

Biomarkery v psychiatrii

Miloslav Kopeček



vývoj klasifikace duš. poruch v USA

1840 - sčítání obyvatel v USA, pro statistiku použita jediná kategorie „idie a šílenství“

1880 - 7 kategorií - manie, melancholie, monomanie, paresa, demence, dipsomanie a epilepsie

1917 - předchůdce APA vydal manuál s 22 diagnózami (systém podobný Kraepelinovi)

1921 - založena APA

Historie psychiatrické klasifikace

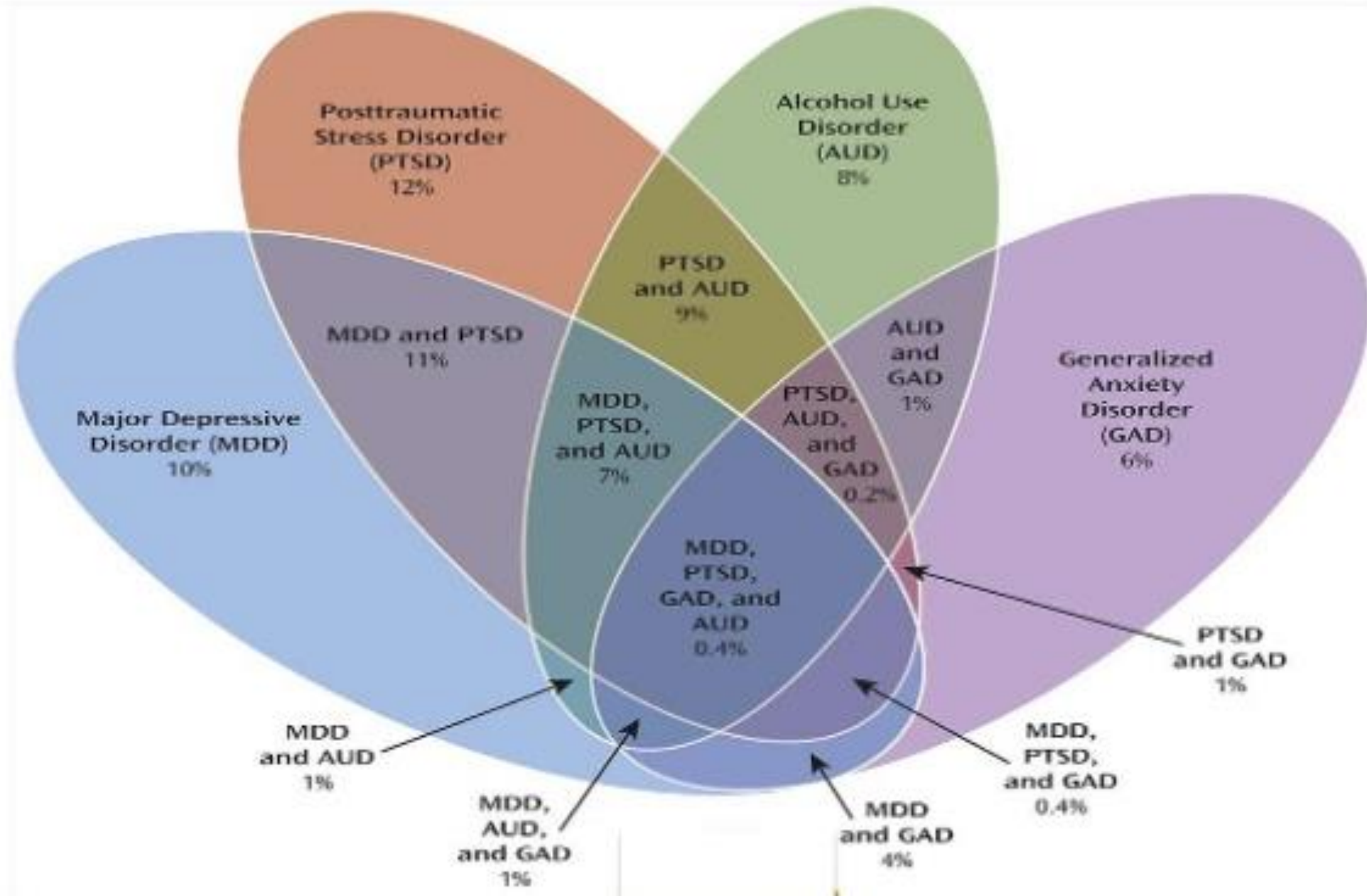
- 1948 MKN-6, WHO, poprvé obsahuje kategorie pro duševní poruchy
- 1952 DSM-I, APA, varianta MKN-6
- 1975 MKN-9
- 1980 DSM-III
- 1987 DSM-III-R
- 1992 MKN-10
- 1994 DSM-IV
- 2013 DSM5
- 2019 MKN-11

NEMOC (nozologická jednotka) je syndrom se specifickou etiopatogenezí, průběhem a možností predikce

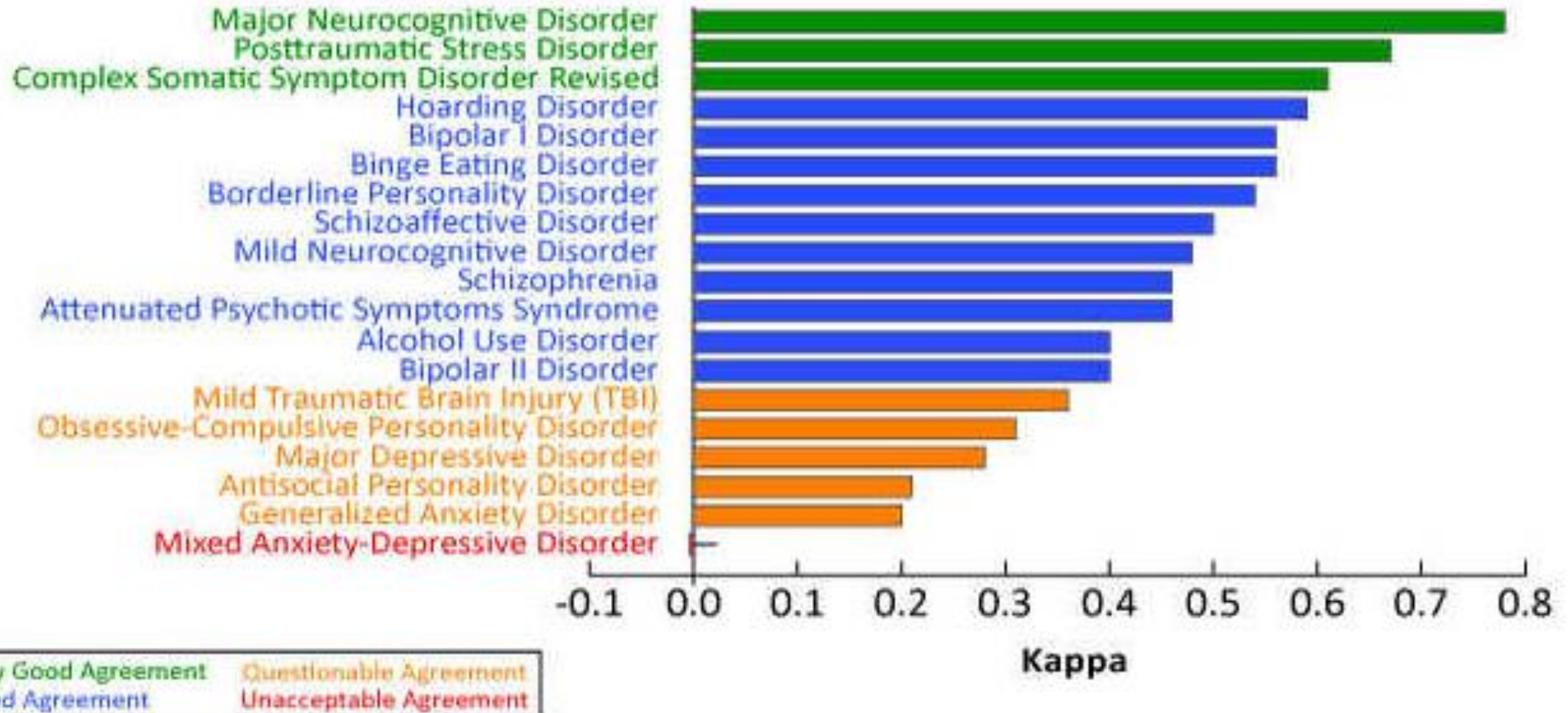
Počet diagnostických jednotek v DSM



DSM5 Field Trials Regier et al 2013



DSM-5 reliability



reliabilita fenomenologie vs reliabilita biomarkeru

1. Stella Walsh and Helen Stephens



Depresivní porucha

1. depresivní nálada
 2. snížení zájmů a pocitu radosti
 3. významná ztráta hmotnosti či hm. přírůstek
 4. insomnie či hypersomnie
 5. psychomotorická agitovanost či retardace
 6. únava či ztráta energie
 7. pocity bezcennosti, pocity viny
 8. snížená schopnost myslet nebo se soustředit
 9. opakované sebevražedné myšlenky
- klinicky významná nepohoda nebo poškození
 - symptomy nejsou způsobeny drogami či somatickými onemocněními
 - nejedná se o truchlení

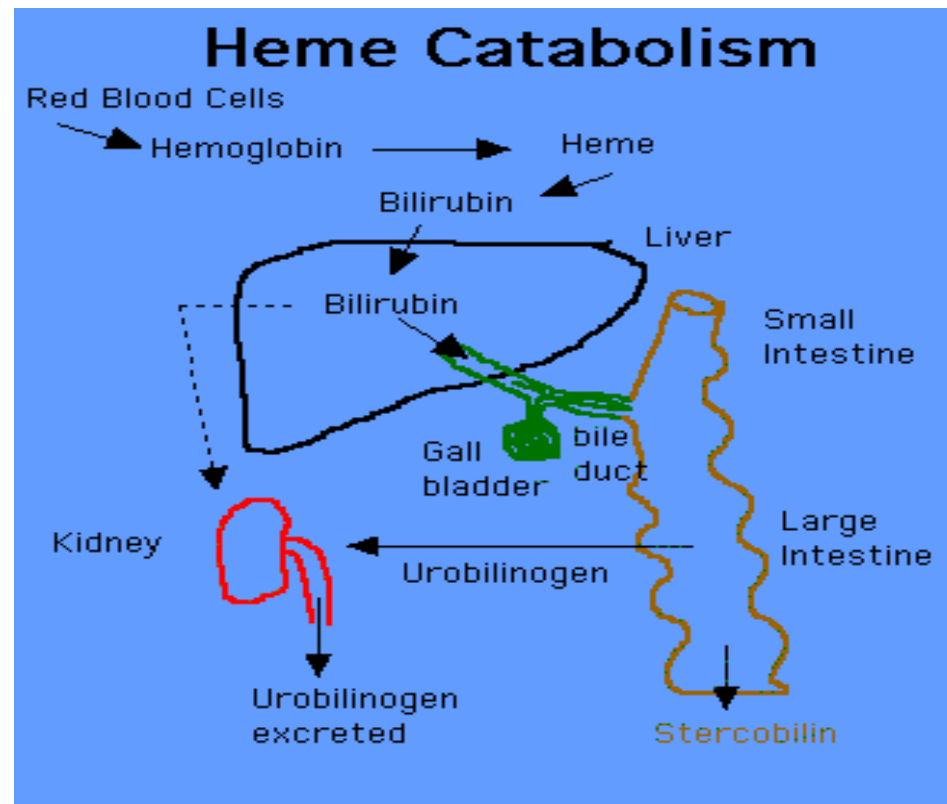
Table 1. Total combinations of the components of the DSM-IV-TR bipolar disorder diagnoses

	Possible combinations
Episodes	
Major depressive episode	227
Manic episode	163
Hypomanic episode	163
Mixed episode	37,001
Specifiers	
Severity/psychotic/remission specifier	2
Chronic specifier	2
Catatonic features specifier	26
Melancholic features specifier	84
Atypical features specifier	11
Postpartum onset specifier	2
Longitudinal course specifiers	2
Seasonal pattern specifier	2
Rapid cycling specifier	2

(Lieberman et al., 2008)

Depresivní porucha je syndrom

Jako žloutenka



od fenomenologie k etiologii

Fenomény - (žluté bělmo, únava, nevolnost)

1. biomarker - bilirubin

2 a 3. biomarker - ALT, AST / GMT, ALP

od fenomenologie k etiologii

Fenomény - (kašel, teplota, slabost)

1. biomarker - CRP
2. biomarker - kultivace + citlivost

Léčba dle etiologie

deprese v obraze HMPAO SPECT

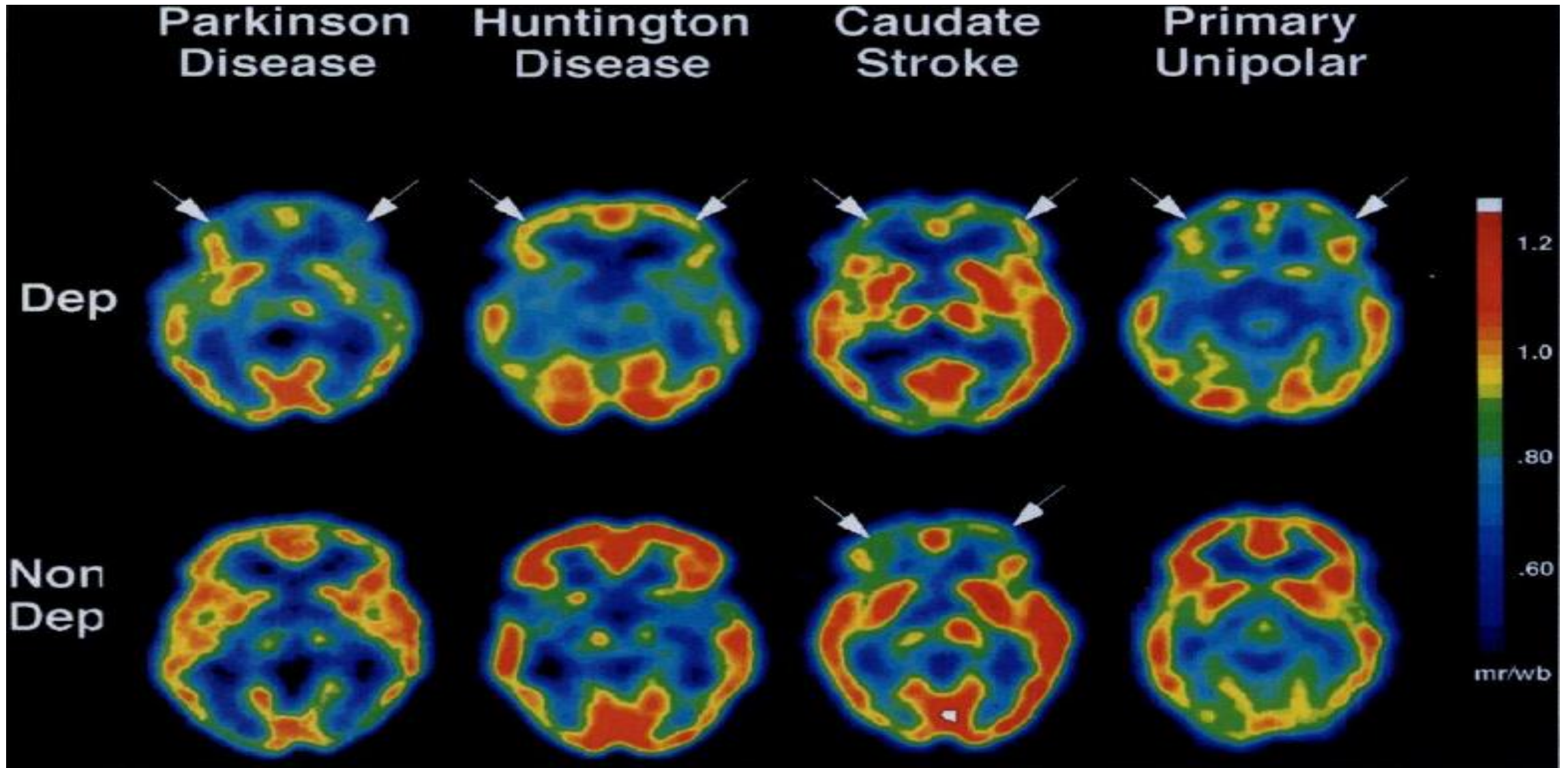
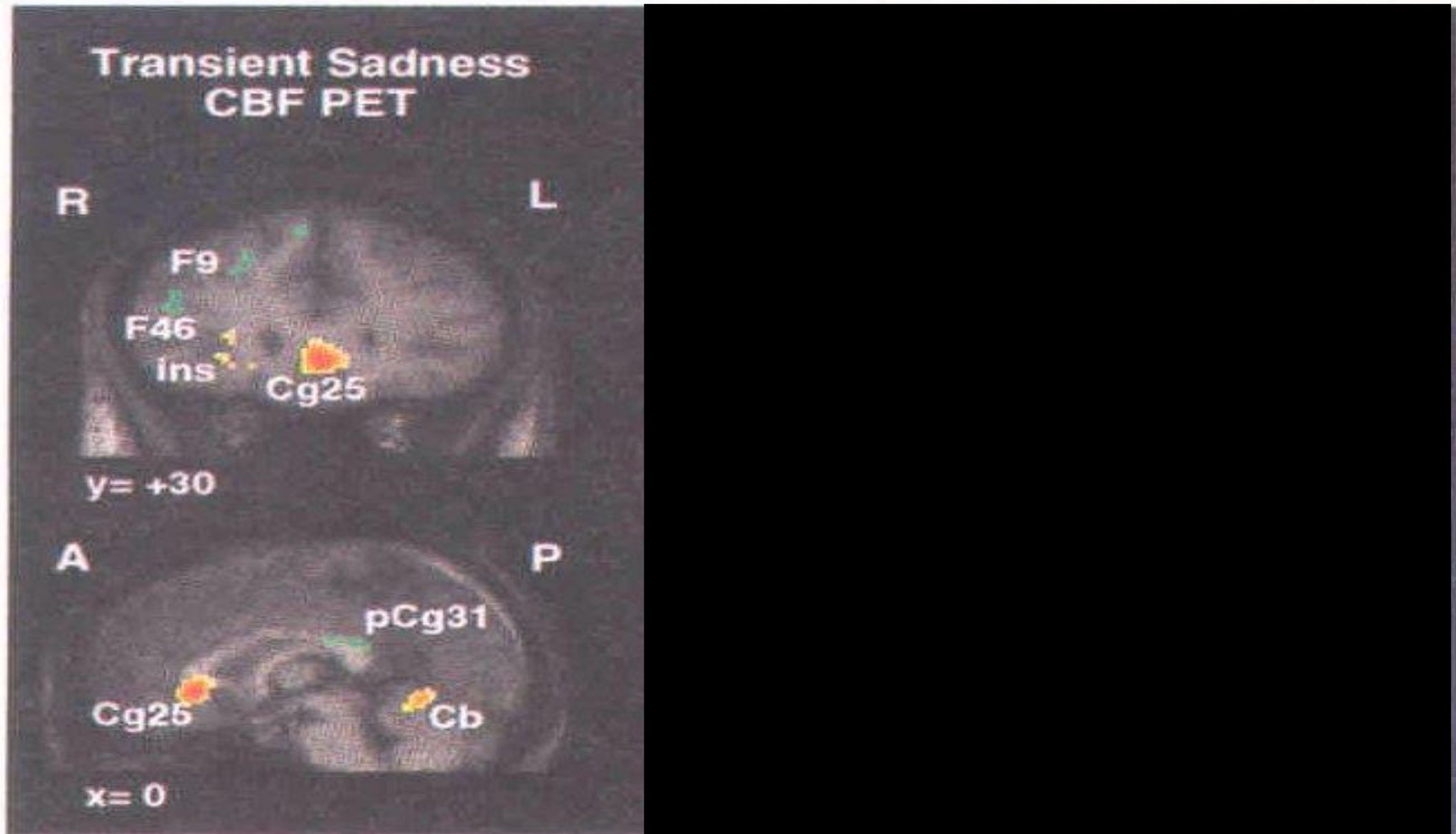
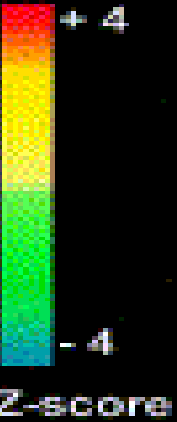
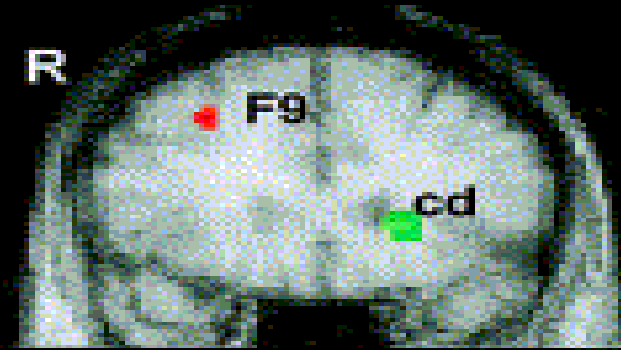
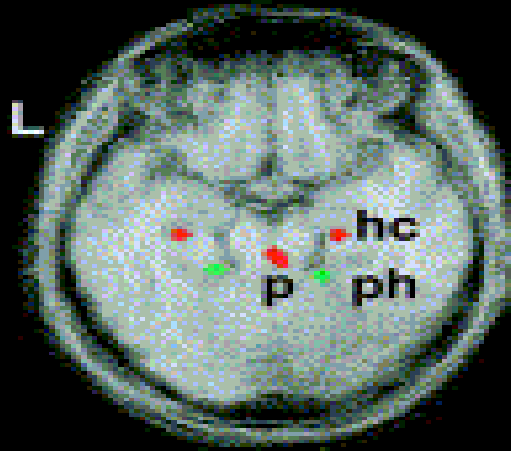
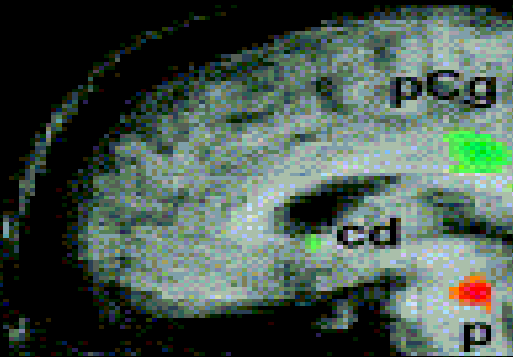


FIGURE 1. Reciprocal Changes in Cortical and Paralimbic Function With Shifts in Negative Mood State^a

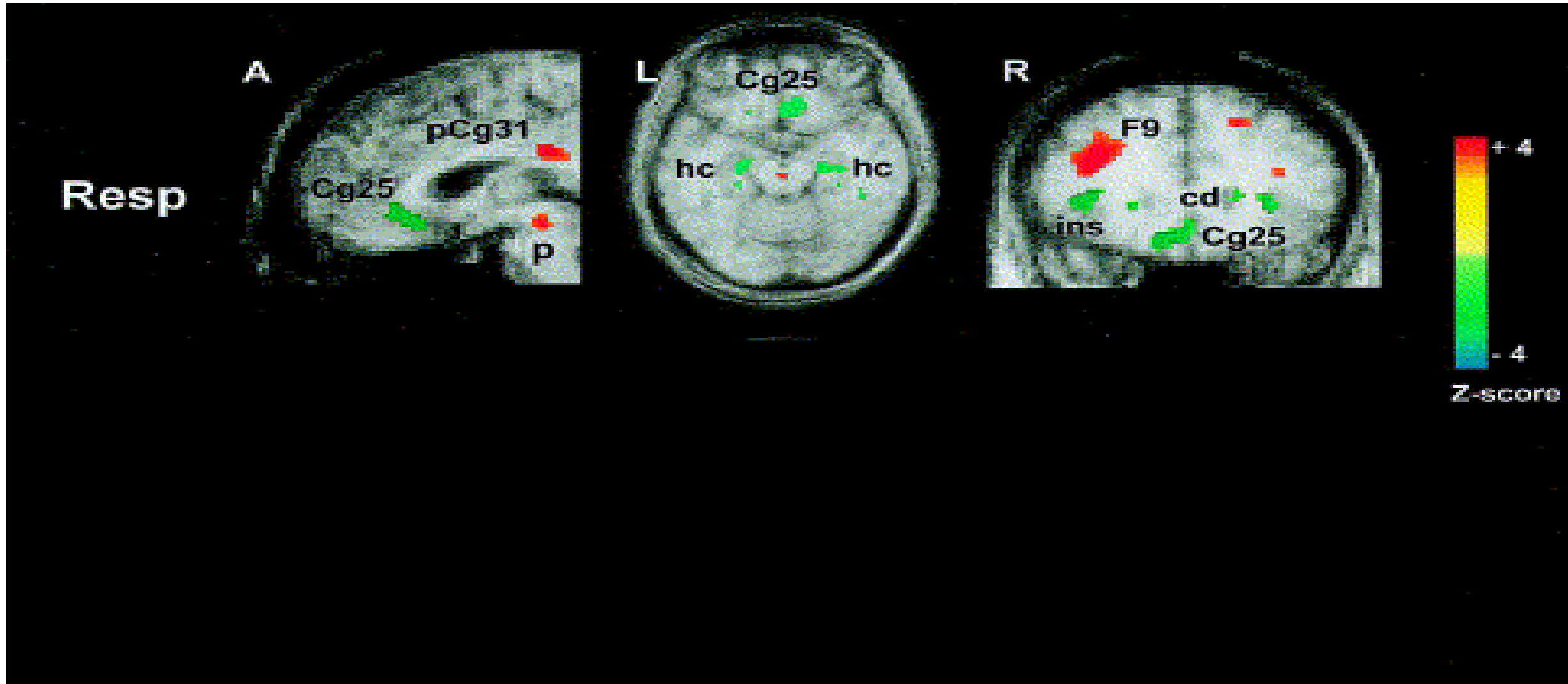


Fluoxetine a FDG PET

1 week



Fluoxetine a FDG PET



definice biomarkeru

Objektivně měřitelná proměnná, která odráží normální či patologický biologický proces nebo farmakologickou odpověď na léčebnou intervenci.

(National Institutes of Health USA, 2001)

příklady biomarkeru v medicíně

Diabetes	- hyperglykémie
Hypertenzní nemoc	- zvýšený TK
Bakteriální infekce	- CRP
Žloutenka	- bilirubin
IM	- troponin
Duševní poruchy	- ?

(National Institutes of Health USA, 2001)

Biomarker jako end-point v klinickém testování

- morbidita, mortality k porovnání skupin
- **biomarker jako surrogate endpoint (náhradní výsledek - HbA1c)**
- imaging biomarker může být použit jako *predictive classifiers* (predikční klasifikátor)

Predikce antidepresivní léčby

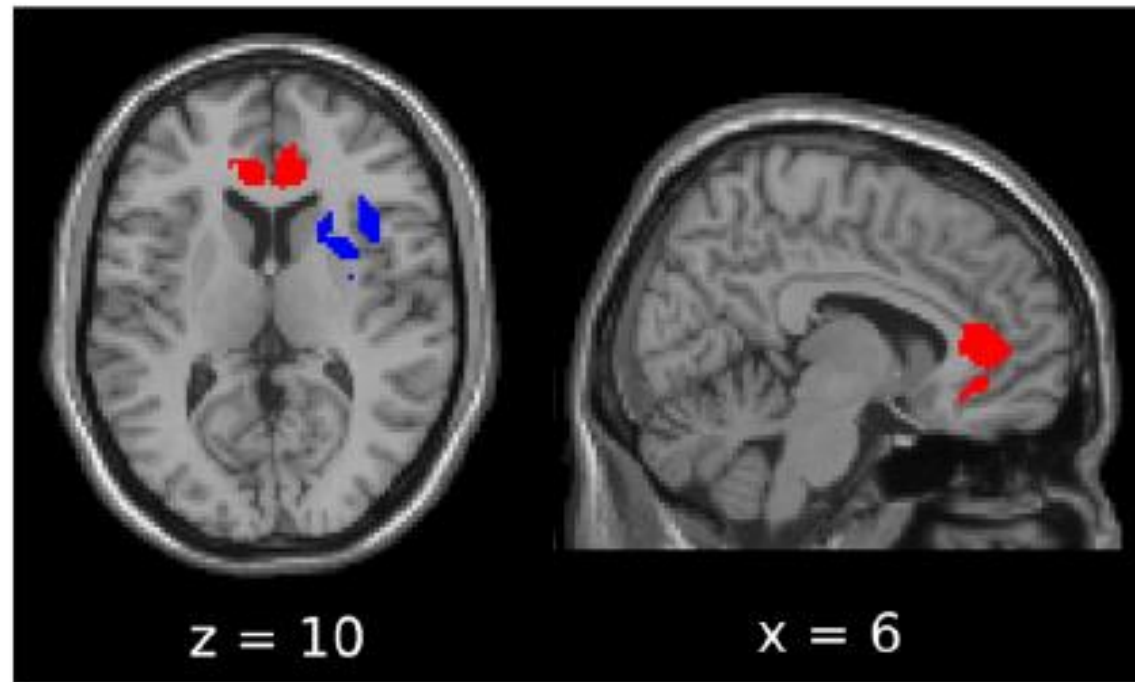


Fig. 1. Meta-analysis of functional predictors of treatment response in depression. Increased activation in anterior cingulate is predictive of positive response to treatment (in red), while increased activation in the right amygdala, striatum and insula increases the likelihood of poor response (in blue). Results are $P < 0.05$ (with FDR multiple comparisons correction).

endofenotyp

- termín z psychiatrické genetiky sloužící k přemostění mezery mezi příznaky a geny
- Podobné termíny s podobným významem avšak nezdůrazňující genetickou spojitost jsou intermediální fenotyp, biomarker, subklinický rys, marker vulnerability, kognitivní marker
- Význam endofenotypů je schopnost rozlišit mezi diagnózami, které se prezentují podobnými symptomy

Kritéria, aby byl biomarker endofenotypem

- Musí segregovat s nemocí v populaci
- Musí být dědičný,.
- Nesmí být state-dependent (manifestace během relapsu i remise)
- Musí kosegregovat s nemocí v rodinách.
- Musí být přítomen ve vyšší frekvenci u postižených rodin než v populaci.
- Musí být spolehlivě měřitelný a specifický k nemoci

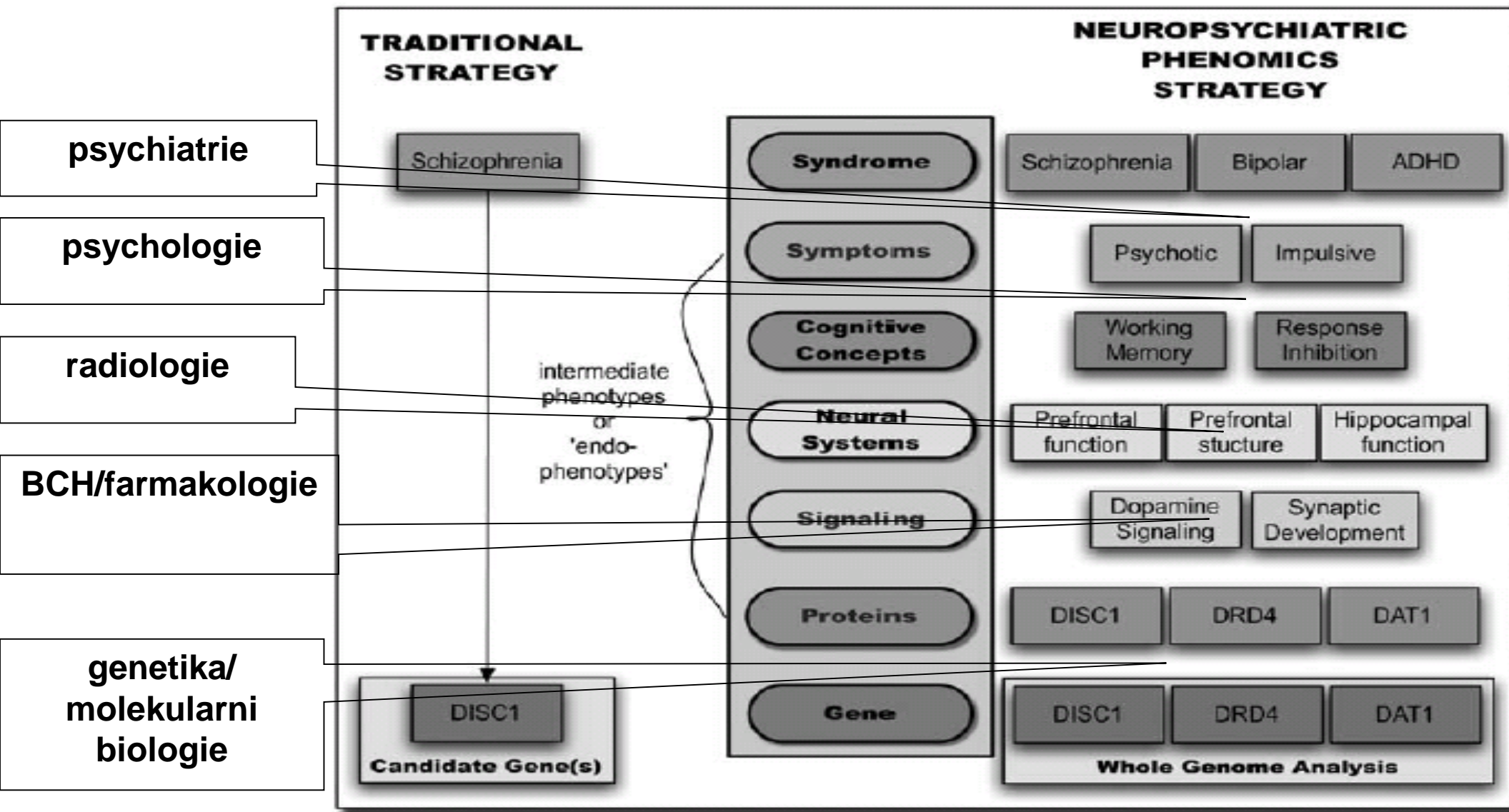


Figure 4 The neuropsychiatric phenomics approach contrasts with the traditional approach to psychiatric genetics studies, in which gene–syndrome relationships are assessed directly. The neuropsychiatric phenomics strategy involves analysis of multiple levels of intermediate traits, across multiple syndromal categories.

(Sabb et al., Molecular Psychiatry (2008) 13, 350–360)

Validizace biomarkeru

- sensitivita
- specificita
- robustnost
- přesnost
- opakovatelnost

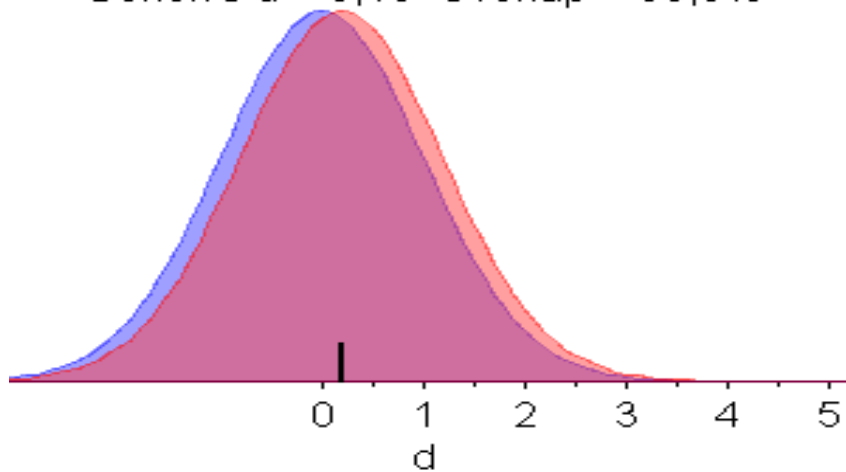
Effect size – velikost účinku

Cohenovo $d=0,2$
mírný

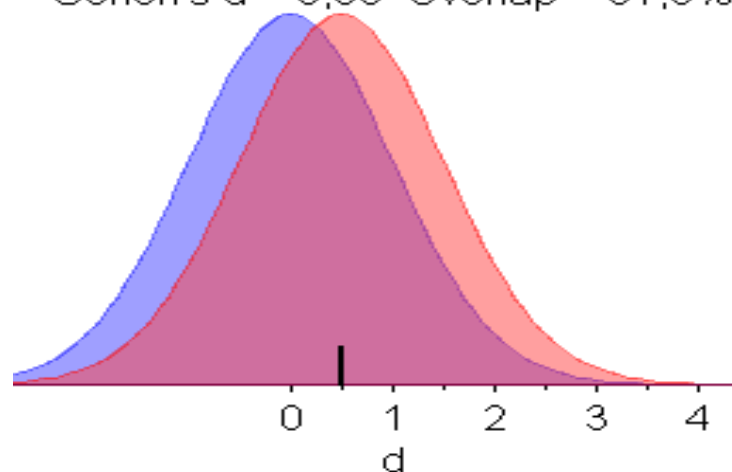
$d=0,5$
střední

$d=0,8$
velký efekt

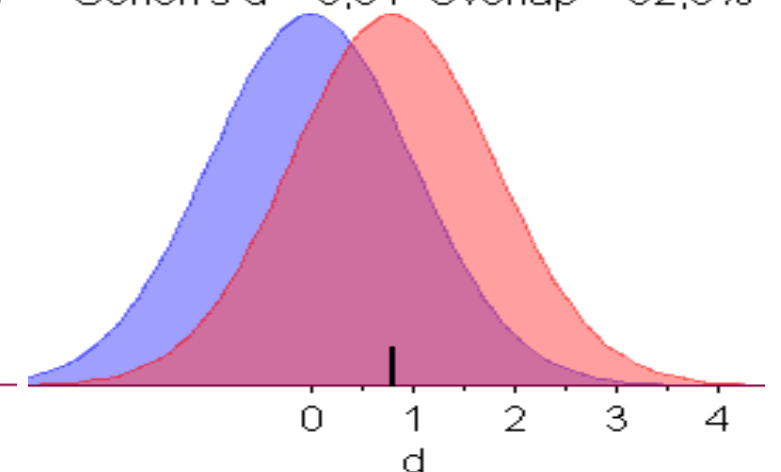
Cohen's $d = 0,19$ Overlap = 85,6%



Cohen's $d = 0,50$ Overlap = 67,0%



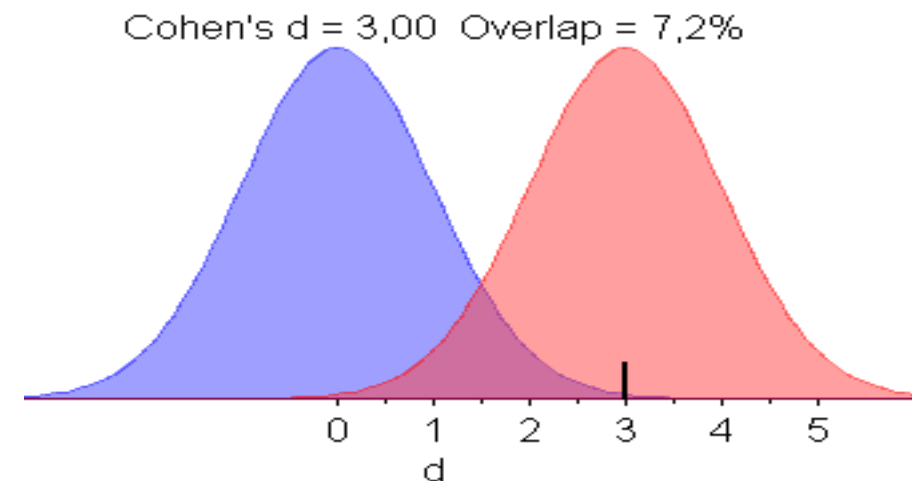
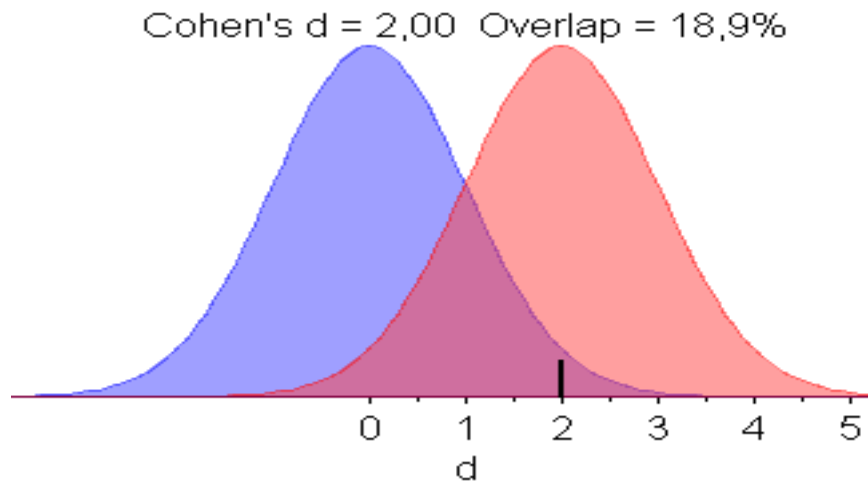
Cohen's $d = 0,81$ Overlap = 52,3%



Effect size – velikost účinku

Cohenovo $d=2$

$d=3$



Effect Size Calculators

Calculate Cohen's d and the effect-size correlation, r_{Y_2} , using --

- means and standard deviations
- independent groups t test values and df

For a discussion of these effect size measures see [Effect Size Lecture Notes](#)

Calculate d and r using means and standard deviations

Calculate the value of Cohen's d and the effect-size correlation, r_{Y_2} , using the means and standard deviations of two groups (treatment and control).

$$\text{Cohen's } d = (M_1 - M_2) / \sigma_{\text{pooled}}$$

where $\sigma_{\text{pooled}} = \sqrt{[(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) / 2]}$

$$r_{Y_2} = d / \sqrt{d^2 + 4}$$

Note: d and r_{Y_2} are positive if the mean difference is in the predicted direction.

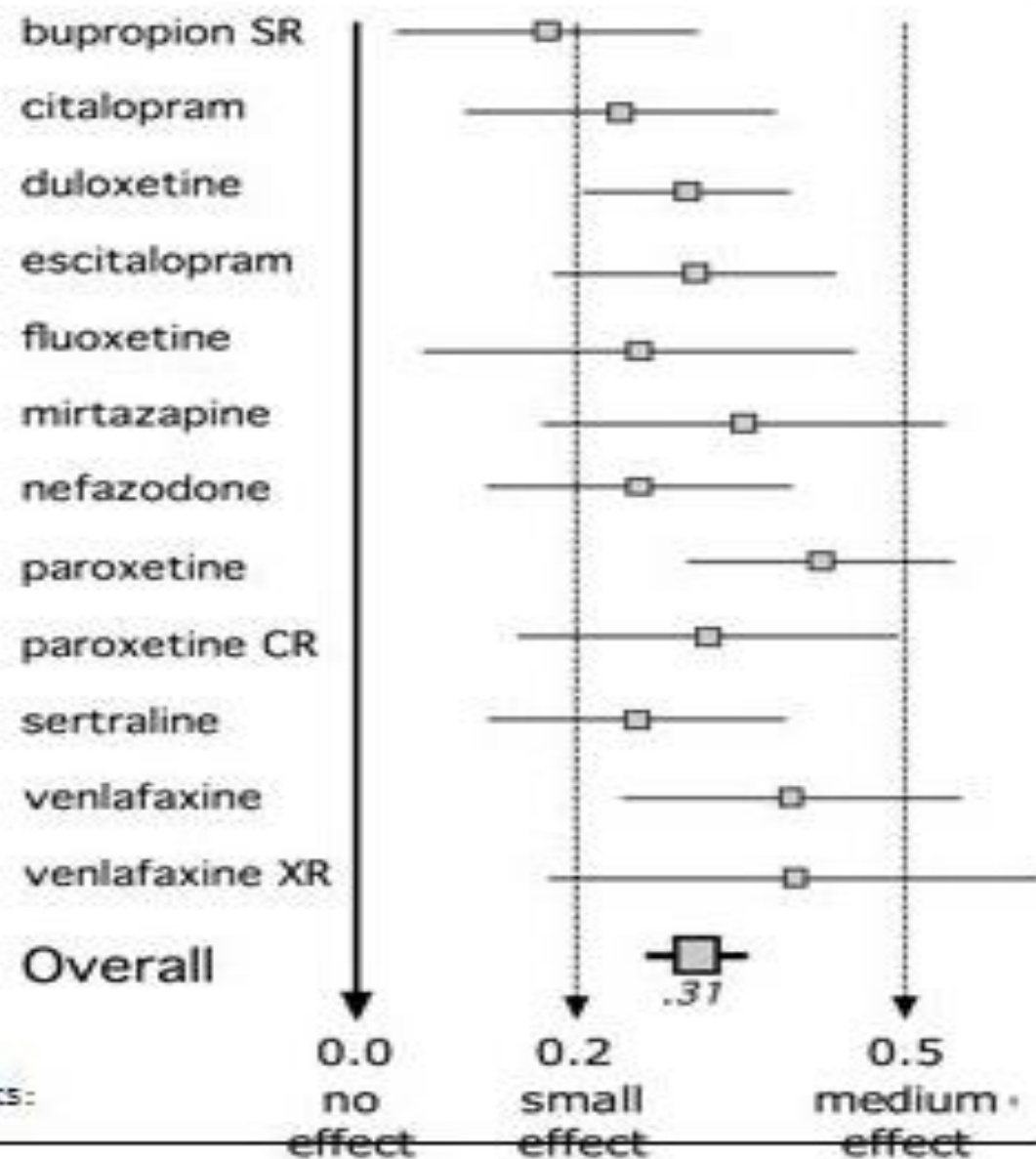
Group 1	Group 2
M_1 <input type="text" value="14.99"/>	M_2 <input type="text" value="16.6"/>
SD_1 <input type="text" value="7.78"/>	SD_2 <input type="text" value="8.4"/>
<input type="button" value="Compute"/>	<input type="button" value="Reset"/>
Cohen's d <input type="text" value="-0.198865"/>	effect-size r <input type="text" value="-0.0989446"/>

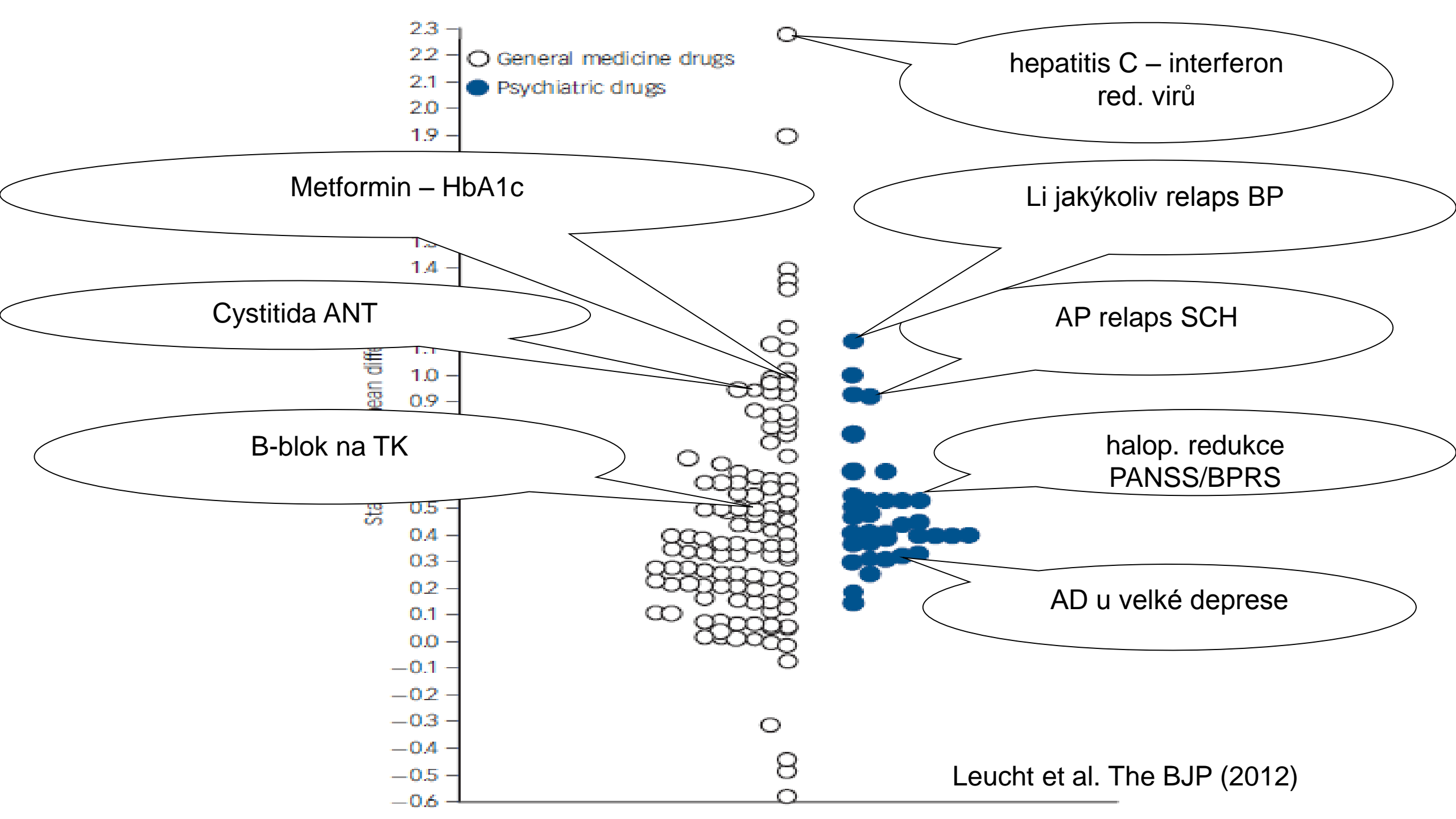
Each drug still beat placebo

FDA-based ES:

None of CIs overlapped zero \Rightarrow

$P < .05$

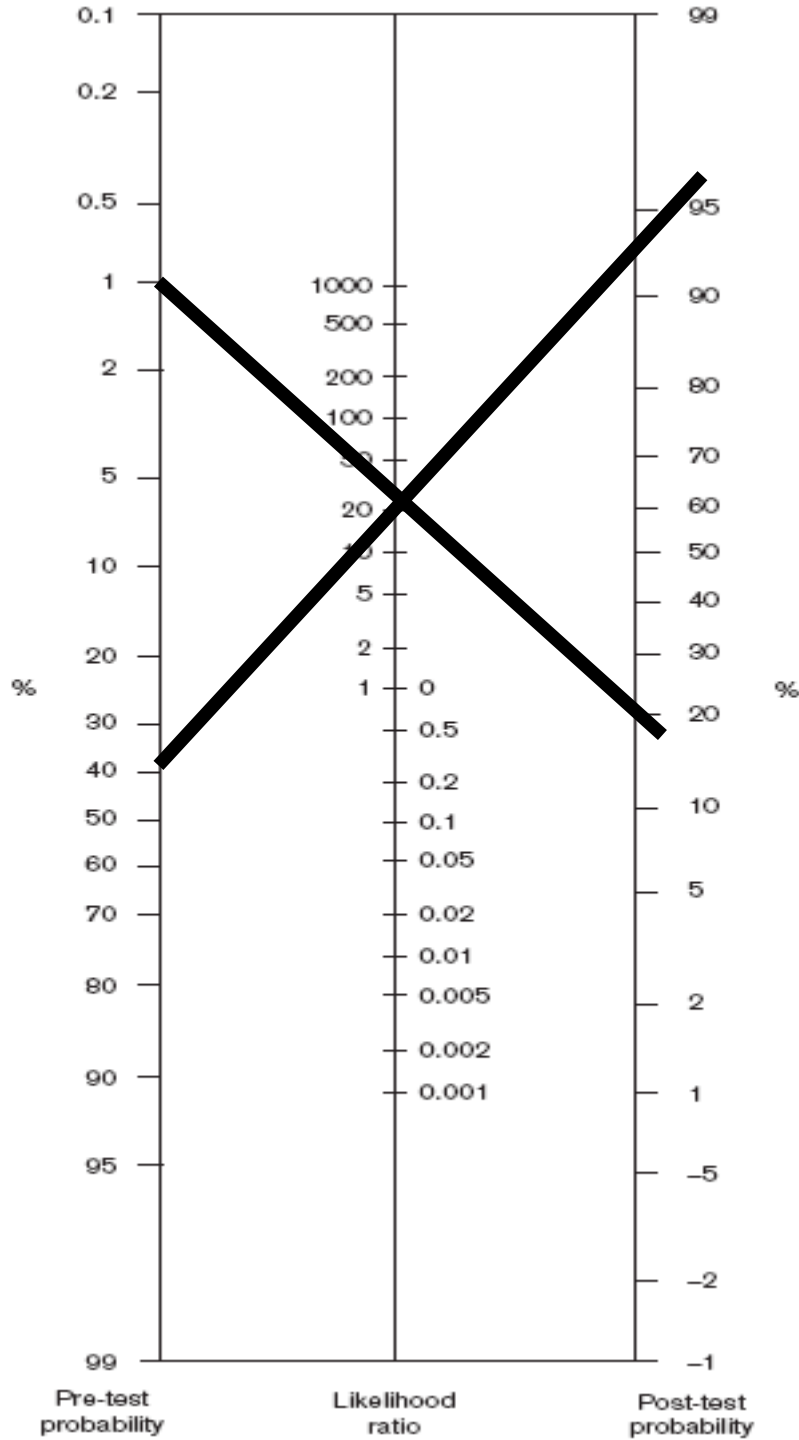




ekvivalence velikosti efektu

velikost efektu	malá	střední	velká	velmi velká	téměř perfektní	perfektní
korelace	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9	1
stand. rozdíl prům.	0,2	0,6	1,2	2	4	nekonečno
AUC	0,566	0,666	0,802	0,921		1
OR	1,2	1,9	3	5,7	19	nekonečno
RR	1,5	3,5	9	32	360	nekonečno

Nomogram Bayesova theoremu

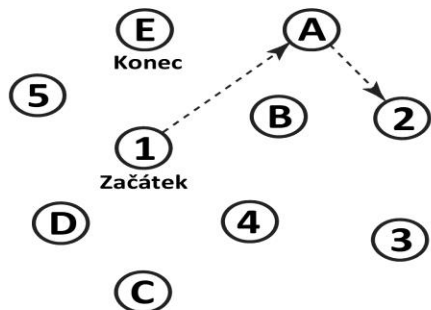


Fagan TJ. Letter: Nomogram for Bayes theorem. N Engl J Med 1975; 293:257.

interpretace poměrů šancí

LR	změna pravděpodobnosti přítomnosti nemoci
0,1	-45
0,2	-30
0,5	-15
2	15
5	30
10	45

ZRAKOVĚ-KONSTRUKČNÍ SCHOPNOSTI / EXEKUTIVNÍ FUNKCE



Překreslete krychli

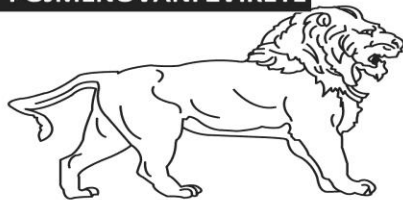
Nakreslete ciferník se všemi čísly a označte 11 hodin 10 minut (3 body)

BODY

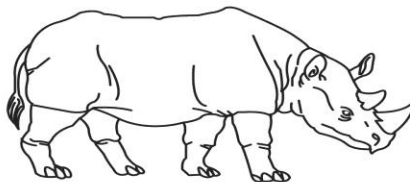
Spojte postupně střídavě čísla a písmena od začátku do konce.

[] [] []
kontura číslice ručičky ___/5

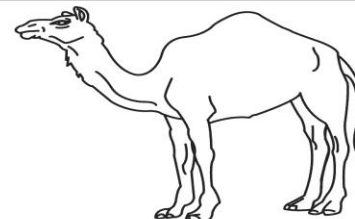
POJMENOVÁNÍ ZVÍŘETE



[]



[]



[]

___/3

PAMĚŤ

Přečtěte řadu slov (1/sekundu).
Zopakujte co nejvíce slov nehladě na pořadí.
Zopakujte je ještě jednou.

	tvář	samet	kostel	kopretina	červená
1. pokus					
2. pokus					

žádný bod

POZORNOST

Přečtěte řadu čísel (1/sekundu).
Testovaný je má zopakovat, jak šla za sebou
Testovaný je má zopakovat pozpátku

[] 2 1 8 5 4
[] 7 4 2

___/2

Čtete řadu písmen (1/sekundu). Testovaný musí klepnout prstem pokaždé, když uslyší A.
Při 2 a více chybách nedostane žádný bod.

[] F B A C M N A A J K L B A F A K D E A A A J A M O F A A B

___/1

Množina odečtů 7 od 100

[] 93 [] 86 [] 79 [] 72 [] 65
4-5 správných odečtů = 3 body / 2-3 správně = 2 body / 1 správný = 1 bod / 0 správných = 0 bodů

___/3

ŘEČ

Opakujte po mně: Pouze vím, že je to Jan, kdo má dnes pomáhat.
(přesně slovo od slova) Když jsou v místnosti psi, kočka se vždy schová pod gauč.

[]
[]

___/2

Vybavování slov. Řekněte co nejvíce slov, která začínají písmenem K, během 1 minuty.

[] _____ (N ≥ 11 slov)

___/1

ABSTRAKCE

Podobnost např. mezi banánem-pomerančem = ovoce [] vlak-bicykl [] hodinky-pravítko

___/2

ODDÁLENÉ VYBAVENÍ SLOV

Vybavení slov BEZ NÁPOVĚDY	tvář	samet	kostel	kopretina	červená
	[]	[]	[]	[]	[]

Body se udělí pouze BEZ NÁPOVĚDY

___/5

Nepovinné

Kategoriální nápověda					
Nápověda výběrem					

ORIENTACE

[] datum [] měsíc [] rok [] den [] místo [] město

___/6

MOCA - hraniční hodnota

26 bodů (senzitivita 0,9; specificita 0,87)

LR+ 6,9 LR- 0,11 DOR: 62,7

(Nasreddine et al. JAGS 53:695–699, 2005)

(Hummelová-Fanfrdlová et al. Československá psychologie 2009; 53(4): 376-388)

ADDENBROOKSKÝ KOGNITIVNÍ TEST (revidovaná verze 2010)

Jméno a příjmení	<input type="text"/>	Adresní lékař	<input type="text"/>
Datum narození	<input type="text"/>	Pracovní diagnóza	<input type="text"/>
Délka vzdělání (roky)	<input type="text"/>	Laterálita	pravák <input type="checkbox"/> levák <input type="checkbox"/> ambidextr <input type="checkbox"/>
Dosažený stupeň vzdělání	<input type="text"/>	DATUM VYŠETŘENÍ	

SUBSKÓRE			
Pozornost a orientace	úloha č. 1, 2, 3	/18	/18
Paměť	úloha č. 4, 5, 6, 17, 18	/26	/26
Slovní produkce	úloha č. 7a, 7b	/14	/14
Jazyk	úloha č. 8a, 8b, 9, 10a-c, 11, 12, 13	/26	/26
Zrakově-prostorové schopnosti	úloha č. 14a-c, 15, 16	/16	/16
CELKOVÉ SKÓRE			
	ACE-R	/100	/100
	MMSE	/30	/30

SKÓRE

1. ORIENTACE

■ Zeptejte se pacienta:

1. Který je dnes den v týdnu?	<input type="text"/>	6. Ve kterém státě se nacházíme?	<input type="text"/>	(Skóre 0-10)	(Skóre 0-10)
2. Kolikátého je dnes?	<input type="text"/>	7. Ve kterém jsme městě?	<input type="text"/>	ACE	ACE
3. Který je měsíc?	<input type="text"/>	8. Ve kterém jsme kraji nebo oblasti?	<input type="text"/>	MMSE	MMSE
4. Který je rok?	<input type="text"/>	9. Jak se jmenuje tato nemocnice / budova?	<input type="text"/>	MMSE	MMSE
5. Které je roční období?	<input type="text"/>	10. Na kterém pochodil se nacházíme?	<input type="text"/>	MMSE	MMSE

■ U otázky č. 2 tolerujeme + 2 dny v datumu. Otázku č. 5 hodnotíme následovně: jaro – březen, duben, květen; léto – červen, červenec, srpen; podzim – září, říjen, listopad a zima – prosinec, leden, únor. Nevyžadujeme tedy znalost přesných astronomických přechodů jednotlivých ročních období. U otázky č. 6 doporučujeme uznat odpovědi Česká republika nebo Česko. U otázky č. 8 doporučujeme v případě testování v Praze uznat i Středočeský kraj.
Každá správná odpověď se hodnotí 1 bodem.

2. PAMĚT – ZAPAMATOVÁNÍ

■ Řekněte pacientovi:
„Můžeme si nyní vyzkoušet Vaši paměť? Řeknu Vám 3 slova. Počkat se je po mně opakovat a zapamatovat si je. Za chvíli se Vás na tato slova znovu zeptám.“

lopatka šátek víza

■ Slova vyslovujte zřetelně a pomalu rychlostí asi jedno slovo za vteřinu. Pokud si je pacient nevybaví, opakujte je nejvíce ještě 3 x, než se je naučí. Jinak bude zkrácen výsledek položky vzhledem k.

Započítá se 1 bod za každé správné opakování slova nezávisle na počtu PRVNÍM opakování.

POZORNOST A ORIENTACE

Bartoš, A.; Raisová, M.; Kopeček, M.: Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2011, 74(6): 681-684

Raisová, M.; Kopeček, M.; Řípová, D.; Bartoš, A.: Psychiatrie, 2011, 15(3): 145-150

ACE-R hraniční hodnoty

87 bodů (senzitivita 0,82; specifita 0,68)

LR+2,6 LR- 0,26 DOR: 10

83 bodů (senzitivita 0,92; specifita 0,96)

LR+23 LR- 0,08 DOR: 287

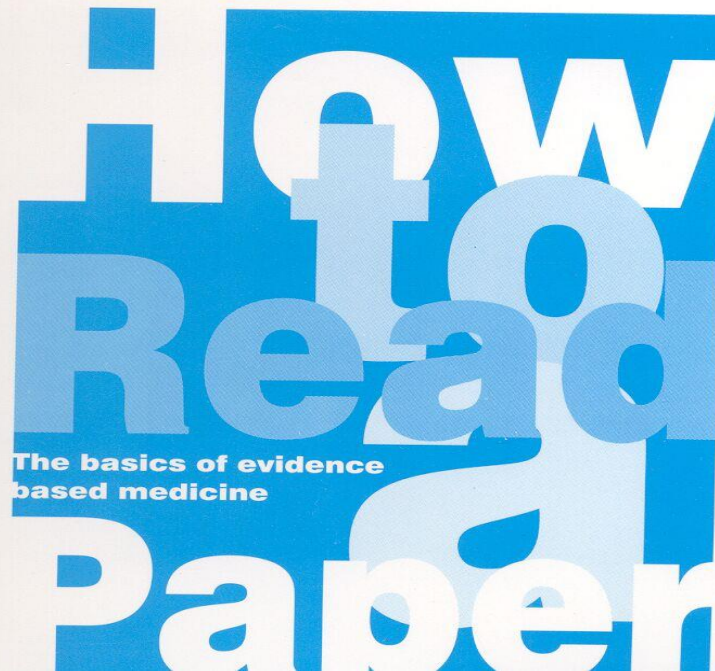
(Alexopoulos et al. Dement Geriatr Cogn Disord 2010;29:448-456)

(Hummelová-Fanfrdlová et al. Československá psychologie 2009; 53(4): 376-388)

Trisha Greenhalgh

JAK PRACOVAT S VĚDECKOU PUBLIKACÍ

Základy medicíny založené na důkazu



Tab. 7.4 Čtyřpolní tabulka ukazující výsledky studie ověřující validitu testu na glukózu v moči pro diagnostiku diabetu ve srovnání se zlatým standardem, jímž je glukózový toleranční test (založeno na odkazu 2)

		<i>Výsledek glukózového tolerančního testu</i>	
		Diabetes pozitivní 27 subjektů	Diabetes negativní 973 subjektů
<i>Výsledek testu na glukózu v moči</i>	Glukóza přítomna 13 subjektů	správně pozitivní 6 (a)	falešně pozitivní 7 (b)
	Glukóza nepřítomna 987 subjektů	falešně negativní 21 (c)	správně negativní 966 (d)

sensitivita - $a/a+c = 6/27 = 22,2\%$

specifická - $d/b+d = 966/973 = 99,3\%$

PPH - $a/a+b = 46,2\%$

NPH - $d/c+d = 97,9\%$

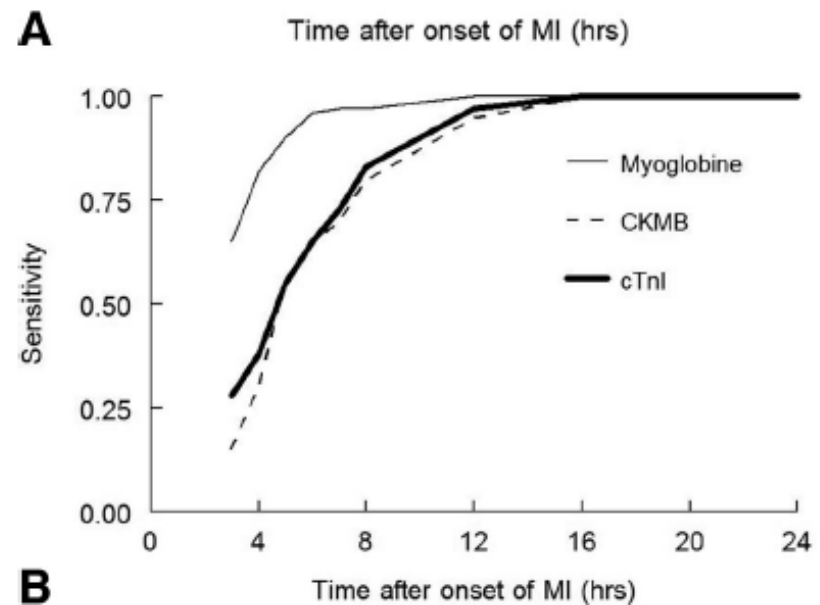
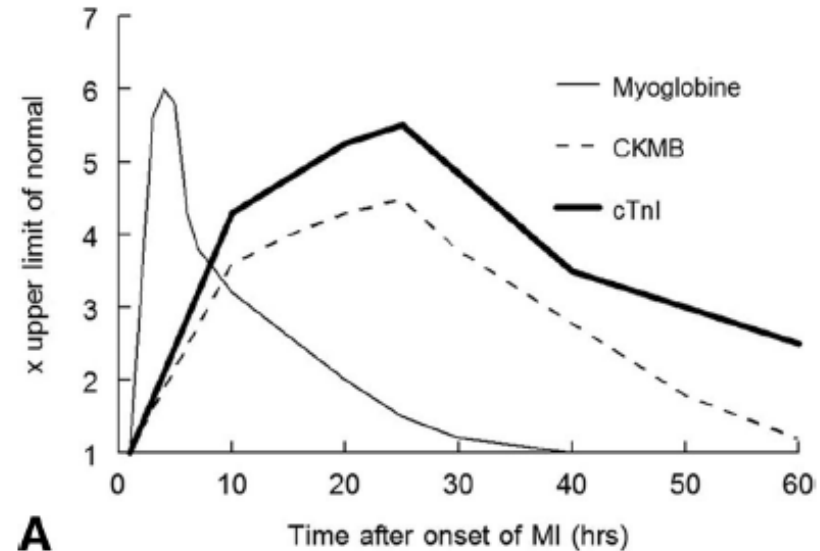
správnost - $(a+d)/(a+b+c+d) = 972/1000 = 97,2\%$

EKG a dg. ak. infarktu myokardu

- sensitivita 35.1% - 56.8%
- specificita 73.2% - 86.6%

troponin I a dg. ak. infarktu myocardu

- hladina nad 0.6 ng/mL 0-6h
- sensitivita 94%
- specificita 81%



PET a Alzheimerova demence

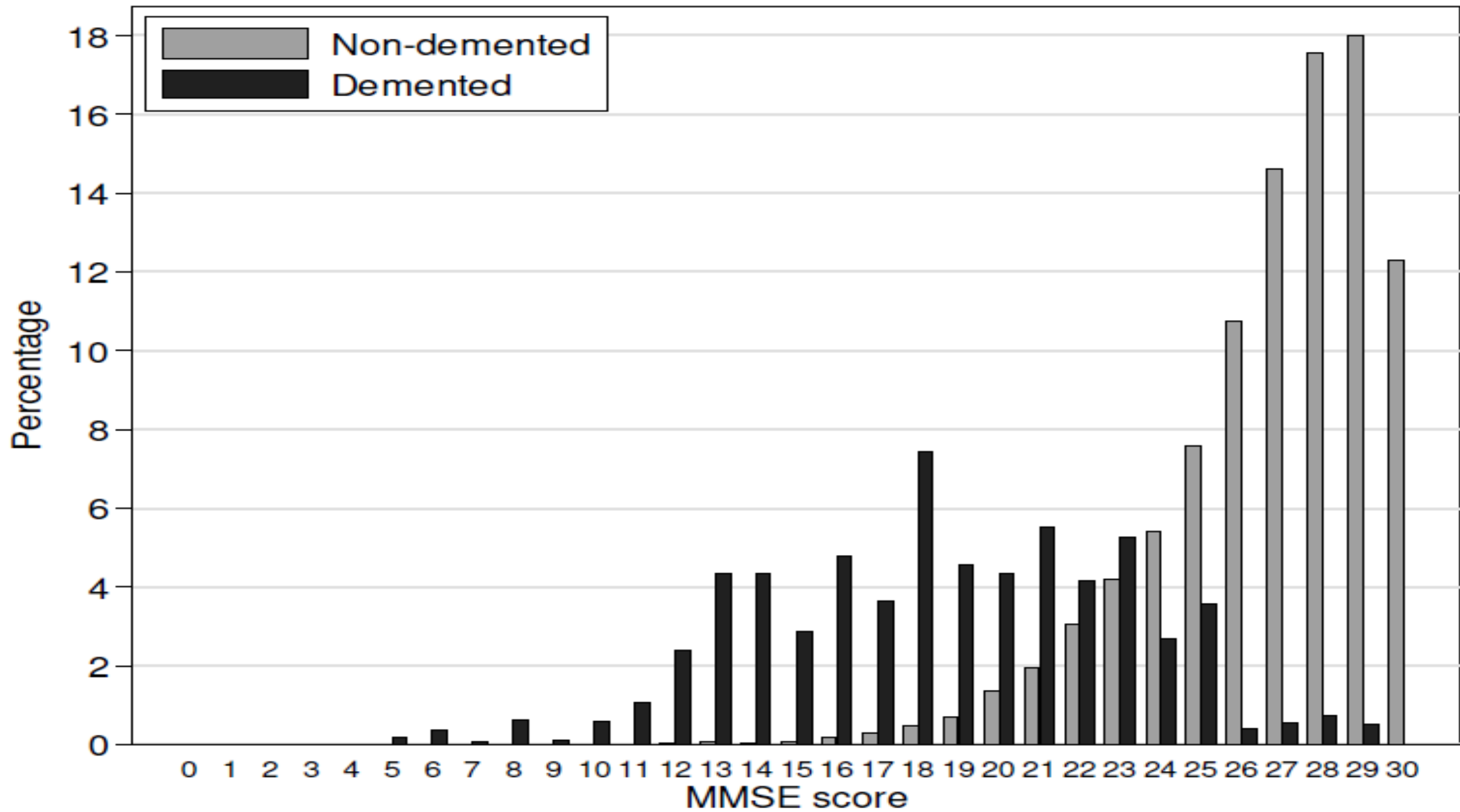
PET

- sensitivita 88% (79% - 94%)
- specificita 87% (77% - 93%)

MMSE

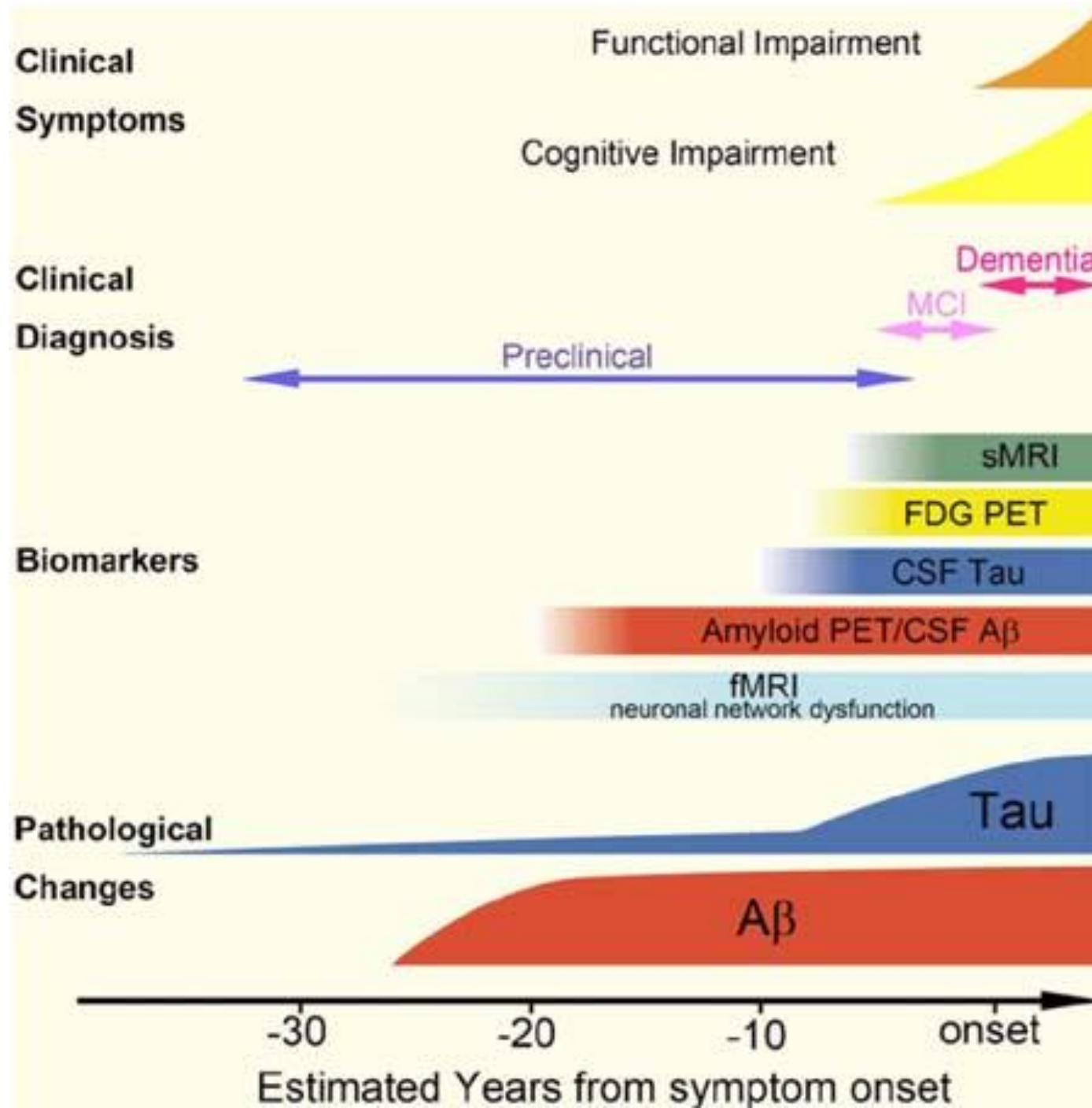
sensitivita 87%

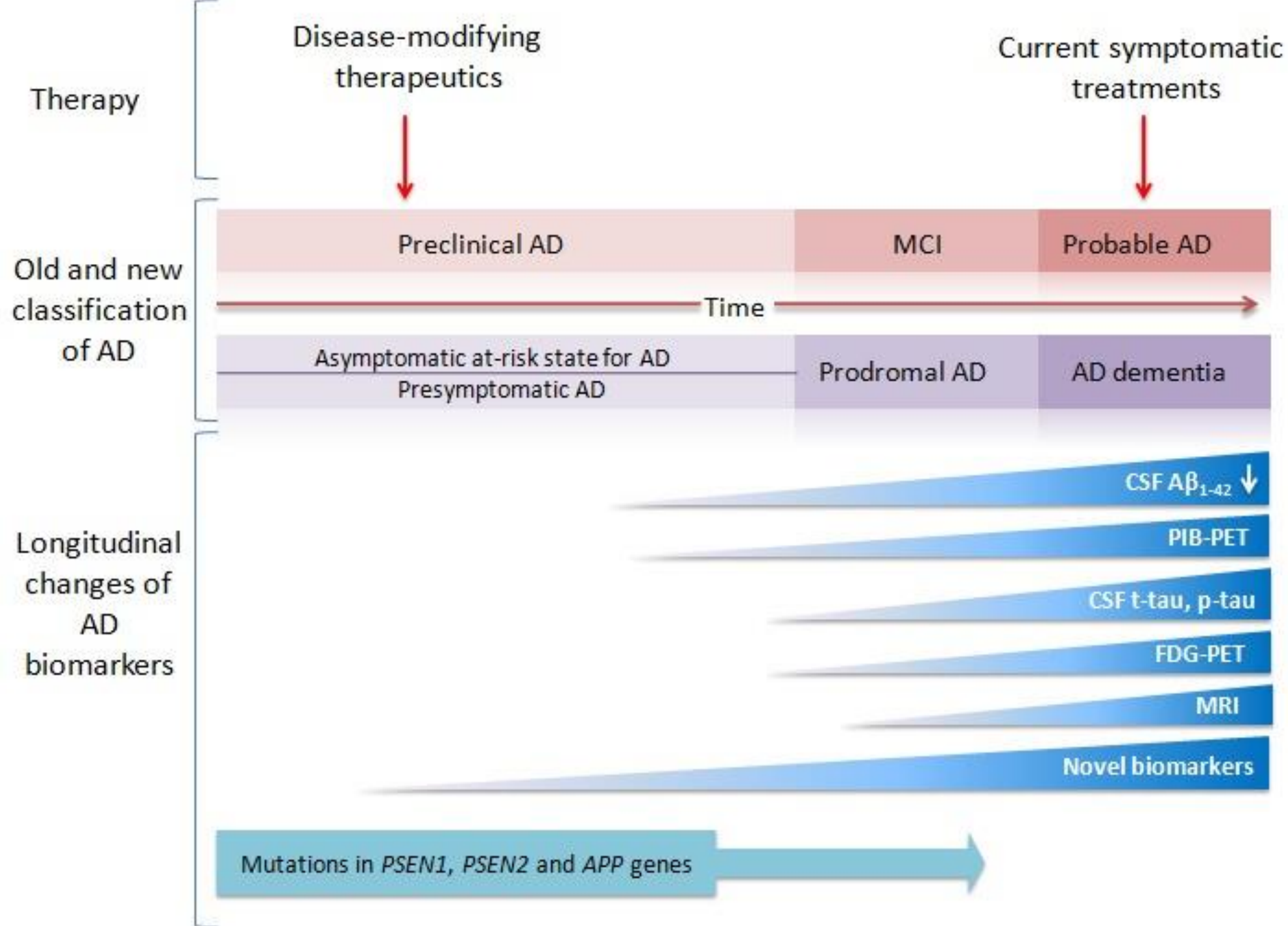
specificita 82%

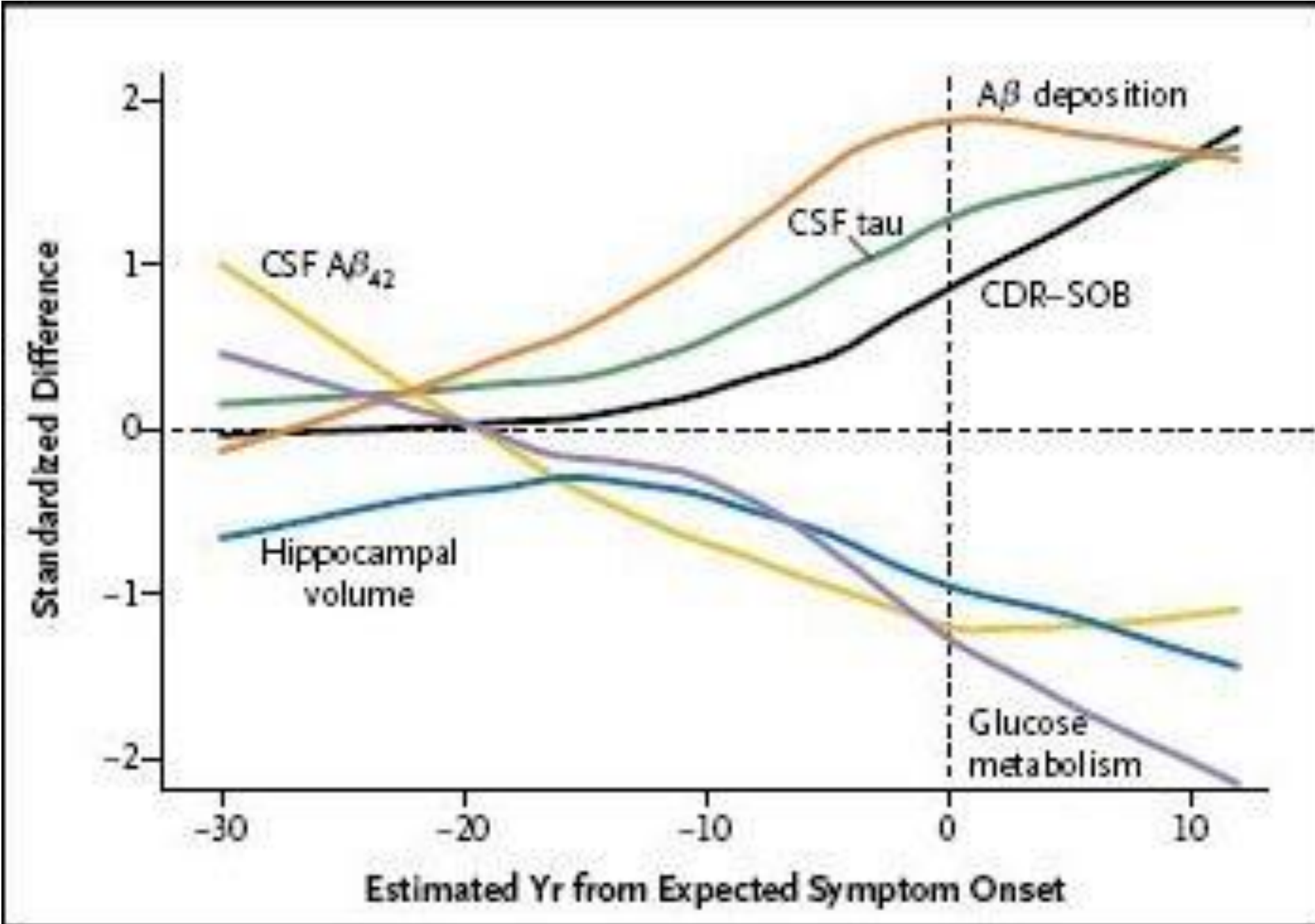


(Huppert et al. BMC Geriatrics 2005, 5:7)

demence







Bateman et al. *N Engl J Med.* 2012 Aug 30;367(9):795-804

Biomarkery BAP

- rozšíření postranních komor $d = 0,39$
(atrofie subgenuálního cingula $d = 1,1$)

narušena verbální paměť s $d = 1,39$, $d = 1,2$
resp. $d = 0,81$ při mánii, depresi i euthymii

Review Paper
Examen critique

Reduced subgenual cingulate volumes in mood disorders: a meta-analysis

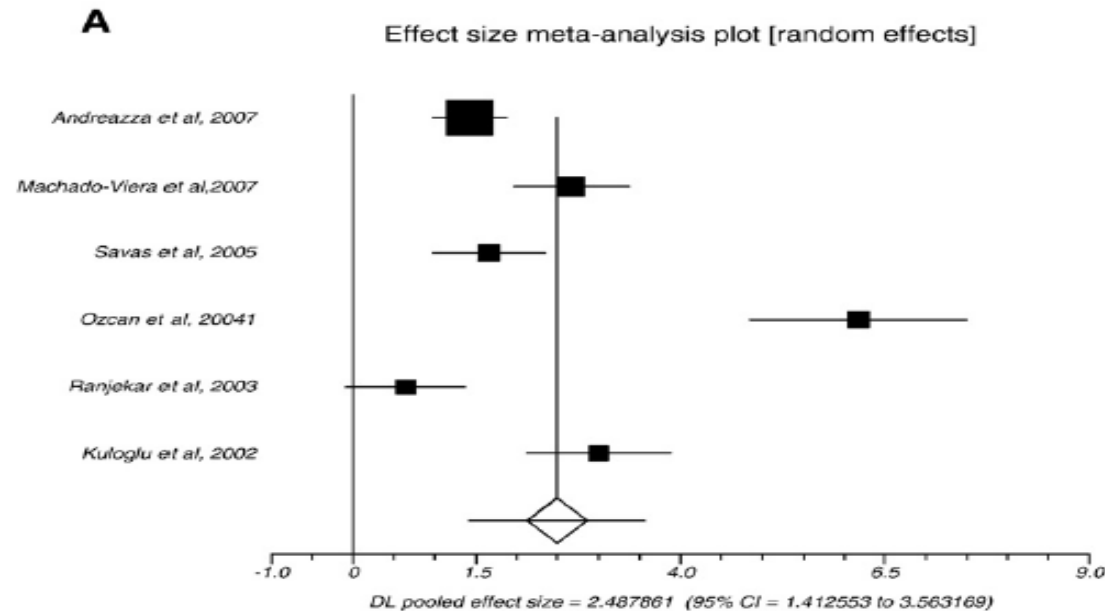
Tomas Hajek, MD, PhD; Jiri Kozeny, PhD; Miloslav Kopecek, MD, PhD;
Martin Alda, MD; Cyril Höschl, MD

Hajek, Alda – Department of Psychiatry, Dalhousie University, Halifax, NS; Hajek, Kozeny, Kopecek, Alda, Höschl – Prague Psychiatric Centre, 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; Kopecek – MOOD-CNS Program, Division of Mood and Anxiety Disorders, Department of Psychiatry, The University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Tex.; Alda – Department of Psychiatry, McGill University, Montréal, Que.

Fig. 1: Left and right subgenual cingulate SDMs, 95% CIs and relative weights for studies included in the meta-analyses. Results are presented for combined groups, unipolar, bipolar, family history positive and family history negative subjects. SDM = standard difference between means; CI = confidence interval; FH- = family history negative; FH+ = family history positive; FH? = family history status not provided; BD = bipolar disorder; UD = unipolar depression.

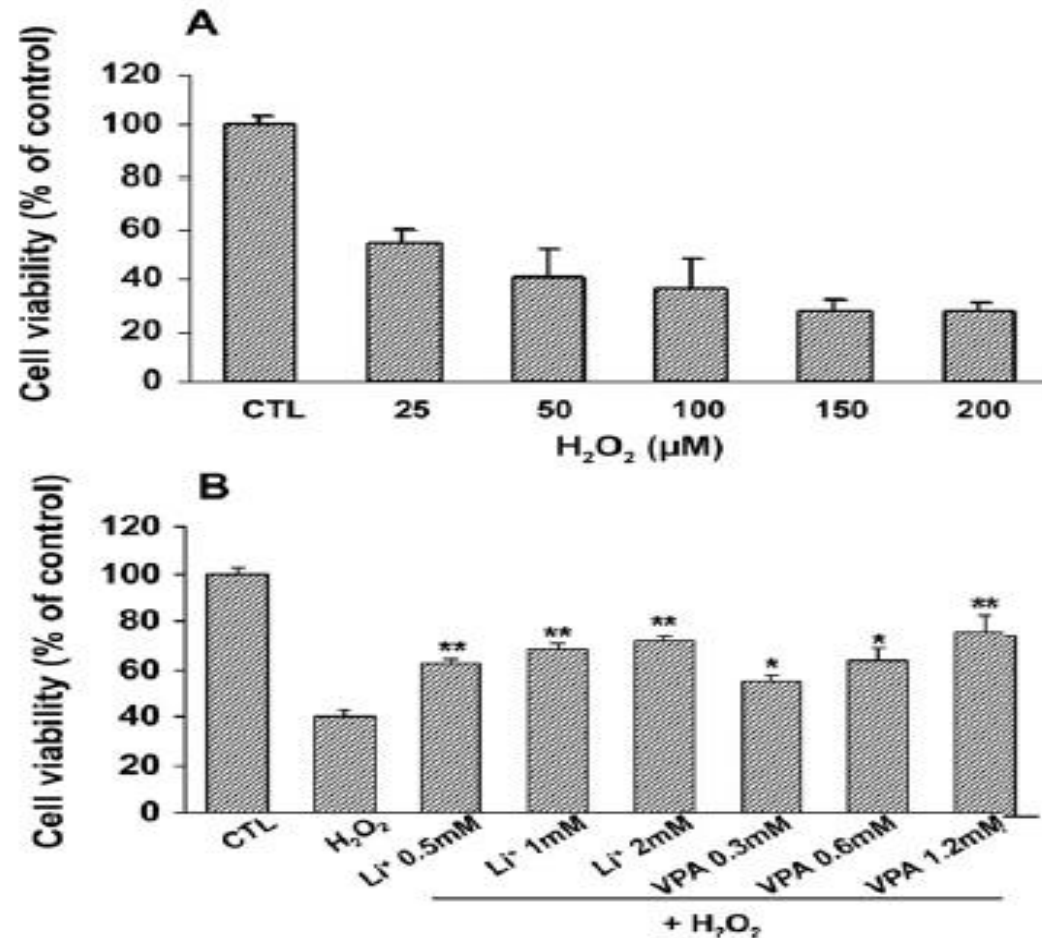
TBARS

↑ thiobarbiturové kys. reaktivní látky (TBARS) v séru $d = 2,48$
- marker oxidativního stresu a lipoperoxidace



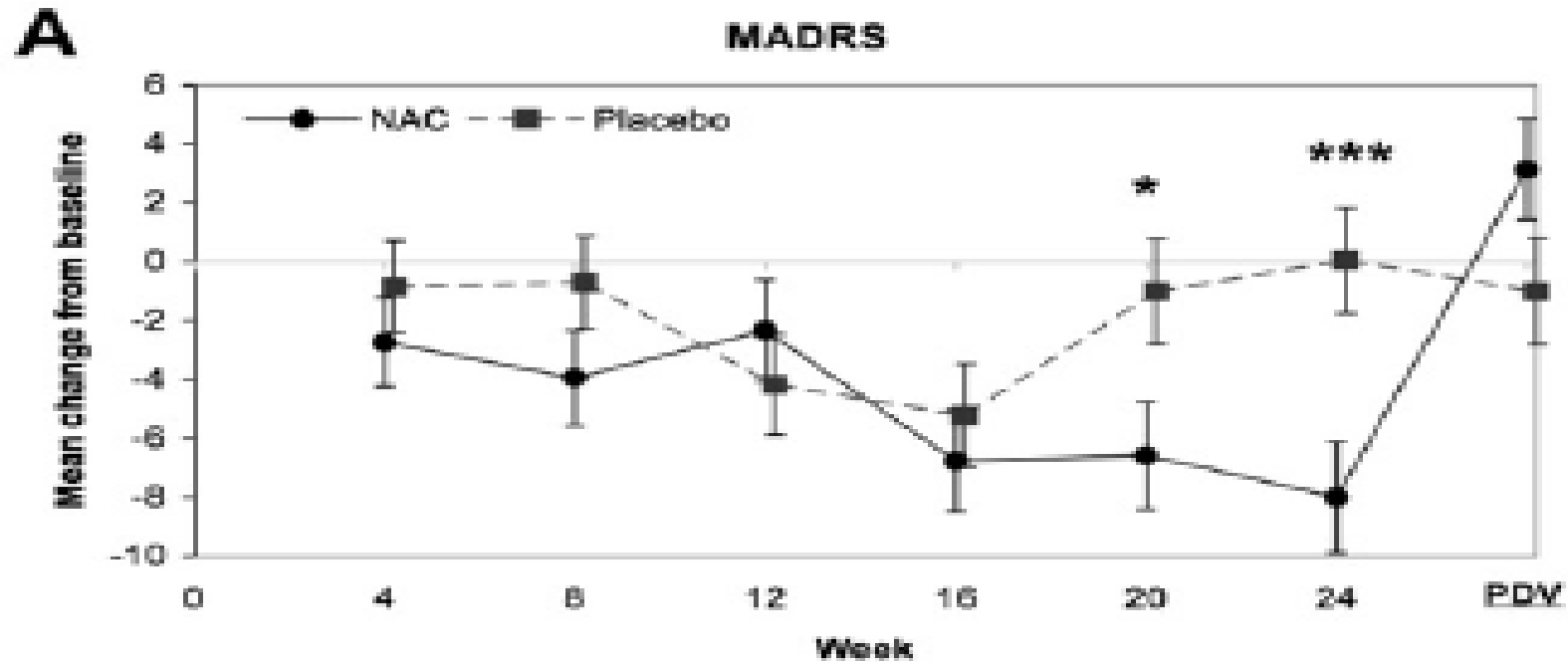
Andreazza et al. Journal of Affective Disorders 111 (2008) 135–144

Li a valproát působí proti peroxidaci



N-acetyl-cystein (prek. glutathionu)

BIOL PSYCHIATRY 2008;64:468–475



Berk et. al 2008

GSH

Table 2 Levels of GSH and its Cysteine-Related Precursors Measured in Blood from Patients after NAC Treatment and Placebo

	NAC treatment (mean ± SEM)	Placebo (mean ± SEM)	ANOVA P-value
GSH in blood cells ($\mu\text{mol/ml}$ blood)	0.82 ± 0.05	0.76 ± 0.06	0.001
GSH in whole blood ($\mu\text{mol/ml}$ blood)	0.89 ± 0.06	0.81 ± 0.07	0.006
Cysteine in plasma ($\mu\text{mol/l}$)	248.0 ± 10.0	262.4 ± 8.3	0.20
Cysteinyl-glycine in plasma ($\mu\text{mol/l}$)	43.1 ± 3.1	46.5 ± 7.3	0.17

Bold P-values indicate significant difference.

Schizophrenie

Rizikové faktory a jejich RR

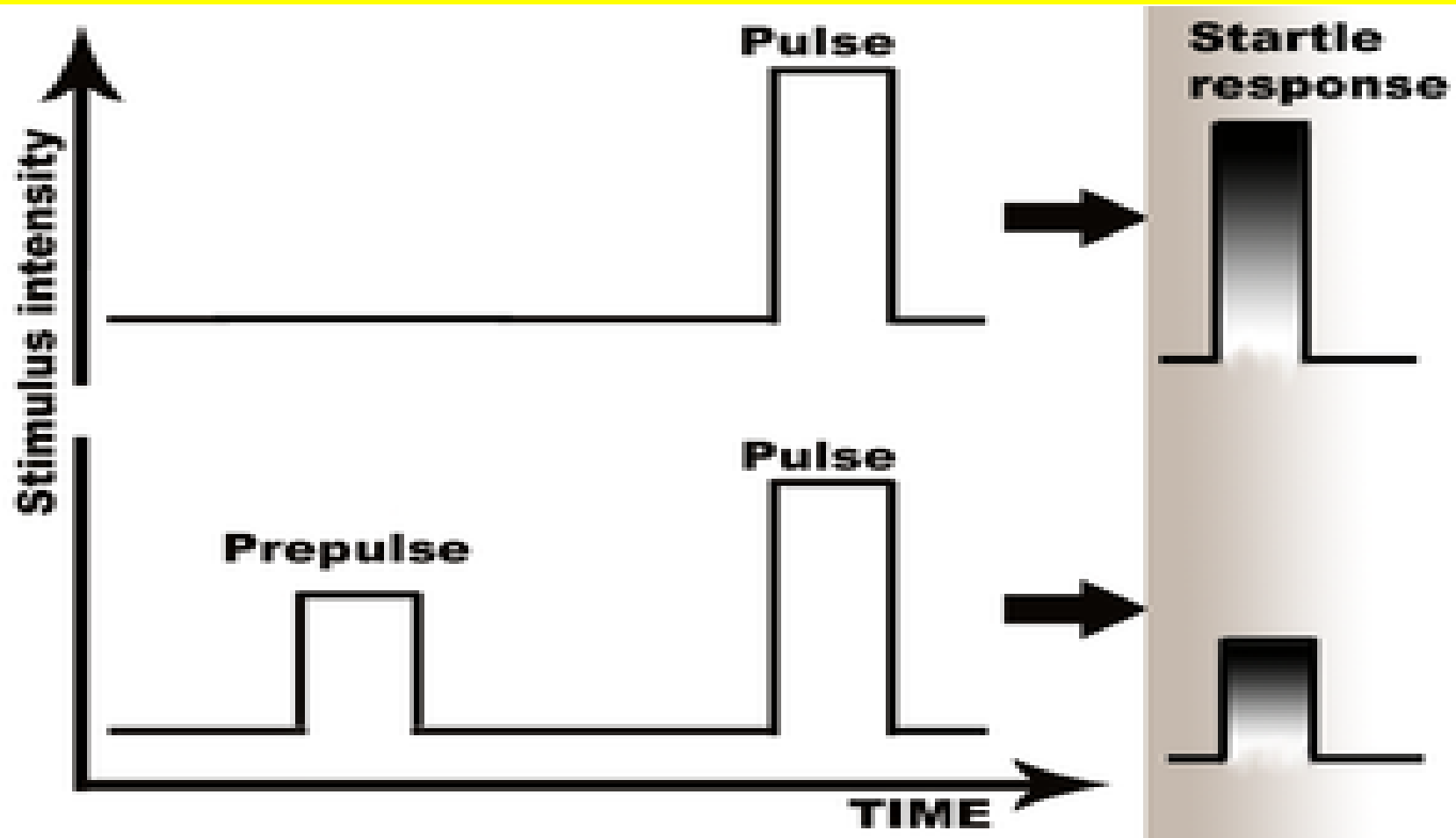
• rodinná anamnéza	2-70	Gottesman et al. (1987);
• monozygotní dvojče	50-70	Kendler et al. (1993);
• oba rodiče	40-60	Sullivan et al. (2003)
• dizygot. dvojče nebo příb. 1. řádu	9-18	
• příbuzný 2. řádu (dědeček)	3-6	
• příbuzný 3. řádu (bratranec)	2-3	
• samotný gen	1.1-1.5	Allen et al. (2008)
• urbanicita	2-3	Pedersen and Mortensen (2001)
• migrace	2-3	Cantor-Graae and Selten (2005)
• infekce či malnutrice v 1.-2. trimestru	2-3	Penner and Brown (2007)
• narození v zimě	1.1	Davies et al. (2003)
• komplikace v těh. a perinat.	2-3	Geddes and Lawrie (1995);
• cannabis či stimulancia	2-3	Semple et al. (2005)
• otcové nad 35 let	1.5-3	Wohl and Gorwood (2007)
• mužské pohlaví	1.4	Aleman et al. (2003)

R. Tandon et al. / Schizophrenia Research 102 (2008) 1-18

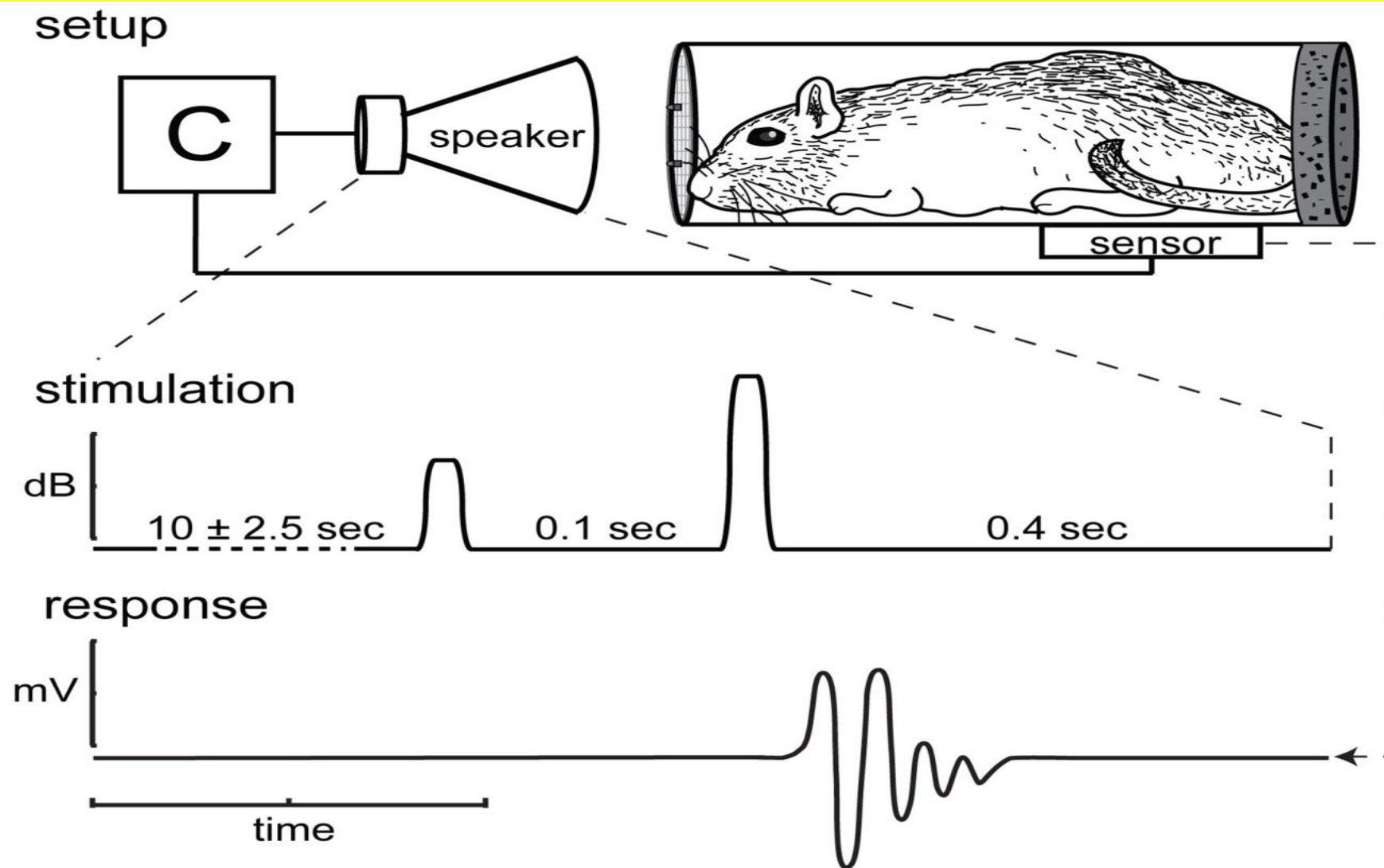
Biomarkery - velikost účinku (ES)

- ↓objemu mozku 0.25 d
- ↑komor 0.49 d
- hypofrontalita 0.42 d (aktivační)
0.55 d (klidová)
- P50 amplituda 1.5 d
- sluch. P300 0.85 d
- MMN 1.0 d

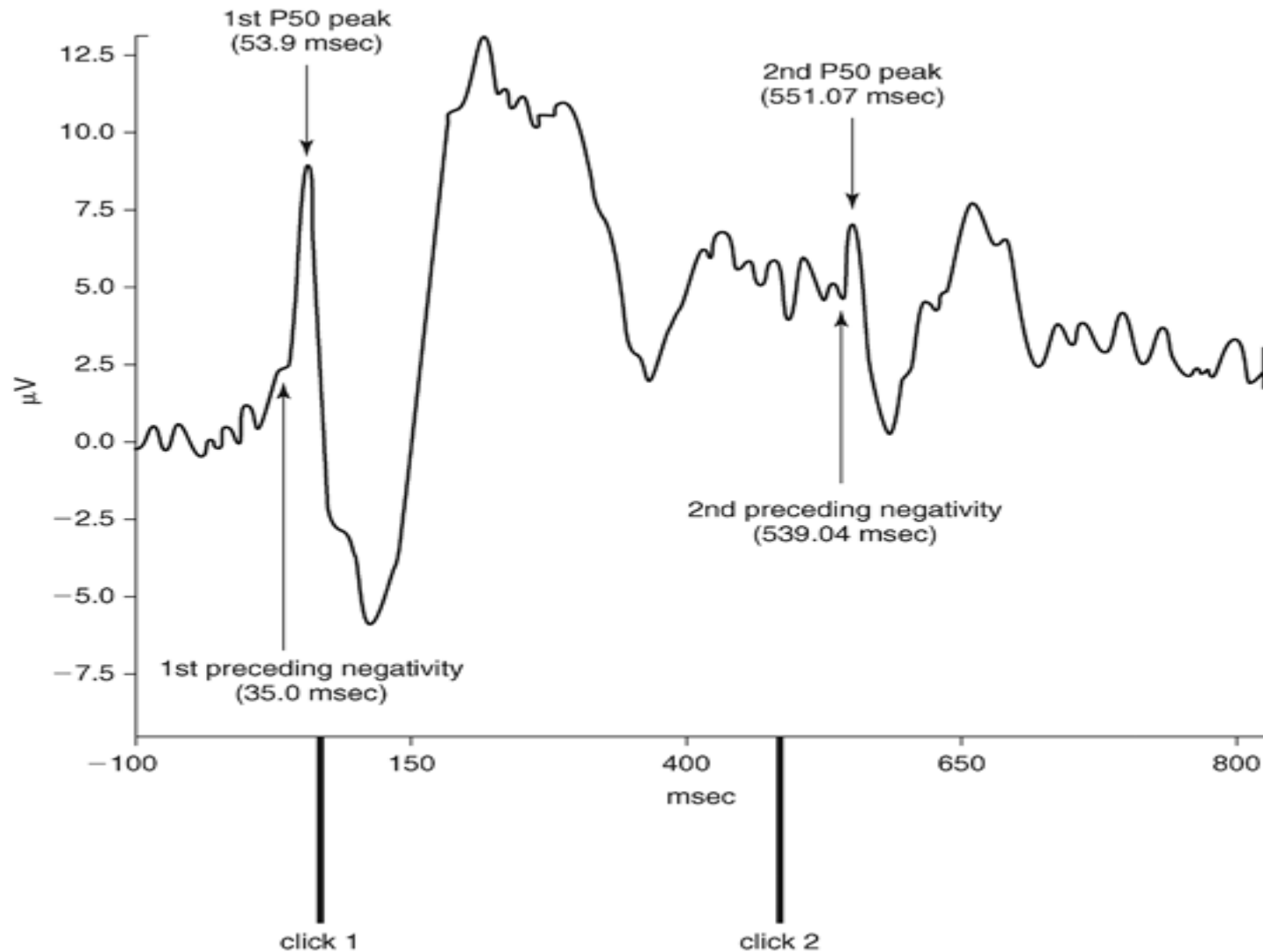
PPI - prepulzní inhibice (antipsychotika)



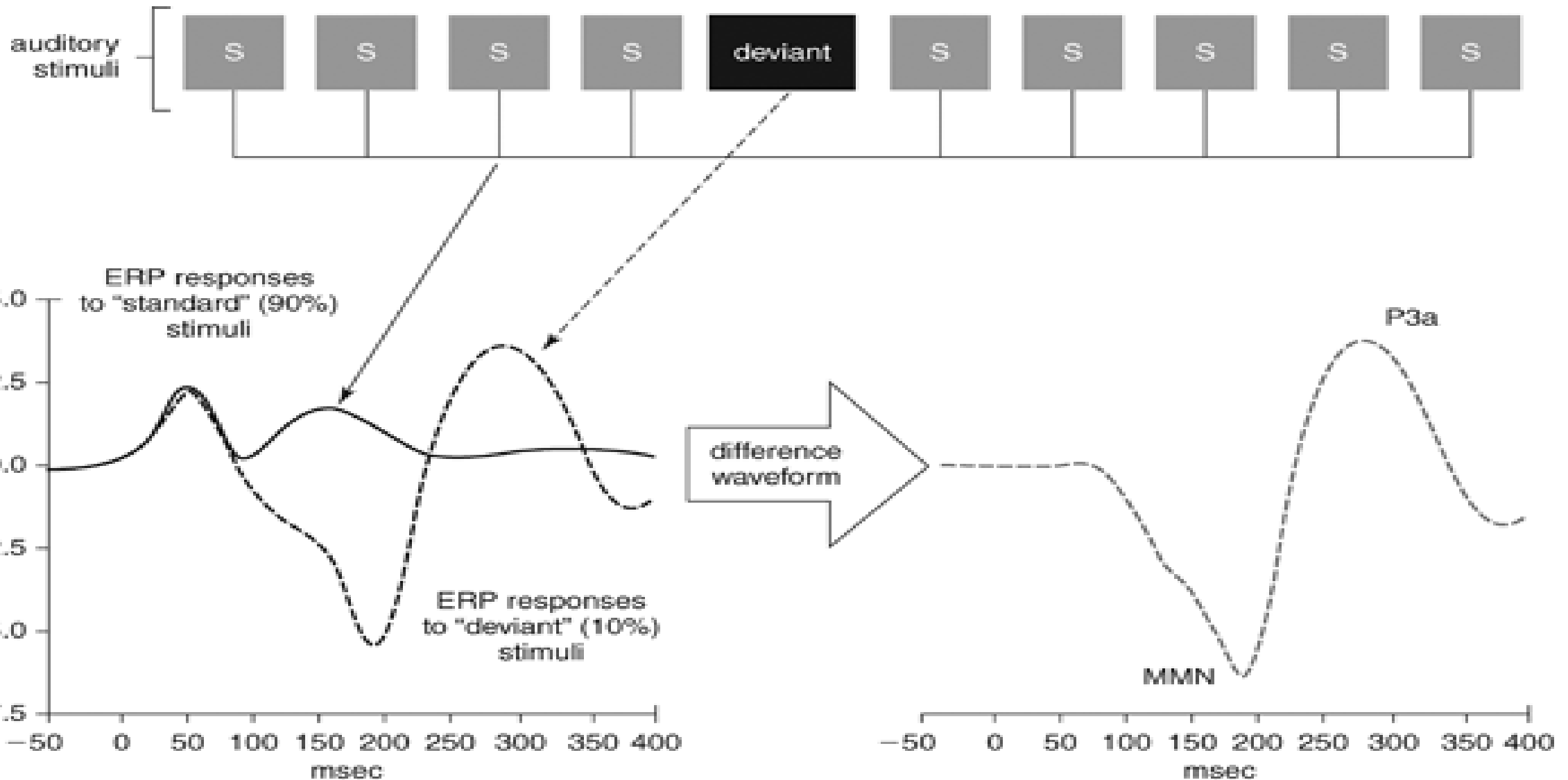
PPI - prepulzní inhibice



suprese vlny p50



Mismatch negativity



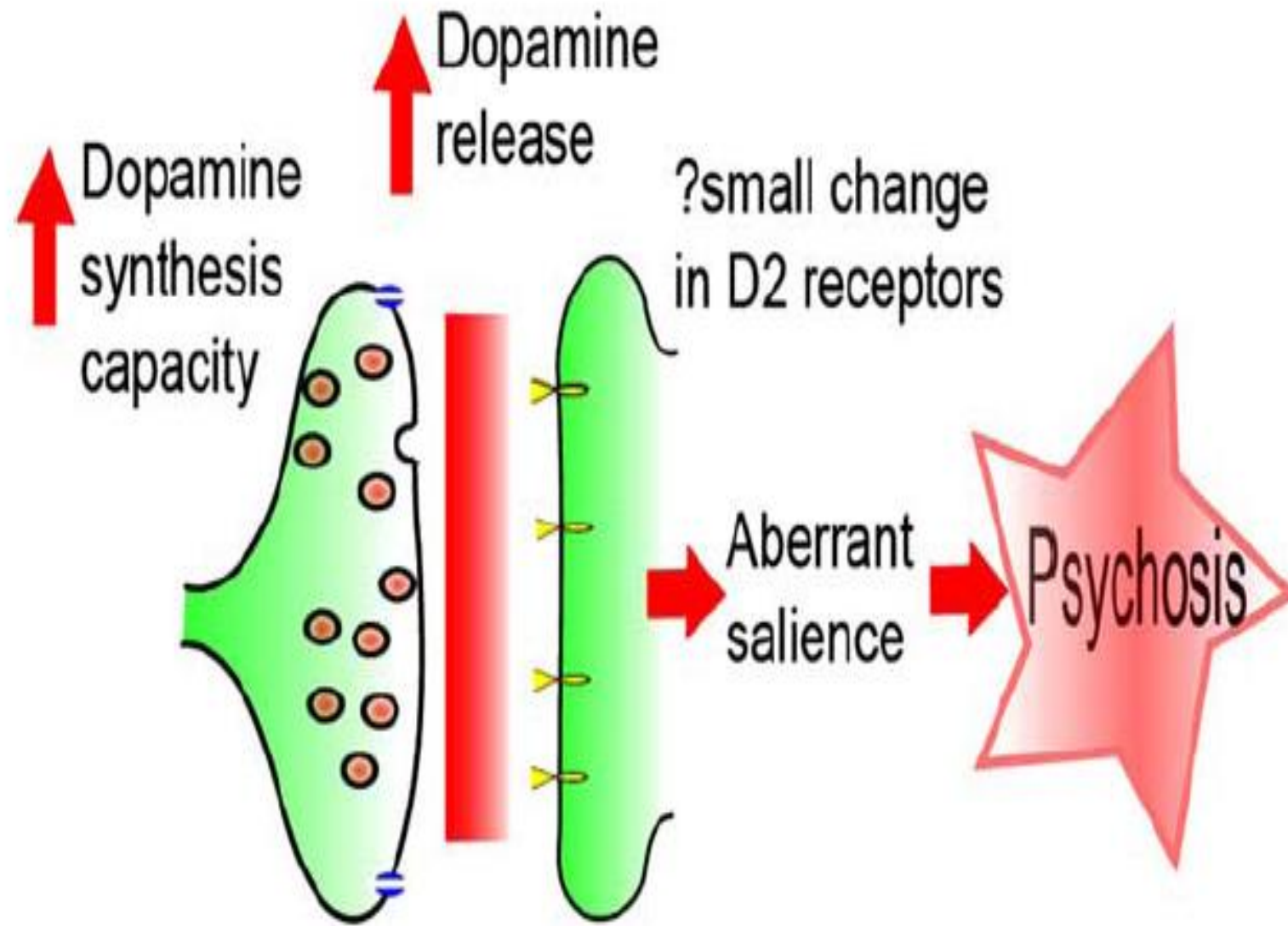


Fig. (1). Showing the main dopaminergic abnormalities in schizophrenia and the proposed mechanism linking these to psychotic symptoms.

18F-DOPA u schizofrenie

Meta-analysis of Striatal Presynaptic Dopamine in Schizophrenia, Part II

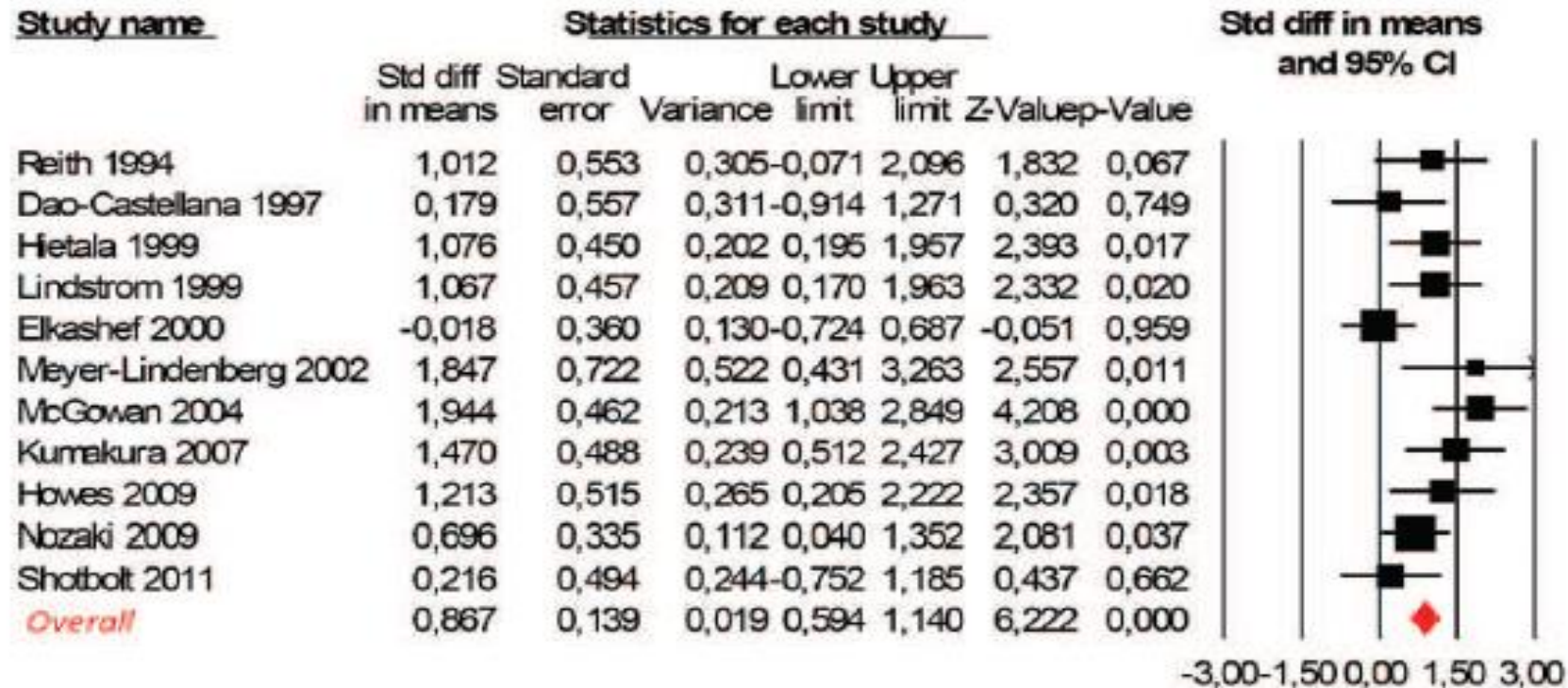


Fig. 2. Meta-analysis of striatal dopamine synthesis capacity (DSC) in schizophrenia employing random effect models (test for heterogeneity $Q = 19.19$; $P = .078$; $I^2 = 39.17$). Positive values of Hedges' g indicate greater DSC in patients as compared with controls.

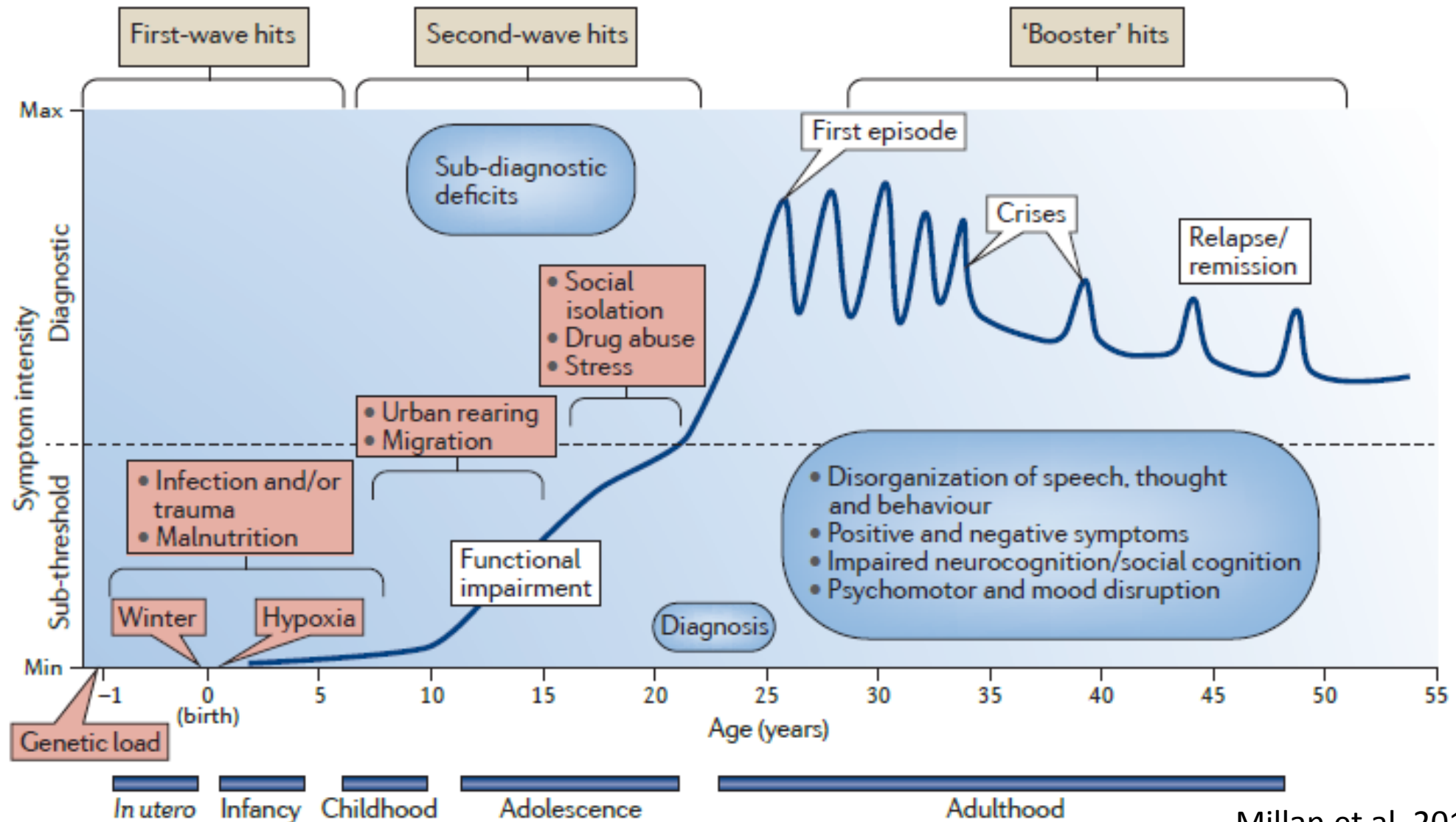
(Paolo Fusar-Poli and Andreas Meyer-Lindenberg, Schizophrenia Bulletin, 2012)

- ES upregulace D2 rec. je zranitelný proti 18F-DOPA

- ES kognitivních testů – soubor různých meta-analýz

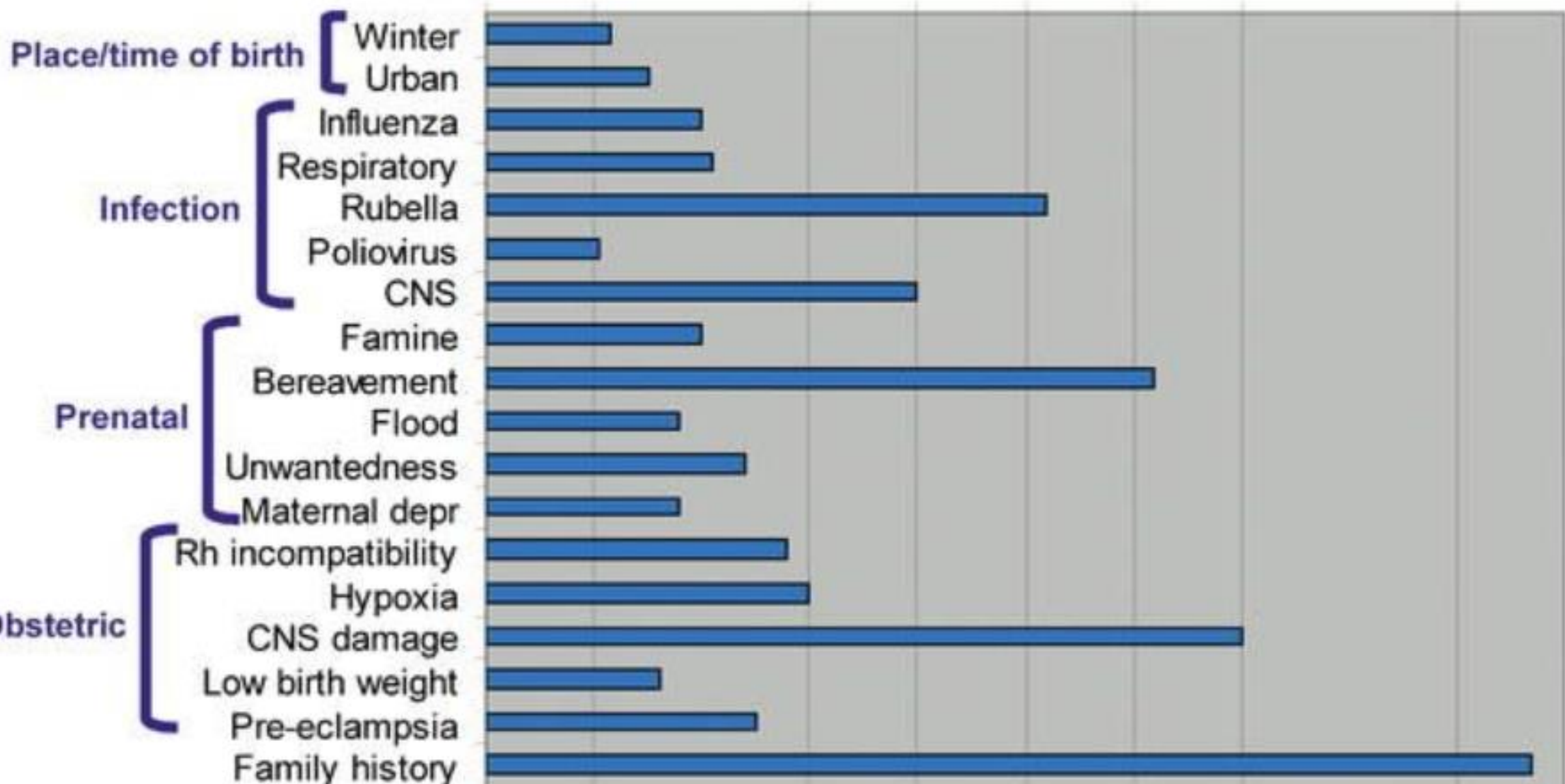
	SCH	1. gen. SCH	Af. psychóza	Bipolární p.	1. gen. Bipol.
DSST	-1.5	-0.62	-1.02	-0.75	-0.22
CF	-1.31	-0.68	-0.96	-0.37	
CVLT Imme	-1.25	-0.45	-0.95	-0.73	-0.42
CVLT -delay	-1.09		-0.81	-0.77	-0.27
WCST- categ	-1.03	-0.26	-0.87	-0.66	-0.24
TMT-B	0.93	0.51	0.83	0.99	0.38
TMT-A	0.85	0.38	0.91	0.69	0.17
VF	-0.82	-0.35	-0.69	-0.60	-0.27
WCST- pers	0.75	-0.37	-0.95	-0.70	-0.36

Trajektorie schizofrenie

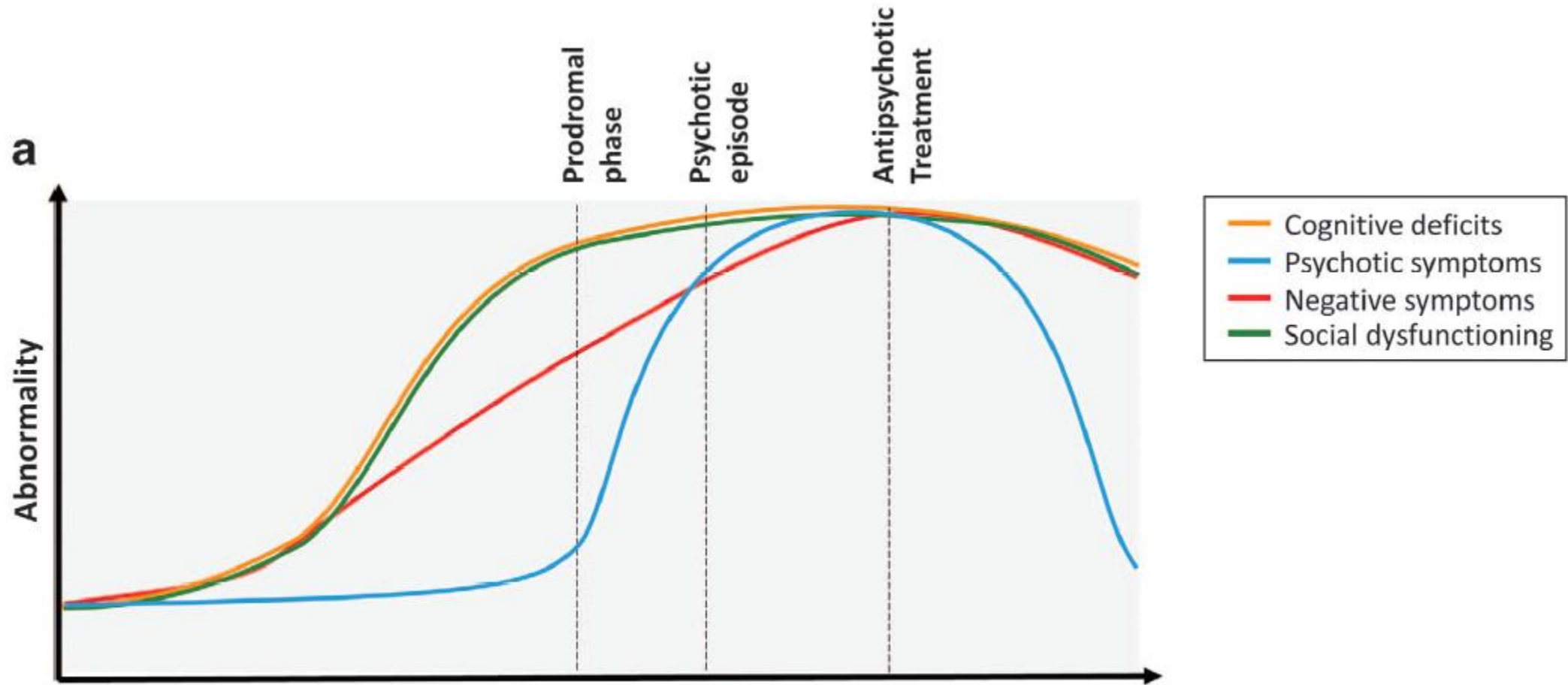


Odds Ratio

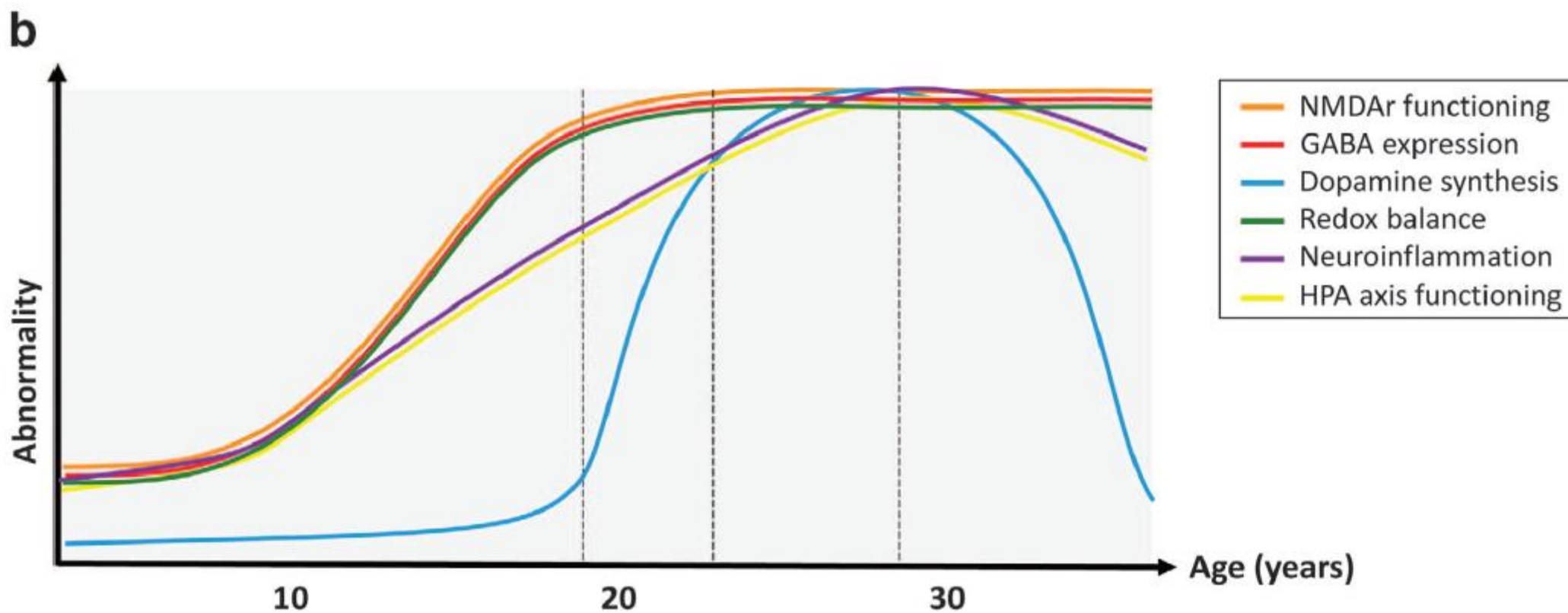
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

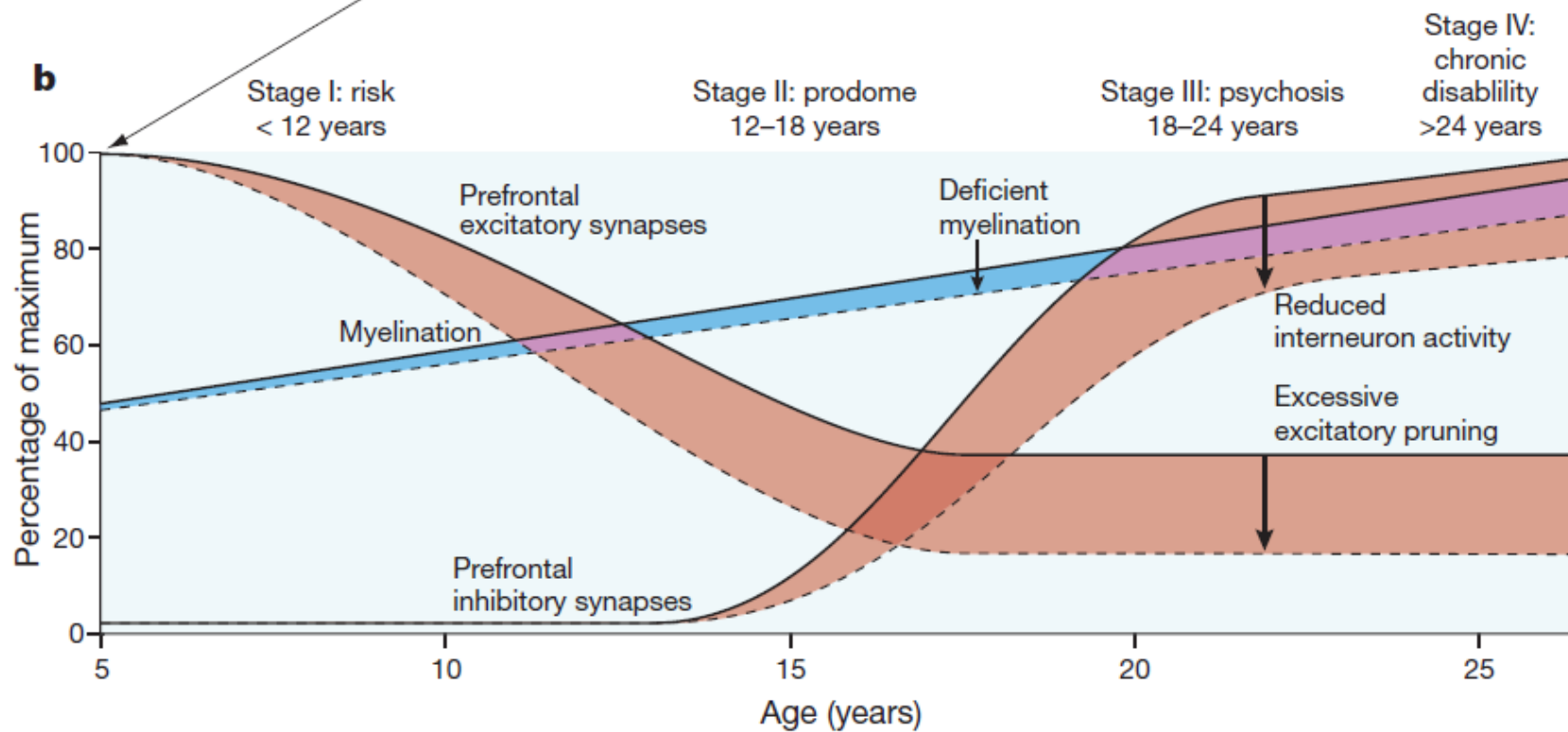
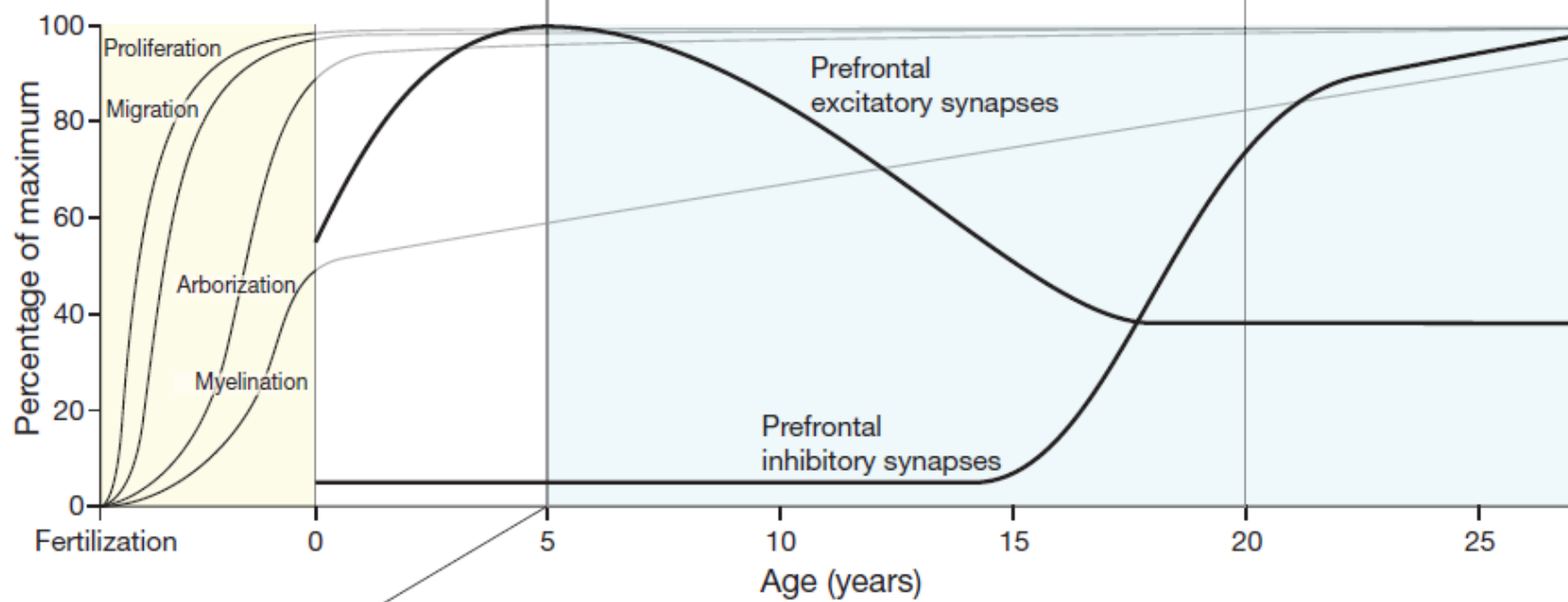


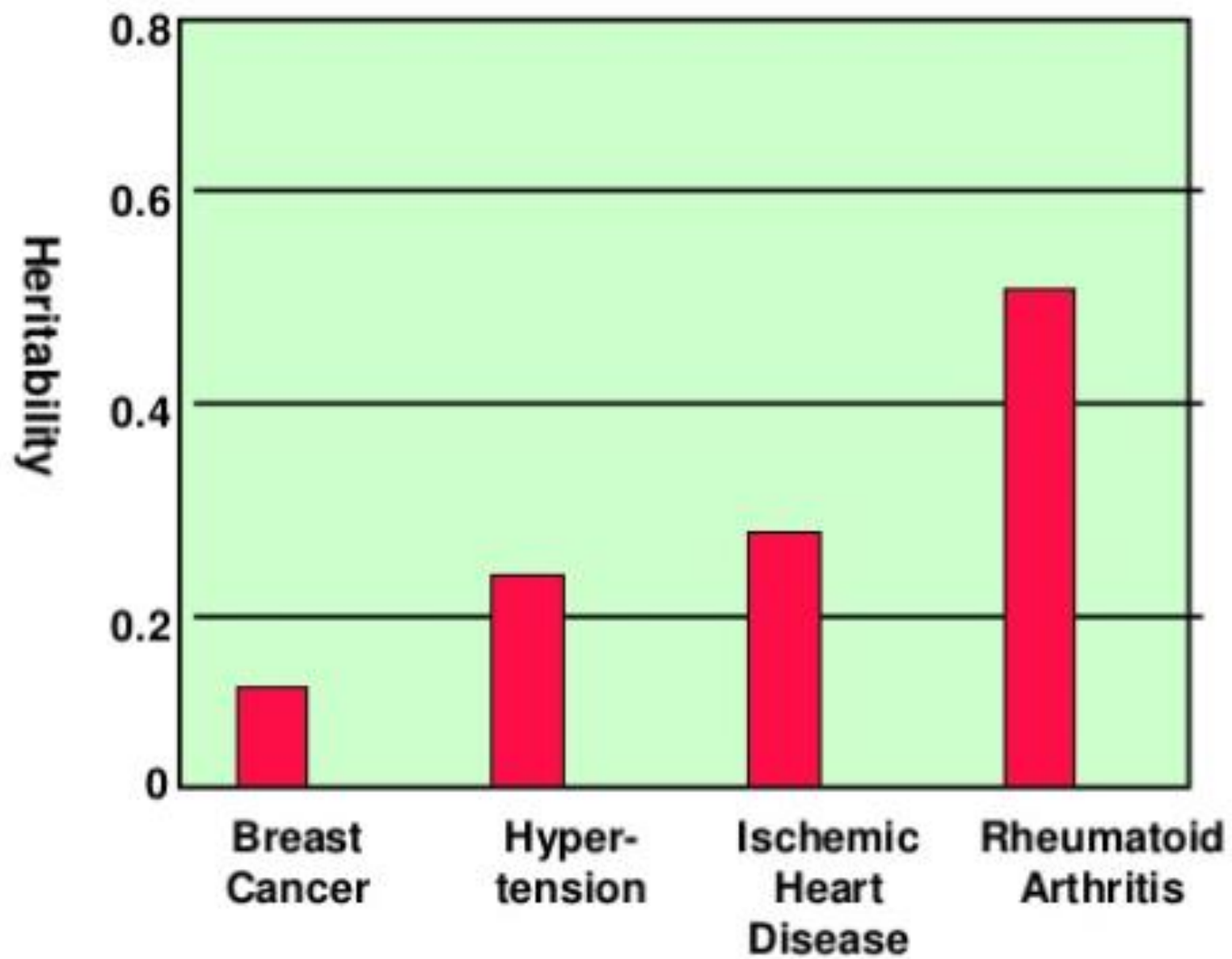
Hypotetický model

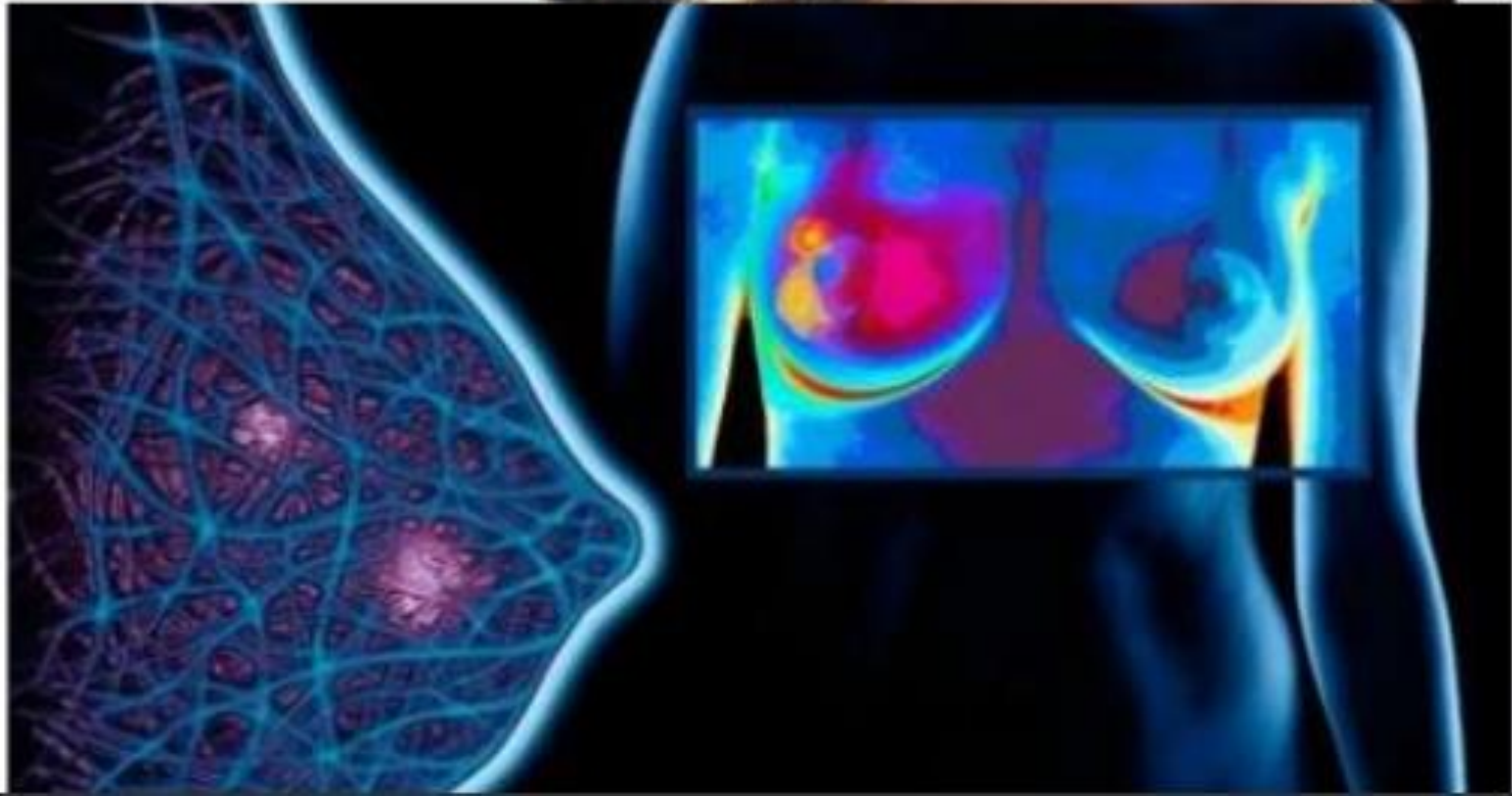


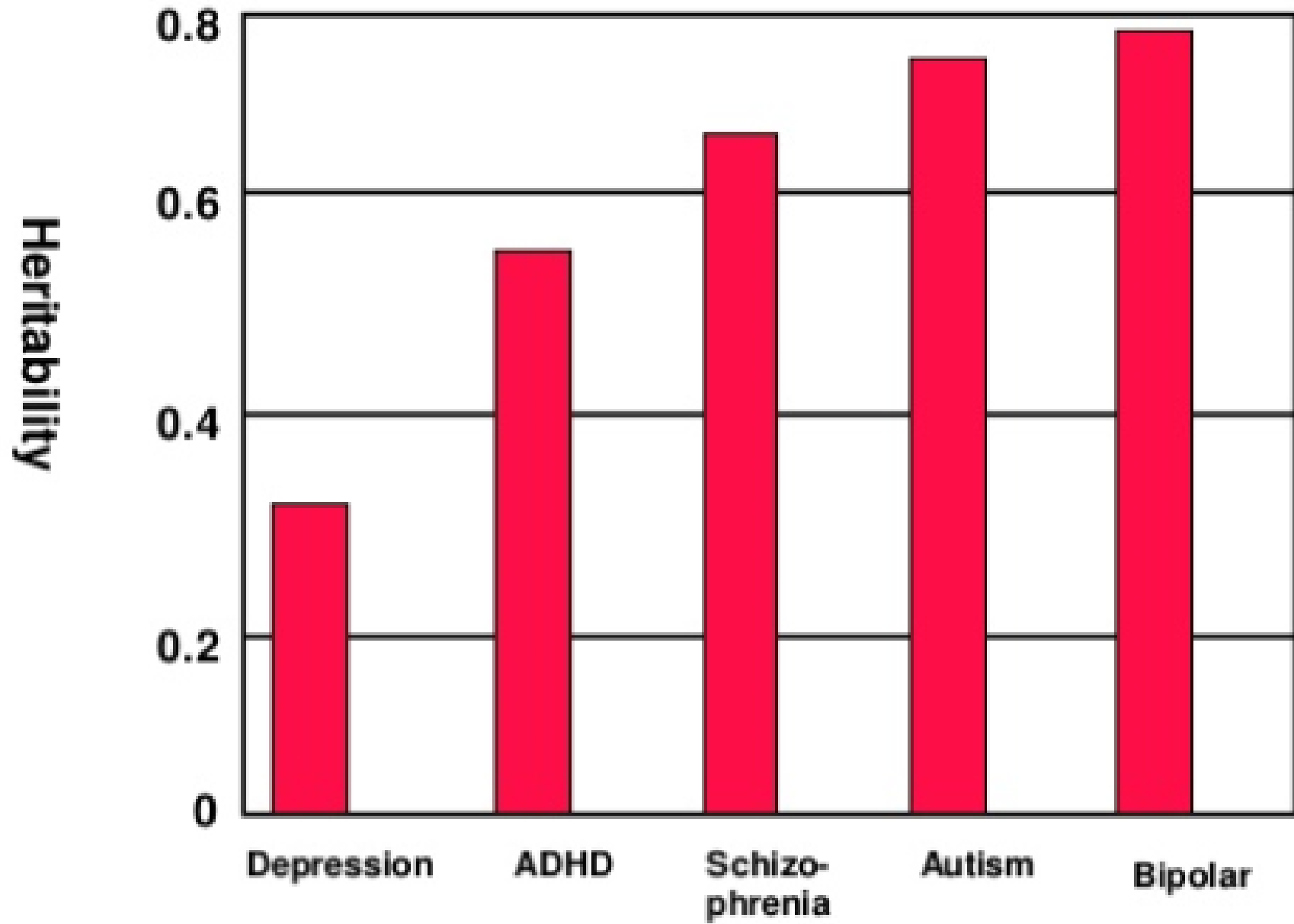
Hypotetický model



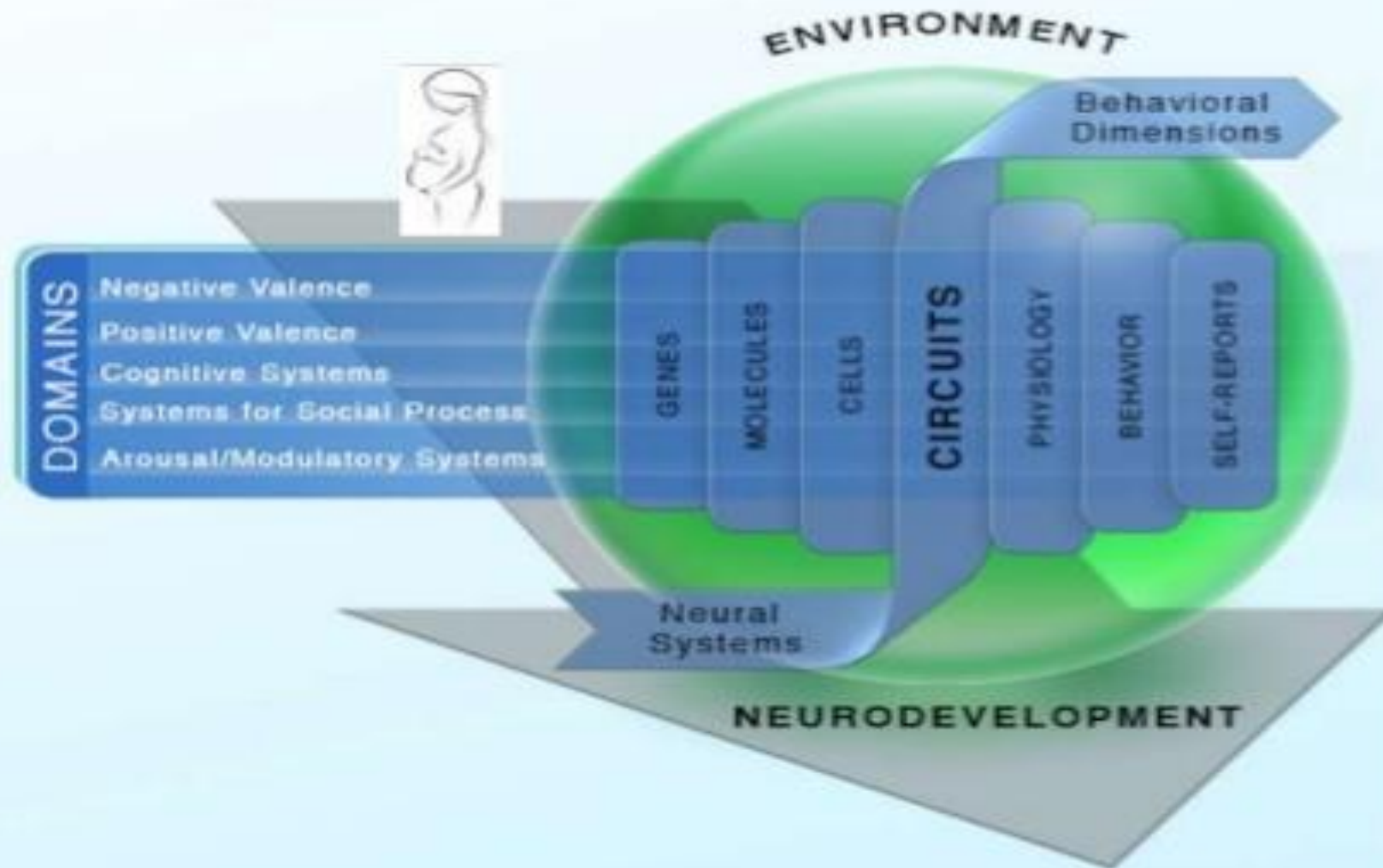




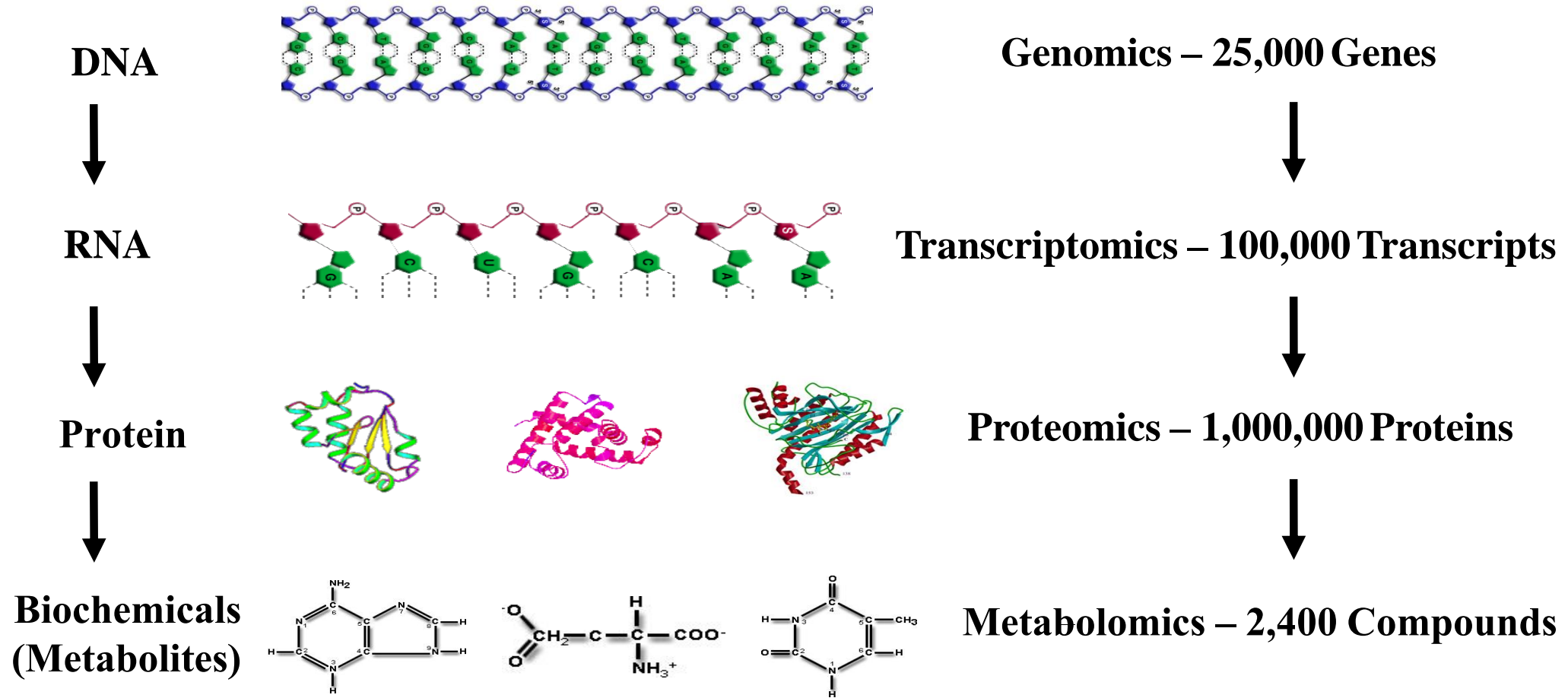




The RDoC Framework: Four main components



Metabolomics

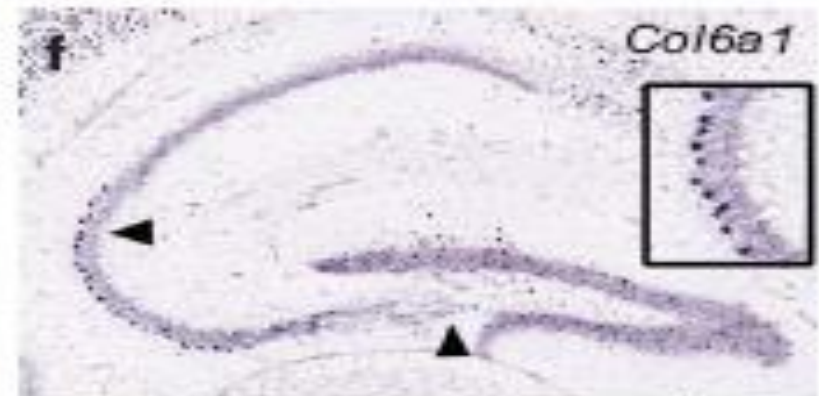
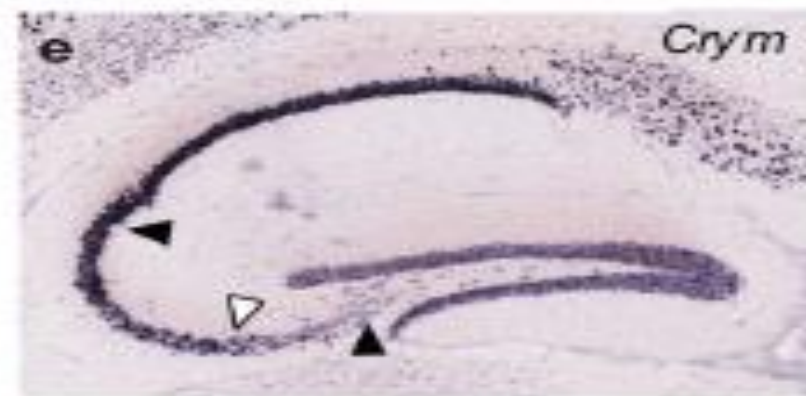
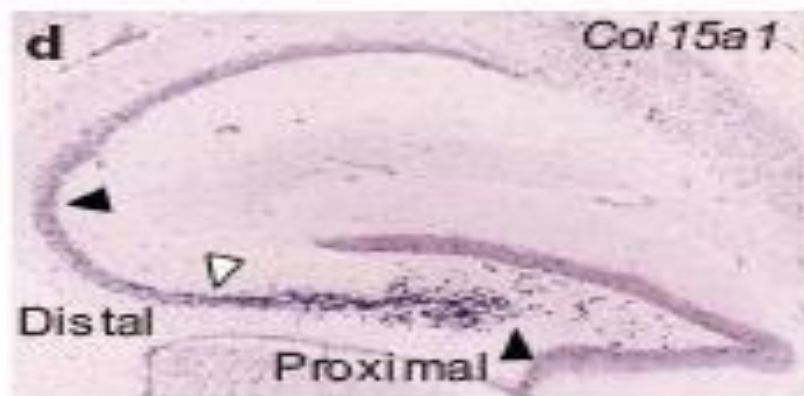
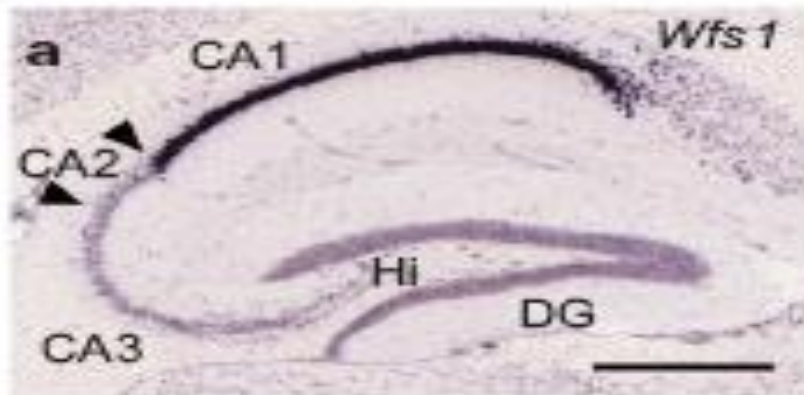




26.000 genů

80% genů je exprimováno v mozku

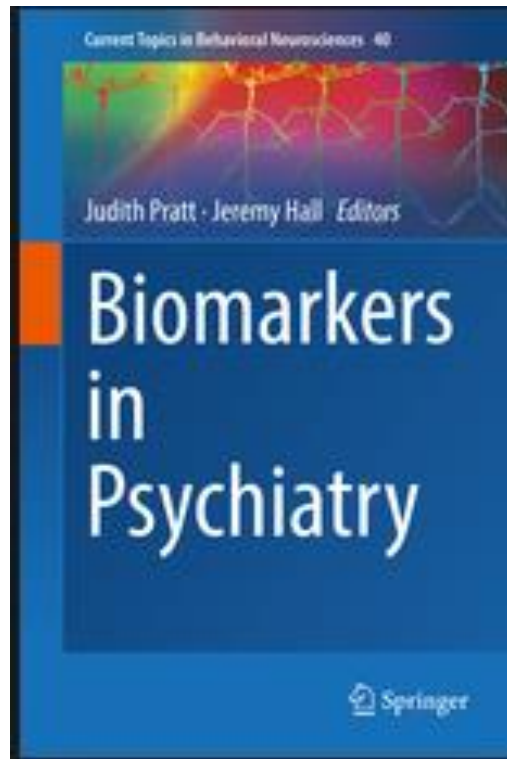
<http://www.brain-map.org/>



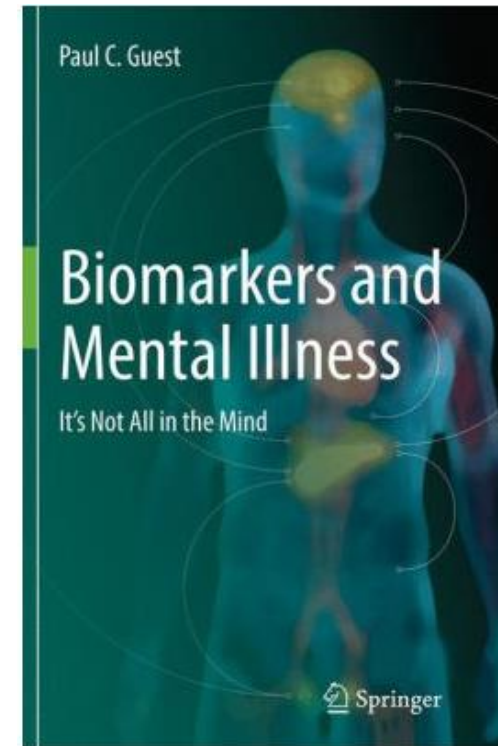
- 1,137 z 5,099 analysovaných genů bylo detekováno v určité oblasti hipokampu

(Lein et al., 2007)

Literatura



Biomarkers in Psychiatry
Editors: **Pratt**, Judith, **Hall**, Jeremy (Eds.), 2018



Biomarkers and Mental Illness: It's Not All in the Mind
by Paul C. Guest, 2017

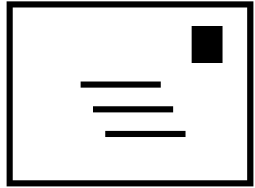
Literatura

Ray P et al . Statistical Evaluation of a Biomarker Anesthesiology 2010; 112:1023-40.

Scarr et al. Biomarkers for Psychiatry: The Journey from Fantasy to Fact, a Report of the 2013 CINP Think Tank. International Journal of Neuropsychopharmacology, 2015, 1–9

Light GA, Swerdlow NR. Future clinical uses of neurophysiological biomarkers to predict and monitor treatment response for schizophrenia. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1344 (2015) 105–119.

Děkuji za pozornost



miloslav.kopecek@nudz.cz



www.researchgate.net

<http://scholar.google.cz>