrázků v elektronické podobě autoři děkují paní Haně Kotlandové.

ZPRÁVY Plánované akce odborných složek ČLS JEP

DUBEN

1.–3. 4. 2012

33. imunoanalytické dny 12. Mezinárodní konference CECHTUMA 2012

Místo: Ústí nad Labem

Pořadatel: Sekce imunoanalytických metod České společnosti nukleární medicíny ČLS JEP, Česká endokrinnologická společnost ČLS JEP, Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP, sekce laboratorní imunologie České společnosti alergologie a klinické imunologie ČLS JEP, LF UK a FN Plzeň, Technologické centrum Akademie věd ČR, European Group for Tumor Markers (EGTM), European Association for Predictive, Preventive & Personalised Medicine (EPMA)

2. 4. 2012

Vzdělávací seminář SVL ČLS JEP

Místo: Zlín

Pořadatel: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

3. 4. 2012

Parazitologie – seminář

Místo: Praha, Lékařský dům

Pořadatel: Společnost pro epidemiologii a mikrobiologii ČLS JEP

3. 4. 2012

Moderní metody polyfázové identifikace bakterií

Místo: Praha, Lékařský dům

Pořadatel: Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP

4. 4. 2012

Vědecká schůze Psychiatrické společnosti ČLS JEP

Místo: Praha

Pořadatel: Sekce poruch příjmu potravy Psychiatrické společnosti ČLS JEP

4. 4. 2012

Večer Chirurgické kliniky LF UK a FN Plzeň

Místo: Plzeň

Pořadatel: Chirurgická klinika LF UK a FN Plzeň, Spolek lékařů ČLS JEP v Plzni

4. 4. 2012

Vzdělávací seminář SVL ČLS JEP

Místo: Praha, Lékařský dům

Pořadatel: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

4. 4. 2012

Péče o děti s ohroženým vývojem a jejich rodiny

Místo: Karlovy Vary

Pořadatel: OSPDL ČLS JEP

5. 4. 2012

HPV – Právo – Alergie a astma

Místo: Jihlava

Pořadatel: Sdružení praktických lékařů pro děti a dorost ČR, Odborná společnost praktických dětských lékařů ČLS JEP

5. 4. 2012

Vzdělávací seminář SVL ČLS JEP

Místo: Ústí nad Labem, Liberec

Pořadatel: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

11. 4. 2012

Večer 1. interní kliniky LF UK a FN Plzeň

Místo: Plzeň

Pořadatel: 1. interní klinika LF UK a FN Plzeň, Spolek lékařů ČLS JEP v Plzni

11. 4. 2012

Vzdělávací seminář SVL ČLS JEP

Místo: Litomyšl

Pořadatel: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

11. 4. 2012

Nejedlého Kladno

Místo: Kladno

Pořadatel: Oddělení klinické biochemie Oblastní nemocnice Kladno, Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP

12. 4. 2012

Kazuistiky – seminář

Místo: Praha, Lékařský dům

Pořadatel: Česká společnost alergologie a klinické imunologie ČLS JEP

12. 4. 2012

Setkání hrudních chirurgů

Místo: Pardubice

Pořadatel: Chirurgické oddělení Pardubické krajské nemocnice, Česká chirurgická společnost ČLS JEP

Běžná dětská obezita a její metabolické následky

¹Zlatko Marinov, ²Dalibor Pastucha

¹FN Motol a 2. LF UK, Dětská poliklinika, Dětská obezitologická ambulance, Praha

²Fakultní nemocnice Olomouc, Klinika tělovýchovného lékařství a kardiiovaskulární rehabilitace

SOUHRN

Podle současných statistických údajů je v průměrné ordinaci praktického dětského lékaře registrováno okolo sedmdesáti dětí s obezitou, z toho je padesát dětí indikováno k dlouhodobé léčbě obezity ze zdravotní indikace, patnáct dětí je určeno k cílené úpravě jídelníčku a téměř v každé ordinaci je jedno dítě s patognomickou obezitou. V současné době jsme vystaveni pandemii alimentární polygenně vázané obezity, která je chronickým metabolickým onemocněním s celospolečenskými následky. Běžná alimentární obezita se projevuje především časným nástupem kardiometabolického rizika, ale klinický obraz komplikací dětské obezity je širší a zahrnuje vedle tohoto život omezujícího rizika i komplikace respirační, gastrointestinální, neurologické, ortopedické, endokrinologické a závažnou psychosociální problematiku. Následky způsobené dětskou obezitou jsou v počátku reverzibilní a časné stanovení a léčba je významnou klinickou výzvou v předcházení rozvoje závažných metabolických, orgánových, psychických a celospolečenských komplikací.

Klíčová slova: dětská obezita, kardiometabolické riziko, metabolický syndrom, jaterní steatóza, syndrom obstrukční spánkové apnoe.

SUMMARY

Marinov Z, Pastucha D. Children obesity and its metabolic outcomes

According to current statistics, there are, at an average child's general practice about seventy children registered with obesity, including fifty children indicated for long-term treatment of obesity due to medical indications, fifteen children are intended for targeted modifications in their diet, and in almost every practice there is a child with a pathognomonic obesity. Currently, we are exposed to food-borne pandemic coupled polygenic obesity, which is a chronic metabolic disease with societal consequences. Alimentary obesity mainly reflects an early onset of cardio-metabolic risk, but the clinical picture of complications of childhood obesity is broader and includes not only the risk of life-limitation, but also respiratory, gastrointestinal, neurological, orthopaedic and endocrine complications along with serious psychosocial problems. The effects caused by childhood obesity are reversible initially, and early identification and treatment is a major clinical challenge in preventing the development of serious metabolic, organ, psychological and societal complications.

Key words: obesity in children, cardio-metabolic risk, metabolic syndrome, liver steatosis, obstructive sleep apnea syndrome.

Ma.

Čas Lék čes 2012; 151: 135–140

ÚVOD

V České republice v současnosti 50 % dospělých obyvatel bojuje s nadváhou a 20 % je obézních. Ve srovnání s tím by se mohlo zdát 5–10 % obézní dětské populace (1) jako podružný problém. V dětské populaci se jedná především o nárůst běžné obezity, která v současnosti tvoří 95–99 % obézních, kdy množství patognomické obezity se zásadně nemění (2). Běžná alimentární obezita vzniká na polygenním podkladě jako typické civilizační onemocnění rozvinutých světových ekonomik. Charakterizovaná je pozvolným nástupem a rozvojem typických komplexních metabolických změn. Sjednocujícím prvkem genetických polymorfismů je ztráta fyziologických regulačních mechanismů a převaha střídatých programů uchování energie. Rozvoj současné pandemie obezity má své zákonitosti a postupuje ve čtyřech fázích (3), které se vzájemně prolínají.

Prvá fáze – fáze nárůstu epidemie obezity se rozvíjela koncem sedmdesátých let 20. století ve Spojených státech amerických a postupně byla následována rozvinutými západoevropskými státy. Přibližně s desetiletým zpožděním se přidal náš východoevropský region a dálný východ, který byl následován asijským a jihoamerickým regionem. V první fázi epidemie obezity došlo k nárůstu nadváhy a prosté obezity v rámci celého populačního spektra. Za toto poslední čtvrtstoletí došlo v České republice ke zdvojnásobení (1) a v USA a ve Velké Británii k ztrojnásobení počtu obézních dětí.

Druhá fáze – fáze komplikací epidemie obezity je charakterizována rozvojem zdravotních komplikací, které doprovázejí nadváhu a obezitu (tab. 1). Její iniciální fáze byla v USA datovaná začátkem nového tisíciletí a v našem regionu se nyní začíná rozvíjet. Běžná obezita je základním kamenem rozvoje metabolického syndromu. Přes rozvoj inzulinové rezistence vede k rozvoji časného diabetes mellitus 2. typu, jaternímu poškození, potencované ateroskleróze a následně přes rozvoj hypertenze k časné manifestaci kardiiovaskulárních komplikací. V současnosti je v Evropské unii přes 20 000 obézních dětí, které mají diabetes mellitus 2. typu, 400 000 dětí s poruchou glukózové tolerance. Přes milion obézních dětí má známky kardiiovaskulárního onemocnění včetně hypertenze a nárůstu cholesterolu a má tři nebo více známek metabolického syndromu. Přes 1,4 milionu má rané stadium jaterního poškození (4). Vedle toho dětská obezita stojí za

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Zlatko Marinov
Dětská obezitologická ambulance, Dětská poliklinika FN Motol
V Úvalu 84, 150 00 Praha 5
e-mail: z.marinov@seznam.cz

Tab. 1. Klinické jednotky spojené s obezitou u dětské populace

Respirační spánková apnoe astma bronchiální	obstrukce horních dýchacích cest, ortopnoe, zhoršený prospěch zátěžové astma, zkrácení dechu při cvičení
Kardiovaskulární kardiomyopatie oběžných hypertenze dyslipidémie chronický prozánětlivý stav	zátěžová dyspnoe, snížená ventrikulární funkce proteinurie, levostranná ventrikulární hypertrofie hypercholesterolemie, nízký HDL cholesterol endoteliální disfunkce
Neurologické pseudotumor cerebri	cefalea, zvracení, změny visu
Renální glomeruloskleróza	steatóza
Ortopedické skluzná femorální epifyzeolýza přetěžování opěrného systému vadné držení těla	kulhání, omezení rozsahu pohybu v kyčelním kloubu, bolesti kyčlí tibia vara, genua valgus, bolesti kolen, plochá noha disproporční muskulatura, bolesti zad
Gastrointestinální steatohepatitida gastrointestinální reflux cholelitiáza zácpa	zvýšené aminotransferázy, jaterní steatóza, fibróza abdominální diskomfort, zvracení
Endokrinní inzulínová rezistence diabetes mellitus 2. typu syndrom polycystických ovarií pseudohypogonadismus urychlený nástup puberty	acanthosis nigricans polyurie, polydipsie hirsutismus, nepravidelný cyklus u chlapců
Psychologické deprese nízké sebevědomí šikana poruchy příjmu potravy snížení vzdělávacího potenciálu	špatné školní výsledky, suicidální představy odmítání sociálních a školních aktivit odmítání školní docházky noční přejídání, bulimie, bažení

urychleným nástupem puberty (5) doprovázeném snížením konečné výšky a zároveň za vznikem závažných psycho-sociálních problémů, protože obézní dítě je velmi často vystaveno neúměrnému společenskému tlaku ze strany společensko-estetických norem.

Rozvoj **třetí fáze** – fáze komplikací epidemie obezity se očekává ke konci třetí dekády tohoto století. Tato fáze bude charakterizována rozvojem zdravotních následků, které doprovázejí nadváhu a obezitu (6, 7). Dětská obezita v 70 až 80 % přestupuje i do dospělosti, kdy se tyto jedinci budou řadit k chronicky obézním dospělým se závažnými zdravotními a psychosociálními komplikacemi, které se plně rozvinou již v produktivním věku. Na podkladě diabetes mellitus 2. typu

to budou časně amputace dolních končetin, ledvinné selhání a časná slepota, na podkladě steatohepatitidy s cirhózou se předpokládá rozvoj jaterního selhání, posun nádorových onemocnění, iktů a infarktů do nižších věkových skupin v produktivním věku. Na jedné straně dojde ke snížení ekonomického a společenského uplatnění těchto jedinců a na druhé k enormnímu zvyšování zdravotnických a celospolečenských nákladů (8). Komplex obezita – metabolický syndrom – diabetes mellitus 2. typu – kardiovaskulární ischemie spotřebovává již v současnosti až 10–15 % úhrnných zdravotních nákladů. Obézní dospělí zaměstnanci při BMI nad 40 mají dvakrát vyšší kompenzační nároky a dvanáctkrát více pracovní neschopnosti. Náklady zdravotní péče jsou u obézních

Tab. 2. Orgánově specifické symptomy spojené s hyperinzulinismem a inzulinovou rezistencí

Kůže hyperkeratotická acanthosis nigricans, bílé strie, hirsutismus, frontální alopecie	Gastrointestinální jaterní steatóza, pankreatitida, cholecystitida, kolorektální nádory
Tuková tkáň androidní obezita, zvýšení intraabdominálního tuku, tuková infiltrace svalů, jater, pankreatu	Gonády virilizace, hirsutismus, nepravidelnosti cyklu, perzistující akné, hyperhydróza, infertilita, předčasné pubarché
Kardiovaskulární hypertrofie arterií, endoteliální dysfunkce, časná ateroskleróza, iktus, hypertenze	Nadledviny adrenarché, zvýšená produkce adrenálních androgenů
Ledviny fokální segmentální glomeruloskleróza	Hypotalamogonadální osa pseudoakromegalie, akcelerovaný lineární růst a kostní věk, snížená sekrece růstového hormonu
Imunitní asthma bronchiální, ekzém, zvýšené nádorové riziko, alterovaná buněčná imunita	Celková zánětlivá reakce zvýšená hladina CRP, zvýšená sedimentace erytrocytů a tumor necrosis faktor α , autoimunitní tyroiditida
Psychologické deprese, nízké sebevědomí	Neurologické iktus, pseudotumor cerebri
Respirační hypoventilační syndrom, spánková apnoe	Ortopedické degenerativní artritida, dna, svalové křeče

Tab. 3. Kritéria komplexních metabolických změn v dětské obezitologické ambulanci dětské polikliniky FN Motol

Věk 3 až 16 let:
nadváha a obezita \geq 85. percentil BMI + obvod břicha/výška \geq 0,5 + 2 z následujících
triacylglycerol \geq 1,6 mmol/l
HDL-cholesterol $<$ 1,2 mmol/l
kyselina močová \geq 340 μ mol/l
glykémie na lačno \geq 5,6 mmol/l nebo C-peptid \geq 1300 μ mol/l nebo HOMA IR \geq 2,5
ALT \geq 0,6 μ kat/l
hs-CRP \geq 2 mg/l po vyloučení bakteriálního infektu
TK nad 95. percentil věku

o polovinu a náklady na léky dvakrát vyšší než u běžné populace.

Čtvrtá fáze – fáze fixace epidemie obezity bude nejspíš postupně prolínat třetí fází a bude charakterizovaná přenosem obezity do následujících generací. Vlastností typickou pro běžnou obezitu je tendence ke sdružování a vytváření skupin s podobným hodnotovým systémem (9). Ve fertilním věku na jedné straně dojde k selektivnímu výběru mezi mladými dospělými s nadváhou a obezitou a na druhé straně samotná obezita matek ještě před koncepcí negativně ovlivňuje vývoj programingu plodu ve smyslu jeho energetické rovnováhy (10) a zároveň zvyšuje výskyt vrozených vývojových vad. Původně epigenetická modifikace geonomu (11) přestoupí selektivním výběrem do fylogenetiky a v následujících generacích evolučním tlakem i do ontogenetiky specifických populací (12). Předpokládá se, že proces následků a komplikací spojených s nadváhou a obezitou se geneticky zafixuje, celý cyklus se urychlí (13) a dojde k významnému zkrácení střední délky života celých populací. Ekonomické prognózy začínají ve vztahu k růstu obezity v jednotlivých populacích kalkulovat se sníženou společenskou produktivitou práce, náklady na změnu normativů veřejných prostor, zvýšením nákladů na potraviny, ošacení a transport.

Mezi nejzávažnější komplikace dětské obezity v současné době řadíme následky spojené s metabolickými změnami podmiňující rozvoj kardiovaskulárního onemocnění s hypertenzí, akcentovanou aterosklerózou a poruchy metabolismu – porušená glukózová tolerance, hyperurikémie, porucha lipidového metabolismu (14). Metabolické následky obezity se stávají život limitující především ve své vzájemné potencující kombinaci popisované pod obrazem metabolického syndromu. Neméně závažnými následky dětské obezity však jsou enterohepatické metabolické následky, které ústí v nealkoholickou steatohepatitidu (15) a sekundární metabolické následky spojené s obstrukční spánkovou apnoí (16).

KARDIOMETABOLICKÉ NÁSLEDKY A METABOLICKÝ SYNDROM U BĚŽNÉ DĚTSKÉ OBEZITY

Tuková tkáň je největším endokrinním orgánem v těle a při jejím nadměrném zmožení dochází k pozvolným, ale rozsáhlým metabolickým změnám (17). Z pohledu chronický metabolický následků je neaktivnější viscerální tuková tkáň, která se nejméně podílí na rozvoji relativního hyperkortikalismu, hyperestrogenismu, inzulinové rezistence a hyperkoagulace. Tento chronický stav v řádu desetiletí je potencován prolongovaným selháním β -buněk pankreatu, proaterogenním a proimunosupresivním stavem. Komplexní metabolické změny, které působí ve vzájemné vazbě, jsou základním kamenem rozvoje metabolického syndromu.

Metabolický syndrom je charakterizovaný absolutní inzulinovou rezistencí, endoteliální dysfunkcí a dyslipidemií. Dyslipidémie vedle podpory aterogeneze vede k chronickému steatotickému zánětu jater. Přes rozvoj inzulinové rezistence (tab. 2) vede cesta k rozvoji časné cukrovky 2. typu, zrychluje se ateroskleróza a nástup hypertenze záhy doprovází kardiovaskulární komplikace mnohdy se smrtelnými následky (4). Obezita a metabolický syndrom se staly v posledních letech hlavním nepřítelem preventivní kardiologie a druhým největším nepřítelem preventivní onkologie po kouření (18).

Komplexní metabolické změny charakterizuje souběh patologických laboratorních nálezů ve vazbě na model Reavenova syndromu X (19). Pohled na kritéria metabolického syndromu se stále vyvíjí a postupně i původní model opouští. Obecně platná definice byla stanovena poprvé roku 1998 podle Světové zdravotnické organizace, dále modifikována v roce 2001 podle Adult Treatment Panel III a v současnosti platná podle Mezinárodní diabetické federace z roku 2005. Kritéria Mezinárodní diabetické federace byla v roce 2007 modifikována pro dětskou populaci, který metabolický syndrom v pediatrii definuje od 10. roku věku do 16. roku věku ve vazbě nad 90. percentil BMI (20).

V pediatrii se ale poukazuje na fakt, že kritéria metabolického syndromu stanovená pro dospělou populaci, jsou pro dětskou populaci nevyhovující a pro klinickou praxi nepoužitelná (21). Zvýšená glykémie na lačno v dětské populaci v rámci kritérií metabolického syndromu ztrácí svůj preventivní charakter a je již ukazatelem orgánového poškození. Vzhledem k velké vulnerabilitě dětského metabolismu je třeba poruchu glukózové tolerance verifikovat pomocí oGTT (orálně glukózový toleranční test). „Zlatým standardem“ pro dospělý věk je metoda tzv. euglykemického „clampu“. Vyšetření má celou řadu nevýhod, pro dětský věk je nepřijatelně invazivní, je prováděno za nefyziologických podmínek a pro určení celého spektra rezistence je zapotřebí test opakovat s různými dávkami inzulinu. Především je však pro lékaře i pacienta velmi pracná a náročná (a také drahá) a z těchto důvodů nepoužitelná pro klinickou nebo epidemiologickou praxi (22).

Proto byly vyvíjeny zjednodušené metody, mezi nimiž se nejvíce ujal tzv. Bergmanův minimální model. Během intravenózního glukózového tolerančního testu (jednorázové intravenózní zátěže glukózou) je v krátkých intervalech mnohokrát odebírána katétrekrev a v ní je vyšetřován inzulin a glykémie. Z těchto hodnot je vypočítána závislost mezi koncentracemi glukózy a inzulinu v podobě tzv. indexu inzulinové senzitivity (S_i). Tento index koreluje s euglykemickým clampem u nediabetiků. U diabetiků je však jeho citlivost menší, neboť okamžitá odpověď na změny koncentrace glukózy – což je základní determinanta tohoto postupu – je u nich snížena. Nerozlišuje se také mezi úlohou periferního a jaterního metabolismu glukózy a výsledky jsou často velmi variabilní. Také tento test je ale příliš složitý a drahý pro hromadné použití v pediatrické praxi.

Proto byly hledány jiné možnosti, jak jednoduše posoudit homeostatické vztahy mezi inzulinem a glykemií. Růst koncentrace inzulinu by měl být za fyziologických okolností provázen poklesem glykémie a naopak. Porucha tohoto vztahu je projevem nedostatečné účinnosti inzulinu a je podkladem tzv. homeostatických modelů posuzování inzulinové rezistence HOMA IR. Inzulinémie a glykémie je stanovována za standardních podmínek nalačno a index je vypočítáván násobením koncentrace inzulinu v μ U/ml koncentrací glukózy v mmol/l a dělením tohoto součinu 22,5 ($HOMA\ IR = \text{inzulín nalačno} (\mu\text{U/ml}) \times \text{glykémie nalačno} (\text{mmol/l}) / 22,5$). Podobným výpočtem lze stanovit i homeostatický index sekrece inzulinu β -buněk HOMA Bb ($HOMA\ Bb = 20 \times \text{inzulín nalačno} (\mu\text{U/ml}) / \text{glykémie nalačno} (\text{mmol/l}) - 3,5$). Citlivost tohoto indexu však byla – na rozdíl od indexu HOMA IR – zpochybněna již při jeho tvorbě, a proto se v praxi nevyužívá (23).

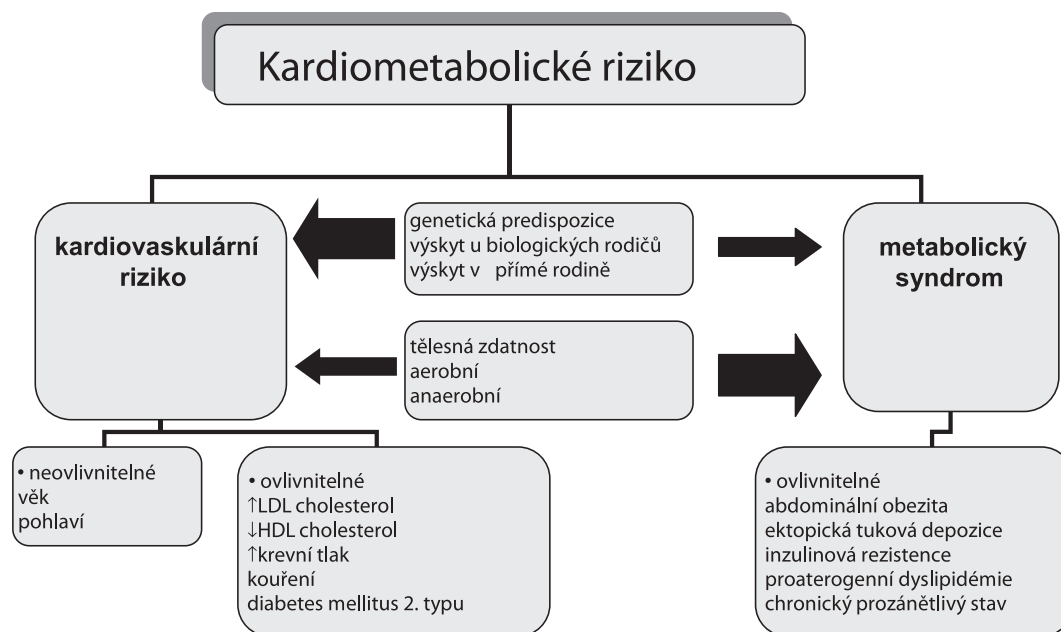


Schéma 1. Vztahy kardiometabolického rizika

„Nejmladším“ představitelem homeostatických indexů je index QUICKI (QUICKI = $1/\log$ inzulín nalačno ($\mu\text{IU/ml}$) + \log glykémie nalačno ($\text{mg}/100\text{ml}$), tj. $1/\log$ inzulín nalačno ($\mu\text{IU/ml}$) + \log glykémie nalačno (mmol/l) * 18,182), založený taktéž na předpokladu zpětnovazebných vztahů mezi inzulínem a glukózou, koreluje s clampovými metodami ještě těsněji (24, 25).

Bez této korekce až 50 % dětí v klinických studiích propadne sítím kritérií metabolického syndromu. Taktéž hodnocení zvýšeného krevního tlaku v rámci preventivních kritérií se jeví jako pozdní znak. Pro preventivní účely je v pediatrii vhodnější určit jednotlivé složky komplexních metabolických změn (tab. 3), stanovit jejich provázanost a odhadnout budoucí kardiometabolické riziko (schéma 1) (26).

Komplexní metabolické změny mají u dětí typický klinický obraz. Jsou to děti s obezitou centrálního typu, akantózou nigricans v místě zvýšeného tření v zátylku nebo podpaždí, bílými striemi, hyperpilózou nad extenzory a gynekomastií. Diagnostika komplexních metabolických změn není jen akademickou otázkou, ale především významnou klinickou výzvou. U dětí s komplexními metabolickými změnami je jejich organismus časně vystaven orgánově specifickým změnám spojeným s hyperinzulinismem a inzulínovou rezistencí.

Rozvoji komplexních metabolických změn nejsou děti uchráněny a v současnosti tvoří 1/3 obezitologických ambulančí (27, 28). Děti s komplexními metabolickými změnami jsou určené k intenzivní redukci hmotnosti a účelné farmakoterapii (2). Neléčený metabolický syndrom vede v řádu desítek let k rozvoji diabetes mellitus 2. typu, který se může projevit již v adolescenci. Alarmující jsou nejnovější údaje z USA, kde diabetes mellitus 2. typu u hispánských a afroamerických adolescentů 4krát převyšuje výskyt diabetes 1. typu. Posun nástupu rozvoje metabolického syndromu do dětského věku vede v současnosti v USA a ve Velké Británii k realistickému konstatování, že poprvé v historii USA a Velké Británie je predikce střední délky života nastupující generace nižší než generace současné.

ENTEROHEPATALNÍ METABOLICKÉ NÁSLEDKY A NEALKOHOLICKÁ JATERNÍ STEATÓZA

Mikrobiální střevní flóra – mikrobionta – se významně účastní metabolických pochodů na úrovni energetické homeostá-

zy, toxikologie a hormonální modifikace trávicího traktu. V lidském střevě je množství mikroorganismů, které s rozsahem 10^{14} bakterií dvojnásobně převyšují genetickou informaci všech lidských buněk (29). Zdrojem této střevní mikroflóry pro novorozence je jeho matka během průchodu porodním kanálem a následně se jen mírně modifikuje dle vnějších podmínek. Na unikátní lidské střevní mikroflóře se podílejí specifické mikroorganismy na jednotlivých úrovních v odlišných ekologických společenstvech. Stejně negativně jak soudobá civilizace zasahuje do makro-ekosystémů významně negativně zasahuje i do mikro-ekosystémů trávicího traktu. Obezita může být spojena s redukcí gram-negativních *Bacteroides* a proporcionálním navýšením gram-pozitivních *Fermitutes* v distální části střeva. Omezení tuků a sacharidů ve stravě nevede jen ke snížení hmotnosti, ale i v řádu týdnů k úpravě mikrobiálních poměrů ve střevě. Potenciál metabolické aktivity střevní mikrobionty je shodný s metabolickým potenciálem jaterní tkáň. Střevní mikroflóra v hostitelském organismu se účastní energetické homeostázy na úrovni příjmu a ukládání zásob. Může ovlivňovat inzulínovou rezistenci, glukózový a lipidový metabolismus, ukládání tuků a následně tělesnou hmotnost (30). Při zvýšeném příjmu tuků fermentační procesy střevní mikroflóry vedou ke zvýšené oxidaci mastných kyselin. Protektivní cholin může konvertovat na hepatotoxické metaaminové formy, které podporují jaterní steatózu. Lipoperoxidace žlučových kyselin vede k zásahu do energetického tukového metabolismu a ukládání triglyceridů. Hyperperoxidace podporuje inzulínovou rezistenci a chronickou zánětlivou reakci indukovanou nízkou hladinou lokální endotoxemií. Otázkou zůstává nejen proliferativní potenciál střevní mikroflóry na specifické buňky trávicího traktu a pseudohormonální aktivita produktů a fermentace mikrobionty, ale i celá řada zatím neprobádaných a netušených vazeb unikátního ekospojení, které se přímo podílejí na rozvoji nealkoholické jaterní steatózy.

Nealkoholická jaterní steatóza se stává nejrozšířenější příčinou onemocnění jater v pediatrii v rozvinutých zemích a doprovází epidemii obezity i v dětské obezitologii. U obézních adolescentů se vyskytuje až v 80 % případů (31). Její histologický obraz začíná u prosté nealkoholické jaterní steatózy a přes nealkoholickou steatohepatitidu může vést následně k rozvoji cirhózy a jaternímu selhání. Hlavním rizikovým faktorem rozvoje nealkoholické jaterní steatózy je nadváha a obezita. Její klinický obraz bývá němý bez výraznějších subjektivních obtíží. Při vyšetření se setkáváme s elevací ALT,

dyslipidemií a inzulínovou rezistencí doprovázené echografickým obrazem jaterní steatózy. Iniciální stadium při působení komplexních metabolických změn může v časovém průběhu progredovat k závažnějšímu jaternímu poškození včetně obrazu steatohepatitidy, nekrotizujícího zánětu a fibrózy. Výskyt nealkoholické steatohepatitidy narůstá se stupněm obezity, zvýšením triglyceridů, se stupněm inzulínové rezistence, s výskytem spánkové apnoe, s věkem a mužským pohlavím, resp. androgeny. Protektivním v rozvoji steatohepatitidy se jeví snížený obsah tuků a glycidů ve stravě, snížená inzulino-rezistence a ženské pohlaví, resp. estrogeny. Klinické jednotky v současné době lze ověřovat pouze jaterní biopsií, k jejíž indikaci nejčastěji vede chronicky elevovaná aminotransferázy s dominancí GGT a pozitivní ASMA (32). Při léčbě nealkoholické jaterní steatózy je nutné se především vyvarovat nízkooenergetickým dietám, které mohou podporovat oxidativní stres a mitochondriální dysfunkci v jaterní tkáni. Postupné snížení hmotnosti a adekvátní pohybová aktivita vede k poklesu ALT a jaterní steatózy, ke snížení sterilního zánětu a nekrózy, ale již nevede k úpravě vzniklých fibrotických změn.

SEKUNDÁRNÍ METABOLICKÉ NÁSLEDKY SPOJENÉ SE SYNDROMEM OBSTRUKČNÍ SPÁNKOVÉ APNOE

Častou respirační komplikací u dětských pacientů s obezitou bývá syndrom obstrukční spánkové apnoe. Jeho incidence stoupá od 12 let se stupněm BMI a trojnásobnou převahou chlapců před děvčaty (33). Nekvalitní spánek je příčinou narušených kognitivních funkcí, poruch soustředění a může se u dětí projevovat hyperaktivitou s poruchou soustředění. U dětí s vyšším stupněm obezity vede hromadění tuku v krční oblasti k obstrukci horních dýchacích cest a v abdominální oblasti ke snížení dýchání a rozvíjí se hypoventilace. V těle se hromadí oxid uhličitý, který způsobuje výraznou spavost s usínáním během dne. Při dlouhodobém působení dochází k pravostrannému srdečnímu selhání, plíce se nemohou dostatečně rozepnout a je ztíženo dýchání. Tento stav je známý pod pojmem Pickwickův syndrom a dochází k němu u 5 % morbidně obézních pacientů a korelátorem je výskyt obstrukční spánkové apnoe > 5 epizod/hod nebo > 30/noc. Respirační acidóza je zpočátku limitována pouze na spánek, ale dlouhodobým následkem je hypoventilační syndrom obézních. Dochází k progresivní desenzitizaci respiračního centra na zprvu noční hyperkapnii a postupný rozvoj respirační insuficience typu II, kde je hlavním motorem respirace hypoxie. Projevem je centrální apnoická pauza bez dechového úsilí. V důsledku nízké fyzické aktivity se často zhoršují projevy po zátěžové dušnosti a u obézních dětí se často zhoršují astmatické obtíže. Vedle toho samotné patofyziologické mechanismy obezity ovlivňují mechanické vlastnosti dýchacích cest a stimulují prozánětlivé pochody v respiračním traktu. Protože se neprokázala souvislost hmotnosti s výskytem atopie a ani nebyla prokázána souvislost míry fyzické aktivity na incidenci astmatu, je podkladem zvýšené incidence astma bronchiale u obézních chronický prozánětlivý stav způsobený nadměrnou hmotností a nikoli nedostatkem pohybu (34).

ZÁVĚR

Hlavní důvody pro léčbu obezity v současné době spočívají v léčbě s ní spojených zdravotních následků. Obezitologie si nestanovuje nereálné cíle redukce hmotnosti do normostennických hodnot, ale redukce metabolicky aktivní tukové hmoty v řádu kilogramů (2). Dospělý pacient s obezitou má vzhledem k metabolickým změnám zvýšené riziko předčasného úmrtí v rozmezí dekády oproti neobézním (35). Na jedné straně jsou dobře zmapovány následky pandemie obezit u dospělé

populace, ale na druhé straně jsou dlouhodobé následky dětské obezity stále otazníkem. V dětské obézní populaci strmě narůstá výskyt komplexních metabolických změn se stupněm obezity, věkem a preferencí mužského pohlaví. V dětské populaci je trojnásobně vyšší výskyt komplexních metabolických změn oproti současným kritériím metabolického syndromu a u obézních adolescentů se v 60 % vyskytují komplexní metabolické změny. Naplnění katastrofické vize následků nadváhy a obezity jsou velkou výzvou, protože záleží bez nadsázky na nás všech, jestli se nám podaří zvrátit současné negativní trendy. Hlavní roli v tomto snažení hraje nesporně prevence (2). V plné míře totiž platí, že o co obtížnější je léčba dětské obezity, o to jednodušší je prevence jejího vzniku. I když se jeví komplexní problematika dětské obezity na první pohled jako velmi složitá, ve skutečnosti je možné stanovit jednoduchá a účelná preventivní pravidla (36). Za svůj životní styl a životní styl svých dětí sice odpovídá v první řadě jedinec, ale boj proti obezitě nemůže být jen bojem jednotlivců. Jen dobře informovaný jedinec má šanci na racionální změnu životního stylu. V současnosti se právě prevence vzniku běžné obezity jeví jako jediná účelná „léčba“ obezity.

LITERATURA

1. **Vignerová J, Riedlová J, Bláha P, et al.** 6. celostátní antropologický výzkum dětí a mládeže 2001. Česká republika. Souhrnné výsledky. PŘF UK. Praha: SZÚ 2006; 238.
2. **Marinov Z.** Praktická dětská obezitologie. Praha: Grada Publishing 2012.
3. **Ludwig DS.** Childhood obesity – the shape of things to come. *N Engl J Med* 2007; 7(23): 2325–2327.
4. **Lobstein T., Jackson-Leach R.** Estimated burden of paediatric obesity and co-morbidities in Europe. Part 2. Numbers of children with indicators of obesity-related disease. *Int J Pediatr Obes* 2006; 1(1): 33–41.
5. **Krásničanová H.** Vztahy mezi tělesnou hmotností a skeletální a sexuální maturací. Stav výživy a biologický věk – vybrané auxologické aspekty. *Postgraduální medicína* 2010; 2(Suppl): 52–60.
6. **Franks PW, Hanson RL, Knowler WC, et al.** Childhood obesity, other cardiovascular risk factors, and premature death. *N Engl J Med*. 2010; 362(6): 485–493.
7. **Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB.** The relationship between overweight in adolescence and premature death in women. *Ann Intern Med* 2006; 145(2): 91–97.
8. **Avenell A, Broom J, Brown TJ, et al.** Systematic review of the long-term effects and economic consequences of treatments for obesity and implications for health improvement. *Health Technol Assess* 2004; 8(21): 1–182.
9. **Christakis NA, Fowler JH.** The spread of obesity in a large social network over 32 years. *N Engl J Med* 2007; 357(4): 370–379.
10. **Hillier TA, Pedula KL, Schmidt MM, et al.** Childhood obesity and metabolic imprinting. *Diabetes Care* 2007; 30(9): 2287–2292.
11. **Franks PW, Ling C.** Epigenetics and obesity: the devil is in the details. *BMC Med* 2010; 21(8): 88.
12. **Ramachandrapa S, Farooqi IS.** Genetic approaches to understanding human obesity. *J Clin Invest* 2011; 121(6): 2080–2086.
13. **Dabelea D, Crume T.** Maternal environment and the transgenerational cycle of obesity and diabetes. *Diabetes* 2011; 60(7): 1849–1855.
14. **Pastucha D, Malinčíková J, Číhalík Č, et al.** Obesity, hypertension and insulin resistance in childhood. *Acta Medica Martiniana*. 2008; 8(1): 17–22.
15. **Nobili V, Alisi A, Raponi M.** Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: preventive and therapeutic value of lifestyle intervention. *World J Gastroenterol*. 2009; 15(48): 6017–6022.
16. **Kohler MJ, Thormaehlen S, Kennedy JD, et al.** Differences in the association between obesity and obstructive sleep apnea among children and adolescents. *J Clin Sleep Med* 2009; 5(6): 506–511.
17. **Horakova D, Stejskal D, Pastucha D, et al.** Potential markers of insulin resistance in healthy vs obese and overweight subjects. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2010; 154(3): 245–250.

18. **Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ.** Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348(17): 1625–1638.
19. **Reaven GM.** The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1237–1247.
20. **Zimmet P, Alberti KG, Kaufman F, et al.** The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes* 2007; 8(5): 299–306.
21. **Simmons RK, Alberti KG, Gale EA, Colagiuri S, et al.** The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? *Diabetologia* 2010; 53(4): 600–605.
22. **Pastucha D., Hyjánek, J., Horáková, D.** Hypertenze dětského věku a její vztah k inzulinové rezistenci. *Pediatric pro praxi* 2007; 8: 237–239.
23. **Haffner SM, Miettinen H, Stern MP.** The homeostasis model in the San Antonio heart study. *Diabetes Care*. 1997; 20: 1087–1092.
24. **Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, Quon MJ.** Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2402–2410.
25. **Pastucha D, Talafa V, Malincikova J, et al.** Obesity, hypertension and insulin resistance in Childhood – a pilot study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2010; 154(1): 77–82.
26. **Steinberger J, Daniels SR, Eckel RH, et al.** Progress and challenges in metabolic syndrome in children and adolescents. *Circulation* 2009; 119(4): 628–647.
27. **Marinov Z, Čepová J.** Metabolické parametry pacientů dětské obezitologické ambulance. *Čs Pediatrie* 2010; 2: 72–78.
28. **Vitáriušová E, Košťálová L, Pribilincová Z, et al.** Výskyt metabolického syndrómu a jeho komponentov u obézných dětí. *Čs Pediatrie* 2010; 2: 55–61.
29. **Ley RE.** Obesity and the human microbiome. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 5–11.
30. **Musso G, Gambino R, Cassader M.** Obesity, Diabetes, and Gut Microbiota. *Diabetes Care* 2010; 33: 2277–2284.
31. **Nobili V, Alisi A, Raponi M.** Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: preventive and therapeutic value of lifestyle intervention. *World J Gastroenterol* 2009; 15(48): 6017–6022.
32. **Chan DF, Li AM, Chu WC, et al.** Hepatic steatosis in obese Chinese children. *Int J Obes Rel et Metab Disord* 2004; 28(10): 1257–1263.
33. **Kohler MJ, Thormaehlen S, Kennedy JD, et al.** Differences in the association between obesity and obstructive sleep apnea among children and adolescents. *J Clin Sleep Med* 2009; 5(6): 506–511.
34. **Rodriguez MA, Winkleby MA, Ahn D, et al.** Identification of population subgroups of children and adolescents with high asthma prevalence: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156(3): 269–275.
35. **Fontaine KR, Redden DT, Wang C, et al.** Years of life lost due to obesity. *JAMA* 2003; 289(2): 187–193.
36. **Marinov Z, Barčáková U, Nesrstová M, Pastucha D.** S dětmi proti obezitě. Praha: IFP publishing 2011.

ZPRÁVY Plánované akce odborných složek ČLS JEP

12. 4. 2012

Magnetická rezonance prsu – seminář

Místo: Brno

Pořadatel: Radiodiagnostické oddělení MOU

12.–13. 4. 2012

Pokroky v léčbě nemocných s karcinomem pankreatu – II. postgraduální kurz SGO

Místo: Loket nad Ohří

Pořadatel: Česká chirurgická společnost ČLS JEP

13. 4. 2012

14. seminář mladých patologů s mezinárodní účastí a 38. sjezd českých patologů

Místo: Litomyšl

Pořadatel: Společnost českých patologů ČLS JEP a Lékařská fakulta UK v Hradci Králové

13. 4. 2012

18. pracovní den sekce technologicko-ošetrovatelské ČSNM a ČAS

Místo: Praha, Lékařský dům

Pořadatel: Česká společnost nukleární medicíny ČLS JEP (ČSNM), ČAS

13. 4. 2012

Pokroky ve výživě novorozenců

Místo: Praha

Pořadatel: Novorozenecké oddělení s JIP Thomayerovy nemocnice Praha, Neonatologická společnost ČLS JEP

13. 4. 2012

Psychodynamické přístupy u hraničních a narcistických poruch

Místo: Praha

Pořadatel: Česká psychoanalytická

společnost, Česká psychoterapeutická společnost ČLS JEP

13.–14. 4. 2012

21. šumperské dny alergologie a klinické imunologie

Místo: Kouty nad Desnou

Pořadatel: Česká společnost alergologie a klinické imunologie ČLS JEP (ČSAKI), alergologická a imunologická ambulance v Šumperku

13.–14. 4. 2012

9. sjezd Sdružení ambulantních dermatologů ČR

Místo: Pardubice

Pořadatel: Sdružení ambulantních dermatologů ČR

13.–14. 4. 2012

Futurum Ophthalmologicum

Místo: Bělohrad

Pořadatel: Česká oftalmologická společnost ČLS JEP

13.–14. 4. 2012

39. sjezd Společnosti českých patologů ČLS JEP

15. seminář mladých patologů

Místo: Litomyšl

Pořadatel: Společnost českých patologů ČLS JEP

13.–15. 4. 2012

6. jarní interaktivní konference SVL ČLS JEP

Místo: Praha

Pořadatel: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

13.–15. 4. 2012

13. moravský pneumologický mezikrajský seminář

Místo: Zlín

Pořadatel: Česká pneumologická a fteziologická společnost ČLS JEP

13.–15. 4. 2012

10. celostátní konference o sekundární osteoporóze

Místo: Plzeň

Pořadatel: Společnost pro metabolická onemocnění skeletu ČLS JEP, ČAS

14. 4. 2012

11. konference o dětské pneumologii

Místo: Praha

Pořadatel: Česká společnost dětské pneumologie ČLS JEP, Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol Praha

14. 4. 2012

Akutní stavy u dětí, dyspnoe

Místo: Opava, aula Rektorátu Slezské univerzity

Pořadatel: OSPDL ČLS JEP

14. 4. 2012

Vzdělávací seminář OSPDL ČLS JEP

Místo: Plzeň

Pořadatel: Odborná společnost praktických dětských lékařů ČLS JEP (OSPDL)

14.–15. 4. 2012

Konference SPLDD ČR a vzdělávací seminář

Místo: Opava

Pořadatel: Sdružení praktických lékařů pro děti a dorost ČR (SPLDD) a Odborná společnost praktických dětských lékařů ČLS JEP

Faktory ovlivňující experimentování s kouřením: výsledky studie ELSPAC

¹Hrubá Drahoslava, ²Okrajek Petr, ²Kukla Lubomír

¹Masarykova univerzita v Brně, Lékařská fakulta, Ústav preventivního lékařství

²Masarykova univerzita v Brně, Lékařská fakulta, Výzkumné pracoviště preventivní a sociální pediatrie

SOUHRN

Východisko. Mezi příčiny kouření dětí a adolescentů a mechanismy, které vedou ke vzniku závislosti, patří faktory genetické i vlivy prostředí: individuální, sociální a společenské. Evropská longitudinální studie těhotenství a dětství (ELSPAC) shromažďuje pomocí mezinárodně standardizovaných dotazníků údaje o kohortě dětí z Brna a okresu Znojmo v předem stanovených etapách věku, v rozpětí od 18. týdne prenatálního života do 19 let. Děti ve věku 11 let poprvé podávají informace samy o sobě. Cílem práce byla analýza vybraných aspektů podmínek života jedenáctiletých brněnských dětí, které se liší svým kuřáckým chováním.

Metody a výsledky. Respondenti vyplňují dotazník v domácím prostředí; jsou identifikovatelní a jejich odpovědi mohou kontrolovat rodiče, což může ovlivnit pravdivost výpovědí. Z kohorty 2160 dětí z Brna byly vytvořeny tři skupiny: nikdy nekouřících (79,8 %), s ojedinělým kuřáckým pokusem (15,3 %) a opakovaným kouřením (4,9 %). Rozdíly byly hodnoceny standardními statistickými testy. Anamnestické vyšetření prokázalo, že významná část této populace experimentuje s legálními drogami – kouřením cigaret (20 %) a pitím alkoholu (třetina nekouřících, tři čtvrtiny kouřících) a ojediněle i s jinými psychotropními látkami. Kritickou dobou byl u většiny dětí věk 9–10 let. Kouřící děti častěji pobývaly v zakouřeném prostředí, žily v náhradních či neharmonických rodinách, měly horší vztah ke škole i školní prospěch, trávily volný čas neúčelně. Častěji udávaly různé zdravotní problémy a určité poruchy chování.

Závěry. Údaje získané od jedenáctiletých dětí studie ELSPAC potvrdily, že v České republice jsou legální drogy dobře dostupné už dětem mladšího školního věku a není věnována dostatečná pozornost naplňování některých cílů národního programu Zdraví 21.

Klíčová slova: ELSPAC, děti, věk 11 let, iniciace kouření, determinanty, komorbidita.

SUMMARY

Hrubá D, Okrajek P, Kukla L. Factors influencing the experimentation with smoking: Observed in ELSPAC Study

Background. The causes of children' and adolescents' smoking, along with mechanisms which lead to addiction, include both genetic and environmental factors: individual, social and societal. The European Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood (ELSPAC) collects data about the cohort of children from Brno and district Znojmo at scheduled stages from 18th week of prenatal to 19th year of age, using an international standardized questionnaire set. At the age of eleven the children first reported information on themselves. The aim of this study was to analyse different life conditions of 11-year-old children from Brno with different smoking behaviour.

Methods and Results. Respondents filled in at home a questionnaire; according which they could be personally identified, and their answers reviewed by parents. These conditions could influence the truthfulness of statements. The cohort of 2160 children was divided into the 3 groups: never smokers (79.8%), with one single attempt (15.3%) and repeatedly smoking children (4.9%). The differences were evaluated using standard statistical tests. An important part of the reviewed population experimented with legal drugs: cigarette smoking (20%) and alcohol drinking (one third of never smoking and three quarters of smoking children); there were also sporadic experiments with other psychotropic substances. The age of 9–10 years was critical for the majority of children in relation to their first experiments with addictive drugs. Smoking children were more often exposed to passive smoking, they lived in substitute or non-harmonic families, had the worse relations to school and poorer school results, their leisure time was useless. They had more health problems and some conduct disorders.

Conclusions. Data obtained from 11-year-aged children from the ELSPAC study have confirmed that in the Czech Republic legal drugs are easily available for young-school aged children, and inadequate attention is addressed to realisation of some goals of the National Programme Health 21.

Key words: ELSPAC, children, age 11 years, smoking initiation, determinants, co-morbidity.

Hr.

Čas Lék čes 2012; 151: 141–148

ÚVOD

Názor, že kouření je nejvýznamnějším rizikovým faktorem a ohrožuje zdraví kuřáků i nekuřáků širokým spektrem poškození včetně podstatného zkrácení života, je všeobecně ak-

ceptován, stejně jako důkazy o tom, že děti a dospívající jsou ke škodlivým následkům kouření vnímavější než dospělí (1).

Přestože odborníci stále hledají příčiny kouření dětí a adolescentů i mechanismy, které vedou ke vzniku závislosti, shodují se v tom, že vedle vlivů genetických se významně uplatňují i vlivy prostředí. Ty je možné rozdělit do tří skupin determinant: individuální (znalosti a postoje), sociální (kuřáckví rodičů, ostatních příbuzných a vrstevníků, socioekonomický stav rodiny a samotného kuřáka) a společenské (legislativa, reklama a propagace, prezentace hromadnými sdělovacími prostředky, tolerance společnosti k sebepoškozujícímu chování a jeho následkům) (2). Sociální i společenské podmínky mají určité geografické a historické odlišnosti včetně změn v průběhu času, a je proto

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

Prof. MUDr. Drahoslava Hrubá, CSc.,
Ústav preventivního lékařství LF MU
Kamenice 5, 625 00 Brno
e-mail: hruba@med.muni.cz

důležité opakovaně analyzovat jejich vlivy v lokálních i národních studiích.

Evropská longitudinální studie o těhotenství a dětství (ELSPAC), do níž se Česká republika zapojila v roce 1990, shromažďuje pomocí mezinárodně standardizovaných dotazníků údaje o kohortě dětí z Brna a okresu Znojmo. Data jsou získávána v předem stanovených etapách věku cílové populace v rozpětí od 18. týdne prenatálního života do 19 let. Kromě deskriptivního popisu incidence a prevalence sledovaných znaků a trendů jejich vývoje umožňuje studie i analytické hodnocení vztahů mezi podmínkami života, způsobem života a zdravím dětí. Vzhledem k tomu, že časově náročné kódování a zadávání dat k počítačovému zpracování bylo provedeno nejprve pro brněnské účastníky studie, vztahují se analýzy k tomuto souboru.

SOUBOR DĚTÍ A POUŽITÉ METODY

První období, kdy anamnestické informace o kohortě dětí ze studie ELSPAC podávaly kromě rodičů, lékařů a učitelů také samy děti, byl jejich věk 11 let. Tato práce analyzuje různé aspekty chování a pocitů dětí, které se liší svým kuřáckým chováním. V dotazníku byly mimo jiné tázány, zda už zkoušely kouřit, a mohly si vybrat ze čtyř variant odpovědí: ještě nikdy, jen jednou, vícekrát než jednou a mnohokrát.

Z obsáhlého dotazníku zahrnujícího otázky z pěti sekcí, byly vybírány znaky, které umožnily hodnotit:

- kuřácké prostředí v rodině dítěte,
- užívání dalších legálních (alkohol) i ilegálních drog dítětem,
- sociální prostředí dítěte v rodině a ve škole, včetně způsobů trávení volného času,
- výskyt vybraných poruch chování ze sebehodnotícího pohledu dítěte,
- subjektivní pocity (zdraví a štěstí) v posledních 6 měsících.

Při posuzování kuřáckého prostředí v rodině nekladli autoři dotazníku přímé otázky na kuřáctví rodičů a dalších příbuzných, s nimiž se děti stýkají, neboť dospělí by mohli tyto dotazy pokládat za zásah do soukromí. Proto děti odpovídaly na otázku, zda a jak asi dlouho pobývají v zakouřeném prostředí ve všední dny a ve dnech volna.

Rozdílly byly hodnoceny statistickými testy Mantel-Haenszel, Yates, χ^2 v programu EPI INFO, verze 6.04a a testem ANOVA.

VÝSLEDKY

Z celkového počtu 2179 dětí z Brna, které byly sledovány v této etapě studie ELSPAC, jich na otázku o jejich experi-

Tab. 1. Expozice dětí zakouřenému prostředí (% odpovědí)

	Kouřil		Nekouřil	p ₁ <	p ₂ <
	opakovaně	jednou			
N dětí	97,0	329,0	1734,0		
% dětí	4,9	15,3	79,8		
Expozice – všední dny					
– vůbec	67,0	70,9	82,8	,001	,01
– méně než hodinu	10,1	16,8	10,6		
– několik hodin	12,7	9,8	4,8	,05	,05
– většinu dne nebo celý den	2,1	2,4	1,8		
Expozice – volné dny					
– vůbec	49,5	54,5	72,0	,001	,001
– méně než hodinu	26,3	28,0	18,4	,05	,05
– několik hodin	18,9	14,3	6,7	,05	,05
– většinu dne nebo celý den	5,3	3,0	2,8		
Celkem expozice					
– všední dny	33,0	29,1	17,2		
– volné dny	50,5	45,5	28,0		
p ₃ <	,05	,001	,001		

Pozn.: Statistická významnost hodnotila rozdíly mezi opakovaně kouřícími a nekouřícími dětmi (p₁), mezi jednorázově kouřícími a nekouřícími dětmi (p₂) a mezi počtem exponovaných ve všedních a ve volných dnech (p₃).

Tab. 2. Sociální prostředí v rodině (% dětí)

	Kouřil		Nekouřil	p ₁ <	p ₂ <
	opakovaně	jednou			
Odloučení od matky	10,3	9,8	7,7		
Odloučení od otce	26,8	21,7	14,4	,001	
V rodině náhradní rodič	9,3	7,6	3,7	,01	
Časté rozprávění s rodiči	80,9	81,5	84,3		
Časté neshody s rodiči	14,7	7,4	5,8	,01	

Pozn.: Statistická významnost hodnotila rozdíly mezi opakovaně kouřícími a nekouřícími dětmi (p₁), mezi jednorázově kouřícími a nekouřícími dětmi (p₂).

Tab. 3. Sociální prostředí ve škole (% dětí)

	Kouřil		Nekouřil	p ₁ <	p ₂ <
	opakovaně	jednou			
Děti je ctěn/uznáván	39,6	48,8	42,8		
Děti je přijímán/tolerován	51,0	46,7	52,1		
Děti je trpěn/odmítán	6,0	1,5	2,6		
Jiná odpověď	3,4	3,0	2,5		
U dětí je celkem oblíbený	79,5	80,4	72,0		
Má alespoň jednoho dobrého kamaráda	28,4	18,3	7,9	,01	,001
Děti bývá napadán	18,5	19,0	15,3		,06
Byl šikanován	15,8	12,1	10,0		,06
Do školy chodí rád	20,0	39,9	42,2	,001	,001
Někdy/málokdy chodí rád	65,2	52,9	52,8	,05	
Nikdy nechodí rád	14,7	7,1	5,0	,001	,01
Dostává špatné známky	45,8	42,0	30,5	,01	,01

Pozn.: Statistická významnost hodnotila rozdíly mezi opakovaně kouřícími a nekouřícími dětmi (p₁), mezi jednorázově kouřícími a nekouřícími dětmi (p₂).

Tab. 4. Zájmová činnost dětí (% odpovědí)

	Kouřil		Nekouřil	p ₁ <	p ₂ <
	opakovaně	jednou			
Jen tak se toulá – všední den					
– víc jak 3 hodiny	8,5	2,8	1,5	,001	,01
– méně než 2 hodiny	36,2	26,3	21,7	,01	
– nikdy	55,3	70,9	76,8	,001	
Jen tak se toulá – volný den					
víc jak 3 hodiny	10,8	4,7	2,5	,001	,05
méně než 2 hodiny	33,3	27,4	20,2	,01	
nikdy	55,9	67,8	77,3	,001	,01
Nicnedělání – všední den					
– víc jak 3 hodiny	3,3	1,9	2,0		
– méně než 2 hodiny	47,8	43,3	42,7		
– nikdy	48,9	54,8	55,4	,05	
Nicnedělání – volný den					
– víc jak 3 hodiny	7,6	2,5	2,8		
– méně než 2 hodiny	43,5	43,8	43,5		
– nikdy	48,9	53,7	53,7		
Sledování televize					
– skoro pořád	38,1	31,3	24,8		
– jednou denně	51,5	60,4	67,2		
– jen zřídka/vůbec	10,4	8,2	8,0		
Sledování videa					
– skoro pořád	12,4	7,7	6,3		
– jednou denně	17,5	13,2	13,0		
– jen zřídka/vůbec	70,1	79,1	80,7		
Sportuje, protože ho/ji to baví	83,5	85,3	79,1		
Čte moc rád	19,6	23,6	38,3	,001	,001
Čte celkem rád	36,9	36,2	35,3		
Čtení ho/ji nebaví	30,4	33,6	22,7	,05	,01
Nečte	13,1	6,6	3,8	,01	

Pozn.: Statistická významnost hodnotila rozdíly mezi opakovaně kouřícími a nekouřícími dětmi (p₁), mezi jednorázově kouřícími a nekouřícími dětmi (p₂).

mentování s kouřením neodpovědělo 19, takže výsledky se týkají 2160 dětí. Z nich většina ještě nekouřila (79,8 %), 15,3 % má jedinou zkušenost s první cigaretou, 4,0 % kouřilo víc než

jednou a odpověď „kouřil jsem mnohokrát“ vybralo 0,9 % dětí. Pro další práci s daty byly děti, které kouřily opakovaně (tj. víc než jednou a mnohokrát), sloučeny do jedné skupiny.

Tab. 5. Poruchy chování v posledních 6 měsících (% odpovědí)

	Kouřil		Nekouřil	p ₁ <	p ₂ <
	opakovaně	jednou			
Lhaní, vymýšlení					
– často	21,7	16,1	8,9	,001	,01
– někdy	54,3	52,1	46,5		
– nikdy	24,0	31,8	44,6	,001	,01
Braní cizích věcí					
– často	6,5	4,5	3,2	,05	
– někdy	20,4	14,9	12,4	,05	
– nikdy	73,1	80,5	84,4	,01	
Záškoláctví	3,3	1,6	1,4		

Pozn.: Statistická významnost hodnotila rozdíly mezi opakovaně kouřícími a nekouřícími dětmi (p₁), mezi jednorázově kouřícími a nekouřícími dětmi (p₂).

Tab. 6. Subjektivní pocity v posledních 6 měsících (% odpovědí)

	Kouřil		Nekouřil	p ₁ <	p ₂ <
	opakovaně	jednou			
Roztěkanost, neklid					
– stále/často	40,0	40,7	28,1	,01	,01
– zřídka	40,0	32,6	38,9		
– nikdy	20,0	26,7	32,9	,05	
Neposednost					
– stále/často	59,6	52,4	39,1	,001	,001
– zřídka	24,5	23,6	29,9		
– nikdy	15,9	24,0	30,9	,001	,05
Roztržitost					
– stále/často	38,4	33,0	23,2	,001	,001
– zřídka	44,2	41,2	37,2		
– nikdy	17,4	25,8	39,6	,001	,01
Nervózní					
– stále/často	40,7	43,2	34,7		
– zřídka	40,7	36,8	44,4		
– nikdy	18,6	20,0	20,9		
Zlostný, nahněvaný					
– stále/často	31,6	34,4	24,7	,06	
– zřídka	44,2	42,6	43,5		
– nikdy	24,2	23,0	31,8	,05	
Bojácný					
– stále/často	14,3	16,8	19,8		
– zřídka	44,0	38,1	38,4		
– nikdy	41,8	45,2	41,8		
Nešťastný					
– stále/často	12,8	15,6	9,8		
– zřídka	38,9	41,0	41,9		
– nikdy	47,8	43,4	48,2		
Soustředěný					
– stále/často	29,3	52,7	61,6	,001	,001
– zřídka	44,6	33,3	30,0	,01	
– nikdy	26,1	14,0	8,4	,001	,05
Nemocný, bolest hlavy, břicha					
– stále/často	31,3	23,6	19,4	,01	,001
– zřídka	36,5	39,0	38,8		
– nikdy	32,2	37,4	41,8	,01	
Celkové pocity					
– stále/skoro pořád dobře	75,2	74,2	87,7	,001	,001
– někdy špatně	18,6	20,7	13,8	,05	
– často/pořád špatně	4,2	3,0	2,1		
– neumí definovat	2,1	2,1	2,0		

Pozn.: Statistická významnost hodnotila rozdíly mezi opakovaně kouřícími a nekouřícími dětmi (p₁), mezi jednorázově kouřícími a nekouřícími dětmi (p₂).

Děti, které už zkoušely kouřit, bývají významně častěji exponovány zakouřenému prostředí svých domovů než děti, které ještě neabsolvovaly první pokus. Dobu expozice odhadují děti na jednu až několik hodin každý den, téměř 50 dětí z celého souboru je však exponováno většinu dne či celý den. Počet exponovaných dětí významně narůstá ve dnech volna (tab. 1).

Mezi opakovaně a jednorázově kouřícími dětmi nebyly významné rozdíly ve věku, kdy zkusily svoji první cigaretu: nejčastěji mezi 9. až 10. rokem (cca 75 %). Dříve – mezi 7. až 8. rokem kouřilo cca 14 % dětí a kolem 6 % dětí uvedlo, že měly svůj první pokus ještě v předškolním věku. Jen 4 % dětí zkusilo kouřit v době vyplňování dotazníku, tj. mezi 11. a 12. rokem.

Děti experimentující s cigaretami uváděly významně častěji i konzumaci alkoholických nápojů: 84,2 % opakovaných kuřáků a 70,9 % jednorázových kuřáků ve srovnání s 33,2 % nikdy nekouřících dětí ($p < 0,001$). Více než polovina opakovaně kouřících pila alkohol víckrát (až mnohokrát); tuto frekvenci uvedla také třetina jednorázových kuřáků a necelých 15 % nekouřících dětí. Také u iniciace ochutnávání alkoholu bylo pro většinu dětí (cca 60 %) kritické období mezi 9. a 10. rokem, v předškolním věku se seznámilo poprvé s alkoholem téměř dvojnásobně víc dětí než s cigaretou (cca 10 %).

Výpovědi o zkušenostech s ostatními drogami byly jen ojedinelé: jeden opakovaný kuřák zkusil jiné drogy, dva jednorázoví kuřáci a dva nekuřáci ochutnali „houbičky“ (lysohlávky) a pět dětí (čtyři nekouřící děti a jeden jednorázový kuřák) zkusili „čichat“. Věk těchto experimentů byl znovu nejčastěji kolem 10 let.

Přestože většina dětí ze všech skupin (více než 80 %) shodně uváděla, že si s nimi rodiče často povídají a že jim nebylo tělesně ubližováno, kouřící děti popisovaly častěji výskyt stresujících situací v jejich rodinách: odloučení od matky nebo od otce, žít v rodině s náhradním rodičem i časté neshody s rodiči. Ve srovnání s nekuřáky byla frekvence těchto znaků signifikantně častější u opakovaně kouřících dětí (tab. 2).

Téměř dvě třetiny kouřících a cca 58 % nekouřících dětí dostává pravidelné kapesné, které v průměru přesahuje 100 Kč měsíčně (130 Kč u opakovaných kuřáků, 102 Kč u kuřáků s jediným pokusem a 112 Kč u nekuřáků). Rozdíly mezi jednotlivými skupinami ve výši průměrného kapesného nejsou statisticky významné. Jako maximální měsíční příjem byly uváděny hodnoty: 650 Kč u opakovaných kuřáků, 800 Kč u dětí, které zkusily kouřit jen jednou, a 1000 Kč ve skupině dětí, které nikdy nekouřily. Další čtvrtina dětí v každé skupině dostane peníze na určitý účel, když o ně požádá. Zhruba 10 % dětí dostává peníze jako odměnu a několik dětí (celkem 109 z celého souboru) žádné peníze nedostává.

Své postavení mezi spolužáky hodnotí děti ze všech tří skupin podobně, většinou jako vcelku harmonické. Opakovaně kouřící děti sice častěji vybíraly odpovědi, že jsou spolužáky trpěny či odmítány, že bývají napadány a dokonce šikanovány; rozdíly proti frekvenci odpovědí ve skupině nikdy nekouřících dětí však byly jen na hranici statistické významnosti ($p = 0,06$). Kouřící děti významně častěji než ty, které nikdy nekouřily, uváděly, že mají alespoň jednoho dobrého kamaráda. Ve skupinách kuřáků se však významně častěji vyskytovala odpověď, že nemají školu rády (trvale nebo dost často), také jich víc dostává špatné známky (tab. 3).

Významně více opakovaně kouřících dětí tráví mimoškolní čas touláním se po ulicích, a to jak ve všedních, tak i ve volných dnech. Více času věnují také sledování televize a videa, ale v tomto ohledu se frekvence pasivních diváků nelišila od skupiny dosud nekouřících statisticky významně (tab. 4). Většina dětí ze všech skupin (cca 80 %) popisovala, že sportují a že je to baví, zbývající se věnují sportům kvůli svým rodičům nebo kamarádům. Žádné dítě neuvědlo, že vůbec nesportuje. Děti s různými kuřáckými zkušenostmi odlišuje výrazně jejich vztah ke knihám: děti, které již kouřily, významně méně volily odpověď, že čtou „moc rády“, naopak častěji uváděly, že je čtení nebaví, resp. že nečtou vůbec (tab. 4).

Mezi kouřícími dětmi se častěji vyskytovaly výpovědi o poruchách jejich chování (drobné krádeže, lhaní či vymyšlení si). Záškoláctví bylo naopak vcelku ojedinelé ve všech hodnocených skupinách: přiznalo se celkem 32 dětí z celého souboru (tab. 5).

Kouřící děti, zejména pak ty, které kouřily opakovaně, významně častěji než nekuřáci popisovaly v posledních 6 měsících mezi subjektivními pocity výskyt hyperaktivity a snížené schopnosti soustředění a také zhoršeného zdraví (bolesti hlavy, břicha). I když většina dětí nakonec na dotaz „jak se celkově cítí“, zvolila odpovědi „stále či skoro pořád dobře“, byla mezi kouřícími dětmi frekvence těchto odpovědí významně méně častá než mezi těmi, které ještě nemají zkušenosti s kouřením (tab. 6).

DISKUZE

Většina epidemiologických studií založených na dotazníkových šetřeních zaručuje anonymitu respondentů, nebo alespoň diskretnost týkající se zjišťovaných dat. Ve studii ELSPAC jsou naopak dospělí i dětské respondenti identifikovatelní, doma vyplňované dotazníky jsou odesílány společně. Lze tedy předpokládat, že alespoň část dětí mohla výpovědi, které se týkaly ožehavých otázek jejich prostředí a chování, měnit v obavě před prozrazením rodičům.

Etapa sběru dat od jedenáctiletých dětí souboru ELSPAC je datována do let 2002/3. V roce 2010 byly získány údaje o kouření od souboru stejně starých dětí sledovaných v rámci intervenční longitudinální studie k ověření účinnosti primárního preventivního programu „Normální je nekouřit“. Většina dětí z této pozdější studie je rovněž z Brna, případně z bývalých okresních měst, dotazníky vyplňují ve škole, anonymně (3). V obou studiích je obdobný počet dětí, které zkoušely kouřit jen jednou (15,3 %, resp. 17,2 %). V souboru z roku 2010 však trojnásobně víc dětí uvedlo, že kouřily opakovaně (15,4 % vs. 4,9 % v ELSPAC) a méně dětí, které ještě nikdy nekouřily (67,5 % vs. 79,8 %); rozdíly proti údajům ze studie ELSPAC jsou statisticky vysoce významné ($p < 0,001$). Z dostupných materiálů nelze soudit, zda jsou tyto rozdíly ovlivněny odlišnou metodikou sběru dat (adresné vs. anonymní šetření), nebo zda se během necelých 10 let zhoršila situace v oblasti kouření dětí ve věku nastupující puberty.

Česká republika se pravidelně zapojuje do mezinárodní studie Světové zdravotnické organizace HBSC (Health Behaviour on School-Aged Children), monitorující mimo jiné konzumaci legálních a ilegálních drog na reprezentativně vybraných souborech školních dětí ve věku 11, 13 a 15 let. Anonymní dotazníky byly vyplňovány v letech 1994, 1998 a 2002 (4). Bohužel, kritériem pro posouzení kuřáctví byla definice pravidelného kuřáka, který kouří alespoň jednu cigaretu týdně; těch bylo v roce 2002 mezi jedenáctiletými žáky 5. tříd 2 %. Ve zprávě není uveden počet dětí, které ještě nikdy s kouřením neexperimentovaly, takže obě studie nelze porovnat.

Detailnější rozlišení kuřáků bylo ve studii HBSC děláno až po věkovou kategorii patnáctiletých, mezi nimiž bylo 64,4 % dospívajících, kteří ještě nezkoušeli kouřit, tedy jen o málo méně (nesignifikantně) než v souboru jedenáctiletých dětí z roku 2010. Toto porovnání by spíše svědčilo pro hypotézu o rostoucím trendu experimentování s kouřením mezi žáky prvního stupně základních škol v uplynulém desetiletí.

Přes výše uvedené pochybnosti o pravdivém uvádění požadovaných informací o kouření, potvrzují výsledky souboru ELSPAC obvykle nacházené vztahy mezi kouřením a ostatními podmínkami, v nichž děti žijí.

Četné studie z různých částí světa i z domácího prostředí popisují, že děti, které už zkoušely kouřit, mívají častěji kouřící rodiče, případně další členy domácnosti a příbuzné, s nimiž jsou v častém kontaktu (např. 4–12). Blízcí příbuzní tímto způsobem významně ovlivňují postoje ke kuřáctví, které děti z kuřáckých rodin pokládají za normální součást života do-

spělých a chtějí je napodobovat (13). V rodinách kuřáků jsou dětem rovněž snadněji dostupné cigarety (14, 15) a pravidla o kouření v bytě či autě buď neexistují, nebo jsou jen velmi volná (16, 17). Novější studie z Hong Kongu zjistila, že k iniciaci kouření dětí statisticky významně přispívá i samotná chronická expozice pasivnímu kouření, nezávisle na kuřáctví rodičů (18).

Studie ELSPAC tyto závěry potvrdila, kouřící děti uváděly významně častěji expozici zakouřenému prostředí svých domovů než děti, které ještě neabsolvovaly první pokus. Počet exponovaných dětí se významně zvyšoval ve dnech volna, kdy dospělí kuřáci zůstávají pohromadě s rodinou.

Děti ELSPAC experimentující s kouřením uváděly významně častěji i konzumaci alkoholických nápojů, což je rovněž v souladu nejen s našimi staršími (19–21) i novějšími zjištěními (4, 11, 22), ale i s četnými výsledky zahraniční literatury (např. 23–26). Různé lokální i reprezentativní studie ukazují, že konzumace alkoholických nápojů v dětské populaci je velmi naléhavý problém. Přestože legální věk pro prodej a užívání státům tolerovaných drog (alkoholu, tabáku) je 18 let, mnoho rodičů a příbuzných dětí legislativní normy ignoruje a dětem užívání těchto drog nejen toleruje, ale i nabízí. Zejména popíjení alkoholu o významných svátcích a rodinných oslavách je spojeno s jejich nabídkou dětem (11).

Podle retrospektivních výpovědí patnáctiletých respondentů české studie HBSC většina dětí ochutnává první alkohol ve věku 11–12 let (4), ale dotazováním jedenáctiletých dětí v souboru ELSPAC, kde údaje byly zjišťovány rovněž retrospektivně, byl kritickým obdobím pro většinu (75 % dětí) věk mezi 9. a 10. rokem. V prospektivním sledování studie programu „Normální je nekouřit“ však přiznávalo ochutnávání alkoholických nápojů 60 % sedmiletých žáků 2. tříd základních škol, o rok později se frekvence pozitivních výpovědí ve stejné kohortě zvýšila o dalších 10 % (11). Lze soudit, že retrospektivně získávaná data od dětských respondentů mohou být zatížena značnými nepřesnostmi v odhadu věku prvních zkušeností s rizikovým chováním.

Celkem překvapující jsou informace o experimentování dětí ze studie ELSPAC s nelegálními drogami, omamnými látkami používanými k čichání a konzumaci hub obsahujících psychoaktivní látky. Uváděly je nejen děti mající zkušenosti s cigaretami, ale i ty, které dosud ani jednou nekouřily. Tyto údaje poskytovali pouze jednotlivci a nelze vyloučit, že právě u těchto otázek mohly mnohé děti pravou skutečnost zatajit z obav před vyjádřením. Ve studii HBSC bylo užívání nelegálních drog zjišťováno pouze v souboru patnáctiletých adolescentů a s výjimkou marihuany, u které přiznalo alespoň jedno experimentální užití 31 % hochů a 23 % dívek, byly ostatní zkoumané drogy uváděny spíše vzácně. Nicméně autoři studie varují, že děti ze druhého stupně základních škol se pohybují v prostředí, kde jsou drogy snadno dostupné (4). Naše výsledky ukazují, že ve stejné době se s nimi mohly setkat i děti z prvního stupně základní školy.

Sociální postavení dítěte v rodině a pozice, jakou zaujímá dítě mezi svými vrstevníky, je velmi významná pro získávání zkušeností a proces socializace. Vliv rodiny se významně uplatňuje během dětství, v období puberty a dospívání slábne ve prospěch vlivu vrstevníků (27). Prostředí v rodině, škole, v zájmových skupinách i v širší společnosti je vždy charakterizováno určitými normami a pravidly, která si děti postupně uvědomují, a pokud chtějí do určité sociální skupiny patřit, tak je akceptují a řídí se jimi během procesu jejich socializace (28). Vnímavost ke vlivům sociálního prostředí, zejména pak k působení vrstevníků, se může během života měnit (29).

Některé studie uvádějí, že chronický stres a deprese zvyšují u dětí a dospívajících jejich vnímavost k sociálním faktorům spojených s kouřením (30). Tabák poskytuje kuřákovi úlevu a odměnu prostřednictvím nikotinu, který aktivací „nikotinových“ receptorů působí na uvolňování neurotransmiterů (především dopaminu) a na aktivaci sympatikoadrenergního systému (31). U dětí mohou být zdrojem jejich chronického stresu podmínky v rodině nebo ve škole.

Úloha rodičů není jen ve vytváření modelu chování, ale významná je jejich role kontrolní a podporující. Mnohé studie se zaměřily na analýzu těchto rolí podle struktury rodiny a shodně dospěly k závěrům, že nejlepší podmínky zajišťuje dětem úplná rodina se dvěma biologickými rodiči (14), zatímco v neúplných rodinách či v rodinách s náhradním rodičem je prostředí, které vede děti a adolescenty k častějšímu užívání legálních, případně nelegálních drog (4, 32–35). Ovšem tyto vztahy některé studie nepotvrdily (12, 36, 37). Také v souboru dětí z programu „Normální je nekouřit“ se dvoustranný vztah mezi rodinným stavem a iniciací kouření dětí nepotvrdil (38). Avšak po zahrnutí znaku „vzdělání rodičů“ bylo významně více jedenáctiletých dětí, které ještě nezkoušely kouřit, v úplných rodinách se dvěma biologickými rodiči, když matka měla vysokoškolské vzdělání (39).

V souboru ELSPAC žily kouřící děti častěji v náhradních rodinách, uváděly častěji odloučení od matky nebo od otce a časté neshody s rodiči. Ve srovnání s nekuřáky byla frekvence těchto znaků signifikantně vyšší u opakovaně kouřících dětí. I v tomto případě studie ELSPAC potvrdila jinými autory dříve popisované souvislosti mezi stres vyvolávajícím rodinným prostředím a kouřením.

Pozice dětí s různým kuřáckým chováním mezi spolužáky byla hodnocena dětmi ze všech tří skupin studie ELSPAC podobně, většinou jako vcelku harmonická. Kuřáci dokonce častěji popisovali, že mají dobrého kamaráda, ale také více dětí z této skupiny uvádělo pozitivní výpovědi o odmítání až šikane; rozdily proti frekvenci těchto údajů mezi nekuřáky však nebyly statisticky významné. Zdánlivý paradox těchto výpovědí může svědčit o tom, že kuřáci mohou chápat pojem „kamarádství“ povrchněji, jejich rodiče plní nedostatečné roli moderátorů při navazování kamarádkých vztahů a „ochránců před špatnými přáteli“ (28).

Nicméně školní prostředí představuje pro některé žáky 5. tříd ze souboru ELSPAC stres, což se projevilo významně častějšími frekvencemi odpovědí kuřáků, že nechodí do školy rádi. Velmi důležitou příčinou neoblíbenosti školy je jistě špatný prospěch, který se rovněž častěji vyskytoval mezi opakovaně kouřícími dětmi. S tím souvisí i častější neúčelné trávení volného času touláním se po ulicích, neoblíbená čtení, které rozvíjí představivost a inspiraci. Tato zjištění jsou v souladu se zahraničními poznatky a jsou varovná zejména z toho důvodu, že patří k faktorům, které významně ovlivňují vývoj od kuřáckých experimentů k pravidelnému kouření a k postupnému rozvoji závislosti (40, 41).

Stresující rodinné a školní prostředí je provázáno psychologickým dyskomfortem a může vést až k rozvoji depresivních stavů. Většina studií, které se zaměřily na hledání vztahů mezi kuřáctvím a výskytem depresí, našla pozitivní asociace (42). Nicméně není zcela uspokojivě zodpovězena otázka, jaké jsou časové souslednosti těchto dvou faktorů: Zda deprese vede ke kuřáctví, nebo naopak zda kouření může vyvolat deprese. Pro obě teorie existují biologicky přijatelná vysvětlení: lidé s pocitem úzkosti a deprese mohou začít kouřit proto, že nikotin – prostřednictvím neurotransmiterů – jim pomáhá nepřijemné nálady a psychologické stavy zvládnout. Naopak, u psychologicky zdravých kuřáků se může postupně vyvíjet deprese následkem dysregulace hypotalamicko-pituitárního-adrenergního systému a hypersekrece kortisolu, který reguluje biologické a psychologické odpovědi organismu na stres.

Období puberty a dospívání je kritické jak pro rozvoj depresivních symptomů, tak pro zahájení kouření. V adolescenci probíhají dramatické vývojové a neurobiologické změny, které mohou ovlivnit jak vnímavost k účinkům drog, tak i citlivost k podnětům vyvolávajícím deprese (43). V přehledném analytickém zpracování studií publikovaných v letech 1990 až 2007 byly potvrzeny obě hypotézy. Pro primární deprese, kterou postižení alespoň v začátcích zvládali pomocí kouření, svědčilo 12 prací. Naopak 6 jiných prací prokázalo, že prvotní bylo kouření, které vedlo k rozvoji depresí. V obou případech byly vztahy statisticky vysoce významné (44).

Výsledky v souboru ELSPAC naznačují, že více jedenáctiletých dětí žijících ve stresujícím prostředí rodinném a/nebo školním experimentuje s kouřením. To by svědčilo pro to, že zejména opakovaně kouřící děti hledají a nalézají v kouření pomoc při zvládnání jejich nepříznivých nálad. Protože však kouří i děti, které tyto nepříznivé podmínky ve svém životě nepopisují, nelze vyloučit, že mezi nimi by mohlo dojít v horizontu několika příštích let k rozvoji psychických depresivních poruch. Studie ELSPAC umožní pátrat po těchto souvislostech v dalších etapách šetření, neboť sběr dat je ukončen v 19. roce věku respondentů.

Mezi kouřícími dětmi ELSPAC (jednorázově i opakovaně) se častěji vyskytovaly údaje o poruchách jejich chování (účelové lhaní, drobné krádeže, výbuchy zlosti), hyperaktivity (neklidu, neposednosti), poruch pozornosti (roztěkanost, roztržitost, neschopnost se soustředit). Kouřící děti rovněž častěji popisovaly pocity nemoci (bolesti hlavy, břicha, únavu). Naopak signifikantně méně kouřících dětí vypovídalo, že se v posledních 6 měsících cítily pořád nebo skoro pořád dobře, jak po stránce zdravotní, tak i psychické.

Ve stejné kohortě dětí se poruchy chování, charakterizované negativismem, agresivitou, špatnou schopností se soustředit a nepřiměřenými reakcemi (záchvaty vzteku), vyskytovaly již v 7 letech jejich věku při vyšetření u lékaře s frekvencí 4,4 %. Mezi těmito dětmi byl i signifikantně častější výskyt výrazné hyperaktivity, poruch psychomotorického vývoje, opoždění školní zralosti a poruch spánku. V další etapě šetření, ve věku 8 let, potvrzovali učitelé, že u těchto dětí s poruchami chování je častější horší prospěch v matematice a čtení, i horší sociální přizpůsobivost v prostředí školy. V příčinných souvislostech byl ve vztahu k poruchám chování a dalším komorbiditám významný vliv kouření matek během těhotenství (45). Frekvence všech sledovaných ukazatelů chování v předcházející etapě šetření však byla při vyšetřování druhou osobou (lékařem, učitelem) nižší než v subjektivních údajích probandů v době, kdy dosáhli věku jedenácti let.

Mnohaletý výzkum příčin antisociálních poruch chování vyskytujících se v dětství odhalil jak vlivy genetické, tak i vlivy prostředí (46). V poslední době však do popředí zájmů odborníků vstupují faktory ovlivňující jedince před narozením. Opakovaně se potvrzuje, že suboptimální podmínky intrauterinního vývoje mohou vyvolat různé projevy maladaptace zahrnující snížení kognitivních schopností, mentální retardaci, antisociální chování, případně poruchy pozornosti a hyperaktivitu (47). Mezi zkoumané faktory, které narušují v prenatálním období vývoj mozku, patří především expozice cigaretového kouří. Minimálně 40 studií potvrdilo, že kouření v těhotenství zvyšuje u potomků signifikantně výskyt různých neurologických dysfunkcí, antisociálního chování, které se manifestují v dětství i v dospělosti (48). Je pravda, že u člověka jsou poruchy chování výsledkem působení komplexu mnoha faktorů, které ztěžují určit, zda kouření má vliv kauzální, nicméně vztahy s prenatální expozicí kouření byly prokázány i na zvířecích modelech (49).

V této práci nebyly analyzovány vztahy mezi vybraných údajů získaných od dětí a jejich prenatální expozicí faktorům, které mohly negativně ovlivnit jejich intrauterinní i postnatální vývoj, které byly nalezeny v předchozích etapách; to bude předmětem jiného sdělení.

ZÁVĚR

Anamnestické vyšetření brněnských dětí ve studii ELSPAC prokázalo, že ve věku 11 let významná část této populace experimentuje s legálními drogami – kouřením cigaret a pitím alkoholu a ojedinelé i s jinými psychotropními látkami. U kouřících dětí byly potvrzeny nejen podmínky, které jsou pokládány za klasické příčiny iniciace tohoto autoagresivního chování (expozice pasivnímu kouření, rodinné prostředí, neoblíba školy, nedostatek podnětů v mimoškolní době), ale

i častější výskyt dalších znaků problémového chování a horšího zdraví.

V několika cílech světového programu Zdraví 21, které převzal i národní program České republiky, je zdůrazňováno vytváření podmínek pro osvojení si zdravého způsobu života dětmi a dospívající mládeží (50). Na plnění konkrétních cílů se musí podílet stát a jeho instituce, rodina i každý jednotlivec. Z různých studií jsou doklady o tom, že přes některé dílčí úspěchy nevěnuje Česká republika těmto cílům dostatečnou pozornost. K těmto závěrům přispívají i zjištění získaná ve studii ELSPAC.

Zkratky

ELSPAC – Evropská longitudinální studie těhotenství a dětství

LITERATURA

1. **U. S. Department of Health and Human Services.** Healthy People 2010. Understanding and Improving Health. Washington D. C.: Government printing office 2000.
2. **Geckova A, van Dijk JP, van Ittersum-Gritter T.** Determinants of adolescent smoking behaviour: A literature review. *Cent Eur J Public Health* 2002; 10: 79–87.
3. **Hrubá D, Žaloudíková I.** „No-smoking is normal“. Effects and limits of interventional programme. In: Sborník abstrakt z konference 13th ECTOH. Amsterdam 2011;
4. **Csémy L, Krch FD, Provazníková H, Rážová J, Sovinová H.** Životní styl a zdraví českých školáků. Praha: Psychiatrické centrum 2005.
5. **Bailey SL, Ennett ST, Ringwall CL.** Potential mediators, moderators, or independent effects in the relationships between parents' former and current cigarette use and their children's cigarette use. *Addict Behav* 1993; 18: 601–621.
6. **Bantle C, Haisken-De New JP.** Smoke signals: the intergeneration transmission of smoking behavior. *DIW Discussion Paper* 2002.
7. **Komro KA, McCarty MS, Forster JI, Blaine TM, Chen V.** Parental, family and home characteristics associated with cigarette smoking among adolescents. *Am J Health Promotion* 2003; 17: 291–299.
8. **Leatherdale ST, McDonald PW, Cameron R, Brown KS.** A multilevel analysis examination the relationships between social influences for smoking and smoking onset. *Am J Health Behav* 2005; 29: 520–530.
9. **Powel L, Chaloupka F.** Parents, public policy, and youth smoking. *Journal of Policy Analysis and Management* 2005; 24: 93–112.
10. **Bricker JB, Peterson AV, Andersen MR, Leroux BG, Rajan KV, Sarason IG.** Close friends', parents' and other siblings' smoking: reevaluation of their influence on children's smoking. *Nicotine Tob Res* 2006; 8: 217–226.
11. **Hrubá D, Žaloudíková I.** Rodiče, děti a legální drogy. *Alkoholismus a drogové závislosti* 2009; 44: 257–271.
12. **Baška T, Warren ChW, Hudečková H, Ochaba R, Šťastný P, Lea V, Lee J.** The role of family background on cigarette smoking among adolescent school children in Slovakia: findings from the 2007 Slovakia Global Youth Tobacco Survey. *Int J Publ Health* 2010; doi: 10.1007/s00038-010-0168-x.
13. **Pierce JP, Choi WS, Gilpin EA, Farkas AJ, Merritt RK.** Validation of susceptibility as a predictor of which adolescents take up smoking in the United States. *Health Psychol* 1996; 15: 355–361.
14. **Brown SL, Rinelli LN.** Family structure, family processes, and adolescent smoking and drinking. *Journal of Research on Adolescence* 2010; 20: 259–273.
15. **Goldmann S, Schmidt CM, Tauchmann H.** Smoking initiation in Germany: the role of intergeneration transmission. *Health Economy* 2010; 19: 227–242.
16. **Wakefield MA, Chaloupka FJ, Kaufman NJ, Orleans CT, Barker DC, Ruel EE.** Effect of restriction on smoking at home, at school and in public places on teenage smoking: cross sectional study. *BMJ* 2000; 321: 333–337.
17. **Schulz ASH, Nowatzki J, Dunn DA, Griffith EJ.** Effects of socialization in the household on youth susceptibility to smoking: a secondary analysis of the 2004/05 Canadian Youth Smoking Survey. *Chronic Diseases in Canada* 2010; 30: 71–77.

18. **Wang MP, Ho SY, Lam TH.** Parental smoking, exposure to secondhand smoke at home, and smoking initiation among young children. *Nicotine and Tob Res* 2011; doi 10.1093/ntr/ntr083.
19. **Csémy L.** Iniciace a progrese pití alkoholu, kouření a užívání drog u pražských adolescentů. *Alkoholismus a drogové závislosti* 1999; 34: 147–154.
20. **Hrubá D, Kachlík P.** Jak se liší kouřící děti od nekuřáků. *Hygiena* 1997; 40: 229–233.
21. **Nová E, Hrubá D, Kachlík P.** Kuřáctví dospívajících a jeho souvislosti s jinými formami nežádoucího chování mládeže. *Hygiena* 1997; 40: 234–238.
22. **Sovinová H, Csémy L.** Smoking behavior of Czech adolescents: Results of the Global Youth Tobacco Survey in the Czech Republic, 2002 GYTS. *Cent Eur J Public Health* 2004; 12: 26–31.
23. **Myers MG, Doran NM, Broen SA.** Is cigarette smoking related to alcohol use during the 8 years following treatment for adolescent alcohol and other drug abuse? *Alcohol, Alcoholism* 2007; 42: 226–233.
24. **Weitzman ER, Chen YY, Subrananian SV.** Youth smoking risk and community patterns of alcohol availability and control: a national multilevel study. *J Epidemiol Comm Health* 2005; 59: 1065–1071.
25. **Zhang B, Cartmill C, Ferrence R.** The role of spending money and drinking alcohol in adolescent smoking. *Addiction* 2007; 103: 310–319.
26. **Leatherdale ST, Hammond D, Ahmed R.** Alcohol, marijuana, and tobacco use patterns among youth in Canada. *Cancer Causes Control* 2008; 19: 361–369.
27. **Steinberg L, Monahan KC.** Age differences in resistance to peer influence. *Developmental Psychology* 2007; 43: 1531–1543.
28. **Simons-Morton B.** Social influences on adolescent substance use. *Am J Health Behav* 2007; 31: 672–684.
29. **Hoffman BR, Monge PR, Chou CP, Valente TW.** Perceived peer influence and peer selection on adolescent smoking. *Addict Behav* 2007; 32: 1546–1554.
30. **Sakuma Kobayakawa K-L, Sun P, Unger JB, Anderson Johnson C.** Evaluating depressive symptom interactions on adolescent smoking prevention program mediators: A mediated moderation analysis. *Nicotine Tob Res* 2010; Sep. 22; doi: 10.1093/n
31. **Storr CL.** Characteristics associated with rapid transition to tobacco dependence in youth. *Nicotine Tob Res* 2008; 10: 1099–1104.
32. **Bergman MM, Scott J.** Young adolescents' wellbeing and health risk behaviours: Gender and socio-economic differences. *Journal of Adolescence* 2001; 24: 183–197.
33. **DeLeire T, Kalil A.** Good things come in threes: Single-parent multigenerational family structure and adolescent adjustment. *Demography* 2002; 39: 393–413.
34. **DeLeire T, Kalil A.** How do cohabiting couples with children spend their money? *J Marriage and Family* 2005; 67: 286–295.
35. **Griesbach D, Amos A, Currie C.** Adolescent smoking and family structure in Europe. *Social Science and Medicine* 2003; 56: 41–52.
36. **U. S. Department of Health and Human Services.** Tobacco use among U.S. racial/ethnic minority groups – African Americans, American Indians and Alaska Natives, Asian Americans and Pacific Islanders and Hispanics: A Report of the Surgeon General, Centers for Diseases Control and Prevention, National Center for Chronic Diseases Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health 1998.
37. **Ashley OS, Penne MA, Loomis KM.** Moderation of the association between parent and adolescent smoking by selected sociodemographic variables. *Addict. Behav.* 2008; doi: 10.1016/j.addbeh.2008.04.012
38. **Hrubá D, Žaloudíková I, Matějová H.** Similarities and differences between smoking and non-smoking ten year-old children in primary schools. *Cent Eur J Public Health* 2010; 18: 19–24.
39. **Hrubá D, Žaloudíková I, Samara I.** Are parental education and family status associated with children smoking experiments? *Cent Eur J Public Health* 2011; 19: (1): XXX.
40. **Levy DE, Biener L, Rigotti NA.** The natural history of light smokers: a population-based cohort study. *Nicotine Tob Res* 2009; 11: 156–163.
41. **Khuder SA, Price JH, Jordan T, Khuder SS, Silvestri K.** Cigarette smoking among adolescents in Northwest Ohio: correlates of prevalence and age at onset. *Int J Environ Res Public Health* 2008; 5: 278–289.
42. **Lopez AD.** Disease Control Priorities Project: Global burden of disease and risk factors. Washington, DC: Oxford University Press 2006.
43. **Levin ED, Rezvani AH, Montoya D, Rose JE, Swartzwelder HS.** Adolescent-onset nicotine self-administration modeled in female rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2003; 169: 141–149.
44. **Chaiton MO, Cohen JE, O'Loughlin J, Rehm J.** A systematic review of longitudinal studies on the association between depression and smoking in adolescents. *BMC Public Health* 2009; 9: 356; doi 10.1186/1471-2458-9-356.
45. **Kukla L, Hrubá D, Tyrlik M.** Poruchy chování u sedmiletých dětí – výsledky studie ELSPAC. I. Komorbidita. *Čas Lék čes* 2008; 147: 269–277.
46. **Boutwell BB, Beaver KM.** Maternal cigarette smoking during pregnancy and offspring externalizing behavioral problems: A propensity score matching analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2010; 7: 146–163.
47. **Raine A.** Biosocial studies of antisocial and violent behavior in children and adults: a review. *J Abnorm Child Psychol* 2002; 30: 311–326.
48. **Wakschlag LS, Pickett KE, Cook E Jr., Benowitz NL, Leventhal BL.** Maternal smoking during pregnancy and severe antisocial behavior in offspring: A review. *Am J Public Health* 2002; 92: 966–974.
49. **Wakschlag LS, Pickett KE, Kasza KE, Loeber R.** Is prenatal smoking associated with a developmental pattern of conduct problems in young boys? *J Am Acad Child Adolesc Psychiat* 2006; 45: 461–467.
50. **Usnesení vlády České republiky 1046 (30.10.2002):** Dlouhodobý program zlepšování zdravotního stavu obyvatelstva ČR. Zdraví pro všechny ve 21. století.

Práce byla vytvořena s podporou grantu IGA MZ ČR č. NS 9669-4/2008.

Kurz koordinátorů HPH (Health Promoting Hospitals, Nemocnic podporujících zdraví) a podzimní škola WHO v Praze

¹Lenka Štěpánková, ²Milena Kalvachová, ³Ivana Kořínková

¹Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, III. interní klinika VFN, Centrum pro závislé na tabáku

²Ministerstvo zdravotnictví ČR, Praha

³Consult Hospital, s.r.o.

SOUHRN

HPH (Health Promoting Hospitals) je mezinárodní síť „Nemocnic podporujících zdraví“. Sdružuje již více než 800 subjektů – jednotlivých zdravotnických zařízení a národních sítí z celého světa. Při vzniku této organizace stála myšlenka, že nemocnice je místo vhodné nejen k léčbě nemocí, ale i k aktivitám zdraví podporujícím a upevňujícím. Cílem sítě je zvyšovat kvalitu a bezpečnost zdravotní péče pomocí intervencí zaměřených na několik základních oblastí, např. na pohybovou aktivitu, léčbu závislosti na tabáku, alkoholu a dalších drogách, na zlepšení komunikace mezi pacienty a personálem, přístup k psychologické podpoře, zajištění návaznosti na další zdravotní péči aj. Tyto aktivity jsou zaměřeny jak na pacienty, tak i zaměstnance nemocnic, jsou založeny na vědecky ověřených metodách (evidence-based medicine), a pro účely plánování i následné kontroly přehledně zpracovány do HPH standardů. Článek informuje o kurzu koordinátorů HPH sítě v České republice a podzimní škole WHO/HPH 2011 v Praze.

Klíčová slova: nemocnice podporující zdraví, léčba závislosti na tabáku, hodnocení kvality.

SUMMARY

Štěpánková L., Kalvachová M., Kořínková I. Seminar for HPH coordinators (Health Promoting Hospitals) and WHO HPH Autumn School 2011 held in Prague

Health Promoting Hospitals (HPH) is an international network of more than 800 health care subjects. The HPH initiative is based on an idea of a hospital being an appropriate place not only to treat illnesses, but also to actively promote health. It aims to improve the quality and safety of health care via specialized interventions targeting a few key areas, such as tobacco and other dependences, physical activity, psychological support, or patient-professional communication. Activities are oriented toward both patients and hospital staff and use only methods of evidence-based medicine. To facilitate programme implementation and evaluation, the hospital quality goals are summarized in five HPH standards. The present paper informs about the seminar for HPH coordinators in Czech Republic as well as about the WHO HPH Autumn School 2011 held in Prague.

Key words: health promoting hospitals, tobacco dependence treatment, quality evaluation.

Št.

Čas Léč čes 2012; 151: 149–151

CÍLE

Program WHO Health Promoting Hospitals (HPH) – Nemocnice podporující zdraví (NPZ) má tyto základní záměry a cíle:

1. Podporovat země při změně kultury nemocniční péče orientací na interdisciplinární práci, transparentní rozhodování a aktivní zapojení pacientů a partnerů.
2. Podporovat země v zavedení a hodnocení aktivit podporujících zdraví ve zdravotní péči a ve vybudování základny pro evidenci v této oblasti.
3. Podporovat země v začlenění indikátorů a standardů podpory zdraví do existujícího systému řízení kvality péče v nemocnicích na národní úrovni.

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

MUDr. Lenka Štěpánková
Centrum pro závislé na tabáku, III. interní klinika
1. LF UK a VFN
Karlovo náměstí 32, 128 00 Praha 2
fax: +420 224 966 612, e-mail: lenka.stepankova@seznam.cz

PILOTNÍ KURZ PRO KOORDINÁTORY PROJEKTU

V České republice probíhal od počátku roku 2011 do června pilotní kurz pro koordinátory projektu z členských nemocnic a z dalších zařízení, které členství teprve zvažují. Jednalo se o čtyři ucelené jednodenní moduly. Zúčastnilo se jich 34 posluchačů ze 17 zdravotnických zařízení České republiky. Témata se týkala různých aspektů podpory zdraví a její začleňování do standardů nemocnic a klinické praxe.

Modul 1. Principy, cíle a typy programů podpory zdraví, aktuální situace v České republice. Perspektivy sítě, možnosti mezinárodní spolupráce.

Modul 2. Návaznost programů podpory zdraví na doporučení EU o bezpečnosti pacientů, spolupráce ENSH a HPH: Tobacco Free Unit. Standardy podpory zdraví a jejich praktická implementace do systému kvality péče, praktická práce s manuálem pro sebehodnocení standardů podpory zdraví, tvorba akčního plánů

Modul 3. Dokumentace podpory zdraví v klinické praxi, praktické naplánování standardů a sebehodnocení, pozice koordinátora v programu podpory zdraví a koordinační tým. Bariéry, rizika, motivace.

Modul 4. Problematika kouření jako rizikového faktoru v oblasti zdravotní péče. Možnosti léčby závislosti na tabáku, síť specializovaných center. Návštěva referenčního centra pro závislé na tabáku. Program a cíle ENSH, implementace opatření kontroly tabáku v nemocnicích, začlenění do standardů.

Toto poslední téma je aktuální i vzhledem k plánovanému zákazu kouření nejen ve vnitřním (platí již od roku 2005), ale i vnějším prostoru nemocnic. Navrhovaná novelizace zákona 379/2005 by znamenala výraznou změnu nejen pro pacienty, ale i personál nemocnic. Podle posledních průzkumů totiž v České republice kouří cca 40 % zdravotních sester a 15 až 20 % lékařů. U nezdravotnického personálu nemocnic je toto procento ještě vyšší. Nemocnice, které se zaměří na léčbu závislosti na tabáku v řadách personálu dříve, budou mít v případě schválení zákona nezanedbatelnou organizační výhodu.

STANDARDY PRO PODPORU ZDRAVÍ

Výstupem z celého kurzu byly mj. zpracované akční plány jednotlivých nemocnic, které zahrnují konkrétní kroky a opatření ke zlepšení sledovaných parametrů. Každá nemocnice si sama zjistila současný stav (oblast výživy, pohybové aktivity, odvykání kouření, komunikace s pacienty aj.) a vybrala si priority, kterým se chce v dalších letech věnovat. Bodově se poté ohodnotila dle navržených standardů.

Tyto byly v roce 2002 vytvořeny mezinárodní pracovní skupinou při WHO a pilotně odzkoušeny ve spolupracujících nemocnicích.

Pět sledovaných standardů podpory zdraví v nemocnicích:

1. politika managementu,
2. posuzování potřeb pacienta,
3. informování pacientů a opatření na podporu zdraví,
4. podpora zdravého pracovního prostředí,
5. kontinuita a spolupráce.

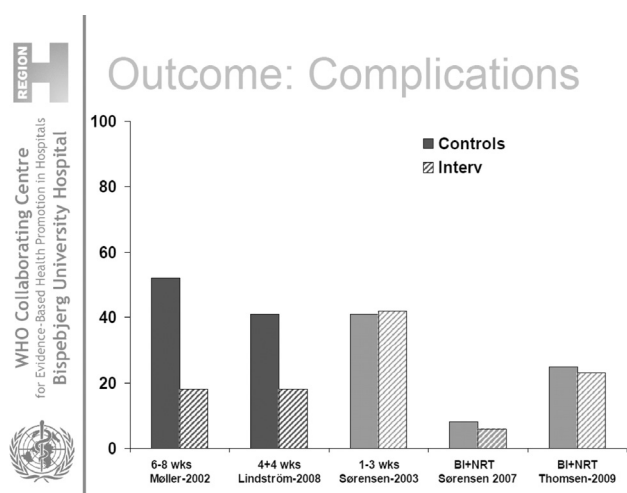
Standardy pro podporu zdraví byly vybrány tak, aby navazovaly a vhodně doplňovaly existující **standardy kvality**, které se bezprostředně na podporu zdraví nezaměřují.

PODZIMNÍ ŠKOLA WHO

Nejlépe zpracované akční plány jednotlivých nemocnic byly představeny na konferenci „**Nemocnice podporující zdraví – Podzimní škola WHO-HPH v České republice**“ v Praze ve dnech 12. až 13. září 2011 v prostorách ministerstva zdravotnictví.

Jednalo se o první významnou příležitost, kdy se česká zdravotnická veřejnost mohla seznámit s jedním z klíčových programů Světové zdravotnické organizace (WHO). Za účasti vysoce kvalifikovaných a mezinárodně uznávaných expertů z oblasti výzkumu a implementace podpory zdraví byla účastníkům konference poskytnuta příležitost k vzájemné inspiraci a k zapojení jak do národní, tak mezinárodní spolupráce. „Podzimní škola WHO“ byla výsledkem spolupráce Ministerstva zdravotnictví (MZ) ČR, kanceláře WHO v České republice, WHO Collaborating Centre for Evidence-Based Health Promotion in Hospitals and Health Services v Kodani a společnosti Consult Hospital, s.r.o. zaměřené na zvýšení informovanosti a implementaci jednoho z programů WHO do systému zvyšování kvality péče v českých nemocnicích.

Kromě představení akčních plánů a diskuze o nich s představiteli WHO Collaborating Centre for Evidence-Based Health Promotion, Hannou Tonnesen a Jeffem Svaniem, byl součástí akce i další odborný program o souvisejících tématech. Velmi přínosná byla také panelová diskuze představitelů MZ, pojišťoven a dalších zasněných subjektů o efektivitě a ceně programů podpory zdraví.



Obr. 1. Srovnání pooperačních komplikací u intervenční skupiny léčené pro závislost na tabáku a kontrolní skupiny kuřáků (převzaty z přednášky prof. Hanne Tonnesen na podzimní škole WHO/HPH v Praze)



Obr. 2. Rozložení Center pro závislé na tabáku a nemocnic v České republice
* Centra pro závislé na tabáku, H – HPH (Health Promoting Hospitals)

Všechny posluchače včetně přítomného ministra zdravotnictví doc. MUDr. Leoše Hegeře, velmi zaujal příspěvek přednesený prof. Hanne Tonnesen o počtu komplikací chirurgických zákroků u kuřáků. Představovaná data prezentovala skutečnost potvrzenou více než třemi sty observačními studii, že kouření je asociováno s výrazně vyšší pooperační morbiditou. Z intervenčních studií prof. Tonnesen uvedla například práci Mollera et al. (Lancet 2002), ve které komplikace po náhradě kolenního či kyčelního kloubu v kontrolní skupině kuřáků byly 52% a v intervenční skupině (intenzivní intervence pro odvykání kouření) pouze 18%. Pouhá redukce počtu vykouřených cigaret však nevykázala žádné snížení pooperačních komplikací! Podobně studie Lindstroma et al. (Ann Surg 2008) hodnotící skupinu 102 pacientů po chirurgickém výkonu, kteří absolvovali intenzivní intervenci pro závislost na tabáku s počátkem 4 týdny před operací, konstatovala 41 % komplikací v kontrolní versus 21 % intervenční skupině (obr. 1).

Z uvedených a dalších údajů vyplývá jednoznačné doporučení pro pacienty včas přestat kouřit a pro lékaře provádět intenzivní intervenci k odvykání kouření v preoperačním období tak, aby pacienti nekouřili alespoň 4 týdny před výkonem. V dřívě většině evropských a dalších vyspělých států je možné pacienta odeslat při potřebě intenzivní intervence do ambulancí či center specializovaných na léčbu závislosti na tabáku. Tuto možnost mají pacienti i lékaři již od roku 2005 i v České republice.

Z mnoha dalších příspěvků, které zazněly na podzimní škole WHO/HPH v Praze, bychom proto zmínili sdělení o Centrech pro závislé na tabáku a jejich spolupráci se sítí HPH.

Centra pro závislé na tabáku poskytují specializovanou léčbu závislosti na tabáku (psychobehaviorální podpora + farmakoterapie), fungují v současnosti již ve všech krajích České republiky – v současnosti je jich 39 (obr. 2). Návštěvy v nich jsou hrazeny zdravotního pojištěním. Seznam center a aktuální kontakty je možné nalézt např. na stránkách Společnosti pro léčbu závislosti na tabáku: www.slzt.cz.

Vytvoření centra je jistě dobrým startovním počinem vedení nemocnice pro zapojení do sítě nekuřáckých nemocnic (ENSH): je benefitem jak pro zaměstnance (přestávají kouřit), tak pro pacienty (lékaři i sestry častěji intervenují, léčba závislosti na tabáku je aktivně nabízena). Aktivita nemocnic podporujících zdraví (HPH) jsou zaměřeny širěji – nejen na kouření, ale i na kontrolu hmotnosti, pohybovou aktivitu, nadužívání alkoholu aj.; nicméně i v rámci tohoto programu je léčba závislosti na tabáku a lepší kontrola užívání tabákových výrobků obecně důležitou součástí programu.

Naopak v rámci celostátní sítě Center pro závislé na tabáku je důležité zaměstnance i management motivovat ke snaze o zapojení jejich domovských nemocnic do sítě ENSH a HPH, a zvýšit tím zapojení českého zdravotního systému do programů podpory zdraví a do ochrany před důsledky aktivního i pasivního kouření.

ZÁVĚR

Na základě aktivit MZ a WHO a jistě i výše popsaného kurzu koordinátorů a školy WHO/HPH v Praze se zapojilo do HPH sítě dalších šest nemocnic z České republiky. Část členských nemocnic HPH sítě se zúčastní již v roce 2012 plánované multicentrické randomizované studie Recognition, která má pro-

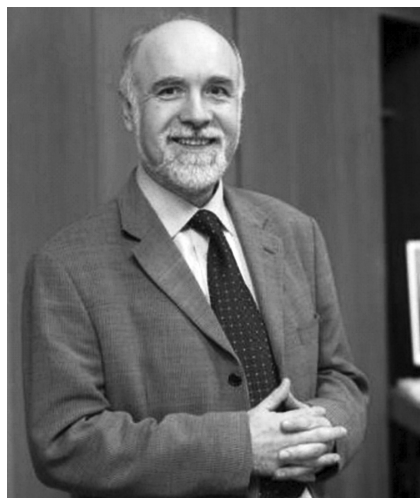
střednictvím postupného zavedení standardů podpory zdraví do nemocnic a následného nezávislého mezinárodního auditu potvrdit vliv HP aktivit na kvalitu poskytované zdravotní péče.

POUŽITÁ LITERATURA A DALŠÍ INFORMACE

1. www.SLZT.cz, stránky Společnosti pro léčbu závislosti na tabáku, současná platná doporučení léčby, odborné novinky, kontakty na specializovaná centra v ČR
2. <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/Health-systems/public-health-services/activities/health-promoting-hospitals-network-hph>
3. <http://www.hph-hc.cc/>, stránky WHO Collaborating Centre for Health Promotion in Hospitals and Health Care Ludwig Boltzmann Institute Health Promotion Research
4. www.mzcr.cz, Ministerstvo zdravotnictví České republiky
5. www.ftcc.org, Rámcová úmluva o kontrole tabáku
6. Health Promotion in Hospitals: Evidence and Quality Management. Issued by the WHO Regional Office for Europe in 2005
7. **Tønnesen H, Thomsen T.** Review: Long-term effect of perioperative smoking cessation programmes. Clin HP 2011; 1(1): 22.
8. **Tønnesen H, Müller AM, Lauritzen JB, Adami J, Svensson O.** Clinical Guidelines: Smokers undergoing scheduled surgery: The Gold Standard Programme, www.clinhph.net
9. **Møller AM, Villebro N, Pedersen T, Tønnesen H.** Effect of preoperative smoking intervention on postoperative complications: a randomised clinical trial. Lancet 2002; 359: 114–117.
10. **Lindström D, Sadr Azodi O, Wladis A, Tønnesen H, Linder S, NČsell H, Ponzer S, Adami J.** Effects of a perioperative smoking cessation intervention on postoperative complications: a randomized trial. Ann Surg 2008; 248(5): 739–745.

Článek byl částečně podpořen z grantu Amvis-Kontakt, ME 09014.

Osobní zprávy



Ve středu 22. února 2012 ve věku 56 let zemřel po krátké těžké nemoci vážený pan profesor MUDr. Petr Zatloukal, CSc.

Narodil se 6. června 1955. Po absolvování gymnázia v Přerově studoval v letech 1974–1980 na Fakultě všeobecného lékařství Univerzity Karlovy v Praze. Atestoval z interního lékařství, poté získal nástavbovou atestaci tuberkulózy a respiračních nemocí a klinické onkologie. Od roku 1980 do

Zemřel prof. MUDr. Petr Zatloukal, CSc.

ledna 1997 pracoval na I. klinice tuberkulózy a respiračních nemocí VFN v Praze, od roku 1990 jako zástupce přednosty pro LPP. V lednu 1997 se stal přednostou Kliniky pneumologie a hrudní chirurgie 3. lékařské fakulty UK a FN Na Bulovce, kde pracoval dosud.

V listopadu 1997 se stal vedoucím katedry TRN Institutu postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, předsedal atestačním komisím a byl skvělý spravedlivý examínátor. Podílel se na výuce studentů 1. lékařské fakulty a od roku 1997 i 3. lékařské fakulty. Pravidelně přednášel v postgraduálním vzdělávání lékařů, vedl kurzy a školící stáže v pneumologii a pneumoonkologii. V roce 1999 habilitoval v oboru interního lékařství a v roce 2004 byl jmenován profesorem interního lékařství.

Velmi významná byla jeho role ve vědecko-výzkumné činnosti. Byl řešitelem 22 výzkumných projektů a výzkumných záměrů ministerstva zdravotnictví, publikoval více jak 50 prací v časopisech s IF, přednášel na domácích a mezinárodních konferencích, kde byl i předsedajícím v řadě sekcí. Byl členem reakční rady časopisu Lung Cancer, editorem Journal of Clinical Oncology a byl i před-

sedou redakční rady časopisu Studia pneumologica. Pan profesor byl známý i v řadě zahraničních společností a výborů. Byl členem výboru Central European Lung Cancer Board, International Academy of Cytology, European Organization for Research and Treatment of Cancer, kde byl členem Lung Cancer Cooperative Group, dále pak pracoval v International Association for the Study of Lung Cancer, byl členem American Society of Clinical Oncology a European Society for Medical Oncology. Velmi se zasloužil o rozvoj především české pneumologie a pneumoonkologie. Jeho životní pracovní doménou se stala diagnostika a především léčba bronchogenního karcinomu. Je autorem řady nových léčebných postupů, které jsou mezinárodně uznávány. Byl velmi aktivní a předsedal Společnosti klinické cytologie ČLS JEP, byl předsedou kooperativní skupiny pro léčbu plicní rakoviny, pracoval v Pneumologické společnosti ČLS JEP. Byl uznávaným odborníkem nejenom v České republice, ale i v zahraničí.

Pan profesor nám bude všem chybět! Čest jeho památce!

prim. MUDr. Norbert Pauk, Ph.D.

XV. celostátní konference DNA diagnostiky

Již XV. celostátní konference DNA diagnostiky se 24. až 25. listopadu 2011 tentokrát po několika letech vrátila opět do Prahy. Díky laskavosti vedení Ústavu molekulární genetiky Akademie věd České republiky jsme pro konferenci mohli využít auditorium Milana Haška včetně přilehlých prostor. Přednáškový sál pojme téměř 300 účastníků a počtem registrovaných účastníků (274) jsme se k tomuto počtu přiblížili. Sál je vybaven moderním technickým zázemím a je obhospodářován společností Czech-In, která zajišťuje všechny s pořádáním konferencí spojené služby. Tato společnost náročným úkolům spojeným s pořádáním konference spojených obstarala na výbornou, jistě také díky tomu, že má již v těchto záležitostech dostatek zkušeností.

Dostatečné prostory umožnily rovněž prezentaci posterových sdělení (21) a také aktivní účast sponzorů (19), kteří zde mohli mít i vlastní stánky.

Počet přihlášených (registrace díky sponzorským příspěvkům nebyla zpoplatněna) dosáhl 274. V obou dnech zasedání se zúčastnili v počtu dosahujícím dvou set s tím, že někteří si pochopitelně vybrali jen jeden ze dnů programu podle svého zájmu.

Seminář převážně edukativního rázu se původně měl konat ve velké zasedací místnosti děkanátu 1. lékařské fakulty, ale později musel být vzhledem k velkému zájmu přesunut do auditoria Lékařského domu, které účastníci zcela zaplnili. Zabýval se moderními technologiemi sekvenování, které začínají pronikat i do České republiky, bohužel ve zcela nekoordinované a z tohoto hlediska značně neekonomické podobě. Přednášky přinesly kromě základních informací i kritický pohled na možnosti těchto technologií, který je z tohoto hlediska zvláště cenným zdrojem informací pro ty, kteří o nákupu takových strojů uvažují.

Abstrakta přednášek z vlastní konference i předkonferenčního semináře jsou k dispozici zájemcům na www.dnakonference.cz a později se přesunou na web Společnosti lékařské genetiky (www.slg.cz). Brzy na web doplníme i samotné přednášky z předkonferenčního semináře a snad se nám povede doplnit i přednášky z konference.

MUDr. Marek Turnovec

Ústav lékařské biologie a genetiky 2. LF UK, Praha
prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

Ústav hematologie a krevní transfuze 1. LF UK, Praha

Přednášky

RNA diseases

David Staněk

Oddělení biologie RNA,

Ústav molekulární genetiky AV ČR, v. v. i., Praha

Expresce naprosté většiny lidských genů zahrnuje krok nazývaný RNA sestřih, při kterém se vyštěpí nekódující úseky a spojí sekvence obsahující informaci pro syntézu bílkovin. Rozpoznání hranice mezi kódujícími a nekódujícími úseky je založeno na celé řadě vazeb mezi mRNA a sestřihovými proteiny či snRNA. Mutace, které ovlivňují tyto vazby, mohou mít negativní vliv na RNA sestřih i na vkládání jednotlivých kódujících sekvencí. Mutace v základních sestřihových proteinech způsobují dědičné onemocnění oka retinitis pigmentosa. Naše výsledky ukazují, že mutace v proteinu hPrp31 inhibuje správné formování aktivních sestřihových komplexů. Naopak mutace v hBrr2 nemá vliv na skládání sestřihových komplexů, ale ovlivňuje kinetiku sestřihové reakce a alternativní sestřih. Dále je diskutován vliv mutací SMN na formování sestřihových komplexů a mutace v regulačních mRNA sekvencích, které negativně ovlivňují RNA sestřih.

Non-kontinuální duplikace v DMD genu v rodině pacienta s Duchennovou svalovou dystofií

Iveta Valášková^{1, 2}, Václava Curtisová³,
Jitka Kadlecová^{1, 2}, Renata Gaillyová^{1, 2}

¹Oddělení lékařské genetiky FN, Brno

²Lékařská fakulta MU, Brno

³Ústav lékařské genetiky a fetální medicíny FN, Olomouc

Duchennova svalová dystrofie (DMD) onemocnění vázané na chromozom X, které postihuje přibližně jednoho z 3600 až

6000 živě narozených chlapců, patří rychlostí progresu a prognózou k nejzávažnějším svalovým chorobám. Typické pro ni jsou pseudohypertrofie lýtek, kolébavá chůze v hyperlordose a pro kontraktury Achillových šlach s chůzí po špičkách. Asi u 30 % dětí je popsána mentální retardace. Schopnost samostatného pohybu mizí mezi 8. až 13. rokem. Na vozíku se obvykle rychle rozvíjí skolióza, později i kardiomyopatie. Mezi 20. až 30. rokem se objevují ventilační obtíže, často pak s letálním koncem. Svalová biopsie ukazuje degenerativní změny, proliferaci tukové tkáně, ložiska nekrózy i regenerace. Jednoznačným diagnostickým příkazem je zjištění absence dystrofinu a určení typu mutace dystrofinového genu (DMD; locus Xp21.2).

Duchennova svalová dystrofie je ve většině případů způsobena frame-shift nebo in-frame delecemi a duplikacemi v DMD genu. Intragenové delece jsou nejběžnější přestavbou u postižených chlapců (65 % pacientů), ale duplikace zahrnující až několik exonů se také vyskytují v signifikantním počtu případů (5–15 %).

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) je metoda aktuálně používaná k průkazu delecí a duplikací všech 79 exonů DMD genu. Pomocí této metody jsme detekovali u suspektní DMD přenašečky raritní komplex genové přestavby, a to dvě non-kontinuální duplikace zahrnující exony 55 a 58. Tento nálezn byl verifikován pomocí metody kvantitativní High-Resolution Melting Curve Analysis (qHRM), sekvenováním a vazebnou analýzou. Byla provedena analýza DMD genu u matky, zdravého bratra a plodu mužského pohlaví probandky. Výsledky těchto metodických postupů a zjištěné DMD genotypy členů rodiny probandky nám umožnily navrhnout teoretický model formování této genetické varianty.

Paralelný prístup v molekulárnej diagnostike pletencových muskulárnych dystrofií

Zoja Vlčková¹, Peter Iglauer³, Arpád Nagy⁴,
Juraj Mešťánek⁴, Martina Hikkelová²,
Andrej Genčík², Martin Genčík¹

¹Praxis für Humangenetik, Wien, Rakousko

²Medgene, Bratislava, Slovenská republika

³Diagenos, Osnabrück, Rakousko

⁴ADINIS, Trnava, Slovenská republika

Progresívne muskulárne dystrofie zahŕňajú X-viazané dystrofínopatie, autozomálne recesívne a menej časté autozomálne dominantné pletencové muskulárne dystrofie, tzv. LGMD. Oboje sa u postihnutých jedincov prejavujú úbytkom svalovej hmoty v oblasti ramenného a panvového pletenca a postupným šírením svalovej slabosti aj na distálne svaly. V počiatočnom štádiu ich prakticky nie je možné od seba klinicky odlíšiť. Hlavnými diagnostickými nástrojmi sú ďalej analýza rodokmeňa, biopsia svalu a molekulárno-genetická analýza dystrofínového génu a skupiny génov zodpovedných za rôzne formy LGMD.

Tab. 1. Génový panel LGMD

Typ LGMD	Génový produkt	Skratka génu	Lokalizácia génu
LGMD1A	myotilin	MYOT	5q31
LGMD1B	lamin A/C	LMNA	1q22
LGMD1C	caveolin 3	CAV3	3p25
LGMD2A	calpain 3	CAPN3	15q15.1
LGMD2B	dysferlin	DYSF	2p13.3
LGMD2C	sarcoglycan, gamma	SGCG	13q12
LGMD2D	sarcoglycan, alpha	SGCA	17q21
LGMD2E	sarcoglycan, beta	SGCB	4q12
LGMD2F	sarcoglycan, delta	SGCD	5q33-q34
LGMD2I	fukutin-related protein	FKRP	19q13.32
LGMD2K	protein-o-mannosyl-transferase 1	POMT1	9q34.1

Tento príspevok stručne referuje o stave molekulárnej diagnostiky pletencových muskulárnych dystrofií na našom pracovisku. Doterajší prístup štandardne pozostával z priameho sekvenovania kódujúcich a splice-relevantných oblastí príslušného génu Sangerovou metódou v kombinácii s MLPA vyšetrením dotýčajúcich oblastí na prípadné veľké delécie/duplikácie. Týmto spôsobom bolo vyšetrených 33 vzoriek pacientov s podozrením na LGMD, ktoré k nám boli v uplynulom období zaslané a u ktorých boli vylúčené dystrofínopatie, s nasledujúcimi výsledkami: 21 negatívnych nálezov, 12 pozitívnych nálezov; z toho u 7 pacientov (rodinných príslušníkov) bolo potvrdené prenášačstvo jednej z recesívnych foriem LGMD, u 5 pacientov bola diagnóza AR LGMD potvrdená nálezom dvoch kauzálnych mutácií. Nájdené boli tri v literatúre popísané mutácie v géne CAPN3: p.Thr184ArgfsX36, p.Phe200_Leu204del, p.Thr417Met; jedna v literatúre popísaná mutácia v géne SGCG: p.Phe175LeufsX20; jedna dosiaľ nepopísaná mutácia v géne SGCG: p.Thr251AspfsX68.

Súčasťou doterajšej diagnostickej stratégie v prípade negatívneho nálezu a pretrvávajúceho podozrenia na niektorú z foriem LGMD bolo sukcesívne vyšetrenie ďalších zodpovedných génov. Vďaka zavedeniu metód sekvenovania druhej generácie pomocou prístroja Roche GS Junior v našom laboratóriu a ich úspešnej aplikácii v molekulárnej diagnostike napr. neurokutánných ochorení (NF, TSC), generalizovanej epilepsie (GEFS+) a i., aj v prípade LGMD

nahrádzame tento sukcesívny prístup paralelným vyšetrením vo forme génového panelu LGMD (tab. 1). V prípade pacienta, ktorý nemá vylúčenú dystrofínopatiu, je možné do panelu zahrnúť aj DMD. Z praktického hľadiska očakávame celkové zefektívnenie diagnostiky LGMD, a to predovšetkým zvýšenie zachytanosti. Pomerne nízke počet potvrdených pozitívnych pacientov (štatistiku skresľujú vyšetrení rodinní príslušníci) môže byť spôsobený nedovyšetrením ďalších génov z kategórie LGMD, a teda predčasným ukončením ďalšej finančne a časovo náročnej diagnostiky. Tento problém je možné eliminovať systematickým využívaním masívne paralelných metód sekvenovania druhej generácie, ktoré umožňujú výrazné zníženie celkových nákladov, ako aj dĺžku trvania vyšetrenia.

Identifikace nové mutace v genu OPA1 podmiňující autozomálně dominantní atrofii optiku, hluchotu, ptózu, oftalmoplegii, polyneuropatii a ataxii

Petra Lišková^{1,2}, Markéta Tesařová³, Hana Melšová⁴,
Pavel Diblík², Petr Těšina⁵, Olga Ulmanová⁶,
Marcela Votruba⁷

¹Laboratoř biologie a patologie oka ÚDMP, 1. LF UK a VFN, Praha

²Oční klinika 1. LF UK a VFN, Praha

³Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch KDDL,

1. LF UK a VFN, Praha

⁴Neurologická ambulance, Děčín

⁵Ústav molekulární genetiky AV ČR, v.v.i., Praha

⁶Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN,

Praha

⁷School of Optometry and Vision Sciences, Cardiff University,

Velká Británie

Úvod. Extraokulární neurologická symptomatologie u pacientů s autozomálně dominantní atrofií optiku podmíněnou mutacemi v *opa1* genu byla nedávno popsána až u 20 % postižených jedinců. Gen *OPA1* se nachází na chromozomu 3q29 a skládá se ze 30 exonů. Protein OPA1 je nezbytný pro fúzi vnitřní mitochondriální membrány.

Metodika. Osm členů jedné rodiny s multisystémovým postižením absolvovalo neurologické, oftalmologické a audiometrické vyšetření. Molekulárně genetická analýza byla provedena u šesti z nich. Sekvenovány byly všechny exony a přilehlé intronové oblasti genu *OPA1*.

Výsledky. U šesti vyšetřených členů rodiny byla zaznamenána značná fenotypová heterogenita s variabilní kombinací a stupněm zrakového, sluchového a neurologického postižení. Prvním příznakem byla u většiny jedinců porucha vizu s počátkem v první až třetí dekádě a variabilní stupeň ptózy a/nebo oftalmoplegie. Percepční hluchota, polyneuropatie a ataxie se rozvinuly později, typicky ve třetí a čtvrté dekádě. V genu *OPA1* byla zjištěna nová mutace c.1345A>C v exonu 14 vedoucí na proteinové úrovni k změně threoninu v pozici 449 za prolin (p.Thr449Pro). Tato změna segregovala v dané rodině s projevy onemocnění. *In silico* analýza podpořila patogenní úlohu této nově zjištěné varianty.

Závěr. Identifikace nové patogenní varianty v genu *OPA1* u námi studované rodiny potvrzuje úlohu tohoto genu v mitochondriálním metabolismu. Naše práce rozšiřuje spektrum mutací *OPA1*, pro které lze provést korelaci genotypu s fenotypem. Molekulárně genetická příčina autozomálně dominantní atrofie optiku byla u českých pacientů popsána poprvé.

Práce byla podpořena výzkumnými záměry MSM0021620806 a MSM0021620849.

Analýza génu GJB2 u pacientov s bilaterálnou sensorineurálnou poruchou sluchu na Slovensku – úvod do štúdie

Ivica Mašindová¹, Lukáš Varga^{1, 2}, Miloslava

Hučková¹, Gabriela Pavlovčinová³,

Martina Balogová¹, Jana Jakubíková³, Iwar Klimeš¹,
Milan Profant², Daniela Gašperiková¹

¹Laboratórium diabetu a porúch metabolizmu, Ústav experimentálnej endokrinológie SAV, Bratislava, Slovenská republika

²Otorinolaryngologická klinika LF UK, Bratislava, Slovenská republika

³Detská ORL klinika LF UK, Bratislava, Slovenská republika

Úvod. Prevalencia vrodenej sensorineurálnej straty sluchu sa celosvetovo pohybuje okolo 1 : 1000 živonarodených detí. Až u polovice prípadov vzniká v dôsledku genetických príčin v jednom z doposiaľ 50 známych génov. Zmeny v géne *GJB2* (kódujúcom konexín 26) sú najčastejšou príčinou tejto poruchy sluchu, s rôznou frekvenciou výskytu v rámci etnických skupín. V súčasnosti je popísaných približne 100 patogénnych mutácií génu *GJB2*, ktoré sa vyznačujú najmä autozómovo recesívnym (80 %), ale aj autozómovo dominantným (20 %) spôsobom dedičnosti. Poškodenie sluchu sa u nositeľov recesívnych mutácií prejaví, ak je daná mutácia v homozygotnej forme alebo vo forme zloženého heterozygota, kedy každá alela génu *GJB2* nesie inú mutáciu. Sensorineurálna porucha sluchu môže však vzniknúť aj dôsledkom mutácií prítomných v dvoch odlišných génoch (*GJB2*, *GJB6*).

Cieľ. Cieľom tejto práce bolo vykonanie DNA analýzy génu *gjb2* a *gjb6*, určenie mutačného spektra a percenta najčastejších mutácií v študovanom súbore.

Metódy. Náš súbor tvorilo 150 probandov s bilaterálnou nesyndrómovou sensorineurálnou poruchou sluchu z I. ORL kliniky LF UK, detskej ORL kliniky LF UK a internátnych škôl pre deti so sluchovým postihnutím v Bratislave, vo veku 2–56 rokov. Všetci jedinci boli podrobení analýze oboch exónov génu *GJB2* metódou priameho obojsmerného sekvenovania a 85 jedincov súboru bolo analyzovaných aj metódou MLPA. Metóda MLPA bola použitá na detekciu najčastejších „hot-spot“ mutácií a delécií v géne *GJB2* a *GJB6* ako aj delécií ďalších génov spôsobujúcich poruchu sluchu.

Výsledky. V géne *gjb2* u 150 probandov súboru bolo identifikovaných 10 mutácií (c.35delg, c.101t>c, c.167del, c.1-3201g>a, c.71g>a, c.109g>a, c.229t>a, c.313_326del, c.269t>c, c.224g>a), niekoľko polymorfizmov (c.79g>a, c.380g>a, c.457g>a, c.475g>a, c*84t>c) a jeden variant (c.*3C>A). Uvedené mutácie sa v homozygotnej forme vyskytovali u 26 % jedincov a vo forme zložených heterozygotov u 12 %. U týchto dvoch skupín bola potvrdená genetická príčina vzniku poruchy sluchu. Samotné heterozygotné mutácie boli prítomné u 8 % jedincov, ktorých prítomnosť však nie je dostačujúca na prejavenie sa poruchy sluchu. Podiel negatívnych probandov, bez nálezu aspoň jednej patogénnej mutácie dosahoval približne 52 %. Najfrekvencovanejšou mutáciou nášho súboru bola delécia c.35delG (61 jedincov – 40,7 %), druhou intrónová substitúcia c.1-3201G>A (8 jedincov – 5 %) a treťou v poradí mutácia indického pôvodu c.71G>A (6 jedincov – 3,8 %). U jedného probanda s mutáciou v géne *GJB2* (c.35delG) bola pomocou metódy MLPA identifikovaná aj delécia v géne *GJB6* (delID13S1830), u ktorého kombinácia týchto dvoch mutácií spôsobila poruchu sluchu.

Záver. Výsledky dna analýzy našej štúdie podali nielen obraz o zastúpení jednotlivých mutácií tohto génu v študovanom súbore, ale umožnili aj potvrdiť genetickú príčinu poruchy sluchu u 57 pacientov, ktorá je kľúčovou informáciou pre genetické poradenstvo, klinickú prognózu a do budúcnosti možnú personalizovanú terapiu.

Práca s podporou grantov APVV 0148-10, VEGA 1/0465/11 a UK/7/2011.

QIAGEN – kompletní řešení od vzorku po výsledky

Ludmila Lukeszová

BIO-CONSULT Laboratories s.r.o.

Představení nejzajímavějších produktů v rámci celého pracovního postupu od odběru vzorků až po výsledek. Firma QIAGEN v současnosti nabízí kompletní řešení od přístrojového vybavení, přes kompletní kity i jednotlivé reagenty až po intuitivní vyhodnocovací software, a to pro technologie jako PCR, RealTime PCR včetně HRM, pyrosequencing.

Molekulárně genetická diagnostika u vzácných dědičných neurodegenerativních onemocnění – Niemann-Pickovy choroby typu C a X-vázané adrenoleukodystrofie

Lenka Dvořáková¹, Hana Vlášková¹, Gabriela Štorkánová¹, Michaela Boučková-Hnízdová¹, Larisa Stolnaya¹, Helena Jahnová¹, Jiří Zeman², Milan Elleder¹, Martin Hřebíček¹

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

²Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN, Praha

Niemann-Pickova choroba typu C (NPC, OMIM #257220) je závažné autozomálně recesivní neuroviscerální onemocnění charakterizované hepatosplenomegalií a rozvojem neurologických příznaků. Nástup klinických příznaků může nastat od novorozeneckého věku až do pozdní dospělosti. Prevalence onemocnění v České republice je 0,9 na 100 000 živě narozených dětí.

Základním rysem onemocnění je lyzozomální stádání volného cholesterolu a glykolipidů v důsledku poruchy transportu lipidů. Příčinou onemocnění jsou mutace v jednom ze dvou genů – *NPC1* (25 exonů) nebo *NPC2* (5 exonů), které kódují funkčně kooperující proteiny neenzymové povahy lokalizované v pozdních endozomech/lyzozomech. Naprostá většina (95 %) pacientů náleží do skupiny NPC1, zbylých 5 % pak do skupiny NPC2.

Diagnózu jsme potvrdili u 33 pacientů. V jedné rodině byl v rámci genetického poradenství vyšetřen nepříbuzný partner přenašečky, který neměl rodinnou zátěž. U tohoto partnera byla identifikována z literatury známá rekurentní mutace p. Pro1007Ala (exon 20), která byla v souboru českých pacientů nalezena na dalších 9 alelách. Tento příklad ukazuje, že molekulárně genetické vyšetření nepříbuzných partnerů může mít význam i u velmi vzácných onemocnění.

X-vázaná adrenoleukodystrofie (X-ALD, OMIM #300100) je neurodegenerativní metabolické onemocnění s gonozomálně recesivním typem dědičnosti. Klinická manifestace onemocnění je velmi rozmanitá. Nejtěžší forma je způsobena zánětlivou demyelinizací bílé hmoty mozkových hemisfér a je téměř vždy doprovázena poruchou funkce kůry nadledvin. Onemocnění je vyvoláno poruchou peroxizomální β-oxidace nasyčených velmi dlouhých mastných kyselin (VLCFA; C > 22:0) a mutacemi v genu *ABCD1* (Xq28), který kóduje peroxizomální membránový protein ALDP.

Molekulárně genetické vyšetření potvrdilo diagnózu u probandů ze 20 českých a slovenských rodin. Příklad pacienta s X-ALD ukazuje na problémy s vyhodnocením výsledků celogenomového sekvenování a svědčí pro význam Sangerovy metody v rámci diagnostického algoritmu.

Práce je podporována granty VZ MŠM ČR 0021620806, MZOVFN2005 a IGA MZ ČR NT12239-5/2011.

Nález rozsáhlých delecí zahrnujících NF1 gen u pacientů s NF1 onemocněním

Jitka Kadlecová^{1,2}, Silvie Dudová^{1,2}, Martina Vaňásková¹, Iveta Valášková^{1,2}, Jana Šoukalová^{1,2}, Zdeněk Kalina^{1,2}, Renata Gaillyová^{1,2}

¹Oddělení lékařské genetiky FN, Brno

²Lékařská fakulta MU, Brno

U 5–10 % NF1 pacientů jsou příčinou vývoje onemocnění neurofibromatózou typu 1 mikrodelece, které zahrnují celý NF1 gen společně s variabilním počtem sousedních genů. Byly popsány tři subtypy těchto velkých delecí NF1 genu: typ 1, typ 2 a atypické NF1 delece. U většiny NF1 pacientů se nejčastěji vyskytuje **mikrodeleční typ 1** – 1,4Mb mikrodelece, charakterizována bodem zlomu v proximální oblasti NF1-REPa a v distální oblasti NF1-REPC, zahrnuje 14 genů včetně NF1 genu a **mikrodeleční typ 2** – 1,2Mb mikrodelece s bodem zlomu v oblasti genu SUZ12 a jeho pseudogenu SUZ12P, delece zahrnuje 13 genů. **Mikrodeleční typ 3** – atypické NF1 delece se vyskytují u pacientů s mnohem menší četností než předchozí dva typy mikrodelecí a jsou charakterizovány specifickými neopakujícími se body zlomu zahrnující NF1 gen.

Pacienti s NF1 mikrodelecí trpí výraznějšími projevy onemocnění než pacienti s detekovanou intragenovou mutací. Fenotyp asociovaný s NF1 mikrodelecí koreluje s projevy faciálního dysmorfismu, signifikantně zvýšeným výskytem mnohočetných neurofibromů, zvýšeným rizikem MPNSTs (malignant peripheral nerve sheath tumor) a jsou popisovány výrazné potíže s učením či snížená inteligence.

V souboru 60 nepříbuzných NF1 pacientů byly pomocí metody MLPA (P081/P082 a P122 NF1 area, MRC Holland) detekovány velké delece NF1 genu (typ1/typ2) u 5 pacientů. Detekce delece NF1 genu byla u všech pacientů ověřována pomocí QF PCR (Light Cycler 480, Roche s.r.o). V současné době probíhá DNA analýza STR oblastí pro zjištění původu deletované alely genu NF1. Nález velké delece NF1 genu koreluje u všech pacientů s výraznějším fenotypovým projevem NF1 onemocnění.

vyšetřovat i členy rodiny se zdánlivě jasnou genetickou prognózou.

Výsledky byly získány s podporou MZOFNM2005.

Novinky v reagentech New England BioLabs pro molekulární genetiku

Daniela Fulínová

BioTech

Jedním z nových produktů firmy New England BioLabs je kit s názvem Single Cell WGA Kit, který amplifikuje DNA už z jedné buňky. Další novinkou jsou reagenty na přípravu vzorků pro Next Generation Sequencing, a to jak vzorků DNA, tak i RNA pro sekvenátory Roche 454 Junior, Illumina, Solid a Ion Torrent.

Molekulárně genetická diagnostika Walker-Warburgova syndromu – kazuistika

Lucie Kalužová, Pavlína Plevová, Eva Šilhánová

Oddělení lékařské genetiky FN, Ostrava

Walker-Warburgův syndrom je vzácné autozomálně recesivní onemocnění, které je charakteristické kongenitální muskulární dystrofií, lysencefalií, hydrocefalem a malformacemi oka. Jedná se o nejzávažnější formu kongenitální muskulární dystrofie vedoucí k signifikantnímu zpoždění vývoje a předpokládanou délkou přežívání menší 3 let. Toto onemocnění bývá ve 40 % případů způsobeno mutacemi v šesti genech (*POMT1*, *POMT2*, *POMGNT1*, *FKTN*, *FKRP* a *LARGE*). Podstatou těchto mutací je porušení procesu glykosylace α -dystroglykanu. Dystroglykan je exprimován na povrchu svalových a neurálních buněk a interaguje s mnoha extracelulárními komponenty matrix. Porušení jeho přirozené funkce vede ke svalovým, mozkovým a očním defektům.

Prenatálně byl zjištěn u plodu romského etnika těžký hydrocefalus. Postnatálně byla patrná vrozená vývojová vada levého bulvu-buphthalmus a mikrophthalmus bulvu pravého. Dodatečně byla zjištěna vysoká hladina sérové kreatininy a neurologické vyšetření potvrdilo nálezy neuropatie. Neobvykle těžký hydrocefalus a atypický fenotyp novorozence nás přivedl k podezření na Walker-Warburgův syndrom. Byla provedena přímá sekvence celé kódující sekvence, tj. exonů 1–19, genu *POMT1*, jehož mutace jsou nejčastěji nacházeny u dětí s touto diagnózou. Byla nalezena sestřihová mutace c.280+1G>T v homozygotním stavu. Tato mutace již byla v literatuře popsána jako patogenní. U novorozence tedy byla potvrzena diagnóza Walker-Warburgova syndromu na molekulární úrovni.

Více někdy není lépe – kazuistika rodiny se SMA

Petra Hedvičáková, Markéta Vlčková

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

Spinální muskulární atrofie je druhou nejčastější letální autozomálně recesivní dětskou chorobou po cystické fibróze s incidencí 1 : 10 000 živě narozených dětí a frekvencí heterozygotů uváděnou pro kavkazskou populaci 1 : 35. Onemocnění je charakterizované progresivní svalovou slabostí, způsobenou degenerací a úbytkem buněk předních rohů míšních. Podle nástupu a průběhu onemocnění je nemoc klasifikována do tří nebo více klinických subtypů (SMA I Werdnig-Hoffmann, SMA II, SMA III Kugelberg-Welander, SMA IV adultní forma).

Molekulárně-genetická diagnostika je založena na stanovení přítomnosti exonu 7 *SMN1* genu, protože 95–98 % pacientů se SMA s mutací v *SMN1* genu má homozygotní deleci tohoto exonu. Asi 2–5 % pacientů jsou složeni heterozygoti (delece/mutace). Zhruba 2 % postižených jedinců mají mutaci, která vznikla *de novo*.

Stanovením počtu kopií *SMN1* genu je možné vyšetřit status přenašečství v případě, že se nejedná o bodovou mutaci.

Situaci zejména komplikuje skutečnost, že někteří přenašeči mohou mít obě zjištěné kopie genu na jednom chromozomu (v *cis* pozici). Test na přenašečství je proto nutné interpretovat v kontextu každého konkrétního případu.

Literární údaje se ve stanovení výpočtu rizika v případě přítomnosti dvou kopií *SMN1* genu značně rozcházejí.

Na případu rodiny z naší ambulance chceme upozornit, že je třeba s možností komplexní situace počítat a že má smysl

Molekulárně biologická analýza pacientů s feochromocytomem a paragangliomem

Zdeněk Musil¹, Aleš Vícha², Tomáš Želinka³, Lenka Foretová⁴, Anna Křepelová⁵, Jan Václavík⁶, Zdeněk Fryšák⁷, Alena Puchmajerová⁵, Martina Šimandlová⁵, Jiří Widimský³, Milada Kohoutová¹

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

²Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

³III. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

⁴Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů MOÚ, Brno

⁵Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha

⁶I. interní klinika FN a LF, Olomouc

⁷III. interní klinika FN a LF, Olomouc

Fechochromocytom je neuroendokrinní nádor vycházející z chromafinních buněk dřeně nadledvin, které mají schopnost

nejen produkovať, ale také metabolizovať katecholamíny. Paragangliomy sú pak tumory, ktoré pochádzajú z chromafinných buniek buď zo sympatického nervového systému brucha, pánve alebo hrudníku, jež produkujú katecholamíny, alebo z chromafinných buniek parasympatického nervového systému, ktoré sa nachádzajú najčastejšie v oblasti hlavy a krku a sú väčšinou sekrečne neme. Pro výskyt feochromocytomu donedávna platilo pravidlo 10 % – v 10 % ako extraadrenálny (tedy paragangliom, dnes však spíše 20–25 %), v 10 % maligný (i v tomto prípade býva výskyt vyšší), v 10 % u detí (u nich sa vyskytuje častejšie extraadrenálne).

Feochromocytom môže byť súčasťou týchto genetických syndromů: mnohočetné endokrinné neoplazie 2. typu (multiple endocrine neoplasia type 2, MEN 2) se zárodečnými mutaciami v protoonkogenu RET, syndromu von Hippel-Lindau (VHL) se zárodečnými mutaciami v tumorsupresorovom genu VHL) a méně často neurofibromatózy 1. typu (choroba von Recklinhausen, NF1) se zárodečnými mutaciami genu NF1, dále syndromu mnohočetné familiární paragangliomatózy, kdy se může jednat o mutace B-podjednotky mitochondriálního enzymu sukcinátdehydrogenázy (tyto mutace jsou velmi často spojeny s maligním průběhem onemocnění) a dále mutací D-podjednotky uvedeného enzymu, jež pacienta predisponuje spíše k mnohočetným paragangliomům.

Doposud se nám podařilo shromáždit 173 pacientů s feochromocytomem a paragangliomem (z toho 12 dětských pacientů). V tomto souboru jsme zachytili celkem 17 mutací v kandidátních genech.

Každému pacientovi s feochromocytomem nebo paragangliomem by mělo být nabídnuto genetické vyšetření. Molekulárně biologickou analýzu genů SDHB, SDHD, a RET zajišťuje Mgr. Z. Musil v ÚBLG 1. LF UK a VFN, analýzu genu VHL provádí MUDr. A. Křepelová v ÚBLG 2. LF a FNM, CGH analýzu provádí MUDr. A. Vícha v KDHO FN Motol.

Studie byla podpořena výzkumným záměrem MŠMT ČR MSM0021620808 a SVV 262 511.

Molekulární analýza genu COL1A1 u pacientů s osteogenesis imperfecta

Alžběta Vážná¹, Martina Tóthová¹,
Miroslava Krkavcová¹, Miloslav Kuklík²,
Ivo Mařík², Alica Baxová³, Elsa Zemánková⁴,
Marie Korabečná^{3, 5}

¹GENvia, s.r.o., laboratoř lékařské genetiky, Praha

²Ambulantní centrum pro vady pohybového aparátu, Praha

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

⁴Genetická ambulance, Benešov

⁵Ústav biologie LF UK, Plzeň

Dedičné ochorenie osteogenesis imperfecta (OI) patrí do heterogénnej skupiny tzv. kolagénopatií, ktorých spoločným rysom je porucha niektorého z 27 známych typov kolagénu, ktoré sú hlavnou zložkou spojivového tkaniva. V súčasnosti sa popisuje osem klinicky rozdielnych typov OI, s vysokou fenotypovou variabilitou od ľahkej až po veľmi ťažkú formu. Ochorenie sa dedí autozomálne dominantne, okrem typov VII a VIII, ktoré sú autozomálne recesívne. Zvýšená lámavosť kostí, charakteristická pre OI, je spôsobená poruchou hlavného proteínu spojivových tkanív, kolagénu typu I. Tento proteín je tvorený dvoma rôznymi peptidovými reťazcami, kódovanými génmi COL1A1 a COL1A2. Mutácie v génoch pre kolagén typu I boli nájdené len u prvých štyroch typov OI, avšak objasňujú až 90 % týchto prípadov. Kým u pacientov s ľahším postihnutím býva častejší familiárny výskyt mutácií v géne COL1A1 alebo COL1A2, ťažšie fenotypy sú zvyčajne výsledkom *de novo* zmien.

V rámci projektu bolo doteraz analyzovaných celkom 50 vzoriek s podozrením na osteogenesis imperfecta typu I-IV

alebo inou kolagénopatiou s poruchou v géne COL1A1. Molekulárno-genetická analýza genu COL1A1 bola založená na sekvenáčnej analýze PCR produktov pokrývajúcich celú kódujúcu oblasť, tzn. 51 exónov.

Z 50 pacientov zo 45 nepríbuzných rodín sa mutácia v géne COL1A1 našla v 33 prípadoch. Všetky mutácie, s jednou výnimkou, boli jedinečné a ležali po celej dĺžke genu, od exónu 2 až po intrón 49. U 17 pacientov sa žiadna patogénna zmena v géne COL1A1 neidentifikovala. U pacientov bez patologickeho nálezu je možnosť pokračovať ďalšou sekvenáčnou analýzou kódujúcej oblasti genu COL1A2, regulačných oblastí oboch génov COL1A1 i COL1A2 alebo inými molekulárno-genetickými metódami.

Ion Torrent™ – personal genome machine – prvý sekvenátor DNA opravdu „nové generácie“

Marco Pirotta, Ondřej Holeňa
Life Technologies

Možnosť propojení téměř neomezených možností, které poskytuje digitální a polovodičová technologie s analýzou biologických látek – a v první řadě DNA – zaměstnává výzkumníky i vývojáře v mnoha laboratořích na celém světě. V systému Ion Torrent, který firma Life Technologies uvedla na trh v tomto roce, bylo toto úsilí poprvé úspěšně provedeno k realitě. Nákladné a často komplikované hodnocení fluorescenčních nebo chemiluminescenčních signálů, které známe z tradičních kapilárních sekvenátorů nebo alternativních NGS systémů je u Ion Torrentu nahrazeno jednoduchým měřením vodíkových iontů uvolněných v průběhu polymerázové reakce. Jednoduchost ale zároveň spolehlivost a rychlost tohoto postupu je založena na polovodičovém čipu, který obsahuje deset miliónů submikropických cell, ve kterých probíhá v reálném čase analýza lokálních změn pH. A právě skutečnost, že jediný limitující faktor celé technologie je kapacita polovodičového čipu, garantuje uživateli, že i v budoucnu budou moci sekvenovat DNA i RNA se stále stoupající kapacitou, rychleji a v neposlední řadě i levněji.

Mutační analýza genů podmiňujících idiopatický nefrotický syndrom

Markéta Šafaříková^{1,2}, Lena Obeidová^{1,2}, Hana Šafránková², Petr Lněnička¹, Jana Reiterová^{1,2},
Jitka Štekrová¹, Vladimír Tesař², Milada Kohoutová¹

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

²Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

Mezi hlavní znaky nefrotického syndromu (NS) patří nefrotická proteinurie, hypalbuminémie, hypercholesterolémie a otoky. Dědičnost je autozomálně dominantní i autozomálně recesivní. NS se vyskytuje u primárních i sekundárních glomerulopatií. K nejčastějším příčinám nefrotického syndromu z primárních forem patří fokální segmentální glomeruloskleróza (FSGS), membranózní glomerulonefritida (MGN) a minimální změny glomerulů (MCN), ze sekundárních forem pak amyloidóza ledvin, diabetická nefropatie a lupusová nefritida. Nefrotický syndrom lze rozdělit podle věku nástupu na kongenitální, juvenilní a adolescentní nebo podle příčiny na primární (též nazývaný idiopatický) a sekundární. Přibližně 18 % případů idiopatického nefrotického syndromu (INS) vzniká na základě genetického podkladu. Do dnešní doby bylo ve spojitosti s INS popsáno 7 genů, kterými jsou NPHS1, NPHS2, CD2AP, PLCE1, ACTN4, TRPC6 a INF2.

PLCE1 gen kóduje fosfolipázu C epsilon 1. CD2AP gen kóduje CD2 asociovaný protein, který v ledvinách hraje neza-

stupiteľnou úlohu pri správnej funkcii slit diaphragm. *INF2* gen kóduje tzv. inverted formin 2 protein patřící do forminové rodiny. Tento protein ovlivňuje funkci aktinového cytoskeletu v podocytech. *TRPC6* je gen kódující iontový kanál pro vápenaté kationty. S nefrotickým syndromem finského typu je spojován *NPHS1*, jehož produktem je nefrin, který se specificky nachází ve slit diaphragm podocytech. V podocytech je také exprimován gen *NPHS2*, který kóduje podocin a je spojován s nefrotickým syndromem rezistentním k léčbě steroidy. *ACTN4* kóduje α -aktinin 4. Tento protein váže a spojuje F-aktinová vlákna.

V rámci mutační analýzy genů *ACTN4*, *TRPC6* a *NPHS2* provedené v Laboratoři molekulární diagnostiky Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN, byla analyzována DNA pacientů s nefrotickým syndromem, jejichž histologický náález z biopsie ledvin prokázal FSGS nebo MCN. Analýza byla provedena pomocí High resolution melting (HRM) metody s následnou sekvenací suspektních vzorků. U pacientů byly ve všech zkoumaných genech nalezeny již známé polymorfismy a mutace, dosud nepopsané polymorfismy, ale také jednobodová záměna, u které je možné předpokládat kauzální význam. Tato záměna c.NM_004924.3: 2242A>G (p.Asn748Asp) v genu *ACTN4* se vyskytla u jednoho pacienta, avšak nebyla nalezena u žádného testovaného zdravého kontrolního vzorku. Z výčtu nalezených popsanych změn je třeba také poukázat na záměnu c.NM_004924.3: c.1279C>A (p.Ala427Thr) v genu *ACTN4*, která je označována jako tolerovaná změna. V našem souboru pacientů s NS se vyskytla v jednom případě, avšak nebyla nalezena u žádné testované zdravé kontroly.

Práce je podporována grantovým projektem IGA MZČR č. NS9779-4.

Nové enzymy pro molekulární biologii od firem KAPA Biosystems a MOBIO

Radim Štaif, Dana Vargová
Elisabeth Pharmacon spol. s r.o.

Firemní přednáška na téma nových produktů KAPA Biosystems a MOBIO. Dle časových možností délka příspěvku v rozsahu 5–10 minut. V případě zájmu o uvedení abstraktu prosím kontaktujte autora příspěvku.

Význam RAGE polymorfizmů v progresii diabetické nefropatie

Katarína Kuricová¹, Veronika Tanhäuserová¹, Vendula Bartáková¹, Petra Linhartová¹, Lukáš Pácal¹, Jan Svojanovský², Darja Krusová², Jindřich Olšovský², Jana Bělobrádková², Jitka Řehořová³, Kateřina Kaňková¹

¹Ústav patologické fyziologie LF MU, Brno

²II. interní klinika FN u sv. Anny v Brně

³Interní gastroenterologická klinika FN, Brno

Úvod. Zvýšená tvorba neskorých produktů glykácie (advanced glycation end-products – AGE) je jedním z nežádoucích metabolických efektů dlouhodobé hyperglykémie. AGE sú schopné priamo modifikovať makromolekuly (proteíny a lipidy), čo má za následok zmenu ich štruktúry a funkcie. Tak tiež sa viažu na špecifické receptory RAGE (receptor for AGE) vyskytujúce sa na membránach rôznych buniek, čím ich aktivujú. Systém AGE/RAGE je jedným z kľúčových mechanizmov hyperglykémii indukovaného poškodenia buniek u diabetu. Cieľom tejto štúdie bolo zistiť, či existuje vzťah medzi variabilitou v géne kódujúcom RAGE, progresiou diabetické nefropatie (DN) a morbiditou a mortalitou asociovanou s diabetom.

Metóda. Do prierezovej štúdie bolo zaradených celkom

423 diabetikov 1. a 2. typu (trvanie 3–10 rokov) s rôznym stupňom postihnutia obličiek definovaným na základe množstva albumínu v moči: normoalbuminuria (n = 77), mikroalbuminuria (n = 126), proteinuria (n = 169) a terminálne zlyhanie obličiek (ESRD, n = 51). Kohorta (mimo ESRD pacientov) bola sledovaná po dobu 39 mesiacov. DNA bola izolovaná z leukocytov periférnej krvi. Genotypizácia variant RAGE (-429T/C, -374T/A, G82S, 1704G/T, 2184A/G, 2245G/A) bola prevedená metódami založenými na polymérázovej reťazovej reakcii. Haplotypy sme rekonštruovali *in silico* pomocou software PHASE. Klinické end-points: 1. renálna udalosť (progresia DN o štádium ďalej alebo dosiahnutie ESRD), 2. kardiovaskulárna udalosť (MCVE: nefatálny infarkt myokardu), 3. kardiovaskulárna mortalita (CVM: fatálny infarkt myokardu alebo mozgová príhoda, náhla smrť) a (4) celková mortalita (ACM).

Výsledky. Progresie DN bolo dosiahnuté u 22,9 % subjektov, MCVE u 8,2 %, CVM u 10 % a ACM u 19,8 %. Našli sme rozdiel v alelových i genotypových frekvenciách polymorfizmu 2245G/A medzi diabetikmi bez DN a s DN (p = 0,001 a 0,0004). U ostatných polymorfizmov rozdiel zistený nebol. Pri rekonštrukcii haplotypov a následnom porovnaní medzi skupinami bola nájdená vyššia frekvencia haplotypu RAGE2 u diabetikov s DN (p > 0,001, permutačný test). Vplyv RAGE polymorfizmov na dosiahnutie jednotlivých klinických end-points bol študovaný pomocou Kaplan-Meierovy analýzy. V jednolokusovej analýze nebol nájdený žiadny vzťah, pri haplotypovej analýze bol identifikovaný haplotyp RAGE2 ako rizikový vo vzťahu ku kardiovaskulárnej mortalite (p = 0,04, log-rank test).

Záver. Interindividuálna variabilita v géne kódujúcom RAGE predstavuje potenciálne významný genetický rizikový faktor kardiovaskulárnej mortality diabetikov.

Práca bola podporená grantom IGA MZ ČR (NT/11405-6).

Structurally-functional study of mutant proteins – misfolding of cystathionin beta-synthase as a model

Aleš Hnízda, Viktor Kožich
1. lékařská fakulta UK a VFN, Praha

Loss of protein stability due to missense mutation is the most common cause of monogenic diseases. Generally, amino acid substitution in the protein does not often target key functional residues but rather leads to misfolded protein with disrupted native structure.

In our study, we focused on structural mechanisms underlying protein misfolding of cystathionine beta synthase mutant enzymes. We described conformational properties of nine pathogenic variants directly in crude cell extracts by proteolytic approaches using thermolysin. Other nine CBS mutants were successfully purified after expression in *E. coli* and subsequently characterized by common spectroscopic and biochemical techniques. We found that the altered degree of protein unfolding is a common structural mechanism for the major disease-causing mutation. General methodological strategy for assessment of mutations pathogenicity will be discussed.

This work was supported by the Research Project from the Ministry of Education of the Czech Republic No. MSM0021620806, by the grant No. 7310 from Grant Agency of Charles University in Prague and by the grant SVV262502 from the Charles University in Prague.

Od RFLP po NGS – vývoj molekulárně-genetické analýzy u pacientů s polycystickou chorobou ledvin

Jitka Štekrová¹, Jana Reiterová^{1,2},
Veronika Elišáková¹, Petr Lněnička¹, Miroslav Merta¹,
Vladimír Tesař², Milada Kohoutová¹

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

²Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

Autozomálně dominantní polycystická choroba ledvin (ADPKD – autosomal dominant polycystic kidney disease) je nejčastějším dědičným onemocněním ledvin. Onemocnění je charakterizováno progresivním růstem renálních cyst a postupnou ztrátou renální funkce. Onemocnění může být způsobeno mutací genu *PKD1* (MIM 601313; 85 % případů) nebo genu *PKD2* (MIM 173910; 14 % případů). Proteinové produkty obou genů, polycystin-1 a polycystin-2, jsou membránové proteiny, které v komplexu s dalšími proteiny regulují růst a diferenciaci renálních buněk již v časně embryogenezí. Mutační analýza genu *PKD1* je komplikována vysoce homologní duplikací 2/3 genu a jeho značnou variabilitou. V mezinárodní databázi mutací (PKD database: <http://pkdb.mayo.edu>) je v současnosti uvedeno 864 sekvenčních variant genu *PKD1* a 139 sekvenčních variant genu *PKD2*.

Presymptomatická DNA diagnostika se v naší laboratoři provádí již více než 20 let metodou vazebné analýzy; v první polovině devadesátých let 20. století se prováděla pouze analýza genu *PKD1* s využitím metody RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Od druhé poloviny devadesátých let se vazebná analýza provádí v lokusech obou genů s využitím vysoce polymorfních mikrosatelitních markerů. Uvedenými metodami bylo vyšetřeno již více než 500 nepříbuzných rodin s výskytem ADPKD.

Přímá detekce mutací v genech *PKD1*, *2* je v naší laboratoři prováděna převážně v rámci výzkumných projektů. V genu *PKD1* bylo dosud detekováno 54 různých mutací v 57 nepříbuzných rodinách. Pouze dvě mutace byly detekovány opakovaně. Ostatní identifikované mutace jsou unikátní pro jednotlivé rodiny; 42 z identifikovaných mutací nebylo dříve popsáno. V genu *PKD2* bylo dosud detekováno 17 kauzálních mutací ve 36 nepříbuzných rodinách. Pět mutací bylo detekováno opakovaně; 14 identifikovaných mutací je unikátních pro naši populaci.

Technologie NGS (next generation sequencing) na analyzátoru GS Junior (Roche) byla využita k analýze genu *PKD1* v šestičlenné rodině s velmi variabilním fenotypem ADPKD. V rodině bylo identifikováno velké množství substitucí a lze sestavit rizikový haplotyp; nelze však určit jednoznačně kauzální mutaci, která je odpovědná za onemocnění v rodině. Na základě současných znalostí lze obdobný výsledek s nejednoznačnou interpretací očekávat zhruba u 50 % rodin s ADPKD. Nové technologie mohou jednoznačně zrychlit a zlevnit identifikaci nových mutací, které přispějí k nalezení funkčně důležitých domén polycystinů a k objasnění molekulárního mechanismu vzniku tohoto závažného onemocnění. Do budoucna lze očekávat rozšíření mezinárodních databází sekvenčních variant, které mohou mít význam pro interpretaci výsledků, stanovení prognózy, prevence a léčebných zásahů u jejich nositelů.

Molekulárně-biologické metody, zejména vazebná analýza, v současnosti umožňují v rodinách s ADPKD presymptomatickou, prenatální a preimplantační diagnostiku.

Podporováno VZ MŠMT 0021620806.

Využití metod sekvenování nové generace na přístroji GS Junior v diagnostice

Jaroslav Vohánka
Roche s. s. r. o.

V minulém roce firma Roche představila stolní sekvenátor GS Junior – „sekvenátor nové generace“. Ačkoliv se jedná

o vysoko-kapacitní sekvenátor (v porovnání s kapilárními sekvenátory), je určen především pro běžné laboratoře, zabývající se molekulární biologii, ať již vědecké či diagnostické. Tato velmi úspěšná platforma 454 sekvenování je dnes již rutinně využívána v mnoha českých laboratořích. Cílem tohoto sdělení proto bude ukázka hlavních aplikací a možností praktického využívání sekvenátoru GS Junior v diagnostice. Vzhledem k rostoucímu zájmu o diagnostické kity pro GS Junior vyvíjí nejen firma Roche tyto „ready to use“ soupravy. Uspadnění a zrychlení diagnostiky pomocí těchto souprav bude rovněž diskutováno.

Diagnostický potenciál volných nukleových kyselin

Aleš Hořínek, Marie Korabečná,
Eva Pazourková, Pavel Škrha
1. lékařská fakulta UK a VFN, Praha

Kvantitativní a kvalitativní analýza volných nukleových kyselin (cfDNA, mRNA a miRNA) se v poslední době stala jedním ze slibných diagnostických přístupů. Volné nukleové kyseliny (VNK), a to především volně cirkulující DNA (cfDNA), jsou lehce izolovatelné jak krevního oběhu, tak i z ostatních tělních tekutin: Jejich analýza má vysokou výpovědní hodnotu, a tím se staly zajímavým prognostickým a diagnostickým neinvazivním epigenetickým markerem, především pak ve vztahu ke studiu karcinogeneze, detekce nádorů, monitorování jejich rozvoje či úspěšnosti terapie. Současnost je pak charakterizována snahou o využití kvantitativní analýzy VNK v krevním oběhu i jako prognostického markeru u pacientů s polytraumaty, mozkovou příhodou či akutním infarktem myokardu. Vedle analýzy VNK v krevním oběhu se dnes díky vysoké citlivosti detekčních metod stala i analýza VNK v moči důležitým diagnostickým nástrojem, zejména u onkologických pacientů, například u nádoru močového měchýře. I přes malé koncentrace VNK v moči, dnešní metody dovolují jejich kvalitativní i kvantitativní hodnocení v návaznosti na klinická data.

V oblastech neinvazivní fetální diagnostiky byl objev volné DNA fetálního původu v mateřské plazmě příčinou nástupu efektivních diagnostických strategií umožňujících časnou neinvazivní prenatální diagnostiku, především pak detekci pohlaví plodu, rutinní stanovení RhD statusu plodu i diagnostiku nejzávažnějších chromozomálních aneuploidii, především pak trizomie 21. chromozomu – Downova syndromu. Kvantitativní analýza VNK se stala i nástrojem časně diagnostiky patologického průběhu těhotenství, především preeklampsie, fetomaternálního krvácení, polyhydramnionu, růstové retardace plodu či invazivní placentace.

Podpořeno grantem IGA MZ ČR NT12417-5.

Metylace promotorů genů imunitní odpovědi ve volné DNA hemodialyzovaných pacientů

Marie Korabečná¹, Eva Pazourková¹, Aleš Hořínek¹,
Magdalena Mokrejšová², Vladimír Tesař³

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

²3. LF UK a FNKV, Praha

³Nefrologická klinika 1. LF UK, Praha

Úvod. DNA volně cirkulující v lidské plazmě (cfDNA) je v současné době intenzivně studována jak po stránce kvantitativní, tak kvalitativní ve vztahu k nejrůznějším patologickým procesům. Vyšetření fetální cfDNA cirkulující v mateřské krvi nachází uplatnění v prenatální diagnostice. Metylace genů majících vztah ke karcinogenezi je vyhodnocována jako potenciální biomarker u onkologických pacientů. U hemodialyzo-

vaných pacientů byl opakovaně prokázán významný vzestup koncentrace celkové DNA během hemodialyzační procedury, kvalitativně však tato cfDNA studována nebyla. Předpokládá se, že významným zdrojem cfDNA při hemodialýze je apoptóza leukocytů na membráně dialyzátoru. Experimentálně bylo prokázáno uvolňování cfDNA i živými buňkami. V prezentované pilotní studii jsme se zaměřili na charakter metylace promotorů 24 genů majících vztah k imunitní odpovědi a analýzu změn metylačního profilu po hemodialyzační proceduře.

Metodika. Analyzovali jsme vzorky cfDNA získané z plazmy 22 pacientů odebrané bezprostředně před hemodialyzační procedurou a těsně po ní. K vyšetření metylace promotorů 24 genů jsme použili Immune Response Methyl-Profiler DNA Methylation PCR Array System (Qiagen). Výsledky jsme podrobili statistickému zpracování a klastrové analýze.

Výsledky. Nalezli jsme statisticky významné změny v metylaci promotorů genů IL-7, IL-13 a IL-17C. Pro všechny tyto interleukiny jsou publikovány studie na proteomické úrovni potvrzující jejich význam u hemodialyzovaných pacientů: IL-7 podporuje udržení a vývoj populace T-lymfocytů, zvýšené hladiny IL-13 byly nalezeny u hemodialyzovaných pacientů špatně odpovídajících na léčbu erythropoetinem, zvýšené hladiny IL-17C byly nalezeny u pacientů s end-stage renal disease a nikoliv u kontrol. Klastrová analýza ukázala, že metylační profily jednotlivých pacientů nesou podobné rysy, provázání s klinickými daty je zatím vzhledem ke značné heterogenitě hemodialyzované populace obtížné.

Závěr. Na úrovni cfDNA izolované z plazmy je možné provádět analýzu metylace promotorů genů zahrnutých v imunitní odpovědi. U hemodialyzovaných pacientů dochází během hemodialyzační procedury ke statisticky významným změnám metylace u jednotlivých genů. Vyhodnocení metylačních profilů v návaznosti na podrobná klinická data se může stát zdrojem nových biomarkerů se vztahem k ještě hlubší individualizaci léčebného postupu a predikci vývoje komorbidit u hemodialyzovaných pacientů.

Vyšetření volné nádorové DNA v plazmě pacientů s kolorektálním karcinomem: od výzkumu ke klinickému využití

Lucie Benešová¹, Ludmila Lipská²,
Barbora Belšánová¹, Petra Mináriková³,
Gabriela Vepřeková³, Miroslav Levý²,
Vladimír Visokai², Miroslav Zavoral³,
Marek Minárik¹

¹Centrum aplikované genomiky solidních nádorů, Genomac, Praha

²Chirurgická klinika 1. LF UK a FTNsP, Praha

³Interní klinika 1. LF UK a UVN, Praha

Úvod. Sporadické formy kolorektálního karcinomu (KRCa) jsou provázeny řadou změn ve tkáňové morfologii doprovázených defekty na úrovni DNA. Součástí tohoto procesu je nekrotizace nádorové tkáně v jejímž důsledku dochází k uvolňování DNA z nádorových buněk do krevního oběhu. Vzniklou volnou DNA (cell-free DNA – cfDNA), lze izolovat z krevní plazmy a je možné ji využít pro monitorování progresu onemocnění. V posledních 4 letech jsme se zabývali vývoje metodik pro záchyt cfDNA. Závěrečnou fází našeho projektu je představení možností využití vyvinutých postupů v klinické praxi.

Metodika. Ve studii bylo celkem 204 pacientů s verifikovaným KRCa ve stadiích I.–IV., někteří z nich podstupující chirurgickou léčbu. Zaznamenávali jsme lokalizaci nádoru, staging dle zobrazovacích technik, pooperační staging, grading a průběžné hodnoty nádorových markerů. CFDNA byla vyšetřována pomocí detekce panelu mutací, který zahrnoval onkogeny KRAS, BRAF a PIK3CA a tumor supresory APC a TP53. Mutační analýzy byly prováděny s použitím kitu Genoscan.

Výsledky. U 71 % pacientů jsme v primární tkáni tumoru zachytili některou ze sledovaných mutací. Prokázali jsme korelaci výskytu cfDNA se stadiem mutace a dále souvislost s lokalizací nádoru (tračník proximální vs. distální vs. rektum). Dále jsme pozorovali jednoznačný vztah pooperačního výskytu cfDNA s radikalitou provedeného operačního zákroku. Procentuální záchyt cfDNA byl pro jednotlivá stadia plně srovnatelný s mírou pozitivitu sledovaných tumor markerů. CFDNA byla však často zachycena u pacientů s progredujícím onemocněním, kteří měli nízké hladiny CEA a CA19-9.

Závěr. Uvedená vyšetření mohou být snadno převedena do klinické praxe. Očekáváme, že sledování cfDNA může mít význam především v oblasti monitorování a detekce progresu u pacientů s KRCa. Tento projekt byl podpořen z grantu IGA MZ NS9809.

Somatic mutations in MLH1 gene and MSI status as molecular characteristics of sporadic colorectal cancer

Fabián Čaja^{1,2,3}, Lucie Schwarzová¹,
Michaela Schneiderová^{1,4}, Petr Lněnička¹,
Jitka Štekrová¹, Pavel Vodička^{1,2}, Milada Kohoutová¹

¹Institute of Biology and Medical Genetics, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Charles University in Prague, Czech Republic

²Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences, Czech Republic

³Department of Cell Biology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic

⁴1st Surgical Department, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General Teaching Hospital in Prague, Czech Republic

Colorectal carcinoma (CRC) is one of the most prevalent malignancies in the Czech Republic. In general there are two molecular pathways leading to CRC. One pathway is characterized by chromosomal instability, the other by the deficiency in DNA mismatch repair (MMR) genes. MLH1 gene is one of the MMR gene-family members and represents a key component of the MMR system, responsible for recognition of nucleotide mismatches occurring during DNA replication, and for the recruitment of repair proteins to correct the replication errors. Germline mutations in MLH1 are responsible for Lynch syndrome or hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) that accounts for 2–3% of all CRC. Somatic mutations in MLH1 gene hallmark sporadic, MMR deficient, CRC cases.

Our aim was to detect somatic mutations in MLH1 and therefore we have analysed MSI status and MLH1 gene mutations in DNA samples from 100 CRC patients from General teaching hospital in Prague. The mutations have been screened by high resolution melting (HRM) curve analysis. HRM involves precise monitoring of the change in fluorescence caused by the release of an intercalating DNA dye from a DNA duplex as it denatures at high temperatures. Positive cases in each run were subsequently controlled by automatic sequencing.

In summary, we have found only few mutations in MLH1 gene. The prevailing one represents polymorphism (c. 655 A>G, p. Ile219Val), located in exon 8 and detected in 50 patients. Its role in CRC risk has been recently discussed in literature. We have found three novel mutations, in exon 2 (c. 204 C>G, p. Ile68Met) and in exon 11 (c. 973 C>T, p. Arg325Trp). The third one is located in intronic region at position c. 1731+19 T>C. These findings require verification on a larger scale of CRC patients. Four previously described mutations in exon 16 (c. 1733 A>G, p. Glu578Gly), in exon 19 (c. 2146 G>A, p. Val716Met), in exon 17 (c. 1959 G>T, p. Leu653Leu) and c. 1558+14 G>A have been detected. All detected mutations are germ-line, except of that in exon 11 (c. 973 C>T, p. Arg325Trp) which seems to be sporadic. MSI-H status was determined in 9 cases, the other tumours (91

cases) were considered as MSI-stable. Further task will be the investigation of the role of epigenetic mechanisms, mainly methylation in promoter region of MMR genes, in relation to the development of CRC.

In conclusion, we have found three new mutations in MLH1 gene (c. 204C>G, p. Ile68Met in exon 2; c. 973C>T, p. Arg325Trp in exon 11 and intronic one c. 1731+19 T>C) on the cohort of 100 patients so far. It seems that somatic mutations play minor role in the development of sporadic form of CRC and different mechanisms play the main role, probably epigenetic changes or promoter polymorphisms.

Supported by the VZ MSM0021620808 and by GACR 310/07/1430 of the Czech Republic.

Genetické vyšetření toxicity 5-fluorouracilu

Monika Koudová, Martina Bittáková, Romana Vlčková,
Renata Alánová, Ilona Slepíčková, Eva Lavická,
Monika Hlaváčková, Vanda Indráková
GHC Genetics, s. s. r. o. – NZZ, Praha

Úvod. Analog pyrimidinu 5-fluorouracil (5-FU) je používán samostatně nebo v kombinaci k chemoterapii řady solidních nádorů. Pro jeho metabolismus je klíčová funkce enzymu DPD (dihydropyrimidin dehydrogenázy). Enzym DPD je kódován genem *DPYD*. Mutantní alela *DPYD*2A* je způsobena vrozenou mutací v sestřihové oblasti intronu 14 (IVS14+1 G>A) genu *DPYD*. Pacienti s mutantní alelou *DPYD*2A* produkují nefunkční enzym DPD, proto při terapii 5-FU dochází k hromadění toxických metabolitů v organismu, což může vést k závažným až letálním toxickým reakcím.

Metodika. Celkem bylo vyšetřeno 210 žen a 212 mužů české populace ve věku 18–69 let. Materiál pro izolaci DNA byl získán stěrem sliznice dutiny ústní odběrovou soupravou pro bukalní stěr (Flocked Swabs) nebo odběrem periferní nesrážlivé žilní krve. DNA byla izolována použitím separačních kolonek Qiagen pomocí kitu QIAmp DNA Minikit dle modifikovaného protokolu a využitím přístroje pro semiautomatickou izolaci DNA QuickGene 810. Detekce mutace IVS14+1 G>A genu *DPYD* byla provedena použitím originální metody strip assay certifikovanou soupravou PGX-5FU a nově navržené metody "high resolution melting analysis" na přístroji LightScanner. Byly porovnány výsledky molekulárně genetického vyšetření oběma použitými metodami navzájem a vyhodnocena frekvence alely *DPYD*2A* v souboru české populace.

Výsledky. Alela *DPYD*2A* byla prokázána v heterozygotním stavu u 3/422 (0,7 %) kontrol, v homozygotním stavu prokázána nebyla. Frekvence výskytu *DPYD*2A* alely 0,36 % nekoreluje s daty evropské populace, je 2,5krát nižší oproti uváděné frekvenci 0,91 % v evropské populaci. Výsledky molekulárně genetického vyšetření oběma použitými metodami byly navzájem zcela shodné.

Závěr. Byla zavedena a zvalidována nová, méně nákladná metodika HRM detekce alely *DPYD*2A*. Testování *DPYD*2A* alely je doporučeno před zahájením onkologické léčby, neboť u heterozygotů jsou doporučeny nižší dávky při terapii 5-FU a u homozygotů je pro vysoké riziko toxické reakce nutné zvolit chemoterapii jinými preparáty. Současně je vhodné u pozitivních případů v rámci prevence doporučit genetické vyšetření této alely u pokrevních příbuzných v riziku. Vzhledem k nízké záchytnosti alely *DPYD*2A* předpokládáme přítomnost dalších mutací v *DPYD* genu v české populaci, včetně mutací dalších genů ovlivňujících metabolismus 5-FU (např. *TYMS*, *MTHFR*). Z tohoto důvodu nyní plánujeme provést sekvenování *DPYD* genu a molekulárně genetickou analýzu genu *TYMS* u českých kontrol (analýzu variant genu *MTHFR* u českých kontrol jsme provedli v uplynulém roce) a dle výsledku pak optimalizovat spektrum mutací a genů vhodných k vyšetření českých pacientů před zahájením onkologické léčby s 5-FU.

PNA based platform in diagnostics

Robert Fedič
PentaGen s.r.o., Kladno

In this presentation, we would like to present our Peptide Nucleic Acid (PNA) based platform and its possibility in the cancer, viral and gene therapy. Use of PNA probes in the FISH, PCR and microarray techniques will be described as well. At the end we outline new directions in the use of PNA technology.

Searching for mutations in the kinase domain (KD) of BCR-ABL causing drug resistance in patients with chronic myeloid leukemia by ultra-deep sequencing (UDS)

Adéla Broučková¹, Hana Klamová¹, Caterina De Benedittis², Michele Bacarani², Giovanni Martinelli², Simona Soverini², Kateřina Machová Poláková¹
¹Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague, Czech Republic
²Department of Hematology/Oncology L.e A. Seragnoli, University of Bologna, Bologna, Italy

Mutations in the KD of the fusion protein BCR-ABL are the most common mechanism of resistance to the treatment of chronic myeloid leukemia by tyrosinkinase inhibitors. An early knowledge of the type of mutation may have a crucial impact on the therapy modification. Until now more than 100 types of mutations in the BCR-ABL KD have been published in relation to the disease treatment.

Currently, the Sanger sequencing for mutation detection in the cDNA of BCR-ABL KD is used as the gold standard. The sensitivity of the Sanger sequencing is approximately 20% of mutation present in the sample with a minimum of 100 copies of BCR-ABL transcripts. UDS is based on the clonal amplification of each molecule and its subsequent sequencing on the principle of pyrosequencing. Thus, a huge amount of reads of every single molecule is achieved giving a higher sensitivity than Sanger sequencing.

Retrospectively, we analyzed altogether 40 samples from 4 patients who developed KD mutations in BCR-ABL during the first line treatment with imatinib. We followed the kinetics of mutations from diagnosis to the development of resistance to imatinib. In patients who were subsequently switched to the treatment with second-generation inhibitors, we monitored the rate of eradication of the mutant clone and the presence of other, hidden mutations. Interestingly, at the time of diagnosis, we detected a series of minor variants, similarly as we found in the kinase domain of non-fused ABL gene of healthy donors. Furthermore, we found that using UDS we are able to detect mutations causing resistance to the treatment much earlier (by more than 1 year) than with Sanger sequencing.

From our preliminary data it seems that UDS is a very capable tool for the detection of BCR-ABL KD mutations at ultra-low levels and to detect mutations in the samples with less than 100 copies of BCR-ABL transcript. UDS may provide very early information about a possible drug resistance development with an impact in the therapy individualization. To determine the impact of UDS of KD mutations in BCR-ABL into the clinical practice, as well as for understanding of mutations development in the leukemic clones we plan to retrospectively and prospectively analyze a broader set of patient samples.

Supported by MZČR IGA NT11555.

Vysokorozlišovací analýza křivek tání (HRM) jako nástroj moderní diagnostiky

Radek Blatný
KRD, Praha

Vysokorozlišovací analýza křivek tání (HRM) je vysoce citlivá a rychlá metoda, kterou lze využívat k záchytu jedno- i vícenukleotidových změn a indelů v DNA v heterozygotním stavu. Vysokého rozlišení je dosahováno použitím tzv. DNA saturujících barviv, například barviva LCGreen (IdahoTechnology Inc., USA) nebo ResoLight (Roche, USA) atd., a pomocí přístrojů s vysoce přesnou a stabilní kontrolou časového teplotního gradientu (LightScanner 96 od firmy IdahoTechnology Inc., LightCycler 480 od firmy Roche atd.). Během postupného zahřívání dochází k tavení dvoušroubovice DNA, čímž se z ní barvivo uvolňuje a dochází k poklesu fluorescence. Přítomnost heteroduplexu v analyzovaném ampliconu DNA mění tvar křivky tání, který je charakteristický pro konkrétní záměnu na konkrétní pozici daného ampliconu a v některých případech umožňuje dokonce zachycení homozygotní varianty polymorfních oblastí. HRM lze v moderních diagnostických laboratořích využívat k detekci nádorových onemocnění, jelikož až 10 % z nich je způsobeno dědičnou dispozicí. V rodinách s opakovaným výskytem určitých nádorů je proto vhodné provádět preventivní genetická vyšetření.

Servisní laboratoř KRD, vybavená přístroji LightScanner a LightCycler 480, nabízí návrh esejí i komerční zpracování vzorků pomocí microarray analýzy, real-time kvantitativní PCR a vysokorozlišovací analýzy křivek tání (HRMA) pro akademické i komerční subjekty. V roce 2011 byl zahájen vývoj nových komerčních kitů, na bázi HRM, detekujících mutace, které jsou známými dědičnými nádorovými predispozicemi u relativně běžných (nádory prsou, kolorektální karcinom, karcinom vaječníků, karcinom plic) i vzácných dědičných variant některých onemocnění (dermatopatie, myopatie, dystrofie, neurodegenerativní choroby, neuropatie, progerie). HRM esejí jsou navrhovány pomocí softwaru LightScanner Primer Design (Idaho Technology Inc., USA) a jejich specifita a nepřítomnost nežádoucích sekundárních struktur následně ověřena pomocí volně dostupných nástrojů funkční genomiky (UCSC genome browser, dbSNP, Beacon Designer od fi. Premier Biosoft). Po počátečním testování na kontrolních vzorcích je jejich funkce důkladně ověřena na větším počtu patientských vzorků.

Nezanedbatelným aspektem HRM analýzy je možnost zlevnění současných běžných klinických diagnostických postupů, obvykle založených na přímém sekvenování. Kombinací preskenovací HRM analýzy a následného selektivního sekvenování lze náklady na tato vyšetření několikanásobně snížit.

Real Time PCR systém Eco (Illumina Inc.)

Boris Bartoš
Genetica s. s. r. o.

V rámci přednášky bychom Vás rádi seznámili s inovativním systémem pro Real Time PCR Eco od americké společnosti Illumina(R), značkovým kompaktním přístrojem pro provádění kvantitativní PCR s vysokým výkonem a jednoduchou obsluhou za velmi nízkou cenu, vhodným pro všechny typy laboratoří.

Validace metod v molekulárně-genetické diagnostice

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

V současné době stále více molekulárně genetických laboratoří zavádí systém managementu kvality dle meziná-

rodní normy ČSN EN ISO 15 189. Zmiňovaná norma řízení kvality požaduje, aby laboratoře používaly pouze metody vhodné pro dané použití. Vhodnost metody musí ověřit její validací. Norma ale dále nespécifikuje jak a v jakém rozsahu validaci metody provést. Tato prezentace je praktickou ukázkou třech různých přístupů při validaci molekulárně genetických metod v laboratoři Centra cystické fibrózy. Prvním příkladem je metoda vyvinutá v laboratoři, u které byla provedena plná validace. Dále zkrácená validace, tj., verifikace byla použita u metody využívající CE/IVD kit přesně dle pokynů výrobce. Na závěr retrospektivní přístup k validaci metody, která byla již dlouhodobě používaná v laboratoři a zařazena do programu Externí kontroly kvality (EQA).

Verifikace CE certifikovaných DNA diagnostických kitů dle norem ČSN EN ISO/IEC 17025 a 15189

Věra Šiffnerová, Renáta Macnerová, Milena Vraná,
Marie Dobrovolná
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Oddělení HLA genotypizace NRL pro DNA diagnostiku se zabývá genotypizací HLA systému dospělých a dětských pacientů potenciálně indikovaných k transplantaci hematopoetických buněk, jejich příbuzných a nepříbuzných dárců a také pacientů s některými metabolickými či neurologickými onemocněními.

Genotypizace pěti lokusů HLA (HLA-A, -B, -C, DRB1, -DQB1) je v naší laboratoři prováděno dvěma metodami, polymerázovou řetězovou reakcí se sekvenčně specifickými primery (PCR-SSP) a sekvenační analýzou. Ročně zpracujeme přibližně 1500 vzorků. Všechny námi používané kity mají CE certifikaci. Součástí akreditovaného režimu naší laboratoře je jejich verifikace dle norem 17025 a 15189 a dle požadavků Evropské federace pro imunogenetiku (EFI) a na základě doporučení Společnosti lékařské genetiky ČLS JEP.

V nedávné době jsme v rámci flexibility prováděli verifikace několika sekvenačních kitů pro HLA genotypizaci od různých výrobců (Conexio, Inno-train, Protrans, Rose). V prvním kroku jsme teoreticky zhodnotili vhodnost pro použití v naší laboratoři. U vybraných kitů jsme dále detailně ověřovali několik parametrů – opakovatelnost (zpracování vzorku v sérii během jednoho dne jedním pracovníkem), reprodukovatelnost (různí pracovníci v různé dny), meze detekce a robustnost (vnímavost metody k odchylkám – různá množství vstupních komponent, šarže enzymů, termocyklery). Z provedených validací jednoznačně vyplynulo, že kity různých výrobců se vzájemně liší nejen cenou, ale i svou robustností, pracností laboratorního zpracování a přesností získaných výsledků. Mezi testovanými kity nebyl žádný jednoznačně nejlepší. Po komplexním zhodnocení jsou do rutinního provozu zaváděny dva vybrané kity s nejlepším poměrem všech sledovaných ukazatelů.

Zavedení pravidelné kontroly kvality kitů má vliv na efektivitu práce, snížení provozních nákladů a rychlost zpracování vzorků.

Pilotní projekt vykazování nových výkonů molekulární genetiky

Ivan Šubrt
Společnost lékařské genetiky ČLS JEP

Přednáška pojednává o aktuálním stavu pilotního projektu, v rámci kterého jsou vybranými pracovišti v rámci odbornosti 816 kromě současných kódů pro molekulárně genetické výkony vykazovány i nově navrhované výkony.

Etika biobank zřízených za účelem výzkumu

Věra Franková

Ústav pro humanitní studia v lékařství 1. LF UK a Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK, Praha

Biobanky jsou souborem biologických vzorků a k nim přidružených medicínských dat. Ve většině případů jsou zřizovány za účelem výzkumu a jeho následné aplikace v medicíně.

Mezi nejčastěji diskutované etické problémy spojené s provozem biobank patří ochrana soukromí a důvěrnosti informací a s nimi spojená anonymizace vzorků a dat. Úplná anonymizace, která se zdá být z hlediska ochrany soukromí jako nejhodnější, může do značné míry narušit úroveň výzkumu. Hledají se proto možnosti kódování vzorků a dat, které by zaručily ochranu soukromí a zároveň by umožnily získávat a doplňovat všechna medicínská data potřebná ve výzkumu.

Druhým zásadním problémem, který v souvislosti s biobankami vyvstává, je informovaný souhlas. Jedním ze základních etických požadavků ve výzkumu je, aby udělený souhlas byl zcela specifický, tj. souhlas s konkrétním výzkumným projektem. Pouze takovýto souhlas lze považovat za informovaný. Většina biobank je zřizována za účelem dlouhodobého provozu. Vzhledem k tomuto faktu není možné v době udělení souhlasu veškerý budoucí výzkum předvídat. Za eticky přípustný je proto nyní považován i souhlas obecný, někdy nazývaný jako „otevřený“ souhlas.

Biobanky neumožňují jednotlivcům přímou individuální kontrolu nad jejich osobními údaji. Ta je svěřena do rukou instituce, která musí být pro všechny zainteresované strany důvěryhodná. Biobanky musí mít vyvinuté systémy a postupy zaručující ochranu důvěrnosti a soukromí osob, jejichž data shromažďují, uchovávají a zpřístupňují tak, aby bylo zajištěno etické využití těchto dat, která jim byla s tímto předpokladem svěřena.

Mezilaboratorní porovnávání zkoušek (MPZ) v oblasti diagnostiky a molekulárního monitorování BCR-ABL v ČR

Karla Zemanová, Adéla Broučková,
Martina Součková, Kateřina Machová Poláková
*Laboratoř diagnostiky a molekulárního monitoringu CML
a Ph+ onemocnění, NRL pro DNA diagnostiku,
Ústavu hematologie a krevní transfuze*

Chronická myeloidní leukémie (CML) je charakterizována přítomností fúzního genu BCR-ABL. Jeho detekce v periferní krvi (PK) nebo kostní dřeni (KD) pacientů je potvrzením diagnózy CML. Hladina transkriptu BCR-ABL je spolehlivým markerem pro molekulární monitorování odpovídá pacienta na léčbu tyrozinkinázovými inhibitory (TKI) a pro kontrolu minimální reziduální choroby (uplatněno i u pacientů po transplantaci kostních buněk). U některých pacientů dochází k vývoji rezistence na léčbu TKI. Nejčastější příčinou této rezistence jsou bodové mutace vedoucí k aminokyselinové záměně v kinázové doméně (KD) chimerického proteinu BCR-ABL. Přítomnost mutací je u pacientů, kteří vykazují známky rezistence k léčbě, detekována v cDNA KD BCR-ABL.

Naše pracoviště, Laboratoř diagnostiky a molekulárního monitoringu CML a Ph+ onemocnění, NRL pro DNA diagnostiku, Ústavu hematologie a krevní transfuze, provádí následující akreditovaná vyšetření:

- diagnostické vyšetření genu BCR-ABL metodou multiplex RT-PCR,
- molekulární monitorování transkriptu BCR-ABL,
- detekce mutací v kinázové doméně BCR-ABL.

Naše laboratoř byla pověřena Českým institutem pro akreditaci (ČIA) k mezilaboratornímu porovnávání zkoušek pro tato tři vyšetření:

1. V MPZ pro diagnostické vyšetření genu BCR-ABL zúčastněné laboratoře určují přítomnost transkriptu BCR-ABL a charakterizují typ přestavby fúzního genu. Toto vyšetření zahrnuje izolaci RNA z buněk PK nebo KD, reverzní transkripci a multiplex PCR s použitím doporučené kombinace 2 primerových párů. V roce 2011 se této kontroly kvality zúčastnilo 10 laboratoří, které obdržely dva pozitivní vzorky a jeden negativní vzorek.

2. V MPZ pro oblast stanovení hladiny transkriptů BCR-ABL je zúčastněným laboratořím zasílána ředící řada BCR-ABL pozitivních vzorků (n = 4). Na základě stanovené hladiny transkriptů BCR-ABL jsou kontrolovány parametry metodik zúčastněných pracovišť zahrnující např. míru linearitu výsledků stanovení a citlivost detekce. Stanovení hladiny transkriptů BCR-ABL zahrnuje izolaci leukocytů z periferní krve, izolaci celkové RNA, reverzní transkripci a kvantitativní real-time PCR. V letošním roce se MPZ v oblasti molekulárního monitorování transkriptů BCR-ABL účastnilo všech pět laboratoří, které toto vyšetření spolu s ÚHKT v České republice poskytují.

Naše laboratoř je rovněž pověřena referenční laboratoř pro výpočet a validaci přepočtového koeficientu pro vydávání výsledku v mezinárodním měřítku (IS). Tato činnost probíhá v rámci mezinárodního programu EUTOS for CML (ELN; European LeukemiaNet).

3. V roce 2010–2011 naše laboratoř organizovala 1. kolo mezilaboratorního porovnávání zkoušek pro detekci mutací v KD BCR-ABL pomocí Sangerova sekvenování. Tohoto preliminárního kola se zatím zúčastnily dvě laboratoře. Laboratořím bylo zasláno šest vzorků (čtyři pozitivní a dva negativní). Pozitivní vzorky nesly 1–2 různé typy mutací s různou úrovní zastoupení ve vzorku.

Pravidelné externí kontroly kvality zkoušek v oblasti diagnostiky a molekulárního monitorování BCR-ABL jsou pro laboratoře velmi významné v souvislosti se zajištěním vysoce kvalitního laboratorního servisu s přímým dopadem pro klinickou praxi. Na základě výsledků z molekulárního monitorování BCR-ABL u pacientů s diagnózou CML lékař – zadavatel rozhoduje o individuální léčbě pacienta.

Mezilaboratorní kontrola kvality vyšetření familiárního defektu apolipoproteinu B100, izoforem apolipoproteinu E a paternity

Aleš Hořínek

1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Mezilaboratorní porovnání 2011 „Stanovení HLA znaků asociovaných s chorobami“

Milena Vraná, Hana Vondráčková, Marie Dobrovolná
NRL pro DNA diagnostiku ÚHKT, Praha

Kontrola kvality „Stanovení HLA znaků asociovaných s chorobami“ proběhla v červnu až září 2011. Testovány byly tyto HLA znaky: HLA-B*27 – asociace s reumatoidními artritidami (tři vzorky); alely DQB1 lokusu asociované s celiakií (pět vzorků) a DQB1*06:02 – asociace s narkolepsií (dva vzorky).

Kontroly kvality se účastnilo celkově osm laboratoří. Všechny provedly testování vzorků pro asociace HLA s celiakií, pět laboratoří testovalo i vzorky B*27 a jedna laboratoř testovala vzorky DQB1*06:02.

Oproti roku 2010 došlo k výraznému zlepšení. Celkově bylo letos dosaženo 100% správnosti všech výsledků všech zúčastněných laboratoří. V roce 2011 došlo i ke zvážení výpovědní hodnoty uvedených laboratorních zhodnocení o souvislosti testovaného znaku s asociovanou chorobou. Nicméně v mnoha případech toto zhodnocení stále není uvedeno.

V příštím roce plánujeme organizaci této kontroly kvality stejným způsobem jako v roce 2011.

Mezilaboratorní kontrola kvality v rámci soustavy DNA diagnostických laboratoří v ČR a SR

Zuzana Hrubá

Centrum molekulární biologie a genové terapie IHOK FN, Brno

V rámci mezilaboratorní kontroly kvality byly rozeslány testovací vzorky pro tato onemocnění: syndrom fragilního X-chromozómu (FRAXA), deficit alfa-1-antitrypsinu (AAT), fenykletonurie (PKU), Smith-Lemli-Opitz syndrom (SLOS).

Vzorky byly rozeslány do sedmi laboratoří v České republice a do jedné laboratoře na Slovensko. V přednášce zaznělo vyhodnocení výsledků jednotlivých laboratoří.

Mezilaboratorní kontrola kvality práce v rámci DNA laboratoří v ČR 2011 – stanovení pohlaví a vyšetření mikroleceí azoospermatického faktoru (AZFa,b,c)

Iveta Valášková

Oddělení lékařské genetiky FN, Brno

4. ročník EQA QF-PCR 2011

Martina Putzová, Lucie Dohnalová

Gennet, Praha

Mezilaboratorní kontrola kvality molekulárně-genetické diagnostiky cystické fibrózy pro rok 2011

Tereza Piskáčková, Marek Turnovec

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

Mezilaboratorní kontroly kvality se letos zúčastnilo 27 laboratoří, z toho tři ze Slovenské republiky. Všechny laboratoře v rámci jimi používaných diagnostických metod identifikovaly mutace správně.

Modifikace fragmentační analýzy pro vyšetření genu PHOX2B v rodině s Ondininou kletbou

Jiří Drábek^{1,2}, Eva Klášková¹, Vratislav Smolka¹,

Josef Srovnal^{1,2}, Jana Stránská^{1,2},

Veronika Holinková^{1,2}, Miroslava Rabčanová^{1,2},

Marián Hajdúch^{1,2}

¹Dětská klinika LF UP a FN, Olomouc

²Ústav molekulární a translační medicíny LF UP, Olomouc

Podle germánské mytologie je Ondina (Undine) vodní víla, kterou podvedl smrtelník, do něhož se zamilovala. Potrestala nevěrníka prokletím, kvůli němuž ve snu zapomínal dýchat.

Kongenitální primární syndrom alveolární hypoventilace (CCHS MIM 209880) se projevuje jako spánková apnoe s hypoventilací, jako život ohrožující zástavy dechu zpravidla již v novorozeneckém věku, kdy si vyžádá ventilační podporu. Velmi vzácná je tzv. late onset forma, která se manifestuje v pozdějším věku, často pod obrazem akutního cor pulmonale. Na vině je chyba centrálního neurologického mechanismu, kdy postižený jedinec ztrácí ve spánku automatické řízení dechové aktivity. Tato podobnost reálné choroby s mytologií způsobila, že se pro nemoc vžil název Ondinina kletba.

Základem terapie je umělá (synchronizovaná intermitentní) plicní ventilace; v prvním roce života trvale, u více než 2/3 pacientů se daří odpojení od umělé plicní ventilace po prvním roce života. Jinak dochází k hypoventilaci a poklesu saturace s nárůstem parciálního tlaku oxidu uhličitého (pCO₂). Nemoc je způsobena mutací v genu paired-like homeobox 2b (PHOX2b), manifestované jako polyalaninová expanze repetice.

Na Dětské klinice LF UP a FN Olomouc bylo hospitalizováno pětidenní děvče pro příznaky CCHS. V zahraniční laboratoři byla zjištěna u probandky kauzální mutace c.741_755dup15 ve 3. exonu genu PHOX2b v heterozygotní formě.

V tomto projektu jsme optimalizovali metodu fragmentační PCR analýzy polyalaninové expanze a analyzovali další členy rodiny probandky. GC obsah ve sledované sekvenci dosahuje 85–90 % (záleží na umístění primerů), proto bylo potřebné modifikovat PCR přídatky aditiv.

Mutaci jsme prokázali u probandky a jejího otce, u dalších suspektních členů rodiny mutace prokázána nebyla. Na elektroforeogramu nebyl rozdíl délky fragmentů očekávaných 15 nukleotidů, ale 11 nukleotidů. Pro rozlišení této diskrepance plánujeme sekvenování za použití deazaguaninu.

Projekt byl institucionálně podpořen z grantů CZ.1.05/2.1.00/01.0030, MPO TIP FR T11 525.

Postery

Akú škálu genetických testov použiť pri diagnostike Angelmanovho syndrómu?

Lívia Lukáčková^{1,2}, Robert Petrovič¹, Ján Chandoga¹

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava, Slovenská republika

²Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Angelmanov syndróm (AS) patrí medzi neurogenetické ochorenia, ktorých podstata spočíva v chybách spôsobených pri epigenetickej regulácii génovej expresie. Jedná sa o poruchu pri zakladaní genómového imprintingu, reverzibilného procesu, kde funkčnosť génu závisí od pohlavia rodiča, od ktorého bol zdedený. Tento syndróm s prevalenciou 1 : 25 000 až 1 : 10 000 je spôsobený deficitom proteínov, ktorých produkcia je podmienená parentálnym pôvodom génov lokalizovaných na chromozóme 15 v oblasti q11-q13. Konkrétne ide o stratu expresie špecifických génov maternálneho pôvodu, čo sa klinicky prejaví v poruchách rovnováhy a chôdze, ataxiou, hypermotorikou, ťažkým poškodením reči, epileptickými záchvatmi a i.

Prvým krokom v laboratórnej diagnostike je odlišenie rozdielneho vzoru metylácie parentálnych alií vďaka chemickej reakcii premeny cytozínov na uracily, pričom metylované cytozíny ostávajú nezmenené. Následne pristupujeme k dvom nezávislým metódam, a to k metylačne špecifickej amplifikácii SNRPN génu (kandidátneho génu PWS/AS kritickej oblasti) spojenej s RFLP analýzou a alelovo špecifickej Real-time PCR. Po potvrdení diagnózy určujeme molekulárno-genetickú podstatu vzniku syndrómu (uniparentálna izodizómia/heterodizómia, delécia) pomocou multiplex-PCR zameranej na polymorfizmus dvojnukleotidových opakovaní na lokusoch PWS/AS kritickej oblasti a na kontrolných lokusoch lokalizovaných na dlhom ramene chromozómu 15 spojenej s fragmentačnou analýzou. Bodové mutácie v UBE3A géne, ktorých výsledkom je 10–15 % prípadov AS, diagnostikujeme pomocou amplifikácie desiatich translatovaných exónov a následnej sekvenačnej reakcie.

V súčasnosti je medzi odporúčané diagnostické postupy zaradená MS-MLPA (Methylation-Specific Multiplex Ligation-de-

pendent Probe Amplification). Pre odhalenie menej frekvencovaných príčin vzniku AS, akými sú duplikácie a poruchy v rámci ICR, je potrebné využiť aj túto metódu.

Kombináciou vyššie uvedených metód sa dosiahne spoľahlivejšia diagnostika a predikcia ochorenia.

Detection of CAG – repeat length in Huntington's disease genetic testing

Iveta Boroňová¹, Jarmila Bernasovská¹,
Ivan Bernasovský², Lucia Kulíková¹

¹Excellence Centre of Animal and Human Ecology, FHPV,
University of Prešov, Prešov, Slovakia

²Institute of Romany Studies, University of Prešov, Prešov, Slovakia

Huntington's disease (HD) is an autosomal dominant neurodegenerative disorder due to a trinucleotide (CAG) repeat expansion in IT 15. It most commonly presents in the third or fourth decade of life with slowly progressive cognitive, behavioral and motoric dysfunction. Gross pathology of HD is limited to the brain, with atrophy most prominent in the caudate, putamen, and cerebral cortex. Brain weight may be reduced by as much as 25–30% in advanced cases HD is spread worldwide and it is generally accepted that few mutational events account for the origin of the pathogenic CAG expansion in most populations. The prevalence rate of HD in the most of Europe is 5 cases per 100 000 individuals. HD gene encodes the protein huntingtin of 3136 amino acids. The mutation of huntingtin produces an expanded stretch of glutamine (Gln) residues. The HD locus spans 180 kb and consists of 67 exons ranging in size from 48 bp to 341 bp with an average of 138 bp. The molecular basis of the disease is the expansion of the trinucleotide CAG in the first exon of the huntingtin gene in chromosome 4p16.3. Diagnosis of HD has been greatly simplified by the direct triplet repeat gene test. In the Prešov region (1998-2009) CAG repeat lengths in the HD gene were tested in twelve patients with suspected diagnosis of HD. Genomic DNA was extracted from blood samples by standard extraction procedures. PCR products were resolved on capillary electrophoresis with ABI technology. In seven affected patients clinical diagnosis of HD was confirmed by molecular-genetic methods. The sex ratio in the cases, in which the diagnosis of HD has been confirmed was 4:3 in favor of female individuals. The mean age of patients in the time of diagnosis Huntington disease was 44.1 and ranged from 28 to 62 years. This confirms the affirmation of onset of symptoms typically in the third and fourth decade of life. Mapping the occurrence of HD in the Prešov region is a part of population-genetic analyses and monitoring of Prešov region population health status.

Direct PCR – využití v rychlé prenatální diagnostice trizomie chromozomu 21

Kristína Kovačovicová^{1,3}, Iveta Valášková^{1,2}, Jitka Kadlecová^{1,2}, Eva Makaturová¹, Renata Gaillyová^{1,2}

¹Oddělení lékařské genetiky,
Laboratoř molekulární diagnostiky FN, Brno

²Lékařská fakulta MU, Brno

³Přírodovědecká fakulta MU, Brno

Trizomie chromozomu 21 představuje nejčastější aneuploidii u člověka slčitelnou se životem. Udávaná frekvence výskytu je 1 : 600 novorozenců, přičemž více jak 60 % gravidit končí smrtí plodu ještě před porodem. Je nejčastější příčinou mentální retardace, zahrnuje téměř 25 % všech případů mírné a těžké formy mentální retardace dětí v předškolním věku.

Prenatální diagnostika založená na analýze buněk získaných z plodové vody je používána od šedesátých let 20. sto-

letí. Původní diagnostika byla založena na určení kompletního karyotypu plodu. Hlavní nevýhodou tohoto přístupu je délka doby vyšetření, která představuje 2–3 týdny. Rychlejší alternativou je fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), která umožňuje získání výsledku pro analyzované chromozomy za 24–48 hodin. V roce 1993 byla poprvé za účelem prenatální diagnostiky trizomie chromozomu 21 použita kvantitativní fluorescenční PCR (QF-PCR). Tato technika je založena na amplifikaci vysoko polymorfních krátkých tandemových repetíci (STRs), nacházejících se na vybraných chromozomech za použití fluorescenčně značených primerů v multiplexní PCR reakci. Přesnost této metody byla ověřena četnými studiemi, čas od přijetí vzorku po vydání výsledku je přibližně 24 hodin.

S cílem urychlit diagnostiku aneuploidie chromozomu 21 byla vytvořena sada pro QF-PCR umožňující zkrácení doby diagnostiky Downova syndromu. Za použití Phusion[®] polymerázy (Phusion[®] Human Specimen DNA Polymerase, Finnzymes), která nevyžaduje izolaci DNA a v kombinaci s technikou fast PCR, je doba od příjmu vzorku do stanovení diagnózy výrazně zkrácena. Polymeráza, odvozená od enzymu z *Pyrococcus furiosus* s přidaným uměle vytvořeným vazebným proteinem Sso7d odvozeným od *Sulfolobus solfataricus*, má 5'-3' polymerázovou a 3'-5' exonukleázovou aktivitu. Díky uměle vytvořené vazebné doméně (Sso7d) se vyznačuje robustností, vysokou procesivitou a přesností.

Vytvořená sada sestávající ze dvou multiplexních reakcí obsahuje primery pro 6 polymorfních STRs lokalizovaných v kritické oblasti pro vznik Downova syndromu (DSCR), dva páry primerů pro odlišení maternální kontaminace od trizomie chromozomu 21 v mozaice (pro lokusy lokalizované na chromozomech 13 a 21) a dva páry primerů pro určení pohlaví plodu (AMEL, SRY).

Doposud bylo tímto přístupem analyzováno 100 vzorků, z toho bylo 91 vzorků plodové vody, pět vzorků periferní krve a pět vzorků kontrolní izolované DNA s potvrzenou trizomií chromozomu 21. 81 vzorků plodové vody pochází z banky OLG FN Brno, kde jsou uchovávané po odběru pro případ další analýzy. K těmto vzorkům je k dispozici vypracovaný karyotyp, který byl porovnaný s výsledky Direct QF-PCR.

Dôležitosť testovania tiopurín-S-metyltransferázy

Lubica Krajčiová^{1,2}, Robert Petrovič¹, Ján Chandoga¹,
Peter Turčáni², Andrea Pastoráková¹

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB,
Bratislava, Slovenská republika

²Neurologická klinika LF UK, Bratislava, Slovenská republika

Tiopurín-S-metyltransferáza (TPMT) je cytoplazmatický enzým podieľajúci sa na katalytickej S-metylácii sulfhydrylovej skupiny viažucej sa na aromatické a heterocyklické jadro, ktorá je súčasťou protinádorových liečiv 6-merkaptopurínu (6-MP), 6-tioguanínu (6-TG) a imunosupresíva azathioprinu (AZA).

Bodové mutácie v *TPMT* géne môžu byť spojené s nízkou (až žiadnou), strednou alebo vysokou aktivitou TPMT. U 95 % Kaukazoidov sú za deficit enzýmu TPMT najčastejšie zodpovedné iba štyri jednonukleotidové polymorfizmy. Alely znižujúce aktivitu tohto enzýmu sa označujú ako TPMT*2 (238G>C, Ala80Pro), TPMT*3A (460G>A, Ala154Thr a 719A>G, Tyr240Cys), TPMT*3B (460G>A, Ala154Thr) TPMT*3C (719A>G, Tyr240Cys).

V kaukazoidnej populácii má približne 90 % jedincov vysokú TPMT aktivitu a okolo 10 % ju má strednú. Jeden z tristo jedincov má nízku alebo nemerateľnú enzymovú aktivitu TPMT. Tento vrodený nedostatok enzýmu TPMT u homozygotných mutantov môže viesť pri terapii bežnými dávkami 6-MP, 6-TG a AZA až k vážnej myelosupresii a fatálnej he-

matopoetickej toxicite. Tiopurínové preparáty sa používajú pri liečbe detskej akútnej lymfoblastickej leukémie, akútnej myeloidej leukémii, z veľkej časti sa používajú pri imunosupresii pri autoimúnných ochoreniach, ako sú črevné zápaly, reumatoidná artritída, systémový lupus erythematosus, Crohnovej chorobe, skleróze multiplex a pri transplantácii orgánov. Cytotoxický efekt tiopurínových liečiv 6-TG, 6-MP a AZA nastáva po inkorporácii tio-deoxyguanozíntrifosfátu do DNA a tio-guanozíntrifosfátu do RNA.

Pacienti so zníženou aktivitou TPMT netolerujú bežné štandardné dávky chemoterapeutík 6-MP, 6-TG a AZA. Títo jedinci by mali mať upravenú dávku liečiva. V prípade mutantných homozygotov je štandardná dávka znížená len na 10–15 %. Týmto spôsobom sa u nich predchádza vzniku nežiaducich účinkov. Pokiaľ nie sú jedinci so zníženou TPMT aktivitou vystavení tiopurínovým liečivám nevyskytuje sa u nich žiadny prejav TPMT deficiencie.

Na základe populačnej analýzy kontrolnej skupiny (500 jedincov) sme zistili, že približne 4 % slovenskej populácie je v ohrození vzniku závažnej hematopoetickej toxicity po podaní tiopurínových preparátov. Takýmto jedincom je vhodné znížiť dávku liečiva alebo úplne zmeniť liečbu. Na našom pracovisku sme mali aj pacienta s homozygotnou mutáciou TPMT*3A/3A. U tohto pacienta sa vyskytli rôzne nežiaduce účinky až so život ohrozujúcim stavom po podaní štandardnej dávky AZA.

Aby sa zabránilo vzniku vedľajších účinkov pred terapiou 6-MP, 6-TG a AZA odporúča FDA (The Food and Drug Administration) genotypovanie TPMT ešte pred predpísaním tiopurínovej terapie.

Práca bola podporovaná Ministerstvom zdravotníctva Slovenskej republiky v rámci projektu Farmakogenetický prístup pri výbere terapie nádorov (MZ SR číslo 2007/39-FNSPBA-04).

Expression Profile of ABC Transporter Genes in Breast Carcinoma

Viktor Hlaváč¹, Radka Václavíková¹, Marie Ehrlichová¹, Ivona Hlavatá¹, Václav Pecha², Markéta Trnková³, Ivan Gut¹, Pavel Souček¹

¹Toxicogenomics Unit, National Institute of Public Health, Prague

²Department of Oncosurgery, Medicon, Prague

³Biolab Ltd., Prague

Background. Worldwide, breast cancer comprises the fifth most common cause of cancer-related deaths in women. Chemotherapeutic treatment is limited by the interindividual variability in drug response and by the development of resistance of cancer cells. ATP-binding cassette (ABC) transporters belong to a family of transporter proteins that contribute to drug resistance via ATP-dependent drug efflux pumps, e.g. P-glycoprotein. Gene expression-based assays have the potential to improve prognostic accuracy, treatment choice, and disease outcomes in women diagnosed with breast cancer. A major goal of our study is to search for candidate molecular markers with predictive potential in terms of chemotherapy outcome. We followed the expression and variability of ABC transporter genes and intended to evaluate their associations with clinico-pathological data including therapy outcome of individual patients.

Methods. Expression profile of all known forty nine human ABC transporter genes was evaluated in postoperative tissue samples from 65 breast cancer patients treated by FAC, FEC or taxane-based neoadjuvant chemotherapy regimens. Non-neoplastic adjacent tissue was available from 41 patients. Gene expression was assessed using real-time PCR with relative quantification. High Resolution Melting Analysis (HRM) was developed for the study of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *ABCB1*. HRM analysis was confirmed by direct sequencing.

Results. ABC transporters were expressed in the majority of samples (tumors and paired adjacent non-neoplastic tissues) with striking inter-individual variability. Thirteen ABC transporters were significantly downregulated in tumor tissues. On the other side, **nineteen ABC transporters were significantly upregulated in tumors** (*ABCA2*, *ABCA3*, *ABCA7*, *ABCA12*, *ABCB2*, *ABCB8*, *ABCB9*, *ABCB10*, *ABCC1*, *ABCC4*, *ABCC5*, *ABCC10*, *ABCC11*, *ABCC12*, *ABCD3*, *ABCF1*, *ABCF2* and *ABCG1*). Finally, **SNPs in *ABCB1* gene coding a prototypical anticancer drug efflux pump P-glycoprotein (1236C>T, Gly412Gly, rs1128503; 2677G>T/A, Ala893Ser/Thr, rs2032582 and 3435C>T, Ile1145Ile, rs1045642; all in strong linkage disequilibrium) were assessed by HRM with sensitivity 97.1% and accuracy 97.6%.** On the basis of the examined SNPs, one strong haplotype block containing rs2032582 and rs1128503 SNPs was identified. In addition, significant associations of rs2032582 SNP with stage, tumor size, expression of *HER2*, and family history of cancer were found. Significant associations of **ABCC8 transcript level with tumor grade, estrogen receptor (ER) expression (both $p < 0.001$), Ki67 protein expression ($p=0.032$) and response to chemotherapy ($p = 0.025$)** were found. **ABCA13 level significantly associated with ER expression and tumor grade.** ER expression also associated with *ABCC10*, *ABCC13* and *ABCD4* transcript levels.

Conclusions. Our results revealed new candidate genes potentially causing the multidrug resistance of mammary tumors. Validation study on these candidates will be performed by absolute quantification in an independent patient cohort. The association of expression profiles with therapy outcome and disease-free survival will also be analyzed. In addition, new HRM method that seems to be rapid, accurate and cost-effective as well as time-effective was developed for screening of functional *ABCB1* SNPs and can analogously be applied to other ABC gene(s).

This work was supported by grants of Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic, grants no.: NS9803-3 and NS9799-4.

High-throughput SNPs genotyping analyzes in children diagnosed with asthma bronchiale

Nana Tabashidze, Pavel Rössner jr., Jan Topinka, Miroslav Dostál, Radim J. Šrám

*Institute of Experimental Medicine,
Czech Academy of Science, Prague*

Asthma bronchiale likely results from a complex interplay between genetic and environmental factors. The purpose of this study was to evaluate a possible association of a group of single nucleotide polymorphisms (SNPs) with asthma bronchiale in children. We investigated 385 SNPs in samples from 354 children aged 6-15 years, from the polluted area of the City of Ostrava (Bartovice) and the rural towns of the Czech Republic: Prachatice, Vimperk, Vlachovo Brezi and Netolice. Air quality (PM_{2.5}, c-PAHs) was continuously monitored in both regions. SNPs were selected from the Cancer Genome Anatomy Project SNP500 Cancer Database. The custom made panel contains representatives from 4 groups of genes: xenobiotic metabolism and detoxification genes, DNA repair genes, genes that mediate immune and inflammatory responses and genes that are involved in oxidative processes. The assay was performed on DNA samples extracted from children's saliva; genetic polymorphisms were assessed using the Illumina BeadStation 500 System. The data were analyzed using the Illumina BeadStudio software. We found 45 SNPs statistically significantly associated with asthma. The statistically significant SNPs from rural towns and Ostrava are distinctive. Statistically significant SNPs were associated with asthma from Ostrava children

group: CYP1A1-01 rs1048943, EPHX1-14 rs2671272, EPHX1-20 rs2854455, ERCC2-06 rs238406, ERCC2-09 1799787, IFNG -07 rs1861494, IL13-02 rs1881457, LIG1-29 rs156641, TOLLIP-04 rs5743867. Obtained results indicate there may be some specific SNPs associated with asthma bronchiale from air polluted area Ostrava.

Supported by the Czech Ministry of Environment SP/1b3/50/07 and Czech Academy of Sciences AVOZ50390512.

Interleukin-1 gene variations in post-orthodontic external root resorption

Petra Linhartová^{1,2}, Pavlína Černochová²,
Martina Raudenská¹, Jolana Lipková¹,
Lydie Izakovičová Hollá^{1,2}

¹Department of Pathophysiology,

Faculty of Medicine Masaryk University, Brno, Czech Republic

²Clinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, Faculty of Medicine Masaryk University, Brno, Czech Republic

External apical root resorption (EARR) is a permanent shortening of the end of the tooth root. EARR is a common clinical complication of orthodontic treatment and is known to occur after trauma and in response to inflammation. Polymorphisms in the interleukin-1 (IL-1) genes play a role in the inflammatory diseases through the modulation of cytokine levels. The aim of this study was to associate two single nucleotide polymorphisms (SNPs) and one variable number of tandem repeats (VNTR) polymorphism in IL-1 with EARR in the Czech population. In this case-control association study, 32 patients with EARR (age 15.3 ± 5.4 years) and 76 controls (age 15.1 ± 4.0 years) were genotyped using methods based on PCR for IL-1 gene polymorphisms [IL-1 α (-889C/T), IL-1 β (+3953C/T), and IL-1RN (IL-1 receptor antagonist, VNTR)]. While no statistical significant association was found in the genotype and allele frequencies of IL-1 α (-889C/T) and IL-1 β (+3953C/T) between patients with EARR and controls, marginally significant differences were observed in the genotype and allele frequencies of IL-1RN ($p = 0.08$ and $p = 0.07$, respectively). Highly significant differences of genotype and allele distributions were identified between patients with EARR and controls in the subgroup of women ($p = 0.004$ and $p = 0.02$, respectively). Although no significant role of IL-1 α (-889C/T) and IL-1 β (+3953C/T) variants in EARR was confirmed, our results suggest that IL-1RN VNTR may be associated with EARR, especially in women.

This study was supported by projects 1M0528 and IGA NT11405-6.

Komplexní genetická analýza u dětí s mentální retardací a opožděným PMR vývojem

Kateřina Hirschfeldová¹, Věra Kebrdlová¹,
Romana Mihalová¹, Jitka Štekrová¹, Petr Lněnička¹,
Roman Šolc¹, Vladimíra Vranová², Alice Baxová¹

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

²Oddělení lékařské genetiky, Dětská nemocnice FN, Brno

Chromozomální přestavby jsou nejčastější známou příčinou mentální retardace. Nicméně, rozsah takových přestaveb bývá většinou pod hranicí rozlišitelnosti standardních cytogenetických metod. V těchto případech nacházejí své uplatnění moderní metody molekulární cytogenetiky a molekulární genetiky.

Projekt zpracoval soubor pacientů s diagnostikovanou mentální retardací případně opožděným psychomotorickým vývo-

jem v kombinaci s alespoň jedním z následujících symptomů: novorozenecká hypotonie, vrozené vývojové vady, dysmorfie obličeje. Soubor tvořilo 80 nepříbuzných probandů a 10 rodinných příslušníků. Proband byl zařazen do studie na základě genetické konzultace provedené zkušeným specialistou na Oddělení lékařské genetiky (OLG) ve spolupráci s Klinikou dětí a dorostu (KDDL) a Neurologickou klinikou 1. LF UK a VFN v Praze. U všech probandů byla provedena analýza pomocí metody MLPA, která zahrnovala detekci nejčastějších mikrodelečních syndromů a analýzu subtelomerických oblastí. Doplňujícím vyšetřením byla analýza HRT, CGH, arrayCGH a FISH, které byly provedeny jen u vybraného vzorku pacientů.

Kryptická přestavba byla nalezena u celkem 12 nepříbuzných probandů (15 %). Jednalo se o tři duplikace a devět delecí. S výjimkou probanda s delecí MD15, který byl detekován metodou HRT a arrayCGH (klasická CGH analýza byla nejednoznačná), byly všechny nalezené kryptické přestavby detekovatelné MLPA analýzou. Vedle dobře charakterizovaných syndromů byly zachyceny i méně časté přestavby, jejichž asociace s fenotypem probanda není jednoznačná. Žádná z použitých metod nebyla schopna zachytit všechny nalezené přestavby.

Ze studie vyplývá, že některé přestavby, především duplikace, jsou asociovány s nejasným fenotypem a jejich frekvence v populaci může být podhodnocena a současně stanovuje vyšetření metodou MLPA pro daný soubor jako nejefektivnější pro běžnou rutinní praxi.

Studie probíhala za podpory grantu IGA MZCR NS/103273/2009.

Korelace IgVH mutačního statusu a charakteristických chromozomových aberací u pacientů s B-CLL

Barbora Roszková¹, Aneta Strnková¹,
Veronika Hodslavská¹, Petra Cibulková¹, Martina
Stoklasová¹, Radmila Richterová¹, Martin Brejcha¹,
Marek Wróbel¹, Drahomíra Klodová¹,
Jaromír Gumulec², Cecília Bodzasová²,
Vladimíra Hejzlová³

¹Komplexní onkologické centrum, Nový Jičín

²Fakultní nemocnice, Ostrava

³Slezská nemocnice, Opava

B-buněčná chronická lymfocytární leukémie (B-CLL) je nejčastěji se vyskytující leukémií v dospělé populaci západního světa. B-CLL je charakterizována značně proměnlivými klinickými příznaky a rozdílnou prognózou pro jednotlivé pacienty. V některých případech je průběh onemocnění mírný, u jiných pacientů naopak probíhá nemoc agresivně, rychle progreduje a výrazně zkracuje předpokládanou délku života. Pro posouzení, jak rychle bude nemoc postupovat a nakolik bude agresivní, je proto důležité stanovit u jednotlivých CLL pacientů individuální prognózu, na základě které se aplikuje příslušná léčba.

Existuje řada prognostických markerů, které se k tomuto účelu využívají, nicméně nezastupitelnou roli v tomto ohledu hrají molekulárně biologické a cytogenetické prognostické markery. K těm patří zejména stanovení mutačního statusu variabilní části těžkého řetězce imunoglobulinu (IgVH) a určení přítomnosti charakteristických chromozomových změn.

V rámci Komplexního onkologického centra Nový Jičín jsou tato prognostická kritéria stanovována nezávisle na sobě ve dvou laboratořích, a to v Laboratoři molekulární biologie a Cytogenetické laboratoři. Cílem této práce je v rámci našeho centra charakterizovat u vybrané skupiny 182 pacientů korelaci mezi IgVH mutačním statusem a chromozomovými aberacemi vzhledem k předpokladům pozitivní či negativní prognózy.

Molekulárně-genetická diagnostika genodermatóz

Marie Chovančíková¹, Lenka Kopečková¹,
Lukáš Tichý¹, Hana Bučková², Renata Gaillyová³,
Lenka Fajkusová¹

¹Centrum molekulární biologie a genové terapie FN, Brno

²Kožní oddělení 1. pediatrické kliniky FN, Brno

³Oddělení lékařské genetiky FN, Brno

Genodermatózy dětského věku jsou charakteristické velkou variabilitou a genetickou heterogenitou. V etiopatogenezi studovaných dermatóz se uplatňuje geneticky podmíněná porucha keratinizace a kornifikace, doprovázená abnormální epidermální diferenciací a deskvamací. Výzkum patologických mechanismů genodermatóz v nedávné době výrazně pokročil a vedl k identifikaci několika kauzálních genů.

Naše pracoviště úzce spolupracuje s dětskou klinikou FN Brno a patologicko-anatomickým ústavem Fakultní nemocnice u sv. Anny na problematice epidermolysis bullosa. V nedávné době byla tato spolupráce rozšířena o molekulárně-genetické vyšetření dalších genodermatóz. Byla zavedena diagnostika incontinentia pigmenti a tří typů ichtyóz: ichtyózy vulgaris, lamelární ichtyózy a X-vázané recesivní ichtyózy. Incontinentia pigmenti je neuroektodermální onemocnění způsobené mutací NEMO genu lokalizovaném na Xq28. Onemocnění má dominantní dědičnost s vazbou na pohlaví. Ichtýóza vulgaris je nejčastějším typem ichtyóz s autozomálně semidominantním typem dědičnosti, je podmíněna mutacemi v genu pro filaggrin (FLG). V současné době provádíme vyšetření dvou prevalentních mutací FLG genu popisovaných v evropské populaci (p. R501X a c.2282del4) sekvenční analýzou. X-vázaná recesivní ichtýóza je způsobena parciální nebo úplnou delecí genu pro steroidní sulfatázu, který je lokalizován na Xp22.3. Lamelární ichtýóza je podmíněna mutacemi v jednom ze šesti genů, dědičnost onemocnění je autozomálně recesivní. V současné době sledujeme mutace genu pro transglutaminázu 1 sekvenční analýzou.

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

Molekulárně-genetická diagnostika Prader-Williho syndromu – kazuistika

Jarmila Valečková¹, Lucie Brychová¹, Jana Zvolská²,
Sylwia Walczysková¹, Šárka Hilscherová¹,
Lucie Kalužová¹, Eva Šilhánová¹

¹Oddělení lékařské genetiky FN, Ostrava

²Klinický genetik, Mephacentrum, Ostrava

Prader-Williho syndrom (PWS, MIM#176270) je způsoben ztrátou funkce paternálně exprimovaných genů v oblasti 15q11-q13 (o velikosti ~4 Mb). Incidence tohoto onemocnění se pohybuje od 1/12 000 až 15 000 (u obou pohlaví, všech ras). V klinickém obraze převažuje po narození výrazná hypotonie, neprosívání v útlém dětství, hypogonadismus, malé dlaně a chodidla, hyperfagie v dětství s následnou obezitou (patří k nejčastějším syndromologickým příčinám obezity u dětí) a mentální retardace různého stupně. Příčinou PWS je v 70 % případů intersticiální *de novo* delecce, uniparentální disomie – 25 %, chybný imprint – méně než 5 % (v důsledku mutace nebo delecce imprintingového centra) a vzácně může být příčinou chromozomová translokace (méně než 1 %). Byly popsány také duplikace této oblasti, obecně pacienti s duplikacemi maternálního původu trpí autismem nebo onemocněními spojenými s autismem (neúplná penetrance). Duplikace paternálního původu bývají spojovány s téměř normálním fenotypem. Riziko rekurence je zanedbatelné (< 1 %).

Prezentujeme kazuistiku 14leté dívky, která byla odeslána pediatrem ke klinickému genetickovi z důvodu malého vzrůstu, lehkého mentálního defektu a autoimunní tyreoiditidy. Pacientka po narození nebyla hypotonická a neměla poruchu sání; není obézní. Na základě cytogenetického vyšetření bylo vysloveno podezření na duplikaci v oblasti chromozomu 15q11-13 a dále bylo indikováno cílené vyšetření PWS. Pacientka nese *de novo* duplikaci oblasti 15q11-q12 maternálního původu.

Ačkoliv maternální duplikace oblasti 15q11.2-q13 jsou spojeny s opožděným vývojem a autistickým chováním, oproti téměř normálnímu fenotypu při duplikaci paternálního původu, naše pacientka má pouze mírné fenotypové znaky PWS. Klinická heterogenita mezi jedinci se stejnou duplikací naznačuje přítomnost jiných genetických nebo epigenetických faktorů, jež ovlivňují expresi genů v této oblasti.

Mutace v KRAS, BRAF a PIK3CA genu u pacientů s kolorektálním karcinomem

Jarmila Šimová^{1,2}, Barbora Kubová¹,
Magdalena Uvířová^{1,2}, Irena Urbanovská¹,
Michaela Jalůvková¹, David Konvalinka¹,
Iveta Žebráková¹, Jana Dvořáčková²

¹CGB laboratoř a.s., Laboratoř molekulární genetiky a patologie, Ostrava

²Lékařská fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava

Úvod. Kolorektální karcinom (CRC) patří celosvětově k nejrozšířenějším nádorovým onemocněním. Až u jedné čtvrtiny nemocných jsou v okamžiku stanovení diagnózy přítomny metastázy. Léčebné možnosti zahrnují chirurgické odstranění nádoru, radioterapii, chemoterapii a také tzv. cílenou biologickou léčbu. Cílená biologická léčba vyžaduje identifikaci genetických změn, které mohou predikovat účinnost této cílené léčby a tak pomoci s výběrem pacientů, kteří mohou profitovat z této léčby. V současnosti je pro cílenou biologickou léčbu metastatického CRC (mCRC) monoklonálními protilátkami proti EGFR (cetuximab, resp. panitumumab) vyžadováno vyšetření mutačního statusu genu KRAS. Přesto 50–60 % pacientů s KRAS wild-type je rezistentních na léčbu pomocí anti-EGFR. Současné poznatky naznačují, že poškození dalších proteinů v EGFR signální dráze, jako například BRAF proteínu a deregulace PI3K/PTEN signální dráhy mohou vést k rezistenci na anti-EGFR terapii.

Metodika. Nádorová DNA pacientů s CRC byla izolována převážně z parafinových bloků s největším zastoupením nádorové tkáně a s přesným označením lokalizace nádoru, případně z nativní nebo fixované nádorové tkáně. Stanovení přítomnosti mutací v kodonu 12 a 13 K-ras genu provádíme zejména metodou PCR a reverzní hybridizace (KRAS Strip Assay, ViennaLab). Analýzu mutace V600E v BRAF genu a mutací v exonu 9 (E542K, E545G, E545K) a exonu 20 (H1047R) v PIK3CA genu provádíme pomocí sekvenčně specifické PCR, primer extension analýzy (SNAPshot assay), přímého sekvenování a real-time PCR.

Výsledky. Retrospektivně byl na přítomnost vybraných mutací v KRAS, BRAF a PIK3CA genu analyzován soubor 221 vzorků nádorových DNA pacientů s CRC. Mutace v KRAS genu byly detekovány u 79/221 pacientů (35,7 %). Mutace V600E v BRAF genu u 11/221 pacientů (5 %). Mutace v PIK3CA genu u 15/221 pacientů (6,8 %) – v exonu 9 u 8/221 pacientů (3,6 %) a v exonu 20 u 7/221 pacientů (3,2 %). Mutace v KRAS a BRAF genu se nevyskytovaly současně. U 8/221 (3,6 %) se vyskytovala mutace v KRAS a PIK3CA současně. V jednom případě (0,5 %) byla rovněž detekována přítomnost mutace BRAF současně s mutací v exonu 20 PIK3CA genu.

Závěr. Frekvence mutací v KRAS a BRAF genu korelují s publikovanými údaji. Stejně tak koreluje koexistence PIK3CA mutací s mutacemi v KRAS nebo BRAF genu a výlučnost sou-

časného výskytu mutací KRAS a BRAF genu. Frekvence výskytu mutací v PIK3CA genu je v našem analyzovaném souboru nižší (cca 7%), než je publikovaná frekvence uváděná v literatuře (10–30 %). V personalizované protinádorové terapii mCRC, s objevem řady nových potenciálně účinných inhibitorů proteinů signální dráhy EGFR receptoru (MAPK2K, BRAF, PI3K a mTOR inhibitory), nabývá na významu nejen stanovení mutačního statutu KRAS genu, ale i genetické profilování nádoru o další potenciální markery. Po ověření by mohly tyto markery v budoucnu poskytnout účinný nástroj nejen pro výběr pacientů, kteří mohou profitovat z cílené biologické léčby, ale i stanovení efektivní strategie a volby léčebného postupu u pacientů s CRC.

Mutační analýza genu NPHS2 u pacientů s nefrotickým syndromem

Lena Obeidová², Hana Šafránková¹,
Jana Reiterová^{1,2}, Petr Lněnička², Jitka Štekrová²,
Milada Kohoutová², Vladimír Tesař¹

¹Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

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

Nefrotický syndrom (NS) je charakterizován únikem proteinů do moči, zvýšenou hladinou cholesterolu v těle a vznikem otoků. Přibližně 10 % dětských a 50 % dospělých pacientů s idiopatickým NS neodpovídá na imunosupresivní léčbu a během 7 let se u nich vyvine konečné selhání ledvin. V těchto případech biopované ledviny typicky prezentují fokální segmentální glomerulosklerózu (FSGS) či minimální změny glomerulů (MCD). U pacientů bylo zatím identifikováno sedm genů kódujících podocytární proteiny, jejichž mutace způsobují NS. Mezi tyto geny patří i *NPHS2*, který kóduje s rafty asociovaný podocytární protein, jenž hraje roli mimo jiné v mechanosenzorické signalizaci, udržování polaritu podocyty a organizaci cytoskeletu.

V rámci projektu byla provedena mutační analýza genu *NPHS2* u 74 pacientů s NS, u kterých byla histologicky ověřena diagnóza FSGS či MCD z biopovaných vzorků. Analýza se prováděla buďto metodou PCR, či analytickou metodou high resolution melting (HRM) s následnou přímou sekvenací. V souboru byly nalezeny čtyři záměny, které vyúsťují ve změnu aminokyseliny. Jsou to popsané záměny p.Val290Met, polymorfismy p.Pro20Ser a p.Arg229Gln a dále ještě nepopsaná záměna p.Gly97Ser. Pro 3 z nich (p.Pro20Ser, p.Gly97Ser, p.Arg229Gln) pak byla provedena analýza u 200–300 zdravých kontrol pro určení jejich kauzality. Nově popsaná mutace p.Gly97Ser nebyla nalezena u žádné zdravé kontroly, ovšem nachází se v místě genu, které není konzervativní.

Práce je podporována grantovým projektem IGA MZ ČR NS/9779-4.

Mutational Analysis of the TRPC6 Gene in Czech Adult Patients with Steroid-sensitive and Steroid-resistant Idiopathic Nephrotic Syndrome

Jana Reiterová^{1,2}, Lena Obeidová², Jitka Štekrová²,
Petr Lněnička², Vladimír Tesař¹

¹Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

²Laboratoř molekulární diagnostiky ÚBLG 1. LF UK a VFN, Praha

Background. Focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) and minimal change disease (MCD) are frequent causes of nephrotic syndrome (NS). About 50% of patients are resistant to immunosuppressive therapy and progress to chronic renal insufficiency. TRPC6 mutations are the cause of idiopathic NS in about 2–7% of steroid-resistant patients. 11 different TRPC6 gene mutations were identified. These mutations lead to a la-

te onset kidney disease and a variable rate of progression to end stage renal disease. The aim of the study was the identification of mutations/polymorphisms in adult patients with FSGS/MCD in the Czech Republic.

Methods. 40 patients (22 females, 18 males) with steroid-resistant FSGS/MCD and 44 patients (22 females, 22 males) with steroid-sensitive FSGS/MCD were studied. Renal biopsy with the histological finding of FSGS/MCD was performed in the years 2004–2008. The mean age of the onset of NS was 39 ± 20.7 years. Family history for proteinuria was positive in 3 patients. 300 healthy Czech individuals formed control group with mean age 58.4 ± 19.5 years. High resolution melting analysis (HRM) was established for all 13 exons and intron-exon boundaries of the TRPC6 gene. Suspected samples were analysed by direct sequencing on ABI Prism™ 3130 and by amplicon sequencing on Roche GS Junior.

Results. Two polymorphisms were described: in exon 1 C43T (P15S) with prevalence 32.5% of heterozygotes and in exon 4 C1211T (A404V) with prevalence 20% of heterozygotes (1% of T/T homozygotes) in patients with steroid-resistant FSGS/MCD. The prevalence of heterozygotes in steroid-sensitive patients was 13.9% for C43T polymorphism and 29.5% for C1211T polymorphism. The prevalence of heterozygotes in control group was 16.5% for C43T and 20.5% for C1211T (2.5% of T/T homozygotes). T allele of C43T polymorphism in exon 1 was significantly more frequent in patients with steroid-resistant FSGS/MCD (χ^2 , $p < 0.05$).

Conclusions. TRPC6 gene mutations are rare causes of FSGS/MCD in adult patients in Czech Republic. The C43T polymorphism could have some influence on the therapeutic response and progression of the disease.

Supported by grant project IGA NS 9779-4 and by research project ZZ MSMT 0021620806.

Pompeho choroba-možnosti diagnostiky v Slovenskej republike

Slavomíra Mattošová¹, Anna Hlavatá², Peter Špalek³,
Danka Maceková¹, Ján Chandoga¹

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava, Slovenská republika

²II. Detská klinika LF UK a DFNSP, Bratislava, Slovenská republika

³Centrum pre neuromuskulárne ochorenia, Neurologická klinika SZU a FNSP Ružinov, Bratislava, Slovenská republika

Pompeho choroba (glykogenóza typu II) je autozómovo recesívne ochorenie spôsobené deficienciou enzýmu α -glukozidázy (kyslej maltázy). Deficit tohto enzýmu vedie k akumulácii glykogénu v rôznych tkanivách, najviac je však postihnuté kostrové svalstvo. Z hľadiska veku a klinických prejavov ochorenie delíme na infantilnú, juvenilnú a adultnú formu. Medzi jednotlivými formami sú však plynulé prechody. Klasická, infantilná forma je tiež najťažšou formou. Manifestuje sa v novorodeneckom, resp. včasnom dojčenskom veku, rýchlo progreduje a temer obligátne končí úmrtím ešte okolo 1. roku života v dôsledku kardiopulmonálneho zlyhania. Tieto deti majú výraznú svalovú hypotoniu a závažnú hypertrofickú kardiomyopatiu. Juvenilná forma sa manifestuje oneskorením psychomotorického vývoja, závažnou slabosťou proximálneho končatinového svalstva, trupového svalstva a respiračného svalstva. Pribeh myopatie je postupne progresívny a končí úmrtím – respiračným zlyhaním v 2. alebo 3. dekáde života. Adultná forma sa manifestuje v 2. až 6. dekáde života, tiež je obmedzená na svaly a je podobná iným myopatiám. Pomaly progresívna slabosť svalov panvového pletenca, paraspinalných svalov a bránice imituje pletencové formy svalovej dystrofie alebo polymyozitídy. Spôsobuje závažné telesné postihnutie, ale postihnutie myokardu je nevýrazné alebo chýba. Gén pre α -glukozidázu sa nachádza na chromozóme 17. Obsahuje 20 exónov a bolo v ňom popísaných približne 300 roz-

ličných mutácií. Najčastejšia mutácia u kaukajskej populácie je bázová substitúcia v intróne 1 c.-32-13T>G (IVS1-13T>G). Táto mutácia sa nachádza u približne 70 % pacientov s adultnou formou Pompeho choroby.

Na príklade dvoch pacientok s adultnou formou Pompeho choroby prezentujeme dostupné diagnostické možnosti u slovenských pacientov zachytených selektívnym skríningom metódou suchej kvapky krvi. U pozitívnych pacientov následná diagnostika spočíva v stanovení celkových enzýmových aktivít v izolovanej suspenzii leukocytov a po inhibícii akarbózou. Molekulárno-genetickým vyšetrením pomocou PCR-RFLP sme potvrdili prítomnosť najčastejšej mutácie IVS1-13T>G. Pomocou tejto metódy sme u jednej pacientky zistili prítomnosť danej mutácie v homozygotnom stave, u druhej pacientky v heterozygotnom stave. Danú mutáciu sme tiež potvrdili sekvenčnou analýzou.

Štandardná enzymologická diagnostika Pompeho choroby je v SR dostupná, pri požadovaní vyšetrenia je však nevyhnutné dodržiavať predanalytické zásady pre odber (množstvo krvi) a transport vzorky. Vzhľadom na vysoký podiel mutácie IVS1-13T>G, je indikované molekulárno-genetické vyšetrenie tejto mutácie ako prvý krok. Komplexná diagnostika ochorenia vyžaduje sekvenčnú analýzu génu, ktorá identifikuje možné mutácie v 20 exónoch.

Srovnání metod používaných při diagnostice mutací genu KRAS a EGFR u kolorektálního karcinomu (CRC) a nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC)

Monika Bajerová¹, Blanka Robešová¹, Lenka Ostřížková¹, Dagmar Brančíková¹, Jana Skříčková², Marcela Tomášková², Jitka Kyclová³, Jitka Hausnerová³, Jiří Mayer¹, Dana Dvořáková¹

¹Interní hematologická klinika LF MU a FN, Brno

²Klinika nemocí plicních a tuberkulózy FN, Brno

³Ustav patologie FN, Brno

Úvod. Mutovaný stav genu KRAS je uváděn u 40 % CRC pacientů. Mutace jsou spojovány s negativní prognózou pacienta ve vztahu k cílené léčbě monoklonálními protilátkami. U NSCLC pacientů je analyzován mutační stav genu EGFR a tyto mutace jsou spojovány s predikcí lepší odpovědi na léčbu EGFR tyrozinkinázovými inhibitory. Frekvence mutací EGFR je kolem 10 %. Stanovení uvedených aktivačních mutací je nezbytným předpokladem zahájení individuální cílené terapie.

Cíl. Provést srovnání dostupných laboratorních technik pro stanovení aktivačních mutací KRAS a EGFR genu z hlediska senzitivity, metodické a finanční náročnosti.

Metody. Pro izolaci genomové DNA byl použit QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN). Výchozím materiálem je formalíne fixovaná tkáň zalitá do parafinu (FFPE) po morfologické konfirmaci na pracovišti patologie. Pro detekci bodových změn v kodonu 12 a 13 genu KRAS jsou zavedeny metody: HRM (high resolution melt), přímá sekvenace a StripAssay PGX K-ras (ViennaLab) (10 mutací v kodonu 12 a 13). Pro mutační analýzu genu EGFR metody: fragmentační analýza FA (exon 19), alelická diskriminace AD (L858R exon 21), přímá sekvenace (exon 19 a 21) a PNA Clamp EGFR Mutation Detection Kit (PANAGENE) (29 somatických mutací v exonech 18-21). Metody jsou validovány externí kontrolou kvality (UK NEQAS).

Výsledky. Mutační analýza genu KRAS byla v období XI/2009-X/2011 provedena u 119 FFPE vzorků (85 pacientů) se zachytem 47 pozitivních vzorků (37 pacientů). Metodou HRM byla detekována mutace ve vzorcích 34 pacientů. U vzorků s více než 40% zastoupením nádorových buněk byl typ záměny specifikován přímou sekvenací. U vzorků tří pacientů byla záměna detekována pouze StripAssay PGX K-ras (ViennaLab). Bylo zachyceno pět typů bodových změn v ko-

donu 12 a 1 v kodonu 13. Citlivost HRM dosahuje 10 %, přímé sekvenování 25 %, StripAssay PGX K-ras (ViennaLab) 2 %.

Mutační status genu EGFR byl v období X/2010-X/2011 analyzován u 105 FFPE vzorků (100 pacientů). Bylo detekováno 10 aktivačních mutací: 3/100 (delece v exonu 19), bodové záměny: 1/100 (exon 18), 1/100 (exon 20) a 5/100 (exon 21). Citlivost metod pro detekce delecí v exonu 19: FA 5 %, přímé sekvenování 10 %. Detekční limit pro záchyt L858R v exonu 21: AD 5 %, přímé sekvenování 25 %. Citlivost PNA Clamp EGFR Mutation Detection Kit je 2,5 %. Frekvence zachycených mutací odpovídá očekávaným četnostem: 37/85 pacientů (43,5 %) u KRAS a 10/100 pacientů (10 %) u EGFR.

Závěr. Uvedené techniky jsou vhodné pro rutinní genetickou analýzu mutací genu KRAS i EGFR. Jsou dostatečně senzitivní i robustní. Zařazení kitů zvyšuje senzitivitu záchytu mutací. Výhodou StripAssay PGX K-ras (ViennaLab) kitu je vysoká citlivost, široké spektrum zachycených mutací a malé množství vstupní DNA. Nevýhodou je vyšší náročnost provedení. U PNA Clamp EGFR Mutation Detection Kit (PANAGENE) je předností rychlost provedení a počet detekovatelných mutací, nevýhodou nutnost velkého množství testovaného materiálu. Použití kitů zvyšuje finanční náklady oproti standardním metodám.

Transcript levels of caspase-2 isoforms S and L in breast cancer patients

Veronika Brynychová^{1,2}, Viktor Hlaváč^{1,2}, Marie Ehrlichová¹, Radka Václavíková¹, Václav Pecha³, Markéta Trnková⁴, Martin Wald⁵, Marcela Mrhalová⁶, Kateřina Kubáčková⁷, Tomáš Píkus⁷, Roman Kodeš⁶, Jan Kovář⁸, Pavel Souček¹

¹Toxicogenomics Unit, National Institute of Public Health in Prague, Prague

²Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague

³Department of Oncosurgery, Medicon Inc., Prague

⁴Biolab Ltd., Prague

⁵Department of Surgery, Motol University Hospital, Prague

⁶Department of Pathology and Molecular Medicine, Motol University Hospital, Prague

⁷Department of Oncology and Radiotherapy, Motol University Hospital, Prague

⁸Department of Cell and Molecular Biology, Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Caspase-2 (CASP2, OMIM: 600639) is a member of the cysteine-aspartic acid protease family involved in the apoptotic cascade. Alternative splicing of caspase-2 transcript leads to the formation of two mRNAs encoding a long caspase-2L and a short caspase-2S protein with antagonistic effects on apoptosis. An important role of caspase-2 in apoptosis induced by taxanes, used for treatment of breast cancer, was suggested. The aim of our study was to assess transcript levels of caspase-2L and S isoforms in tumor and control tissues from breast cancer patients and evaluate prognostic potential of caspase-2L, S and their ratio. Novel and specific methods for real-time PCR-based absolute quantification of caspase-2L and S transcripts were developed for this purpose.

The absolute level of caspase-2L transcript was significantly higher in tumors vs. control tissues of the general set (unselected patients, n = 50, p = 0.001) but not of the neoadjuvant set (neoadjuvantly treated patients, n = 33). Caspase-2S transcript level did not significantly differ between tumor and control tissues in both sets. However, the caspase-2S/L transcript ratio was significantly lower in tumors compared to the controls in both sets (p = 0.001). A significantly higher caspase-2S transcript level in premenopausal vs. postmenopausal patients was observed in both sets (p = 0.010, p = 0.043, respectively). Patients with high caspase-2S/L

transcript ratio had significantly more frequently larger tumors in the general ($p = 0.028$) but not in the neoadjuvant set. Patients with the caspase-2S/L transcript ratio above or equal the cut off had worse progression-free survival than patients with the ratio below cut off ($p = 0.058$).

In conclusion, our data suggest that caspase-2S/L transcript ratio rather than individual transcript levels should be further studied in terms of prognosis of breast cancer patients.

This study was supported by the grant of the Czech Science Foundation, no.: GACR 301/09/0362.

Výskyt polymorfizmov A388G a C463A v géne *SLCO1B1* u pacientov s diabetes mellitus

Michaela Jurkovičová^{1,2}, Ján Chandoga¹

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava, Slovenská republika

²Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava, Slovenská republika

SLCO1B1 gén je lokalizovaný na krátkom ramene 12 chromozómu a skladá sa z 15 exónov. Produktom spomínaného génu je transmembránový proteín OATP1B1 lokalizovaný na bazolaterálnej časti hepatocytov. Zabezpečuje vychytávanie širokej škály endogénnych substrátov, ako sú bilirubín, žlčové kyseliny, konjugáty steroidných hormónov, a taktiež niektorých liekov, ako sú napríklad statíny, fexofenadín, rifampicín, lopinavir, bosentan a irinotekan. V géne *SLCO1B1* bolo popísaných niekoľko polymorfizmov, ktoré by mohli spôsobovať moduláciu transportnej aktivity OATP1B1 proteínu. V niektorých štúdiách sa uvádza, že polymorfizmy A388G a C521T v géne *SLCO1B1* sú spojené so zvýšením rizika nežiadúcich účinkov statínov. Statíny patria medzi skupinu liekov, ktoré sú schopné inhibovať aktivitu β -HMG-CoA reduktázy, enzýmu určujúceho rýchlosť syntézy cholesterolu. S inhibíciou HMG-CoA je spojená aj znížená tvorba koenzýmu Q_{10} , ktorý je dôležitou zložkou bunkového metabolizmu a zabezpečuje stabilitu bunkových membrán. Pri jeho deficite sú myocyty náchylnejšie na poškodenie (myopatie).

V našej štúdií sa zaoberáme dvomi polymorfizmami A388G a C463A nachádzajúcimi sa v exóne 4 génu *SLCO1B1*. Analyzovali sme 103 pacientov s diabetes mellitus (DM) na prítomnosť spomínaných polymorfizmov. Pomocou PCR-RFLP analýzy sme zistili jednotlivé zastúpenie daných polymorfizmov u jedincov s diabetes mellitus. Frekvencia polymorfizmu A388G bola 19 %. Frekvencia polymorfizmu C463A bola 1%. Vzhľadom na vysoký výskyt polymorfizmu spojeného s rizikami statínovej terapie (19%) a častou preskripciou týchto farmák u pacientov s DM by bolo vhodné pred podaním týchto liečiv uvažovať o indikácii molekulárno-genetického vyšetrenia polymorfizmov v géne *SLCO1B1*.

X-viazané adrenoleukodystrofie v SR

Robert Petrovič, Mária Fischerová, Janka Konkolová, Ján Chandoga, Daniel Böhrer

Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Odd. molekulovej a biochemickej genetiky, Bratislava, Slovenská republika

Peroxizómy sú subcelulárne štruktúry, ktoré sa nachádzajú u eukaryotických mikroorganizmov a vo väčšine buniek živočíšneho alebo rastlinného pôvodu. Metabolické funkcie peroxizómov zahŕňajú oxidáciu širokého spektra látok za prítomnosti kyslíka. Z hľadiska bunkovej patológie sú najvýznamnejšie procesy α - a β -oxidácie karboxylových kyselín, zvlášť významná je β -oxidácia karboxylových kyselín s veľmi dlhým reťazcom (VLCFA), ktorá prebieha výlučne v peroxizódoch.

Mutácie peroxizómových génov spôsobujú závažné metabolické poruchy. V súčasnosti sú známe takmer dve desiatky peroxizómových dedičných ochorení. Najfrekvencovanejším peroxizómovým ochorením je *X-viazaná adrenoleukodystrofia* s frekvenciou výskytu 1 : 10 000–20 000 chlapcov. Vyznačuje sa recesívnym typom dedičnosti viazaným na X-chromozóm. Toto ochorenie je spôsobené nefunkčnosťou génu *ABCD1*, ktorého produktom je transmembránový proteín (75kDa) patriaci k ATP-viažucim kazetovým (ABC – ATP binding cassette) transportérom.

X-adrenoleukodystrofia ma viacero klinických fenotypov s prejavmi v detskom, adolescentnom a adultnom veku. Existuje taktiež aj klinicky menej závažná forma, ktorá sa manifestuje až v dospelom veku – adrenomyeloneuropatia.

V diagnostike peroxizómových dedičných ochorení sa využívajú biochemické a molekulárno-genetické metódy, ktoré zachytia viaceré abnormality a zmeny prejavujúce sa na rôznych úrovniach postihnutého organizmu. Táto škála metód umožňuje nielen postnatálnu, ale aj prenatálnu diagnostiku. Na našom pracovisku, sa podarilo komplexnou diagnostikou v priebehu posledných desať rokov zachytiť 14 rodín s X-ALD a odhaliť aj 4 nové, doposiaľ nepopísané mutácie v géne *ABCD1*. Taktiež sme uskutočnili genetické vyšetrenia u rodinných príslušníkov postihnutých a niekoľko prenatálnych diagnostík.

Práca bola podporovaná Ministerstvom zdravotníctva Slovenskej republiky v rámci projektu "Vypracovanie a translácia laboratórných, klinicko-diferenciálno-diagnostických a terapeutických algoritmov pri peroxizómových dedičných metabolických poruchách" č. 2007/38-FNSPBA-03

Zastúpenie vybraných mutácií u pacientov so suspektnou Wilsonovou chorobou

Jana Lisyová, Mária Fischerová, Róbert Petrovič, Ján Chandoga

Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava, Slovenská republika

Wilsonova choroba (WD) je relatívne zriedkavé genetické ochorenie s celosvetovou prevalenciou 1 : 30 000 vyznačujúce sa autozómovo recesívnym typom dedičnosti. Je spôsobená mutáciami v géne *ATP7B* (13q14.3), ktorý kóduje medtransportujúcu ATPázu typu P zúčastňujúcu sa jednej z posttranslačných modifikácií apoceruloplazmínu. Má funkciu biosyntetickú (podieľa sa na dodávaní medi do sekrečnej cesty pri tvorbe Cu-transportéra ceruloplazmínu) a homeostatickú (zúčastňuje sa exportu nadbytočnej medi z buniek). Pri ochorení dochádza k postupnému hromadeniu medi v tkanivách a jej toxickému pôsobeniu na organizmus. Ochorenie postihuje viacero funkčne zdanlivo na sebe nezávislých orgánov (najmä pečeň, mozog a obličky). Výnimočnosťou ochorenia je jeho liečiteľnosť, na druhej strane skutočnosť, že neliečené sa končí fatálne. Klinický obraz WD býva veľmi rôznorodý a podľa symptomatológie sa rozlišuje niekoľko foriem (hepatická, neurologická, psychiatrická). Liečba Wilsonovej choroby je celoživotná, využívajú sa chelatačné činidlá (D-penicilamín) a zinková terapia. Prítomnosť širokého mutačného spektra (viac ako 380 známych mutácií) podmieňuje rôzne fenotypové prejavy a značne sťažuje diagnostiku. V stredo-európskej populácii je najfrekvencovanejšou mutáciou H1069Q. Vo svete je zodpovedná za 60 % všetkých vyskytujúcich sa mutácií. Za účelom rýchleho hľadania tejto kauzálnej mutácie v súbore suspektných pacientov využívame na našom pracovisku diagnostickú PCR metódu BI-PASA (Poláková a kol., 2007). Ďalšie štyri rozšírené mutácie (3402delC, 1340del4, R778G, W779X) detekujeme pomocou RFLP (Vrábelová a kol., 2005) a fragmentačnej analýzy (Fischerová, nepublikované). Od roku 2006 sme vykonali molekulárno-genetickú DNA diagnostiku Wilsonovej choroby u 523 požadovaných

osób, z ktorých u 22 sme diagnózu WD potvrdili. Na základe dôkazu prítomnosti vyšetovaných mutácií sme identifikovali 17 homozygotných pacientov (H1069Q – 14 pacientov, 3402delC – 1 pacient, 1340del4 – 2 pacienti), zvyšní piati sú kombinovaní heterozygoti pre H1069Q a jednu z menej častých mutácií (3402delC – 2 pacienti, 1340del4 – 1 pacient, W779X – 2 pacienti). Napriek tomu, že u 54 pacientov sa nám podarilo detekovať prítomnosť iba jednej vyšetovanej mutácie, diagnózu WD u nich vylúčiť nemožno. Nakoľko u pacientov nesúcich iba jednu alebo žiadnu kauzálnu mutáciu sú popri klinickom náleze prítomné aj biochemické, resp. funkčné ukazovatele svedčiacie o WD, je pre určenie definitívnej diagnózy nevyhnutná sekvenčná analýza, ktorá je na pracovisku zavedená. Vzhľadom na jej náročnosť a ekonomické náklady v prípade WD musí byť indikácia dôkladne zvážená.

První česká rodina s prokázanou dominantní mutací v genu pro Connexin 26

Radka Pourová^{1,2}, Marcela Malíková¹,
Petra Křenková¹, Markéta Havlovicová¹,
Anna Křepelová¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha
²DNA laboratoř Kliniky dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Mutace v genu *GJB2*, který kóduje protein Connexin-26, jsou nejčastější příčinou (až 50 %) autozomálně recesivní nesyndromové ztráty sluchu (DFNB1, OMIM #220290). Vzácně

jsou však jiné mutace v tomto genu příčinou autozomálně dominantní ztráty sluchu, a to jak nesyndromové (DFNA3A, OMIM #601544), tak i několika různých syndromů zahrnujících zejména současné postižení kůže – např. KID (#148210), Vohwinkelův (#124500) či Bart-Pumphreyův syndrom (#149200). Dosud bylo publikováno pouze pět rodin s projevy palmoplantárního keratoderma a ztráty sluchu (OMIM #148350) s prokázanými dominantními mutacemi v genu *GJB2*.

Prezentujeme intrafamiliární fenotypovou variabilitu v romské rodině, jejíž tři členové jsou postiženi ztrátou sluchu (ZS) a palmoplantární keratodermatózou (PK).

Probandem je 22letý chlapec, který kromě HL a PK trpí epilepsií s pozdním nástupem.

Matka a sestra probanda jsou postiženy stejným stupněm ZS, avšak nemají žádné známky záchvatového onemocnění. U matky je jsou projevy PK mnohem mírnější než u obou potomků. Probandův otec ztratil sluch po časně meningitidě a nemá žádné známky PK. Všichni prarodiče jsou slyšící a bez kožních příznaků.

Molekulárně genetická analýza odhalila u probanda, jeho sestry i matky mutaci p.Arg75Trp (c.223C>T) genu *GJB2*, která již byla popsána jako patogenní dominantní mutace. Matka je navíc nosičkou mutace p.Met34Thr (c.101T>C) na druhé alele. Role této mutace byla v literatuře opakovaně přehodnocována a zůstává nejasná. Její význam pro modifikaci fenotypu budeme diskutovat v této kazuistice.

Podpořeno MZOFNM2005 a IGA NS 9913-4.

ZPRÁVY

Plánované akce odborných složek ČLS JEP

16. 4. 2012

7. konference imunologických laborantů

Místo: Pardubice

Pořadatel: Sekce imunologických laborantů České společnosti alergologie a klinické imunologie ČLS JEP (ČSAKI)

17. 4. 2012

Den rodinné terapie

Místo: Praha, Lékařský dům

Pořadatel: Sekce rodinné terapie České psychiatrické společnosti, o. s., psychosomatická sekce Psychiatrické společnosti ČLS JEP

18. 4. 2012

Pracovní den sekce biochemických laborantů ČSKB ČLS JEP

Místo: Praha, Lékařský dům

Pořadatel: Sekce biochemických laborantů České společnosti klinické biochemie ČLS JEP

18. 4. 2012

Vzdělávací seminář SVL ČLS JEP

Místo: Jihlava

Pořadatel: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

18. 4. 2012

Večer Ústavu lékařské genetiky FN Plzeň

Místo: Plzeň

Pořadatel: Spolek lékařů ČLS JEP v Plzni, Ústav lékařské genetiky FN Plzeň

18.–20. 4. 2012

Konference fyziků v nukleární medicíně

Místo: Kolín

Pořadatel: Česká společnost nukleární medicíny ČLS JEP, Oblastní nemocnice Kolín

19. 4. 2012

Vzdělávací seminář SVL ČLS JEP

Místo: Praha, Ostrava

Pořadatel: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

19. 4. 2012

Informační systémy v pracovním lékařství

Místo: Praha, Státní zdravotní ústav

Pořadatel: Společnost pracovního lékařství ČLS JEP (SPL), Státní zdravotní ústav

19.–21. 4. 2012

48. diabetologické dny

18. pracovní setkání sester

Místo: Luhačovice

Pořadatel: Česká diabetologická společnost ČLS JEP, Slovenská diabetologická společnost SLS

19.–21. 4. 2012

Stres, úzkostné poruchy a jejich léčba z pohledu biologické psychiatrie

Místo: Jihlava

Pořadatel: Společnost pro biologickou psychiatrii, sekce biologické psychiatrie Psychiatrické společnosti ČLS JEP, Kuffnerův nadační fond

20. 4. 2012

Psychodynamické přístupy u psychóz

Místo: Praha

Pořadatel: Česká psychoanalytická společnost, Česká psychoterapeutická společnost ČLS JEP

20.–21. 4. 2012

16. hradecké dny

1. kongres České pneumologické a ftizeologické společnosti ČLS JEP

Místo: Hradec Králové

Pořadatel: Česká pneumologická a ftizeologická společnost ČLS JEP

20.–21. 4. 2012

Komplexní vyšetření hrtanu a hlasu v ambulanci i klinické praxi

Místo: Hradec Králové

Pořadatel: Česká společnost ORL a chirurgie hlavy a krku ČLS JEP, Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku LF UK a FN Hradec Králové, Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku FZS Univerzity Pardubice a Pardubické krajské nemocnice, Klinika otorinolaryngologie FN Ostrava

21. 4. 2012

Vzdělávací seminář SVL ČLS JEP

Místo: Praha, Brno, Karlovy Vary, Olomouc, Plzeň

Pořadatel: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

21. 4. 2012

Vzdělávací seminář OSPDL ČLS JEP

Místo: Brno, Hluboká nad Vltavou

Pořadatel: Odborná společnost praktických dětských lékařů ČLS JEP

Jedenáctá konference o menopauze na Seči

Seč, 14. až 16. října 2011

Ve dnech 14. až 16. října 2011 se v hotelu Jezerka v Seči-Postupkách u Sečské přehrady konala 11. konference o menopauze, kterou pořádala Česká menopauzální a andropauzální společnost ČLS JEP a Sekce pro otázky menopauzy České gynekologické a porodnické společnosti ČLS JEP ve spolupráci se Sekcí gynekologické endokrinologie a klimakteria Slovenské lékařské společnosti a s odbornou spoluprací Gynekologicko-porodnické kliniky Pardubické krajské nemocnice.

Od roku 2007 naše konference o menopauze nesou název Ke světovým dnům menopauzy a osteoporózy. Tato byla svým způsobem jubilejní, konala se totiž 15 let od konference první, kterou v roce 1996, rok po svém vzniku, organizovala Sekce pro otázky menopauzy ČGPS JEP. Srovnání obou konferencí na první pohled nevyznělo pro současnost příliš příznivě. V roce 1996 se konference zúčastnilo přes 400 účastníků, přednáškový sál hotelu Pyramida v Praze pro všechny nestačil, konference se aktivně zúčastnili představitelé menopauzálních společností Francie, Německa a Rakouska. Byly tady položeny základy mezinárodní spolupráce a naší cesty do Evropské menopauzální společnosti (EMS), jejíž předseda prof. H. Rozenbaum z Paříže přijel tehdy do Prahy poprvé. Menopauza a hormonální léčba měly zelenou a nová problematika přitahovala. Trochu smutně vyznívá účast na menopauzálních konferencích v posledních několika letech. Té na Seči se zúčastnilo pouhých 116 účastníků, chybělo bohužel i hodně členů obou našich menopauzálních společností. Přitom Seč byla vybrána tak, aby místo konference bylo vzdáleností přibližně stejně daleko ze všech stran republiky a finanční zátěž konferenčního poplatku i ubytování nebyla přehnaně vysoká, jak jsme zvyklí jinde. Před 2 roky ve Špindlerově Mlýně, kdy napadlo hodně sněhu, to bylo pochopitelné, ale na Seči byl hezký barevný podzim, byl již podtržený ranními mrazíky. Myslím, že většina účastníků využila chvíli volna i k procházce lesem či k jezeru. Přes určité obavy z odloučenosti místa konference od civilizace a i přes menší účast na konferenci zklamání nepřišlo. Poměrně bohatý odborný program, věcná diskuze, výstavy firem, společenský večer a kvalitní organizační zajištění učinily to, že jen máloco bylo možné konferenci vytknout. Snad jen malý počet prezentací původních prací. Naopak velký byl počet přehledových přednášek, kde sice bylo řečeno mnoho toho, co již bylo prezentováno v minulosti, ale při hodnocení celku musím konstatovat, že některé novější a nové věci je třeba připomínat opakovaně. Určitá benevolence vedla i k přetahování časů přednášejícími, a tak na závěrečné hodnocení konference předsedou ČMAS a SOM zbylo minimum času.

V úvodní přednášce J. Donáta byla v přehledu připomenuta 15letá historie českých konferencí o menopauze.

Byly vzpomenuty i první začátky klimakterické medicíny v Československu konferencemi o menopauze v Bratislavě v letech 1973 a 1985, založení Společnosti pro otázky menopauzy – sekce ČGPS ČLS JEP v roce 1995, členství v mezinárodních společnostech IMS, EMS a FEMS a založení České menopauzální a andropauzální společnosti ČLS JEP v roce 2002. Tato historie představuje od roku 1996 celkem jedenáct celostátních konferencí s mezinárodní účastí – v Praze (1996, 1998 a 2000), v Hradci Králové (2002, 2003 a 2005), v Ostravě (2004), v Hradci nad Moravicí (2006), v Brně (2007), ve Špindlerově Mlýně (2009) a v Seči-Ústupkách (2011). V té historii byly i čtyři úspěšné mezioborové kon-

ference v Ostravě (1996, 1999 a 2001) a v Olomouci (1998). Byly to tři konference pro praktické lékaře a jedna na téma Nádorová onemocnění a HRT. Je na místě připomenout především 2. konferenci v Národním domě v Praze-Vinohradech v roce 1998, které se aktivně zúčastnilo jedenáct významných světových představitelů klimakterické menopauzy z USA, Austrálie, Francie, Německa, Švýcarska, Itálie, Rakouska, Slovenska a Polska, a 5. konferenci v Hradci Králové v roce 2003, která byla zároveň i konferencí na téma Medicína proti stárnutí s účastí rakouských přednášejících. Od roku 2008 pořádáme konference ve spolupráci se Sekcí gynekologické endokrinologie a klimakteria Slovenské gyneko-



MUDr. Jana Zahrádková (vlevo) a MUDr. Marcela Burdová

logické a porodnické společnosti SLS střídavě na Slovensku a v České republice. V tomto roce se bude konference konat v Bratislavě ve dnech 7. až 8. září.

Druhá úvodní přednáška Jany Zahrádkové s názvem Moje cesta s Francouzskou společností pro studium menopauzy byla věnována historii osobní spolupráce s Francouzskou menopauzální společností, vzpomínkám a poznámkám k mnohaletému aktivnímu členství autorky v této společnosti. Přednáška ukázala vývoj klimakterické medicíny ve Francii od jejího vzniku až do současnosti i úlohu, kterou francouzská společnost sehrála na tomto poli medicíny v Evropě i ve světě.

Významnou událostí konference bylo vyznamenání dvou mnohaletých členek výborů Sekce pro otázky menopauzy ČGPS a České menopauzální a andropauzální společnosti ČLS JEP (ČMAS) za dlouhou aktivní činnost na poli menopauzy. Vyznamenání, které se jim bohužel dostalo až po ukončení jejich činnosti ve výborech. Určitou omluvou snad může být skutečnost, že je to udělení prvních čestných členství v historii obou českých menopauzálních společností.

MUDr. Jana Zahrádková byla vyznamenána Čestným členstvím České lékařské společnosti JEP a čestným členstvím ČMAS u příležitosti ukončení činnosti ve výborech obou společností na vlastní žádost v souvislosti s odchodem do důchodu. Zdůvodnění těchto vyznamenání vyznělo částečně již z výše uvedené přednášky. Byla to především její aktivní činnost a spolupráce s Francouzskou společností pro studium menopauzy, která nás přivedla do Evropské menopauzální společnosti (EMS) a později k nově vzniklé evropské menopauzální společnosti Federace evropských menopauzálních

společností (FEMS), kde jsme se stali jednou ze zakládajících společností. První konference FEMS se konala právě v Praze v roce 2000.

Druhým významným byla MUDr. Marcela Burdová, které bylo uděleno Čestné členství ČMAS ČLS JEP v souvislosti s jejím rozhodnutím ukončit činnost ve výboru ČMAS. Jí rovněž patří velký dík za mnohaletou aktivní práci ve výborech SOM a ČMAS a bohatou přednáškovou, publikační a osvětovou činnost, a to nejen na poli menopauzy. Ocenění i za to, že vždy stála na straně pokroku a propagace moderních trendů v hormonální léčbě.

Obě významné lékařky působily ve výborech SOM ČGPS a ČMAS více než 15 let. Aktivně vystupovaly na většině celostátních konferencí o menopauze a spolupracovaly s časopisem Klimakterická medicína, kam přinášely aktuální informace, ať již z Francie nebo z Rakouska.

Již jednou jsem napsal, ale rád to zopakuji, že je škoda, že si nepotrpíme na čestné tituly jako „zakládající člen“, tak jak ho s respektem a vážností užívají v Severoamerické menopauzální společnosti. Janě Zahradkové a Marcela Burdové by tento titul právem příslušel.

Je třeba se ve stručnosti dotknout odborného programu konference. Ve stručnosti proto, že podstatná sdělení a původní práce budou postupně publikovány v Klimakterické medicíně a v tomto článku není prostor pro hodnocení všech přednášek. V programu převažovaly přednášky přehledné, a i když většinou říkaly známá a v nedávné době publikovaná fakta, často se dotkly něčeho nového a nebo něčeho staršího, co vyžadovalo připomenutí a zdůraznění. I v tom je přednost Severoamerické menopauzální společnosti, která každým rokem na svých konferencích opakuje a novelizuje zásady pro hormonální léčbu pod názvem Position statement: estrogen and progestogen use in postmenopausal women (Prohlášení k hormonální léčbě), které zároveň publikuje ve svých časopisech Menopause a Menopause Management. Zdá se, že i v hormonální léčbě je opakování matkou moudrosti. Tak bychom chtěli pokračovat i my na našich konferencích a v časopisu Klimakterická medicína. Poslední konference na Seči a konečně i poslední číslo Klimakterické medicíny to dokládají.

Na konferenci bylo předneseno 32 přednášek rozdělených do šesti tematických bloků, jednoho obědového symposia firmy Bayer-Schering a tří plánovaných workshopů poslední den konference.

Těžiště programu spočívalo především v blocích Urogenitální zdraví, Kostní zdraví a Alternativní metody léčby klimakterického syndromu. Ze závěrečných workshopů zaujala Medicína dálného východu a menopauza.

V urologické sekci byla v přehledu zhodnocena problematika stres inkontinence moči a prolapsu, jejich operačního řešení, výhody a nevýhody sítkových implantátů při prolapsu pánevního dna (B. Lamprechtová et al.). L. Horčíčka se zabýval problematikou hyperaktivního močového měchýře, urgency, frekvence a inkontinence z pohledu gynekologa i praktického lékaře a zdůraznil význam cílené anamnézy ve smyslu „kdo se neptá, nic neví, a proto neléčí“. Byly zhodnoceny metody léčby stresové inkontinence. Byla zde zmínka o elektrostimulační léčbě. Zdá se, že tento staronový druh terapie nabízí možnosti, které stojí za vyzkoušení. Byly hodnoceny konzervativní způsoby léčby jako preparáty z brusinek s účinnou kyselou elagikovou, význam léčby zánětů dolních cest močových, léčba operační pomocí pásek a alternativní léčba poševními kuličkami. Ve výčtu byly i vysloveně pomocné symptomatické pomůcky jako absorpční pomůcky pro lehkou, střední a těžkou inkontinenci, jako je tzv. „čurokap“. S určitým pobavením jsme přijali informaci o existenci „potápěčské strany“ a hvězdičkových potápěčů, srozumitelný byl „boj za suchý svět“. Slovenští autoři A. Krišťůvková a M. Borovský podali ucelený a přehledný pohled na management urogenitální atrofie. O možnostech lokální terapie vaginálním estradiolem referoval R. Chmel. Upozornil na riziko poddávkování, léčba by neměla plnit roli placeba, ale měla by být účinná.

Osobně se domnívám, že vaginální terapie estradiolem není při příznacích urovaginální atrofizace plně využívána a není náležitě zdůrazňováno pravidelné užívání v účinné dávce. Optimální by měla být dávka 10 µg vaginálního E2 denně. G. Hensel přednesl zajímavé téma o inkontinenci u žen ve stáří. Na vlastním souboru prezentoval řadu pozoruhodných výsledků. Inkontinenci ve stáří klasifikuje jako smíšenou v 63 %, stres inkontinence se vyskytuje v 5 %. U 55 % sledovaných žen předcházela konzervativní léčba. U starých žen byla doporučena v 58 % léčba konzervativní, ve 31 % operační léčba páskou a ve 3 % terapie Bulkamidem. V literatuře prof. K. Lobodasch z Chemnitzu udává při léčbě stres inkontinence Bulkamidem vyléčení ve 40 % a zlepšení ve 35 %. Svoje místo v terapii inkontinence ve stáří má i konzervativní léčba anticholinergiky, jako je Desmopresin (Minirin).

V sekci Kostní zdraví podal J. Rosa přehled vývoje diagnostiky osteoporózy od DXA po FRAX.

Model FRAX, vyvinutý WHO a dostupný na internetu, je nástrojem vypočítávajícím 10leté riziko fraktury u dané pacientky na základě u ní zjištěných rizikových faktorů. Kdy vyšetřovat, jaké jsou indikace DXA a význam modelu FRAX, jsou věci aktuální a byly v Klimakterické medicíně i jiných časopisech v nedávné době publikovány. Stejně tak o novém druhu terapie osteoporózy denosumabem (Š. Kutílek) je potřebné opakovaně referovat. Denosumab je významnou novinkou v léčbě osteoporózy, jedná se o první lék, který kauzálně zasahuje do patogeneze osteoporózy. Je to plně lidská monoklonální protilátka proti RANKL, který je klíčovým mediátorem diferenciací, funkce a přežívání osteoklastů. Denosumab snižuje riziko zlomenin a bude jistě lékem budoucnosti. Autor uvedl výsledky studie Freedom na 8000 ženách s osteoporózou, která prokázala účinnost léku. Denosumab, preparát Prolia, je na českém trhu, je hrazen pojišťovnou, indikace vyžaduje průkaz osteoporózy vyšetřením DXA. Podává se subkutánně v dávce 60 mg jedenkrát za 6 měsíců. V přednášce bratislavských autorů M. Borovského et al. byly komplexně zhodnoceny současné a budoucí možnosti léčby osteoporózy. Byl připomenut význam selektivních modulatorů estrogenních receptorů tamoxifenu, raloxifenu a bazedoxifenu, které jsou bezpečné vůči prsu při pozitivním vlivu na kost. Nový SERM bazedoxifen snižuje kostní úbytek u žen v postmenopauze, snižuje riziko fraktur, a přitom je bezpečný i vůči endometriu, kde má podobný účinek jako progestogen.

Přednášky sekce Alternativní metody léčby klimakterického syndromu zaměřené na cimicifugu racemosu (P. Křepelka) a sóju (R. Richter) a jejich vliv na potíže klimakterického syndromu, otázku zlepšení inkontinence (G. Handlová) a sexuality přírodními prostředky (P. Turčan) v podstatě potvrdily známá fakta. Fytoterapie má pozitivní vliv na řadu příznaků klimakterického syndromu, jejich účinnost je však podstatně nižší, než je účinnost klasických estrogenů, a jen mírně převažují účinek placeba. Mají pozitivní vliv na vazomotorické symptomy zvláště v premenopauze a perimenopauze, na spánek, urovaginální symptomy, metabolismus lipidů a kost. Lze je doporučit jako doplňující léčbu.

V sekci Každodenní praxe gynekologické ambulance bylo předneseno několik různorodých přednášek co do obsahu i kvality. Ty kvalitní zasluhují publikaci v Klimakterické medicíně. Přednáška T. Faita Možnosti kardiovaskulární prevence byla mimořádně aktuální a vycházela ze současných názorů a doporučení IMS. Téma, které bylo dostatečně objasněno a vysvětleno a je ještě stále obestíráno falešnými mýty minulosti. Podobně tomu je s problematikou karcinomu prsu. Aktuální pohled na karcinom prsu v ambulanci gynekologa podala vyčerpávajícím způsobem Z. Petrovičová.

Přednášky pardubických autorů I. Višňovské et al. a J. Góbel a et al. týkající se řešení vaginálního prolapsu po hysterektomii a endometria u asymptomatických a symptomatických žen v postmenopauze, postavené na vlastních výsledcích, budou publikovány ve 2. čísle Klimakterické medicíny v tomto roce.

Závěrečné přednášky měly být jakousi tečkou za hlavním programem konference. P. Koliba v aktualizovaném doporučení IMS k hormonální léčbě vycházel z rozsáhlého materiálu IMS, který vyšel ze 13. světového kongresu o menopauze IMS v Římě v roce 2011 a byl publikován v časopisu IMS Climacteric.

Přednáška J. Donáta o estrogen rezistentním syndromu v postmenopauze v přehledu i na konkrétním případu ukázala možnosti a zásady hormonální i nehormonální léčby těžkého klimakterického syndromu s atypickou symptomatologií a rezistentního k estrogenní léčbě. Informovala zejména o významu antidepressantů – thymoleptik v léčbě některých atypických symptomů klimakterického syndromu. Přednáška ukázala na závažnost klimakterického syndromu s ohledem na predikci pozdější osteoporózy a ischemické choroby srdeční a nutnost nízkodávkové hormonální léčby i při její zdánlivé neúčinnosti.

Hodnotím-li konferenci jako celek, splnila svůj úkol, vzdělávání a doškolování a konečně i svůj úkol společenský. Nedostatek přednášek s původními výsledky je problém dlouhodobý a netýká se jen našich konferencí. To ovšem neznamená, že opakování a rozšiřování třeba již publikovaných výsledků a závěrů by bylo zbytečné a nemělo praktický význam. Neznamená to ovšem také, že bychom se neměli

snažit o nápravu. Inspirací k tomu by mohla být příprava českého symposia na 14. světovém kongresu IMS v Cancunu v Mexiku, které by mělo vyznít jako vizitka a pozvání do Prahy na 15. světový kongres o menopauze.

Jménem pořádajících společností bych chtěl poděkovat prezidentovi konference MUDr. T. Faitovi, Ph.D. a vědeckému sekretáři ČMAS a SOM J. Jeníčkovi, CSc., za vynikající management konference, společnosti JS Partner za organizační zajištění a veškeré praktické náležitosti, generálnímu sponzorovi firmě Bayer Health Care, partnerské firmě Green Swan pharmaceuticals a ostatním vystavujícím firmám. Konečně můj dík patří všem přednášejícím i účastníkům, bez nichž by se konference nemohla uskutečnit. Zvláštní dík patří hostům ze Slovenska, nejen za účast, ale i za pozvání na konferenci Sekce gynekologické endokrinologie a klimakteria Slovenské gynekologicko-porodnické společnosti SLS v září 2012 v Bratislavě.

*prof. MUDr. Josef Donát, DrSc.
Porodnicko-gynekologická klinika
Pardubické krajské nemocnice
Kyjevská 44, 532 03 Pardubice
e-mail: donat.josef@centrum.cz*

World Medical Association (WMA) o sociálních determinantách zdraví Montevideo, 11. až 14. října 2011

Na 62. výročním valném shromáždění WMA, které se konalo v uruguayanském Montevideu v říjnu 2011, bylo přijato prohlášení, jehož hlavní body jsou základem pro další jednání o sociálních determinantách zdraví, rozšířeného výboru WMA, jež se bude konat v dubnu 2012 v Praze.

Sociálními determinantami zdraví jsou sociální podmínky, za nichž se lidé rodí, rostou, žijí, pracují a stárnou. Sociální determinanty zdraví ovlivňují kvalitu života, zdraví a dobu života bez většího omezení (disability). Kromě sociálních podmínek ovlivňují kvalitu života ovšem i další faktory, zejména ekonomické, environmentální, kulturní, klimatické a další.

Historicky primární rolí lékařů a ostatních pracovníků ve zdravotnictví je léčit nemocné. Méně pozornosti bylo věnováno příčinám nemocí, např. kouření, obezité, alkoholu, nedostatečnému pohybu. Tyto známé faktory životního stylu mohou škodit zdraví, přičemž sociální podmínky ovlivňují i jejich dopad. Prokázalo se, že lidé na nižším stupni sociálně-ekonomické hierarchie více kouří, mají horší kvalitu výživy a celkově horší kvalitu života. Důležitou roli hraje i vzdělání.

Aktuálně je globální snaha identifikovat a hodnotit vlivy jednotlivých determinant na zdraví a na délku a kvalitu života. Tuto snahu iniciovala Světová zdravotnická organizace (WHO) jako vládní organizace, spolu s národními orgány a akademickými pracovišti. Úloha lékařů je při této snaze nezastupitelná v globálním i lokálním měřítku, a to zejména prostřednictvím národních lékařských společností a lokálních spolků lékařů. WMA, jež je nevládní organizací má přímý styk s národními společnostmi. Cílem obou těchto světových organizací je informovat, vzdělávat obyvatelstvo na straně jedné a snažit se působit i na vládní úřady ve snaze minimalizovat nepříznivé vlivy na zdraví.

Na uruguayanském sjezdu WMA jsem se zmínil o aktivitách ČLS JEP v rámci tzv. World Health Professional Alliance (WHPA), která reprezentuje 600 národních organizací zastupujících asi 26 milionů zdravotnických pracovníků v 130 zemích. Členy WHPA jsou International Council of Nurses, In-

ternational Pharmaceutical Federation, World Confederation for Physical Therapy, World Dental Federation a WMA. Zjednodušeně, cílem WHPA je zdravotní péče o jednotlivce i problematika veřejného zdravotnictví. Podle WHPA mají sociální, kulturní environmentální a ekonomické faktory nejvýznamnější vlivy na zdraví, kvalitu života a délku dobrého života.

Na zasedání WMA v Montevideu navazovala Světová konference o sociálních determinantách zdraví (SDH) v Rio de Janeiro. Konference se uskutečnila pod záštitou WHO z podnětu Globální komise o sociálních determinantách zdraví WHO v roce 2009 a zúčastnili se jí delegáti ze 120 zemí. Jako hlavní sociální faktory byly uvedeny chudoba, vzdělání, možnosti přístupu ke vzdělání a bydlení. Hlavní referát měl Sir Michael Marmot (člen výboru WMA a účastník pražského zasedání v dubnu 2012), který zdůraznil další sociální determinanty, jako jsou nedostatečné transportní možnosti, nezaměstnanost, špatná strava, znečištěná voda a nedostatečné sanitární možnosti, což vše může mít nepříznivé důsledky po celý život člověka. Upozornil dále na analýzu vlivu chudoby na vzdělání. V nejchudších zemích světa je také nejnižší úroveň zdraví a nejkratší délka života.

Výzvou pro lékaře jako pro vzdělané osobnosti společnosti je uplatňovat svůj vliv a schopnosti při analýze sociálních vlivů na zdraví pomocí statistik, důkazů, relevantních informací a jejich zhodnocení k nápravě stran v daných možnostech. Vyzdvihl i význam žurnalistů (spíše méně v počtu, ale vzdělaných v této problematice). Poukázal i na přerozdělování finančních zdrojů ve prospěch chudiny a k podpoře vzdělávacích akcí, jak se to daří například v Brazílii, kde zhruba 28 milionům chudých byla poskytnuta finanční pomoc. Podle generální ředitelky dr. Margaret Chan je na vládách zemí, aby uznaly svoji zodpovědnost v oblasti sociální politiky. Dosaďovací stav není dostačující. Jako snahu o změnu uvedla „Arabské jaro“ a konferenci WHO o nepřenositelných chorobách. V méně rozvinutých zemích jsou tyto choroby diagnostiko-

vány pozdě, což zvyšuje náklady na jejich léčení. V roce 2008 zemřelo na nepřenosné choroby asi 30 milionů lidí, z toho na kardiovaskulární choroby 17 milionů, na chronické choroby respiračního systému 4,2 milionu, rakovinu 7,6 milionu, na diabetes mellitus 1,3 milionu. Z tohoto počtu bylo postiženo 80 % obyvatel v chudých zemích, což značí, že tyto choroby se nevyskytují převážně v bohatších zemích, jak se někdy uvádí. Předpokládá se, že do roku 2030 zemře na tyto choroby 52 milionů lidí ročně. Dr. Chan připomněla ono klasické „Salus rei publicae suprema lex“. Ministryně zdravotnictví USA Kathleen Sebbelius zdůraznila všestrannou péči o starší občany, což při demografických trendech bude problémem mimořádně naléhavý. Nemocní diabetem a kardiovaskulárními chorobami stojí miliardy, ale výlohy na prevenci jsou nízké. Zdraví neznamená jen péči o nemocné, ale přesvědčovat a poučovat obyvatelstvo o významu prevence. (Doporučuje, abyste poradili svým známým, aby více chodili a jezdili na kole, aby nekouřili a rozumně konzumovali alkohol a propagovali zdravou výživu.)

V diskuzi Sir Michael Marmot znovu zdůraznil nutnost poskytnutí dětem a mladým lidem dostatečné vzdělání „Každý dolar, vynaložený na výchovu a vzdělání dětí se znásobí sedmkrát“. Dr. Sebbelius dodatečně uvedla, že v USA je hlavním sociálním problémem chudoba a nedostatek vzdělání. Jedna třetina dětí je obézních a 40 % afroamerických a hispánských obyvatel je obézní.

V diskuzi byla opakovaně zdůrazněna role chudoby jako hlavní sociální determinanty. Tak např. 50% úmrtí matky při porodu se vyskytuje v Africe, která reprezentuje jen 14 % obyvatelstva světa.

Dalšími významnými faktory je odliv mozků (brain robbery, brain drain) a migrace. Ve světě je asi 214 milionů mezinárodních migrantů a 740 milionů vnitřních migrantů, hlavně v Číně. Od osmdesátých let 20. století se zvyšuje zejména počet migrujících žen. Z pléna bylo poukázáno na možnost vlivu ze strany tabákového a alkoholového průmyslu. Zvýšená pozornost se musí věnovat i domorodým a jiným nepříznivým obyvatelům, kteří jsou na nízkém stupni co do zdraví a životní úrovně. Zde je zvláště nutná výchova, zajištění vzdělání, kulturního bydlení a poskytnutí pracovních možností.

Jako „dobrá zpráva“ bylo považováno přesvědčení, že snaha o sociální změny, jež by měly zlepšit svět, se šíří „jako oheň“.

O problematice sociálních determinant zdraví bude mimo jiné pokračovat diskuze i na pražském zasedání rozšířeného výboru WMA. Místním organizátorem je ČLS JEP.

*prof. MUDr. Jaroslav Blahoš, DrSc.
Česká lékařská společnost J. E. Purkyně*

17. ročník onkologického sympózia na téma „Onkologie v gynekologii a mammologii“

Brno, 6. až 7. ledna 2012

Základní myšlenkou již tradičně pořádaného onkologického sympózia je spolupráce různých odborností při řešení problematiky spojené s diagnostikou a léčbou onkologických diagnóz. První ročník kongresu se konal v roce 1996 v době, kdy jsem byla zaměstnaná ve FN Brno. Již tehdy jsem si uvědomovala zvýšenou potřebu komunikace a spolupráce s lékaři, kteří se léčby onkologicky nemocných účastnili. Stejně důležité je ale též sledování novinek a následně jejich zavádění do klinické praxe. To byl podnět k uspořádání této akce, která by měla pomoci podporovat mezioborovou komunikaci a spolupráci, neboť jedině tímto způsobem lze dosahovat kvalitních výsledků v léčbě onkologicky nemocných.

Letos se 17. ročník sympózia konal ve dnech 6. až 7. ledna 2012 za účasti cca 150 lékařů z různých oborů (diagnostika, histopatologie, chirurgie, radiační a klinická onkologie a gynekologie). Akce se zúčastnili lékaři z Čech, Moravy i Slovenska.

Hlavním tématem letošního odborného programu byla diagnostika a terapie pokročilého, recidivujícího a metastatického karcinomu prsu a gynekologických malignit. Posлуhači si mohli v lékařské sekci vyslechnout více jak třicet zajímavých prezentací, diskutovat a vyměňovat si vlastní zkušenosti. V bloku diagnostiky vyvolala zájem zejména přehledná sdělení týkající se screeningu karcinomu prsu, informace o nových diagnostických metodách vhodných pro diagnostiku karcinomu prsu i gynekologických malignit a prezentace týkající se využití prognostických a prediktivních faktorů v cílené léčbě. V chirurgické sekci karcinomu prsu se hodně diskutovalo o možnostech prevence vzniku nádorového onemocnění u žen s BRCA1,2 a dále zde bylo prezentováno několik velice zajímavých kazuistik (např. silikonová lymfadenopatie, recidivující phyllodes tumor u mladé těhotné ženy aj.). Z dalších vysoce hodnocených prezentací byly ty, které se týkaly bio-

logické terapie karcinomu prsu, možností léčby recidivujících a metastatických nádorů vaječníků, hrdla i těla děložního, managementu léčby gynekologických nádorů v průběhu těhotenství a v neposlední řadě též farmakoekonomických aspektů nádorové léčby.

Výhodou tohoto sympózia, které je zaměřené na určitý okruh diagnóz, je možnost probírat stále detailněji danou problematiku a diskutovat též kontroverzní témata. Všichni se snažíme prezentovat nejen svoje úspěchy, ale též pojmenovat svoje chyby a omyly. Výsledkem je získávání zkušeností a obohacení se z praxe jiných. Součástí kongresu je vždy i několik souhrnných sdělení o výsledcích nejnovějších studií. Cílem těchto prezentací je dostat novinky z klinického výzkumu co nejdříve do běžné každodenní praxe. Panelové diskuze pak mají za úkol pokusit se dospět ke společnému konsenzu v případě ne zcela jednotných názorů lékařů z jednotlivých odborností na hraniční situace. Prezentace a především diskuze tak pomáhají usnadnit pochopení dané problematiky napříč jednotlivými odbornostmi.

Od roku 2006 je toto sympóziu obohaceno o sekci, která je věnovaná pracovníkům z nelékařských zdravotnických profesí. Letošní 7. ročník se zabýval tématem psychologických aspektů ošetrovatelské péče, ošetrováním nežádoucích účinků radiační a systémové terapie, novinkami z práce radiologických asistentů a zásadami bezpečné práce s cytostatiky. Této sekce se letos zúčastnilo cca 50 zdravotnických sester a radiologických asistentů a mohli vyslechnout více jak 20 přednášek. Další šest sdělení bylo uveřejněno formou posteru.

Akce byla pořádána ve spolupráci s OSL ČLK Brno – město, FN Brno a Gynekologicko-porodnickou klinikou MU Brno.

Záštitu sympóziu poskytlo Ministerstvo zdravotnictví ČR, Primátor statutárního města Brna, Česká onkologická společnost

ČLS JEP, Společnost radiační onkologie, biologie a fyziky ČLS JEP, Česká chirurgická společnost ČLS JEP, Společnost radiologických asistentů ČR, Česká asociace sester ČR, Mammo-logická sekcia SOS SLS, Onkologický ústav sv. Alžběty a Sekcia zdravotnických pracovníků pracujících v onkologii při SLS.

Program sympózia je uveřejněn na stránkách ČOS ČLK JEP www.linkos.cz/kongresy a na stránkách Občanského sdružení SOVA (Sdružení Občanů pro podporu Vzdělávacích

Aktivít) www.ossova.cz. Na stejných adresách je uveřejněn též sborník s texty letošních prezentací.

prim. MUDr. Renata Neumanová, Ph.D., MBA
Oddělení radiační a klinické onkologie
Nemocnice Znojmo
e-mail: neumanova.ren@volny.cz

10. sympozium Aktuality v dětské intenzivní péči v Ostravě Ostrava, 24. ledna 2012



Obr. 1. Doc. MUDr. Michal Hladík, Ph.D. při zahájení sympozia



Obr. 2. Auditorium 10. sympozia Aktuality v dětské intenzivní péči v Ostravě

Klinika dětského lékařství Lékařské fakulty Ostravské univerzity a Fakultní nemocnice v Ostravě (FNO) uspořádala dne 24. ledna 2012 již jubilejní 10. sympozium Aktuality v dětské intenzivní medicíně. Protože se jednalo o jubilejní 10. sympozium, dovolili si organizátoři malý experiment – skloubení náplně lékařského a technického vysokého učení v jedno téma, které mělo nalézt společné jmenovatele a společnou řeč. Organizátoři zvolili úzkou spolupráci s Centrem nanotechnologií a Katedrou kybernetiky a biomedicínského inženýrství Vysoké školy báňské – Technické univerzity v Ostravě. Dopoledne bylo zaměřené monotematicky s názvem Medicína 21. století. Odpolední část pak věnována zahraničnímu hostovi a novým postupům, které jsou uplatňované v intenzivní medicíně na pracovištích v České republice. Záštitu nad sympoziem převzali rektorů Ostravské univerzity (OU) a Vysoké školy báňské – TU (VŠB TU) v Ostravě.

Úvodní přednáška Medicína v běhu času doc. MUDr. M. Hladíka, Ph.D. (OU) přiblížila léčebné a diagnostické možnosti od starověku až po nastupující nanotechnologie v lékařství. Ing. I. Vávra, Ph.D. (VŠB TU a SAV Bratislava) uvedl přítomné do principů nanosvěta přednáškou Nanotechnologie ve vědě, technice a přírodě. Pak již následovaly přednášky zaměřené na nanočástice v medicíně. Ing. K. Dědková (VŠB TU) názorně přiblížila význam nanomateriálů s antibakteriálními vlastnostmi a jejich další aplikace v medicíně. Ing. J. Tokarský (VŠB TU) ukázal možnosti molekulového modelování nových lékových forem. Může se tak nahradit dlouhodobé testování různých lékových forem. O tom, že nanomateriály přináší nejen prospěch, ale jsou pro člověka i rizikem, přednesla sdělení doc. Mgr. J. Kukutschová, Ph.D. (VŠB TU). Ukázala na cesty přenosu rizikových nanočástic do centrálního nervového systému a na jejich zdroje, mezi které patří v našich

podmínkách automobilový provoz. Originálním výsledkem výzkumu VŠB TU je průkaz tvorby nanočástic z brzdového obložení automobilů. O nových možnostech diagnostiky, které mohou nahradit klasické biochemické stanovování, pohovořila v přednášce o využití Surface Plasmon Resonance pro analýzu vzorků v klinické biochemii Mgr. R. Šigutová. Metodu lze použít ke stanovování širokého spektra prvků a sloučenin v klinice (virové a bakteriální, hormonální a chemické markery, léčiva, drogy), v surveillanci životního prostředí (např. detekce pesticidů, polychlorovaných bifenylů), v potravinářství a vojenství.

MUDr. J. Dvořáčková, Ph.D. (OU) dokumentovala na souboru vyšetření přítomnost částic kovů ve vzorcích lidských tkání a tekutin. Ukazuje se, že nanočástice lze najít ve tkáních nejen postnatálně, ale i v plodové vodě a v tonzilách mrtvé narozených dětí. Mohou být zatím blíže neurčenou iniciací budoucích patologických stavů. Prof. MUDr F. Čiampor, DrSc. (SAV Bratislava) prokázal v experimentu, jak pronikají nanočástice do lidských buněk. Ukazuje se že jsou ohroženy všechny buňky nejen v oblasti cytoplazmy, ale i v jaderné struktuře. Ing M. Černý poukázal na novinky v lékařské technice a na jejich perspektivy při zavádění do praxe. Pokud by byly technické možnosti plně využité, byl by lékař zprostředkovatelem diagnostiky a léčby mezi technickými prostředky a pacientem. V navazující přednášce pak přiblížil nový obor – biomedicínský inženýr – a ukázal na jeho rozvoj a směřování. Dopolední blok uzavřel prof. Ing. J. Skařupa, CSc. prezentací zařízení (robot stretcher) pro převoz závažně nemocných pacientů, které má plnou elektrickou výbavu. Jeho vznik je ukázkou multidisciplinárního propojení v praxi. Vyvinula ho firma Reha ve spolupráci s VŠB TU a Klinikou dětského lékařství FN Ostrava.

Odpolední část symposia zahájil prof. S. Playfor z University Hospital of Manchester (UK), který v didaktické přednášce Sedation and analgesia in PICU and withdrawal syndrome podal přehled o současných možnostech analgosedace u dětí a o způsobech jejího postupného vysazování. MUDr. M. Hájek (Městská nemocnice Ostrava) a MUDr. J. Duda (OU) ukázali ve svých sděleních na význam hyperbarické oxygenace a na zkušenosti našeho pracoviště s tímto způsobem léčby. Velmi impresivní byl příchod dětí, které prošly hyperbarickou terapií, a mohly tak přímo na místě doložit její příznivý efekt při závažných a kritických stavech, zejména při poškození mozku.

Závěrečný blok zahájila MUDr. P. Pokorná (VFN Praha) sdělením o terapeutickém monitorování léků v sepsi. Na ní navázal doc. MUDr. J. Kobr, Ph.D. (LF Plzeň) uvedením nových možností selektivní monitorace hemodynamiky u kriticky nemocných dětí sonografickou metodou USCOM. Proble-

matiku neuroinfekcí sledovaných po dobu 1 roku na JIRP ve FTN Praha přednesl MUDr. M. Fajt. Symposium uzavřela MUDr. E. Klásková (FN Olomouc), která přiblížila problematiku PRES syndromu (Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome), který může představovat diagnostický problém.

Symposium splnilo očekávání jak po odborné stránce, tak i po stránce návštěvnosti, zúčastnilo se ho 125 posluchačů. Všichni registrovaní účastníci obdrží elektronickou ISBN registrovanou publikaci se slide wiew všech přednášek.

*doc. MUDr. Michal Hladík, Ph.D.
přednosta Kliniky dětského lékařství
LF Ostravské univerzity a FN Ostrava
tř. 17. listopadu 1790, 70852 Ostrava
e-mail: michal.hladik@fno.cz*

Respirační kaleidoskop

Během podzimu 2011 byl zahájen první cyklus regionálních vzdělávacích seminářů s názvem „Respirační kaleidoskop“ organizovaný Českou společností alergologie a klinické imunologie, Českou iniciativou pro astma o.p.s. ve spolupráci s farmaceutickou firmou Nycomed. Semináře pokračují i v letošním roce a dosud se uskutečnily v Pardubicích, Ostravě, Českých Budějovicích, Plzni, Liberci, Olomouci a Brně. Datem posledního semináře tohoto cyklu je úterý dne 27. března 2012 a místem konání Kaiserštejnský palác v Praze na Malé Straně. Tato vzdělávací akce je certifikována Českou lékařskou komorou a je určena především pro členy České společnosti alergologie a klinické imunologie, ale zúčastňují se jí také pneumologové a praktičtí lékaři.

V úvodním sdělení vždy vystoupí místní odborník v respirační problematice, alergolog/klinický imunolog nebo pneumolog s informací o aktuálním pohledu na nemoci dýchacího ústrojí v regionu. Následuje přednáška předního českého dětského a současně světově uznávaného pneumologa, předsedy České společnosti dětské pneumologie a ředitele České iniciativy pro astma prof. MUDr. Petra Pohunka CSc. z Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol. Téma jeho sdělení je „Glukokortikoidy v respirační patologii“. V pořadí třetím řečníkem je předseda České společnosti alergologie a klinické imunologie doc. MUDr. Vít Petrů, CSc. Jeho přednáška „Recidivující respirační infekce“ je věnována jednomu z nejčastějších problémů řešenému v ordinacích alergologů/klinických imunologů i praktických lékařů. Závěrečné vystoupení obstarává

emeritní přednosta Dětského oddělení Nemocnice Bulovka i doyen českých i slovenských alergologů a klinických imunologů prof. MUDr. Václav Špičák, který se zamýšlí nad „Mechanismy, na které lze u respiračních chorob útočit“.

Už jak název tohoto cyklu napovídá, diskutovaná témata jsou pestrá a každý účastník semináře si určitě nějakou informaci potřebnou pro svoji praxi domů odnese. Od podzimu 2012 je naplánován II. cyklus kaleidoskopu. O jeho uskutečnění přineseme v Časopisu lékařů českých včas další informace.

*doc. MUDr. Vít Petrů, CSc.
Centrum alergologie
a klinické imunologie,
Nemocnice Na Homolce, Praha
e-mail: vit.petr@homolka.cz*

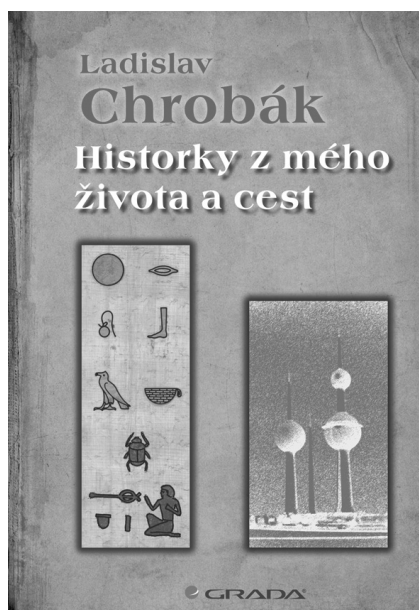
Ladislav Chrobák
HISTORKY
Z MÉHO ŽIVOTA A CEST

Praha: Grada Publishing 2011, 102 s. ISBN 978-80-247-4011-9.

Kniha vybraných vzpomínek prof. MUDr. Ladislava Chrobáka, CSc., emeritního profesora Karlovy Univerzity nás na 102 stránkách provede osobním a hlavně profesním životem letos 85letého klinika a pedagoga z Lékařské fakulty UK v Hradci Králové. Autor v úvodu vysvětluje, že publikace vznikla na četná přání přátel, bývalých žáků a spolužáků.

První vzpomínky začínají od útlého dětství na Opavsku, kde se Ladislav Chrobák v roce 1927 v Hrabyni narodil. V jeho dětství hráli vedle rodičů velkou roli prarodiče, kteří ho určitou dobu vychovávali. Dědeček mu vyprávěl pohádky a vzbudil v malém chlapci fantazii a později zájem o vzdělání. Dětství prožíval v chudé rodině, ale vzpomíná na ně s láskou. Gymnaziální studia začal v Ostravě, pokračoval ve Valašském Meziříčí a zakončil po osvobození v Novém Jičíně, podle toho, jak se rodiče stěhovali. Studium bylo v septimě brutálně narušeno totálním nasazením, ze kterého se mu podařilo za velmi pohnutých okolností utéci domů.

Po válce se přehlásil ke studiu medicíny na Lékařskou fakultu v Praze. Právě pro tuto školu se všeobecně nadaný student rozhodl na základě své zkušenosti s vyučováním nauky o člověku svým spolužákům v oktávě, když chyběl profesor přírodopisu na znovuotevřeném gymnáziu. Přednášením ho pověřil ředitel, který ho znal z matematiky a který byl vyučování přítomen. To bylo možné jedině bezprostředně po válce. Vzpomínky na průběh přijímacích pohovorů jsou dokumentem doby těsně po válce. Na studiích se mladý medik seznámil se svou budoucí ženou Hanou, které také svoji knihu věnoval. Po promoci v roce 1951 byl přidělen na interní kliniku v Plzni, kde mu doc. K. Bobek umožnil rozvíjet se v kardiologii. Jak to bylo v padesátých letech 20. století běžné, byl nakonec okolnostmi nucen přejít na interní kliniku Vojenské lékařské aka-



demie v Hradci Králové (1953), kde ho jeho vedoucí doc. J. Libánský nasměroval na hematologii, které se věnoval klinicky i laboratorně. Byl pověřen vedením hematologické laboratoře při klinice, později vedl centrální hematologickou laboratoř FN a v roce 1974 se stal zakladatelem a přednostou oddělení klinické hematologie. Koncem šedesátých let byl vyslán na vyžádání kuvajtského ministerstva zdravotnictví jako konzultant do Kuvajtu, kam se vrátil ještě dvakrát, naposledy v letech 1982–1984 na vyžádání kuvajtské univerzity. Profesor Chrobák zde využil nejen svoje profesionální znalosti, ale i znalost historie a jazyků. Mluví aktivně německy, francouzsky, anglicky, rusky a italsky. Naučil se však i základy arabštiny, aby mohl komunikovat s tamními pacienty. Diagnostikoval zde první případy hemofilie a byl i ošetřujícím lékařem sestry šejka Sabaha, která trpěla krevním onemocněním. Úsměvné jsou zážitky s řízením auta v Kuvajtu i jak byl málem z Kuvajtu vyhoštěn a další. Profesor Chrobák byl vždy u pacientů a studentů ve velké oblibě, a to nejen v Hradci Králové, ale i v Kuvajtu, kde mu studenti opakovaně vyjadřovali svůj vděk.

Jeho zájem o historii starých kultur, zejména Egypta, je mimořádný a jeho znalost obdivuhodná. Při výstavě Tutanchamona v Petrohradě si ho splet-

li dokonce s průvodcem. Na přebalu knihy zaujme reprodukce papyru, který visí nad jeho pracovním stolem a na kterém je v hieroglyfech napsané jméno pana profesora. Je to dar egyptské profesorky, která ho nechala zhotovit v uměleckých dílnách káhirskeho muzea, jako ocenění jeho hlubokých znalostí starého Egypta. Příhody z kongresů a těch bylo nepočítaně – od Paříže až po Baku, Seattle a Singapur – ilustrují široký odborný záběr profesora Chrobáka a jeho postavení v Mezinárodní hematologické společnosti, ve které byl řadu let členem výboru. Poznámky k cestování letadlem jsou inspirovány článkem akademika J. Charvátka, kterému se profesor Chrobák přiblížil počtem nalétaných kilometrů (480 000) při 260 letech. Vzdává tak hold českým pilotům a aeroliniím. Ne každý let byl bezproblémový, na palubě letadla zachraňoval i život, občas na letišťích tlumočil, omylem se postil při Ramadanu a poznal 66 letišť světa.

Kniha končí autorovým vyznáním o jeho vztahu k výuce, které se věnoval vlastně od školních let, kdy za války dával kondice z němčiny, latiny a matematiky za hrudku másla a mléko, přes výuku na univerzitě v Kuvajtu a dlouholetou pedagogickou činnost na Lékařské fakultě UK v Hradci Králové, kde přednášel, zkoušel a vedl praktická cvičení interní propedeutiky a hematologie v českém i anglickém jazyce a od devadesátých let až dodnes též dějin lékařství. Kabinet dějin lékařství založil v roce 1996. Významně se zasloužil jako polistopadový proděkan pro zahraniční vztahy prostřednictvím prof. A. Schirgera o možnost stáží našich studentů na Mayo klinice v USA. V roce 2008 ho zahraniční studenti poctili diplomem *Lifetime Achievement Teacher Award*. Čeští studenti ho s oblibou volili za svého promotora.

Velmi čtivá publikace není klasické curriculum vitae, ale mozaikou historek z autorova dětství, studia, jeho života klinika a vysokoškolského pedagoga, obohacená o příhody z četných cest a pobytů v cizině. Mohu ji každému kolegovi vřele doporučit.

MUDr. Olga Procházková
Ústav anatomie LF UK, Hradec Králové

ZPRÁVY Spolek českých lékařů v Praze

pořádá v **dubnu, květnu a červnu 2012** pravidelné přednáškové večery s diskuzí. Začátek vždy v 17 hodin v Lékařském domě v Praze 2, Sokolská 31.

DNE 2. DUBNA 2012

Přednáškový večer Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN
Přednosta: prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc.

Hennerův večer

Roztroušená skleróza ve 21. století.

Koordinátor: prof. MUDr. Eva Havrdová, CSc.

1. E. Havrdová: Úvod (5 min)
 2. E. Havrdová: Nová diagnostická kritéria roztroušené sklerózy (15 min)
 3. D. Horáková: Nástroje sledování efektivity léčby roztroušené sklerózy (20 min)
 4. E. Havrdová: Léčba roztroušené sklerózy: od kortikosteroidů k monoklonálním protilátkám (25 min)
- Diskuze

DNE 16. DUBNA 2012

Přednáškový večer Interní kliniky 2. LF UK a FN Motol
Přednosta: prof. MUDr. Milan Kvapil, CSc., MBA

Interna: Komplexní péče v jednotlivostech

Koordinátor: prof. MUDr. Milan Kvapil, CSc., MBA

1. R. Keil: Urgentní endoskopie na Interní klinice 2. LF UK a FN Motol 1993–2012 (15 min)
 2. M. Horáčková: Nemocniční hemodialýza a její specifika na Interní klinice 2. LF UK a FN Motol 2002–2012 (15 min)
 3. J. Charvát: Žilní vstupy: Up to date (15 min)
 4. P. Piňhová: Péče o pacienty se syndromem diabetické nohy (15 min)
- Diskuze

DNE 23. DUBNA 2012

Přednáškový večer Ústavu pro péči o matku a dítě v Praze
Ředitel: doc. MUDr. Jaroslav Feyereisl, CSc.

Traplův večer

Problematika vícečetných těhotenství

Koordinátor: doc. MUDr. Jaroslav Feyereisl, CSc.

1. L. Krofta: Úvod (5 min)
 2. P. Velebil: Epidemiologie – vícečetná těhotenství (10 min)
 3. J. Rezáčová: Asistovaná reprodukce a vícečetná těhotenství (10 min)
 4. L. Haaková, J. Vojtěch: Vícečetná těhotenství v ultrazvukovém obraze (10 min)
 5. L. Krofta: Komplikace vícečetných těhotenství, management, řešení (10 min)
 6. Z. Straňák: Neonatologická problematika vícečetných těhotenství (10 min)
- Diskuze

DNE 30. DUBNA 2012

Přednáškový večer Ortopedické kliniky dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol
Přednosta: doc. MUDr. Tomáš Trč, CSc., MBA

Popelkův večer

„Konzervativní“ operativa kyčelního kloubu

Koordinátor: doc. MUDr. Tomáš Trč, CSc., MBA

1. T. Trč: Úvod (5 min)
 2. P. Chládek: Preatrotické vady kyčelního kloubu v dětském věku (10 min)
 3. M. Handl: Osteoartróza kyčelního kloubu – etiopatogenetické faktory (10 min)
 4. P. Chládek: Femoroacetabulární impingement a jeho chirurgická léčba (10 min)
 5. T. Trč: „Konzervativní“ endoprotetika kyčelního kloubu (10 min)
 6. J. Kautzner: Artroskopie kyčelního kloubu (10 min)
 7. T. Trč: Závěr (5 min)
- Diskuze

DNE 7. KVĚTNA 2012

Přednáškový večer Fyziologického ústavu 1. LF UK
Přednosta: prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.

Purkyňův večer

Experimentální laboratoř srdeční elektrofyziologie

Koordinátor: prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.

1. O. Kittnar: Úvod (5 min)
 2. P. Neužil: Cíle a perspektivy experimentální elektrofyziologie srdce (10 min)
 3. M. Mlček: Experimentální kardiologická laboratoř – metody a modely (10 min)
 4. P. Ošťádal: Srovnání vlivu normotermie, hypotermie a oxidu dusnatého na oxidativní stres, hemodynamické parametry a orgánové poškození po srdeční zástavě (10 min)
 5. J. Bělohávek: Karotický a koronární průtok u protražované srdeční zástavy léčené ECMO (10 min)
 6. Š. Havránek: Frekvence fibrilace komor při kompletní oběhové zástavě a při V-A ECMO (10 min)
 7. H. Skarlandtová: Stresová odpověď experimentálních zvířat během srdeční katetrizace (10 min)
 8. A. Linhart: Závěrečné slovo
- Diskuze

DNE 14. KVĚTNA 2012

Přednáškový večer Gynekologicko-porodnické kliniky 3. LF UK a FNKV
Přednosta: doc. MUDr. Eduard Kučera, CSc.

Padovcův večer

Osobnost a odkaz prof. Padovce pro čs. gynekologii

Koordinátor: doc. MUDr. Eduard Kučera, CSc.

1. B. Svoboda: Osobnost a odkaz prof. Padovce pro čs. gynekologii (10 min)
 2. E. Kučera: Rozvoj gynekologicko-porodnické kliniky 3. LF UK a FNKV (10 min)
 3. K. Tikovský: Onkologický program gynekologicko-porodnické kliniky (10 min)
 4. A. Havránková: Cervikální a vulvární patologie (10 min)
 5. M. Bendová: Senologický program gynekologicko-porodnické kliniky (10 min)
 6. J. Záhumenský: Péče o těhotné a rodičky – moderní trendy (10 min)
 7. B. Kubešová: Prenatální diagnostika (10 min)
- Diskuze

DNE 21. KVĚTNA 2012

Přednáškový večer Chirurgické kliniky 3. LF UK a FNKV
Přednosta: prof. MUDr. Robert Gürlich, CSc.

Polákův večer

Současné trendy v diagnostice a léčbě náhlých příhod břichních

Koordinátor: prof. MUDr. Robert Gürlich, CSc.

1. R. Gürlich: Úvod (5 min)
 2. L. Havlůj, D. Lukáš, P. Lisý: Zánětlivé náhlé příhody břichní (NPB) (15 min)
 3. V. Teplan, B. Mlýnek, V. Ducháč: Ileosní NPB (15 min)
 4. M. Očadlík, F. Fornůšek, F. Vyhnanek: Traumata jako příčina NPB (15 min)
 5. L. Vlček, J. Bařnec, R. Kostka: Krvácení do GIT (15 min)
- Diskuze

DNE 28. KVĚTNA 2012

Přednáškový večer IV. interní kliniky 1. LF UK a VFN
Přednosta: prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.

Prusíkův večer

Choroby perikardu

Koordinátor: prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.

1. A. Žák: Úvod (5 min)
 2. K. Goričan, A. Večeřová: Perikardioskopie a biopsie perikardu – technika (10 min)
 3. M. Kocík, H. Lubanda: Intraperikardiální léčba perikardiálních onemocnění (10 min)
 4. A. Večeřová, K. Goričan: Analýza perikardiálního výpotku (10 min)
 5. H. Lubanda, M. Kocík: Kazuistika (15 min)
- Diskuze

DNE 4. ČERVNA 2012

Přednáškový večer Spolku slovenských lékařů Bratislava
Předseda: prof. MUDr. I. Riečaný, CSc.

**14. večer slovenských lékařů Bratislava
Klinika detskej chirurgie LFUK a DFNSP Bratislava**

Koordinátor: doc. MUDr. Ján Trnka, CSc.

1. J. Trnka: Úvod (5 min)
 2. V. Cingel, J. Babala, D. Šandorová, L. Sýkora, J. Bibza, B. Duchaj, M. Fuňáková, M. Smrek, J. Trnka, F. Horn: SILS operácie v detskom veku: naša metóda inzercie Covidien SILS portu (20 min)
 3. F. Horn, D. Dúbravová, M. Smrek, E. Valachovičová, M. Fuňáková, J. Babala, J. Trnka, V. Cingel: Vrodené chyby CNS v rukách detského chirurga (20 min)
 4. L. Sýkora, R. Jáger, I. Béder, J. Trnka, V. Cingel: Vývoj MIO v oblasti laktia na KDCH LF UK a DFNSP v Bratislave (20 min)
- Diskuze

DNE 6. 6. 2012 – 14 hodin Karolinum, Velká aula

Oslavy 150. let Spolku českých lékařů v Praze

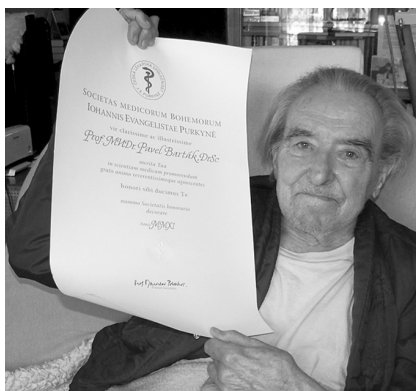
*prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc.
vědecký sekretář
prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.
předseda*

Zprávy

Ocenění České lékařské společnosti JEP prof. MUDr. Pavlu Bartákovi, CSc.

Za dlouholetou práci v redakční radě Časopisu lékařů českých předal 7. února 2012 vedoucí redaktor časopisu ocenění ČLS JEP prof. MUDr. Pavlu Bartákovi, CSc., který v září letošního roku oslaví 85. narozeniny. I když mu těžká invalidizující artróza v dolních končetinách v posledních letech stěžuje život, stále do Časopisu lékařů českých, v jehož redakční radě působil jako její aktivní člen přes 25 let, přispívá.

Po ukončení studia medicíny dostal umístěnku jako sekundář na zubní klinice, kde pracoval až do nástupu na vojnu. Do roku pracoval 1958 jako asistent profesora MUDr. Fingerlanda v patologicko-anatomickém ústavu Vojenské lékařské akademie v Hradci Králové a po atestaci jako klinický patolog přešel na dermatovenerologickou kliniku. Od roku 1963 vedl histopatologickou laboratoř Lékařské fakulty hygienické Karlovy univerzity v Praze (LFH UK). V roce 1968 byl Pavel Barták jmenován docentem. Po emigraci prof. Bielického se stal se doc. Barták zastupujícím přednostou dermatovenerologické kliniky LFH UK. V té době se vrátil ze skoro dvouletého pobytu v Londýně rovnou do tehdejších prověrek a do začátku tzv. normalizace. Navyklý na svobodu slova projevil svůj názor na sovětskou okupaci. A tak do



14 dnů musel opustit kliniku a měl dokonce zákaz pracovat v Praze. Byla zrušena jeho histopatologická laboratoř na klinice a bylo mu zakázáno vyučovat. Nesměl publikovat a vědecky pracovat. Byla to jen shoda šťastných náhod, která mu umožnila provozovat dermatologickou praxi v OÚNZ Praha 4. Protože ale v letech 1968–1969 pracoval v londýnské St. John's Hospital v laboratoři elektronové mikroskopie, podařilo se mu i přes zákaz trávit všechny volný čas svého „vědeckého exilu“ u elektronového mikroskopu Státního zdravotního ústavu, později působil na kožním středisku na Žižkově. Ani tyto události nezastavily jeho vědeckou práci na elektronovém mikroskopu, a tak se v roce

1990 mohl stát vedoucím katedry dermatovenerologie IPVZ a přednostou dermatovenerologické kliniky 2. LF UK.

V roce 1993 byl jmenován profesorem pro obor dermatovenerologie a v roce 1995 odešel do důchodu. Pokračoval ale ve vědecké práci v elektronmikroskopické laboratoři SZÚ.

Kromě Časopisu lékařů českých byl členem redakčních rad několika časopisů. Publikuje v odborných žurnálech doma i v zahraničí, píše odborné statě do denního tisku, byl zván k diskuzím do rozhlasu i televize. Přednášel na domácích i zahraničních kongresech a na klinických seminářích v nemocnicích České republiky. Je autorem zhruba 550 přednášek, má přes 200 českých i zahraničních publikací.

Řadu let je čestným členem České lékařské společnosti JEP, čestným členem České dermatovenerologické společnosti ČLS JEP, čestným členem Rakouské dermatologické společnosti, čestným členem Německé dermatologické společnosti, členem Evropského dermatologického fóra, členem European Society for Dermatologica1 Research, členem Society for Cutaneous Ultrastructure Research, členem České imunologické společnosti, členem Evropské akademie dermatologie a venerologie a Společnosti pro alergologii a klinickou imunologii.

red, foto Helena Glezgová

Velikost endozomů je regulována p97

Asociovaná s různými buněčnými aktivitami ATPáza p97 funguje na různých substrátech jako spojovač membrán a degradač endoplazmatického retikula (ERAD). Při fúzi membrán je mu přiřazována funkce v analogii k ATPáze NSF (N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein), účinkuje na různých proteinových substrátech v různých buněčných procesech jako spojovač membrán v endoplazmatické degradaci (ERAD). Ve fúzi membrán asi funguje v analogii s příbuznou

ATPázou NSF (N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein), která posiluje membránovou fúzi neuspořádaným SNARE- komplexem pro usnadnění jejich přeměny proteazomem. Zde je identifikována nová funkce p97 v endocytickém pohybu stanovením časného endozomálního antigenu 1 (EEA1) jako nového p97 substrátu. Je ukázáno, že frakce p97 je lokalizována u časného endozomální membrány, kde váže EEA1 via the N-terminal C₂H₂ zinc finger domain. Inhibice p97 buď siRNA, nebo farmaceuticky má za následek zvětšení časných endozomů a s tím spojené změny v přesunech endocy-

tických nákladů. Mechanisticky je ukázáno, že inhibice p97 vyvolá zvýšenou EEA1 self-associaci na endozomální membráně.

Autoři uzavírají, že p 97 může regulovat velikost časných endozomů určováním oligomerního stavu EEA1.

Literatura

Harish N Ramanathan, Yihong Y. The p97 ATPase associates with EEA1 to regulate the size of early endosomes. Cell Research 2012; 22: 346–359, doi:10.1038/cr.2011.80

P. Barták

Instruction to the Authors the Journal of Czech Physicians

Journal of Czech Physicians charges publication of articles with a dedication to a grant or otherwise supported research and development from the public sources. One page of the black-white journal page costs 1800 CZK, the colour page 2000 CZK, including VAT which can be drawn from the specified public sources.

If authors wish to publish the grant support, research plan support, etc., they should send a written order (available at address: http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych?&confirm_rules=1) to the address: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, Marcela Havlíková (tel./fax: 224 266 226, e-mail: havlikova@cls.cz). The invoice will be send with the proofs; the tax certificate will be send after the issue is printed. Manuscripts with the dedication but without the accompanying order will be evaluated by the editorial board, but the author will be notified about the obligation to send the order. If publisher does receive the order, the dedication will be erased during proofreading.

At the same www page (http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych?&confirm_rules=1) authors can find **Authors' statement** which should be signed by all authors and send to the address of the publisher. **Authors' statement** should be attached to each scientific article.

JOURNAL OF CZECH PHYSICIANS

Is published by the Czech Medical Association of Jan Evangelista Purkyně. It is a multidisciplinary journal, strictly scientific which brings review articles and original contributions from all fields of medicine. It also brings information on the meetings, congresses, abstracts, book reviews, chapters from the history of medicine, personal information, casuistics, articles about the pre- and postgraduate medical education, answers for specialized questions of readers etc.

This Instructions for Authors are in accordance with "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (3rd revision, 1988, Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals – published in full translation in *Cas Lék Čes* 2000; 139(1): 31.

GENERAL REQUIREMENTS FOR THE LAYOUT OF THE MANUSCRIPT

Accepted for publication in the Journal of Czech Physicians can be only the **manuscript not simultaneously being considered by other journals**. Exception is the abstract from scientific conferences.

Manuscript should be submitted only in an electronic form. Files larger than 5 Mb should be mailed to the Editor in Chief (address see below) using an electronic medium. Electronic text should not be graphically formatted. Along with e-mail address of the corresponding author, the phone number should be added.

During proofreading authors cannot change or extend the text. **The corrected proofs should be send immediately (not later than the 8th day) back to the Editorial Office.** Retarded proofs cannot be considered.

UNITS OF MEASUREMENT

Results of the chemical, physical and clinical examination should be reported in SI form units (Système international d'Unités). Values of the heart rate, temperature, and blood pressure can be reported in conventional units.

NAMES OF DRUGS

Drugs should be referred to by their brand names along with their generic names.

ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

When an abbreviation is first used, the word in full, followed by the abbreviation in parentheses should be given. Avoid using abbreviations in the title and abstract. Alphabetical list of abbreviations along with their explanation should be given at the end of manuscript.

TABLES

Extensive tables with many data will not be accepted. Include table title, footnotes and symbols of statistical evaluation. Tables should be numbered and the number should be referred in the corresponding part of the text.

FIGURES

Illustrations and photographs should reach the professional level. **Line drawings, photos and instrument outputs are acceptable only in file formats: TIF, EPS, JPG, and graphs from the Excel program processed for single-coloured print.** To preserve the quality, figures in JPG format should be of the highest resolution (the best is the compression rate 10-12). Titles of figure files should root from the author's name and the figure number (e.g. MACEK1.tif). **Names and initials of the referred patients have to be erased. Figures (graphs) should be numbered** and the number should be referred in the corresponding part of the text.

In the accompanying letter to the Editor in Chief, author has to state which figures should be in colour and for the above given Editor's address the written consent with the payment must be send. **Colour pages**, regardless how many figures they include, **must be covered by authors** (2000 Kc for a single printing page). The exact address of the payer should be included and payers of the physical or legal entity have to include their personal or VAT identification number. Figures not fulfilling the requirements will be published in blacked-white mode.

KEY WORDS

Three to ten key words for indexing purposes should be supplied below the abstract. Use terms/phrases taken from Index Medicus (thesaurus MeSh)

REFERENCES

Only authentic sources referred to in text can be cited. No formal references should be included. **In the text, references should be cited using Arabic numerals in parentheses in the order in which they appear.** Avoid references to abstracts, unpublished data and personal communications. Authors are responsible for the accuracy and completeness of their references and for the correct text citation.

Examples of reference styles: from a book (1), chapter in a book (2), proceedings (3), journal article (4), online article (5).

1. **Dominik J, Záček P.** Chirurgie srdečních chlopní (... nejen pro kardiologii) ve 200 vyobrazeních. Praha: Grada Publishing 2008.

2. **Jiskra J.** Autoimunitní polyorgánové syndromy. In: Límanová Z, et al. Trendy soudobé endokrinologie, Stítná žláza. Praha: Galén 2006; 227–237.

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

4. **Goetz P, et al.** Hrozí zneužití – diskreditace lékařské genetiky. *Čas Lék Čes* 2008;147: 159–161.

5. **Horák J.** Standardní diagnostický a terapeutický postup u genetické (hereditární) hemochromatózy. <http://www.ceska-hepatologie.cz/index.php?node=43>

THE USE OF FOREIGN MATERIAL

Material (diagrams, figures, graphs) taken from another sources/publications can appear only with a written consent of the author/publisher who is in possession of the copyright (copyright ©). Ask the authors of papers in print, unpublished data or personal communications for the consent. Send their written approval to the publisher together with the Authors' statement (see above).

ETHICAL ASPECTS

To all manuscripts reporting data from studies involving human participants, approval of an appropriate institutional ethics committee must be added. **In the presented material names, initials of patients, hospital or protocol numbers should be avoided.** When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the institutional and national guide for the care and use of laboratory animals was followed or include the statutory declaration on the institutional review body's approval

CONFLICT OF INTEREST

Author must disclose any funding from a company whose products were used in the study. Authors of the review articles on pharmacotherapy are expected not to have any financial interests (or a concurrency) in the company whose products are referred. All information provided to the Editors will be kept confidential.

REQUIREMENTS FOR MANUSKRIPT FORMATS

CURRENT TOPICS, REVIEW ARTICLE, PHARMACOTHERAPY, CASUISTICS, SPECIAL CONTRIBUTIONS

Title page: short concise name of the article, full name of author/authors; institutional affiliations, city and country.

Summary: identical Czech and English versions, maximal extend 200 words, no internal division, should be followed by 3 to 10 key words.

Text of the article – list of abbreviations – references.

Address of the corresponding author: full name and titles, address, fax number, e-mail address.

ORIGINAL ARTICLE, EXAMINATION METHODS

Title page: short concise name of the article, full name of author/authors; institutional affiliations, city and country.

Structured abstract: identical Czech and English versions, maximal extend 200 words, with the following headings:

Objective: 2 to 4 sentences providing the context or background for the study, 2 to 3 sentences characterizing the aim of the study

Methods and results: characteristics of the studied cohort, methods used, principal results expressed in the numeric form, the level of significance

Conclusions: should include an evaluation of the study and areas for further research

Key words: 3 to 10.

Text of the article – methods – results – discussion - list of abbreviations – references.

Address of the corresponding author: full name and titles, address, fax number, e-mail address.

IMPORTANT NOTICE

Since January 1, 2008 Editorial board will accept all manuscripts of the primary studies type and examination methods only with English translation supplied by the author. English manuscript should follow the requests of reviewers similarly as the Czech version and after the editorial procedure and corrections it will be published in the English version of the journal at Internet. Editors do not provide translations but they reserve the right to return translations of the inferior quality for revision.

INFORMATION FROM CONGRESSES, HISTORY OF MEDICINE, LETTERS TO THE EDITOR, DISCUSSION

The title page: short concise name of the article; full name of author/authors; institutional affiliations, city and country.

Text of the article

Address of the corresponding author: full name and titles, address, fax number, e-mail address.

IN ALL MANUSCRIPT CRIPTFORMATS

In all types of manuscripts after the references information on the grant support (full name of the agency, number of the project) should be given together with the full address of the affiliate institution.

Each manuscript is evaluated by the editorial board and reviewed by two expert reviewers. Not accepted manuscripts are commonly returned within 3 months.

Editors can refuse the manuscript that does not correspond to the published instructions; those negatively reviewed; when editors recently accepted or published another manuscript in the same topics; if the studied subject does not meet the aims of the Journal or editors.

All manuscripts meeting the given requirements should be send for the address of the Editor in Chief:

prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.
I, interní klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10
e-mail: horak@fnkv.cz

Laureáti Nobelovy ceny

EARL WILBUR SUTHERLAND

(1915–1974)

Jakýsi Earl Wilbur Sutherland vedl na počátku 20. století v kansaském městě Burlingame obchod se střížním zbožím. Se svou ženou Edith rozenou Hartshornovou přivedl na svět pět dětí, mezi nimi jmenovce, narozeného tam 19. listopadu 1915. Od raného dětství se Earl Wilbur Sutherland mladší na toulkách po okolních lesích sžíval s přírodou a doma hlтал *Lovce mikrobů* Paula de Krui- fa, což ho přivedlo k poznání, že chce být lékařem. Plány ohrožené rozpadem manželství rodičů zachránilo stipendium pro studium na Washburnově koleji v nedalekém městě Topeka, kde pak v roce 1937 dosáhl Earl bakalářského stupně.

Téhož roku se oženil s Mildred Riceovou a začal studovat na Lékařské fakultě Washingtonovy univerzity v misourském Saint Louisu. V posledních dvou ročnících (1940/41 a 1941/42) pracoval jako asistent farmakologického ústavu, který od roku 1931 vedl profesor Carl Ferdinand Cori, a v ústavní laboratoři vládla asistentka Gerty Theresa Coriová. Oba v Praze narození manželé pozvedli skromné pracoviště na vrcholnou úroveň a při Earlově nástupu v roce 1940 byl ústav už proslulým střediskem světové vědy. Na pokrocích poznání enzymatické přeměny glukózy v glykogen se v pokusech s purifikovanými enzymy podílel také student-asistent Sutherland s prvním Coriho doktorandem Sidneyem P. Colovickem (The Enzymatic Conversion of Glucose-6-Phosphate to Glycogen. *J Biol Chem* 1941; 140: 309–310; s Colowickem a Corim).

S doktorátem lékařství nastoupil Earl v roce 1942 jako sekundář ve fakultní Barnesově nemocnici, odkud ho však hned v roce 1943 vzdánilo povolání k armádě, s níž v následujících 2 letech jako chirurg praporu absolvoval evropské tažení pod velením generála George Smitha Pattona. Po válce se vrátil do Saint Louisu, ne však už ke klinické praxi, neboť Carl Cori ho přesvědčil, aby u něho jako instruktor vyučoval farmakologii. Když pak byl Cori v roce 1946 jmenován profesorem biochemie, přešel s ním Sutherland jako instruktor do nově zřízeného Biochemického ústavu Washingtonovy univerzity a tam pokračoval ve výzkumu enzymů metabolismu sacharidů (Mechanism of the Phosphoglyceric Mutase Reaction. *J Biol Chem* 1949; 181: 153–159; s Posternakem a Corim).

Kladl si otázku, zda uvolňování glukózy působí epinefrin zvýšením její tvorby, nebo jejím vytlačováním z buňky. Tento první známý hormon byl objeven už koncem 19. století, mechanismus působení hormonů však zůstával stále neznám. Sutherland nejprve v roce 1950

prokázal, že hyperglykemický faktor slinivky a epinefrin působí uvolňování glukózy zvýšením její tvorby (The Effect of the Hyperglycemic Factor of the Pancreas and of Epinephrine on Glycogenolysis. *Rec Prog Horm Res* 1950; 5: 441–463). Toho roku byl jmenován „assistant professor“ biochemie. V roce 1951 začal zkoumat, jak epinefrin v jaterních buňkách vyvolává odbourávání glykogenu na glukózu. Brzy nato **objevil, že epinefrin působí aktivací glykogenfosforylázy** katalyzující uvolnění glukóza-1-fosfátu z koncové alfa-1,4-glykosidické vazby (Effect of Hyperglycemic-Glycogenolytic Factor and Epinephrine on Liver Phosphorylase. *J Biol Chem* 1951; 188: 531–543; s Corim). V roce 1952 byl jmenován „associate professor“ biochemie Washingtonovy univerzity.

V roce 1953 přijal profesuru farmakologie na clevelandské Western Reserve University. V pokračování výzkumu fosforylázy zpočátku sdílel všeobecnou nedůvěru k analýze působení hormonů v preparátech buněčné drti, „assistant professor“ Theodore R. Rall ho však přiměl k překonání této nedůvěry. S „Tedem“ Rallem a W. D. Wosilaitem pak Sutherland **prokázal, že aktivita fosforylázy je regulována změnami rovnováhy fosforylace a defosforylace** (The Relationship of Epinephrine and Glucagon to Liver Phosphorylase. I. Liver Phosphorylase; Preparation and Properties. *J Biol Chem* 1956; 218: 459–468; s Wosilaitem. II. Enzymatic Inactivation of Liver Phosphorylase. *Ibid.*: 469–481; s Wosilaitem. III. Reactivation of Liver Phosphorylase in Slices and in Extracts. *Ibid.*: 483–495; s Rallem a Wosilaitem).

V roce 1955 prokázali Edmond Fischer a Edwin Krebs v Seattlu potřebu ATP a Mg^{2+} pro fosforylázu. Sutherland s Rallem začal proto hormony do buněčných výtažků přidávat v přítomnosti ATP a Mg^{2+} a takto **vyvolal stimulační účinky epinefrinu a glukagonu na aktivitu fosforylázy v bezbuněčných systémech** (The Relationship of Epinephrine and Glucagon to Liver Phosphorylase. IV. Effect of Epinephrine and Glucagon on the Reactivation of Phosphorylase in Liver Homogenates. *J Biol Chem* 1957; 224: 463–475; s Rallem a Berthetem). S W. F. Henionem **objevil, že fosforylázy se liší imunologickými vlastnostmi podle typu buněk** (Immunological Differences of Phosphorylases. *J Biol Chem* 1957; 224: 477–488; s Henionem).

S Rallem **objevil, že epinefrin stimuluje glykogenfosforylázu nepřímo prostřednictvím „druhého posla“**, kterého objevil jako termostabilní faktor v buněčné drti, jejíž odstranění z jaterního homogenátu vyřadilo stimulaci fosforylázy, a určil jej jako adeninnukleotid (The Properties of an Adenine Ribonucleotide Produced with Cellular Particles,

ATP, Mg^{++} , and Epinephrine or Glucagon. *J Am Chem Soc* 1957; 79: 3608; s Rallem), blíže pak „**druhého posla“ určil jako cyklický adenosinmonofosfát (cAMP)** (Formation of a Cyclic Adenine Ribonucleotide by Tissue Particles. *J Biol Chem* 1958; 232: 1065–1076; s Rallem) a **vyslovil domněnku, že jako „druhý posel“ účinkuje cAMP i pro jiné hormony** (Fractionation and Characterization of a Cyclic Adenine Ribonucleotide Formed by Tissue Particles. *J Biol Chem* 1958; 232: 1077–1091; s Rallem).

S Rallem **objevil, že tvorbu cAMP stimuluje epinefrin adenylátcyklázou** (Relation of Adenosine-3',5'-Phosphate and Phosphorylase to the Actions of Catecholamines and Other Hormones. *Pharmacol Rev* 1960; 12: 265–299; s Rallem. Adenyl Cyclase. I. Distribution, Preparation, and Properties. *J Biol Chem* 1962; 237: 1220–1227; s Rallem a Menonem). Známým fosfatázám cAMP odolával, Sutherland však s Butcherem **objevil fosfodiesterázu**, odbourávající cAMP na adenosin 5'-fosfát (Adenosine 3',5'-Phosphate in Biological Materials. I. Purification and Properties of Cyclic 3',5'-Nucleotide Phosphodiesterase and Use of This Enzyme to Characterize Adenosine 3',5'-Phosphate in Human Urine. *J Biol Chem* 1962; 237: 1244–1250; s Butcherem). Výsledky podpořily závěr, že tkáňové koncentrace cAMP představují rovnováhu mezi faktory syntézy cAMP (adenylátcyklázový systém) a faktory odbourávání cAMP (fosfodiesterázy).

Sutherland usoudil, že cAMP může sloužit jako druhý posel pro různé hormony a neurotransmitery, a **vyslovil domněnku, že jiné hormony také nepronikají do buňky a působí na jejím povrchu**, kde stimulace adenylcyklázy vede k tvorbě cAMP a ten pak v buňce aktivuje nebo inhibuje různé metabolické pochody (Adenyl Cyclase. I. Distribution, Preparation, and Properties. *J Biol Chem* 1962; 237: 1220–1227; s Rallem a Menonem). Tato hypotéza bořila dosavadní představy a narážela na silný odpor. Potom však Sutherland **prokázal, že cAMP je syntetizován v buněčné membráně** (The Cellular Location of Adenyl Cyclase in the Pigeon Erythrocyte. *J Biol Chem* 1963; 238: 3016–3023; s Davorenem), zanedlouho **vyvolal jedinou látkou, cAMP, četné účinky epinefrinu** (Action of Epinephrine and the Role of the Adenyl Cyclase System in Hormone Action. *Rec Prog Horm Res* 1965; 21: 623–646; s Oyeem a Butcherem) a **prokázal, že cAMP slouží jako „druhý posel“ nejméně tuctu jiných hormonů a neurotransmiterů** (The Role of Cyclic 3',5'-AMP in Response to Catecholamines and Other Hormones. *Pharmacol Rev* 1966; 18: 145–161; s Robisonem).

Po rozvodu pětadvacetiletého manželství s Mildred Riceovou v roce 1962

uzavřel Sutherland o rok později sňatek s Claudií Sebeste Smithovou, proděkanou Vanderbiltovy univerzity ve městě Nashville ve státě Tennessee, a téhož roku tam přijal profesuru fyziologie. Obklopili ho nadaní badatelé Reginald Butcher, Joel Hardman, G. Alan Robison a další. Sutherland s nimi na kryším srdci zkoumal vztah mezi biochemickým dějem (změny hladin cAMP) a funkční aktivitou (srdeční stah) a **prokázal, že zprostředkovatelem pozitivně inotropní odpovědi na epinefrin a jiné beta-adrenergní stimulanty je cAMP** (The Effect of Epinephrine on Adenosine 3',5'-Phosphate Levels in the Isolated Perfused Rat Heart. *Mol Pharmacol* 1965; 1: 168–177; s Robisonem, Butcherem, Oyeem a Morganem). Tento nálezk přinesl výrazný pokrok ve farmakoterapii kardiovaskulárních a respiračních poruch, jako je hypertenze, bradykardie, srdeční blokáda, městnavé srdeční selhání a průduškové astma.

V roce 1965 Sutherland s R. S. Makmanem nečekaně **objevil cAMP v bakteriích, které jakožto jednobuněčné žijí bez hormonů** (Adenosine 3',5'-Phosphate in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1965; 240: 1309–1314; s Makmanem). Zjištění účinků cAMP na adaptaci jednobuněčných organismů na prostředí ukázalo, že cAMP plní v bakteriích úlohu primitivního hormonu.

Sutherland **předpokládal existenci mnoha „druhých poslů“**. S Hardmanem obrátil pozornost od cAMP k cyklickému guanosinmonofosfátu (cGMP), nedlouho předtím zjištěnému jako hlavní organický fosfát v kryším moči (Measurement of Guanosine 3',5'-Monophosphate and Other Cyclic Nucleotides. Variations in Urinary Excretion with Hormonal State of the Rat. *J Biol Chem* 1966; 241: 4812–4815; s Hardmanem a Davisem). O jeden až dva řády nižší koncentrace cGMP než cAMP ve tkáních po léta brzdila pokrok výzkumu. Přesto Sutherland s Hardmanem **prokázal, že syntéza cGMP je regulována guanylcyklázou** (Guanyl Cyclase, an Enzyme Catalyzing the Formation of Guanosine 3',5'-Monophosphate from Guanosine Triphosphate. *J Biol Chem* 1969; 244: 6363–6370; s Hardmanem). Pozdější výzkum odhalil cGMP jako klíčový regulátor fototransdukce, iontových kanálků a relaxace hladké svaloviny.

V roce 1971 publikoval Sutherland monografii o „druhém poslu“ (Cyclic AMP. New York: Academic Press 1971; s Robisonem a Butcherem) a „za své objevy týkající se mechanismů pů-

sobení hormonů“ byl poctěn Nobelovou cenou za fyziologii nebo lékařství. Po každoročním dělení ceny v letech 1962–1970 byl tu nyní opět jediný laureát. Jako nashvillský profesor se stal Sutherland prvním laureátem Nobelovy ceny za fyziologii nebo lékařství z amerického Jihu. Dne 10. prosince 1971 ho ve Stockholmu uvedl profesor Peter Reichard z Karolinského lékařsko-chirurgického institutu volnou citací Monodovy poučky o totožnosti základních životních pochodů: Co platí pro bakterie, platí i pro slony. Zmínil zásadní rozdíl mezi nimi v potřebě koordinace buněk u mnohobuněčných organismů, kterou zajišťují hormony, během posledních sedmdesáti let postupně objeované jako látky důležité svými funkcemi i jejich poruchami, ale s mechanismem působení záhadným až do chvíle, kdy Sutherland začal studovat působení epinefrinu na tvorbu glukózy v játrech a svalu, přitom objevil cyklický AMP a jeho funkci „druhého posla“ přejímajícího zprávu od hormonu a odevzdávajícího ji uvnitř buňky, objevil místo tvorby cAMP v buněčné membráně, pochopil, že cAMP je prostředníkem nejen pro epinefrin, ale cestou přes specifické receptory v membráně také pro různé další hormony, a objevil tak obecný mechanismus jejich působení, a nakonec objevil cAMP překvapivě i v bakteriích, kde reguluje adaptaci na prostředí, takže jej lze považovat za první primitivní hormon. Rozdíl mezi jedno- a vícebuněčnými organismy tedy není tak velký a pokud jde o cAMP, lze Monodovu poučku také obrátit: Co platí pro slony, platí i pro bakterie. Dne 11. prosince 1971 měl Sutherland nobelovskou přednášku (Studies on the Mechanism of Hormone Action. *Science* 1972; 177: 401–408).

V roce 1973 byl zvolen do Národní akademie věd a prezident Nixon ho dekoroval Národní medailí vědy. Téhož roku odešel Sutherland z Nashville na univerzitu v Miami na Floridě jako „distinguished professor“ biochemie. Tehdy už několik laboratoří hlásilo experimentální nálezy potvrzující klíčovou roli cAMP v aktivaci buněk širokou paletou hormonů včetně kortikotropinu, lutropinu, tyroxinu, tyreotropinu a parathormonu. Lákavě zjednodušující domněnku, že zvyšováním intracelulární hladiny cAMP působí všechny hormony, Sutherland nesdílel. Pozdější objevy dalších „druhých poslů“, jako jsou vápník, arachidonová kyselina a její metabolity

eikosanoidy, oxid dusnatý, inozitoltrifosfát a diacylglycerol, daly mu za pravdu.

Na své badatelské i učitelské dráze došel Earl Wilbur Sutherland, věčně „zápasící se svými osobními démony“ (Rubin), za svůj nedlouhý život velmi daleko. Zemřel 9. března 1974 v Miami na pooperační komplikace a byl pochován na městském hřbitově v kansas-kém rodišti. Zůstala po něm vdova, dva synové, dvě dcery a dlouhá řada vynikajících žáků: především nepostradatelný spolupracovník Ted Rall, dále Joseph Beavo, Reginald Butcher, Joel Hardman, Roger Johnson, G. Alan Robison, Günter Schultz a pozdější laureát Nobelovy ceny Ferid Murad. Na Sutherlandovo dílo navázali i další laureáti této ceny Paul Greengard, Robert Furchgott, Louis Ignarro, Alfred Gilman i Martin Rodbell.

LITERATURA

1. **Butcher RW, Robison GA.** An Appreciation of Earl Sutherland. *Metab Clin Exp* 1975; 24(3): 237–240.
2. **Ho RJ, Russell T, Asakawa T.** The Last Conversation with Dr. Earl W. Sutherland, Jr: The Feedback Regulation of Cyclic Nucleotides. *Metab Clin Exp* 1975; 24(3): 257–264.
3. **Kampmeier RH.** Cyclic AMP – and the Nobel Prize. *South Med J* 1971; 64(11): 1413–1414.
4. **Kresge N, Simoni RD, Hill RL.** Earl W. Sutherland's Discovery of Cyclic Adenine Monophosphate and the Second Messenger System. *J Biol Chem* 2005; 280(42): 39.
5. **Magill FN. (ed.)** The Nobel Prize Winners. Pasadena – Englewood Cliffs: Salem Press 1991; 3: 1103–1113.
6. **McMurray EJ. (ed.)** Notable Twentieth-Century Scientists. New York: Gale Research Inc. 1995; 4: 1947–1948.
7. **Raju TN.** The Nobel Chronicles. 1971: Earl Wilbur Sutherland, Jr. (1915–74). *Lancet* 1999; 354(9182): 961.
8. **Shampo MA, Kyle RA.** Earl Sutherland – Nobel Prize for Hormone Research. *Mayo Clin Proc* 2000; 75(6): 552.
9. **Sodomka L, Sodomková Magd., Sodomková Mark.** Kronika Nobelových cen. Praha: Euromedia Group k. s. – Knižní klub 2004: 339–341.
10. **Wasson T. (ed.)** Nobel Prize Winners. New York: The H. W. Wilson Company 1987: 1026–1028.

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