

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: Gerontologie



MUDr. Michaela Šnejdrlová

Vztah polymorfismu apolipoproteinu E k funkční zdatnosti seniorů

Relationship of apolipoprotein E polymorphism on the functional fitness in the elderly

Disertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Richard Češka, CSc.

Praha, 2012

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala všem, kteří se svou prací a pomocí podíleli na vzniku předkládané práce.

Chtěla bych touto cestou poděkovat zejména svému školiteli prof. MUDr. R. Čěškovi, CSc. Děkuji prof. Čěškovi za vytvoření podmínek pro dokončení mého doktorandského studia, můj dík mu patří nejen za cenné rady a odborné vedení, ale i za lidský přístup, trpělivost a pochopení, které pro mě v průběhu doktorandského studia měl.

Dále bych ráda poděkovala MUDr. Z. Kalvachovi, CSc., který stál u zrodu tématu mé doktorandské práce a odborně mě vedl v prvních dvou letech studia.

Ráda bych také poděkovala prof. MUDr. Š. Svačinovi, DrSc., MBA, přednostovi III. interní kliniky 1. LF UK a VFN, který mi rovněž vytvořil výborné podmínky pro úspěšné zvládnutí doktorandského studia.

Děkuji také laborantkám paní R. Procházkové a M. Kvasilové, nejen za práci se zpracováváním materiálu, ale i za milou atmosféru, která naši spolupráci vždy provázela. V neposlední řadě bych velmi ráda poděkovala doc.MUDr. M. Vrablíkovi, PhD., ostatním kolegům a spolupracovníkům z Centra preventivní kardiologie a také RNDr.V.Lánské, CSc., za její pomoc se statistickým zpracováním dat.

Zejména bych ale touto cestou ráda poděkovala své rodině, která mě po celou dobu studia trpělivě podporovala.

OBSAH

Poděkování	1
Seznam použitých zkratk	4
Abstrakt (CZ)	6
Abstract (EN)	7
I. Úvod	8
I.1. Stárnutí populace, demografie	8
I.2. Biologické mechanismy stárnutí	13
I.2.1. Buněčné dělení a stárnutí	14
I.2.2. Telomery	15
I.2.3. Regulace buněčného cyklu	16
I.2.4. Apoptóza	17
I.2.5. Volné radikály, peroxidace lipidů, antioxidanty	18
I.2.6. Mutace	19
I.2.7. Vápník	20
I.2.8. Glykace	21
I.2.9. Dlouhověkost	21
I.3. Apolipoprotein E	24
I.3.1. Apolipoprotein E – struktura, genetická determinace	24
I.3.2. Apolipoprotein E a kardiovaskulární onemocnění	26
I.3.3. Apolipoprotein E a Alzheimerova choroba	27
I.3.4. Apolipoprotein E a dlouhověkost	32
I.4. Geriatrická křehkost (frailty)	33
I.4.1. Geriatrická křehkost – definice, klasifikace	33
I.4.2. Etiologie a patogeneze geriatrické křehkosti	34
II. Hypotéza a cíle práce	37
III. Materiál a metodika	38
III.1. Soubor pacientů	38
III.2. Spektrum prováděných vyšetření	38
III.2.1. Klinické vyšetření funkční zdatnosti	38
III.2.1.1. Stanovení ADL, alternativní index Barthelové	39

III.2.1.2. Orientační hodnocení mobility	41
III.2.1.3. Hodnocení svalové síly	42
III.2.1.4. Šestiminutový test chůzí (6-MWT)	44
III.2.1.5. Hodnocení výživy	46
III.2.1.6. Hodnocení kognitivních funkcí	49
III.2.1.7. Hodnocení depresivní poruchy	52
III.2.1.8. Funkční hodnocení seniorů podle W. Spirdusové	53
III.2.2. Laboratorní vyšetření	54
III.2.3. Analýza polymorfismu <i>APOE</i>	54
III.3. Statistická metoda	56
IV. Výsledky	57
V. Diskuze	67
VI. Závěry	73
VII. Souhrn závěrů	74
VIII. Literatura	75
IX. Vlastní publikace autora	84
IX.1. Publikace se vztahem k tématu dizertace	84
IX.2. Publikace bez vztahu k tématu dizertace	85
IX.3. Prezentace na kongresech a sympoziích	86
X. Přílohy	
X.1. Publikace se vztahem k tématu dizertace <i>in extenso</i>	
X.2. Prohlášení zájemce o nahlédnutí do závěrečné práce absolventa	
X.3. Prohlášení autora	

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AADL	advanced activities of daily living
ACE	angiotensin converting enzyme (angiotensin konvertující enzym)
AD	Alzheimer disease (Alzheimerova choroba)
ADL	activities of daily living
AGE	advanced glycation end product
apo A1	apolipoprotein A1
apo B	apolipoprotein B
apo E	apolipoprotein E
APOE	apolipoprotein E
APP	amyloid precursor protein
BMI	body mass index
Cdk	cyclin-dependent protein kinase
CGA	comprehensive geriatric assesment (komplexní geriatrické hodnocení)
CIRS	cummulative illness rating scale
DNA	deoxyribonucleic acid (deoxyribonukleová kyselina)
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid (kys. ethylendiaminotetraoctová)
FAD	familiar Alzheimer disease
FI	frailty index
FTLD	frontotemporal lobar degeneration
HDL	high-density lipoproteins
IADL	instrumental activities of daily living
IDL	intermediate-density lipoproteins
IGF-1	insulin – like growth factor – 1
LDL	low-density lipoproteins
MIC	mild cognitive impairment (lehký kognitivní deficit)
MMSE	mini mental state examination
MNA	mini nutritional assesment
MORF 4	mortality factor on chromozom 4
mtDNA	mitochondrial deoxyribonucleic acid

PCR	polymerase chain reaction
PNCA	proliferating cell nuclear antigen
PS1	presenilin 1
PS2	presenilin 2
RNA	ribonucleic acid (ribonukleová kyselina)
6 - MWT	six minute walk test
SOD	superoxide dismutase
TGF - β	transforming growth factor β (transformující růstový faktor β)
TNF - α	tumor necrosis factor α (nádory nekrotizující faktor α)
VLDL	very-low-density lipoproteins

ABSTRAKT (CZ)

Úvod: Délka života je dána kombinací genotypu (cca 25 %) a vlivů prostředí, včetně životního stylu (cca 75 %), nicméně silnější vliv dědičnosti je na základě řady populačních studií předpokládán u dlouhověkých jedinců. Mezi nejvíce studované tzv. „kandidátní geny dlouhověkosti“ patří *gen epsilon* pro apolipoprotein E (*APOE*). Vzhledem k prokázané asociaci polymorfismu *APOE* s celou řadou onemocnění (hypercholesterolemie, kardiovaskulárních onemocnění a Alzheimerova choroba), jsme se snažili zhodnotit vztah polymorfismu *APOE* a funkční zdatnosti seniorů.

Metodika: Celkem bylo v naší pilotní studii vyšetřeno 128 jedinců (93 žen, 35 mužů) starších 80 let, průměrného věku $88,6 \pm 5,3$ let. Provedeno:

A) podrobné vyšetření funkční zdatnosti (ADL, MMSE, škála deprese dle Yeassavage, MNA, 6-MWT) - na základě tohoto komplexního vyšetření byli pacienti rozděleni do 5 funkčních kategorií podle W. Spirdusové, vystihující objektivně míru soběstačnosti.

B) laboratorní vyšetření

C) vyšetření polymorfismu genu *APOE* restrikční analýzou DNA, izolované z periferních leukocytů

Výsledky: V naší pilotní studii jsme prokázali statisticky významný vztah ($p=0,0248$) mezi alelou *E4* a funkční nezdatností ve stáří, podle výsledků logistické regrese mají nositelé alely *E4* (tedy *E2/E4*, *E3/E4* a *E4/E4*) 13x vyšší riziko funkční nezdatnosti, než osoby s genotypem *E2/E3*. Při porovnání jednotlivých negativních prediktorů stařecké křehkosti s genotypem *E3/E4* se nám ovšem statickou významnost prokázat nepodařilo (s výjimkou ADL a 6-MWT).

Závěr: Riziko funkční nezdatnosti je spojeno s věkem, přítomností malnutrice, manifestní deprese a také s přítomností alely *APOE4*. Výsledky této pilotní studie mají ale omezenou platnost, zejména z důvodu omezené velikosti souboru.

Projekt podpořen grantem IGA MZČR 9411-3.

Klíčová slova: apolipoprotein E, polymorfismus, funkční zdatnost, frailty

ABSTRACT (EN)

Background: The life expectancy is defined by a combination of genotype (25%) and environmental influences, including lifestyle (75%). Nevertheless a stronger genetic influence is expressed in long-living individuals. Epsilon gene for apolipoprotein E (*APOE*) belongs among the most studied so called „candidate genes of longevity“. The association of *APOE* polymorfism is proved in relation to many diseases (hypercholesterolaemia, cardiovascular disease, Alzheimer disease), thus we tried to evaluate the relation of *APOE* polymorfism and senior fitness.

Methods: In our pilot study we examined a total number of 128 patients (93 women, 35 men), all of them older than 80 years, average age 88.6 ± 5.3 years. Examinations:

A) detailed examination of functional fitness (ADL, MMSE, Yeassavage's depression scale, MNA, 6-MWT). Based on this complex examination, patients have been sorted to 5 functional categories according to W. Spirdus, these categories objectively express the level of self – sufficiency.

B) laboratory examinations

C) examintaion of *APOE* gene polymorphism using DNA restriction analysis, DNA isolated from peripheral leucocytes

Results: Our pilot study proved statistically significant relation ($p = 0,0248$) between allele *E4* and functional fitness in senior age. According to the results of logistic regression, the carriers of allele *E4* (i.e. *E2/E4*, *E3/E4* and *E4/E4*) have 13x higher risk of functional unfitness than individuals with genotype *E2/E3*. The comparison of individual geriatric frailty predictors to *E3/E4* genotype proved no statistically significant correlation (except in ADL and 6-MWT).

Conclusion: The risk of functional unfitness is associated with age, presence of malnutrition, depression and also with the presence of *E4* allele. The results of our pilot study have limited validity regarding to limited size of the data file.

The project was supported by grant IGA of Ministry of Health of Czech Republic number 9411- 3.

Keywords: apolipoprotein E, gene polymorfism, functional fitness, frailty

I. ÚVOD

Cílem úvodní kapitoly předkládané práce je vysvětlit a zejména shrnout dostupné informace o problematice stárnutí, funkční zdatnosti ve stáří, dále o demografickém vývoji, genetické determinaci délky lidského života a predispozici k dlouhověkosti.

I. 1. Stárnutí populace, demografie

Stáří (senium) je označení posledních etap ontogenetického vývoje člověka. Jedná se o projev a důsledek involučních změn probíhajících různou rychlostí a s výraznou interindividuální variabilitou (1). Na charakteru stáří se podílí řada faktorů, např. zdravotní stav, životní styl, vlivy sociálně ekonomické a psychické.

Z kalendářního hlediska se za počátek stáří obvykle považuje věk 60 – 65 let. V současné době jsou používány 2 nejčastější periodizace stáří:

- 60 – 74 let – počínající stáří
75 – 89 let – vlastní stáří
90 let a více – dlouhověkost
- 65 – 74 let – mladí senioři
75 – 84 let – vlastní stáří
85 a více let – velmi staří senioři („oldest old“)

Jedním z hlavních rysů populace 20. a 21. století je absolutní i relativní nárůst počtu seniorů. Z demografického hlediska je stárnutí populace důsledkem změn v poměru úmrtnosti a porodnosti – rodí se méně dětí a více lidí se dožívá vysokého věku. Zásadní roli přitom sehrává lepší životní úroveň a pokroky medicíny (zejména ve vyspělých zemích)

Ve většině zemí, bez ohledu na jejich geografické umístění nebo úroveň rozvoje, obyvatel ve věku 80 a více let přibývá rychleji než jakékoliv mladší skupiny seniorské populace. Průměrné tempo nárůstu počtu osob ve věku 80 a více let je 4,0 % za rok, populace starší 60 let narůstá pomaleji, o 2,6 % ročně. Zatímco v roce 1950 byla 1 osoba ze 14 ve věku nad 60 let starší 80 let, do roku 2009 se tento poměr zvýšil na 1 osobu ze 7

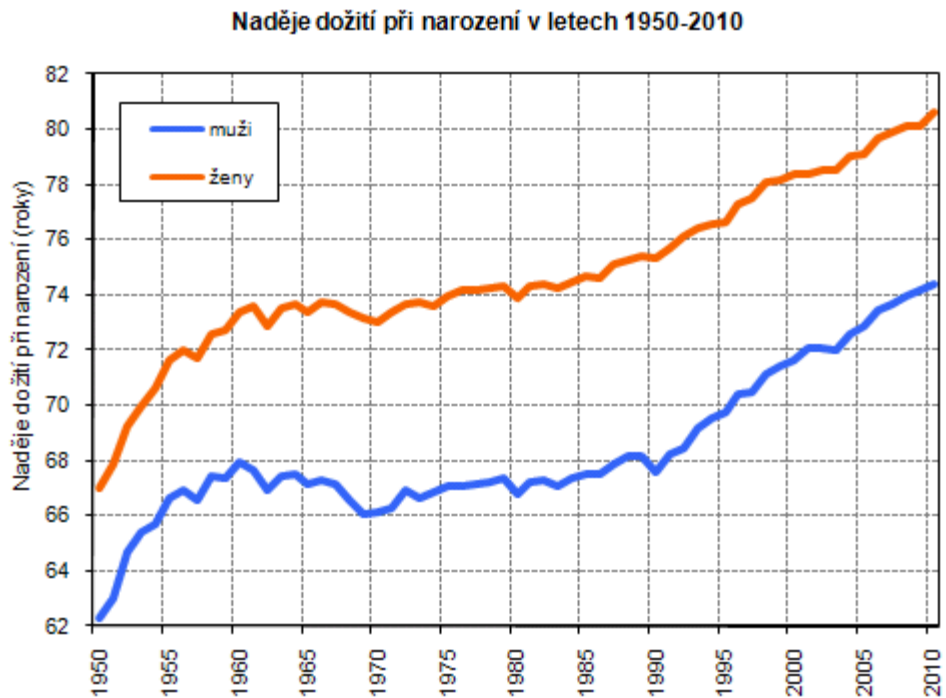
a do roku 2050 se očekává, že dosáhne téměř 1 osoby starší 80 let z 5 osob starších 60 let.

Osoby ve věku 80 let a více let tvoří v současné době 1,5 % celosvětové populace, ale předpokládá se nárůst až na 4,3 % v roce 2050. V roce 1950 žilo ve světě méně než 15 mil. osob starších 80 let, do roku 2009 jejich počet vzrostl na 102 mil. osob a očekává se téměř čtyřnásobný vzestup do roku 2050, kdy by mohl počet 80 letých a starších dosáhnout 395 mil.

Lidé ve věku 80 let a více v současné době tvoří více než 4 % populace v Evropě a téměř 4 % obyvatel Severní Ameriky. Podíl osob ve věku 80 let a více je výrazně nižší v rozvojových zemích, tvoří 1,4 % obyvatel Latinské Ameriky a Karibiku, 1,1 % obyvatel Asie (přestože Čína, Japonsko a Indie zastupují země s velmi vysokým počtem seniorů), 0,4 % v Africe. (2)

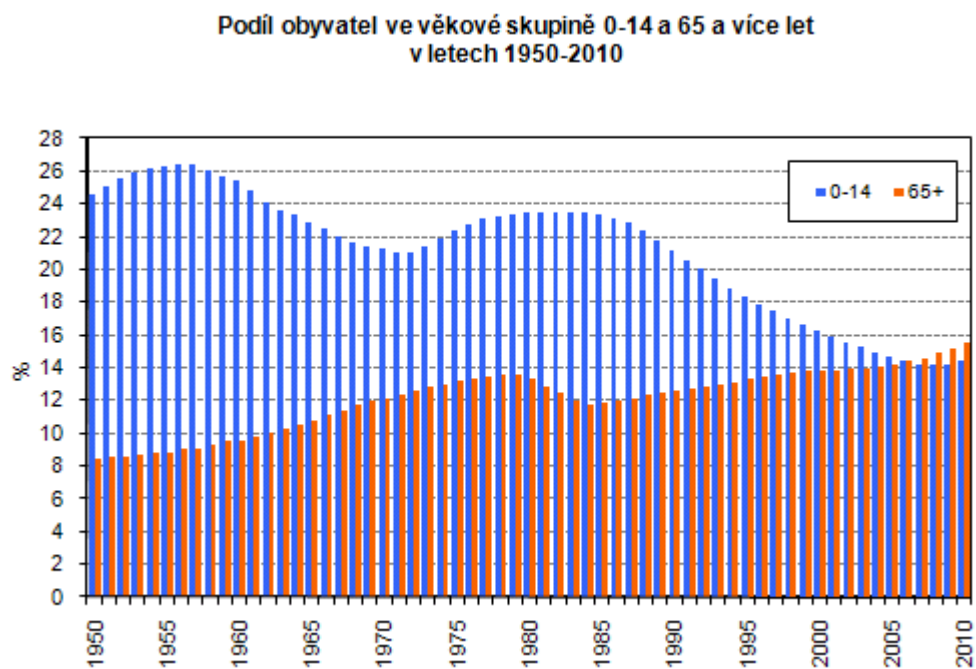
V korelaci s celosvětovým trendem jsou také demografické údaje v České republice. Dle údajů Českého statistického úřadu průměrný věk obyvatelstva k 31.12.2010 činil 40,8 let a každým rokem se mírně zvyšuje, stejně jako naděje dožití, která byla v roce 2010 80,6 let pro ženy a 74,4 let pro muže. (3)

Graf 1. Naděje dožití při narození v letech 1950 – 2010 (4)



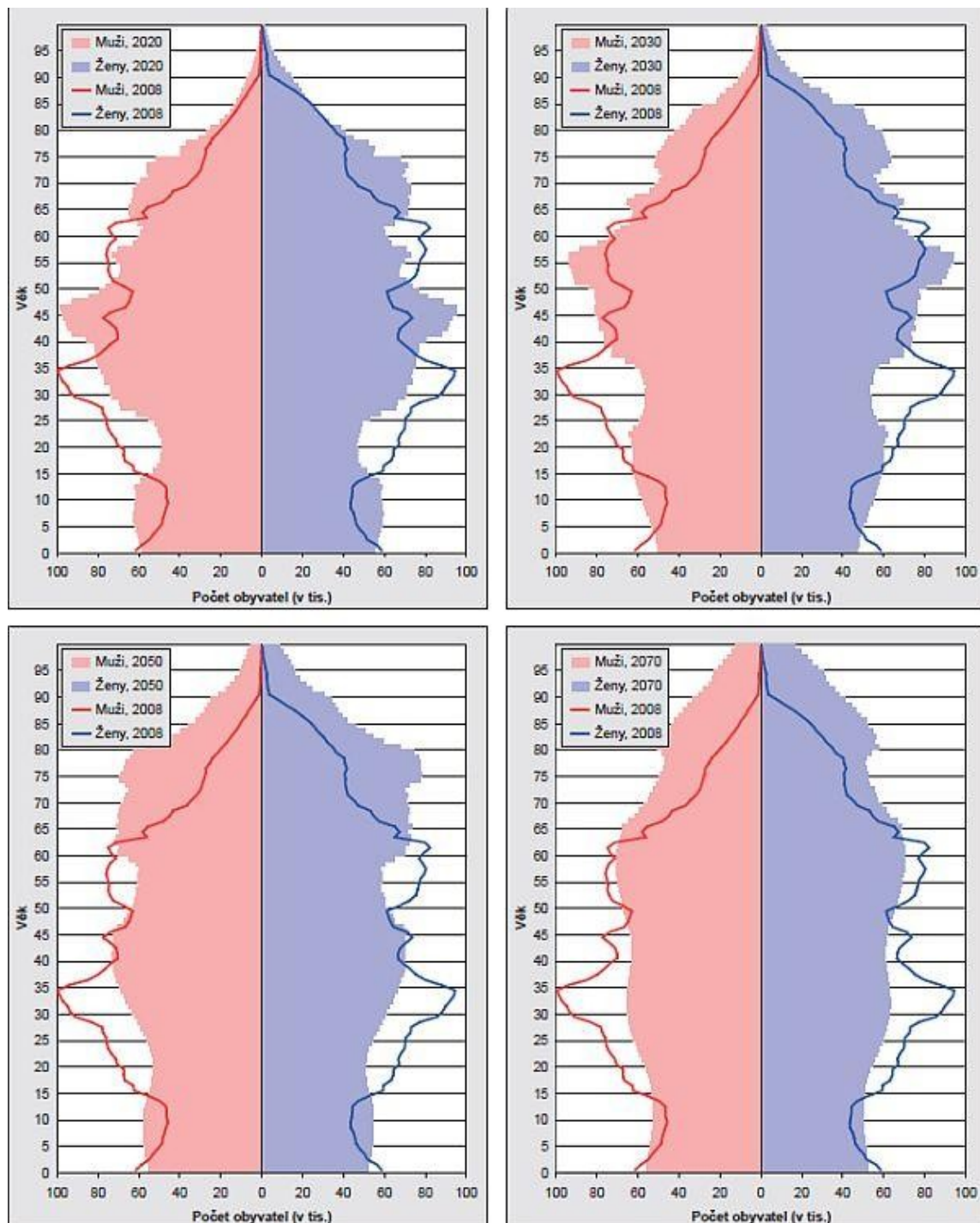
Jedinci starší 65 let tvořili k 31.12.2010 15,53% obyvatelstva, osoby starší 80 let 3,67% a jedinci starší 95 let 0,065 % obyvatelstva. Index stáří (tj. statistický ukazatel vyjadřující počet osob ve věku 65 let a více na 100 dětí do 14 let) byl k 31.12.2010 107,8. V České republice žilo k tomuto datu celkem 883 osob ve věku 100 a více let. (5)

Graf 2. Podíl obyvatel ve věkové skupině 0-14 a 65 a více let v letech 1950-2010 (6)



Očekáváme další významné prodloužení střední délky života a velmi podstatné zvýšení podílu seniorů v populaci. (7)

Graf 3. Předpokládaná změna věkové struktury obyvatelstva ČR v letech 2020, 2030, 2050, 2070 oproti roku 2008 [Burcin a kol, 2010 (7)]



I.2. Biologické mechanismy stárnutí

Rychlost stárnutí a délka života jsou řízeny dvěma hlavními mechanismy:

- genetickou složkou – zajišťuje druhově specifickou způsobilost uskutečňovat základní biologické procesy, které jsou nezbytné pro život a reprodukci, tvoří asi 25%
- složkami vnějšího prostředí, které působí na genetickou výbavu jedince, představuje 75%

Schopnost přizpůsobit se vlivům prostředí je důležitým činitelem, který ovlivňuje rychlost stárnutí jednotlivých orgánů a následně organismu jako celku. Ovlivnění procesu stárnutí a délky života faktory vnějšího prostředí ukazuje na nezanedbatelný vliv životního stylu na průběh stáří. Je prokazatelné, že proces stáří lze příznivě ovlivnit vnějšími faktory, jako jsou vyvážená fyzická aktivita, vyvarování se dlouhodobým stresovým situacím a dietetickými návyky. (8, 9)

Existují různé teorie, které vysvětlují příčiny stárnutí. Scholastické teorie vysvětlují nástup stárnutí poškozením molekul a struktur nepostradatelných pro buněčné funkce. Podle těchto teorií poškození DNA a změna struktury proteinů vedou k projevům stárnutí. Zaměřují se zejména na roli volných radikálů a glykaci.

Programové teorie vysvětlují stárnutí procesy programované buněčné smrti (apoptózou).

Většina biogerontologů však uvažuje o procesu stárnutí jako multifaktoriálně podmíněném ději, který je ovlivněn oběmi výše zmiňovanými příčinami. Klíčovým momentem pro dlouhověkost je schopnost jedince udržet homeostázu obrannými a reparačními mechanismy (8, 9)

I.2.1 Buněčné dělení a stárnutí

Schopnost buněk dělit se je omezená, po určitém počtu buněčných cyklů se buňky dělit přestávají. Proliferační aktivita různých typů buněk byla studovaná na buněčných liniích v *in vitro* podmínkách. S postupujícími pasážemi jsou u kultivovaných buněk patrné morfologické, biochemické a molekulární změny, související s procesem stárnutí. Lidské fibroblasty (nejčastější buněčný model „normálních“ buněk), stejně jako jiné buněčné nenádorové linie, se po určitém počtu pasáží přestanou dělit, i když kultivační médium zajišťuje buňkám všechny potřebné živiny. Počet buněčných cyklů je omezený a souvisí s tzv. replikativním stárnutím (replikativní senescencí). Replikativní senescence znamená zástavu buněčného cyklu v G1 fázi interfáze, buňky však nemusí po zástavě replikace odumírat, mohou v buněčné kultuře v tomto stádiu, při pravidelné výměně kultivačního média, setrvat i několik let.

Lidské buňky mohou v podmínkách *in vitro* prodělat průměrně 50 buněčných cyklů, toto omezené trvání buněčné proliferace *in vitro* se nazývá Hayflickův limit. (10) Zásahem do genomu buněk je možné docílit tzv. imortalizace – tzn. možnosti kultivace bez časového omezení.

Zda stárnutí celého organismu souvisí se stárnutím jednotlivých buněk, se zabývala longitudinální studie – Longitudinal Study of Ageing (11). Tato studie potvrdila, že kultivované buňky mají omezenou možnost replikace, dále stanovila, že tentýž typ buněk, získaný od téhož dárce, v jeho různém věku, má shodný proliferativní potenciál. Nízká nebo dokonce žádná korelace replikativního stárnutí buněk s chronologickým věkem jedince byla potvrzena opakovanými odběry od téhož jedince v postupujících časových intervalech (11)

Proliferační aktivita *in vitro* však úzce souvisí se zdravotním stavem dárce a jeho genotypem. Vliv zdravotního stavu je patrný například na kultivaci buněk diabetiků, které vykazovaly časnější replikativní stárnutí v porovnání s buňkami zdravých jedinců. Buňky získané z tkání jedinců s geneticky podmíněnými syndromy předčasného stárnutí (progerie), měly i v tkáňové kultuře sníženou proliferativní aktivitu (8, 12)

I.2.2 Telomery

S replikativním stárnutím úzce souvisí délka telomer. Telomery jsou nepostradatelnou součástí jaderných chromozomů eukaryot, u člověka se jedná o repetice hexanukleotidových sekvencí 5'-TTAGGG-3', které se váží na specifické proteiny, které telomery chrání před degradačními a reparačními enzymy. Sekvence hexanukleotidů telomer se opakuje až 2000x. Telomery jsou klíčovými strukturami chromozomů při replikaci, jsou nezbytné pro synapsi homologních chromozomů v profázi prvního meiotického dělení a závisí na nich proces rekombinace (crossing-over).

Délka telomer úzce souvisí s buněčným cyklem a replikativním stárnutím. Replikace DNA vyžaduje pro tvorbu nového vlákna primer, DNA polymerázu a deoxynukleotidy. Primer je oligonukleotidová sekvence RNA, která se připojuje hybridizací k templátu DNA na základě komplementarity dusíkatých bazí a umožňuje zahájit replikaci templátu. DNA polymeráza u vyšších organismů nemůže iniciovat syntézu nového vlákna DNA, může pouze prodlužovat existující úsek vlákna; iniciaci zajišťuje právě primer.

Po ukončení replikace jsou primery enzymaticky destruovány a na jejich místo jsou začleněny odpovídající nukleotidy s výjimkou 5' konce každého dceřiného vlákna DNA. Po odstranění primerů na 5' konci dceřiného vlákna nemůže DNA polymeráza nahradit odstraněné sekvence nukleotidů primeru (je schopna připojovat nukleotidy pouze ke 3' konci molekuly DNA). V důsledku toho je pak dceřiné vlákno DNA na 5' konci po každé replikaci kratší, zkracování DNA po replikaci se odehrává v repetitivních sekvencích telomer. Telomera je během každé replikace zkrácena přibližně o 50 – 200 pb – délka telomer je tedy markerem replikativního stáří buněk. Po dosažení minimální délky telomer dochází k indukci apoptózy a zániku buňky. (8, 13, 14)

V určitých typech buněk je aktivní enzym telomeráza (ribonukleoprotein s RNA-dependentní DNA-polymerázovou aktivitou), který před replikací prodlužuje telomerické sekvence jednovláknové DNA. Prodlužováním vlákna DNA před replikací jsou buňky, které mají aktivní telomerázu, schopny kompenzovat zkracování telomer, ke kterému během replikace dochází. Aktivita telomerázy souvisí s funkcí a proliferační

aktivitou buněk, je přítomna v embryonálních buňkách, buňkách obnovujících se tkání (lymfocyty, hemopoetické kmenové buňky, bazální buňky epidermis); v diferencovaných somatických buňkách aktivita telomerázy mizí. Telomeráza se rovněž vyskytuje v některých nádorových buňkách, aktivace telomerázy je jednou z příčin imortalizace nádorových buněk.

I.2.3. Regulace buněčného cyklu

Přechody buněk z jednoho stádia buněčného cyklu do dalšího jsou řízeny komplexem proteinů, který tvoří cykliny a na cyklinech závislé proteinkinázy (Cdk – Cyclin-Dependent Protein Kinases). Jedině ve formě Cdk/cyklin jsou tyto 2 molekuly funkční. Aktivita většiny komplexů Cdk/cyklin je regulována dalšími molekulami jako jsou PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) a inhibitory proteinkináz (např. protein p21). U standartně probíhajícího buněčného cyklu je průběh a stav DNA kontrolován v tzv. kontrolních bodech, kdy je ukončena předcházející fáze buněčného cyklu a je zde prostor pro opravy chyb. Klíčový regulační bod je v G1 fázi buněčného cyklu. Zastavení cyklu v kontrolním bodě mezi G1 a S fází je určeno komplexem molekul cyklin E/cdk2/PCNA. Dále se uplatňuje negativní regulátor buněčného cyklu protein Rb, kódovaný tumor supresorovým genem *Rb1* – v aktivní defosforylované formě se váže k proteinům, které podněcují buněčnou proliferaci a potlačuje jejich činnost.

V kontrole buněčného cyklu má nezastupitelný význam další tumor supresorový gen *TP53*. Stejně jako gen *Rb1* reguluje průběh interfáze, jeho rozsah působení je ale větší. Reaguje na poškození DNA dočasným pozastavením buněčného cyklu mezi G1 a S fází a umožňuje reparaci DNA. Gen *TP53* není přímo zodpovědný za pozastavení cyklu ani za reparaci chyb, tyto funkce kontroluje prostřednictvím genů, jejichž aktivitu řídí. Produkt genu *TP53* – protein p53, je totiž transkripční faktor mnoha genů. Poškození DNA, stejně jako buněčné stárnutí, indukuje zvýšenou produkci proteinu p53.(8, 15)

I.2.4. Apoptóza

Apoptóza je geneticky programovaná buněčná smrt. Je to fyziologický proces, který reguluje počty buněk tkání během ontogeneze i postnatálního života. Vede k odstranění nepotřebných, změněných a poškozených buněk. Její základní úlohou je udržování homeostázy v tkáních. Apoptóza může být vyvolána celou škálou různých signálů, jako je poškození DNA zářením, chemickými látkami, infekcí viry, reakcemi imunitního systému, snížením hladiny růstových hormonů, poklesem hladiny hormonů a dalšími faktory. Imunitní systém se podílí na indukci apoptózy prostřednictvím cytokinů, jako jsou např. nádory nekrotizující faktor α (TNF – α), transformující růstový faktor β (TGF – β) a další. (15)

Signály, které dávají podnět k zahájení apoptózy, vyvolávají v buňkách kaskádu reakcí. Pro průběh apoptózy jsou klíčové cysteinové proteázy (kaspasy) a další proteiny (zejména produkty supergenové rodiny Bcl-2), které jsou negativními či pozitivními regulátory apoptózy.

Apoptóza úzce souvisí s procesem stárnutí, schopnost organismu odstraňovat nežádoucí buňky procesem naprogramované buněčné smrti klesá s postupujícím věkem. Narušení průběhu naprogramované smrti tvoří základ mnoha nemocí, u kterých je průvodním jevem předčasné stárnutí. Např. u pacientů s Alzheimerovou nebo Parkinsonovou chorobou je v postižených částech mozku zvýšený počet apoptotických neuronů.

Význam apoptózy spočívá v přirozené selekci na buněčné úrovni, odstranění poškozených nebo preneoplastických buněk dříve, než tyto buňky naruší funkci tkáně. Apoptóza velmi úzce souvisí s výživou, na experimentálních zvířatech bylo prokázáno, že apoptóza se zvyšuje s omezeným přísunem kalorií (8,16)

I.2.5. Volné radikály, peroxidace lipidů, antioxidanty

Volné radikály jsou vysoce reaktivní molekuly, které obsahují nepárový elektron. Tvoří se buď jako vedlejší produkty metabolismu, při respiračních pochodech v mitochondriích, jejich vznik ale může být také vyvolán různými patologickými procesy v organismu nebo xenobiotiky. V aerobních buňkách se nejčastěji jedná o volné radikály kyslíku ($O_2^{\cdot-}$) a od něho odvozené deriváty, např. hydroxylové ($OH\cdot$) nebo přechodná stádia molekul kovů. Místem, kde vzniká nejvíce kyslíkových radikálů, jsou mitochondrie; tyto buněčné organely jsou zároveň radikály nejvíce poškozovány.

Volné radikály po svém vzniku velmi rychle vstupují do chemických reakcí s různými makromolekulami, mění činnost enzymů, ovlivňují činnost buněčných organel, buněčných membrán, oxidují celou řadu makromolekul cytoplazmy apod. Rovněž zvyšující se výskyt nádorových onemocnění v seniorské populaci je dáván do souvislosti s poškozením DNA prostřednictvím volných kyslíkových radikálů. Mohou být příčinou zkříženého spojení (cross-links) DNA a proteinu, poškození esterické vazby zbytku kyseliny fosforečné a deoxyribosy anebo příčinou specifických modifikací purinových a pyrimidinových bází.

Oxidativní modifikace proteinů (cílovou strukturou pro volné kyslíkové radikály jsou karbonylové skupiny proteinů) jsou asociovány s mnoha dalšími patologickými stavy, např. revmatoidní artritidou, Parkinsonovou chorobou nebo aterosklerózou (9, 17).

K ochraně proti škodlivým kyslíkovým radikálům využívá organismus 2 mechanismy

- antioxidační enzymy – superoxidodismutáza (SOD), glutathion-transferáza, glutathionperoxidáza a další peroxidázy, kataláza, cytochromoxidáza
- přirozené endogenní antioxidanty – bilirubin, ceruloplasmin, ubichinon, transferrin, cystein, glutathion, melatonin, taurin, pyrogallol

Účinnost antioxidantů, stejně jako jiné ochranné schopnosti organismu, závisí na genetické výbavě jedince.

Nejefektivnějším enzymem, který reaguje s volnými kyslíkovými radikály, je SOD. Pomocí H_2O mění superoxidový radikál na kyslík (O_2) a hydrogenperoxid (H_2O_2). H_2O_2 je dále rozložen enzymem katalázou na H_2O a O_2 .

Existuje více druhů SOD, navzájem se liší kovem přítomným ve své molekule (Cu, Zn, Mn, Fe). Kov určuje umístění SOD v buňce, její množství a účinnost v odlišných tkáních. To se pak projevuje rozdílnou rychlostí stárnutí různých tkání. V průběhu chronologického stárnutí klesá aktivita SOD, následkem toho se volné radikály rozkládají pomaleji, což vede k urychlení degenerativních změn v tkáních.

Ochranou proti působení volných radikálů je vhodné složení stravy, zejména pak příjem vitamínu C, E, omezení nadměrného působení UV záření. Zvýšení účinnosti antioxidačních obranných mechanismů ale samo o sobě střední délku života výrazně neprodlužuje (8, 9, 17, 18)

I.2.6 Mutace

Mutace jsou důležitou součástí evoluce. V průběhu evoluce se souběžně vyvinul i systém reparačních procesů, který má význam pro udržení stability genomu a přežití druhu. Mechanismy reparace DNA se staly jedním z faktorů, které ovlivňují délku života živočišných druhů. (8, 9, 15)

Jedna z teorií vysvětluje stárnutí nahromaděním mutací v DNA. Schopnost opravovat chyby v molekulách DNA reparačními mechanismy je geneticky determinována. Frekvenci mutací ovlivňuje kvalita prostředí, nicméně vysoké je i endogenní poškození DNA, např. chyby vznikající při replikaci DNA. S přibývajícím věkem frekvence mutací stoupá.

Opravy chyb, které vznikají při zařazování nukleotidů během replikace DNA, zajišťují mechanismy excizní reparace. Tyto jsou zajištěny několika polypeptidy, přičemž samozřejmě mutace genu pro kterýkoliv z těchto polypeptidů pak vede k poruše reparačních mechanismů.

Oprava chybného párování bazí (mismatch repair) je kontrolní opravný mechanismus, nastupující časně po replikaci. Geny, které řídí průběh oprav chybného párování bazí, se nazývají mutátorové geny. Mutace v těchto genech pak znemožní, aby k opravě chybného párování bazí došlo.

Výše uvedený výčet možných terčů mutací, které se dále kumulují, je i vysvětlením nárůstu nádorových onemocnění u stárnoucích osob.

V různých lidských tkáních s věkem exponenciálně roste počet mutací v mitochondriální DNA (mtDNA). Největší počet mutací mtDNA je po mitotickém dělení nalézán ve vysoce okysličených tkáních, jakými jsou kosterní a srdeční sval a mozek. Také v mtDNA dochází k reparaci poškozené DNA, nicméně výkonnost reparací minimálně ovlivňuje stav mtDNA. Poškození mtDNA kyslíkovými radikály mnohonásobně převyšuje možnosti mechanismů zajišťujících opravy poškození. Proto poškození mtDNA může být považováno za nejzávažnější příčinu špatného zdravotního stavu a neurodegenerativních změn souvisejících s věkem (8, 9, 15, 19)

I.2.7. Vápník

Vápník je ubikvitní iont, který má nezastupitelnou úlohu pro funkci celého organismu – pro funkci nervů, svalovou činnost, mineralizaci kostí, kontrolu intracelulárních procesů, v současné době se často hovoří o vápníku jako potencionálním rizikovým faktoru kardiovaskulárních onemocnění.

Kalciové ionty (Ca^{2+}), které se nacházejí v cytoplazmě, jsou z ní aktivně uvolňovány mimo buňku. V buňce jsou ukládány do cytoplazmatického retikula, někdy do mitochondrií. Kalcium se podílí na buněčné signalizaci, signální molekuly, jako jsou neurotransmitery, některé růstové faktory nebo hormony, vyvolávají v cílových buňkách odpověď na podnět pomocí intracelulárních kalciových kationtů. Během přenosu signálu se zvyšuje cytoplazmatická koncentrace iontů vápníku, kationty Ca^{2+} se uvolňují z endoplazmatického retikula pomocí dalších signálních molekul – diacylglycerolu a inositoltrifosfátu. Často dochází k aktivaci Ca^{2+} vazbou s kalmodulinem.

Stárnutí je provázeno snížením funkce většiny orgánů. U některých orgánů je pokles funkce asociován právě se změnami regulace intracelulární hladiny Ca^{2+} . Tím je ovlivněna kaskáda buněčných signalizací závislá na Ca^{2+} , zhoršení této signální kaskády lze třeba pozorovat ve stárnoucích neuronech, kde je považována za jednu s příčin degradace neuronů.(20)

I.2.8. Glykace

Glykace je reakce, která nastává mezi proteiny a glukózou, přičemž toto patologické spojení se řadí mezi jednu z hlavních příčin stárnutí.

Zvýšená hladina glukózy vede v několika krocích ke vzniku tzv. AGE (advanced glycation end product). Nově vzniklé AGE interagují se sousedními proteiny a tvoří mezi nimi patologická spojení, projevem interakce modifikovaných proteinů je např. tuhnutí pojivových tkání.

Glykace mění fyzikální i biologické vlastnosti extracelulárních proteinů. AGE produkty spouštějí kaskádu destrukčních procesů také tím, že se pevně váží k vazebným místům na povrchu buněk a makromolekul. Například u kolagenních vláken tím redukuje jejich solubilitu a schopnost reagovat s jinými proteiny. AGE produkty dále vyvolávají vazbou na povrchové receptory makrofágů, monocytů, mesangiálních a endoteliálních buněk zánětlivou reakci, např. vazba s povrchovými receptory podněcuje makrofágy k uvolňování cytokinů. Glykace tak podněcuje chronickou zánětlivou aktivitu, jejíž progerický význam zdůrazňuje „záněťová teorie stárnutí“.

Vazba AGE produktů s buňkami také stimuluje až 50x tvorbu volných kyslíkových radikálů, které dále urychlují proces stárnutí. Mezi příznivými účinky omezeného příjmu kalorií na involuci, fyzickou zdatnost a délku života má výrazný vliv právě snížení glykémie s redukcí glykace. (8, 21)

I.2.9. Dlouhověkost

Dlouhověkost je definována jako pozitivní odchylka v průběhu stárnutí a v délce života. Její vymezení je dohodové, za dlouhověké můžeme považovat v rámci 15–ti leté periodizace jedince starší 90 let, jinou variantou stanovení hranice dlouhověkosti je věk o 20% vyšší, než je naděje dožití dané populace, hranicí může být i dovršení věku 100 let (centenarians). V hospodářsky vyspělých zemích se v současné době za dlouhověké označují jedinci starší 90 let.

Stanovení míry, jakou se genetická složka podílí na determinaci délky lidského života je svízelné. Dle populačních studií předurčují genetické faktory délku života asi

z 25 %, 75 % je dáno faktory vnějšího prostředí a životním stylem. Nicméně silnější vliv dědičnosti se předpokládá v rodinách s kumulací jedinců, kteří se dožili velmi vysokého věku. Vypovídá o tom existence rodin, ve kterých více pokrevných příbuzných žije o 20 a více let déle, než je naděje dožití dané populace, zkušenost, že v určitých rodinách trvá mladistvý vzhled podstatně déle než v ostatních, stejně jako poznatek, že sourozenci stoletých mají 4x větší pravděpodobnost, že se dožijí věku > 90 let v porovnání se sourozenci kontrolní skupiny (22). Dlouhověcí jedinci bývají i ve vysokém věku zdravější, kardiovaskulární a cerebrovaskulární choroby, diabetes mellitus, onkologická onemocnění, Alzheimerova choroba a jiné „choroby stáří“ se u nich vyskytují méně často a teprve ve vyšším věku než v běžné populaci. Obdobně je tomu s rozvojem klíčově důležité geriatrické křehkosti (frailty) a funkčních deficitů.

Podle dánské studie (23), které se zúčastnilo 3075 dvojčat ve věku 75 - 94 let a 276 osob starších 100 let, se funkční zdatnost s věkem kontinuálně zhoršuje, ve všech věkových kategoriích je horší u žen, nicméně ukázkou lepší funkční zdatnosti u dlouhověkých je skutečnost, že ve sledované skupině jedinců starších 100 let zvládlo všech 6 aktivit denního života (Activities of Daily Living, ADL) 44 % mužů a 20 % žen.

Ovšem i geneticky je dlouhověkost komplexní polygenní povahy (22, 24), případ monogenní dědičnosti dlouhověkosti není znám.

Studie na úrovni molekulární genetiky dávají do souvislosti s dlouhověkostí produkty několika genů. Různé alely těchto genů (populační polymorfismy i vzácné mutace) se liší v tom, jak se jejich produkty podílejí na potlačení nežádoucích reakcí, nebo naopak souvisejí s výskytem chorobných stavů, s rozvojem funkční deteriorace a „stařeckého chátrání“.

Fúze normálních a imortalizovaných buněk přinesly poznatek, že u vzniklých hybridů je replikativní stárnutí nadřazený stav vůči neomezené proliferaci. Pro identifikaci genů asociovaných s buněčným stárnutím byly využity umělé bakteriální chromozomy.

Výsledky pokusů s vnesením fragmentu lidského chromozomu 4 (oblast 4q33q34.1) do buněčných linií ukázaly na existenci kandidátního genu na

chromozomu 4, který determinuje extrémní délku života (25). Tento gen kóduje transkripční faktor regulující transkripci protoonkogenu *B-myb*, který se podílí na regulaci přechodu z G1 fáze do S fáze spolu s multifunkčním transkripčním faktorem E2F a Rb proteinem. Gen byl pojmenován *MOFR4* (mortality factor on chromozom 4).

Dalším z „kandidátních genů dlouhověkosti“ je gen *Klotho*, popsáný koncem 90. let 20. století (pojmenovaný podle starořecké sudičky), lokalizovaný na 13. chromozomu (13q12) Jeho mutace u myši vede k progerickému syndromu, zatímco overexprese prodlužuje naději dožití. Produkt tohoto genu kromě jiného inhibuje účinek IGF - 1 (insulin – like growth factor 1), aktivuje tím transkripční faktory Fox0, indukuje expresi Mn–superoxiddismutázy se zvýšením odolnosti vůči oxidativnímu stresu a k působením volných radikálů (26, 27, 28)

Dalším, velmi sledovaným „kandidátním genem dlouhověkosti“ je gen pro apolipoprotein E – *APOE* (viz kapitola I.3).

Tab.1 Vybrané „kandidátní geny dlouhověkosti“

Gen	produkt	Lokalizace/ chromozom	funkce
<i>Klotho</i>	beta-glukosidáza	13q	antioxidant
<i>MORF4</i>	transkripční faktor protoonkogenu B-myb	4	regulace buněčného cyklu
<i>APOE</i>	apolipoprotein E	19q	metabolismus lipidů
<i>SOD - 1</i>	superoxiddismutáza 1	21q	antioxidant
<i>SOD - 2</i>	superoxiddismutáza 2	6p	antioxidant
<i>mtDNA</i>	mitochondriální genom	mitochondriální chromozom	oxidativní fosforylace
<i>HLA-DR</i>	antigen lidských leukocytů	6p	imunita
<i>ACE</i>	angiotensin konvertující enzym	17q	tonus cév

Stále je však třeba předpokládat, že dlouhověkost je spíše fenomén komplexní polygenní povahy. Interpretace významu jednotlivých genů vyžaduje značnou opatrnost.

I.3. Apolipoprotein E

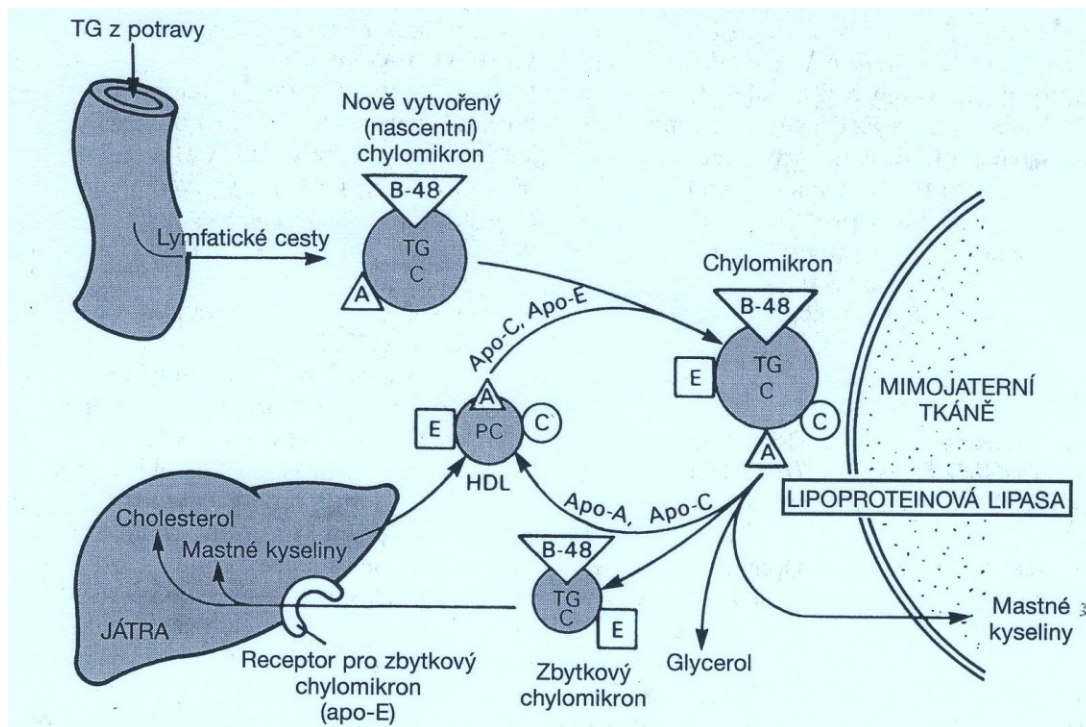
Gen pro apolipoprotein E (*APOE*) je jistě právem označován za jeden z „kandidátních genů dlouhověkosti“. Od doby svého objevení před více než 35 lety bylo publikováno nespočet prací, které prokázaly jeho souvislost s celou řadou patologických stavů.

I.3.1. Apolipoprotein E – struktura, genetická determinace

Apolipoprotein E (apo E) je strukturální protein. Přibližně $\frac{3}{4}$ jeho plazmatické koncentrace jsou syntetizovány buňkami jaterního parenchymu a inkorporovány do lipoproteinových částic, konkrétně VLDL (very low density lipoproteins), chylomikronů a HDL (high – density lipoproteins). Vzhledem k tomu, že nascentní chylomikrony a VLDL obsahují velmi málo nebo žádný apolipoprotein E a C (I-III), je pravděpodobné, že tyto 4 apoliproteiny jsou do VLDL a chylomikronů inkorporovány až v krevním oběhu, přičemž donátorem je HDL.

Obr.1. Metabolismus chylomikronů [Mayes, 1998 (29)]

A: apolipoprotein A, B-48: apolipoprotein B 48, © : apolipoprotein C, E:apolipoprotein E, HDL: lipoprotein o vysoké hustotě, TG: triglyceridy, C – cholesterol a estery cholesterolu, P: fosfolipid



V lipoproteinových částicích působí apoE zejména jako ligand pro interakci s receptory ve tkáních - apo E samotný jako receptor pro remnantní chylomikrony, apo E spolu s apo B 100 jako receptor pro LDL (low density lipoprotein). (30, 31)

Zbývající ¼ apolipoproteinu E je minoritně syntetizována v plicích, nadledvinách, ledvinách, ováriích, slezině, svalových buňkách a makrofázích. ApoE je rovněž tvořen v mozku, kde jsou jeho primárními producenty astrocyty a mikroglie, zatímco neurony primárně vytvářejí receptory pro apoE. ApoE v mozku má vliv na neuronální reparaci, růst dendritů a synaptickou plasticitu.

Apolipoprotein E je složený z 299 aminokyselin. Gen, kodující apolipoprotein E je lokalizován na dlouhém raménku 19. chromozomu (19q13.2), obsahuje 3597 nukleotidů, skládá se ze čtyř exonů a třech intronů. Byly identifikovány celkem tři alely genu *APOE* - ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4, kódující 3 izoformy apolipoproteinu E – E2, E3, E4.

ApoE je bohatý na arginin, který tvoří až 10 % jeho aminokyselin, přičemž jednotlivé izoformy ApoE se od sebe liší právě rozdílným zastoupením argininu, resp. E2 se liší od E3 záměnou Arg za Cys na pozici 158, E4 od E3 záměnou Arg za Cys na pozici 112. Tyto aminokyselinové záměny ovlivňují terciální strukturu receptorové vazebné oblasti apoE, která je tvořena čtyřmi helixy lokalizovanými na N-terminální části molekuly apoE. (32) C-terminální část proteinu zprostředkovává vazbu s lipidovými částicemi. Popsané strukturální rozdíly jsou také příčinou odlišné elektroforetické mobility jednotlivých izoform, která umožňuje určení fenotypu apoE metodou izoelektrické fokusace. (33) Kromě zmíněných 3 izoform je známo asi 30 mutací apoE, často asociovaných s hyperlipoproteinemií III. typu a terminální fází renálního selhání (34, 35, 36)

Procentuální zastoupení jednotlivých alel se významně liší mezi různými populacemi a etniky, nicméně ve všech sledovaných populacích byla nejčastější alela ϵ 3, následovaná většinou alelou ϵ 4, nejméně častá je obvykle alela ϵ 2 (37, 38, 39). V Evropě a u bílé americké populace se vyskytují alely průměrně v poměru ϵ 2 – 8 %, ϵ 3 – 78 % a ϵ 4 – 14 %, nicméně i v rámci Evropy jsou patrné poměrně výrazné rozdíly. Zaměříme-li se na výskyt alely ϵ 4 (vycházeno z údajů celkem 45 studií, 19 940 subjektů) byla zaznamenán velký rozptyl mezi zeměmi Severní Evropy, kde zastoupení alely ϵ 4 tvoří průměrně 17,7 % (12,0 - 23,4 %) a zeměmi Jižní Evropy, kde je alela ϵ 4 zastoupena

průměrně v 8 % (3,2 – 12,8 %). Nejvyšší frekvence byla zjištěna ve Finsku (22,1 %), nejnižší na Sardinii (5,2 %). (40)

Česká republika se se svými 15,7 % (15,5 -15,9 %) pohybuje ve výskytu alely ϵ_4 lehce nad celoevropským průměrem, který činí 13,6 %. (40) Mezi některými africkými kmeny dosahuje frekvence alely ϵ_4 až 40 % (41), naopak ve většině asijských zemí [s výjimkou mongolské populace, kde jsou frekvence alel srovnatelné se Západní Evropou (42)], se frekvence alely ϵ_4 pohybuje okolo 8 % (43, 44).

I.3.2. Apolipoprotein E a kardiovaskulární onemocnění

Jak už bylo řečeno, apoE je proteinovou složkou lipoproteinových částic HDL, VLDL, z nich vznikajících IDL, chylomikronů a z nich vznikajících chylomikronových remnantů, účastní se tedy především metabolismu částic bohatých na triglyceridy. Funkcí apoE je především zprostředkování vychytávání zmíněných lipoproteinových tříd z cirkulace prostřednictvím vazby na receptory (viz kapitola I.3.1.) Proto také např. deficit apolipoproteinu E má za následek zvýšenou koncentraci plazmatického cholesterolu a triglyceridů, což může vést k předčasné manifestaci aterosklerózy. (45).

Rozdíly v působení jednotlivých izoform apoE na metabolismus lipidů, jsou odrazem funkce apoE jako ligandu pro receptory, resp. rozdílné vazebné aktivity jednotlivých izoform apoE.

Izoforma apoE2 má ve srovnání s izoformou apoE3 cholesterol snižující účinky. Vykazuje méně než 2% normální vazebné kapacity ve srovnání s izoformou apoE3, což vede ke zpomalenému vychytávání apoE2 nesoucích částic z cirkulace, vážne rovněž přeměna VLDL na IDL. Důsledkem je snížená tvorba LDL, reaktivní zvýšení počtu hepatálních LDL receptorů a zvýšené vychytávání LDL částic. Tento mechanismus vede ke snížení hladin zejména LDL cholesterolu.

Izoforma apoE4 je naopak spojena s vyššími hladinami plazmatického cholesterolu, ve srovnání s izoformou apoE3 má vyšší vazebnou afinitu k receptorům, účinnější vychytávání apoE4 z cirkulace vede v konečném důsledku ke snížení počtu LDL receptorů na hepatocytech a tím i zvýšení cholesterolémie (46,47)

Přestože je izoforma apoE2 z hlediska metabolismu plazmatického cholesterolu považována za výhodnou, apoE2 v homozygotní konstituci (ϵ_2/ϵ_2) může predisponovat

ke vzniku hyperlipoproteinémie typu III (familiární dysbetalipoproteinémie) Toto onemocnění se projevuje výrazně zvýšenými hladinami cholesterolu a triglyceridů v plazmě. Charakteristickým znakem je přítomnost tzv. β VLDL v plazmě (48). 90 % pacientů s familiární dysbetalipoproteinémií má genotyp *apoE2/E2*, ale pouze 10 % nositelů tohoto genotypu onemocní hyperlipidémií (49) Tento nálezn podporuje hypotézu, že současně s fenotypem apoE se při manifestaci familiární dysbetalipoproteinémie uplatňují i funkční vlastnosti apoE a jeho interakce s lipolytickými enzymy. Pro manifestaci onemocnění jsou většinou nutné další faktory, jako je obezita, hypotyreóza, diabetes mellitus a další (50)

Kromě ovlivnění lipidového metabolismu apoE rovněž ovlivňuje aterosklerotický proces pomocí inhibice agregace trombocytů, což se děje pomocí vazby apoE k HDL (high density lipoprotein) za vzniku HDL-E. (51)

Vzhledem k přímé účasti apoE na příjmu a distribuci plazmatických lipidů je zřejmé, že má rovněž vliv na patogenezi kardiovaskulárních onemocnění, resp. existuje přímá úměra mezi mírou ovlivnění cholesterolemie, aterogenezí a manifestací kardiovaskulárních onemocnění. Lze tedy říci, že alela *E4* je riziková pro rozvoj kardiovaskulárních onemocnění, alela *E2* je v tomto smyslu protektivní.

I.3.3. Apolipoprotein E a Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (AD) patří mezi, na věku závislá, neurodegenerativní onemocnění se specifickým obrazem neuropatologických změn. Je současně nejčastější příčinou demence vůbec, část demencí je také způsobena kombinací alzheimerovských neuropatologických změn a cerebrovaskulární patologie (smíšené demence).

Tato choroba je velmi zatěžující, devastující kvalitu života jak samotných nositelů, tak i jejich rodinných příslušníků a pečujících. Prevalence AD s věkem roste, ve věku 65 let postihuje asi 0,7 % populace, přibližně každých 5 let se zdvojnásobuje, ve věku 95 let postihuje téměř 50 % populace (52)

Alzheimerova choroba je stále nevyléčitelná, známe ale již léky, které jsou schopny progresi choroby alespoň zpomalit.

Celková doba přežití je průměrně 7 - 10 let od počátku vzniku prvních příznaků onemocnění (nicméně existují i výjimky - jedinci umírající do 3 let nebo naopak

přežívající i 15 let). V dlouhodobém časovém horizontu je průběh Alzheimerovy nemoci po plíživém začátku plynule progredientní, bez výraznějších výkyvů (na rozdíl od vaskulární demence nebo demence s Lewyho tělísky, pro které je kolísání klinického stavu příznačné).

Plíživý, nenápadný začátek způsobí, že je onemocnění často podceňováno pacientem i jeho okolím a považováno za pouhé projevy stárnutí. Poměrně brzy se objevují poruchy soudnosti, logického myšlení, ale také orientace v prostoru a čase. Pro poruchy paměti je příznačné, že nejdříve a nejvíce je postižena epizodická paměť (součást deklarativní paměti, paměť udržující autobiografické obsahy – zážitky, životní události jedince, vyžaduje správnou funkci hipocampů), z časového hlediska je nejvíce postižena paměť recentní. Teprve v průběhu onemocnění se toto postupně vyrovnává, dochází také k poruchám sémantické paměti (souhrn všech naučených vědomostí a znalostí)

Poměrně brzy se přidávají poruchy aktivit denního života, od nejsložitějších na počátku onemocnění (řízení auta) po nejjednodušší (oblékání, schopnost se najíst) v pozdějších fázích. U Alzheimerovy choroby je také téměř konstantní výskyt behaviorálních a psychologických příznaků demence – poruch chování, přidružených psychotických příznaků, patických nálad (deprese se vyskytuje u 20 – 50 % případů), poruch spánku a poruch cyklu spánek – bdění. (53)

Podobně jako u dalších demencí neurodegenerativního původu dochází u Alzheimerovy choroby k degeneraci určitých mozkových proteinů a k tvorbě patologických proteinů. Základním neurodegenerativním článkem je tvorba β amyloidu. Přírodně se vyskytující dlouhý, neuronální, transmembránově uložený peptid - amyloidní prekurzorový protein (APP), je za normálních podmínek štěpen enzymem α sekretázou na krátké, plně solubilní fragmenty, nazývané β amyloid (peptid) 40.

U Alzheimerovy choroby se však uplatňují enzymy β - a γ - sekretáza, štěpící delší fragmenty β peptidu o 42 a více aminokyselinách (β - i γ - sekretáza štěpí amyloidový prekurzorový protein i za normálních podmínek, ale v malém, nevýznamném množství). Důsledkem je tedy posun poměru β amyloidu 42 / β amyloidu 40. (52, 53)

Takto vzniklý typ β peptidu napřed oligomeruje (spojují se dvě částice mezi sebou, tyto molekuly jsou velmi neurotoxické), následně pak dochází ke koagulaci těchto

peptidů v extracelulárním prostoru mozkové kůry, částice peptidu polymerují, a tak dochází k vzniku patologického proteinu beta amyloidu. (53)

Ten pak tvoří základ ložisek neurodegenerace – amyloidových plak. V oblasti výskytu plak dochází k celé řadě neurodegenerativních dějů – ke sterilnímu zánětu s uvolněním působků akutní zánětlivé fáze (interleukiny, cytokiny, volné kyslíkové radikály), s aktivací zánětlivých enzymů cyklooxygenáz apod. V důsledku toxicity β amyloidu pak dochází k aktivaci některých proteinkináz (např. GSK_{3beta}) a k degradaci intraneuronálního proteinu tau.

Tau protein je fosfoprotein, který spojuje mikrotubuly v axonech. Jeho fyziologickou funkcí je podpora polymerizace, podílí se na uspořádání a stabilitě mikrotubulů. Tau proteiny mají také důležitou úlohu v axonálním transportu. Tau protein je u AD nadměrně fosforylován, hyperfosforylovaný tau protein přestává udržovat mikrotubulární síť, což vede k narušení axonálního transportu. Hyperfosforylované formy tau proteinu tvoří tzv. neurofibrilární pleteně (tangles, uzlíčky), takto postižené neurony podléhají apoptóze. Celkově se apoptóza u Alzheimerovy choroby výrazně zvyšuje, což je podstatou kortikosubkortikální atrofie mozku. Dochází ke snížení synaptické plasticity, ke snížení tvorby některých růstových faktorů mozku a k dalším degenerativním změnám (54, 55)

Diagnosticky důležitý je průběh a klinický obraz demence – pomalá progresse, lineární progresse deteriorace, poruchy epizodické paměti a postupně i dalších složek paměti, časný úpadek osobnosti aj.

Pro potvrzení diagnózy jsou využívány tzv. markery choroby. Hlavními markery jsou:

- zobrazovacími metodami (CT, MRI) zjištěna atrofie mediálních temporálních struktur (hippocampy, amygdaly) s rozšířením komorového systému, především temporálních rohů postranních komor
- poruchy epizodické paměti jako iniciální poruchy poznávacích funkcí
- v likvoru změněné poměry některých proteinů oproti kontrolním non-alzheimerovským osobám

- snížená koncentrace β amyloidu 42 v mozkomíšním moku asi na polovinu byla opakovaně zjištěna u pacientů s AD více než u jiných neurodegenerativních onemocnění či u zdravých seniorů, koncentrace β amyloidu 40 se v porovnání s jinými skupinami nelišila, více použitelný je snížený poměr β amyloidu 42/celkovému amyloidu (u pacientů s AD < 8 %), jiným ukazatelem je poměr β amyloidu 42/ β amyloidu 40 (56)
- zvýšená hladina tau - a fosforylovaného tau (pTau) proteinu; koncentrace celkového tau proteinu v likvoru je zvýšená asi 3x u pacientů s AD v porovnání s kontrolní skupinou; zvýšené hodnoty bývají nalezeny u celé řady jiných nosologických jednotek [vaskulární demence, frontotemporální lobární degenerace (FTLD), roztroušená skleróza, úrazy hlavy, amyotrofická laterální skleróza] - celkový tau protein tedy zřejmě odráží míru neuronálního poškození a degenerace obecně, pro AD je více specifický hyperfosforylovaný tau protein

Tau protein může být fosforylován asi na 80 pozicích, nejvíce na AMK serinu a treoninu. Více izoforem s fosforylací na určitém místě (fosforylace tau v pozici pTau 181, pTau 199, pTau 231, pTau 396/404) může zlepšit časnou detekci, diferenciální diagnostiku a monitoraci progresu AD (odlišnosti ve fosforylovaných formách mohou odlišit AD od nemoci s Lewyho tělísky či FTLD již v časných stádiích nemoci) Stejně jako u β amyloidu se v diagnostice uplatňuje poměr pTau proteinu k celkovému tau proteinu – zvýšený podíl pTau na celkovém tau proteinu vyšší než 33 % je obvyklý u pacientů s AD. (56)

Oba tyto markery v mozkomíšním moku (snížená hladina β amyloidu 42 a zvýšená hladina celkového i pTau proteinu) jsou přítomny nejen u pacientů s již rozvinutou AD, ale také v raném období nemoci,

mohou být detekovány v mozkomíšním moku u pacientů s lehkým kognitivním deficitem (MIC), který může a nemusí progredovat do AD (57)

Alzheimerova choroba je arbitrálně dělena na formu s časným začátkem (FAD), s manifestací choroby před 65. rokem (představuje pouze 1-3% všech případů AD) a formu s pozdním začátkem – tzv. idiopatická forma AD, jejíž příznaky se objevují u osob po 65. roce věku.

FAD je způsobena mutací genů pro prekurzorový protein amyloidu (APP), presenilin 1 (PS1) nebo presenilin 2 (PS2). Gen pro APP je lokalizován na 21. chromozomu (21q21), gen pro PS1 na chromozomu 14 (14q24) a gen pro PS2 na chromozomu 1 (1q41). Onemocnění způsobené mutací v některém z těchto genů má obvykle rychlý průběh. (52)

Ovšem i převažující idiopatická forma AD vykazuje pravděpodobně významnou genetickou komponentu, nicméně přestože bylo v této souvislosti testováno více než 300 genů, asociace byla prokázána pouze u genu pro APOE (58, 59), resp s vyšším výskytem Alzheimerovy choroby je asociována „riziková“ alela *E4*. (60, 61)

Apolipoprotein E je ligandem pro neuronální lipoproteinové receptory, na kterých kompetuje o vazbu s reelinem, proteinem, který se velmi významně podílí na časných fázích vývoje mozku. Tyto receptory pro vazbu nízkodenzitních lipoproteinů kontrolují především synaptickou funkci a mají zásadní význam pro procesy učení, paměti a chování, které úzce souvisí s AD (62).

Odds ratio AD činí 3,2 pro heterozygoty *E3/4* a dokonce 14,9 pro homozygoty *E4/4* v porovnání s homozygoty *E3/3*. I když alela *E4* zvyšuje riziko incidence v každém věku, je největší souvislost mezi incidencí AD s alelou *E4* u jedinců mladších 70 let. (63)

Riziko AD asociované s *APOE* není stejné u všech etnických skupin. V longitudinální prospektivní studii v USA bylo vzrůstající riziko AD v souvislosti s *APOE4* prokázáno pouze u bělochů, nicméně celková prevalence AD byla 4x větší u Afroameričanů a 2x větší u Hispánců, a to bez ohledu na vzdělání, kardiovaskulární morbiditu i diabetes mellitus (64). Existují tedy další genetické faktory či vlivy prostředí,

které mění efekt alely *E4* a tím i souvislost mezi *E4* a AD v afroamerické a hispánské populaci.

Alela *E4* není pouze ukazatelem prevalence a věku manifestace AD, ale také její závažnosti a progresu. Pitevní nálezy pacientů s AD potvrzují nález většího množství senilních plak a neurofibrilárních pletení u nositelů *E4*, rovněž magnetická rezonance potvrdila korelaci mezi *APOE* polymorfismem a objemovými změnami mozkové tkáně - nositelé *E4* mají tendenci ke zmenšení objemu hippocampu a k hippocampální asymetrii (65). Posmrtně prokázané asociace mezi *E4* a neuropatologií charakteristickou pro AD (extracelulární ukládání bílkoviny β amyloidu ve formě senilních plak, degenerace intraneuronálního tau proteinu se vznikem uzlíků - tangles), stejně jako MRI změny u žijících pacientů byly zjištěny i u dosud asymptomatických jedinců (66).

Význam variant *APOE* pro rozvoj AD s pozdním začátkem rozhodujícím způsobem podporují studie provedené na monozygotních a dizygotních dvojčatech (67, 68)

Pro úplnost je třeba dodat, že alela *E4* je rovněž asociována s mírným kognitivním deficitem (mild cognitive impairment, MCI), tvořícím jakýsi mezistupeň mezi fyziologickým úbytkem kognitivních funkcí ve stáří a AD. Pacienti s MCI jsou zvýšeně ohroženi rozvojem AD. (69)

I.3.4. Apolipoprotein E a dlouhověkost

Výzkumnou otázkou současnosti je souvislost *APOE* s délkou života (včetně dlouhověkosti) a s funkční zdatností ve stáří.

Existují práce, které prokázaly progresivnější zhoršení čichu ve stáří u nositelů alely *E4* (70), jiné prokázaly souvislost mezi alelou *E4* a zvýšenou incidencí věkem podmíněné makulární degenerace. (71) Další studie prokázaly přítomnost alely *E4* u žen s časnější menopauzou. (72) Můžeme se tedy domnívat, že alela *E4* skutečně souvisí a předčasným stárnutím a mortalitou, nezávisle na kardiovaskulární a neurovaskulární morbiditě podmíněné hyperlipoproteinemií a aterosklerózou. Jiné studie (73) ovšem naznačují, že výsledný efekt alely *E4* na mortalitu klesá se vzrůstajícím věkem a ve 100 letech činí odds ratio 1,0.

I.4. Geriatrická křehkost (frailty)

I.4.1. Geriatrická křehkost – definice, klasifikace

Otázka geriatrické křehkosti je v současné době velmi diskutované téma. Jedna z možných definic popisuje geriatrickou křehkost jako věkově podmíněný pokles zdatnosti, odolnosti a adaptability organismu s kumulací funkčně závažných deficitů a změn, zvláště mentálních (apatie), pohybových (hypomobilita, instabilita, sarkopenie) a nutričních (anorexie, hubnutí). Její přesné vymezení je však nadále předmětem diskuzí, v dnešní době existuje několik desítek možných definic geriatrické křehkosti (74, 75, 76)

Významné pro ujasňování fenoménu geriatrické křehkosti bylo její hodnocení v rámci Cardiovascular Health Study v 90. letech 20. století (soubor 5317 mužů a žen starších 65 let v USA). Linda Friedová se spolupracovníky tehdy formulovali postuláty, které se staly východiskem pro další výzkumnou a diskuzní aktivitu. (77, 78)

Podle definice L. Friedové je křehkost definována přítomností alespoň 3 z 5 sledovaných znaků

- hubnutí, nechtěný hmotnostní úbytek alespoň o 4,5 kg/rok
- subjektivně vnímaná únava a vyčerpanost
- svalová slabost, nízká hodnota síly stisku ruky (hand-grip)
- pomalá chůze
- nízká úroveň pohybové aktivity

Prevalence takto definované křehkosti činila ve zkoumaném souboru populace starší 65 let 6,9 %, byla vyšší u žen, s věkem narůstala a incidence během čtyřletého sledování činila 7,2 %.

Při hodnocení závažné disability jako důsledku fenotypu křehkosti se zjistilo, že Friedovou vymezený fenotyp křehkosti predikoval u žen v rámci Women's Health and Aging Study (longitudinální studie žen starších 65 let žijících v domácím prostředí v Baltimore) téměř 3x vyšší riziko časně ztráty soběstačnosti alespoň v jedné aktivitě denního života. (79) Pro úplnost je třeba podotknout, že neexistuje rovnítka mezi termíny „geriatrická křehkost – frailty“, „multimorbidita“ a „disabilita“; multimorbidita je jeden z možných etiologických činitelů křehkosti, disabilita je naopak následkem geriatrické křehkosti.

Klasifikace L. Friedové je velmi jednoduchá, v klinické praxi snadno použitelná, nicméně je jí vytýkána přílišná jednorozměrnost (nepočítá s posouzením kognitivních funkcí, změnami nálad, komorbiditami atd.)

Křehkost geriatrických pacientů lze ale také vnímat jako různě poskládané kombinace věkově podmíněných funkčních deficitů, postižení a izolovaných symptomů, které samy o sobě signalizují špatnou zdravotní a životní prognózu (80) Tento přístup a snaha o kvantifikaci křehkosti vedly k navržení indexů křehkosti – frailty index (FI)

Frailty index vyjadřuje poměr přítomných deficitů k celkovému počtu sledovaných znaků. Podkladem pro výpočet byly výsledky longitudinální Canadian Study of Health and Aging (CSHA), které byly v pozdější modifikaci zúženy podle standardizovaného rozsahu komplexního geriatrického hodnocení (Comprehensive Geriatric Assessment, CGA) jako FI-CGA.

V rámci FI je hodnoceno celkem 10 tzv. „domén“- kognitivní funkce, afektivní poruchy (nálada, emoce, deprese), komunikace, mobilita, stabilita, močení, vyprazdňování, výživa, funkční zdatnost na úrovni ADL a sociální pomoc. Skóre každé hodnocené domény je třístupňové v rozsahu 0 - 0,5 - 1. Součet je pak doplněn ještě skórováním v 11. „doméně“, která hodnotí komorbiditu pomocí indexu CIRS (Cumulative Illness Rating Scale), výsledek je pak dále matematicky zpracováván (81, 82). Jedná se tedy o metodiku velmi podrobnou, nicméně časově velmi náročnou a v praxi hůře realizovatelnou.

V naší pilotní studii jsme si vybrali již mnoho let známé funkční hodnocení podle W. Spirdusové, které je dle našeho mínění velmi výstižné z pohledu hodnocení soběstačnosti a funkční zdatnosti seniorů, popř. míry závislosti na pomoci společnosti. (83) – viz metodika.

I.4.2. Etiologie a patogeneze geriatrické křehkosti

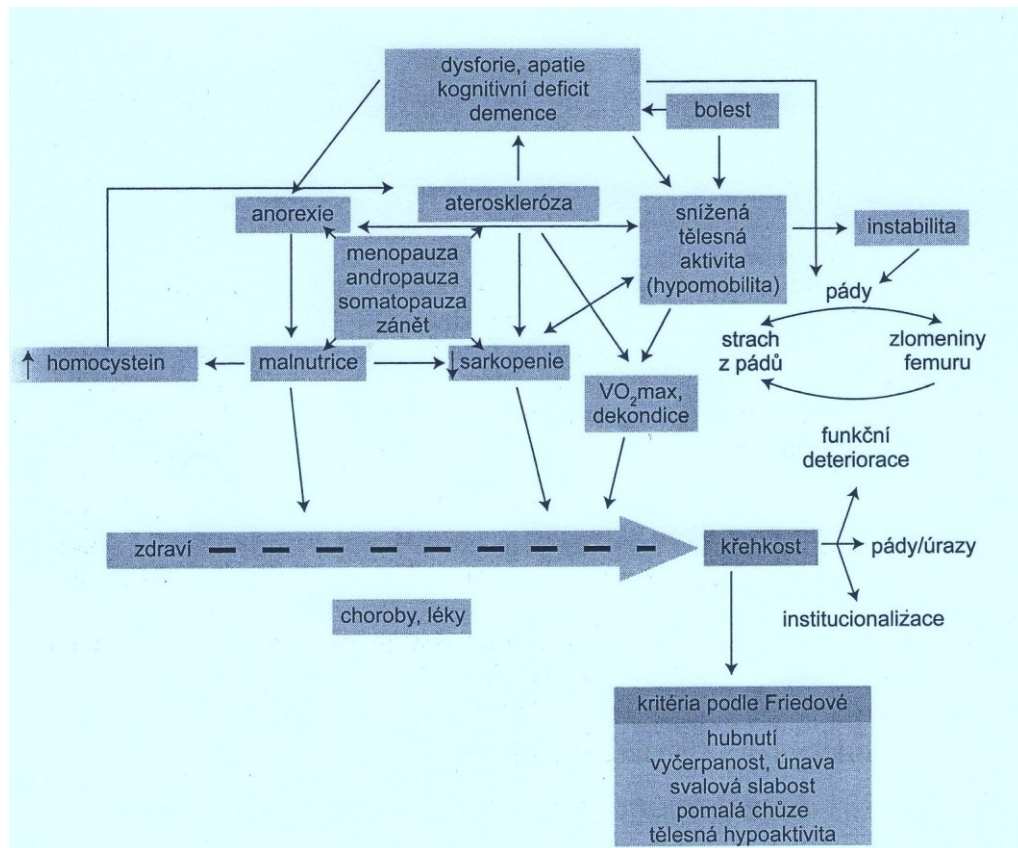
Při rozvoji geriatrické křehkosti se uplatňují faktory jak endogenní (tělesné i psychické), tak exogenní.

- genetická dispozice a exprese – např. genetická podmíněnost poměru rychlých a pomalých vláken ve svalech

- involuční změny morfologické i funkční
- chorobné procesy – především oxidační stres, chronický zánět, inzulinorezistence
- multimorbidita – především chronická onemocnění, např. osteoartróza, CHOPN, srdeční selhání a vzájemné potencování samostatně málo závažných postižení
- nežádoucí účinky léků
- důsledky pohybové inaktivity – de kondice, atrofie z nečinnosti
- malnutrice – často podmíněna ztrátou chuti k jídlu ve stáří (anorexia of ageing) a zhoršeným vstřebáváním bílkovin
- kognitivní deficit a deprese
- psychosomatická dekompenzace a maladaptace
- vnější vlivy fyzikální a sociální – např. osamělost

Jednotlivé faktory se vzájemně podmiňují a potencují – viz obr. 2, tzn. zhoršení v jedné složce vede kaskádovitě ke zhoršení v dalších složkách.

Obr.2. Vzájemná potenciace vybraných multikauzálních faktorů v rozvoji křehkosti [Morley et al., 2006 (84)]



Cílem diagnostiky je konstatování geriatrické křehkosti jako takové a zejména vyloučení chorobných a event. léčebně ovlivnitelných příčin pacientova chátrání (chronická zánětlivá onemocnění, zhoubná nádorová onemocnění, poruchy funkce štítné žlázy, Addisonova choroba, pokročilé fáze chronických orgánových selhání, akutní dekompenzace stavu)

II. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE

Pozitivní korelace mezi alelou *APOE4*, hypercholesterolémií a vyšší kardiovaskulární morbiditou a mortalitou stejně jako vyšší výskyt alely *APOE4* u jedinců s idiopatickou formou Alzheimerovy choroby byly dokumentovány v obrovském množství prací a publikací. Objevují se ale i menší studie, které poukazují na možnou korelaci alely *APOE4* s jinými chorobami stáří. Vzhledem k tomu, že se jedná o onemocnění, která spolu svojí patogenezi nesouvisí, lze očekávat skutečně komplexnější působení *APOE*, který je jistě právem považován za jeden z kandidátních genů dlouhověkosti.

Hlavním cílem naší práce bylo posoudit vztah genotypu *APOE* k celkovému funkčnímu stavu seniorů. Dílčími úkoly pak bylo posoudit vztah genotypu *APOE* k jednotlivým negativním prediktorům stařecké křehkosti, resp.

- souvislost genotypu *APOE* (resp. alely *E4*) s přítomností nesoběstačnosti dle ADL (Activities of Daily Living)
- souvislost genotypu *APOE* (resp. alely *E4*) s hypomobilitou
- souvislost genotypu *APOE* (resp. alely *E4*) s malnutricí
- souvislost genotypu *APOE* (resp. alely *E4*) s depresivní poruchou
- souvislost genotypu *APOE* (resp. alely *E4*) s kognitivním deficitem

Vzhledem ke známým výsledkům studií jsme předpokládali:

- obecně nižší výskyt alely *APOE4* ve vyšších věkových kategoriích
- obecně horší zdatnost a funkční stav seniorů – nositelů alely *APOE4*
- pozitivní korelaci mezi alelou *APOE4* a jednotlivými negativními prediktory stařecké křehkosti (nesoběstačnost dle ADL, hypomobilita, malnutrice, deprese, kognitivní deficit)

III. MATERIÁL A METODIKA

III.1. Soubor pacientů

V průběhu naší studie bylo vyšetřeno celkem 128 pacientů (93 žen, 35 mužů) starších 80 let, průměrného věku $88,6 \pm 5,3$ let. Jednalo se o pacienty hospitalizované v letech 2006 – 2009 na 3. interní klinice VFN a 1.LF UK, dále pacienty dlouhodobě pobývajících v Domě s pečovatelskou službou (Šlejnická, Praha 6) a v neposlední řadě zdravotní seniory, kteří se přihlásili na inzerát .

III.2. Spektrum prováděných vyšetření

Vyšetření sestávalo z vyšetření funkční zdatnosti, laboratorního vyšetření, stanovení polymorfismu genu pro apolipoprotein E (*APOE*)

III.2.1. Klinické vyšetření funkční zdatnosti

Funkční zdatnost jedince, tělesná a psychická, včetně potřebných dovedností a znalostí, spolu s přiměřenou náročností prostředí, ve kterém senior žije, je podstatou soběstačnosti. Soběstačnost je schopnost uspokojovat samostatně obvyklé potřeby v daném konkrétním prostředí. V úvahu je potřeba brát vždy oba faktory a je chybou považovat zdatnost organismu za záležitost zdravotnickou a náročnost prostředí pouze za záležitost sociální. Soběstačnost lze zachovat či obnovit často, např. po CMP, spíše úpravami prostředí než normalizací funkční zdatnosti pacienta. Mnozí nemocní jsou přes své postižení plně soběstační v kvalitním bydlení vyšší kategorie.

Také posouzení použitelnosti a účelnosti kompenzačních pomůcek je možné pouze se znalostí nejen funkčního deficitu, ale také kompenzačních schopností nemocného, míry jeho compliance a konkrétní podoby prostředí, v němž se pohybuje.

V žádném z vyšetření, která jsme prováděli, nebylo nutné prostředí, ve kterém pacient dlouhodobě žije, zohledňovat – viz dále. Některá vyšetření probíhala dotazníkovou formou (při syndromu demence ve spolupráci s ošetřujícím personálem či rodinou), při testování chůze vyšetřovaní používali vlastní kompenzační pomůcky (hůl, francouzské hole, chodítka)

III.2.1.1. Stanovení ADL (Activities of Daily Living), alternativní index Barthelové

Koncept hodnocení aktivit každodenního života (ADL) vychází z přesvědčení, že u pacientů především se závažnou disabilitou není životně ani rehabilitačně rozhodující dílčí míra zlepšení zdatnosti (např. rozsahu pohybu či svalové síly), ale rozhodující je funkční zdatnost ve smyslu sebeobsluhy a soběstačnosti.

Původní Index nezávislosti (Index od independence in activities of daily living) vytvořil v r. 1964 Katz (85), byl původně 6 položkový s pouze 2 odpověďmi – ANO/NE.

Námi používaný alternativní index Barthelové zahrnuje navíc hodnocení osobní hygieny, chůze po rovině a chůze do schodů.

Maximální počet bodů je 110 – jako „nezávislý“ jedinec byl hodnocen ten, který dosáhl ohodnocení 100 - 110 bodů, (zohledněna sporadická inkontinence moči a stolice)

Tab. 2 Index Barthelové – ADL

Položka	Hodnocení (počet bodů)
1. Najedení, napití	sám (10), s pomocí (5), neprovede (0)
2. Oblékání	sám (10), s pomocí (5), neprovede (0)
3. Osobní hygiena	sám (10), s pomocí (5), neprovede (0)
4. Koupání	sám (10), s pomocí (5), neprovede (0)
5. Kontinence moči	kontinentní (10), občas inkontinentní (5), trvale inkontinentní (0)
6. Kontinence stolice	kontinentní (10), občas inkontinentní (5), trvale inkontinentní (0)
7. Použití WC	sám (10), s pomocí (5), neprovede (0)
8. Chůze po schodech	sám (10), s pomocí (5), neprovede (0)
9. Přesun z lůžka na židli, event. vozík	sám (15), s malou pomocí (10), s dopomocí, vydrží sedět (5), nelze (0)
10. Chůze po rovině	nad 50 m (15), s pomocí (10), na vozíku (5), neprovede (0)
HODNOCENÍ	
0-40 bodů	vysoce závislý v bazálních činnostech
45-60 bodů	závislý
nad 60 bodů	závislost lehčího stupně

III.2.1.2. Orientační hodnocení mobility

Jedná se o soubor vyšetření, která nám měla poskytnout rámcovou představu o mobilitě pacienta, hybnosti kloubů, stabilitě a přítomnosti extrapyramidové symptomatologie před následujícím vyšetřením (šestimínutový test chůzí – 6 - MWT). Tyto údaje nebyly dále statisticky zpracovávány. Byla hodnocena:

Pohyblivost v kloubech - jak aktivní, tak pasivní

- ramenní kloub – flexe, extenze, abdukce, vnitřní a zevní rotace
- kyčelní kloub – flexe, extenze, abdukce, vnitřní a zevní rotace
- kolenní kloub – flexe
- hlezenní kloub – plantární a dorzální flexe

Stabilita

- v sedě, stojí, stoj tandemový, stoj při zavřených očích, stoj na jedné dolní končetině

Chůze

- porucha iniciace, stejnoměrnost délky kroku, výška kroku, plynulost kroku, souhyby horních končetin

III.2.1.3. Hodnocení svalové síly

Svalová síla byla hodnocena semikvantitativně podle Jandy - semikvantitativní 5 stupňové hodnocení svalové síly m. quadriceps femoris a svalů pletence pánevního působením síly vyšetřujícího na bérce vyšetřovaného.

Tab. 3 Funkční svalový test podle Jandy (86)

stupeň	popis
5 normální	Odpovídá normálnímu svalu, resp. svalu s velmi dobrou funkcí; sval je schopen překonat při plném rozsahu pohybu značný vnější odpor – odpovídá 100% normálu. Pozn. Nemusí to znamenat, že sval je zcela normální ve všech funkcích, např. unavitelnosti.
4 dobrý	Odpovídá přibližně 75 % síly normálního svalu, testovaný sval provede pohyb lehce v plném rozsahu, dokáže překonat středně velký vnější odpor.
3 slabý	Vyjadřuje asi 50 % síly normálního svalu, sval dokáže vykonat pohyb v plném rozsahu s překonání zemské tíže, tedy proti váze testované části těla; při zjišťování tohoto stupně není kladen vnější odpor.
2 velmi slabý	Určuje asi 25% síly normálního svalu, sval je sice schopen vykonat pohyb v plném rozsahu, ale nedovede překonat ani tak malý odpor, jako je váha testované části těla, poloha nemocného proto musí být upravena tak, aby se maximálně vyloučil vliv gravitace.
1 záškub	Vyjadřuje zachování přibližně 10 % svalové síly; sval se sice při pokusu o pohyb kontrahuje, ale jeho síla nestačí k pohybu testované části.
0	Při pokusu o pohyb sval nejeví nejmenší známky kontrakce.

Jedinci se svalovou silou st. 4. a 5 jsou schopni provádět činnosti spojené s funkční mobilitou, všechny ADL.

Jedinec se svalovou silou st. 3 zvládne lehké úkoly, které vyžadují práci s malým nebo žádným odporem. Při tomto stupni svalové síly na dolních končetinách je pacient

schopen jen velmi krátké chůze, popř. chůze s doprovodem nebo kompenzační pomůckou. Při svalové síle st. 0 - 2 není vyšetřovaná osoba schopna chůze.(86)

III.2.1.4. Šestimínutový test chůzí (6-MWT)

Šestimínutový test chůzí (6-MWT) je jednoduchý test k hodnocení fyzické aktivity nemocných s kardiorespiračními onemocněními využívající submaximální zátěže při chůzi po rovině. (87)

K hodnocení fyzické zátěže či funkční výkonnosti kardiorespiračního systému existuje řada testování. Většina z nich je založena na použití technicky i finančně náročných zařízení. 6-MWT sice neposkytuje údaj o maximální spotřebě O₂ při zátěži (i když existuje poměrně těsný vztah mezi vzdáleností ušlou při 6-MWT a maximálně spotřebou O₂ měřenou při spiroergometrii - VO₂max) a nedovoluje kvantifikaci faktorů limitujících fyzickou zátěž, nicméně poskytuje lepší obraz fyzických aktivit a z našeho pohledu nejlépe simuluje běžné denní aktivity seniora. Kontraindikací k provedení testu jsou projevy nestabilní anginy pectoris a akutní infarkt myokardu v posledním měsíci, ischemické změny na klidovém EKG, TK > 180/110 mmHg, TF v klidu > 120/min, závažné arytmie.

K bezpečnosti provedení testu je samozřejmě nezbytná přítomnost lékaře včetně vybavení pro kardiopulmonální resuscitaci (KPR), možnost kontinuální monitorace O₂, nitroglycerinu (NTG) a inhalačních bronchodilatancií, dále uzavřená ústavní chodba dlouhá 30-50 m, tonometr, stopky, křeslo, event. lehátko.

Příprava pacienta:

- kontrola kontraindikací, vhodné oblečení
- před testem je pacient v klidu vsedě alespoň 10 min.
- kontrola TK, TF, sat.O₂

Vlastní provedení testu:

- postavení na startovní čáru
- poučení pro pacienta: „Cílem tohoto testu je změřit, jakou jste schopen ujít vzdálenost v průběhu 6 min. budete chodit co možná nejrychleji po chodbě, v případě dušnosti můžete zpomalit, popř. zastavit, chůzi přerušit, jakmile budete schopen, můžete v chůzi pokračovat. Dušnost, bolest na hrudi či jiné obtíže je nezbytné hlásit lékaři.“

- pacient chodí sám, popř. s doprovodem po uvedené trase, v průběhu testu je monitorována TF a sat. O₂
- po ukončení testu je zaznamenána ušlá vzdálenost, zaznamenán stupeň dušnosti při maximální námaze, zaznamenány změny TF a sat. O₂

Hodnocení testu:

Za normální hodnotu je na základě provedených studií považována vzdálenost > 500 metrů pro ženy a > 600 metrů pro muže, pro zohlednění věku vyšetřovaného je možné vyjádření vzorcem: $6\text{-MWT} = [800 - (5,4 \times \text{věk})]$ (87)

III.2.1.5. Hodnocení výživy

Výživa pacientů byla hodnocena prostřednictvím MNA - Mini Nutritional Assessment

Tab. 4. Mini Nutritional Assessment (MNA)

<p>Poslední 3 měsíce ztráta chuti k jídlu, obtíže GIT, problémy se žvýkáním a polykáním</p> <ul style="list-style-type: none">• 0 = těžké poruchy• 1 = mírné poruchy• 2 = bez obtíží
<p>Ztráta tělesné hmotnosti v posledním měsíci</p> <ul style="list-style-type: none">• 0 = více než 3 kg• 1 = neví• 2 = v rozmezí 1-3 kg• 3 = stabilní hmotnost
<p>Pohyblivost</p> <ul style="list-style-type: none">• 0 = upoután na lůžko• 1 = pohyb v okolí lůžka, po místnosti• 2 = vychází ven
<p>Psychologický stres v posledních 3 měsících</p> <ul style="list-style-type: none">• 0 = ano• 2 = ne
<p>Neuropsychické problémy</p> <ul style="list-style-type: none">• 0 = těžká demence, deprese• 1 = mírná demence• 2 = žádné problémy
<p>Index tělesné hmotnosti (BMI)</p> <ul style="list-style-type: none">• 0 = BMI < 19• 1 = BMI 19 – 21• 2 = BMI 21-23• 3 = BMI > 23

<p>Žije v domácnosti</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = ne • 1 = ano
<p>Užívá více než 3 léky denně</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = ano • 1 = ne
<p>Dekubity</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = ano • 1 = ne
<p>Počet hlavních jídel denně</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = 1 jídlo • 1 = 2 jídla • 2 = 3 jídla
<p>Příjem proteinů</p> <p>1 x a vícerát denně mléčné výrobky (ano – ne)</p> <p>2 x a vícekrát týdně vejce a luštěniny (ano- ne)</p> <p>maso, ryby denně (ano-ne)</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = 0 -1 ano • 0,5 = 2 x ano • 1 = 3 x ano
<p>Ovoce a zelenina denně</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = ne • 1 = ano
<p>Příjem tekutin (měřeno na sklenice 25 dcl)</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = méně než 3 sklenice • 0,5 = 3 – 5 sklenic • 1 = 5 a více sklenic

<p>Způsob příjmu potravy</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = s dopomocí • 1 = samostatně s obtížemi • 2 = samostatně bez problémů
<p>Vlastní hodnocení stavu výživy</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = podvyživený • 1 = nehodnotí • 2 = nemá nutriční problémy
<p>Hodnocení vlastního zdravotního stavu ve srovnání s vrstevníky</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = nedobrý • 0,5 = neví • 1 = stejně dobrý • 2 = lepší
<p>Střední obvod paže</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = < 21 cm • 0,5 = 21 – 22 cm • 1 = > 22 cm
<p>Obvod lýtky</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = < 31 cm • 1 = \geq 31 cm
<p>Hodnocení</p> <p>maximum = 30 bodů</p> <p>norma \geq 24 bodů</p> <p>riziko malnutrice = 17 – 23,5 bodů</p> <p>malnutrice < 17 bodů</p>

III.2.1.6. Hodnocení kognitivních funkcí

Kognitivní funkce byly hodnoceny prostřednictvím standardizovaného Folsteinova testu MMSE (Mini- Mental State Examination)

Tab. 5 – MMSE (Mini- Mental State Examination), Folsteinův test

<p><u>1.Orientace</u> (1 bod za správnou odpověď do 10 s, maximální počet 10 bodů)</p> <ul style="list-style-type: none">• Kolikátého je dnes?• Který den v týdnu je dnes?• Které je roční období?• Který je rok?• Který je měsíc?• Ve kterém jsme městě?• Ve kterém jsme okrese?• V jaké jsme zemi?• Jak se jmenuje zdravotnické zařízení, ve kterém se nacházíme?• V kolikátém jsme patře?
<p><u>2. Zapamatování</u> (maximální počet 3 body)</p> <p>Informace pro pacienta: „Vyjmenuji tři slova, zopakujte je po mně a dobře si je zapamatujte“</p> <p>1 bod za každou správnou odpověď, pořadí je libovolné. Pokud není pacient schopen splnit úkol, opakovat slova, dokud si je nezapamatuje, maximálně pětkrát.</p> <p>lopata šátek váza</p>
<p><u>3.Pozornost a počítání</u> (maximální počet 5 bodů)</p> <p>Pokyn pro pacienta: „Odečítejte od 100 vždy 7“. Za každý správný početní úkon 1 bod, max. počet bodů 5.</p> <p>93 ... 86 ... 79 ... 72 ... 65</p> <p>Pokud pacient nechce počítat, může pozpátku hláskovat slovo „POKRM“</p> <p>M ... R ... K ... O ...P</p>

4. Vybavování (maximální počet 3 body)

Pokyn pro pacienta: „Prosím zopakujte 3 slova, která jsem říkala před chvílí“

lopata

šátek

váza

5. Pojmenování předmětu (maximální počet 2 body)

Vyšetřující ukáže na 2 předměty, které pacient zopakuje (hodinky, tužka, prstýnek...). Za každou správkou odpověď 1 bod.

6. Opakování (1 bod pouze za bezchybně, na první pokus zopakovanou větu)

Pokyn pro pacienta: Opakujte prosím po mě : „První pražská paroplavba.“

7. Stupňovaný příkaz (maximální počet 3 body, za každý úkon 1 bod)

- „Uchopte papír do pravé ruky.“
- „Přeložte jej na polovinu.“
- „Položte jej na zem.“

8. Čtení a plnění příkazu (1 bod při vyplnění příkazu do 10s)

Vyšetřující ukáže pacientovi kartičku s nápisem „ZAVŘETE OČI“

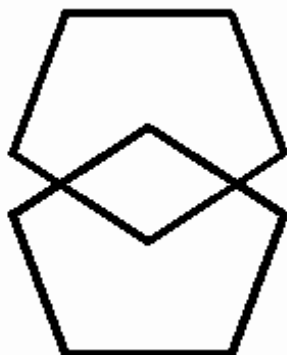
Pokyn pro pacienta: Přečtěte si, co je napsáno na kartičce a udělejte to“

9. Psaní (1 bod pokud je věta smysluplná, obsahuje podmět a přísudek; pravopisné chyby se nehodnotí)

Pokyn pro pacienta: „Napišťe libovolnou smysluplnou větu“. Je vhodné důraznit slovo VĚTU.

10. Obkreslování (1 bod, pokud jsou zachovány všechny strany a úhly – tzn. 2 pětiúhelníky, průnik ve tvaru čtyřúhelníku, roztřesenost není chyba)

Pacient je vyzván, aby nakreslil dle předlohy obrazec.



Hodnocení:

30 - 27 bodů : normální stav

26 - 25 bodů : hraniční nález

24-21 bodů : kognitivní porucha mírného stupně

20-11 bodů : kognitivní porucha středního stupně

10-0 bodů : kognitivní porucha těžkého stupně

III.2.1.7. Hodnocení depresivní poruchy

Z hlediska soběstačnosti a funkční zdatnosti pacienta je mimořádně významné odlišení léčitelné deprese od demence, obě poruchy totiž mohou mít zdánlivě podobný klinický obraz. V naší práci jsme za tímto účelem použili depresivní škálu dle Yeassavage.

Tab. 6 Depresivní škála dle Yeassavage

Otázka	Odpověď
Jste v zásadě spokojen(a) se svým životem?	ano - ne
Opustil(a) jste mnoho ze svých aktivit a zájmů?	ano – ne
Máte pocit, že je Váš život prázdný?	ano – ne
Pocítujete často nudu, prázdnotu?	ano – ne
Máte většinou dobrou náladu?	ano – ne
Obáváte se, že se Vám přihodí něco zlého?	ano – ne
Jste většinou šťastný (šťastná)?	ano – ne
Cítíte se často bezmocný (bezmocná)?	ano – ne
Zůstáváte raději doma, než byste šel (šla) ven a podnikal(a) nové věci?	ano – ne
Máte pocit, že máte více problémů s pamětí než ostatní?	ano – ne
Myslíte, že je pěkné žít v této době?	ano – ne
Tak, jak jste na tom právě nyní, připadáte si bezcenný (bezcenná)?	ano - ne
Cítíte se plný (plná) energie?	ano - ne
Pocítujete svoji situaci jako beznadějnou?	ano - ne
Myslíte si, že je většina lidí na tom lépe, než Vy?	ano - ne

<i>Každá tučná odpověď = 1 bod</i>
<i>Hodnocení:</i>
<i>0 - 5 bodů = norma</i>
<i>≥ 6 bodů = suspektní deprese (česká standardizace podle Tošenovské)</i>
<i>6-10 mírná deprese, ≥11 = manifestní deprese</i>

III.2.1.8. Funkční hodnocení seniorů podle W. Spirdusové

Komplexním souhrnem všech výše uvedených klinických vyšetření byli pacienti rozdělení do kategorií dle funkčního hodnocení W. Spirdusové, které je dle našeho mínění velmi výstižné z pohledu hodnocení soběstačnosti a funkční zdatnosti seniorů, popř. míry závislosti na pomoci společnosti. (83)

Rozděluje seniory celkem do 6 skupin

- A) elitní senioři - jsou až do vysokého věku schopni extrémních výkonů
- B) fit senioři – s velmi dobrou tělesnou a duševní kondicí, provozují pravidelné sportovní aktivity, ovládají i AADL (Advanced Activities of Daily Living)
- C) independent senioři - za standardních podmínek nemají problém se soběstačností, zvládají IADL (Instrumental Activities of Daily Living), postrádají ale funkční rezervy
- D) frail senioři - trvale balancují na hranici soběstačnosti, mají potíže s IADL a alespoň v některých činnostech trvale vyžadují pomoc okolí
- E) dependent senioři – mají závažný stupeň disability a funkční deficit, vyžadují trvalou péči rodiny či sociálních služeb
- F) totally dependent senioři - upoutaní na lůžko či s těžkým mentálním deficitem, nezvládají základní sebeobsluhu

V naší studii byli pacienti zařazeni celkem do 5 kategorií, do kategorie „elitní“ nebyl zařazen žádný pacient.

III.2.2. Laboratorní vyšetření

Laboratorní vyšetření bylo směřováno kromě vyšetření lipidového spektra také k vyšetření nutričních parametrů, resp. biochemických markerů malnutrice.

- parametry lipoproteinového metabolismu byly stanoveny z krve odebrané z periferní žíly po alespoň 12 hodinovém lačnění, hladiny sérového TC, TG, HDL-C, apo-AI a apo-B spolu s glykemií byly stanoveny enzymatickými metodami za použití automatického analyzátoru (Hitachi, Japan), LDL-C byl vypočítán s použitím Friedewaldovy formule [LDL-C=TC-(HDL-C) -TG/2,2]
- nutriční parametry – vyšetření celkové bílkoviny, albuminu (jako marker malnutrice hodnocen pokles < 30 g /l) a absolutního počtu lymfocytů (jako marker malnutrice hodnocen pokles < 1,5 x 10⁹/l)

III.2.3. Analýza polymorfismu *APOE*

Po podepsání informovaného souhlasu s odběrem genetického materiálu byla provedena analýza polymorfismu *APOE* restrikční analýzou DNA izolované z periferních leukocytů.

- Izolace DNA - pro genetickou analýzu bylo odebráno 5 ml venózní krve do zkumavek obsahujících EDTA, leukocyty byly odděleny centrifugací, genomová DNA byla z takto získaných leukocytů izolována rychlou metodou s využitím DNA izolačního kitu (Ready AmpTM Genomic DNA Purification System, Promega USA), lze použít i standardní vysolovací metodu dle Milera (88)
- PCR - v procesu genotypizace polymorfismu *APOE* se metodou PCR amplifikuje exon 4 genu *APOE*, oligonukleotidové primery užívané k amplifikaci jsou
P1 (5'-TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCGCA -3')
P2 (5'- ACAGAATTCGCCCCGGCCTGGTACACTGCCA-3') (89)

Obsah amplifikační směsi:

Pufr FastStart (Roche, Basel, Švýcarsko) - obsahuje mj. 2mM MgCl₂

GC rich FastStart (Roche, Basel, Švýcarsko)

dNTP (Promega, Madison, WI)

primer P1 (Generi Biotech)

primer P2 (Generi Biotech)

Taq DNA polymeráza

Tato amplifikační směs byla smíchána s vodou a DNA do celkového množství 49,5 µl. Připravená reakční směs umístěna do thermocykleru a podrobena následujícímu teplotnímu programu:

95°C	4 min.	úvodní denaturace (denaturace DNA polymerázy, která byla doposud v intaktním stavu)
95°C	1.min.	denaturace
67,3 °C	1,5 min.	annealing + elongation vzhledem k vysoké koncentraci G a C se o těžko amplifikovatelnou sekvenci, proto musela být zvýšena annelingová teplota a upravena koncentrace MgCl ₂
72°C	10 min.	extension

Amplifikací je vytvořen DNA fragment o velikosti 227 pb, výsledek amplifikace je kontrolován elektroforézou.

- Restrikční analýza - prováděna prostřednictvím restrikční endonukleázy CfoI (Promega), která rozpoznává a štěpí sekvenci 5'-G↓CGC-3', smícháno 21 µl produktu PCR a 12 jednotek CfoI (12,5 µl), inkubace probíhá při teplotě 37°C přes noc.

- Vertikální elektroforéza – rozdělení vzniklých fragmentů prováděno pomocí vertikální elektroforézy na 10% polyakrylamidovém gelu; po označení ethidium bromidem lze UV transluminátorem hodnotit elektroforeogram, resp. detekovat jednotlivé genotypy.

III.3. Statistická metoda

Statistické zpracování dat bylo provedeno ve spolupráci s RNDr. V. Lánskou, CSc. z Odboru lékařské statistiky Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM) v Praze

Vztah mezi alelou *APOE* a jednotlivými negativními prediktory geriatrické křehkosti byl testován χ^2 -testem. Pro potvrzení alely *APOE4* jako nezávislého predikátoru byla použita logistická regrese. Za statisticky významné bylo považováno $p \leq 0,05$.

IV. VÝSLEDKY

Na základě výše uvedeného komplexního souboru vyšetření byli pacienti rozděleni do jednotlivých funkčních kategorií, rozdělení bylo téměř rovnoměrné.

25 jedinců odpovídalo funkční skupině „fit“, 23 osob funkční skupině „independent“, 30 respondentů bylo zařazeno do skupiny „frail“, 29 pacientů bylo zařazeno do skupiny „dependent“ a 21 pacientů funkčně odpovídalo skupině „totally dependent“.

Ve vyšetřované skupině se vyskytly z celkově možných 6 genotypů ($E2/E2$, $E2/E3$, $E3/E4$, $E3/E3$, $E3/E4$, $E4/E4$) pouze 3 genotypy – v největším počtu homozygoti $E3/E3$ (67,19 %), dále heterozygoti $E3/E4$ (19,53 %) a heterozygoti $E2/E3$ (13,28 %) - v korelaci s největším procentem zastoupení alely $E 3$ v populaci obecně

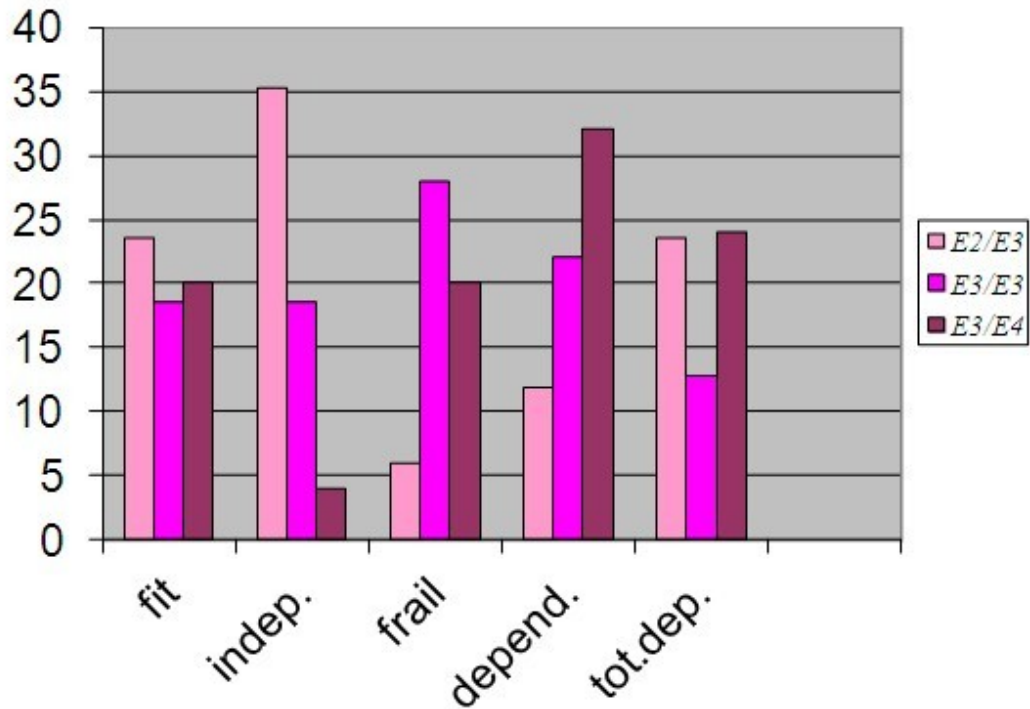
Tab.7: Absolutní zastoupení jednotlivých genotypů

funkční kategorie	fit	independent	frail	dependent	totally dependent
$E2/E3$	4	6	1	2	4
$E3/E3$	16	16	24	19	11
$E3/E4$	5	1	5	8	6
počet jed.	25	23	30	29	21

Tab.8: Procentuální zastoupení genotypů v jednotlivých funkčních kategoriích

%	fit	independent	frail	dependent	totally dependent
$E2/E3$	23,5	35,3	5,9	11,8	23,5
$E3/E3$	18,6	18,6	27,9	22,1	12,8
$E3/E4$	20,0	4,0	20,0	32,0	24,0

Graf. 4 Procent. zastoupení genotypů v jednotlivých funkčních kategoriích



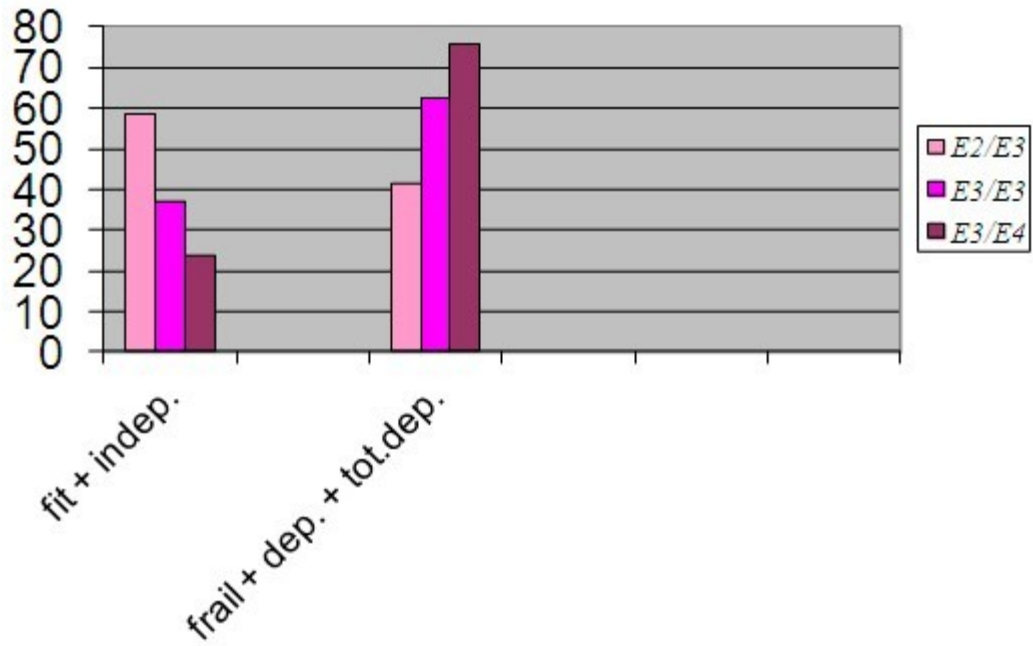
Vzhledem k tomu, že otázka byla směřovaná na souvislost funkční zdatnosti a genotypu *APOE*, rozdělili jsme si vyšetřované osoby na „funkčně zdatné“ (fit + independent) a „nezdatné“ (dependent + totally dependent; byla sem rovněž přiřazena skupina frail, pro trvalé balancování na hranici soběstačnosti). V tomto případě je zřejmý statisticky významný nárůst genotypu *E3/E4* u funkčně méně zdatných jedinců ($p = 0,0248$) – tabulka 9, graf 5.

Tab. 9: Procent. zastoupení genotypů v jednotlivých funkčních kategoriích

	fit + independent	frail + depend. + tot depend
<i>E2/E3</i>	58,8 %	41,2 %
<i>E3/E3</i>	37,2 %	62,8 %
<i>E3/E4</i>	24,0 %	76,0 %

$p = 0,0248$

Graf. 5: Procent. zastoupení genotypů ve jednotlivých funkčních kategoriích



Na základě výše uvedených skutečností, jsme se pokusili srovnat rovněž jednotlivé negativní prediktory stařecké křehkosti s genotypem *APOE4*.

Tab.10. Vztah nesoběstačnosti dle ADL a alely *APOE4*

FIT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	0
<i>E3/E3</i>	16	0
<i>E3/E4</i>	5	0

INDEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	6	0
<i>E3/E3</i>	16	0
<i>E3/E4</i>	1	0

FRAIL

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	1	0
<i>E3/E3</i>	24	12
<i>E3/E4</i>	5	4

DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	2	2
<i>E3/E3</i>	19	19
<i>E3/E4</i>	8	8

TOTALLY DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	4
<i>E3/E3</i>	11	11
<i>E3/E4</i>	6	6

Nesoběstačnost v ADL souvisí statisticky významně s výskytem alely *E4* ($p=0,04$)

Tab.11. Vztah hypomobility**(v 6-MWT překonaná vzdálenost < [800- (5,4 x věk)] a alely *APOE4***

FIT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	0
<i>E3/E3</i>	16	0
<i>E3/E4</i>	5	0

INDEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	6	0
<i>E3/E3</i>	16	0
<i>E3/E4</i>	1	0

FRAIL

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	1	0
<i>E3/E3</i>	24	12
<i>E3/E4</i>	5	4

DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	2	1
<i>E3/E3</i>	19	16
<i>E3/E4</i>	8	7

TOTALLY DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	4
<i>E3/E3</i>	11	11
<i>E3/E4</i>	6	6

Hypomobilita vyjádřená dosažením vzdálenosti < [800- (5,4 x věk)] v 6-MWT statisticky významně souvisí s přítomností alely *E4* ($p=0,037$)

Tab.12. Vztah přítomnosti malnutrice (MNA <17) a alely *APOE4*

FIT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	0
<i>E3/E3</i>	16	0
<i>E3/E4</i>	5	0

INDEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	6	0
<i>E3/E3</i>	16	0
<i>E3/E4</i>	1	0

FRAIL

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	1	0
<i>E3/E3</i>	24	4
<i>E3/E4</i>	5	1

DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	2	2
<i>E3/E3</i>	19	10
<i>E3/E4</i>	8	5

TOTALLY DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	4
<i>E3/E3</i>	11	9
<i>E3/E4</i>	6	3

Souvislost malnutrice (dosažení <17 bodů v MNA) a alely *E4* je n.s. ($p=0,398$)

Tab.13. Vztah přítomnosti syndromu demence (MMSE \leq 24) a alely *APOE4*

FIT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	0
<i>E3/E3</i>	16	0
<i>E3/E4</i>	5	0

INDEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	6	0
<i>E3/E3</i>	16	0
<i>E3/E4</i>	1	0

FRAIL

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	1	1
<i>E3/E3</i>	24	10
<i>E3/E4</i>	5	1

DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	2	2
<i>E3/E3</i>	19	19
<i>E3/E4</i>	8	8

TOTALLY DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	4
<i>E3/E3</i>	11	11
<i>E3/E4</i>	6	6

Souvislost přítomnosti demence (MMSE \leq 24) a alely *E4* je n.s. ($p=0,456$)

Tab.14. Vztah přítomnosti deprese (≥ 6 bodů dle škály deprese dle Yessavage) a alely *APOE4*

FIT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	0
<i>E3/E3</i>	16	4
<i>E3/E4</i>	5	1

INDEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	6	1
<i>E3/E3</i>	16	4
<i>E3/E4</i>	1	0

FRAIL

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	1	0
<i>E3/E3</i>	24	14
<i>E3/E4</i>	5	1

DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	2	1
<i>E3/E3</i>	19	13
<i>E3/E4</i>	8	6

TOTALLY DEPENDENT

genotyp	počet jedinců	počet jedinců s přítomným sledovaným znakem
<i>E2/E3</i>	4	4
<i>E3/E3</i>	11	11
<i>E3/E4</i>	6	6

Souvislost přítomnosti deprese (≥ 6 bodů dle škály deprese dle Yessavage) a alely *E4* je n.s. ($p=0,228$)

Na základě výše uvedených výsledků tedy můžeme konstatovat, že jsme neprokázali statistickou významnost mezi genotypem *E3/E4* a jednotlivými negativními prediktory stařecké křehkosti (s výjimkou ADL a 6- MWT)

Tab. 15: Vztah jednotlivých negativních prediktorů křehkosti a genotypu *APOE*

rizikový faktor	<i>p</i>
Mini -Mental State Examination (≤ 24)	0,456 n.s.
Mini Nutritional Assessment (< 17)	0,398 n.s.
hmotnostní úbytek ($\geq 2\text{kg} / 6\text{měs}$)	0,846 n.s.
deprese (škála dle Yeassavage ≥ 6)	0,228 n.s.
nesoběstačnost dle ADL (< 100)	0,040
hypomobilita dle 6- MWT [$< 800 - (5,4 \times \text{věk})$]	0,037

Nicméně výsledky logistické regrese ukazují, že každý rok navíc zvyšuje riziko „funkční nezdatnosti“ o 9 %, dále že osoby s mírnou či manifestní depresí (≥ 6 dle Yeassavage) mají riziko zhoršení funkční zdatnosti 3x větší, než osoby bez depresivního onemocnění. Ještě více rizikým faktorem pro vznik křehkosti a zhoršení funkční zdatnosti je přítomnost malnutrice - jedinci s MNA < 17 mají riziko zhoršení funkční zdatnosti 14x větší než jedinci s MNA ≥ 17 . Přítomnost extrapyramidové symptomatologie zvyšuje riziko „ funkční nezdatnosti“ dokonce 23x.

Osoby s genotypem *APOE3/APOE3* se statisticky významně neliší od jedinců s genotypem *APOE2/APOE3*, ale nositelé alely *APOE4* (tedy *APOE2/APOE4*, *APOE3/APOE4*, *APOE4/APOE4*), mají riziko funkční nezdatnosti 13x vyšší než osoby s genotypem *APOE2/APOE3*.

Tab. 16. Mnohorozměrný model vztahu mezi zdatností a genem pomocí logistické regrese

faktor	OR	95% CI	p
věk (o rok více)	1,09	0,98-1,21	0,059
škála deprese (dle Yasavage ≥ 6)	3,12	1,11-8,76	0,014
extrapyramidová symptomatologie	23,0	2,35-226	0,002
Mini Nutritional Assesment <17	14,2	1,51-134	0,009
apo E3	8,87	0,98-79,9	
apo E4	13,3	1,21-145	0,050

V. DISKUZE

Vzhledem k tomu, že cílovou skupinou našeho výzkumu byli senioři starší 80 let, domnívali jsme se, že v této věkové kategorii bude procento nositelů alely *E4* již výrazně nižší, než je průměr v České republice (15,7 %). V naší studii byly zaznamenány z možných 6 genotypů (*E2/E2*, *E2/E3*, *E3/E4*, *E3/E3*, *E3/E4*, *E4/E4*) pouze 3 genotypy – v největším počtu homozygoti *E3/E3* (67,19 %), dále heterozygoti *E3/E4* (19,53 %) a heterozygoti *E2/E3* (13,28 %). Z pohledu procentuálního zastoupení jednotlivých alel bylo tedy 83,59 % zastoupeno alelou *E3*, 9,76 % alelou *E4* a 6,64 % alelou *E2*. Výskyt alely *E4* je tedy skutečně nižší, než je průměr v České republice, nicméně tento pokles můžeme konstatovat pouze v trendu, nebyl statisticky významný, což jistě můžeme přičíst na vrub velmi malému souboru pacientů.

Otázkou na počátku naší práce bylo, kterou klasifikaci pro hodnocení funkční zdatnosti si vybereme. Hodnocení geriatrické křehkosti podle L. Friedové jsme zamítli pro jeho jednostrannost, tato klasifikace vůbec nezohledňuje například kognitivní deficit, změny nálad nebo komorbidit. Nechali jsme se proto částečně inspirovat velmi podrobným Frailty Indexem (80, 82) a rozhodli jsme se pro komplexní vyšetření pacienta prostřednictvím několika vyšetřovacích metod a dotazníků, dotazníková metoda u pacientů s kognitivním deficitem samozřejmě probíhala ve spolupráci s ošetřujícím personálem nebo rodinou.

Jako první byla hodnocena soběstačnost, resp. nesoběstačnost v běžných denních aktivitách (ADL), jako hranice soběstačnosti bylo stanoveno dosažení 100 bodů z celkových 110 (byla zohledněna sporadická inkontinence moči a stolice). Ve skupině „fit“ a „independent“ byli všichni vyšetřovaní dle hodnocení ADL soběstační, ve skupině „frail“ bylo jako nesoběstačných v ADL hodnoceno 16 jedinců (z celkových 30), 12 z nich mělo genotyp *E3/E3*, 4 pak *E3/E4*. Ve skupině 29 jedinců hodnocených jako „dependent“, a 21 jedinců hodnocených jako „totally dependent“ byli dle ADL nesoběstační samozřejmě všichni. Ve skupině „dependent“ bylo 19 osob s genotypem *E3/E3*, 8 vyšetřovaných s genotypem *E3/E4* a pouze 2 pacienti s genotypem *E2/E3*.

V kategorii „totally dependent „ pak 11 nositelů genotypu *E3/E3*, 6 nositelů genotypu *E3/E4* a 4 jedinci s genotypem *E2/E3*.

Bylo prokázáno, že nesoběstačnost dle ADL tedy souvisí statisticky významně s přítomností alely *E4* ($p=0,040$)

Posouzení hybnosti jsme rovněž pojali komplexně, nejprve byla hodnocena hybnost v kloubech (aktivní i pasivní), přítomnost extrapyramidové symptomatologie (zejména freezing) a hodnocení svalové síly podle Jandy (86) Všechna uvedená vyšetření byla vesměs informativní před 6-minutovým testem chůzí; sloužila k tomu, aby nám odhalila případné pacientovy limitace a rizika, která by mohla v průběhu 6-MWT nastat. Vzhledem k tomu, že se jedná (zejména vyšetření svalové síly) o vyšetření semikvantitativní, subjektivně hodnocená, nebyla dále statisticky zpracovávána.

Původně jsme zvažovali vyšetření svalové síly prostřednictvím hodnocení síly stisku ruky – tzv. hand-grip. Existuje celá řada prací, dle kterých se jedná o jeden z nezáznamnějších krátkodobých i dlouhodobých prediktorů deteriorace, pádů i mortality, síla stisku ruky dokonce koreluje více se stavem organismu než s pohybovou aktivitou (90, 91, 92). Nicméně my jsme v průběhu vyšetřování narazili na přístrojovou limitaci tohoto vyšetření, prvních 14 pacientů z 20 vyšetřovaných si stěžovalo na problém s uchopením přístroje, zejména pro deformity a artritické změny rukou ve stáří. Nutno podotknout, že 2 pacienti z těchto 14 byli hodnoceni podle ostatních testů jako „independent“, 1 dokonce jako „fit“ senior, 4 jako „frail“. Nabyli jsme proto dojmu, že by hodnocení svalové síly přístrojem hand-grip, který jsme měli zapůjčený, mohl zkreslovat hodnocení, a proto jsme přistoupili k semikvantitativnímu stanovení svalové síly podle Jandy – hodnocení svalové síly m. quadriceps femoris a svalů pletence pánevního, které mají vysokou výpovědní hodnotu k posouzení schopnosti chůze a tedy sebeobsluhy.

Po orientačním vyšetření hybnosti tedy bylo přistoupeno k 6-minutovému testu chůzí, zde byla jako hranice stanovena vzdálenost [800 - (5,4x věk)]. Ve skupinách „independent“ a „fit“ opět všichni jedinci ušli vzdálenost delší než [800-(5,4x věk)]. Ve skupině „frail“ ušlo vzdálenost kratší než [800 - (5,4x věk)] celkem 16 jedinců

(z celkového počtu ve skupině 30), 12 z nich mělo genotyp *E3/E3* a 4 genotyp *E3/E4*, žádný z nich neměl genotyp *E2/E2*. Ve skupině „dependent“ ušlo vzdálenost kratší než $[800 - (5,4x \text{ věk})]$ 24 osob (z celkových 29), 16 mělo genotyp *E3/E3* a 7 genotyp *E3/E4*, pouze 1 genotyp *E2/E3*. Ve skupině „totally dependent“ ušli všichni jedinci vzdálenost kratší než $[800 - (5,4x \text{ věk})]$, tzn. všech 21 vyšetřovaných osob (pozn. většina pacientů tento test vlastně nepodstoupila, jednalo se ležící pacienty, odkázané plně na péči okolí). 11 z nich mělo genotyp *E3/E3*, 6 osob disponovalo genotypem *E3/E4* a 4 genotypem *E2/E3*. I v této hodnocené veličině byla prokázána statisticky významná souvislost mezi přítomností rizikové alely *E4* a funkční nezdatností hodnocenou podle 6-minutového testu chůzí ($p=0,037$)

Dalším hodnoceným parametrem byl stav výživy jedince prostřednictvím standardizovaného testu Mini Nutritional Assessment (MNA), resp. hodnotili jsme přítomnost malnutrice (dosažení < 17 bodů v MNA) v jednotlivých funkčních kategoriích.

Ve skupině „fit“ a „independent“ žádný z vyšetřovaných jedinců nedosáhl hranice malnutrice (< 17 bodů v MNA), nicméně ani zde nebyl stav výživy úplně uspokojivý. V kategorii „fit“ dosáhlo 10 jedinců (z celkových 25) bodového ohodnocení 17 - 23,5 bodů – tedy „riziko malnutrice“, ve skupině „independent“ pak dokonce 14 jedinců z celkových 23.

Méně než 17 bodů dosáhlo v kategorii „frail“ 5 jedinců (z celkových 30), 4 jedinci vykazovali genotyp *E3/E3*, 1 pacient pak genotyp *E3/E4*. V kategorii „dependent“ bylo malnutričních 17 pacientů (z 29), 10 z nich mělo genotyp *E3/E3*, 5 vykazovalo genotyp *E3/E4* a 2 genotyp *E2/E3*.

V kategorii „totally dependent“ splňovalo kritéria malnutrice dle MNA 16 pacientů (z celkových 21), 9 z nich mělo genotyp *E3/E3*, 4 genotyp *E2/E3* a 3 pacienti měli genotyp *E3/E4*.

V tomto případě nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi alelou *E4* a malnutricí hodnocenou dle MNA. V průběhu hodnocení přítomnosti malnutrice nás mile překvapilo „relativně nízké procento“ malnutričních jedinců ve skupině „dependent“ a zejména „totally dependent“, které zřejmě svědčí pro dobrou péči

pečujících, ať už rodiny nebo ošetřujícího personálu ve zdravotnických a sociálních zařízeních.

Inspirováni klasifikací L. Friedové jsme se pokusili zhodnotit ještě pokles hmotnosti, respondenti a jejich pečovatelé byli dotazováni na pokles hmotnosti v posledních 6 měsících (hranice >2 kg), resp. v posledním roce (>4 kg). Tento hmotnostní pokles byl zaznamenán u 7 jedinců z kategorie „totally dependent“, 6 osob v kategorii „dependent“, 3 osob hodnocených jako „frail“ a dokonce 1 osoby v kategorii „independent“. Ani v tomto případě se nám ale nepodařilo prokázat statisticky významnou souvislost alely *E4* s hmotnostním úbytkem.

Nicméně výsledky logistické regrese ukázaly, že přítomnost malnutrice je skutečně výrazným rizikovým faktorem pro vznik křehkosti a zhoršení funkční zdatnosti, jedinci s $MNA < 17$ mají riziko zhoršení funkční zdatnosti 14x větší než jedinci s $MNA \geq 17$, opět v souladu s celou řadou populačních studií (93, 94, 95).

Součástí naší studie byla i biochemická analýza lipidového spektra a biochemických markerů malnutrice. Bohužel interpretace lipidového spektra se posléze ukázala být nerealizovatelnou, vzhledem k tomu, že někteří pacienti již byli léčeni hypolipidemiky, ať už v rámci primární či sekundární prevence. Stejně tak od hodnocení biochemických markerů malnutrice jsme ustoupili. Vzhledem k tomu, že mnoho geriatrických pacientů trpí chronicky hypohydratací způsobenou oslabeným pocitem žízně, byly u většiny pacientů hodnoty jistě falešně nadhodnoceny.

Obecně hodnocení izolovaných biochemických výsledků u tak složité populace, jakou senioři s četnými komorbiditami jistě jsou, je velmi ošidné.

Následovalo hodnocení kognitivních funkcí prostřednictvím Folsteinova testu (MMSE). Někteří naši pacienti již měli dokumentovaný syndrom demence, nicméně jen u velmi malého procenta z nich byla demence stran etiologie blíže dovyšetřena. V našem souboru 128 pacientů dosáhlo v MMSE ≤ 20 bodů (středně těžká demence) 48 pacientů, MMSE ≤ 10 bodů pak 9 pacientů. Pouze u 18 z nich byla dokumentovaná etiologie demence, ve 14 případech se jednalo o vaskulární multiinfarktovou demenci, ve 2 případech o Alzheimerovu demenci, 2 pacienti měli diagnózu Binswangerovy nemoci. Počet pacientů s Alzheimerovou demencí bychom očekávali, vzhledem k tomu, že se

jedná o nejčastější typ demence, ve více případech, nicméně nebyla blíže dokumentována.

Hranicí „přítomnosti demence“ jsme stanovili dosažení ohodnocení 24 bodů ve Folsteinově testu, tedy již stupně „mírné demence“. Ve skupinách „fit“ a „independent“ dosáhli všichni jedinci hodnoty vyšší, v kategorii „frail“ dosáhlo MMSE ≤ 24 celkem 12 osob, 10 z nich mělo genotyp *E3/E3*, 1 genotyp *E2/E3* a 1 *E3/E4*. V kategorii „dependent“ a „totally dependent“ již bylo procento pacientů se syndromem demence vyšší, resp. hodnoty MMSE ≤ 24 měli všichni v uvedených skupinách – tedy 29 osob v kategorii „dependent“ a 21 jedinců v kategorii „totally dependent“. V kategorii „dependent“ bylo 19 jedinců s genotypem *E3/E3*, 8 s genotypem *E3/E4* a 2 s genotypem *E2/E3*. Ve skupině „totally dependent“ pak 11 nositelů genotypu *E3/E3*, 6 osob vykazovalo genotyp *E3/E4* a 4 osoby *E2/E3*.

I přes veškeré výsledky populačních studií se nám v naší studii souvislost mezi přítomností demence a alelou *E4* prokázat nepodařilo, a to dokonce ani v hodnocení, kdy jsme si jako hranici „přítomnosti demence“ stanovili dosažení 20 bodů v MMSE. Domníváme se, že toto je způsobeno velmi malým souborem pacientů, resp. chybou malých čísel.

Jako poslední byla hodnocena souvislost alely *E4* s přítomností deprese. Toto vyšetření by alespoň rámcově jistě nemělo být opomíjeno, zejména protože těžký depresivní stav může být velmi snadno zaměněn za syndrom demence, únik diagnostice a léčbě může pacienta poškodit. Deprese byla jedinou hodnocenou veličinou (resp. dosažení ≥ 6 bodů v hodnocení deprese dle Yessavage), která se vyskytla ve všech funkčních kategoriích dle Spirdusové, i když procentuální zastoupení bylo jistě odlišné. Zatímco v kategoriích „fit“ a „independent“ bylo depresivních 5 pacientů, shodně v obou skupinách, v kategorii „frail“ to bylo již 15 osob, v kategorii „dependent“ 20 osob (z 29) a v kategorii „totally dependent“ dosáhli bodového ohodnocení ≥ 6 bodů všichni pacienti. Skupina „funkčně zdatných“ a „funkčně nezdatných“, jedinců se také lišila v tíži depresivní poruchy, zatímco v kategorii „fit“ a „independent“ se jednalo o lehčí formy deprese, u pacientů v kategorii „totally dependent“ byla manifestní deprese spíše pravidlem.

Ani u této veličiny se nám nepodařilo prokázat statisticky významnou souvislost mezi sledovanou veličinou (depresí) a alelou *E4*, nicméně výsledky logistické regrese opět ukázaly, že osoby s již mírnou či manifestní depresí (≥ 6 dle Yeassavage) mají riziko zhoršení funkční zdatnosti 3x vyšší, než osoby bez depresivního onemocnění, což už bylo opakovaně prokázáno (96,97).

VI. ZÁVĚRY

- Souvislost alely *APOE4* s celou řadou onemocnění s různými patogenetickými mechanismy, stejně jako její souvislost s projevy předčasného stárnutí, byla prokázána v celé řadě prací.
- První naše hypotéza, vzhledem k věku námi vyšetřovaných jedinců (průměrný věk $88,6 \pm 5,3$ let), předpokládala nižší procento nositelů alely *E4*, než je průměr v České republice (15,7%). V naší studii byly zaznamenány z možných 6 genotypů (*E2/E2*, *E2/E3*, *E3/E4*, *E3/E3*, *E3/E4*, *E4/E4*) pouze 3 genotypy – v největším počtu homozygoti *E3/E3* (67,19%), dále heterozygoti *E3/E4* (19,53%) a heterozygoti *E2/E3* (13,28%). Z pohledu procentuálního zastoupení jednotlivých alel bylo tedy 83,59 % zastoupeno alelou *E3*, 9,76 % alelou *E4* a 6,64 % alelou *E2*. Výskyt alely *E4* je tedy skutečně nižší, než je průměr v České republice, nicméně tento pokles můžeme konstatovat pouze v trendu, nebyl statisticky významný, což jistě můžeme přičíst na vrub velmi malému souboru pacientů.
- Hlavní otázkou naší práce bylo posoudit vztah alely *APOE4* k funkčnímu stavu seniorů. Prokázali jsme statisticky významný nárůst genotypu *APOE3/APOE4* u funkčně méně zdatných jedinců ($p = 0,0248$).
- Při porovnání jednotlivých negativních prediktorů stařecké křehkosti s genotypem *APOE3/APOE4* se nám ovšem statickou významnost prokázat nepodařilo (s výjimkou ADL a 6-MWT), což opět přičítáme velmi malému souboru pacientů.
- Riziko funkční nezdatnosti je spojeno s
 - věkem (každý rok zvyšuje riziko „funkční nezdatnosti“ o 9%)
 - malnutricí (14x větší zhoršení funkční zdatnosti)
 - přítomností deprese (3x větší riziko zhoršení funkční zdatnosti)
 - alelou *APOE4* [nositelé alely *APOE4* (tedy *APOE2/APOE4*, *APOE3/APOE4*, *APOE4/APOE4*), mají riziko funkční nezdatnosti 13x vyšší než osoby s genotypem *APOE2/APOE3*]

VII. SOUHRN ZÁVĚRŮ

Závěrem lze tedy říci, že z pohledu funkční nezdatnosti ve stáří je alela *APOE4* riziková.

I přes všechny prezentované výsledky jsme si ale vědomi, že jejich interpretovatelnost je značně omezená zejména počtem vyšetřených jedinců. Jedná se o pilotní studii, ve výzkumu této problematiky budeme nadále pokračovat.

VIII. LITERATURA

1. KALVACH, Z., ZADÁK, Z., JIRÁK, R., ZAVÁZALOVÁ, H., SUCHARDA, P., a kol. *Geriatric a gerontologie*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 2004. 861s. ISBN 80-247-0548-6
2. Word Population Ageing. *Department of Economic and Social Affairs Population Division*. 2009; dostupné z:
http://www.un.org/esa/population/publications/WPA2009/WPA2009_WorkingPaper.pdf
[cit. 2012-05-24]
3. Český statistický úřad. *Obyvatelstvo*. 2011; dostupné z:
http://www.czso.cz/csu/redakce.nsf/i/obyvatelstvo_lide [cit. 2012-05-24]
4. Český statistický úřad. *Naděje dožití při narození v letech 1950-2010*. 2011; dostupné z:
http://www.czso.cz/csu/redakce.nsf/i/nadeje_doziti_pri_narozeni_v letech_1950_2010
[cit. 2012-05-24]
5. Český statistický úřad. *Věkové složení obyvatel k 31.12.2010*. 2001; dostupné z:
<http://www.czso.cz/csu/2011edicniplan.nsf/p/4003-11> [cit. 2012-05-24]
6. Český statistický úřad. *Podíl obyvatel ve věkové skupině 0-14 a 65 a více v letech 1950 – 2010*. 2011; dostupné z:
http://www.czso.cz/csu/redakce.nsf/i/podil_obyvatel_ve_vekove_skupine_0_14_a_65_a_vice let_v letech_1950_2010 [cit. 2012-05-24]
7. BURCIN, B., FIALOVÁ, L., RYCHTAŘÍKOVÁ, J., a kol. *Demografická situace České republiky. Proměny a kontexty 1998 – 2008*. 1.vyd. Praha: Sociologické nakladatelství (SLON), 2010. 238s. ISBN 978-80-7419-024-7
8. CASSEL, C. K., LEIPZIG, R.M., COHEN, H.J. et al. *Geriatric medicine: an evidence based approach*. 4th ed. New York: Springer-Verlag, 2003. 1318 p. ISBN 0-387-95514-3
9. HARMAN, D. Aging. Overview. *Ann NY Acad Sci*, 2001. **928**: p 1-21
10. HAYFLICK, D. *Jak a proč stárneme*. 1.vyd. Praha: Knižní klub, 1997. 452 s. ISBN 80-7176-536-8

11. CHRISTENSEN, K., GAIST, D., VAUPEL, J. W. et al. Genetic contribution to rare of change in functional abilities among Danish twins aged 75 years or more. *Am J Epidemiol*, 2002. **155**: p. 132-139
12. SARKAR, P. K., SHINTON, R.A. Hutchinson – Guilford progeria syndrome. *Postgrad Med J*, 2001. **77**: p. 312-317
13. PATHAK, S., MULTANI, A.S., FURLOG, C.L. et al. Telomere dynamics, aneuploidy, stem cells, and cancer (review). *Int J Oncol*, 2002. **20**: p 637-641
14. CHERIF, H., TARRY, J.L., OZABNE, S.E. et al. Ageing and telomeres: a study into organ- and gender- specific telomere shortening. *Nucleic Acids Res*, 2003. **31**: p. 1576-1583
15. THOMPSON, J.S., THOMPSON, M.W., NUSSBAUM, R. et al. *Klinická genetika*. 6.čes. vyd. Praha: Triton, 2004. 426 s. ISBN 80-7254-475-6
16. WALDORF, R.L., MOCK, D., VERDERY, R. et al. Caloric restriction in biosphere 2: alternation in physiologic, hematologic, hormonal and biochemical parametres in human restricted for 2 year period. *J Gerontol A Bio Sci Med*, 2002. **57**(6): p. B211-224
17. DE ZWART, L.L. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free radical Biol & Medicine*, 1998. **26**: 202-226
18. DE LA FUENTENE, M. Effects of antioxidants on immune system ageing. *Eur J Clin Nutr*, 2002. **56**: p. 5-8
19. LENZA, G., BOVINA, C., D'AURELIO, M. et al. Role of mitochondria in oxidative stress and aging. *Ann NY Acad Sci*, 2002. **959**: p.199-213
20. MULLER, W.E., HARTMANN, H., ECKERT, A. et al. Free intracellular calcium in ageing and Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci*, 1996. **786**: p.305-320
21. ULRICH, P., CERAMI, A. Protein glycation, diabetes and ageing. *Recent prog Horm Res*, 2001. **56**: p. 1-21
22. PERLS, T., KUNKEL, L.M., PUCA, A..A The genetics of aging. *Curr Opin Genet Dev*, 2002. **12**: p 362-369
23. ANDERSEN – RANBERG, K., CHRISTENSEN, K., JEUNE, B., et al. Activity of daily living among elderly and oldest-old in Denmark. *Age and Ageing*, 1999. **28**: p.373-377

24. CAPRI, M., SALVIOLI, S., SERVINI, F., et al. The genetics of human longevity. *Ann NY Acad Sci*, 2006. **1067**: p. 252-263
25. PUCA, A.A., DALY, M.J., BREWSTER, S.J. et al. A genome-wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001. **98** : p. 10505-10508
26. MASTSUMURA, Y., AIZAWA, H., SHIKARI-IIDA, T., et al. Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreting klotho protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998. **242**: p. 626-630
27. KUROSU, H., YAMAMOTO, M., CLARK, J.D., et al. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. *Science*, 2005. **309**: p. 1829-1833
28. IKUSHIMA, M., RAKUGI, H., ISHIKAWA, K., et al. Anti-apoptotic and anti-senescence effects of Klotho on vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. **339**: p. 827-832
29. MAYES, P.A. Transport lipidů a jejich ukládání. In *Harperova biochemie*. 2. čes. vyd. Praha: Nakladatelství a vydavatelství H&H. 1998. Kapitola 26, s. 267. ISBN 80-85787-38-5
30. MAHLEY, R.W. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*, 1988. **240**: p. 622-630
31. HUANG, Y., WEISGRABER, K.H., MUCKE, L., et al. Apolipoprotein E: diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*, 2004. **23**: p. 189-204
32. WEISGRABER, K.H. Apolipoprotein E: structure-function relationships. *Adv Protein Chem*, 1994. **45**: p. 249-302.
33. KOHLMEIER, M., DROSSEL, H.J., SINHA, P., et al. Rapid and simple method for the identification of apolipoprotein E isomorphic phenotypes from whole serum. *Electrophoresis*, 1992. **13**: p. 258-261.
34. DAVIGNON, J., GREGG, R.E., SING, C.F. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 1988. **8**: p.1-21
35. HUBACEK, J.A., PITHA, J., STAVEK, P., et al. Variable expression of hypercholesterolaemia in apolipoprotein E2* (Arg 136 → Cys) heterozygotes. *Physiol Res*, 2000. **49**: p.307-314

36. HUBACEK, J.A., POLEDNE, R., PITHA, J., et al. Apolipoprotein E Arg 136→Cys in individuals with premature myocardial infarction. *Folia Biol. (Praha)*, 2009. **55**: p.116-118
37. HALLMAN, D.M., BOERWINKLE, E., SAHA, N. et al. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet*, 1991. **49**: p. 338-349.
38. ZAMAN, M.M., IKEMOTO, S., YOSHIIKE, N. et al. Association of apolipoprotein genetic polymorphism with plasma cholesterol in a Japanese rural population. The Shibata study. *Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol*, 1997. **17** (12): p.3495-3504
39. CSASZAR, A. Apolipoprotein polymorphism in Hungary. *Acta Biomed Ateneo Parmense*, 1995. **66** (3-4): p.169-174
40. BERÁNEK, M., FRIEDECKÝ, B., PALIČKA, V. Heterogeneity of the frequency of the lipoprotein E-ε 4 allele in the European population. *Čas Lék Čes*, 1999. **138** (16): p. 500-503
41. ZEKRAOUI, N., LAGARDE, J., RAISONNIER, A., et al. High frequency of the apolipoprotein E4 allele in African pygmies and most of the African populations in sub-Saharan Africa. *Hum Biol*, 1997. **69**: p. 575-581
42. SVOBODOVA, H., KUCERA, F., STULC, T., et al. Apolipoprotein E gene polymorphism in the Mongolian population. *Folia Biol. (Praha)*, 2007. **53**: p. 138-142
43. TAN, C.E., TAI, E.S., TAN, C.S. et al. APOE polymorphism and lipid profile in three ethnic groups in the Singapore population. *Atherosclerosis*, 2003. **170**: p. 253-260
44. KAO, J.T., TSAIB, K.S., CHANG, C.J., et al. The effect of apolipoprotein E polymorphism on the distribution of lipid and lipoproteins in the Chinese population. *Atherosclerosis*, 1995. **114**: p.55-59
45. LINTON, M., ATKINSON, J., FAZIO, S. Prevention of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by bone marrow transplantation. *Science*, 1995. **267**: p. 1034-1037
46. DAVIGNON, J., GREGG, R.E., SING, C.F. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis*, 1988. **8**(1): p.1-21

47. MAHLEY, R.W., INNERARITY, T.L., RALL, S.C., et al. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res*, 1984. **25**: p.1277-1294
48. RALL, S.C. Jr., MAHLEY, R.W. The role of apolipoprotein E genetic variants in lipoprotein disorders. *J Int Med*, 1992. **231**: p. 653-659.
49. UTERMANN, G. Apolipoprotein E polymorphism in health and disease. *Am Heart J*, 1987. **113**: p. 443-440
50. FAZIO, S. Recent insights into the pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia. *Trends Cardiovasc Med*, 1993. **3**: p. 191-196.
51. DESAI, K., BRUCKDORFER, R., HUTTON, R., et.al. Binding of apo-E rich high density lipoprotein particles by saturable sites on human blood platelets inhibits agonist –induced platelet aggregation. *Journal of Lipid Research*, 1989. **30**: p.831-840
52. KOUKOLÍK, F. Alzheimerova nemoc. *Sanquis*, 2002. **19**: s.46-50
53. JIRÁK, R. Diagnostika a terapie Alzheimerovy choroby. *Neurol prax*, 2008. **4**: s.224-227
54. JIRÁK, R., DUŠKOVÁ, J., MALÁ, E., a kol. *Demence*. 1.vyd. Praha: Maxdorf, 1999. 226 s. ISBN 80-85800-44-6
55. JIRÁK, R., KOUKOLÍK, F. *Demence. Neurobiologie, klinický obraz, terapie*. 1.vyd. Praha: Galén, 2004. 335 s. ISBN 80-7262-268-4
56. WILTFANG, J., LEWCZUK, P., RIEDERER, P., et al. Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers of Dementia: the role of CSF and blood analysis in the early and differential diagnosis of dementia. *World J Biol Psychiatry*, 2005. **6**: p. 69–84
57. TABERT, M.H., MANLY, J.J., LIU, X. et al. Neuropsychological prediction of conversion to Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *Arch Gen Psychiatry*, 2006. **63**: p. 916–924
58. COON, K.D., MYERS, A.J., CRAIG, D.W. et al. A high – density whole – genome association study reveals that APOE is the major susceptibility gene for sporadic late-onset Alzheimer´s disease. *J Clin Psychiatry*, 2007. **68**: p. 613-618
59. LI, H., WETTEN, S., St.JEAN, P.L. et al. Candidate single- nucleotide polymorfisms from a genomewide association study of Alzheimer´s disease. *Arch Neurol*, 2008. **65**: p.45-53

60. SMITH, J.D. Apolipoprotein E4: an allele associated with many diseases. *Ann Med*, 2000. **32**: p.118-127
61. HATTERS, D.M., PETERS – LIBEU, C.A., WEISGRABER, K.H. Apolipoprotein E structure: insights into function. *Trends Biochem Sci*, 2006. **31**: p.445-454
62. HERZ, J., CHEN, Y. Reelin, lipoproteid receptors and synaptic plasticity. *Nature Rev Neurosci*, 2006. **7**: p. 850-859
63. FARRER, L.A., CUPPLES, L.A., HAINES, J.L. et al.. Effect of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. *J Am Med Assoc*, 1997. **278** (16): p. 1349-1356
64. TANG, M.X., GROSS, P., ANDREWS, H., et al. Incidence of AD in African – Americans, Caribbean Hispanics and Caucasian in northern Manhattan. *Neurology*, 2001. **56**: p. 49-56
65. LETHOVIRTA, M., LAAKSO, M.P., FRISONI, G.B. et al. How does the apolipoprotein E genotype modulate the brain in aging and in Alzheimer’s disease? A review of neuroimaging studies. *Neurobiol Aging*, 2000. **21**: p. 293-300
66. YAMAGUCHI, H., SUGIHARA, S., OGAWA, A. et al.: Alzheimer amyloid deposition enhanced by apoE – epsilon 4 gene precedes neurofibrillary pathology in the frontal association cortex of nondemented senior subjects. *J Neuropatol Exp Neurol*, 2001. **60**: p. 731-739
67. GATZ, M., FRATIGLIONI, L., JOHANSSON, B. et al. Complete ascertainment of dementia in the Swedish twin registry: the HARMONY study. *Neurobiol Aging*, 2005. **26**: p.439-447
68. REYNOLDS, C.A., PRINCE, J.A., FEUK, L., et al. Longitudinal memory performance during normal aging; twin association models of APOE and other Alzheimer candidate genes. *Behav Genet*, 2006. **36**: p. 185-194
69. CASELLI, R.J., OSBORNE, D., REIMANN, E.M. et al. Pre-clinical cognitive decline in late model – aged asymptomatic apolipoprotein E – epsilon 4/4 homozygotes: a replication study. *J Neurol Sci*, 2001. **189** : p. 93-98

70. GREENWOOD, P.M., SUNDERLAND, T., FRITZ, J.L. et al. Genetic and visual attention : selective deficits in healthy adult carriers of the epsilon 4 allele of the apolipoprotein E gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000. **97**(21): p.11661-6
71. ASENSIO – SANCHEZ, V.M., RODRIGEZ, MARTIN, T., GALA – MOLINA, I., et al. Age-related macular degeneration: its association with the ϵ 4 allele of the apolipoprotein E gene. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 2006. **81**: p. 9-12
72. KOOCHMESHGI, J., HOSSEINI – MAZINANI, S.M., MORTEZA SEIFATI, S., et al. Apolipoprotein E genotype and age at menopause. *Ann NY Acad Sci*, 2004. **1019**: p. 564-567.
73. EWBANK, D.C. Mortality differences by APOE genotype estimated from demographic synthesis. *Genet Epidemiol*, 2002. **22**:p. 146 -155
74. STRAWBRIDGE, W.J., SHEMA, S.J., BALFOUR, J.L., et al. Antecedent of frailty over free decades in an older cohort. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*, 1998. **53**(1): p.S9-S16
75. LORD, S.R., MURRAY, S.M., CHAPMAN, K., et.al. Sit-to stand performance depends on sensation, speed, balance, and psychological status in addition to strength in older people. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2002. **57**(8): p.M539-M543
76. LALLY, F., CROME, P. Understanding frailty. *Postgrad Med J*, 2007. **83** (975): p. 16-20
77. FRIED, L.P., TANGEN, C.M., WALSTON, J., et al. The Cardiovascular Health Study Collaborative research Group: Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol Biol Sci Med Sci*, 2001. **56A**: p. M146-M156
78. FRIED, L.P., FERRUCCI, L, DARER, J. et al. Untangling the concept of disability, frailty and comorbidity: implications for improved tergeting and care. *J Gerontol Biol Sci Med Sci*, 2004. **59**: p. 255-263
79. BOYD, C.M., XUE, Q.L., SIMPSON, C.F., et al. Frailty, hospitalisation, and progression of disability in a cohort of older women. *Am J Med*, 2005. **118**(11): p. 1225-1231
80. ROCKWOOD, K. What would make a definition of frailty successful? *Ageing*, 2005. **34**: 432-434

81. JONES, d., SONG, X., MITNITSKI, A., et al. Evaluation of frailty index based on a comprehensive geriatric assesment in a population based study of elderly Canadians. *Aging Clin Exp Res*, 2005. **17**(6): p. 465-471
82. ROCKWOOD, K., MITNITSKI, A. Frailty in relation to the accumulation of deficits. *J Gerontol Biol Sci Med Sci*, 2007. **62** (7):722-727
83. SPIRDUSO, W.W., FRANCIS, K.L., McRAE, P.G. *Physical dimension of aging*. 2nd ed. Champaign, III.[u.a.] Human Kinetics, 2005. 374 p. ISBN 0736033157
84. MORLEY, J.E., HAREN, M.T., ROLLAND, Y., et al. Frailty. *Med Clin North Am*, 2006. **90** (5): p. 837-847
85. KATZ, S., DOWNS, T.D., CASH, H.R. et al. Progress in the development of the index of ADL. *Gerontologist*, 1970. **10**: p. 20-30
86. JANDA, V. a kol. *Svalové funkční testy*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing. 2004. 328 s. ISBN 978-80-247-0722-8
87. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Fiction Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002. **166**: p. 111-117.
88. MILLER, S.A., DYKES, D.D., POLESKY, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 1988. **16**: 1215
89. WENHAM, P.R., PRICE, W.H., BLUNDELL, G. Apolipoprotein E genotyping by one stage PCR. *Lancet*, 1991. **337**: p. 1158-1159
90. RIKLI, R. E., BUSH, S. Motor performance of women as functional of age and physical activity level. *J Gerontol*, 1986. **41** (5): p. 645 – 649
91. RIKLI, R. E., EDWARDS, D. S. Effects of a three-year exercise program on motor fiction and cognitive processing speed in older women. *Res Q Exerc Sport*, 1991. **62**(1): p. 61-67
92. ARGILES, J.M., BUSQUETS, S., FELIPE, A. et al. Muscle wasting in cancer and ageing: cachexia versus sarcopenia. *Adv Gerontol*, 2006. **18**: p. 39-54
93. BISCHOFF, H. A., STAEHELIN, H.B., WILLETT, W.C. The effect of undernutrition in the development of frailty in older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2006.**61**(6): p. 585-589

94. PEPERSACK, T. Nutritional problems in the elderly. *Acta Clin Belg*, 2009. 64(2): p.85- 91
95. BARTALI, B., FRONGILLO, E. A., BANDINELLI, S. et al. Low nutrient intake is an essential component of frailty in older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2006. 61(6): p. 589-593
96. ANDREWS, M. K., ROCKWOOD, K. Psychiatric illness in relation to frailty in community – dwelling elderly people without dementia: a report from Canadian Study of health and ageing. *Can J Aging*, 2007. 26(1): p. 33-38
97. BOURGAULT – FAGNOU, M. D., HADJISTAVROPOLOS, H.D. Understanding health anxiety among community dwelling seniors with varying degree of frailty. *Aging Ment Health*, 2009. 13(2): p. 226-237.

IX. VLASTNÍ PUBLIKACE AUTORA

IX.1. Publikace se vztahem k tématu dizertace

a) s impact faktorem

1) SNEJDRLOVA, M., KALVACH, Z., TOPINKOVA, E., VLABLIK, M., PROCHAZKOVA, R., KVASILOVA, M., LANSKA, V., ZLATOHLAVEK, L., PRUSIKOVA, M., CESKA, R. ApoE polymorfism as a potential determinant of functional fitness in the elderly regardless of nutritional status. *Neuro Endokrinol Lett*, 2011. **32** Supl. 2: 51-54, IF 1,05

b) bez impact faktoru

1) OTOVÁ, B., KALVACH, Z., ŠNEJDRLOVÁ, M. Biologické mechanismy stárnutí. *Čas lék česk*, 2006. **145**(9) : 688 – 694

2) KALVACH, Z., DRBAL, C., ZAVÁZALOVÁ, H., ŠNEJDRLOVÁ, M., ONDRUŠOVÁ, J. Geriatrický pohled na zdraví a nemocnost ve stáří – změna paradigmatu? *Čas lék česk*, 2006. **145**(12): 909-915

3) KALVACH, Z., DRBAL, C., ŠNEJDRLOVÁ, M., ONDRUŠOVÁ, J. Zdravotní stav ve stáří. *Demografie – revue pro výzkum populačního vývoje*, 2006. 48 (4): 265 – 269

4) ŠNEJDRLOVÁ, M., KALVACH, Z. Funkční stav v pokročilém stáří a genetická dispozice k dlouhověkosti. *Med Pro Praxi*, 2008. **5**(4):157-159

5) ŠNEJDRLOVÁ, M., KALVACH, Z., OTOVÁ, B., ONDRUŠOVÁ, J. Stárnutí a involuční změny In *Geriatrické syndromy a geriatrický pacient*. 1. čes. vyd. Praha: Grada Publishing. 2008. Kapitola 2, s. 39-49, ISBN: 978-80-247-2490-4

6) KALVACH, Z., HOLMEROVÁ, I., JURAŠKOVÁ, B., WEBER, P., ŠNEJDRLOVÁ, M. Geriatrická deteriorace, křehkost a disabilita. In *Geriatrické syndromy a geriatrický pacient*. 1. čes. vyd. Praha: Grada Publishing. 2008. Kapitola 4, s. 111-135, ISBN: 978-80-247- 2490-4

7) KALVACH, Z., HOLMEROVÁ, I., WEBER, P., JURAŠKOVÁ, B., ŠNEJDRLOVÁ, M. Pojetí geriatrických syndromů. In *Geriatrické syndromy a*

geriatrický pacient. 1. čes. vyd. Praha: Grada Publishing. 2008. Kapitola 6.1, s.141-145, ISBN: 978-80-247-2490-4

8) KALVACH, Z., ŠNEJDRLOVÁ, M. Farmakoterapie jako patogenetický a dekompenzující faktor geriatrické křehkosti. In *Geriatrické syndromy a geriatrický pacient*. 1. čes. vyd. Praha: Grada Publishing. 2008. Kapitola 6.15, s. 305-310, ISBN: 978-80-2472490-4

IX.2. Publikace bez vztahu k tématu dizertace

a) s impact faktorem

1) HUBACEK, J.A., ADAMKOVA, V., PRUSIKOVA, M., SNEJDRLOVA, M., HISCHFELDOVA, K., LANSKA, V., CESKA, R., VLABLIK, M. Impact of apolipoprotein A5 variants on statin treatment efficacy. *Pharmacogenomics*, 2009. **10**(6): 945-50 IF 5,435

2) VRABLIK, M., PRUSIKOVA, M., SNEJDRLOVA, M., ZLATOHLAVEK, L. Omega-3 fatty acid and cardiovascular disease risk: do we understand the relationship. *Phys Res*, 2009. **58**, Suppl 1, S19-S26 IF 1,51

b) bez impact faktoru

1) ŠNEJDRLOVÁ, M. Hormonální substituční léčba z pohledu internisty. *Klimakterická medicína*, 2010. **15** (1): 25-27

2) ŠNEJDRLOVÁ, M., VRABLÍK, M., MOTYKOVÁ, E., PRUSÍKOVÁ, M. Úloha ω -3 mastných kyselin v léčbě rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění menopauzálních žen. *Klimakterická medicína*, 2010. **15** (3): 14-18

3) ČEŠKA, R., ŠNEJDRLOVÁ, M. Ženy, lipidy a ateroskléróza: naděje, kontroverze, zklamání, ale i přísliby do budoucnosti. Mimořádná příloha čas. Postgraduální medicína u příležitosti XVI. výročního sjezdu České kardiologické společnosti (24. - 27.5.2008, Brno)

4) ŠNEJDRLOVÁ, M.. Není dušnost jako dušnost. *Kapitoly z kardiologie pro praktické lékaře*, 2009. **1**(4) :153-155

5) ČEŠKA, R., PRUSÍKOVÁ, M., ŠNEJDRLOVÁ, M. Farmakoterapie dyslipidemií – zaměřeno na statiny. *Medicína po promoci*, 2009, roč.**10**, suppl.2

VIII.3. Prezentace na kongresech a sympoziích

1) jako přednášející

- a) Šonkův den, 9.1.2007, Obezita jako geriatrický problém; Šnejdrlová M., Kalvach Z.
- b) Gerontologické dny Karlovy Vary, 12.4.2007, Stabilita a svalová síla – klíčový faktor geriatrických pádů a zlomenin; Šnejdrlová M., Kalvach Z.
- c) Pražské gerontologické dny, 30.5.2007, Medicína dlouhověkosti (longevity medicine) – fikce nebo realita?; Šnejdrlová M., Novotná E., Ondrušová J., Kalvach Z.
- d) XIV. kongres České internistické společnosti ČLS JEP, 17.9.2007, Genetická dispozice k dlouhověkosti a funkční stav v pokročilém stáří; Šnejdrlová M., Kalvach Z., Novotná E.
- e) XII. kongres o ateroskleróze Špindlerův Mlýn, 11.-13.9.2008, Vztah polymorfismu apolipoproteinu E k funkčnímu stavu seniorů; Šnejdrlová M., Kalvach Z., Procházková R., Kvasilová M., Češka R.,
- f) Výživa- nedílná součást léčby závažných chorob (IV. ročník celostátní konference), 1.10.2009 – České Budějovice, Omega-3 mastné kyseliny a riziko kardiovaskulárních chorob . Rozumíme jejich vztahu? Šnejdrlová M., Vrablík M., Prusíková M., Zlatohlávek L.
- g) 10. konference o menopauze Špindlerův Mlýn, 16.-18.10.2009, Kardiovaskulární riziko v menopauze a současné názory na HRT, Šnejdrlová M.
- h) Šobrův den - XXIV. konference o hyperlipoproteinemiích, 9.6.2010, Genetická determinace dlouhověkosti a funkční zdatnosti ve stáří, Šnejdrlová M., Češka R., Kalvach Z., Kvasilová M., Procházková R., Lánská V.

2) spoluúčast

- a) XIII. kongres o ateroskleróze Špindlerův Mlýn, 10.-12.12.2009, Analýza genetické predispozice účinnosti léčby statiny; Hubáček J.A., Adámková V., Prusíková M., Šnejdrlová M., Hirschfeldová K., Lánská V., Dlouhá D., Rynekrová J., Češka R., Vrablík M
- b) Šobrův den - XXIV. konference o hyperlipoproteinemiích, 9.6.2010, Genetická determinace účinku hypolipidemické léčby. Vrablík M., Hubáček J., Adámková V., Prusíková M., Šnejdrlová M., Zlatohlávek L., Češka R.
- c) XIV. kongres o ateroskleróze Špindlerův Mlýn, 9.-11.12.2010, Farmakogenetika léčby statiny: jak je dlouhá cesta od laboratoře ke klinickému využití? Vrablík M., Hubáček J.A., Adámková V., Prusíková M., Šnejdrlová M., Motyková E., Zlatohlávek L., Lánská V., Češka R.

3) poster

- a) Výživa – nedílná součást léčby závažných chorob, VI. ročník konference, 23. - 24.11.2011. Kongresové centrum IKEM. Polymorfismus *APOE* jako potenciální faktor funkční zdatnosti ve stáří. Šnejdrlová M., Kalvach Z., Topinková E., Vrablík M., Procházková R., Kvasilová M., Lánská V., Zlatohlávek L., Prusíková M., Češka R.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 1.6.2012

MUDr. Michaela Šnejdrová

Podpis