

Nefarmakologická léčba – výsledky z Poděbrad

Lukáš Zlatohlávek¹, Michal Vrablík¹, Zuzana Urbanová², Hana Pejšová¹, Jaroslav Hubáček³, Richard Češka¹

¹ III. interní klinika 1. LF UK a VFN Praha, přednosta prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc., MBA

² Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN Praha, přednosta prof. MUDr. Jiří Zeman, DrSc.

³ Laboratoř molekulární genetiky IKEM Praha, přednosta MUDr. Jan Piňha, CSc.

Souhrn

Úvod: Prevalence rizikových faktorů aterosklerózy se posouvá do mladších věkových kategorií. U vybrané již pre-selektované skupiny dětí s obezitou, dyslipidemií a metabolickým syndromem jsme sledovali antropometrické a laboratorní ukazatele během měsíčního redukčního pobytu dětí v Léčebně dr. Filipa, s.r.o., v Poděbradech. Současně byly sledovány genetické parametry spolupodílející se na vzniku obezity. **Soubor:** V rámci projektu byly statisticky zpracovány výsledky u 350 obézních dětských pacientů ve věku 8–16 let, průměrného věku $13,7 \pm 2,1$ roku, průměrné výšky $163 \pm 10,6$ cm. **Metody:** Při vstupu a při ukončení hospitalizace byly změřeny antropometrické parametry (výška, váha, tloušťka kožních řas, obvody tělesných částí), změřen krevní tlak a pulz. Byl stanoven lipidogram a další metabolické ukazatele, izolována DNA ke stanovení polymorfizmů genů pro FTO a MC4R. **Výsledky:** Během pobytu dětí došlo ke statisticky významnému poklesu metabolických ukazatelů a redukcí antropometrických hodnot. Současně jsme prokázali skutečnost, že u nositelů rizikových polymorfizmů asociovaných s obezitou byla lepší odezva na režimová a dietní opatření. **Závěr:** Identifikovat jedince s horší odezvou na režimová opatření bude velice důležité, jelikož u těchto jedinců bude nutné časněji zahájit farmakologickou léčbu s cílem zabránit rozvoji komplikací plynoucích z přítomnosti těchto rizikových faktorů.

Klíčová slova: dětská obezita – odezva na intervenci – predispozice – složky metabolického syndromu

Non-pharmacological treatment – results from Poděbrady

Summary

Objectives: The study was aimed to determine risk factors of atherosclerosis after one month lifestyle intervention in overweight/obese children and also FTO and MC4R gene variants associated with obesity. **Design and Methods:** 350 non-diabetic Czech children (age 13.7 ± 2.1 years, 163 ± 10.6 cm height) was examined. Before and after 4 weeks of lifestyle intervention (comprising a reduction of energy intake), biochemical and anthropometrical measurements were performed. **Results:** The mean weight loss achieved was 6.2 ± 2.1 kg ($P < 0.001$). Significant associations between BMI decrease and FTO and MC4R variants were found. Carriers of the FTO GG genotype and/or MC4R CC genotype lost significantly more body weight in comparison to the non-carriers ($P < 0.0009$ for BMI and $P < 0.002$ for body weight). The differences remain significant after adjustment for sex age and baseline values ($P = 0.004$ for BMI and $P = 0.01$ for body weight). **Conclusions:** It is necessary to look for the risk individuals with wrong response to the regime intervention. This individuals is necessary early treat with drugs to prevention clinically complications.

Key words: childhood obesity – components of metabolic syndrome – predisposition – response to intervention

Úvod

Ateroskleróza, resp. kardiovaskulární onemocnění, představují i v dnešní době jednu z nejčastějších příčin mortality a morbidit v rozvinutých zemích. Jednou z nejdůležitějších možností, jak snížit prevalenci kardiovaskulárních onemocnění (KVO), je snížení výskytu rizikových faktorů aterosklerózy. Kumulací rizikových faktorů u jednoho jedince se riziko KVO nesčítá, ale násobí.

Ač se rizikové faktory aterosklerózy zdánlivě týkají dospělého věku, jejich prevalence se posouvá do stále

nižších věkových kategorií, ba dokonce do dětského věku. Výskyt některých rizikových faktorů v dětském věku je alarmující. Např. obezitou trpí v České republice 6 % dětí a 9 % dětí má nadváhu, dyslipidemií má 23 % dětí a arteriální hypertenzi trpí 1,8 %. Ve věku 15–18 let kouří 16 % chlapců a 11 % dívek. Výskyt diabetes mellitus je zkreslen zejména prevalencí diabetiků 1. typu (DM1T), nicméně již v dětském věku se objevují stále častěji případy diabetes mellitus 2. typu (DM2T), který byl výsadou dospělých [1].

Příčinou zvýšené prevalence rizikových faktorů je zejména změna životního stylu, snížená pohybová aktivita a změny stravovacích návyků dětí. Tím je umožněno ve zvýšené míře demaskovat fenotypové projevy genových polymorfizmů spolupodílejících se na přítomnosti obezity, metabolického syndromu či dyslipidemie.

Prevence a léčba výše popsanych rizikových faktorů aterosklerózy je nefarmakologická a farmakologická. V dětském věku se primárně apeluje na nefarmakologickou intervenci. Ta zahrnuje důslednou a pravidelnou dietní edukaci dětských pacientů včetně jejich rodičů či rodinných příslušníků. Nedílnou součástí je pravidelná pohybová aktivita. Současně je nutno rodiče i děti motivovat k vlastní realizaci těchto opatření a kontrolovat jejich dodržování při pravidelných kontrolách.

Nesmírně důležitá je selekce pacientů s přítomnými rizikovými faktory již v dětském věku s cílem co nejdůsledněji předcházet následným komplikacím plynoucím z kumulace rizikových faktorů, které se mohou manifestovat již v časném dospělém věku.

V Léčebně Dr. L. Filipa, s.r.o., v Poděbradech probíhají primárně redukční pobyty obézních dětí. Jedná se o vybranou skupinu dětí s vysokou kumulací rizikových faktorů aterosklerózy (obezita, dyslipidemie, arteriální hypertenze, inzulinová rezistence).

Z řady klinických studií s velkými počty sledovaných pacientů bylo prokázáno, že dietní a režimová opatření vedou nejen k redukci váhy, zmenšení obvodu pasu, ale i ke zlepšení laboratorních ukazatelů a ke snížení kardiovaskulárního rizika [2].

Obr. 1–6. Vstupní vyšetření: odběr antropometrických parametrů



Po dietní a pohybové intervenci u dětí dochází v rozdílné míře k redukci váhy a zlepšení sledovaných laboratorních parametrů. Příčinou jsou zřejmě rozdílné vlivy vnitřního prostředí (metabolismus, genetická predispozice) spolu s vlivem vnějšího prostředí, které velkou měrou odezvu modifikují.

Jedněmi velice pravděpodobnými kandidátními geny uplatňujícími svůj vliv na rozdílnou odezvu na dietní a režimová opatření jsou genetické polymorfismy genů FTO a MC4R [3,4].

Polymorfizmy genu FTO (fat mass and obesity related gene, OMIM acc. No 610966) jsou asociovány s obezitou či vyšší hodnotou BMI.

Podobně polymorfizmy genu MC4R (melanocortin 4 receptor, OMIM acc. No 155541) jsou asociovány s obezitou a vyšší hodnotou BMI.

U selektovaného souboru pacientů s dyslipidemií a obezitou a dalšími rizikovými faktory je velká pravděpodobnost přítomnosti rozdílných vztahů lipidového metabolismu a genetických polymorfismů predisponujících ke vzniku těchto onemocnění.

Metody

V rámci projektu bylo vyšetřeno 354 dětských pacientů (46 % chlapců, 54 % dívek) ve věku 8–16 let s obezitou, dyslipidemií, kteří absolvovali pobyt v Léčebně Dr. L.Filipa, s.r.o., pro děti v Poděbradech po dobu 1 měsíce. Vyšetření bylo provedeno na začátku a na konci hospitalizace.

Během pobytu mají děti s obezitou ordinovanou redukční dietu v závislosti na věku. Děti do 10 let dostávají 5 000 kcal/den, děti nad 10 let věku 7 000 kcal/den. Děti s hypercholesterolemií dostávají dietu s omezením cholesterolu. Během pobytu mají děti pravidelně 5krát denně cvičení v podobě míčových her, plavání, dynamického cvičení v posilovně.

Při nástupu k pobytu obdrželi děti a jejich rodiče informace týkající se projektu, a pokud rodiče dětí souhlasili se vstupem jejich dítěte do projektu, podepsali jako jejich zákonní zástupci informovaný souhlas.

Při vstupu a ukončení hospitalizace byla provedena následující vyšetření: změřeny antropometrické parametry (zjištěna výška, hmotnost, vypočten Body Mass Index, změřen obvod pasu, břicha a boků, změřena kožní řasa nad levým tricepsem, pod pravou lopatkou a na bříše), změřen arteriální krevní tlak rtuťovým tlakoměrem. Tloušťka kožní řasy byla změřena pomocí kaliperu BEST II K-501 (obr. 1–6).

Byl stanoven celkový cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceridy, apolipoprotein A, apolipoprotein B, lipoprotein(a), hladina glykemie, C-peptidu, hladina inzulínu. Vstupně byly odebrány základní biochemické odběry (natrium, kalium, chloridy, urea, kreatinin, jaterní testy, TSH).

Dále byla vstupně odebrána krev na izolaci DNA.

Celkový cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceridy, apolipoprotein A, apolipoprotein B, lipoprotein(a) včetně základní biochemie byly stanovovány v centrálních laboratořích VFN Praha (Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN Praha). Z výsledků byly sta-

noveny: LDL-cholesterol vypočtený pomocí Friedewaldovy rovnice:

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{celkový cholesterol} - \text{HDL-cholesterol} - (\text{triglyceridy}/2,2)$$

DNA byla izolována pomocí standardní metody vysolování. Varianty genotypu MC4R rs17782313 byly stanoveny pomocí PCR oligonukleotidů 5'AAG TTC TAC CTA CCA TGT SK TGG a 5'TTC CCC CTG AAG CTT TTC TTG TCA TTT TGA T následně pomocí restrikčního enzymu BclI (nesestříhaný PCR produkt 137 bp představuje alelu C, restrikční fragmenty 30 bp a 107 bp poté alely T). Rs17817449 varianta v genu pro FTO byla analyzována stejnou metodou popsanou výše [5].

Ke statistickému zpracování byly použity standardní statistické metody k porovnání rozdílu sledovaných parametrů před a po intervenci (t-test a Wilcoxonův neparametrický test, χ^2 test, ANOVA a ANCOVA).

Soubor

V rámci projektu byly statisticky zpracovány výsledky u 350 obézních dětských pacientů ve věku 8–16 let průměrný věk $13,7 \pm 2,1$ roku, průměrné výšky $163 \pm 10,6$ cm. Průměrná vstupní váha byla $81,43 \pm 19,9$ kg a BMI $30,78 \pm 4,6$ kg/m². Nejvíce vážil 15letý chlapec s BMI 50 a váhou 158 kg, který zredukoval váhu na 146 kg. V rámci vyšetření byla nově diagnostikována dívka s familiární hypercholesterolemií, která byla ze sledování vyřazena, a dále byli vyřazeni 3 chlapci s léčenou arteriální hypertenzí.

Výsledky

Antropometrické, laboratorní parametry

Během redukčního pobytu dětí došlo ke statisticky významnému poklesu hmotnosti ($p < 0,001$), BMI ($p < 0,001$), redukci tloušťky kožních řas ($p < 0,001$) i obvodu pasu ($p < 0,001$), břicha a boků. Současně byl zjištěn statisticky významný pokles jak systolického ($p < 0,01$), tak diastolického ($p < 0,001$) krevního tlaku a současně došlo k poklesu tepové frekvence ($p < 0,001$).

Laboratorně byl zaznamenán statisticky významný pokles jak celkového cholesterolu, tak LDL-cholesterolu, HDL-cholesterolu, triglyceridů i sledovaných apolipoproteinů [apo A, apo B, Lp(a)] ($p < 0,001$). Během sledování byl zjištěn pokles gamaglutaryltransferázy. Ač hladina glykemie zůstala statisticky nezměněna, došlo k poklesu jak hladiny C-peptidu ($p < 0,05$), tak významnému poklesu inzulinemie ($p < 0,001$). Přesné vstupní, výstupní hodnoty a rozdíl hodnot před a po intervenci jsou uvedeny v tab. 1.

FTO, MC4R

V podskupině dětí s kompletními daty byly provedeny DNA analýzy, tj. 96,8 % u FTO rs17817449 a 95,6 % u variant MC4R. Po použití Hardy-Weinbergova testu byly potvrzeny nezávislé segregaci jednotlivých genotypů, $p = 0$, 38 pro FTO a $p = 0$, 37 pro MC4R. Nebyly zaznamenány pohlavní rozdíly v distribuci genotypů.

Tab. 1. Vstupní a výstupní hodnoty a rozdíl hodnot před a po intervenci

parametr	vstup	výstup	rozdíl	p
váha (kg)	81,43 ± 19,92	75,06 ± 18,28	6,37 ± 2,26	< 0,001
BMI (kg/m ²)	30,78 ± 4,58	28,44 ± 4,28	2,33 ± 0,78	< 0,001
obvod pas (cm)	88,7 ± 11,3	83,1 ± 10,5	5,6 ± 3,1	< 0,001
obvod břicho (cm)	101,9 ± 11,7	96,0 ± 11,6	5,8 ± 3,8	< 0,001
obvod boky (cm)	104,0 ± 11,2	98,6 ± 10,8	5,4 ± 3,8	< 0,001
řasa – břicho (cm)	4,06 ± 0,93	3,3 ± 0,6	0,74 ± 0,73	< 0,001
řasa – triceps (cm)	2,5 ± 0,9	2,0 ± 0,7	0,5 ± 0,7	< 0,001
řasa – lopatka (cm)	2,7 ± 0,9	2,2 ± 0,8	0,5 ± 0,7	< 0,001
STK (mm Hg)	120,2 ± 13,8	117,2 ± 11,9	3,1 ± 12,8	< 0,01
DTK (mm Hg)	76,8 ± 10,3	73,1 ± 9,53	3,7 ± 12,5	< 0,001
P (min)	83,8 ± 12,9	77,0 ± 12,9	6,83 ± 11,8	< 0,001
cholesterol (mmol/l)	4,54 ± 0,93	3,66 ± 0,86	0,89 ± 0,55	< 0,001
LDL-cholesterol (mmol/l)	2,79 ± 0,76	2,09 ± 0,72	0,69 ± 0,49	< 0,001
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,31 ± 0,3	1,17 ± 0,25	0,14 ± 0,18	< 0,001
TG (mmol/l)	1,01 ± 0,57	0,82 ± 0,32	0,19 ± 0,45	< 0,001
apoA (mmol/l)	1,29 ± 0,18	1,08 ± 0,17	0,21 ± 0,12	< 0,001
apoB (mmol/l)	0,88 ± 0,22	0,75 ± 0,24	0,13 ± 0,16	< 0,001
Lp(a) (mmol/l)	0,28 ± 0,34	0,20 ± 0,27	0,08 ± 0,12	< 0,001
glykemie (mmol/l)	4,88 ± 0,39	4,86 ± 0,35	0,02 ± 0,4	NS
C-peptid (mmol/l)	0,82 ± 0,3	0,76 ± 0,3	0,05 ± 0,2	< 0,05
INZ (mIU/l)	13,54 ± 7,9	11,5 ± 6,4	2,0 ± 5,9	< 0,001
GGT (μkat/l)	0,33 ± 0,22	0,22 ± 0,11	0,11 ± 0,16	< 0,001

Je třeba zmínit, že alelické frekvence nemohly být porovnány s kontrolní skupinou štíhlých zdravých dětí. Nicméně v porovnání s reprezentativně vybraným souborem české dospělé populace studie MONICA [6] (1,191 mužů a 1,368 žen ve věku 25–64 let, průměrný věk 49,0 ± 10,7 let) byla detekována vyšší frekvence genotypu GG FTO (24,9 % vs 17,3 %), $p = 0,0005$. Nicméně, distribuce MC4R genotypů se nelišila mezi dětmi a touto populací ($p = 0,06$) zejména z důvodu nízké frekvence obezity spojené CC genotypem (4,7 % v kontrolních dospělých a 6,0 % u obézních probandů).

Oba polymorfizmy nevykazují signifikantní vliv na parametry asociované s obezitou (BMI, tělesná hmotnost, WHR), ale byly zjištěny zvýšené počáteční hodnoty BMI u probandů genotypu FTO GG a MC4R CC (zjištěný rozdíl mezi homozygoty byl téměř 2 jednotky BMI). Tento výsledek lze pravděpodobně vysvětlit tím, že probandi představují poměrně úzkou část obyvatel (obézní a jedinci s nadváhou) a extrémní hodnoty BMI mohou maskovat skutečný účinek obou polymorfizmů, který v absolutních číslech se odhaduje 1,5–2,0 kg tělesné hmotnosti u dospělých na jednu rizikovou alelu. Naopak, obě varianty byly silné faktory intervenčního úspěchu.

Varianty genu FTO byly významným faktorem určujícím efekt režimových opatření. Nositelé rizikového

GG genotypu GG zredukovali více ($p = 0,02$ pro BMI a $p = 0,04$ na tělesnou hmotnost, respektive) tělesnou hmotnost ($6,7 \pm 2,3$ kg, $2,52 \pm 0,75$ BMI jednotky) než nositelé alespoň jedné ochranné T alely ($6,0 \pm 2,1$ kg, $2,25 \pm 0,69$ BMI jednotky).

V absolutních číslech byl ještě silnější vliv na BMI sledován při analýze variant MC4R. Nositelé rizikového genotypu CC zredukovali více ($p = 0,004$) BMI jednotek ($2,8 \pm 0,9$ BMI jednotky) než nositelé alespoň jedné ochranné alely T ($2,3 \pm 0,7$ BMI jednotky).

Změny v dalších sledovaných parametrech (plazmatické lipidy, CRP a další) nebyly asociovány ani s FTO, ani s MC4R polymorfizmy.

Pokud bylo analyzováno všech 9 možných variant kombinací FTO a MC4R genotypů (a všech 9 bylo rovněž zjištěno), byl nejvyšší pokles BMI zjištěn u nositelů variant FTO GG/MC4R CC ($\Delta -3,9 \pm 1,3$ BMI jednotky), oproti nositelům variant FTO TT/MC4R TT, kteří vykazují nejnižší BMI pokles ($\Delta -2,1 \pm 0,6$ BMI jednotky). Nicméně tito nositelé byli pouze 4, oproti 43 jedincům s variantou FTO TT/MC4R TT, a rozdíl zůstává tedy statisticky nevýznamný.

Rozšíření analýzy genotypu kombinací ukazuje, že nositelé alespoň jednoho rizikového genotypu ($n = 98$) buď v FTO (GG), nebo MC4R (CC) snížili hmotnost

Tab. 2. Rozdělení jednotlivých genotypů a jejich kombinací

		N (%)	MC4R					
			CC		CT		TT	
			N	%	N	%	N	%
			21	6,0	144	41,3	184	52,7
FTO	GG	87 (24,9)	4	1,2	34	9,7	49	14,0
	GT	182 (52,1)	11	3,2	79	22,6	92	26,4
	TT	80 (22,9)	6	1,7	31	8,9	43	12,3

($\Delta -6,7 \pm 2,2$ kg) a BMI ($\Delta -2,5 \pm 0,7$ jednotek) efektivněji ($p = 0,0009$ pro BMI a $p = 0,002$ pro tělesnou hmotnost) než pacienti bez přítomnosti těchto variant ($N = 231$; hmotnost $\Delta -5,9 \pm 2,1$ kg, BMI $\Delta -2,2 \pm 0,7$ jednotek). Výsledky jsou zobrazeny v tab. 2.

Diskuse

Pokles váhy, BMI, obvodů a kožních řas je očekávaným výsledkem redukčních pobytů dětí. Ač nebyla prováděna standardní doporučená antropometrická měření (4–7 antropometrických bodů, antropometrie nebyla dominantním cílem našeho projektu), bylo dosaženo statisticky významných výsledků. Parciálně očekávatelný byl statisticky významný pokles ať systolického, tak diastolického krevního tlaku a tepové frekvence. Výsledek je samozřejmě možno zpochybnit jednak nepřesností měření, ale zejména suspektním poklesem nervozity a strachu dětí z prováděných měření (při 2. měření již znaly prováděné procedury a vyšetřující kolektiv).

Pokles inzulínu je velmi pravděpodobně dán poklesem inzulínové rezistence související s redukcí váhy dětí, ač na hladinu glykémie redukce váhy neměla vliv.

Pokles cholesterolemie a triglyceridemie byl dán dietní intervencí v jídelníčku dětí. I přes intenzivní pohybovou aktivitu nelze v takto krátkém časovém období očekávat statisticky významný vzestup HDL-cholesterolu, ba dokonce v našem souboru došlo ke statisticky významnému poklesu. Tento efekt byl pravděpodobně dán poklesem celkové cholesterolemie v krátkém čase po dietní intervenci. K vzestupu HDL-cholesterolu by bylo zapotřebí delší časové období pohybové intervence. Pokles GGT, jako nepřímého ukazatele jaterní steatózy, by mohl být ukazatel redukce vývoje hepatosteatózy.

Při sledování poklesu tělesné hmotnosti byly zjištěny velké interindividuální rozdíly. Dokumentovali jsme důležitou roli v odpovědi vliv FTO a MC4R variant. Předchozí intervenční studie FTO rs1717817449 a MC4R rs17782313 polymorfismy byly zaměřeny hlavně na dospělou populaci.

V případě varianty FTO, jejichž výsledky nejsou zcela konzistentní a většině z nich se nepodařilo odhalit důležitou roli variant FTO. Proto naše studie jako první prokazuje důležitou roli vlivů polymorfismů FTO při změně BMI po intervenčním programu. V naší studii byly děti za relativně krátké časové období téměř izolovány v lázeňských zařízeních a množství fyzické aktivity bylo mnohem vyšší než v jiných studiích.

Z předchozích studií [7] je známo, že účinek varianty FTO na BMI je podobný bez ohledu na výchozí hodnotu BMI – každá „riskantní“ alela je spojena s 1,5–2 kg zvýšením tělesné hmotnosti. Prokázali jsme, že nosiči rizikové alely dokáží lépe reagovat na intervence životního stylu a současně negativní genetická predispozice může být překonána intenzivní změnou životního stylu.

Naše výsledky naznačují, že varianty rs17817449 polymorfismu v genu FTO a rs17782313 v genu MC4R mají potenciál výrazně ovlivnit tělesnou reakci na provádění pravidelné fyzické aktivity při optimalizovaném energetickém příjmu u dětí jak individuálně, tak v interakci. Respondenti diagnostikovaní na základě FTO a MC4R genotypů budou potřebovat intenzivnější nebo delší terapii k dosažení stejného účinku.

Podpořeno grantovým projektem IGA: NT 14152–3/2013.

Literatura

1. Zlatohlávek L, Urbanová Z, Vrablík M et al. Sledování faktorů ateriosklerózy u obézních dětí. Čes-Slov Pediat 2011; 66(3): 153–156.
2. Šamánek M, Urbanová Z Výskyt nadváhy a obezity u 7 427 českých dětí vyšetřených v roce 2006. Čes-Slov Pediat 2008; 63(3): 120–126.
3. Hubacek JA, Pikhart H, Peasey A et al. FTO variant, energy intake, physical activity and basal metabolic rate in Caucasians. The HAPIEE study. Physiol Res 2011; 60(1): 175–183.
4. Haupt A Impact of variation near MC4R on whole-body fat distribution, liver fat, and weight loss. Obesity (Silver Spring) 2009; 17(10): 1942–1945.
5. Loos RJ, Lindgren CM, Li S et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. Nat Genet 2008; 40(6): 768–765.
6. Hubacek JA, Pitha J, Adamkova V et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index in males and postmenopausal females but not in premenopausal females. Czech post-MONICA and 3PMFs studies. Clin Chem Lab Med 2009; 47(4): 387–390.
7. Dlouhá D, Suchánek P, Lánská V et al. Body mass index change in females after short-time life style intervention is not dependent on the FTO polymorphisms. Physiol Res 2011; 60(1): 199–202.

MUDr. Lukáš Zlatohlávek, Ph.D.

✉ lukas.zlatohlavek@lf1.cuni.cz

III. interní klinika 1- LF UK a VFN, Praha
www.vfn.cz

Doručeno do redakce 31. 8. 2014

Přijato po recenzi 1. 10. 2014