

Zdeněk Zadák, Jaroslav Květina et al.

METODOLOGIE PŘEDKLINICKÉHO A KLINICKÉHO VÝZKUMU

v metabolismu, výživě, imunologii
a farmakologii



Galén

Upozornění

Všechna práva vyhrazena.

Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele.

Neoprávněné užití této knihy bude trestně stíháno.

Galén

Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5

www.galen.cz

© Galén, 2012

Děkujeme za podporu publikace firmám:



Zdeněk Zadák, Jaroslav Květina et al.

METODOLOGIE PŘEDKLINICKÉHO A KLINICKÉHO VÝZKUMU

**v metabolismu, výživě, imunologii
a farmakologii**

GALÉN

Hlavní autoři a pořadatele

prof. MUDr. Zdeněk Zadák, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice, Hradec Králové,
Centrum pro výzkum a vývoj, Klinika gerontologická a metabolická

prof. RNDr. Jaroslav Květina, DrSc., dr. h. c.

Ústav experimentální biofarmacie, společné pracoviště Akademie věd ČR a PRO.MED.CS Praha a.s.,
Hradec Králové;

Veterinární a farmaceutická univerzita, Farmaceutická fakulta, Brno, Ústav humánní farmakologie
a toxikologie

Recenzenti

prof. MUDr. Michal Anděl, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady,
Praha, II. interní klinika

prof. MUDr. František Perlík, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha,
Farmakologický ústav

prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Klinika nefrologie

Zdeněk Zadák, Jaroslav Květina et al.

**METODOLOGIE PŘEDKLINICKÉHO A KLINICKÉHO VÝZKUMU
V METABOLISMU, VÝŽIVĚ, IMUNOLOGII A FARMAKOLOGII**

První vydání v elektronické verzi

Vydalo nakladatelství Galén, Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5

Editor PhDr. Lubomír Houdek

Šéfredaktorka PhDr. Soňa Dernerová

Redakční spolupráce Mgr. Michaela Naňková

Sazba Petra Veverková, DTP Galén

Určeno odborné veřejnosti

G 301021


www.galen.cz

Kniha vznikla za podpory Výzkumného záměru Fakultní nemocnice Hradec Králové MZO 00179906,
grantu MPO FI-IM5/098, grantu IGA MZ ČR NS 10528-3, grantu GAČR 305/08/0535.

Všechna práva vyhrazena.

Tato publikace ani žádná její část nesmí být reprodukovány, uchovávány v rešeršním systému
nebo přenášeny jakýmkoli způsobem (včetně mechanického, elektronického,
fotografického či jiného záznamu) bez písemného souhlasu nakladatelství.

© Galén, 2011

ISBN 978-80-7262-855-1 (PDF)

ISBN 978-80-7262-856-8 (PDF pro čtečky)

Autorský kolektiv

Hlavní autoři a pořadatelé

prof. MUDr. Zdeněk Zadák, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice, Hradec Králové,
Centrum pro výzkum a vývoj, Klinika gerontologická a metabolická

prof. RNDr. Jaroslav Květina, DrSc., dr. h. c.

Ústav experimentální biofarmacie, společné pracoviště Akademie věd ČR
a PRO.MED.CS Praha a.s., Hradec Králové;

Veterinární a farmaceutická univerzita, Farmaceutická fakulta, Brno, Ústav humánní
farmakologie a toxikologie

Spoluautoři

doc. RNDr. Ctirad Andrýs, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice,
Hradec Králové, Ústav klinické
imunologie a alergologie

doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

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

Olga Bukačová

Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta v Hradci Králové,
Lékařská knihovna

MUDr. Norbert Cibiček, Ph.D.

Univerzita Palackého v Olomouci,
Ústav lékařské chemie a biochemie

PhDr. Eva Čečková

Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta v Hradci Králové,
Lékařská knihovna

prof. MUDr. Zuzana Červinková, CSc.

Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta v Hradci Králové,
Ústav fyziologie

RNDr. Zdeněk Drahota, DrSc.

Akademie věd ČR, Praha,
Fyziologický ústav

PharmDr. Miloslav Hronek, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze,
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,
Katedra biologických a lékařských věd

MUDr. Radosláv Hyšpler, Ph.D.
Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice,
Hradec Králové, Klinika gerontologická
a metabolická

Mgr. Soňa Janáčková
Fakultní nemocnice, Hradec Králové,
Centrum pro výzkum a vývoj

MUDr. Petr Kocna, Ph.D.
Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská
fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice,
Praha, Ústav klinické biochemie
a laboratorní diagnostiky

prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.
Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice,
Hradec Králové, Ústav klinické
imunologie a alergologie

prof. MUDr. Jiřina Martínková, CSc.
Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta v Hradci Králové,
Ústav farmakologie

prof. MUDr. Terezie Pelikánová, DrSc.
Institut klinické a experimentální
medicíny, Praha, Centrum diabetologie

MUDr. Stanislav Špelda
Střední odborná škola veterinární,
Hradec Králové

RNDr. Alena Tichá, Ph.D.
Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice,
Hradec Králové, Klinika gerontologická
a metabolická

MUDr. Roman Trubač
B. Braun Medical s.r.o., Praha

RNDr. Petr Žďánský, CSc.
Fakultní nemocnice, Hradec Králové,
Klinika gerontologická a metabolická

doc. MUDr. Pavel Živný, CSc.
Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice,
Hradec Králové, Ústav klinické
biochemie a diagnostiky

Recenzenti

prof. MUDr. Michal Anděl, CSc.
Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Královské
Vinohrady, Praha, II. interní klinika

prof. MUDr. František Perlík, DrSc.
Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice,
Praha, Farmakologický ústav

prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.
Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Klinika nefrologie

Předmluva	XV
-----------------	----

I. INFORMAČNÍ ZDROJE PRO UPŘESŇOVÁNÍ VÝZKUMNÉ HYPOTÉZY A VÝZKUMNÉHO PROJEKTU

1. Knihovnické služby a informační zdroje.....	2
Eva Čečková, Olga Bukačová, Soňa Janáčková	
1.1. Služby knihoven	2
1.2. Informační zdroje	3
1.2.1. Informační prameny primární	3
1.2.2. Informační prameny sekundární – bibliografie, rejstříky, katalogy, databáze	3
1.2.2.1. Elektronické informační zdroje	4
1.2.2.2. E-knihy	4
1.2.2.3. Databáze	5
1.3. Impakt faktor, citační index a Hirschův index	6
1.3.1. Impakt faktor	6
1.3.1.1. Kde a jak hledat impakt faktor	6
1.3.2. Citační index	7
1.3.2.1. Kde a jak hledat citovanost	8
1.3.3. Hirschův index	8
1.3.3.1. Kde a jak hledat Hirschův index	9
1.4. Jak citovat	9
1.5. Tvorba rešerší	10
1.6. Přehled nejužívanějších databází v lékařství	12

II. ETICKO-MORÁLNÍ ZÁSADY V BIOMEDICÍNSKÝCH VÝZKUMECH

2. Principy vědeckosti a vědecké etiky v biomedicínském výzkumu	16
Jaroslav Květina	
3. Etické aspekty klinického výzkumu	20
Petr Žďánský	
4. Legislativní předpoklady provádění klinických hodnocení léčiv	30
Roman Trubač	

5.	Podmínky experimentů využívajících animální modely	39
	Stanislav Špelda	
5.1.	Experimentální modely	40
5.2.	Animální modely	41
5.3.	Právní normy ve vztahu k ochraně pokusných a laboratorních zvířat	45
5.4.	Realizační podmínky pro použití zvířat v experimentální práci	48
5.5.	Kontrolní instituce	51
III. VYBRANÉ METODOLOGIE PRO PŘEDKLINICKÉ VÝZKUMNÉ FÁZE A JEJICH KLINICKO-VÝZKUMNÉ APLIKACE		
6.	Molekulární biologie v biomedicínském výzkumu	54
	Martin Beránek	
6.1.	Analytické přístupy používané k izolaci nukleových kyselin	55
6.2.	Amplifikační metody pro DNA analýzu <i>in vitro</i>	57
6.3.	Elektroforéza nukleových kyselin	62
6.4.	Hybridizace nukleových kyselin se specifickou sondou	63
6.5.	Analýza polymorfismu délky restričních fragmentů	64
6.6.	Klonování DNA	65
6.7.	Sekvenování DNA	66
6.8.	Projekt Lidský genom	68
6.9.	Studium exprese genů	68
6.10.	Studium interakcí mezi DNA a proteiny	70
6.11.	Geneticky modifikované organismy	70
6.12.	Klonování organismů	71
6.13.	Genová terapie	72
6.14.	Význam molekulární biologie pro současný biomedicínský výzkum a zdravotnictví	73
6.15.	Specifické rysy biomedicínského výzkumu v oblasti molekulární biologie ...	74
6.16.	Etické problémy molekulární biologie v biomedicínském výzkumu	75
7.	Využití izotopů biogenních prvků v metabolickém výzkumu	77
	Radomír Hyšpler	
7.1.	Izotopy vodíku	78
7.2.	Izotopy uhlíku	79
7.3.	Izotopy kyslíku, dusíku, fosforu a síry	79
7.4.	Rozdíly, výhody a nevýhody využití stabilních a radioaktivních izotopů	80
7.5.	Analytika stabilních a radioaktivních izotopů	81
7.6.	Bezpečnost stabilních izotopů	83
7.7.	Výpočty v tracerových studiích	84
7.8.	Základní metodologické dělení tracerových studií	84
7.9.	Vyšetřovací metody založené na poměru $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ve vydechaném vzduchu	85

8.	Metody měření buněčného dýchání, hodnocení funkce mitochondrií	89
	Zuzana Červinková, Zdeněk Drahota	
8.1.	Struktura a funkce mitochondrií	89
8.2.	Oxygrafické hodnocení mitochondriálního systému oxidativní fosforylace	91
8.3.	Měření spotřeby kyslíku oxygrafem OROBOROS	93
8.4.	Respirace izolovaných buněk inkubovaných v extracelulárním a intracelulárním médiu	94
8.5.	Respirace izolovaných hepatocytů permeabilizovaných digitoninem	97
9.	Mikrodialýza a její využití v experimentálním a klinickém výzkumu	100
	Norbert Cibiček, Pavel Živný	
9.1.	Historie mikrodialýzy	100
9.2.	Princip mikrodialyzační techniky	101
9.3.	Složky mikrodialyzačního systému	103
9.4.	Výhody a omezení mikrodialýzy	105
9.5.	Metodologické aspekty mikrodialýzy	107
9.5.1.	Sonda (geometrie, materiály, povrch)	107
9.5.2.	Perfúzní médium (složení, teplota, rychlost průtoku)	107
9.5.3.	Trubicový systém (interakce s analyty, průsvit, délka, hydrostatický tlak)	108
9.5.4.	Tkáňové poškození	108
9.5.5.	Analytické podmínky	109
9.5.6.	Výtěžek sondy	109
9.5.6.1.	Definice (absolutní, relativní, <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i>)	109
9.5.6.2.	Faktory ovlivňující výtěžek	110
9.5.6.3.	Metody kalkulace výtěžku (a intersticiálních koncentrací látek) <i>in vivo</i>	112
9.5.7.	Statistická analýza dat	114
9.6.	Využití mikrodialýzy v základním a klinickém výzkumu	115
9.6.1.	Obecné aplikace	115
9.6.1.1.	Transmembránové procesy	115
9.6.1.2.	Metabolismus (a účinek látek) ve tkáni	115
9.6.1.3.	Krevní průtok ve tkáni (mikrocirkulace)	116
9.6.2.	Orgánové aplikace	116
9.6.2.1.	Mozek	116
9.6.2.2.	Kosterní sval a myokard	117
9.6.2.3.	Gastrointestinální trakt	118
9.6.2.4.	Tuková tkáň	119
9.6.2.5.	Plice	119
9.6.2.6.	Krev	119
9.6.2.7.	Ledvina	120
9.6.2.8.	Kůže	120
9.6.2.9.	Kost	120
9.6.2.10.	Oko	121
9.6.2.11.	Nádory	121
9.6.2.12.	Mléčná žláza a další tkáně	121
9.7.	Závěr	121

10. Analýza dechu v experimentálním a klinickém výzkumu	123
Alena Tichá, Petr Kocna	
10.1. Přehled metod využívajících analýzu vydechaného vzduchu	123
10.2. Problematika odběru vzorku vydechaného vzduchu	124
10.2.1. Vzorkování vydechaných plynů	124
10.2.2. Odběr a uchování vzorku	125
10.2.3. Odběr vydechaného vzduchu za použití odběrových vaků	126
10.3. Analytické přístroje užívané při dechových testech obecně	126
10.4. Jednotlivé metody a jejich vlastnosti a analytická instrumentace	129
10.4.1. Stanovení vodíku ve vydechaném vzduchu	129
10.4.2. Stanovení methanu ve vydechaném vzduchu	130
10.4.3. Stanovení isoprenu ve vydechaném vzduchu	134
10.4.4. Dechové testy se substrátem značeným ¹³ C	138
10.5. Obecná úskalí při interpretaci výsledků dechových testů	141
11. Hodnocení kvality rostlinných bílkovin v experimentálním zvířecím modelu	142
Alena Tichá, Radomír Hyšpler	
11.1. Význam biologické hodnoty proteinů	142
11.2. Dusíková bilance	145
11.3. Stanovení nutriční kvality proteinů experimentálně	145
11.3.1. Příklad protokolu experimentu	146
11.3.2. Popis experimentu	146
11.3.3. Časový rozvrh experimentu a odběry biologického materiálu	146
11.3.4. Vyhodnocení experimentu a závěr	148
12. Předklinické fáze lékových výzkumů	152
Jaroslav Květina	
12.1. Principy a zdroje farmakoterapeutických inovací	152
12.2. Farmakologické předklinické testy	156
12.2.1. Výzkum léčiva v léčebné praxi dosud zcela nepoužitého	157
12.2.2. Výzkum lékové kopie (lékového generika)	157

IV. VYBRANÉ METODOLOGIE PRO KLINICKÉ STUDIE

13. Přehled základních metod a metodických přístupů používaných v klinicko-farmakologickém výzkumu	184
Jiřina Martínková	
13.1. Metody a metodické přístupy používané v etapách předregistračních a poregistračních	184
13.1.1. Charakteristika etap	184
13.1.2. Metody a metodické přístupy klinicko-farmakologických etap předregistračních a poregistračních	190
13.1.2.1. Volba dávky a dávkovacího režimu k navození žádoucího terapeutického účinku a bezpečnosti využití léčivého přípravku	190
13.1.2.2. Metody hodnocení odpovědi na podání léčiva	192
13.1.2.3. Interindividuální variabilita v odpovědi	194

13.1.2.4. Biomarkery, jejich vývoj a využití	197
13.1.2.5. Nežádoucí účinek. Metody hodnocení a evidence	199
13.1.2.6. Genetický polymorfismus. Genotyp, fenotyp	200
13.2. Metody k individualizaci farmakoterapie	204
13.2.1. Metoda nomogramů	204
13.2.2. Terapeutické monitorování	204
13.3. Metody k vyhodnocení celospolečenského významu léčiva	206
13.4. Specifické metody klinického hodnocení	207
13.5. Informace o léčivu (viz též kap. 4)	208
13.6. Nové směry interdisciplinárního vývoje farmakologických metod v klinice ...	208

14. Imunologické metody v klinickém výzkumu	211
--	------------

Otárad Andrýs, Jan Krejsek

14.1. Buňkami zprostředkovaná imunita	211
14.1.1. Buněčný substrát imunitní odpovědi	211
14.1.2. Izolace buněčných populací	212
14.1.2.1. Gradientové izolace	212
14.1.2.2. Imunomagnetická separace buněk	213
14.1.2.3. Separace buněk pomocí průtokové cytometrie	213
14.1.3. Identifikace buněčných populací – cytoimunofluorometrie	214
14.1.3.1. Monoklonální protilátky, CD klasifikace a imunofluorescenční techniky	214
14.1.3.2. Průtoková cytometrie – principy fungování	214
14.1.3.3. Průtoková cytometrie – aplikace	216
14.2. Kultivace buněk imunitního systému	218
14.2.1. Základní charakteristika kultivačních metod <i>in vitro</i>	218
14.3. Stanovení solubilních markerů souvisejících s imunitním systémem	219
14.3.1. Metoda ELISA	219
14.3.2. Multiplexové analýzy	220
14.3.2.1. Metoda proteinových (antibody) arrays	221
14.3.2.2. Metoda založená na luminex technologii	222
14.3.3. ELISPOT analýza	223
14.4. Proteomika	223

V. VÝBĚR VÝZKUMNÝCH METOD V METABOLISMU A VÝŽIVĚ

15. Obecné přístupy k výzkumu v metabolismu a výživě	228
---	------------

Zdeněk Zadák

15.1. Studie <i>in vitro</i> a animální <i>in vivo</i> v metabolismu a výživě	228
15.2. Studie <i>in vitro</i> v metabolismu a výživě	228
15.3. Modely v metabolismu a výživě <i>in vivo</i>	229
15.4. Použití experimentálních diet v metabolismu a výživě <i>in vivo</i>	230
15.5. Výživové studie u člověka	230
15.6. Epidemiologické nutriční studie	231

16. Metody měření složení těla v nutričním výzkumu	235
Zdeněk Zadák	
16.1. Složení lidského těla na úrovni molekul a makromolekul	236
16.2. Metody měření skladby těla	237
16.3. Měření netukové a tukové hmoty těla pomocí stanovení celotělového draslíku	239
16.4. Využití zobrazovacích metod a bioimpedance ke stanovení skladby těla	240
16.4.1. Duální rentgenová absorpce	240
16.4.2. Výpočetní tomografie a magnetická rezonance	241
16.5. Stanovení skladby těla pomocí bioelektrické impedance	241
16.6. Biochemické a metabolické metody měření svalové hmoty	243
16.6.1. Stanovení svalové hmoty pomocí exkrece kreatininu	243
16.6.2. Určení množství svalové hmoty stanovením methylhistidinu v moči	243
17. Antropometrické metody a jejich využití ke stanovení složení těla	244
Miloslav Hronek	
17.1. Tělesná výška	244
17.2. Tělesná hmotnost	245
17.3. Hmotnostně-výškové indexy	245
17.3.1. Body mass index – index tělesné hmotnosti	245
17.3.2. Brockův index	246
17.3.3. Rohrerův index	247
17.3.4. Verdocův index	247
17.3.5. Pignetův-Varvaekův index	247
17.3.6. Ponderální index	247
17.4. Množství tělesného tuku	248
17.4.1. Stanovení množství tuku měřením tloušťky kožních řas – kaliperací	248
17.4.2. Stanovení množství tuku kaliperací na více místech na těle	249
17.4.3. Stanovení množství tuku kaliperací na třech místech na těle	250
17.5. Zhodnocení stupně malnutrice měřením tloušťky kožní řasy <i>m. triceps brachii</i>	251
17.6. Hodnocení rozložení tělesného tuku	251
17.7. Typ obezity	252
17.8. Poměr pas/boky	252
17.9. Poměr pas/stehno	252
17.10. Střední obvod svalstva paže	253
17.11. Stanovení vrstvy podkožního tuku na principu infračervené detekce	253
17.12. Stanovení vrstvy podkožního tuku ultrazvukem	253
18. Stanovení potřeby energie	255
Miloslav Hronek, Zdeněk Zadák	
18.1. Metody měření energetické potřeby	256
18.1.1. Přímá kalorimetrie	256
18.1.2. Nepřímá kalorimetrie	256
18.1.3. Výpočet klidového energetického výdeje	262
18.1.4. Výpočet utilizace nutričních substrátů	263
18.1.5. Zásady měření bazálního energetického výdeje nepřímou kalorimetrií	264

18.1.6. Základní zásady měření klidového energetického výdeje	265
18.1.7. Izotopové zásady měření energetické potřeby	268

19. Stanovení potřeby aminokyselin a bílkovin	270
---	-----

Zdeněk Zadák

19.1. Stanovení bílkovinné (dusíkové) bilance	270
19.2. Kreatinin-výškový index a stanovení 3-methylhistidinu	271
19.3. Hodnocení biologické hodnoty proteinů	273
19.4. Definice a stanovení potřeby esenciálních aminokyselin	273
19.4.1. Metody stanovení množství esenciálních aminokyselin	273
19.4.2. Izotopové techniky	274

20. Metody měření příjmu potravy v klinickém experimentu	275
--	-----

Miloslav Hronek

20.1. Přímé měření příjmu potravy	275
20.2. Záznamové metody	276
20.3. Metoda dvojitých porcí	276
20.4. Metoda definované stravy	276
20.5. Záznam příjmu potravy vážením	277
20.6. Metoda semikvantativního odhadu nutričního příjmu	277
20.7. Anamnestické metody	279
20.8. 24hodinový záznam	280
20.9. Frekvenční nutriční anamnéza	280
20.10. Výživová anamnéza	281
20.11. Hodnocení chuťové preference	281

21. Metabolické funkční testy	283
-------------------------------------	-----

Terezie Pelikánová, Zdeněk Zadák

21.1. Glykemický CLAMP	283
------------------------------	-----

Terezie Pelikánová

21.1.1. Hyperinzulinový euglykemický clamp a hyperinzulinový izoglykemický clamp	284
21.1.1.1. Princip a provedení obecně	284
21.1.1.2. Technický postup	284
21.1.1.3. Hodnocení	289
21.1.1.4. Interpretace výsledků a zdroje chyb	290
21.1.2. Modifikovaný inzulinový eu/IZOglykemický clamp	291
21.1.3. Hyperglykemický clamp	292
21.1.3.1. Princip a provedení obecně	292
21.1.3.2. Technický postup	292
21.1.3.3. Hodnocení	293
21.1.4. Hypoglykemický clamp	293
21.1.4.1. Princip a provedení obecně	293
21.1.4.2. Technický postup	294
21.1.4.3. Praktický postup	294
21.1.4.4. Hodnocení	295
21.1.5. Nevýhody a rizika clampových technik	295

21.1.6. Využití clampových technik	296
21.2. Metody stanovení inzulínové senzitivity/rezistence	297
21.2.1. Inzulínová senzitivita/rezistence	297
21.2.2. Metody měření inzulínové senzitivity/rezistence	299
21.2.2.1. Hyperinzulínový eu/IZOglykemický clamp	299
21.2.2.2. Minimální model FSIGT a modifikovaný FSIGT	299
21.2.2.3. Index podle Matsudy	301
21.2.2.4. Homeostasis model assessment	302
21.2.2.5. Index Quicki	303
21.2.2.6. Continuous Infusion of Glucose with Model Assessment	304
21.2.2.7. Inzulín senzitivní test	304
21.2.2.8. Zkrácený inzulínový toleranční test	305
21.2.2.9. Další způsoby testování	305
21.3. Technika triglyceridemického clampu	307
Zdeněk Zadák	
21.3.1. Mechanismus začlenění tuků a partikulí tukové emulze bohatých na triglyceridy do metabolických procesů	307
21.3.2. Metoda provedení triglyceridemického clampu	309
21.3.3. Praktické provedení triglyceridemického clampu	310
22. Nové směry ve výzkumu metabolismu a výživy	312
Zdeněk Zadák	
22.1. Transkriptomika ve výživě	312
22.2. Proteomika v nutričním výzkumu	314
22.3. Metabolom v nutričním výzkumu	315
22.4. Lipidom ve výzkumu výživy	315
Zkratky	317
Rejstřík	325

Předmluva


Výzkum je slovem skloňovaným ve všech pádech, výrazech i významech. Je slovem zaklínacím pro mnohé aktivity, je slovem ovlivňujícím dnešní svět, je slovem slavným, nezbytným, oslavovaným, ale je i slovem zneužívaným, je slovem zatracovaným. Dnešní svět bez výzkumu jako by neexistoval. Platí to v makroekonomice i mikroekonomice, platí to samozřejmě i ve vysokém školství, platí to v medicíně a samozřejmě to vše platí také v České republice. Na kvalitních vysokých školách stoupá počet výzkumných pracovníků, daleko častěji ale počet těch, kteří se výzkumu věnují při své „normální práci“. Výkonnými pracovníky se pak mnohdy stávají studenti a studentky doktorských studijních programů. Je to dobře – mladší přicházejí s neotřelými myšlenkami a nápady, elánem a chutí do práce i do experimentu. Totéž platí v klinické medicíně – jen málo klinických lékařů si může najít dostatek času na výzkumné aktivity. O to více je potřeba si výzkumnou roli dobře připravit, přistupovat k plánování s hlubokou znalostí nejen teorie řešeného problému, ale i se znalostí výzkumného „řemesla“. To se často podceňuje a zvláště mladší, nezkušení kolegové nebo naopak někteří „rutiněři“ mají tendenci přistupovat k plánování výzkumu sice s dobrými odbornými předpoklady, ale malou znalostí metodik a vhodných postupů. Je to jistě částečně podmíněno i tím, že chybí souhrnný, ucelený a přehledný materiál, který by všem – zkušeným i začínajícím – poskytl souhrnnou informaci.

Kniha profesorů Zadáka a Květiny a jejich spoluautorů je v tomto smyslu v českém písemnictví ojedinělá. Troufnu si říci, že je unikátní nejen svou myšlenkou, ale i provedením a vytvořením souboru, který vychází z dlouholetých zkušeností všech autorů. Zkušeností, které se navíc opakovaně prokazatelně osvědčily a potvrdily významnými vědeckými úspěchy a získanými (a úspěšně řešenými) granty. Je určena všem, kteří o výzkumu uvažují, ale i těm, kteří ve výzkumu pracují. Prvním může ušetřit řadu omylů a počátečních neúspěchů, druhým pomůže rozšířit obzory i o metody, které nejsou zcela běžné či obecně ve výzkumu používané. Určitě je prospěšná a v dnešní době, volající po exaktnosti ve vědeckém životě, je nesmírně potřebná.

Přečetl jsem si knihu se zájmem a dlouho jsem váhal, zda mám některou z kapitol označit jako zvláště významnou či zvláště dobře připravenou. Nešlo to. Všechny jsou dobré, všechny přinášejí podstatné a dobře utříděné informace, všechny jsou zajímavé a všechny jsou potřebné. Poučil jsem se. Poučte se také.

„Není nic hloupějšího než předpokládat,
že počet vědeckých publikací je mírou talentu
a užitečnosti vědce“.

(John Bernal)



INFORMAČNÍ ZDROJE PRO UPŘESŇOVÁNÍ VÝZKUMNÉ HYPOTÉZY A VÝZKUMNÉHO PROJEKTU

„Knihovníci rádi vyhledávají.
Všichni ostatní rádi nacházejí.“
(Roy Tennant)

1. Knihovnické služby a informační zdroje

Eva Čečková, Olga Bukačová, Soňa Janáčková

Poznatky lidského vědění se shromažďují už od dávných dob v knihovnách. První doložená knihovna existovala již ve starověku. Pro snazší orientaci v množství knih v knihovnách vznikaly různé pořádací systémy, které se postupně během let neustále vyvíjely. V posledních dvaceti letech se s nárůstem vědeckých informací a nástupem nových informačních technologií práce v knihovnách naprosto změnila, ruční zpracování a vyhledávání literatury a informací nahradilo zpracování a vyhledávání elektronické. Vznikly nové moderní zdroje informací a nové databázové systémy, které se neustále vyvíjejí. Informace se stávají zbožím a neustále se zvyšuje i jejich cena. Vysoká cena informačních zdrojů nutí knihovny ke spolupráci a sdružování při nákupu těchto velmi drahých informací. Je tedy velmi důležité seznámit se s tím, jak tyto zdroje informací nejlépe používat a využívat.

V zájmu čtenářů, uživatelů i knihovníků a informačních pracovníků je rychlé získávání relevantních, finančně dostupných informací z klasických informačních zdrojů (knihy a časopisy), ale i z moderních informačních zdrojů (databáze, elektronické plno-textové časopisy, CD-ROMy). Pro uživatele informací a čtenáře knihoven je výhodné využít odborné služby, které knihovny nabízejí. Jejich cílem je poskytnutí kvalitních informačních zdrojů pro studium, vědu i výzkum.

1.1. Služby knihoven

a) výpůjční služby

- prezenční – informační zdroje je možné využívat v prostorách knihoven;
- absenční – některé informační zdroje je možné si vypůjčit na určitou dobu i mimo prostory knihovny;
- meziknihovní (meziknihovní výpůjční služba a mezinárodní meziknihovní výpůjční služba) – prostřednictvím knihovny je možné získat dokument, který knihovna nevlastní. Knihovna jej objedná v jiné knihovně v ČR nebo v zahraničí. Za meziknihovní výpůjčky, zejména zahraniční, se zpravidla platí. Cirkulace časopisů – knihovna, která nevlastní určitý časopis, může požádat jinou knihovnu

o pravidelné posílání časopisů poštou nebo o posílání obsahů časopisů a následné posílání kopií článků;

- b) rešeršní služby – prostřednictvím knihovny je možné získat rešerše z vlastních zdrojů, katalogu, soupisu publikační činnosti, ale i ze zakoupených databází bibliografických i faktografických;
- c) reprografické služby – tyto služby knihovny jsou placené. Je možné získat kopie článků i technické zpracování autoreferátů;
- d) bibliograficko-informační služby – knihovníci poskytují informace o knihách, časopisech, pokynech pro autory, pořádají školení uživatelů atd.

Knihovny se organizují do jednotlivých sítí. Kromě sítě veřejných, studijních a vědeckých knihoven fungují i další sítě odborných knihoven. Je to například síť zdravotnických knihoven, síť vysokoškolských knihoven a knihoven jednotlivých univerzit. Tyto sítě knihoven mají své ústřední knihovny, které se starají o společný nákup databází, budují souborné katalogy a zajišťují další odborné služby. V souborných katalogích lze získat informace o literatuře, která je v těchto knihovnách dostupná. Prostřednictvím internetu je možné se dostat i do katalogů velkých zahraničních knihoven a získat tak informace o knihách, které jsou v jejich fondech.

Příklady našich souborných katalogů:

Souborný katalog Národní knihovny – <http://www.nkp.cz/>

Souborný katalog Národní lékařské knihovny – <http://www.nlk.cz/nlkcz/>

Souborný katalog Univerzity Karlovy – <http://ckis.cuni.cz>

1.2. Informační zdroje

Uživatelé knihoven a potenciální autoři by se měli seznámit s typy dokumentů, které jsou důležité pro jejich vědeckou a publikační činnost.

1.2.1. Informační prameny primární

- a) periodické zdroje: časopisy, periodika, seriály, noviny (mají ISSN – International Standard Serial Number);
- b) neperiodické zdroje: knihy, monografie, učebnice, příručky, sborníky (mají ISBN – International Standard Book Number);
- c) nestandardní literatura – diplomové, doktorské a habilitační práce, firemní literatura.

1.2.2. Informační prameny sekundární – bibliografie, rejstříky, katalogy, databáze

Zejména pro publikační činnost je důležité rozlišovat typy dokumentů publikovaných v časopisech:

- a) **původní článek** (original paper/article) – článek obsahuje původní, nové, dosud nepublikované informace. Uvádí reference, tj. soupis pramenů, o něž se práce opírá nebo z nichž autor vychází.
Obsah původního článku je obvykle členěn do jednotlivých doporučených částí uvedených v Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (viz použitá literatura):
1. titul, autorství, instituce a oddělení, adresa pro korespondenci, 2. abstrakt a klíčová slova, 3. úvod, 4. metody a materiál, 5. etika, 6. statistiky, 7. výsledky, 8. diskuse, 9. reference (literatura);
- b) **přehledový článek** (review) – shrnuje dosavadní znalosti o tématu. Čerpá z dříve publikovaných zdrojů, proto jsou v tomto typu článku důležité reference, kterých je obvykle větší množství (25 a více). Přehledové články slouží k rychlé orientaci v problematice, časopisy s těmito články jsou obvykle často citovány;
- c) **dopis redakci** (letter to editor) – slouží k rychlé výměně názorů na publikovanou problematiku. Obsahují komentáře, doplňující údaje a zkušenosti odborníků, může navazovat vyjádření autora původního textu. Uveřejnění dopisu v prestižním časopise se svojí hodnotou může rovnat krátkému sdělení a je projevem odbornosti přispěvatele.

Dalšími typy dokumentů, se kterými se v odborných časopisech setkáváme, jsou: předběžná sdělení (preliminary communication), krátká sdělení (short/rapid communication), souhrny (resumé), zprávy (report), recenze knih (book review) aj.

1.2.2.1. Elektronické informační zdroje

Nejmodernějším typem dokumentů jsou v současné době elektronické informační zdroje. Jejich vznik velmi úzce souvisí s rozvojem vědy a techniky v oblasti informačních technologií. Teprve po tom, co byla vyvinuta technologie elektronického záznamu a tato technologie byla dostupná většímu počtu lidí, mělo smysl uvažovat o elektronických dokumentech.

Některé dokumenty tohoto typu jsou pouze obdobou tištěných dokumentů, např. elektronické časopisy a knihy, které jsou v elektronické podobě naprosto totožné se svým tištěným vzorem.

1.2.2.2. E-knihy

Elektronické knihy, též nazývané „e-books“, umožňují kromě zobrazení textového a obrazového obsahu i navigaci. Stávají se stále populárnějším informačním zdrojem zejména v akademických institucích díky tomu, že umožňují pohodlnější práci, která u tištěných knih nepřichází v úvahu. Při práci s e-knihou oceníme možnost snadného vyhledávání částí textu, zvýrazňování nejdůležitějších částí textu, umístování záložek pro snadný návrat do určitého místa atd. Pracujeme-li s více knihami, můžeme využít snadného přechodu z určitého místa jedné knihy do určitého místa knih dalších a informace porovnávat, což v podmínkách klasické (papírové) knihy vyžaduje poměrně náročnou manipulaci.

1.2.2.3. Databáze

S nástupem moderních technologií se objevily i nové nástroje umožňující uchování informací, jejich snadnější dostupnost, třídění a hlavně vyhledávání. Jsou to databáze, které svým profesionálním zpracováním jsou jedním z nejvýznamnějších elektronických zdrojů.

Databáze je vnitřně organizovaný soubor informací, jehož struktura umožňuje rychlé vyhledávání. Databázi vytváří producent, který může, ale nemusí, být jejím provozovatelem. Producent může databázi prodat databázovému centru (Dialog, STN International, Ovid, apod.). Databázové centrum nakoupí několik databází a ty pak zpřístupňuje většinou všechny za jeden poplatek, což přináší výhodu pro uživatele. Databázové centrum je komerční organizace, a proto za přístup do jejich databází musíme platit. Kromě poplatku za přístup se lze setkat i s poplatky za čas strávený vyhledáváním v databázi a za tiskové výstupy, či výstupy zaslané na e-mail.

Dle obsahu dělíme databáze na všeobecné, specializované (vzácné tisky; patenty – SIGLE, WPI, EPO apod.), oborové (přírodní vědy a medicína – MEDLINE, EMBASE, INSPEC, Chemical Abstract, společenské vědy – ERIC, PSYCINFO) a multioborové (Web of Science, PROQUEST apod.). Podle formy uchovávaných dat je dělíme na bibliografické (dokumentografické), faktografické a plnotextové.

Některé **bibliografické databáze** (např. *Medline*, *Embase*) jsou opatřeny odkazy na plné texty článků. Uživatelé, kteří si zaplatí licenci k plným textům (např. prostřednictvím bází Science Direct, SpringerLink), se prostřednictvím těchto odkazů dostanou na plný text článku.

Z bibliografické (dokumentografické) databáze získáme přesnou a úplnou citaci dokumentu, někdy i s abstraktem, což nám slouží jako podklad pro další hledání v jiných typech databází a informačních zdrojích. Tento druh databáze nám tedy neposkytne plný text dokumentu. Mezi bibliografické databáze řadíme např.: Biological Abstract, Chemical Abstract, Zoological Records.

Faktografická databáze, jak již vyplývá z názvu, obsahuje fakta. Tento typ databází se nejvíce uplatňuje v oblasti chemie a pro zpřístupňování statistických údajů. Dostaneme přesný údaj a již nemusíme dohledávat primární dokument. Např. Beilstein, Gmelin, ASM Data.

Plnotextová (fulltext) databáze zpřístupňuje uživateli primární dokument v celém rozsahu. Za poplatek je možné si ho stáhnout nebo nechat zaslat e-mailem. Plné texty časopiseckých článků obsahuje např.: Science Direct, EIFL Direct, JSTOR, Proquest.

Dalšími hodnotnými a zajímavými elektronickými zdroji mohou být katalogy knihoven, portály, oborové informační brány, www stránky. Konkrétně u www stránek je ale dobré dát si pozor, protože jsou velice problémové z hlediska věrohodnosti vystavovaných dat. Často dochází k cíleným útokům na www stránky a znehodnocování jejich obsahu. Navíc, i když se tváří profesionálně, nemáte jistotu, že uváděné informace jsou pravdivé (oproti informacím v databázích, které jsou zpracovávány a ověřovány profesionály).

1.3. Impakt faktor, citační index a Hirschův index

Při evaluaci institucí, akreditaci studijních programů, habilitačních řízeních apod. se objevují takové pojmy jako impakt faktor, citační index či nověji Hirschův index. Jde o pojmy ze scientometrie, kterými lze měřit a porovnávat výsledky vědecké práce jednotlivců i celých institucí.

1.3.1. Impakt faktor

Vědecké časopisy mají různou kvalitu a vycházejí v různých jazycích a nákladu. Podle toho jsou také sledovány různým počtem badatelů, kteří z nich čerpají informace pro svou vědeckou činnost.

Impakt faktor (Impact factor, IF) se stal nejen měřítkem kvality a důležitosti odborných časopisů, ale také předmětem debat odborné veřejnosti o jeho významu, využívání, zneužívání a nadužívání při hodnocení vědecké práce.

Impakt faktor je definován jako poměr počtu citací z určitého časopisu, které byly zaznamenány v hodnoceném roce na všechny články publikované v daném časopise za předchozí dva roky, k celkovému počtu všech těchto článků. Výsledek se uvádí na tři desetinná místa.

Příklad:

$$\text{Impakt faktor časopisu za rok 2009} = \frac{\text{Počet citací zveřejněných v roce 2009 na články vydané v letech 2007 a 2008}}{\text{Počet všech článků vydaných v roce 2007 a 2008}}$$

1.3.1.1. Kde a jak hledat impakt faktor

Journal Citation Reports (JCR) je unikátní specializovaná databáze poskytující kvantitativní nástroje pro sestavování pořadí, evaluaci a srovnání odborných časopisů. Nejdůležitějším sledovaným ukazatelem, ale samozřejmě ne jediným, je impakt faktor. JCR se dělí na dvě části: 1. JCR Science Edition – postihuje oblast přírodních věd včetně zemědělství, techniky a technologie, 2. JCR Social Sciences Edition zahrnuje tituly odborných časopisů z oblasti společenskovědních oborů. Databáze posuzuje jednotlivé tituly na základě citovanosti. Za pomoci JCR můžeme zjistit: 1. které časopisy jsou takto sledovány, 2. sledované časopisy podle oborů, země, nakladatele, 3. u jednotlivého sledovaného časopisu základní údaje o počtu článků a jak často a kým byly citovány, impakt faktor, index bezprostřední odezvy atd. Přístupná je od roku 1998.

JCR je součástí databáze Web of Knowledge (producent Thomson Reuters). Přístup je dnes možný z většiny vědeckých pracovišť, i když je placený.

Po načtení úvodní stránky Web of Knowledge zvolíme odkaz na "Journal Citation Reports". Pak se nám zobrazí tabulka o dvou sloupcích. V levém, který se nazývá "Select a JCR edition and year", vybereme buď "JCR Science Edition" nebo "JCR Social Sciences Edition" podle toho, v jaké oblasti chceme hledat, a následně nastavíme „rok“

(rozpětí je 1998–2009). Potom v pravém sloupci “Select an option” zvolíme zda chceme vyhledávat časopisy podle věcné kategorie, vydavatele nebo země původu → “View a group of journals by Subject/Category/Publisher/Country; Territory”. Také je možné přímo zvolit zadání názvu časopisu → “Search for a specific journal” nebo vybírat ze seznamu všech posuzovaných časopisů → “View all journals”. Po vyplnění klikneme na “SUBMIT”.

Pokud jsme si vybrali vyhledávání podle věcné kategorie, vydavatele, země původu nebo názvu časopisu, načte se nám další formulář, ve kterém upřesníme naše požadavky (např. oblast, ve které chceme provést vyhledávání, nebo podle kterého analytického nástroje mají být výsledky řazeny → “View Journal Data – sort by: Journal Title, Total Cites, Impact Factor, Immediacy Index, Current Articles, Cited Half-life”; “View Category Data – sort by: Category Title, Total Cites, Median Impact Factor, Total Articles” atd.). Potvrdíme je “SUBMIT”.

Zvolíme-li možnost vyhledávání podle názvu časopisu, můžeme dále volit vyhledání dle plného názvu časopisu → “Full Journal Title”, dle zkratky názvu → “Abbreviated Journal Title”, slova z názvu → “Title Word” nebo ISSN. Volbu potvrdíme pomocí “SEARCH”.

Výsledky vyhledávání se vždy zobrazí ve formě tabulky s údaji o zkratkovém názvu časopisu “Abbreviated Journal Title” (po kliknutí na zkrácený název časopisu dostaneme detailní informace o daném časopisu), ISSN, “Total Cites” (vypovídají o celkovém počtu citovaných článků v daném časopise za zvolený rok), Impakt Faktoru, “Immediacy Index” (rychlost citování článku z daného časopisu po jeho uveřejnění), “Articles” (celkový počet článků publikovaných v daném časopise za určený rok) a “Cited Half-life” (poločas citovanosti, tedy ukazatel vypovídající o tom, po kolika letech vzhledem k aktuálnímu roku se objeví 50 % všech citací na články daného časopisu v citačních rejstřících).

Velmi příjemnou maličkostí navíc je nápověda při vyhledávání dle názvu časopisu umístěná ve spodní části stránky. Ukazuje a vysvětluje, jak máme formulovat náš požadavek, aby byl úspěšně zpracován.

1.3.2. Citační index

Těž citační ohlas, citační rejstřík jednoho konkrétního odborného článku je seznam prací, které se na tento článek odkázaly. Díky tomu, že sleduje citační ohlasy jednotlivých odborných článků, je primárním zdrojem informací pro stanovení IF.

Celosvětově nejznámější a nejkompexnější citační databázi je americký produkt Web of Science. Producentem je firma Thomson Reuters.

Jinou známou citační databázi je Scopus od firmy Elsevier, který sleduje citace ve více než 16 000 titulech časopisů. Větší množství sledovaných časopisů je jen jednou z výhod. Za další výhodu lze považovat to, že ji produkuje nizozemská firma, tudíž je více zaměřena na Evropu. Také umožňuje přímo sledovat všechny citační odkazy jednotlivých článků. Pro českého uživatele je příjemné, že respektuje českou diakritiku.

1.3.2.1. Kde a jak hledat citovanost

Jak již bylo uvedeno výše, nejlépe se k hledání citovanosti hodí Web of Science. Po načtení úvodní stránky databáze zvolíme jednu ze záložek pro vyhledávání.

Vybereme-li si možnost "Search", musíme nastavit požadované databáze a časové údaje. V "Search" lze požadavek více specifikovat zadáním tématu, autora, autorské skupiny, zdrojového titulu, rokem publikování, místem publikování. Velkou výhodou je také to, že v jednotlivých polích nemusí být jen jeden termín. Navíc při použití více termínů lze uplatnit Booleovské operátory (viz níže). Zobrazené výsledky vyhledávání lze dodatečně vytřídit podle předmětové kategorie, zdrojového dokumentu, typu dokumentu, prvního autora, roku publikování.

Další možností je "Advance Search". Základní výběr databáze a času je stejný, ale další vyhledávání se liší a je vhodné spíše pro profesionály. Dotaz se zadává pomocí tagů (zkratk, které označují jednotlivé kategorie) a Booleovských operátorů. Je nutné pomocí závorek určit hierarchické vztahy a nutno říct, že formulace dotazu vyžaduje jistý cvik a zkušenosti.

Požadavek v "Cited Reference Search" se opět po výběru databáze a časové specifikaci formuluje do následujících polí: citovaný autor ("Cited Author"), citovaná práce ("Cited Work"), citovaný rok ("Cited Year").

Následně získáme přehled citovaných prací. Výsledky jsou uspořádány v tabulce. Kliknutím na "View Record" se dostaneme na podrobný záznam, kde se dozvíme název práce, autory, název časopisu, typ práce, jazyk. Pod "Cited References" se skrývá počet článků, které byly v práci citovány, samozřejmě s plným názvem, se všemi autory, zdrojovým dokumentem a dalšími údaji. V "Times Cited" zjistíme, kolikrát byl daný článek citován někým jiným (konkrétně kde, kdy a kým).

Zaškrtnutím políčka v prvním sloupci výsledkové tabulky vybereme pro nás zajímavé práce (kliknutím na "Select All" označíme všechny záznamy) a úplně vlevo dole klikneme na "Finish Search". Tím získáme přehled o tom, kdo označené práce citoval.

1.3.3. Hirschův index

Hirschův index (H-index) je nástroj pro hodnocení citovanosti autorů. Hodnotí citační aktivitu autorů na rozdíl od impakt faktoru, který hodnotí časopisy.

Index byl vytvořen kalifornským fyzikem Jorgem Hirschem. Autor má H-index roven h , jestliže h jeho publikací z celkového počtu N bylo citováno nejméně h -krát, a ostatních $N-h$ prací je citováno méně než h -krát. Konkrétně to znamená, že seznam autorových publikací se seřadí sestupně podle citovanosti. Jestliže je jeho desátá nejcitovanější práce citována desetkrát, je jeho H-index roven deseti, tzn. že každá z jeho 10 nejcitovanějších prací byla dosud citována nejméně $10\times$ a zbylé práce byly citovány méně. Absolutní vědecké špičky mají H-index vyšší než sto. Nejvyšší H-index mají ti, kteří publikují mnoho a často citovaných prací. Naopak pouze jedna práce citovaná tisíckrát vědci k vysokému H-indexu nepomůže. Podle H-indexu nelze porovnávat autory působících v citačně příliš odlišných oborech.

1.3.3.1. Kde a jak hledat Hirschův index

H-index můžeme najít jak v databázi Web of Science, tak v databázi Scopus.

V databázi Web of Science, podobně jako při hledání citací, zvolíme jednu z oborových databází, popřípadě hledáme ve všech, jak je nastaveno. Vlevo nahoře zvolíme “Search”, poté do kolonky “Author” vyplníme jméno autora s iniciálou jména (např. Novak, J*), zvolíme Search. Objeví se seznam prací zvoleného autora. Zvolíme příkaz “Create Citation Report”, objeví se složka s dvěma grafy, údaje o nalezených výsledcích, H-index a seznam prací, z kterého je nutno vyloučit cizí práce (cizí práci označíme a pomocí příkazu Go odstraníme). Je-li seznam prací umístěn na více stránkách, musíme tuto operaci opakovat na každé stránce. Výsledky můžeme tisknout, poslat e-mailem nebo zálohovat.

1.4. Jak citovat

Bibliografické citace jsou součástí každé odborné práce. Uvádí se obvykle na konci textu a jsou významným informačním zdrojem o publikovaném tématu. Umožňují dohledat původní materiály, ze kterých autor čerpal, a jsou zdrojem dalších relevantních informací. Citovat použité prameny je samozřejmou součástí autorské etiky. Seznamy použité literatury (References) také umožňují vytvářet souhrnné ukazatele (Impact Factor, H-index), které pomáhají vědeckým pracovníkům orientovat se v informačních zdrojích.

Citace musí dílo jednoznačně identifikovat, aby jej bylo možno vyhledat, např. v katalogu knihovny, časopisu atd.

V České republice se citace řídí normou ČSN ISO 690. Bibliografické citace: obsah, forma a struktura. Pro elektronické publikace platí ČSN ISO 690-2 Bibliografické citace. Část 2: Elektronické dokumenty nebo jejich části.

Struktura a příklady citací vybraných dokumentů

Monografie

Jméno autora. *Název díla*. Označení vydání. Místo vydání: Jméno nakladatele, rok vydání. ISBN.

BERÁNEK, Jan, HANZLÍČEK, David, NAJMAN, Karel. *Rentgenologie hrudníku*.

1. vyd. Brno: Noviko, 2006. ISBN 80-86542-15-7.

Kapitola v monografii

Jméno autora kapitoly. Název kapitoly. In *Název zdrojového dokumentu*. Označení vydání. Místo vydání: Jméno nakladatele, rok vydání. ISBN. Lokace ve zdrojovém dokumentu. VANIŠTA, Jiří. Vyšetření po návratu a diferenciální diagnostika. In *Základy cestovního lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, 2006. ISBN 80-7262-435-0. Kapitola 11, s. 233–258.

Příspěvek ve sborníku

Odpovědnost za příspěvek. Název příspěvku. In *Název zdrojového dokumentu*. Primární odpovědnost za zdrojový dokument. Vydání. Místo vydání: Jméno nakladatele, rok. Lokace ve zdrojovém dokumentu.

MRÁZEK, František. Souvislost vybraných genetických faktorů s predispozicí k sarkoidóze: Studie u českých pacientů. In *1. Královéhradecké lékařské postgraduální dny, 16. – 17. prosince 2004, Hradec Králové*. Hradec Králové: Astraprint, 2004. s. 144–151.

Článek v seriálové publikaci

Odpovědnost za příspěvek. Název příspěvku. *Název zdrojového dokumentu*. Rok, ročník, číslo svazku, lokace části. ISSN.

HORKÝ, K. Představuje inhibitor reninu aliskirenu nové výhledové možnosti v léčbě kardiovaskulárních onemocnění? *Vnitřní lékařství*. 2007, roč. 53, č. 4, s. 364–370. ISSN 0042-773X.

WWW stránka

Jméno autora stránky (je-li uvedeno). *Název stránky* [online]. Datum publikování, datum poslední revize [citováno dne]. <URL adresa stránky>.

Infozdroje.cz [online]. c2003, poslední revize 30. dubna 2007 [cit. 2007-05-01]. Dostupné z: <<http://www.infozdroje.cz/>>.

Dobrym pomocnikem pro tvorbu citaci mohou byt i nekerke www stranky, napr: www.citace.com, www.boldis.cz/citace/citace1.pdf.

V pripade citaci v zahraničních časopisech bychom se měli přednostně řídit pokyny pro autory.

1.5. Tvorba rešerší

Vyhledání relevantních informací uveřejněných v celosvětovém měřítku je prvním krokem k zahájení seriózní vědecké práce. Abychom se seznámili se všemi fakty a informacemi, které byly o dané problematice publikovány, musíme začít s rešeršní činností. Slovo rešerše má původ ve francouzštině a znamená výtah, přehled, souhrn údajů. Kvalitně zpracovaná rešerše může nejen zkrátit čas výzkumu, ale i snížit jeho celkové náklady. Zpracovává se podle potřeb zadavatele, který určuje tématické, časové a jazykové vymezení. Výsledkem rešerše by mělo být dostatečné množství ověřených a setříděných informací z důvěryhodných zdrojů. Rešeršní činnost vyžaduje jistou erudici a schopnost orientovat se v bohaté nabídce informačních zdrojů.

Málokdy se podaří zadat rešeršní dotaz napoprvé tak, abychom získali pouze relevantní záznamy. Většinou postupujeme od obecnějšího zadání, které postupně zpřesňujeme, a tím omezíme počet získaných záznamů na rozumnou míru. Musíme si uvědomit, že v databázích obsahujících mnohdy miliony záznamů je správné zadání rešeršního dotazu, včetně přesné terminologie, klíčové pro získání podstatných informací.

Při tvorbě rešerše je tedy dobré stanovit si určitou strategii:

1. strategie stavebního kamene – složitý dotaz se rozdělí na více dílčích, poté se vyhledá každý z nich a výsledky se porovnají a sloučí;

2. strategie rostoucí perly – použijeme jeden relevantní záznam a z jeho popisu (např. klíčových slov) formulujeme rešeršní dotaz;
3. strategie osekávání – vyhledáme-li příliš mnoho záznamů, dotaz postupně omezujeme (např. časově, jazykově atd.), aby byl počet záznamů přiměřený.

Základní jednotkou databáze je záznam (angl. record), který je dále strukturovaný do polí. Polem se označuje část záznamu, kde je jeden druh údaje – např. autor, název, rok vydání atd. Rešeršní dotaz můžeme hledat v určitém poli nebo můžeme dotaz v jednotlivých polích kombinovat (např. autor + klíčové slovo).

Hledané termíny je možno kombinovat pomocí Booleovských operátorů AND, OR, NOT.

Operátor AND: použijeme, když chceme vyhledat záznamy, které obsahují oba termíny

Příklad:

dyslexia AND adults

Operátor OR: použijeme, chceme-li vyhledat záznamy, které obsahují alespoň jeden z termínů (vhodné např. pro výčet synonym)

Příklad:

teenagers OR adolescents OR youth OR youngsters

Operátor NOT: použijeme tehdy, chceme-li vyloučit záznamy, které obsahují toto slovo

Příklad:

diuresis NOT animals

Závorky umožní shlukování slov do logických skupin a užití různých operátorů:

Příklad:

laryngitis AND (children OR infants OR newborn)

Pomocnou značkou při hledání je symbol * (u některých databází ? nebo \$), kterým můžeme nahradit koncovku slova (výhodné např. při hledání jednotného i množného čísla)

Příklad:

Child* – vyhledávají se i slova children, childhood atd.

Některé databáze obsahují tzv. tezaurus, což je hierarchicky uspořádaný seznam klíčových slov. Jeho použití je velmi výhodné pro zpřesnění našeho dotazu, protože tezaurus uvádí jednotlivé termíny v kontextu nadřazených, podřazených a příbuzných termínů, což může sloužit i jako inspirace pro další hledání.

Lékařské databáze používají většinou jako tezaurus MeSH (Medical Subject Headings). Je využíván k indexaci záznamů v databázích produkovaných National Library of Medicine (Medline, HealthStar aj.) a také v katalogích lékařských knihoven. Kromě původní anglické verze existuje celá řada jazykových mutací, včetně české.

1.6. Přehled nejužívanějších databází v lékařství

Bibliomedica

Producent: Národní lékařská knihovna v Praze, ČR

Obsahuje tyto části:

- Bibliographia medica Českoslovaca (BMČ) – citace české a slovenské literatury z oblasti medicíny od roku 1976; postupně se doplňují další ročníky;
- Souborný katalog lékařských periodik dostupných v ČR a SR od roku 1976;
- Adresář institucí přispívajících do souborného katalogu;
- Medical Subject Headings – český překlad MESH;
- Jmenné autority NLK – autoritní záznamy jmen českých a zahraničních autorů z oboru lékařství a zdravotnictví od dob nejstarších do současnosti.

Neuvádí abstrakta ani plné texty.

Volně přístupná z URL: <http://195.113.87.237/bmc> (pouze část Bibliographia medica Českoslovaca)

Medline

Producent: NLK v Bethesda, USA

Nejstarší bibliografická biomedicínská báze (první tištěný Index Medicus byl publikován v roce 1879). Elektronická podoba je ekvivalentem 3 indexů – Index Medicus, Index to Dental Literature a International Nursing Index. Volně přístupná verze na internetu pod názvem PubMed.

Rektospektiva: od roku 1948.

Uvádí abstrakta a odkazy na plné texty.

Volně přístupný z URL: <http://www.pubmed.gov>

Embase

Producent: Elsevier Science, Holandsko

Po Medlinu druhá největší medicínská databáze s důrazem na farmakologii. Více jsou zde zastoupeny i evropské časopisy.

Retrospektiva od roku 1974.

Uvádí abstrakta.

Placený zdroj.

Web of Science

Producent: Thomson Reuters

Zahrnuje pět indexů: Science Citation Index Expanded (1900–současnost), Social Science Citation Index (1900–současnost), Art & Humanitie (1977–současnost), Conference Proceedings Citation Index-Science (1990–současnost), Conference Proceedings Citation Index-Social Science & Humanities (1990–současnost)

V části Cited Ref Search je možné zpracovávat citovanost prací autorů.

Placený zdroj.

Journal Citation Reports

Producent: Thomson Reuters

Uvádí přehled o titulech časopisů, které zahrnuje databáze Web of Science. Umožňuje získávání statistických ukazatelů o časopisech a jejich hodnocení a porovnávání. Uvádí mimo jiné i tzv. impakt faktor.

Placený zdroj.

Current Contents

Producent: Thomson Reuters

Multi-disciplinární bibliografická databáze zveřejňující s denní aktualizací obsahy významných vědeckých časopisů světa, včetně abstraktů v angličtině a úplných bibliografických údajů o každém článku. Vychází v sekcích, pro medicínu významná sekce Clinical Medicine a Life Sciences.

Placený zdroj.

Cochrane Library

Producent: The Cochrane Collaboration

V současné době je jedním ze základních zdrojů informací pro „evidence-based medicine“.

Obsahuje citace článků s abstrakty, citace monografií, kapitol v monografiích a review. Její největší části tvoří: The Cochrane Database of Systematic Reviews (CDSR), The Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE), The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CCTR), The Cochrane Methodology Register, The NHS Economic Evaluation Database a The Health Technology Assessment Database.

Placený zdroj.

Scopus

Producent: Elsevier Science

Největší světová abstraktová a indexová databáze z oblasti společenských a přírodních věd, ekonomie, zemědělství a technických a lékařských oborů. Databáze obsahuje více než 18 000 odborných recenzovaných titulů, 431 000 000 odborných internetových stránek a zpřístupňuje též čtyři patentové databáze. Zaměřuje se především na evropskou vědeckou produkci.

Placený zdroj.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

1. FAKTOR, I. *Hirschův index a česká věda aneb Domácí realita*. Vesmír, 2006, 85, č. 9, s. 555.
2. HERCOVÁ, J. *Elektronické informační zdroje pro oblast medicíny*. Ikaros [online], 1998, 2, č. 10 [cit. 2007-05-14]. Dostupné z: <<http://www.ikaros.cz/node/501>>
3. HYHLÍKOVÁ, V. *Informační analýza dokumentu*. Praha : ÚVTEI, 1984.
4. NOVÁKOVÁ, M. *Informačné pramene*. 4. preprac. vyd. Bratislava : Slovenská technická knižnica, 1991.
5. PIRNEROVÁ, J. Zdroje nových informací v medicíně a farmacii. In *Základy vědecké práce ve farmacii a v medicíně*. Praha : Karolinum, 2001, s. 71–85.
6. SEDLÁČKOVÁ, B. *Dokumentografie. Část 1. Typologie dokumentů*. 1. vyd. Opava : Filozofcko-přírodovědecká fakulta Slezské univerzity v Opavě, 1993.
7. ŠPÁLA, M. *Impakt faktor – Dobrý sluha, ale špatný pán*. Časopis lékařů českých, 2006, 145, č. 1, s. 69–78.
8. ŠPÁLA, M. *Informační prameny – typy dokumentů* [online]. [cit.2007-05-14]. Dostupné z: <knihovna.vsb.cz/cpvs1999/sbornik/spala-priloha-07.pdf>.
9. ČSN ISO 690 (01 0197). *Dokumentace – Bibliografické citace. Obsah, forma a struktura*. Praha : Český normalizační institut, 1996. 31 s.
10. ČSN ISO 690-2 (01 0197). *Informace a dokumentace – Bibliografické citace – Část 2: Elektronické dokumenty nebo jejich části*. Praha : Český normalizační institut, 2000. 22 s.
11. *Vysoká škola ekonomická v Praze* [online]. c2000, poslední revize 2007 [cit. 2007-04-18]. Dostupné z: <<http://www.vse.cz/obecne/impactfk.php3>>.
12. *BMJ* [online]. c1997, poslední revize 2007 [cit. 2007-04-18]. Dostupné z: <<http://www.bmj.com/cgi/content/full/314/7079/497>>.
13. *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publications* [online]. Updated February 2006. [cit. 2007-05-14] Dostupné z: <<http://www.icmje.org>>.



ETICKO-MORÁLNÍ ZÁSADY V BIOMEDICÍNSKÝCH VÝZKUMECH

„Pozorovatel přírodě naslouchá,
badatel jí klade otázky.“
(Georges Cuvier)

Principy vědeckosti a vědecké etiky v biomedicínském výzkumu

Jaroslav Květina

Nedílnou součástí komplexu podmínek pro realizaci jakéhokoliv biomedicínského výzkumu, který má vyústit v přímější aplikaci směrem ke člověku (v širším pojetí: ke kterémukoliv živému tvorů), je respektování etických pravidel (společností smluvených) a na ně navazujícího subjektivního svědomí a morálky konkrétního badatele. Aktuálnost zpětných vazeb mezi objektivizovanými zásadami a osobnostními přístupy je dávana do souvislosti se současným celospolečenským klimatem a s některými recentními „ideologickými“ tendencemi zjednodušovat lidská snažení a konání pouze na ekonomické ukazatele. Je samozřejmé, že etická pravidla v biologicky zaměřeném bádání se opírají o principy, které jsou uznávány a platí ve vědách obecně, navíc pak zohledňují zákonité výjimečnosti, jejichž podstatami je jednak specifikum, že bezprostředním cílem výzkumu je člověk, čili reprezentant biologického druhu, do kterého patří sám experimentátor, a jednak, že subjektem i objektem zkoumání jsou systémy s omezenou metodickou dostupností (vyplývající právě z etických mantinelů), a tedy s omezenou relativní exaktností získávaných celostních (tj. celoorganismových) dat. Formulace argumentačních úvah nad morální oprávněností experimentálně realizovat badatelský – biomedicínský směřovaný – záměr má jednak stránku extenzivní, směřovanou mimo vědeckou komunitu, a jednak stránku směřovanou dovnitř vědeckých kolektivů.

Jedna z argumentačních rovin se týká té části laické veřejnosti, která je otevřena k objektivnějším informacím, čili jde o formulace vůči těm, kteří si uvědomují složitost a obtížnou srozumitelnost podstat vědních poznatků v kontrastu proti obvykle relativní jednoduchosti pseudovědeckých tvrzení. Jde tedy o tu část společnosti, která je ochotna zamýšlet se nad kontradikcemi mezi explozí nekritického, senzacechtivého populismu na jedné straně a střídavým trpělivým zkoumáním zákonitostí jevů a příčinnostmi mezi nimi na straně druhé.

Druhou argumentační rovinou je nejednoduché zdůvodňování biologických pokusů vůči populistickým hnutím „ochránců čehokoliv“, čili jde o uvážlivé a střídavé formulační pokusy směrem k těm, s nimiž – při jejich nekriticky zaslepeném osobním či skupinovém zviditelňování – končívají polemiky obvykle mimoběžně a bezvýhodně. Jejich aktivisté se při svém simplifikovaném myšlení, které nepřipouští jiná než vlastní kritéria, uchylují až k extrémním formám, např. k tzv. „osvobozování laboratorních

zvírat“ často geneticky upravených a neschopných života ve volné přírodě. Polemická bezbřehost těchto jedinců či sdružení sklouzává občas až na úroveň „pseudo-filozofování“ mezi antropocentrickými a biocentrickými názory ve smyslu rovnocennosti či nerovnocennosti všech forem a projevů života.

Třetí rovina úvah jde dovnitř do vlastní výzkumné komunity, čili jde o formulace vůči těm, jejichž životním posláním se stal biologický pokus. Většina takto povolanych uplatňuje při svém zkoumání podvědomě a spontánně svůj osobnostní vztah ke všemu živému, svůj respekt k zázraku života a snaží se uvědoměle posuzovat oprávněnost každého dílčího pokusu a podloženost pracovních postupů. Systematické utřídění těchto návyků bývá předmětem vědecké propedeutiky a je podtextem této statě.

Primárním etickým fundamentem biologického pokusu je provázanost úrovně řešené badatelské problematiky s úrovní řešitelů. Díky zákonitostem pokroku a s ním spojenými stále složitějšími výzkumnými technologiemi je soudobý biologický experiment (počínaje nejméně půlstoletou minulostí) nemožný bez týmové realizace. Rozhodující je tedy vyváženost skladby a kvalita vědeckého kolektivu, tj. na jakou úroveň badatelského snažení jeho členové dospěli. Při posuzování akceschopnosti výzkumné skupiny není nepodstatné, že dozrávání na samostatnou experimentálně tvořivou úroveň (zahrnující osobnostní postavení problému, metodické zvládnutí jeho řešení a adekvátní interpretaci výsledků) má svůj individuálně různě dlouhý vývoj:

- od fáze, kdy se zkoumá to, co vymysleli a zadali zkušenější kolegové;
- přes etapy převážně analytické a popisné;
- přes údobí užších interpretací;
- až po tvorbu širěji kombinovaných interpretací, které by měly ústit v další zásadnější invenční odrazové můstky či prognostické úvahy.

S úrovní řešitelů souvisí i jejich uvědomělé distancování se od „pseudovědeckosti“ jako přečinu proti vědě. Soudobá propagační exploze iracionálních a pseudo-racionálních teorií (například konkrétně v terapii ve smyslu „rádoby léčitelských zázraků“), popularizovaných řadou povrchních a senzacechtivých masmédií, podtrhuje aktuálnost přístupu výzkumného kolektivu ve smyslu cílevědomého vymezování se vůči pseudovědeckým náznakům. Nejde přitom o formální deklarativní fráze, ale o celkovou atmosféru výzkumného záměru, jeho realizačního designu a interpretačního náboje. Jedním z kritérií pro posouzení na jakou úroveň se výzkumný tým dopracoval může být například kvalita písemných podkladových materiálů „slohových cvičení“, recentně vyžadovaných úřednickými aparáty nejrůznějších organizačních agentur, která mají zdůvodňovat požadavky vůči výzkumným financierům. Někdy nebývá jednoduché na první pohled odhalit v těchto formulačních hříčkách pseudovědecký aspekt. Mezi jeho charakteristické rysy patří nápad bez kontextu s dosud poznaným, nápad, bránící se objektivizovatelnému kontrolovanému ověření, laickost (naivita) řešitelských přístupů a subjektivní „já-ství“, ohánějící se přehnaným utajováním (odmítáním týmového řešení) z obavy před zcizením nápadu (tj. popíráním principu, že z hlediska pokroku lidstva je lhostejno, kdo nový poznatek objevil, ale že je rozhodující, že ho v dané etapě vůbec někdo objevil). Náznaky pseudovědeckosti se dají odhadovat:

- podle míry obecnosti definic: čím nekonkrétnější a nabubřelejší formulace a povrchní fráзовитost, tím větší podezření na amatérismus;
- podle projevů vystupňovaného subjektivismu bez sebekorekce (formulace sice jasné a na oko přesvědčivé, avšak bez diskusního zvážení alternativ);
- podle argumentací, opírajících se jen o tradiční myšlení, o osvědčené názorové klišé, aniž by bylo uvažováno o možnostech jejich eventuálního zpochybnění, aniž by byl učiněn pokus o auto-oponenturu formulované hypotézy;
- podle metodické nesoustavnosti (podle snůšky náhodných dispozibilních testů).

Z úrovně skladby výzkumného kolektivu se odvíjí:

- rozsah projektovaného záměru, tj. „co řešit“;
- hloubka jeho prozkoumání, tj. „jak to řešit“.

V podotázce „co řešit“ svědčí o vyváženosti a badatelské zralosti týmu jeho nápaditost, schopnost invenčně postavit problém (hypotézu o vztazích mezi jevy), umění kombinovat a odhadovat cíle řešení (při dodržení zásady „plánovat cíle a podmínky, nikoliv výsledky“), tj. cíle:

- buď v pojetí statickém (popis vztahů);
- nebo dynamickém (analýza mechanismů vztahů);
- anebo prognostickém (odhad širších souvislostí vztahů).

V podotázce „jak to řešit, jak nápad ověřit“ vychází míra vědeckosti řešitelů ze zvládnutí „výzkumného řemesla“, z respektování výzkumné systematičnosti na ose „literární rešerše → formulace projektu → postupná realizace studií → uplatnění výsledků“, tj. z detailního rozpracování:

a) kompilační konfrontace:

- jednak hypotézy;
- jednak metodických přístupů (včetně otázky použitelnosti alternativních technik).

b) písemně zpracovaného plánu („designu“) studie, zahrnujícího:

- etapy řešení (zkoumání hlavní otázky, souběžných otázek a jejich předpokladatelných modifikací);
- časové návaznosti;
- plánované metodiky (včetně způsobů ověření jejich validit a reprodukovatelnosti měření);
- pokusné subjekty (podrobněji viz v kapitolách 5.1., 5.2.);
- technické a ekonomické zajištění;
- předpokládané techniky vyhodnocení nálezů (včetně odhadu intraindividuální a interindividuální variability pokusných souborů a odhadu, kolik bude třeba pravděpodobných pokusných opakování);
- předpokládané interpretační úvahy:
 - pro další směr zkoumání?;
 - pro praktickou realizaci?;
 - pro rozvoj širší teorie?

c) realizačních (pokusných) etap, respektujících:

- schéma „designu“;
- soustavnou kontrolovatelnost jednotlivých výzkumných pochodů;
- kritickou sebekorekci (dobře plnitelnou permanentní oponenturou uvnitř výzkumného kolektivu);
- souhru metodik tak, aby se měnila postupně jen jedna proměnná (nebo minimum exaktně registrovatelných proměnných) a aby byl stanovován průsečík několika nezávislých ověření;
- exaktnost pojmů (jako jeden z odrazových můstků pro eventuální postupné upřesňování původního výzkumného záměru a pro jeho zpětnovazebné upravování podle postupně vyhodnocovaných nálezů).

d) uplatnění výsledků (sdělení získaných poznatků):

- buď směrem k vědecké komunitě (s cílenou volbou formy a sdělovacího prostředku);
- nebo směrem k uživatelům vědy (s patentovou ochranou jako jedné z konkrétních specifik lékových inovací);
- anebo směrem k veřejnosti (se začleněním nového poznatku do širších souvislostí).

Z úvodní sentence této statě o nezbytné propojenosti mezi smluvenými etickými pravidly biologického experimentu a osobní subjektivitou výzkumného pracovníka vychází i shrnující glosa:

Obecně deklarované etické normy nemohou schematizovat morální cit badatele, jeho odhad hranic pro volbu alternativních metodických přístupů a úroveň jeho vztahu ke kterémukoliv živoucímu tvoru a z ní plynoucí kvalita jednání vůči individualitě pokusného subjektu. Je tedy především na osobní zodpovědnosti experimentátora, jak citlivě zváží metodické kombinace od počítačových simulací přes tkáňové kultury až po pokusy *in vivo* tak, aby nový poznatek byl co nejkomplexnější a aby v rámci „etických principů respektování jakéhokoliv života“ chránil lidského probanda, nemocného člověka či pokusné zvíře, živé bytosti jako je on sám.