



**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



Klinika plastické chirurgie FNKV

**Kristina Straková**

**Morfologické změny sensorických  
chuťových receptorů u pacientů s  
rozštěpem rtu a patra**

*Morphological changes of sensory taste  
buds in patients with cleft lip and palate*

*Diplomová práce*

Praha, červenec 2009

Autor práce: Kristina Straková, Ondřej Šedivý

Studijní program: Všeobecné lékařství

Studijní obor: Všeobecné lékařství

Vedoucí práce: **Doc. Markéta Dušková, CSc.**

Pracoviště vedoucího práce:

**Klinika plastické chirurgie 3. LF UK a FNKV, Praha**

Datum a rok obhajoby: 10.9.2009

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsme předkládanou práci zpracovali samostatně a použili jen uvedené prameny a literaturu. Současně dáváme svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne 2.srpna 2009

Kristina Straková  
Ondřej Šedivý

## **Poděkování**

Na tomto místě bychom rádi poděkovali paní Doc.MUDr. Markétě Duškové, CSc. za trpělivost a snahu projevenou během vzniku této diplomové práce. Dále chceme poděkovat panu MUDr. Bohuslavu Sosnovi za rady a podporu při zpracovávání materiálu v Ústavu patologie FNKV a 3. LF UK, Praha. V neposlední řadě děkujeme panu RNDr. Bohumíru Procházkovi, CSc., SZÚ Praha, za pomoc se statistickým zpracováním získaných dat.

<b>ÚVOD</b> .....	6
<b>1. PŘEHLED SOUČASNÝCH POZNATKŮ</b> .....	8
1.1 EPIDEMIOLOGIE .....	8
1.2 EMBRYOLOGIE .....	9
1.3 FORMOVÁNÍ ROZŠTĚPU A FUNKČNÍ ANATOMIE .....	11
1.4. LÉČBA PACIENTŮ S ROZŠTĚPEM .....	12
1.5 MORFOLOGIE JAZYKA A CHUŤOVÝCH POHÁRKŮ .....	13
<b>2. OBJEKTIVIZACE INERVACE JAZYKA A VNÍMÁNÍ CHUŤOVÝCH MODALIT</b> .....	17
2.1 MATERIÁL .....	17
2.2 SENZORICKÁ INERVACE.....	19
2.2.1 <i>Metodika</i> .....	19
2.2.2 <i>Výsledky</i> .....	20
2.3 MOTORICKÁ INERVACE.....	24
2.3.1 <i>Metodika</i> .....	24
2.3.2 <i>Výsledky</i> .....	24
2.4 SENZITIVNÍ INERVACE.....	24
2.4.1 <i>Metodika</i> .....	24
2.4.2 <i>Výsledky</i> .....	25
2.5 DISKUSE.....	25
2.6 ZÁVĚR.....	26
<b>3. MORFOLOGIE CHUŤOVÝCH PAPIL A POHÁRKŮ</b> .....	28
3.1 ANATOMIE, VZNIK A VÝVOJ CHUŤOVÝCH POHÁRKŮ .....	28
3.2 MATERIÁL A METODIKA.....	29
3.3 VÝSLEDKY .....	30
3.4 DISKUZE.....	31
3.5 ZÁVĚR.....	32
<b>SOUHRN</b> .....	33
<b>SUMMARY</b> .....	35
<b>ZDROJE</b> .....	37

## Úvod

Téma své diplomové práce **Morfologické změny sensorických chuťových receptorů u pacientů s rozštěpem rtu a patra** jsme si vybrali na základě svého dlouholetého zájmu o obor plastické chirurgie. Rozštěpové vady rtu a patra jsou nedílnou součástí tohoto oboru a patří k nejzajímavějším tématům, která tento obor řeší.

Celková rehabilitace nemocných s rozštěpem vyžaduje multidisciplinární léčbu, která začíná bezprostředně po narození a trvá až do dospělosti. Na komplexní léčbě se postupně, v závislosti na postnatálním vývoji, zdravotním stavu a růstu postiženého, podílí specializovaný tým, jehož základ tvoří plastický chirurg, stomatolog (ortodontista, maxilofaciální chirurg, stomatochirurg a protetik), logoped, foniatr, audiolog a v neposlední řadě klinický psycholog.

Vzhledem k vrozené vadě centrofaciální oblasti i ke složitosti léčby lze předpokládat také poruchu funkce jazyka, zvláště chuti. Tento předpoklad je podložen faktem, že průměrný počet operací této vady dosahuje čísla 4,8. Léčba ortodontickými aparáty trvá od útlého dětství až do protetické rekonstrukce v rané dospělosti. Navíc nemocní trpí častými záněty středouší, horních a dolních cest dýchacích a alergiemi. Všechny tyto faktory mohou ovlivnit funkci jazyka, zejména pak kvantitu a kvalitu sensorického vnímání, tedy určitou ztrátu chuti<sup>18</sup>.

Cílem této práce je objasnit vrozené změny morfologie jazyka a změny v důsledku postnatálního vývoje, léčby, komplikací a dalších možných faktorů, objektivizovat vliv uvedených faktorů na vnímání chuti u rozštěpových pacientů, případně na podkladě získaných výsledků navrhnout modifikaci terapie ve smyslu prevence druhotných změn, jelikož deficit

chuti může prohlubovat již stávající stresující okolnosti rozštěpové vady, a tak mít negativní vliv nejen na pacientovu nutriční, ale i celkovou kvalitu jeho života.

# 1. Přehled současných poznatků

Epidemiologie, embryologie, formování rozštěpu a funkční anatomie, léčba pacientů s rozštěpem.

## 1.1 Epidemiologie

Rozštěpy rtu a patra patří k nejčastějším vrozeným vývojovým vadám. V období let 1961–2005 se v České republice narodilo celkem 6 067 798 dětí. Celkem bylo diagnostikováno 6749 případů rozštěpu rtu +/- patra (CL/P) a 4356 případů rozštěpu patra (CP). Průměrná incidence CL/P byla 1,1 a CP 0,7 na 1000 živě narozených. Protože vada má rasovou závislost, uvedená čísla odpovídají výskytu u bílé rasy. Nejčastější je u původních obyvatel střední a jižní Ameriky, kde je incidence 3,5:1000 živě narozených. V Asii dosahuje incidence až k 2:1000 zatímco afroamerické populaci, kde je incidence 0,4:1000.<sup>3,18</sup>

Tato incidence se výrazně nemění. V klinické praxi je však možno znamenat určitý pokles na podkladě přerušení těhotenství u prokázané vady. Tak je tomu i v ČR, kde časná diagnostika je příčinou relativního poklesu incidence od roku 2006, přičemž křivka poklesu má vzrůstající charakter až na současných 15-20%.<sup>14,18</sup> Byla zjištěna i sezónní variabilita výskytu této vady u novorozenců (stejně u chlapců i dívek). Maximum výskytu je v březnu, dubnu a květnu oproti minimu výskytu v říjnu, listopadu a prosinci. Tato data se vztahují na Českou republiku, variabilita je dávana do souvislostí s intenzitou slunečního záření, teplotou (koncentrace hormonů, kvalita spermatu, sexuální aktivita) a sociodemografickými faktory.<sup>2</sup>

Genetická složka vzniku rozštěpů je poměrně značná, avšak 40-60% konkordance mezi monozygotickými dvojčaty



ukazuje na fakt, že existuje mnoho dalších enviromentálních faktorů, které se podílejí na vzniku této vady. Přesto byly identifikovány určité opakující se změny, převážně na chromosomech 4, 6, 17, 19 a 21, které jsou z části zodpovědné za vznik rozštěpů.

Teratogeny jako Thalidomid, Trimethadion, Busulfan, herbicidy (dioxin), alkohol, kouření, velké dávky vitamínu A (Izotretinoin), vysoká nadmořská výška a mnoho dalších se podílí na vzniku rozštěpových vad a ve velké míře jsou to právě tyto enviromentální faktory, které způsobují poškození chromozomů a tím vznik této vady.

Jako protektivní faktory se udávají kyselina listová (minimálně 400 µg za den) a vitamin B<sub>6</sub>, pokud je žena užívá prekoncepčně a po celou dobu těhotenství.<sup>1</sup>

## **1.2 Embryologie**

Obličej se začíná utvářet na začátku čtvrtého týdne embryonálního vývoje kolem velkého stomodea a trvá do konce týdne osmého.<sup>3,4</sup> Je to pochod vysoce složitý. Během krátkého období 4 týdnů je enormní požadavek na koordinaci buněčné separace, migrace a interakce. Správné množství tkáně musí být na správném místě v pravý čas - jakákoli chyba vede ke katastrofálním následkům. Na konci embryonálního období má obličej lidskou podobu, během fetálního období se vyvíjí proporce obličeje dítěte. Ačkoliv existují rozštěpy, které jsou nacházeny v atypických lokalizacích, většina, i vzácných rozštěpů, se projeví v průběhu „predictable embryonic lines“ – tedy v normálních liniích splývání jednotlivých výběžků.<sup>13,14</sup>

Kolem velkého stomodea se ve čtvrtém týdnu objevuje patero obličejových základů. Frontonazální výběžek (vytvoří

čelo, hřbet a špičku nosu), párové maxilární výběžky (vytvoří horní oblast tváří a horní ret) a párové mandibulární výběžky (vytvoří bradu, spodní ret a dolní oblast tváří). Tyto párové výběžky jsou derivátem prvního páru faryngových oblouků, ze kterého mj. vzniká n. trigeminus, žvýkací svaly, malleus atd.

Výběžky jsou tvořeny převážně z buněk neurální lišty, které do oblouků vycestovávají a jsou tak zdrojem hlavních komponent pojivových tkání. Těchto pět výběžků představuje růstová centra obličejové oblasti. První se, splýváním mandibulárních výběžků, utvoří dolní čelist a dolní ret. Z frontonazálního výběžku se vyvíjí nazální plakody (poději nazální jamky okolo kterých se vytvoří mediální a laterální nosní výběžky) a dávají tak vznik budoucímu nosu. Podél frontonazálního výběžku dochází k proliferaci a přibližování maxilárních výběžků a koncem šestého týdne spolu tyto dvě struktury začínají splývat podél linie sulcus nasolacimalis. Mezi sedmým a desátým týdnem dojde ke splývání mediálních nosních výběžků mezi sebou i s maxilárními výběžky – toto vyžaduje dezintegraci povrchového epitelu výběžků, aby mohlo dojít k propojení. Vytvoří se tím souvislá horní čelist a ret. Splynutím mediálních nosních výběžků vzniká intermaxilární segment, který vytvoří filtrum, premaxilu s dásní a primární patro (patro od dásně k foramen incisivum). Sekundární patro (od foramen incisivum dále) se vyvíjí z maxilárních výběžků, které v této oblasti srůstají kolem osmého týdne. <sup>4</sup>

Z výše uvedeného vývoje obličeje a jeho načasování vyplývá, že pro vznik rozštěpu musí dojít k poruše embryogeneze relativně záhy, často v době, kdy gravidní žena o svém těhotenství ještě vědět nemusí.

S embryogenezí vývojových vad obličeje souvisí i vývoj jazyka. Jazyk vzniká ze tří základů (mediální jazykový výběžek a

dva distální jazykové výběžky). Tyto tři struktury vznikají proliferací mesenchymu prvního faryngového oblouku. Distální výběžky se rychle zvětšují, splývají ve střední čáře a vytvářejí přední dvě třetiny jazyka. Místo fuze je na jazyku patrné ve formě sulcus medianus linguae a uvnitř ho tvoří septum linguae. Zadní třetina jazyka je se vyvíjí z derivátů třetího faryngového oblouku (eminetia hypobranchialis) a je od dvou předních třetin oddělena pomocí foramen caecum a z něho na obě strany vybíhající sulcus terminalis (linie tvaru V).<sup>4,5</sup>

### **1.3 Formování rozštěpu a funkční anatomie**

Rozštěpy primárního (ret, premaxilla a maxilla až po foramen incisivum - CL) a sekundárního patra (od foramen incisivum směrem dorsálním – tvrdé a měkké patro - CP) spočívají v poruše různých embryonálních pochodů, přičemž se tyto rozštěpy mohou vyskytovat i společně (celkový rozštěp rtu a patra).

Obecně řečeno, rozštěpy rtu a patra nejsou způsobeny tím, že by tkáň formující obličej byla špatně umístěna. Rozštěpy vznikají na podkladě nedostatku této tkáně. Rozštěp rtu je způsoben nedostatečnou proliferací mesodermu z maxilárního a frontonazálního výběžku, rozštěp patra (sekundárního) vzniká tak, že nedojde ke spojení laterálních patrových výběžků (patrových plotének). Sekundární patro se u dívek uzavírá o 1 týden později nežli u chlapců a tento rozdíl by mohl být odpovědí na vyšší incidenci izolovaných rozštěpů patra právě u dívek. Rozštěp rtu zvyšuje pravděpodobnost vzniku rozštěpu patra. Pravděpodobným mechanismem je bránění migraci jazyka směrem dozadu a dolů a tím následně zabránění fuze patrových plotének.<sup>4,15</sup>

U rozštěpů rtu a čelisti je přítomna píštěl do dutiny nosní. Maxilla na straně rozštěpu je hypoplastická, kolumela je posunuta na nepostiženou stranu. Svaly orbicularis oris netvoří kompletní kruhový svěrač okolo úst, ale snopce se v místě rozštěpu upínají laterálně k ala nasi a mediálně ke kolumele. U oboustranného rozštěpu je premaxilla rotována dopředu a nahoru. U rozštěpů patra se svaly patra měkkého upínají místo do střední čáry na zadní hranu patra tvrdého. U většiny rozštěpů primárního patra, ale i patra sekundárního se objevuje porucha dentice. <sup>4, 5,15</sup>

#### **1.4. Léčba pacientů s rozštěpem**

Léčba pacienta s rozštěpem je multidisciplinární a preventivně-terapeutická. Tým specializovaných pracovníků poskytuje pacientovi komplexní péči od narození do dospělosti. V této skupině figuruje kromě plastického chirurga, který léčbu koordinuje, ortodontista, maxilofaciální chirurg, stomatochirurg, stomatologický protetik, otorinolaryngolog, logoped, foniatr, audiolog, genetik a v neposlední řadě klinický psycholog event. psychiatr.

Primárně má morfologický charakter defektu těžké negativní funkční důsledky na polykání, dýchání, kousání a tvorbu řeči. U jedinců s rozštěpem rtu a patra má 75% dětí defekt alveolárního výběžku maxilly, který je spojen s vývojovými anomáliemi zubů. Na vrozenou vadu navazuje hypoplazie všech tkání postižené centrofaciální oblasti. Dominuje špatný vývoj horní čelisti.

Chirurgická rekonstrukce je základním krokem léčby rozštěpových vad. Obecně lze říci, že k chirurgické reparaci přistupujeme u rozštěpů rtu dříve než k reparaci rozštěpů patra,

nicméně timing je odlišný podle zvyklosti pracoviště. Rozštěp rtu se operuje od věku bezprostředně po narození až po dobu 3 měsíců. V indikaci timingu se uplatňují následující důvody.

Rozštěp rtu působí primárně negativně esteticky na rodiče nově narozeného dítěte a snahou je, aby dítě defektem nestrádalo nejen po fyzické stránce (malnutrice vlivem nedokonalého sání, nazální reflux polykaných tekutin), ale také po stránce psychické. Nicméně je třeba zvážit jak náročnost výkonu pro dítě, tak i finanční náklady. Rozštěp patra hraje významnou roli pro tvorbu řeči, a proto je prokázaný efektivní timing rekonstrukce v době než dítě začíná mluvit, tedy zhruba v 9 měsících. Potencionální riziko tohoto postupu je negativní vliv na vývoj horní čelisti a proporcionality celého obličeje (jizvení a fibrotizace tkání způsobené operací zabraňující potřebnému růstu maxily). Čím později je provedena rekonstrukce patra, tím horší tvorba a srozumitelnost řeči, jejímž důsledkem je špatná kvalita verbální komunikace a socializace postiženého jedince.<sup>3,15,13,14</sup>

Jak primární defekt maxily tak její hypoplazie, kterou akcentují jizvy po chirurgických výkonech, jsou příčinou patologických mezičelistních vztahů a dentálních anomálií. Proto je kromě chirurgické rekonstrukce hlavní intervencí ortodontická léčba. Tak se k vrozené vadě, hypoplazii, jizvám po operacích ještě přidává mechanická zátěž ortodontickými aparáty. Ve finále je zubní defekt řešen fixní protetickou prací, tedy stálou přítomností cizího tělesa v ústech.

### **1.5 Morfologie jazyka a chuťových pohárků**

Jazyk je svalový orgán. Svaly jazyka je možno rozdělit na svaly intraglosální a svaly extraglosální. Obě tyto skupiny jsou inervovány dvanáctým hlavovým nervem (n. hypoglossus),

kromě m. palatoglossus, který je inervován devátým hlavovým nervem (n. glossopharyngeus).<sup>5,9</sup>

V případě poruchy motorické inervace můžeme předpokládat atrofii svalových skupin na jedné nebo obou stranách, případně poruchu vývoje svalů či jejich nervového zásobení.

Senzitivní inervace jazyka je zajištěna dvěma nervy. V přední části, v oblasti apexu a těla, je jazyk inervován z n. lingualis (nerv z třetí větve n. trigeminus). V oblasti kořene senzitivní inervaci zajišťují vlákna z n. glossopharyngeus.<sup>5,9</sup>

Orgán chuti zprostředkovává vnímání různých chuťových modalit prostřednictvím chuťových pohárků (caliculi gustatorii). Ty jsou umístěny převážně na jazyku, kde se jich vyskytuje 2000-5000, a v menší míře i na měkkém patře a hrtanové ploše epiglottis. Chuťové pohárky jsou rozmístěny ve sliznici jazyka a zanořeny ve vrstevnatém epitelu jazykových papil. Nejvíce se jich nachází ve sliznici po stranách papillae circumvallatae a papillae foliatae, menší množství lze nalézt i na vrcholcích papillae fungiformes.<sup>8,10</sup>

Elektronovým mikroskopem je možno v chuťových pohárcích rozeznat až 4 typy buněk. Funkce buněk I. a II. typu není plně objasněna a předpokládá se jejich podpůrná funkce. V buňkách III. typu se nachází velké množství vezikul, v jejichž těsné blízkosti lze nalézt četná dendritická zakončení. Je tak možno oprávněně předpokládat, že vnímání chuti je zprostředkováno právě těmito buňkami. Buňky IV. typu jsou relativně nediferenciované bazální buňky, které proliferují a dávají tak vznik specializovaným buňkám chuťových pohárků.<sup>6,8</sup>

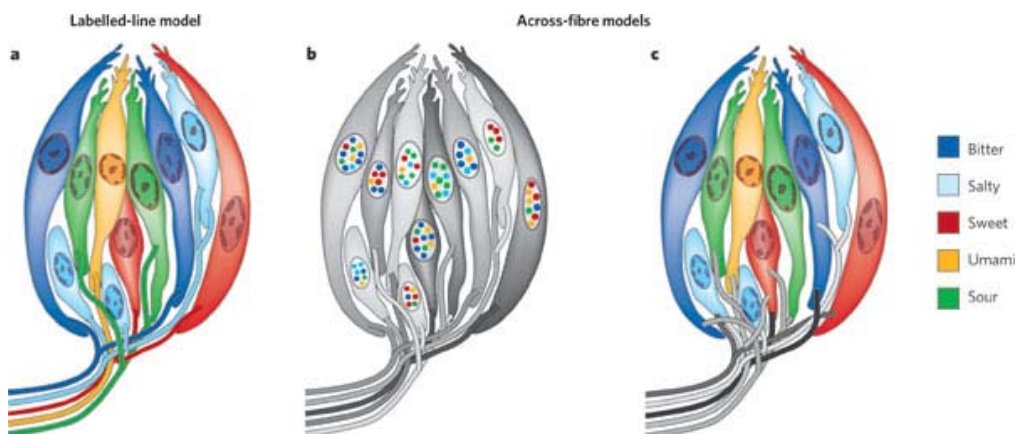
Na vrcholku každého pohárku je umístěn chuťový porus (porus gustatorius), kterým je zajištěn přístup chemických látek k hlenu umístěném pod ním. Ten zprostředkovává kontakt vnímané látky s vrcholkem smyslové buňky.

Na bazální části smyslových buněk jsou aferentní nervová vlákna, v každém chuťovém pohárku jich je možno nalézt asi 50-150. Chuťová vlákna z předních dvou třetin jazyka jsou vedena cestou chorda tympani (větve n. facialis), ze zadní třetiny jazyka cestou n. glossopharyngeus a částečně i n. vagus. Aferentní nervová vlákna jsou dále přepojena v nucleus tractus solitarii a vlákna dále probíhají do hypothalamu a limbického systému přes pons a přes hypothalamus do thalamu, inzuly a gyrus postcentralis.

V chuťových pohárcích je rozeznáváno pět základních chuťových kvalit. Kromě sladké, slané, kyselé a hořké existuje i kvalita umami, která je přirovnávána k chuti mořské řasy a může být vyvolána například mono-natrium[sodium]-1-glutamátem.<sup>7,9,10</sup>

Každý chuťový pohárek je schopen vnímat všechny hlavní chuťové modalities a i jejich kombinace. Uvažují se dva modely způsobu vnímání chutí v jednotlivých pohárcích. „Labelled-line“ model předpokládá, že jednotlivé smyslové buňky v každém pohárku společně se svým aferentním vláknem jsou nastaveny na vnímání jedné modalities. Teorie druhá, tzv. „Across-fibre“ model předpokládá suprasmyslové buňky schopné rozeznat všechny chutě a adekvátně stimulovat daný nerv nebo smyslové buňky schopné rozeznat pouze jednu chuť.

Poslední molekulární výzkumy na myších modelech ukazují, že jednotlivé smyslové buňky definují různé chuťové modalities, a že aktivace jen jednoho typu smyslové buňky je dostatečná pro vygenerování chuťové kvality. Toto zjištění podporuje první teorii o jednotlivém nastavení smyslových buněk a jednotlivých nervových vláken. Molekulární studie také vyvrací klasickou mapu jazyka pro vnímání jednotlivých modalit a dokazuje, že všechny chutě jsou vnímány na celém povrchu jazyka stejně.<sup>11</sup>



Obr. 2.1 Grafické znázornění teorií vnímání jednotlivých modalit smyslovými buňkami. <sup>16</sup>

Chuťové receptory mohou být poškozeny různými vlivy. Kromě genetických defektů může negativně působit ozáření, některá farmaka (kokain, streptomycin, penicilamin, lokální anestetika), hypotyreóza může snížit jejich citlivost a diabetes mellitus může důsledkem nedostatku aldosteronu měnit sladký vjem na slaný. Vedení informace potom může být porušeno záněty, úrazy nebo nádory. <sup>7</sup>



## 2. Objektivizace inervace jazyka a vnímání chuťových modalit

Tato část práce se zaměřuje na objektivizaci poruchy inervace u pacientů s rozštěpem a na vnímání chuťových modalit u těchto pacientů v korelaci se zdravými kontrolami.

### 2.1 Materiál

Z nemocných léčených na klinice plastické chirurgie v Praze byl vybrán náhodný soubor dospělých nemocných s rozštěpem rtu a patra, rtu a čelisti a izolovaným rozštěpem patra ( $n=61$ ). Tento soubor byl porovnán s kontrolní skupinou ( $n=42$ ), vytvořené ze zdravých jedinců obdobného pohlaví a věku viz. Tab. 2.1. Ze sledování byly vyloučeni jedinci, postižení možnými nežádoucími modifikujícími faktory (metabolické vady, léčba farmaky vyvolávajícími změnu chuti atp.). Kromě existence vady byl u obou skupin zjišťován výskyt a sledován vliv následujících parametrů: počet operací v dutině ústní, užití ortodontického aparátu, častý výskyt onemocnění HCD a DCD, alergie, častý výskyt zánětů středního ucha a kouření viz. Tab.2.2

	Probandi	Kontrola
Počet	61	42
Muži	54,10%	21,40%
Ženy	45,90%	78,60%
Věk (průměr)	20	23

Tab. 2.1 Zastoupení pohlaví a věkový průměr v testovaných skupinách.

	Probandi	Kontrola
Počet operací (průměr)	1 - 10 (5,3)	0 (0)
Kouření ano %	18	28,6
Záněty HCD,DCD ano %	32,8	35,7
Záněty středouší ano %	41	31
Alergie ano %	36,1	35,7
Ortodontický aparát ano %	91,8	40,5

Tab. 2.2 Relativní četnost jednotlivých uvažovaných faktorů s předpokládaným vlivem na funkci jazyka u skupiny probandů a kontrol.

Probandi byli rozděleni do tří skupin dle diagnóz:

Skupina 1 - pacienti s celkovým rozštěpem rtu a patra (CLP).

Skupina 2 - pacienti s rozštěpem rtu a čelisti (CL).

Skupina 3 - pacienti s izolovaným rozštěpem patra (CP).

Kontrolám bylo přiřazeno označení 0 viz. Tab. 2.3.

	1(CLP)	2(CL)	3(CP)	0(kontrola)
Počet	46	10	5	42
Muži	52,20%	70%	40%	21,40%
Ženy	47,80%	30%	60%	78,60%
Věk (průměr)	21	18	17	23
Operací (průměr)	6	3,7	1,6	0

Tab.2.3 Procentuální vyjádření počtu jednotlivých diagnóz (CLP, CL, CP) ve skupině probandů a počet operací.

Pro testování jednotlivých chuťových modalit (senzoriky) byly použity tři různé koncentrace následujících sloučenin v 100ml aqua purificata:

Glucosum (4,00; 10,00; 40,00) - sladká chuť

Natrium citratum (1,00; 5,00; 10,00) - kyselá chuť

Natrium chloratum (2,50; 7,50; 15,00) - slaná chuť

Chininum chloratum (0,075; 0,50; 1,00) - hořká chuť

## **2.2 Senzorická inervace**

### **2.2.1 Metodika**

Chuť byla vyšetřována výše uvedenými koncentracemi roztoků s chutí sladkou, slanou, kyselou a hořkou.

Na vyzvání vyšetřovaný otevřel ústa, vyplázl jazyk, na který mu byl vatovou štětičkou aplikován roztok, poté byl vyzván k identifikaci dané látky ze čtyř základních chuťových modalit. Nejprve byl vždy aplikován roztok s nejnižší koncentrací dané látky. Pokud vyšetřovaný nebyl schopen identifikovat chuťovou kvalitu, byl nanesen roztok s vyšší koncentrací. Postupně tak byla otestována kyselá, slaná, sladká a hořká chuť, vždy v tomto pořadí. Mezi odlišnými testy si vyšetřovaný opakovaně vypláchl ústa vodou.

Pro zjednodušené vyhodnocení údajů při zpracování jsme koncentrace chutí vyjádřili pomocí arbitrárních jednotek. Nejnižší koncentrace byla vyjádřena číslem 1, střední koncentrace číslem 2 a koncentrace nejvyšší číslem 3. V případě, že vyšetřovaný neidentifikoval chuť vůbec, bylo tomuto zjištění přiřazeno číslo 4.

Zhodnocení výsledků studie bylo provedeno pomocí statistických metod. Výpočty byly provedeny pomocí programu SPSS verze 17. Všechny testy byly prováděny na hladině 5% významnosti a byly vypočteny 95% konfidenční intervaly.

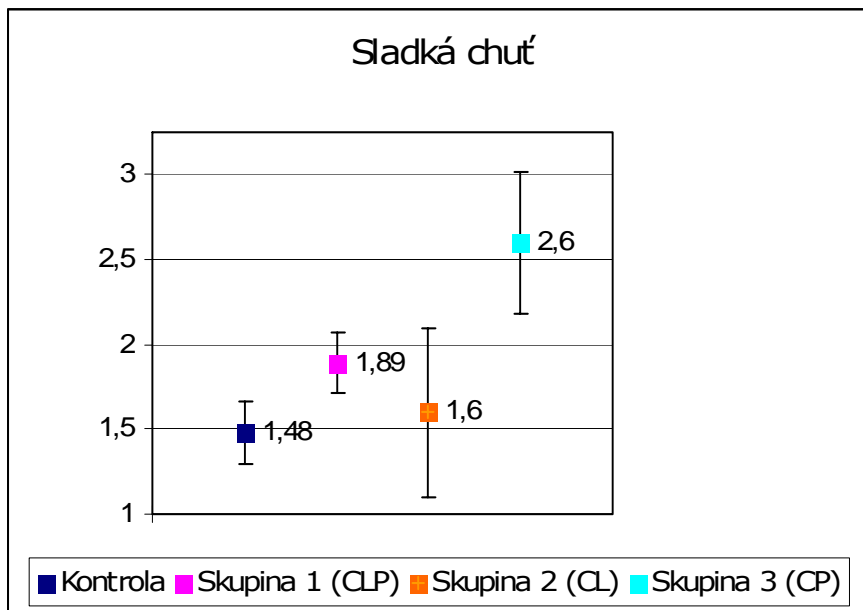
Vliv sledovaných parametrů na vnímání chuti jsme porovnávali pomocí neparametrického Kruskal-Wallisova testu a Wilcoxonova testu.

Výskyt jednotlivých parametrů mezi probandy a kontrolní skupinou jsme řešili pomocí testu nezávislosti v kotingenční tabulce a to pomocí Pearsonova Chi-kvadrát testu, případně Fisherova přesného testu.

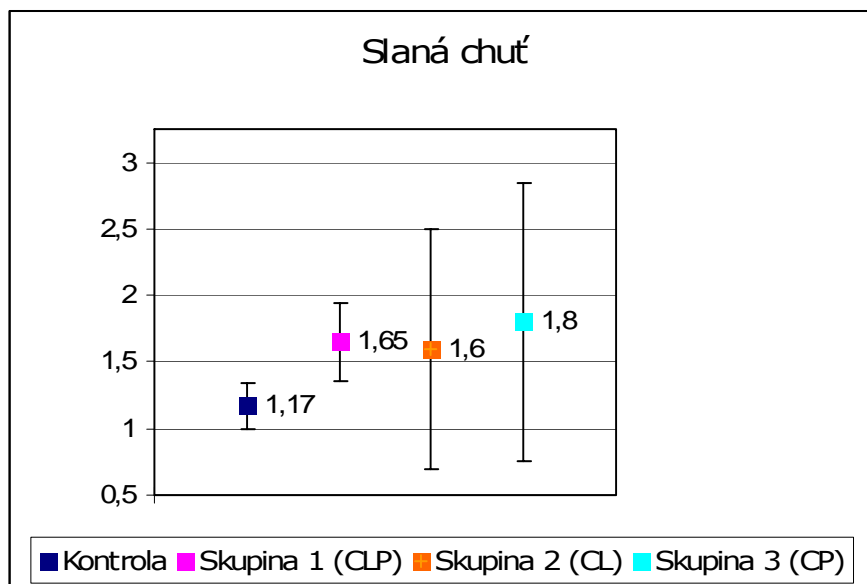
Byl vypočten Spearmanův korelační koeficient jako míra vazby mezi jednotlivými chutěmi.

## **2.2.2 Výsledky**

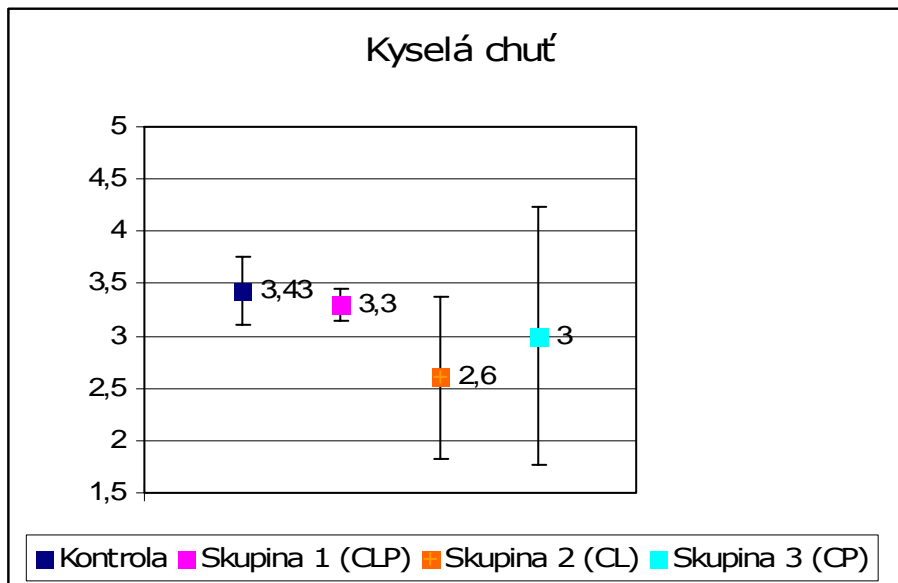
Při zhodnocení rozdílu vnímání jednotlivých chutí mezi probandy a kontrolní skupinou byl zjištěn statisticky významný rozdíl ve vnímání sladké, slané a kyselé chuti. Rozdíl ve vnímání hořké chuti není statisticky významný. Pro zjednodušenou interpretaci těchto výsledků přikládáme grafické zpracování kvantitativního rozdílu ve vnímání u jednotlivých testovaných skupin a kontrol. V grafech jsou použity arbitrární jednotky pro vyjádření míry rozpoznané koncentrace dané látky. Čím vyšší číslo, tím vyšší koncentrace byla nutná k rozpoznání dané chuti. Viz. graf 2.1-2.4



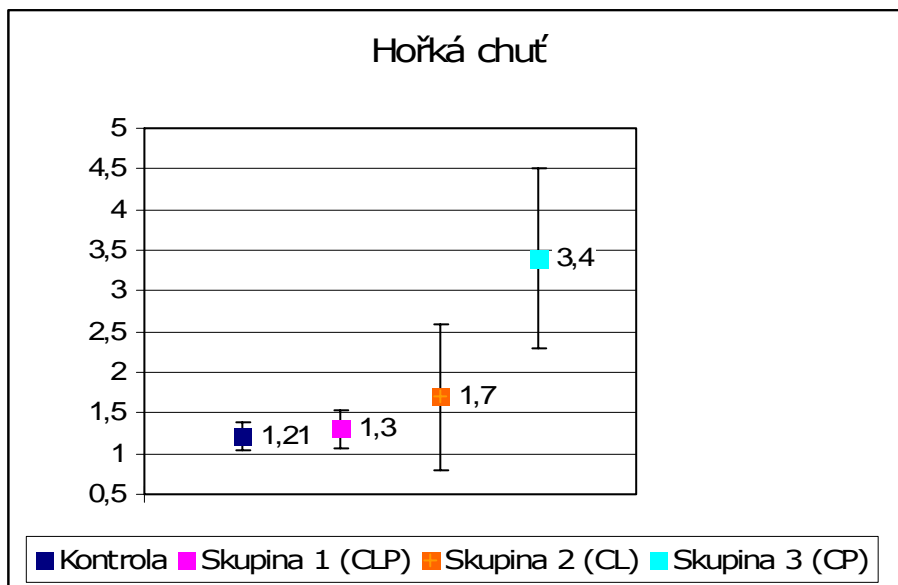
Graf 2.1 Srovnání míry vnímání sladké chuti podle koncentrace (vyjádřeno v arbitrárních jednotkách) mezi jednotlivými testovanými skupinami a kontrolou. Čím vyšší číslo, tím horší percepce.



Graf 2.2 Srovnání míry vnímání slané chuti podle koncentrace (vyjádřeno v arbitrárních jednotkách) mezi jednotlivými testovanými skupinami a kontrolou. Čím vyšší číslo, tím horší percepce.



Graf 2.3 Srovnání míry vnímání kyselé chuti podle koncentrace (vyjádřeno v arbitrárních jednotkách) mezi jednotlivými testovanými skupinami a kontrolou. Čím vyšší číslo, tím horší percepce.



Graf 2.4 Srovnání míry vnímání hořké chuti podle koncentrace (vyjádřeno v arbitrárních jednotkách) mezi jednotlivými testovanými skupinami a kontrolou. Čím vyšší číslo, tím horší percepce.

Mezi probandy bylo zjištěno statisticky významné snížení vnímání hořké chuti ve skupině 3-izolovaný rozštěp patra. Kromě statisticky významného rozdílu lze tuto diskrepanci odečíst i z grafu 2.4.

Uvažovaný vliv dalších faktorů (častý výskyt zánětu horních a dolních cest dýchacích, otitis media a alergií) na vnímání chuti nebyl prokázán. Nebyl dokonce ani zjištěn statisticky významný rozdíl ve výskytu zánětů horních a dolních cest dýchacích, alergií a kouření mezi probandy a kontrolní skupinou. Naopak, je statisticky významný rozdíl v užívání ortodontického aparátu mezi probandy a kontrolní skupinou. Viz. Tab. 2.4

	Probandi	Kontrola	Signifikance
Kouření ano %	18	28,6	0,207
Záněty HCD,DCD ano %	32,8	35,7	0,758
Záněty středouší ano %	41	31	0,300
Alergie ano %	36,1	35,7	0,971
Ortodontický aparát ano %	91,8	40,5	0,000

Tab.2.4 Procentuální vyjádření výskytu zkoumaných veličin u skupiny probandů a kontrol, významnost výskytu těchto veličin u probandů vyjádřeno Pearsonovým Chi-kvadrát testem.

Byl také prokázán rozdíl na hranici statistické významnosti ve vnímání slané chuti u vyšetřovaných (jak probandů, tak kontrol), kteří používali ortodontický aparát.

Na hranici 5% významnosti vyšla vazba mezi počtem operací u probandů a vnímáním slané chuti. Nemocní s vyšším

počtem operací v dutině ústní tedy hůře vnímají slanou chuť, u ostatních modalit toto prokázáno nebylo.

K 5% hladině významnosti se blíží rozdíl ve vnímání hořké chuti u kuřáků, u nichž je vnímání hořké chuti sníženo.

Spearmanovým korelačním koeficientem byla zjištěna statisticky významná vazba mezi vnímáním sladké a slané chuti.

## ***2.3 Motorická inervace***

### **2.3.1 Metodika**

Orientační fyzikální vyšetření správné motorické funkce jazyka bylo provedeno pohledem.

Vyšetřovaný po výzvě otevřel ústa, následně vyplázl jazyk a poté byl vyzván k pohybu jazykem vpřed a do stran. Pohledem bez bližšího měření bylo sledováno uložení jazyka v ústech, osa plazení jazyka, směřování hrotu při vychýlení a morfologická charakteristika sliznice.

### **2.3.2 Výsledky**

Tímto orientačním vyšetřením nebyla ani u jednoho vyšetřovaného prokázána porucha motorické inervace jazyka ani rozdíl mezi probandy a kontrolami.

## ***2.4 Senzitivní inervace***

### **2.4.1 Metodika**

Na výzvu vyšetřovaný vyplázl jazyk. Sondou se přejíždělo po povrchu jazyka od kořene k hrotu, nejprve na jedné a



následně na druhé straně. Byl sledován subjektivní rozdíl ve vnímání intezity doteku na obou stranách jazyka.

### **2.4.2 Výsledky**

Tímto orientačním vyšetřením nebyla ani u jednoho vyšetřovaného nebyl pozorován stranový rozdíl ve vnímání dotyku a to jak probandy tak kontrolní skupinou.

## **2.5 Diskuse**

Vyšetření inervace jazyka u nemocných s rozštěpem bylo porovnáno s kontrolní skupinou zdravých jedinců. Toto porovnání ukázalo shodnou motorickou funkci a shodnou senzitivní funkci. Ani u jedné ze dvou zkoumaných skupin nebyla zjištěna významná patologie. Nicméně, vyšetřování senzitivní i motorické inervace bylo pouze orientační a záviselo na subjektivním přístupu a vyhodnocení vyšetřovaným.

Prokázali jsme však statisticky významné rozdíly ve funkci sensorické. Statisticky významné se ukázalo snížení vnímání chuti sladké, slané a kyselé u probandů ve srovnání s kontrolní skupinou. Tento rozdíl se neprokázal u chuti hořké. Z grafu 2.4 je zřejmé, že vnímání hořké chuti je významně sníženo pouze u skupiny 3(CP), avšak nízký počet probandů způsobil, že toto snížení nemělo vliv v celkovém hodnocení vnímání chuti.

V našem výzkumu jsme se rozhodli netestovat pátou chuťovou modalitu umami. Důvodem pro toto rozhodnutí je nižší všeobecné povědomí o této chuti jako o samostatné kvalitě a z toho vyplývající obtížné rozlišení této chuti ze strany vyšetřovaných.

Vliv počtu operací na vnímání chuti u rozštěpových pacientů se prokázal pouze u chuti slané a to těsně pod hranici statistické významnosti 5%. Zcela logický je rozdíl mezi kontrolami a nemocnými ve vztahu k užití ortodontického aparátu, který užívá téměř 100% probandů. Viz. Tab.2.4.

Komplikace u rozštěpových pacientů (záněty horních a dolních cest dýchacích, otitis media a alergie) nemají na vnímání chuti významný vliv a statisticky významný se neukázal ani rozdíl v jejich výskytu mezi probandy a kontrolami. Viz Tab. 2.4

Rozdíl mezi probandy a kontrolami je tedy v počtu operací, ve vnímání chuti sladké, slané a kyselé a v četosti užívání ortodontického aparátu. Vliv užívání ortodontického aparátu (jak u probandů, tak kontrol) a počet operací v dutině ústní mají u zkoumané skupiny však prokazatelně významně negativní vliv na vnímání chuti slané, a to na úrovni 5% významnosti.

Na vnímání sladké a kyselé chuti, ale tyto a ani žádné jiné zkoumané komplikace statisticky významný vliv nemají. Proto by dalším možným vysvětlením pro snížení percepce těchto dvou modalit mohla být vada samotná a její možný vliv na morfologii a vývoj chuťových pohárků. Nabízí se též sledování dalších vlivů na utváření chuťového orgánu mezi než lze zařadit GER reflux, působení neurotrofních virů na čichový a hypoteticky i chuťový epitel a ischemický útlak chorda tympani při purulentních zánětech středního ucha.

## **2.6 Závěr**

Hlavním cílem bylo objasnit, zda existuje rozdíl ve vnímání chuti mezi zdravými jedinci a nemocnými s rozštěpem primárního či sekundárního patra. Pokud ano, pak co je toho

příčinou, zda počet operací, ortodontická léčba anebo i onemocnění, která se u nemocných s rozštěpem hojně vyskytují (zánět horních a dolních cest dýchacích, otitis media, alergie).

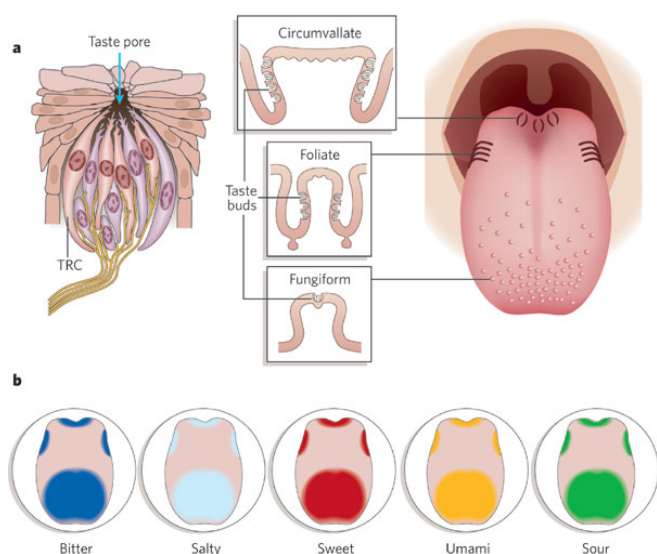
Byl prokázán statisticky významný rozdíl ve vnímání chuti sladké, slané a kyselé mezi probandy a kontrolami. Chirurgická a ortodontická léčba významně snižují vnímání chuti slané u nemocných s rozštěpem. Žádné z přidružených onemocnění však nemá na vnímání chuti významný vliv.

### 3. Morfologie chuťových papil a pohárků

Experimentální část výzkumu vznikla, aby objektivizovala existenci vrozené vývojové malformace či nedostatečnosti chuťových pohárků, a tak potvrdila závěr klinické části, že možnou hlavní příčinou, proč je u rozštěpových pacientů většina chuťových typů statisticky významně snížena, je vrozený vývojový defekt chuťových pohárků.

#### 3.1 Anatomie, vznik a vývoj chuťových pohárků

Existují tři typy chuťových papil nacházejících se na dorzu jazyka. Jsou to papillae funghiformes, které převažují na špičce jazyka, papillae foliatae na hranách jazyka a papillae circumvallatae, které jsou rozmístěny do tvaru písmena V od foramen caecum zároveň s linea terminalis. Chuťové pohárky se nacházejí na chuťových papilách. V největším množství jsou přítomny na papillae circumvallatae a papillae foliatae, v menším množství jsou přítomny na vrcholcích papillae funghiformes. Viz Obr. 3.1.



Obr. 3.1 Umístění chuťových pohárků na jednotlivých papilách a rozložení chuťových modalit na jazyku. <sup>17</sup>

Chuťové pohárky se sestávají z 50–150 specializovaných buněk, které se regenerují z buněk bazálních ve dvoutýdenním cyklu. Tyto smyslové buňky se nazývají TRC buňky (Taste-Receptor Cells) a jsou zodpovědné za zpracování a převedení chuťového podnětu do CNS. <sup>10,11</sup>

Vývoj chuťových papil začíná v šestém týdnu, kdy vzniká první papila v okolí foramen caecum. Od sedmého týdne se začínají vyvíjet papillae funghiformes na špičce jazyka. O osmém týdnu začínají nervová vlákna prorůstat basální laminou a vytvářet synapse s nediferencovanými epitelovými buňkami budoucích chuťových pohárků. Ve dvanáctém týdnu se diferencují první specializované buňky. Většina chuťových pohárků se začíná vyvíjet okolo patnáctého týdne gestace. <sup>4,11,12</sup>

### **3.2 Materiál a metodika**

Objektivizace morfologických odlišností (počet a kvalita nervových zakončení a vlastních papil) byla provedena na základě vyšetření nekropsií sliznice kořene jazyka odumřelých embryí s rozštěpem. Materiál byl získán na čtyřech pracovištích patologické anatomie v ČR.

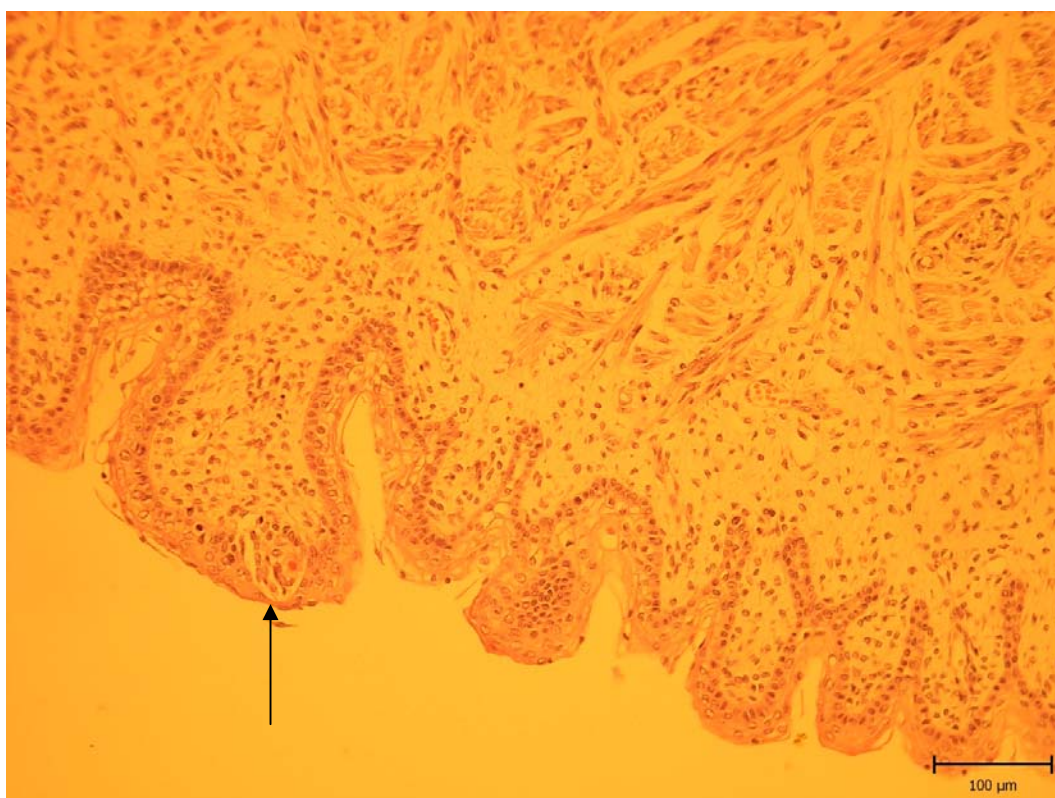
Byly zhotoveny histologické preparáty z předem vybraných oblastí jazyků plodů s rozštěpovou vadou (p=5) a bez rozštěpové vady (k=4) různého gestačního věku.

Stáří nekropsií bylo od devíti do patnácti týdnů gestačního věku. Ze všech devíti nekropsií (p=5, k=4) byly zhotoveny preparáty řezů o šíři lamel 3 -5 mm v rovině špičky jazyka, hrany jazyka (oblasti výskytu listových papil) a kořene jazyka (oblast výskytu hrázděných papil). Další zpracování proběhlo na tkáňovém procesoru, přikrojením na mikrotomu - řezy 10-20  $\mu\text{m}$  a fixací 10% zásaditým formolem. Vyšetření bylo provedeno

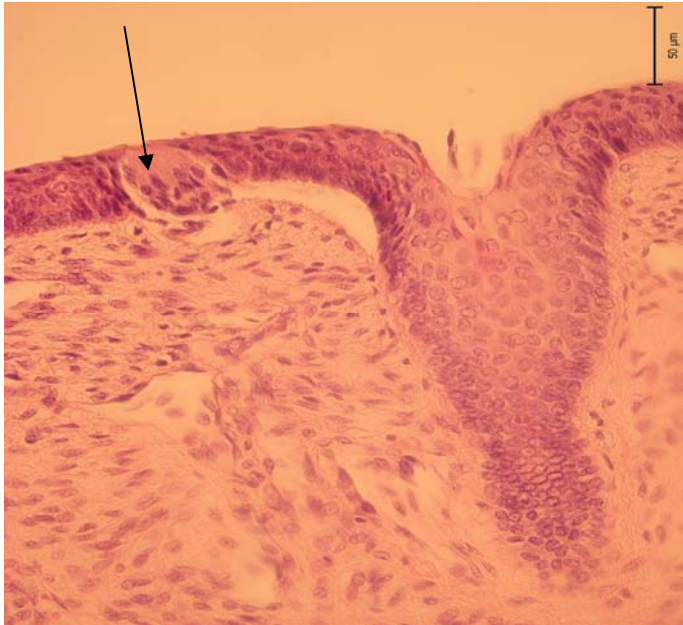
standardními histologickými metodami (barvení Hematoxylin-Eosin).

### **3.3 Výsledky**

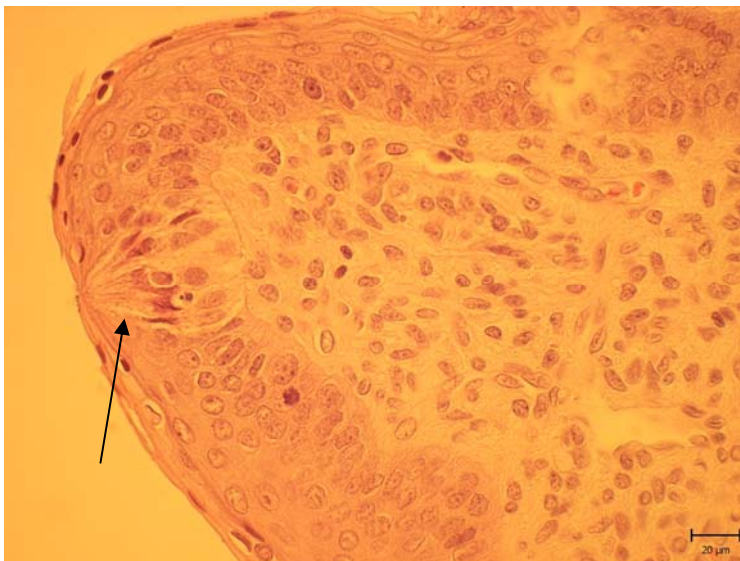
Počet chuťových pohárků byl v případě preparátů gestačního věku pod třináct týdnů, minimální nebo žádný. V jejich výskytu a stádiu vývoje nebyl pod světelným mikroskopem patrný rozdíl mezi rozštěpy a kontrolami. Na Obr.1-3. je patrný vznik a vývoj chuťových papil a pohárků v závislosti na věku zárodku.



Obr.1 Dorsum jazyka, šipka ukazuje na vznikající nezralý chuťový pohárek s nediferencovanou strukturou, gestační věk 11 týdnů.



Obr.2 Dorsum jazyka, šipka ukazuje chuťový pohárek, struktura více diferencovaná oproti pohárku na obr.1, gestační věk 14 týdnů.



Obr.3 Šipka ukazuje na dobře morfologicky utvořený chuťový pohárek s patrnými TRC buňkami, papila funghiformis, gestační věk 15 týdnů.

### **3.4 Diskuze**

I přes víc jak rok trvající výzkum se nepodařilo shromáždit hodnotitelný dostatek materiálu ve vyšším gestačním věku, což

znemožnilo objektivizaci předpokládaných rozdílů v morfologii chuťových papil v době jejich téměř ukončeného vývoje. Ani u preparátů s gestačním stářím 15 týdnů se nepodařilo najít výrazné rozdíly mezi preparáty kontrolními a rozštěpovými.

V budoucnu je třeba tuto skupinu rozšířit na statisticky hodnotitelný soubor a použít k vyšetření imunohistochemické metody, které slouží k detailnějšímu objasnění případných morfologických odlišností chuťových pohárků a jednotlivých smyslových buněk. Tím bude možno stanovit kvalitativní a kvantitativní změny receptorů, jejich počet, histologický, histochemický a imunohistochemický profil vzhledem k možným patologickým změnám, a tak objektivizovat možné morfologické důvody změn ve vnímání chuťových modalit u pacientů s rozštěpem.

### **3.5 Závěr**

Vzhledem k nízkému počtu zpracovaných nekroptických vzorků, navíc nižšího gestačního věku, nebylo prokázáno, že snížení chuti je vázáno na vrozenou morfologickou odlišnost chuťových pohárků u pacientů s rozštěpovou vadou. Nelze však vyloučit, že rozšířením testovaného souboru a dalšími složitějšími vyšetřovacími metodami by tuto teorii, založenou na klinickém zkoumání, nebylo možno prokázat.



## Souhrn

Rozštěpy rtu a patra představují jednu z nejčastějších vrozených vad. Absolutní počet rozštěpů je nejvíce závislý na počtu narozených. V období let 1961–2005 v České republice byla průměrná incidence rozštěpu rtu +/- patra (CL/P) 1,1 a rozštěpu patra CP 0,7 na 1000 živě narozených. Mnoho faktorů pomáhá zvyšovat frekvenci CL/P. Podílí se na tom hlavně snížení postnatální mortality a operační mortality. Navíc současná léčba má výsledky tak příznivé, že mnohem více postižených jedinců uzavírá sňatek a předává genetický potenciál. Nicméně pacientů s rozštěpem v ČR mírně ubývá pro liberální přístup k umělému přerušení těhotenství. Tento trend je patrný zhruba od roku 2006. Relativní úbytek je na hladině 15-20%.

I když izolované postižení není letální, má morfologický charakter defektu centrofaciální oblasti negativní funkční vliv na polykání, dýchání, kousání a tvorbu řeči. Esteticky se jedná o postižení faciálního trianglu, který nejvíce ovlivňuje celkový vzhled obličeje. Obojí představuje zhoršení jak nonverbálních, tak verbálních komunikačních kanálů, což v důsledku znamená snížení možnosti uplatnění ve společnosti, snížení sebedůvěry a tak i kvality života.

Ke zmírnění uvedených negativních důsledků vady je třeba stále zlepšovat terapeutické postupy a to i v naprostých detailech. Jazyk, i když není vlastním rozštěpem přímo postižen, do patologicky změněné oblasti patří a je bezprostředně pod jejím vlivem. Navíc je traumatizován při léčbě, zvláště ortodontické, a při početných operačních výkonech. Tyto vlivy mohou být příčinou jak změny jeho morfologie tak změny jeho funkce.

Cílem této práce byla objektivizace inervace jazyka nemocných s rozštěpovou vadou v korelaci s nálezem u zdravé populace a zjištění morfologických změn ve vývoji chuťových pohárků.

Porovnáním nemocných s rozštěpem ( $n=61$ ) a zdravých jedinců ( $n=42$ ) nebyly prokázány významné odlišnosti v motorické funkci a v senzitivní funkci. Je však signifikantně snižena sensorická funkce ve vnímání sladké, slané a kyselé chuti. Vnímání slané chuti bylo statisticky významně sníženo provedenými operacemi a užíváním ortodontického aparátu. Vysvětlení změn u dalších typů by mohlo korelovat změněné morfologii receptorů dané vlastní rozštěpovou vadou.

Klinická evaluace byla proto doplněna experimentální částí a to vyšetřením nekropsií jazyka zárodků s rozštěpovou vadou v porovnání s nekropsiemi zárodků bez postižení v této lokalitě. Morfologické odlišnosti nebyly prokázány, nicméně byl hodnocen nízký počet vzorků nízkého gestačního věku a navíc pouze základními histologickými metodami. V budoucnu je proto nutno experimentální soubor rozšířit, soustředit se na sběr nekropsií gestačního věku odpovídajícímu ukončení embryologického vývoje chuťového orgánu a při vyšetření použít imunohistochemické metody.

## Summary

Cleft lip and palate is one of the most common congenital defects. Absolute quantity of clefts is most dependent on the number of births. In the period 1961-2005 in the Czech Republic the average incidence of the cleft lip/palate (CL/P) was 1.1 and cleft palate (CP) 0.7 per 1000 live births. Many factors help to increase the frequency of CL/P. It is especially the reduction of post-natal mortality and surgical mortality. In addition current treatment gives the results so favorable that higher number of afflicted individuals marry and transmit genetic potential. However, the number of patients with cleft is slightly decreasing because of the liberal attitude to abortion in the Czech Republic. This trend has been evident since 2006. The level of the relative decline is 15-20%.

The isolated malformation is not lethal but the morphologic characteristics of the defect negatively affect swallowing, breathing, mastication, and speech formation. In aesthetic aspect it is a defect of facial triangle that strongly affects the overall appearance of the face. Altogether it causes worsening of both verbal and nonverbal communication channels, which in turn means reduced society rating, reduced confidence and thus the quality of life.

To moderate negative sequels of the fault mentioned above it is necessary to continue the improvement of the therapeutic protocol even in clean details. Tongue, even though it is not directly affected by the deformity, is under the influence of surrounding pathological deformity. It is also traumatised by the treatment, mainly orthodontic, and by multiple operations. These influences can cause changes of its morphology and its function.

The objective of this work was to evaluate the innervation of the tongue in cleft patients in correlation with healthy controls and to describe any possible morphological change in the development of taste buds.

Comparison of patients with clefts (p = 61) and healthy individuals (k = 42) did not prove significant differences of motor function and the sensitive features. However there is significantly reduced sensory function in the perception of sweet, salty and sour taste. Perception of the salty taste was significantly reduced by performed operations and by application of orthodontic apparatus. The explanation of changes in other types could correlate to altered receptor morphology done by the cleft itself.

Therefore clinical evaluation was completed by experimental testing. The examination of tongue necropsies of cleft and healthy fetuses. Because of low number of samples with low gestational age and because of the basic histological methods used the morphological differences have not been proved. In future it is necessary to extend the number of samples with necropsies of gestational age corresponding to finalization of embryological development of taste organ and to use immunohistochemical methods for the examination.

## Zdroje

- <sup>1</sup> Murray, JC. Gene/environment cause of cleft lip and/or palate. Clin. Genet. 2002; 61: 248-256. Blackwell Munksgaard, 2002
- <sup>2</sup> Peterka, M. et al. Seasonal incidence of orofacial clefts in the Czech republic. European cells and materials, 2007, vol. 14, p.121
- <sup>3</sup> Tewfik, T. Congenital Malformations, Mouth and Pharynx. Otolaryngology nad facila plastic surgery. eMedicine, Dostupnost z: < <http://emedicine.medscape.com/> >
- <sup>4</sup> Moore, K.L. Zrození člověka. Praha : ISV, 2000, s. 233-254
- <sup>5</sup> Čihák, R. Anatomie 2. Praha : Grada, 2002, s. 33-41
- <sup>6</sup> Čihák, R. Anatomie 3. Praha : Grada, 2002, s. 578-579
- <sup>7</sup> Silbernagl, S. a Lang, F. Atlas patofyziologie člověka. Praha : Grada, 2001, s. 330-331
- <sup>8</sup> Junquiera, L., C. et al. Základy histologie. Jinočany : H&H, 1999, s. 444-446
- <sup>9</sup> Ambler, Z. Základy neurologie. Praha : Galén, 2006, s. 53-60
- <sup>10</sup> Silbernagl, S. a Agamemnon, D. Atlas fyziologie člověka. Praha : Grada, 2004, s. 338-339

- <sup>11</sup> Hill, M.: Developement of taste. [on-line], 2009, Dostupnost z: <<http://embryology.med.unsw.edu.au/Notes/tongue.htm>>
- <sup>12</sup> Witt, M.a Reutter, K. Scanning electron microscopical studies of developing gustatory papillae in humans. Chem senes, 1997, p.601-612
- <sup>13</sup> Dušková M, Kořová M, Strnadel T. et al. Sekundární chirurgická a ortodontickoprotetická léčba u dospělých nemocných s rozštěpem rtu a patra. Závěrečná zpráva výzkumného projektu grantu NK 6653-3 IGA MZČR, Praha, 2003
- <sup>14</sup> Dušková M, Laštovka M, Škodová E. et al. Korelace mezi výsledkem chirurgické léčby a tvorbou řeči u dospívajících nemocných s rozštěpem. Závěrečná zpráva výzkumného projektu IGA MZČR NR 8089-3, Praha, 2006
- <sup>15</sup> Young, G. Cleft lip and palate, [on-line], 1998, Dostupnost na: <<http://www.utmb.edu/otoref/grnds/Cleft-lip-palate-9801/Cleft-lip-palate-9801.htm>>
- <sup>16</sup> Macmillan Publishers Ltd: Nature 444, 288-294 16, 2006  
Dostupnost na:  
<<http://embryology.med.unsw.edu.au/notes/images/senses/nature05401-f2.2.jpg>>
- <sup>17</sup> Macmillan Publishers Ltd: Nature 444, 288-294 16, 2006  
Dostupnost na:  
<<http://embryology.med.unsw.edu.au/notes/images/senses/nature05401-f1.2.jpg>>

<sup>18</sup> Dušková M et al. Pokroky v sekundární léčbě nemocných s rozštěpem. Olga Čermáková, Hradec Králové, 2007. ISBN 978-80-86703-25-1